



# Proyecto: Alimento pigmentante para salmónidos

---

Catedra: Integración V

- Alumno/s:
  - Christian Meroi
  - Julián García
  - Nadia Cañete
  - Samuel Sinner
  
- Profesor titular: Ing. Alberto Florio
- Profesor consultor: Ing. Hipólito Choren
- Jefe de TPs: Ing. Pablo Lorenzo
- Auxiliar: Ing. Damián Esquivel

## Contenido

1. Introducción .....	1
1.1. Descripción del sector demandante .....	1
1.2. Caracterización de la problemática y oportunidad de mejora .....	1
1.3. Tecnologías innovadoras que son requeridas para dar una solución .....	1
1.4. Oportunidad de innovación y líneas de trabajo existentes .....	2
1.5. Demanda local potencial de esas tecnologías innovadoras .....	2
1.6. Impacto .....	3
2. Estudio de mercado .....	4
2.1. Producción por acuicultura en Argentina .....	4
2.2. Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) .....	5
2.3. Potencialidad de la astaxantina en la acuicultura Argentina .....	17
2.4. Importaciones de astaxantina en la Argentina .....	18
2.5. Oportunidad del proyecto en la Argentina .....	19
3. Estudio de la localización .....	21
3.1. Macrolocalización .....	21
3.2. Microlocalización .....	46
4. Investigación .....	52
4.1. La astaxantina .....	52
4.2. <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> ( <i>Phaffia rhodozyma</i> ) .....	54
4.3. Biosíntesis de astaxantina .....	58
4.4. Biotecnología en <i>X. dendrorhous</i> .....	64
4.5. Patente de referencia .....	68
4.6. Determinación de parámetros cinéticos .....	73
5. Proceso de producción .....	83
5.1. Orujo de uva como medio de cultivo .....	83
5.2. Medio de cultivo y solución de reservorio .....	98
5.3. Fermentación .....	100
5.4. Operaciones de downstream .....	110

6. Servicios auxiliares.....	124
6.1. Caldera generadora de vapor .....	124
6.2. Enfriador industrial de agua .....	126
6.3. Suministro de agua purificada .....	127
6.4. Suministro de aire purificado .....	128
7. Balances de materia.....	130
7.1. Procesado del orujo de uva.....	130
7.2. Fermentación .....	145
7.3. Operaciones de downstream.....	152
7.4. Servicios auxiliares.....	161
8. Balances de energía.....	163
8.1. Procesado del orujo de uva.....	163
8.2. Fermentación .....	179
8.3. Operaciones de downstream.....	186
8.4. Servicios auxiliares.....	195
9. Selección y diseño de equipos.....	197
9.1. Transporte.....	197
9.2. Silos celdas .....	197
9.3. Secador de tambor rotativo.....	210
9.4. Almacenamiento del orujo de uva .....	247
9.5. Preparación de la solución de orujo de uva .....	252
9.6. Biorreactor de 30 m <sup>3</sup> .....	263
9.7. Biorreactores de escala piloto y laboratorio .....	320
9.8. Operaciones de downstream.....	321
9.9. Servicios auxiliares.....	330
10. Control automático del biorreactor.....	334
10.1. Sistema de control de la temperatura.....	334
11. Lay-out de planta.....	347
11.1. Planta productiva.....	347

12. Higiene y seguridad industrial.....	353
12.1. Sistema de protección contra incendios .....	353
12.2. Plan de evacuación .....	378
12.3. Elementos de protección personal.....	381
12.4. Sistemas de extracción localizada .....	391
12.5. Construcción sismoresistente .....	392
13. Evaluación de impacto ambiental.....	394
13.1. Etapas del proyecto .....	394
13.2. Entorno medio ambiental .....	398
13.3. Marco legal.....	404
13.4. Identificación de impactos ambientales.....	407
13.5. Matriz de Leopold .....	409
13.6. Medidas de mitigación .....	411
13.7. Plan de monitoreo.....	413
13.8. Plan de emergencias .....	413
14. Sistema de gestión integrado.....	415
14.1. Implementación conjunta .....	416
14.2. Factores de éxito.....	417
14.3. Principales elementos del sistema requeridos por la norma .....	418
14.4. Certificación del sistema de gestión integral.....	426
15. Organización técnico-administrativa.....	427
15.1. Staff empresarial.....	429
16. Evaluación económica.....	431
16.1. Inversión inicial.....	431
16.2. Costo de fabricación.....	439
16.3. Análisis de inversión .....	444
16.4. Conclusión.....	448
17. Anexos.....	450
17.1. Oportunidad de proyecto .....	450



17.2. Importaciones de mercaderías con astaxantina en Argentina.....	453
17.3. Patente de referencia .....	454
17.4. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#1) .....	466
17.5. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#2) .....	477
17.6. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#3) .....	481
17.7. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#4) .....	486
17.8. Composición del orujo de uva.....	490
17.9. Compostaje de desechos de orujo de uva .....	492
17.10. Catálogos de equipos seleccionados.....	499
17.11. Ficha técnica de la instalación de silos celdas.....	537
17.12. Ficha técnica del secador de tambor rotatorio .....	538
17.13. Ficha técnica del biorreactor industrial .....	539
18. Bibliografía.....	541
18.1. Revistas o publicaciones .....	541
18.2. Artículos .....	542
18.3. Libros .....	543
18.4. Proyectos de grado .....	543
18.5. Patentes.....	544
18.6. Páginas web.....	544
18.7. Leyes .....	546
18.8. Normas .....	546



# **1. Introducción**

## **1.1. Descripción del sector demandante**

La acuicultura conforma el sector productor de alimentos de más veloz crecimiento a nivel mundial. Ha experimentado un crecimiento promedio anual del 5.8% en la década 2005-2014 según la FAO (2016). Este crecimiento notable ha llegado a superar por primera vez en el 2014 al pescado capturado con destino a consumo humano (FAO, 2016). El papel de la Argentina en este mercado es muy bajo a pesar de contar con condiciones adecuadas de producción. Desde el Estado nacional se vienen tomando medidas para promover esta actividad y es importante generar insumos de producción nacional, sustituyendo importaciones, en lo posible de origen natural y que propicien cultivos de mayor valor agregado como puede ser los considerados “orgánicos”.

## **1.2. Caracterización de la problemática y oportunidad de mejora**

El cultivo de salmónidos en Argentina se basa exclusivamente en el cultivo de trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*), que representa aproximadamente el 40% del total de la producción acuícola del país. El valor de mercado de los salmónidos está estrechamente ligado al color rosado de su carne y a ser el mismo entendido por el consumidor como señal de calidad del producto. A su vez, es un carácter distintivo de los salmónidos que le confiere un sello de exclusividad. Este color se debe al depósito de carotenoides, principalmente la astaxantina, que los salmónidos no pueden sintetizar de novo y que deben ser incorporados con la dieta para obtener un producto atractivo para el mercado.

Los salmónidos no tienen la capacidad de sintetizar carotenoides por sí mismos y por lo tanto son absolutamente dependientes de la dieta para lograr la pigmentación normal que le conocemos, el característico color rosado-naranja. La ausencia de pigmento en la dieta de salmones y truchas en cautiverio da como resultado un músculo pálido, sin color y por lo tanto poco atractivo para el consumidor, razón por la cual deben ser agregados al alimento que se les proporciona.

## **1.3. Tecnologías innovadoras que son requeridas para dar una solución**

*Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) es una levadura basidiomicética fermentadora, conocida por su capacidad exclusiva de producir el pigmento carotenoide astaxantina. Poblaciones nativas de esta levadura han sido encontradas en los bosques autóctonos de la Patagonia Andina Argentina. A través del mejoramiento de las levaduras productoras, la optimización de las condiciones de cultivo y tratamiento de la biomasa para disponibilizar el pigmento, así como el aprovechamiento

de residuos agroindustriales para su cultivo es posible generar mediante procesos biotecnológicos una fuente rentable, ambientalmente inocua y natural de este pigmento para su aprovechamiento en acuicultura, que reemplace a las astaxantinas sintéticas que se utilizan actualmente.

#### **1.4. Oportunidad de innovación y líneas de trabajo existentes**

En condiciones de cultivo, se ha probado la efectividad de varios carotenoides y sustancias que los contienen como agentes pigmentantes, con énfasis en astaxantina y cantaxantina sintética y es común que se usen ambas, en diferentes proporciones, aunque con predominio de astaxantinas de origen sintético. Cabe resaltar que existen alimentos para salmónidos de "terminación", producidos en nuestro país, que poseen agregados de astaxantina, aunque de origen sintético, para dotar de la pigmentación buscada por los consumidores durante las fases de crecimiento previas al procesamiento de los salmónidos.

#### **1.5. Demanda local potencial de esas tecnologías innovadoras**

En la Argentina se produjeron alrededor de 1.500 toneladas de trucha arcoíris durante el año 2015, siendo la segunda especie en importancia luego del pacú. La mayor parte de la producción se lleva a cabo en la Patagonia Argentina. Sin embargo, en el 2013 se importaron de Chile 6.600 toneladas de salmón lo que marca el mercado potencial para la producción en el país de este tipo de producto. Cabe destacar que el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) mediante Resolución 375/2013 declaró zona libre de enfermedades de los salmónidos a la zona comprendida por la cuenca alta del río Limay, incluyendo al Embalse Alicurá hasta la presa hidroeléctrica del mismo nombre.

En contrapartida la producción chilena de salmónidos ha experimentado en los últimos años serias críticas por el gran uso de antibióticos que lleva a cabo en relación con las enfermedades de cultivo, lo cual impacta positivamente en el potencial de producción de salmónidos en nuestro país en general, y en la cuenca del río Limay en particular, Asimismo, considerando la potencial exportación del producto, el producto podría venderse en otros países como Chile que por su cercanía geográfica y su rol de líder en la materia, (produce aproximadamente 70.000 toneladas anuales de salmón rosado) podría ser un potencial comprador.

## **1.6. Impacto**

La inclusión de astaxatina representa un agregado de valor en la producción de alimento para truchas de entre un 10 y un 25%. La producción de estos carotenoides sintéticos tiene un potencial muy alto en la salmonicultura, del orden de los 120 millones de dólares. La disponibilidad de astaxantina de origen natural para su uso en acuicultura redundará en una mejora de la calidad final de la producción de trucha arcoíris, al impactar positivamente en la percepción que en el mercado consumidor tiene la coloración de la carne. De esta forma cabe preverse una mayor aceptación tanto en el mercado interno (donde puede ser un sustituto del salmón rosado, utilizado muy frecuentemente en la producción de sushi y otras comidas del llamado estilo “gourmet”), así como también en los mercados internacionales. En forma conjunta con el carácter de zona libre de enfermedades de los salmónidos referida previamente, de la cuenca alta del Río Limay, cabe esperarse además de la mencionada mayor aceptación nacional como internacional del producto, lograr un mayor valor agregado si lograra dotar de un carácter de productos orgánicos a las truchas de dicha cuenca. En este sentido, la astaxantina producida a partir de levaduras, no iría contra dicha condición. Adicionalmente, cabe destacarse el hecho de que, debido a su excelente poder antioxidante, la astaxantina también se emplea en las industrias cosmética y nutracéutica.

Actualmente, el mercado se vuelca cada vez más a productos que no contengan pigmentos o aditivos químicos, favoreciéndose así las fuentes naturales. En resumen, puede plantearse que el impacto de proyecto derivado de esta demanda de innovación abarcará el fomento de la biotecnología nacional en beneficio de la producción de salmónidos, la sustitución de importaciones, la apertura de mercados internacionales, y el desarrollo de nuevos puestos de trabajo.



## 2. Estudio de mercado

Un estudio de mercado tiene por objeto evaluar la viabilidad comercial de la actividad económica que buscamos desarrollar. El mismo abarca, el comportamiento de los consumidores para detectar sus necesidades de consumo y forma de satisfacerla, averiguar sus hábitos de compra (momentos, preferencias, etc). Su objetivo final es aportar información que permita mejorar la venta de un producto, cuya demanda no ha sido satisfecha.

### 2.1. Producción por acuicultura en Argentina

Según el Ministerio de Agroindustria, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, la producción acuícola destinada al consumo humano en Argentina durante los últimos 20 años ha mostrado un crecimiento sostenido desde las 1.000 toneladas en 1996, hasta las 4.027 en el año 2014.

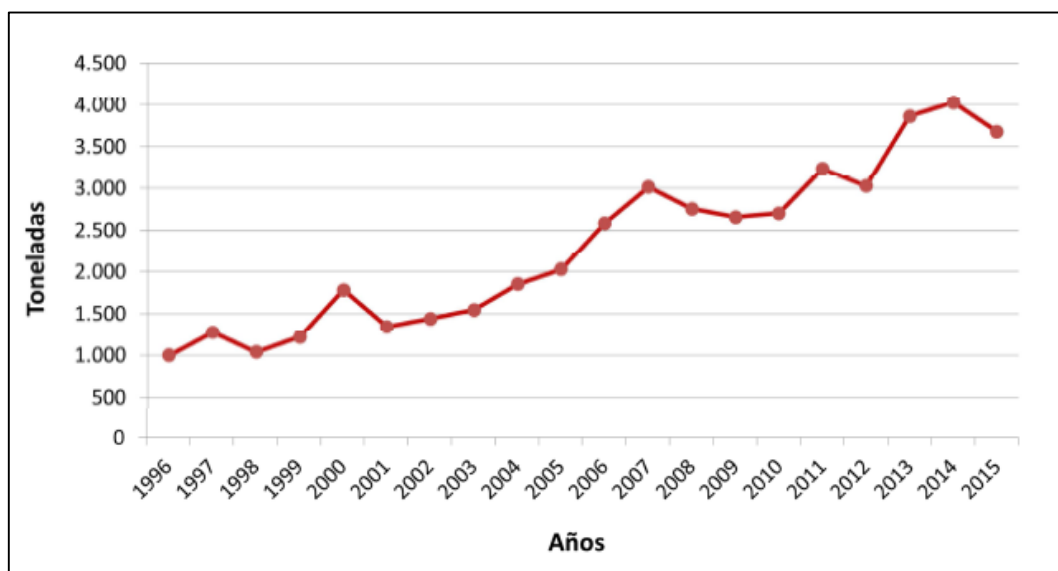


Fig. 2.1: Evolución de la producción por acuicultura en Argentina, período 1996-2015.

Durante los años 2015, 2016 y 2017, hubo una leve disminución, alcanzando 3.662 y 3.673 y 3.567 toneladas, respectivamente. Esto pudo deberse al alto costo de los alimentos balanceados, cuyos ingredientes cotizan en bolsa, como a la falta de financiación para enfrentar los costos operativos de los cultivos, y a cuestiones climáticas en la región del NEA. Toda la producción, con excepción de un pequeño porcentaje de trucha y los cueros de yacaré, es comercializada en el mercado interno.

Las tasas de crecimiento durante el período 2010-2017, muestran una tasa de crecimiento acumulada (TCAA) del 35.32%, aunque se observen tasas negativas durante el 2012, 2015 y 2017.

Período	Producción (Tn)	TCA (%)	TCAA (%)
2009	2 655		
2010	2 701	1.73	1.73
2011	3 237	19.84	21.58
2012	3 026	-6.52	15.06
2013	3 863	27.66	42.72
2014	4 027	4.25	46.96
2015	3 662	-9.06	37.90
2016	3 673	0.30	38.20
2017	3 567	-2.89	35.32

Tabla 2.1: Crecimiento de la producción de acuicultura en Argentina, período 2010-2017.



Fig. 2.2: Evolución de la producción por acuicultura en Argentina, período 2009-2017.

## 2.2. Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

Esta especie fue cultivada durante gran parte del siglo pasado y el anterior solo en las aguas dulces, pero desde mediados del siglo XX, es llevada hasta un tamaño grande (más de 2 kilos), en cultivos que se desarrollan mayormente en ambientes marinos. Su adaptación al mar se produce normalmente, y los investigadores discuten aún, si existe o no, una verdadera "smoltificación" de la especie, como en los salmones, ya que no se evidencian cambios suficientes a nivel fisiológico, que sean del mismo tenor que los ocurridos en aquellos, en el momento en que los ejemplares son traspasados al mar. Es también considerada, como la trucha de mayor distribución a nivel mundial.





Fig. 2.3: Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

FAMILIA SALMONIDAE		
GENERO	ESPECIE	NOMBRE COMUN
Salmo	Salmo trutta	marrón o trucha de mar
	Salmo salar	salmón del Atlántico
Oncorhynchus	Oncorhynchus masou	salmón japonés
	Oncorhynchus kisutch	salmón coho
	Oncorhynchus tshawytscha	salmón chinook o salmón rey
	Oncorhynchus keta	salmón chum
	Oncorhynchus gorbuscha	salmón rosado
	Oncorhynchus mykiss	trucha arco iris

Tabla 2.2: Especies más conocidas y empleadas en cultivos (familia Salmonidae).

### 2.2.1. Alimento y prácticas alimentarias

El sistema digestivo de las truchas y otros salmónidos está naturalmente estructurado para procesar alimentos que contengan principalmente proteína (proveniente de pescado), y que puedan obtener una cantidad determinada de energía a partir de las grasas y carbohidratos existentes. Las dietas para larvas y alevinos de truchas, requieren un contenido proteico y energía más alta, que las correspondientes a peces más grandes. Los alevinos y juveniles se alimentan con contenidos de cerca del 50% de proteína y el 15% de grasa, mientras que los peces adultos pueden crecer con un 40% de proteína y un 10 a 12% de grasa.

Los requerimientos nutricionales para truchas se conocen suficientemente, por lo cual los alimentos deben elaborarse respetando los mismos. Existe suficiente bibliografía al respecto, para ser consultada por el productor. En general, esta compra el alimento por su calidad y por precio cuando existen líneas diferentes de elaboración.

Tipo de dieta	Inicial	Crecimiento	Producción	Reproductores
Proteína	51.0%	44.0%	42.0%	44.0%
Lípidos	16.0%	14.0%	14.0%	12.0%
Fibra cruda	2.0%	3.5%	4.0%	3.5%
Cenizas	10.0%	10.0%	10.0%	10.0%
Humedad	9.0%	9.0%	10.0%	10.0%
Energía metabólica	3.560 Kcal/Kg	3.240 Kcal/Kg	3.200 Kcal/Kg	3.150 Kcal/Kg
Tamaño de pellet	0.3-3.6 mm	1.9-2.5 mm	2.5-9.5 mm	9.5 mm

Tabla 2.3: Dietas para truchas, empresa “Alitec®” (Chile).

La cantidad de alimento requerido por los peces, dependerá de la temperatura del agua y de la talla de los individuos en cultivo. Durante una producción normal, los peces pueden alimentarse 7 días a la semana, con un alimento formulado de alta calidad. Debido a su alta tasa metabólica, los peces pequeños necesitarán mayor cantidad de alimento en relación a su peso y en relación a la ingesta de los grandes peces. Como los peces son animales poiquiloterms, la temperatura de su cuerpo y su tasa metabólica variará con las temperaturas del medio de cultivo.

La temperatura mínima para crecimiento en las truchas, está situada cerca de los 3.5°C. A esta temperatura o en su entorno, el apetito de los animales disminuye, operando muy lentamente su sistema digestivo. En este caso, se requerirá solamente una dieta de “mantenimiento” (0.5 a 1.8% de su peso corporal/día). Un ofrecimiento de mayor porcentaje, producirá pobres resultados en conversiones alimentarias, mayores desechos de alimento no consumido en los cerramientos y lógicamente, una pérdida de dinero para el productor.

Por encima de la temperatura señalada, el metabolismo y la tasa de crecimiento de esta especie aumenta hasta aproximadamente los 18.5°C, dependiendo de la raza genética mantenida en cultivo. Las temperaturas óptimas para un crecimiento eficiente, están situadas entre los 13 y 18.5°C (15°C constantes), pudiéndose emplear tasas de alimentación de máximos niveles (1.5 hasta 6% diario del peso corporal).

Por encima de los 18.5°C, la tasa metabólica continúa aumentando hasta que la temperatura se aproxima a los niveles letales, pero la capacidad de carga en oxígeno de las aguas y los requerimientos respiratorios de los propios peces, marcará el límite sobre la cantidad de alimento que los animales procesen eficientemente (caso de áreas marginales para cultivo de trucha arco iris en nuestro país).

En aguas templadas (mayores de 18.5°C), el sistema digestivo de las truchas no utiliza bien los nutrientes y mucho del alimento consumido, se digiere sólo parcialmente antes de su eliminación. Este alimento no digerido, debe evitarse, ya que sus desechos quedan en el agua, incidiendo en la disminución del OD en las aguas (a mayor temperatura), estos factores actúan negativamente en producciones comerciales, produciendo arritmias respiratorias en los peces, con el resultado de altas mortalidades.

Los métodos específicos de alimentación en truchas, dependen del tamaño de los animales bajo cultivo. El primer alimento ofrecido a las larvas, debe ser colocado en pequeñas cantidades, manualmente y por lo menos, ofrecido entre 8 y 10 veces durante el día, hasta que se observe que todos los peces estén comiendo activamente. Este es el período de mayor atención, puesto que si desde el comienzo los peces son bien alimentados (con un buen alimento), los animales responderán ampliamente en cuanto a crecimiento durante la producción. La frecuencia de la alimentación disminuye en el transcurso del cultivo y a medida que los animales crecen. La trucha puede almacenar hasta el 1% de su peso en alimento seco en cada toma, por lo que la frecuencia debe ajustarse de acuerdo a ello.

El aprovechamiento del alimento depende la naturaleza del mismo (secos o frescos) y de los sistemas de cultivo utilizado (estanques o jaulas). Cuando se utiliza alimento fresco el desperdicio es muy superior (entre 1:5 a 1:8) al de los alimentos secos (aproximadamente 1:2) ya que las partículas de alimento se desintegran más rápidamente en el agua, quedando reducidas a un tamaño demasiado pequeño para ser ingeridas por las truchas.

En base al artículo “¿Cómo alimentar a mis truchas? Recomendaciones y aplicación de fórmulas” (Primera edición. Cáritas del Perú, Perú, 2015), se dispone de información sobre la conducta alimenticia y crecimiento de las truchas arcoíris en los diferentes estadios de su ciclo de vida (Tablas 2.4, 2.5 y 2.6).

TALLA (cm)	TEMPERATURA DEL AGUA EN °C									
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
3	1.14	2.16	3.19	4.23	5.28	6.33	7.39	8.45	9.52	
4	0.85	1.62	2.39	3.16	3.94	4.72	5.51	6.30	7.09	
5	0.68	1.29	1.91	2.52	3.14	3.77	4.39	5.02	5.65	
6	0.56	1.07	1.59	2.10	2.61	3.13	3.65	4.17	4.69	
7	0.50	0.95	1.40	1.35	2.30	2.78	3.21	3.67	4.12	
8	0.43	0.83	1.22	1.61	2.01	2.41	2.80	3.20	3.60	
9	0.39	0.73	1.08	1.43	1.78	2.14	2.49	2.84	3.20	
10	0.35	0.66	0.97	1.29	1.60	1.92	2.24	2.56	2.87	
11	0.31	0.60	0.89	1.17	1.46	1.75	2.03	2.32	2.61	
12	0.29	0.55	0.81	1.07	1.34	1.60	1.86	2.13	2.39	
13	0.28	0.54	0.79	1.05	1.30	1.57	1.82	2.08	2.33	
14	0.27	0.52	0.77	1.02	1.27	1.52	1.77	2.02	2.27	
15	0.25	0.49	0.72	0.95	1.18	1.42	1.65	1.88	2.12	
16	0.24	0.46	0.67	0.89	1.11	1.33	1.54	1.76	1.98	
17	0.22	0.43	0.63	0.84	1.04	1.25	1.45	1.66	1.86	
18	0.21	0.40	0.60	0.79	0.89	1.18	1.37	1.57	1.76	
19	0.20	0.38	0.57	0.75	0.93	1.12	1.30	1.48	1.67	
20	0.19	0.36	0.54	0.71	0.88	1.06	1.23	1.41	1.58	
21	0.18	0.35	0.51	0.68	0.84	1.01	1.17	1.34	1.51	
22	0.17	0.33	0.49	0.65	0.80	0.96	1.12	1.28	1.44	
23	0.16	0.32	0.47	0.62	0.77	0.92	1.07	1.22	1.38	
24	0.16	0.30	0.45	0.59	0.74	0.88	1.03	1.17	1.32	
25	0.15	0.29	0.43	0.57	0.71	0.85	0.99	1.12	1.26	
26	0.14	0.28	0.41	0.55	0.68	0.81	0.95	1.08	1.22	
27	1.14	0.27	0.40	0.52	0.65	0.78	0.91	1.04	1.17	
28	0.13	0.26	0.38	0.51	0.63	0.75	0.88	1.00	1.13	
29	0.12	0.25	0.37	0.49	0.61	0.73	0.85	0.97	1.09	
30	0.12	0.24	0.36	0.47	0.59	0.70	0.82	0.94	1.05	
31	0.12	0.23	0.34	0.46	0.57	0.68	0.79	0.91	1.02	
32	0.12	0.22	0.33	0.44	0.55	0.66	0.77	0.88	0.99	

TALLA (cm)	TEMPERATURA DEL AGUA EN °C									
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
3	10.60	11.69	12.78	12.12	11.46	10.80	10.15	8.52	6.91	
4	7.89	8.69	9.49	9.00	8.52	8.03	7.55	6.35	5.15	
5	6.28	6.91	7.55	7.16	6.78	6.39	6.01	5.05	4.11	
6	5.21	5.74	6.27	5.95	5.63	5.31	4.99	4.20	3.41	
7	4.58	5.04	5.50	5.22	4.94	4.67	4.39	3.69	3.00	
8	4.00	4.40	4.80	4.56	4.32	4.07	3.83	3.23	2.62	
9	3.55	3.91	4.26	4.05	3.83	3.62	3.40	2.86	2.33	
10	3.19	3.51	3.83	3.64	3.44	3.25	3.06	2.57	2.09	
11	2.90	3.19	3.48	3.33	3.13	2.95	2.78	2.34	1.90	
12	2.65	2.92	3.19	3.20	2.86	2.70	2.54	2.14	1.74	
13	2.59	2.85	3.11	2.95	2.79	2.63	2.48	2.09	1.70	
14	2.52	2.77	3.02	2.87	2.72	2.56	2.41	2.03	1.65	
15	2.35	2.88	2.82	2.68	2.53	2.39	2.25	1.90	1.84	
16	2.20	2.42	2.64	2.51	2.37	2.24	2.11	1.78	1.45	
17	2.07	2.28	2.48	2.36	2.23	2.11	1.98	1.67	1.36	
18	1.95	2.15	2.34	2.23	2.11	1.99	1.87	1.58	1.28	
19	1.85	2.04	2.22	2.11	2.00	1.88	1.77	1.49	1.22	
20	1.76	1.93	2.11	2.00	1.90	1.79	1.68	1.42	1.15	
21	1.67	1.84	2.01	1.91	1.80	1.70	1.60	1.35	1.10	
22	1.60	1.76	1.92	1.82	1.72	1.63	1.53	1.29	1.05	
23	1.53	1.68	1.83	1.74	1.65	1.55	1.46	1.23	1.00	
24	1.46	1.61	1.75	1.67	1.58	1.49	1.40	1.18	0.96	
25	1.40	1.54	1.68	1.60	1.51	1.43	1.34	1.13	0.92	
26	1.35	1.48	1.62	1.54	1.46	1.37	1.29	1.09	0.89	
27	1.30	1.43	1.56	1.48	1.40	1.32	1.24	1.05	0.85	
28	1.25	1.38	1.50	1.43	1.35	1.28	1.20	1.01	0.82	
29	1.21	1.33	1.45	1.38	1.30	1.23	1.16	0.98	0.79	
30	1.17	1.28	1.40	1.33	1.26	1.19	1.12	1.12	0.94	
31	1.13	1.24	1.36	1.29	1.22	1.15	1.08	0.91	0.74	
32	1.09	1.20	1.31	1.25	1.18	1.11	1.05	0.88	0.72	

Tabla 2.4: Porcentaje de alimento por peso de trucha necesario en función de su talla y temperatura de entorno.

Estadio	Talla	Veces por día	Período
Alevines	3 - 10 cm	8 veces al día	Inicio
Juveniles	10 - 13 cm	6 veces al día	Crecimiento
	13 - 18 cm	4 veces al día	
Adultos	> 18 cm	2 veces al día	Engorde
	6 - 12 semanas antes de la venta		Pigmentación

Tabla 2.5: Frecuencia de alimentación de acuerdo con el periodo de crecimiento.

Peso de trucha (g)	0.2	0.2 - 1.5	1.5 - 5	5 - 12	12 - 20	20 - 40	40 - 80	80 - 100	150	200	250 - 300
Talla de trucha (cm)	2.5	2.5 - 5.0	5.0 - 7.5	7.5 - 10	10 - 12.5	12.5 - 15	15 - 17.5	17.5 - 20	20 - 22.5	22.5 - 25	25 - 30

Tabla 2.6: Relación entre el peso y la talla de la trucha a lo largo de su crecimiento.

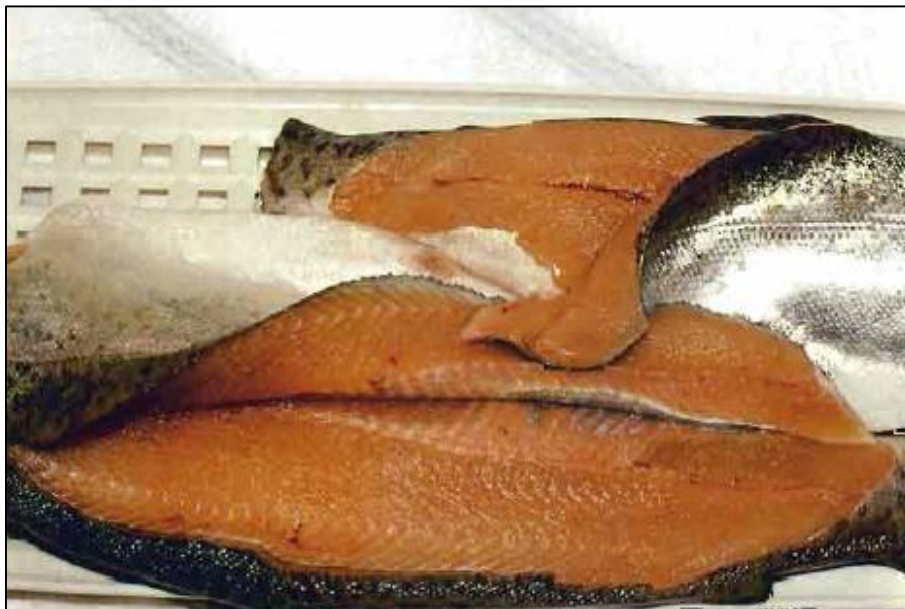
En general, se producen alimentos especialmente elaborados con antibióticos (oxytetraciclina u otros) o carotenos (para coloración de la carne). Estos alimentos, son más caros que los comunes y deben utilizarse en las ocasiones o períodos correspondientes. En el caso de los pigmentos carotenoides, los mismos se utilizan en producción de trucha y salmón, para conferir una coloración rosada a la carne de

los peces, no afectando ni su salud, ni su tasa de crecimiento. Una pigmentación exitosa puede lograrse en tres meses de alimentación cuando los peces ingieren activamente el alimento, y en 6 meses, si las temperaturas son menores a la óptima.

Las truchas pueden cultivarse en mar o en agua dulce en el sistema de jaulas suspendidas. En el mar, el cultivo se realiza hasta que ellas se aproximan a la madurez sexual, alcanzando durante ese período 1.5 a 2 Kg. de peso o más, mientras que en agua dulce los cultivos que se desarrollan en el país, alcanzan la talla que abarca desde el “pan size o plato”, hasta las más grandes, cercanas a 2.5 Kg. La mayor parte de los productores argentinos, llevan su producción hasta un peso de 250 a 300 gramos o más en agua dulce, dependiendo de la rentabilidad que se busque y de acuerdo a la demanda, así como los precios ofrecidos en el mercado mayorista.

### 2.2.2. Pigmentación

Las sustancias responsables de la coloración peculiar de la carne de los salmónidos son los pigmentos carotenoides. Los carotenoides son sustancias liposolubles, es decir, son solubles en las grasas, pero no en el agua. En los peces se acumulan fundamentalmente en la piel y en el músculo.



*Fig. 2.4:* Coloración de la carne de trucha arcoíris buscada por los acuicultores.

La pigmentación depende de varios factores, entre los que cabe destacar los parámetros fisicoquímicos del medio de producción, tales como temperatura, caudal de agua disponible, oxígeno disuelto y

materia orgánica del fondo, principalmente. Todos estos parámetros determinan la proporción de pigmentantes a suministrar en la alimentación.

Uno de los principales inconvenientes de la pigmentación es el tiempo necesario hasta obtener la coloración deseada, aparte de la elevada dosis necesaria, debido a su costo final. Por esta razón, cada vez se están utilizando más carotenoides puros, obtenidos bien por síntesis química o bien por extracción a partir de productos naturales que permiten lograr una rápida coloración con homogeneidad y similitud en la tonalidad de color a la obtenida en el proceso de coloración de los salmones en el mar. Tras la digestión, los compuestos carotenoides se depositan en la grasa muscular. Su capacidad de fijación depende de la solubilidad de estos compuestos en la grasa incluida en los músculos, que constituyen la parte comestible de la trucha.

La pigmentación es la etapa final en el ciclo de crecimiento de los salmónidos. Se ha determinado que en truchas arcoíris bajo los 80 a 100 g los carotenoides se depositan principalmente, en la piel y órganos, y muy poco en el tejido muscular de estos peces, el cual permanece blanco (Torrissen, 1989). Este fenómeno está más relacionado con la edad y el estado fisiológico de los peces, que con el peso corporal o la concentración de carotenoides en la dieta. En todo caso, la observación empírica de este hecho, ha llevado a que los salmicultores comiencen sus programas de pigmentación por sobre los 100 o 150 g en truchas, debido a que una pigmentación previa les significa un gasto innecesario. La etapa concluye cuando se halla alcanzada la coloración deseada en la carne, la medición visual se realiza utilizando la regla de color SalmoFan y cartilla de color Roche.

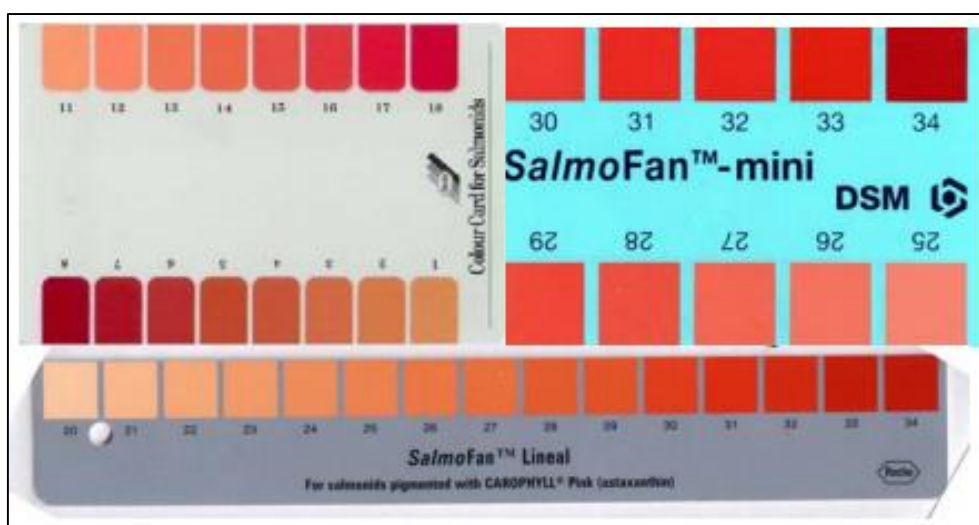


Fig. 2.5: Cartilla Roche (izquierda), SalmoFan mini (derecha)  
y regla SalmoFan (abajo).

La medición final de estas tablas está directamente relacionada con la concentración de astaxantina retenida en el tejido muscular de los salmónidos. La relación entre la pigmentación y la coloración sólo es lineal a bajas concentraciones de astaxantina, por lo tanto, cuando se alcanza un elevado grado de coloración, una mayor pigmentación no la incrementará. De este modo, en truchas arcoíris, el ojo humano ya no puede distinguir diferencias de color, a concentraciones en el músculo de 3 a 6 ppm.

En el tratamiento pigmentante las concentraciones más utilizadas varían entre los 40 a 100 mg/Kg de astaxantina en el alimento de la trucha arcoíris, para lograr un color 16 Carta Color Roche y 30 por Abanico Colorimétrico SalmoFan de Roche. No obstante, la tasa de retención de estos pigmentos disminuye al incrementarse el nivel de carotenoides dietarios (Torrissen, 1985). En este sentido, Bjerkgeng (1990) ha observado que la trucha arcoíris presenta una tasa de retención, tanto para la astaxantina como para la cantaxantina, que disminuye por sobre las 50 ppm de astaxantina dietaria. Según estos investigadores, lo anterior se debería no sólo a la saturación de receptores musculares para los carotenoides (actomiosina), sino que, además la capacidad de absorción y/o transporte de estos pigmentos hacia los tejidos también se vería copada.

#### **2.2.2.1. Estudio de pigmentación con astaxantina de origen sintética y natural**

En 1998 una investigación llevada a cabo por la Universidad de Plymouth, United Kingdom, estudio la pigmentación de truchas arcoíris con astaxantina de origen natural (NatuRose de Cyanotech®) y sintética (Carophyll Pink de Royal DSM®).

La dieta fue formulada para simular el alimento comercial comúnmente utilizado para las truchas y su suplementación con diferentes fuentes de astaxantina como el principal agente pigmentante. La dieta N°1 contenía 50 ppm de staxantina sintética, la dieta N°2 50 ppm de astaxantina natural y la dieta N°3 70 ppm de astaxantina natural. Durante el periodo de aclimatación semanas 0 a 4, los peces fueron alimentados sin el agregado pigmentos, entonces el tiempo cero empezó a correr a partir de la semana 4. La evaluación del peso, color de la carne y el contenido de astaxantina en la misma fue hecho a las semanas 4, 8 y 16 utilizando la carta de color Roche y HPLC.

Semana	50 ppm sintética	50 ppm natural	70 ppm natural
	Peso de trucha (g)		
4	99	99	102
6	139	139	142
8	178	179	182
10	213	209	213
12	242	238	244
14	280	275	283
16	327	315	322

*Tabla 2.7:* Peso de truchas arcoíris evaluado  
bisemanalmente.

Los resultados en la deposición de la carne de trucha arcoíris mostraron una coloración rosada significativa después de la semana 8. A la semana 16, la coloración según la escala Roche, fue mayor para la dieta con 50 ppm de astaxantina de origen natural (28.79) que para la de origen sintético a la misma concentración (27.32). Por otro lado, en la dieta con 70 ppm de astaxantina de origen natural fue mayor que en las otras dos (29.93), alcanzando una pigmentación de competencia comercial.

Semana	50 ppm sintética	50 ppm natural	70 ppm natural
	Color (escala Roche)		
4	N/A	N/A	N/A
8	23.38	23.87	25.74
12	26.47	27.51	28.46
16	27.32	28.79	29.93

*Tabla 2.8:* Color Roche en fillets de trucha arcoíris.

Una variable interesante a tener en cuenta sería el tiempo que demora una dieta con 70 ppm de astaxantina de origen sintético en alcanzar una coloración de competencia comercial de 30 en la escala Roche. Si bien en el estudio esta consideración no fue evaluada, con los valores de la Tabla 2.8, es factible realizar una correlación para estimar dicha variable.

Lo que se hizo fue tomar la diferencia porcentual, semana a semana, entre los valores de coloración de las dietas con 50 ppm de astaxantina de origen natural y sintético, para luego extrapolarlos a la dieta con 70 ppm de astaxantina de origen natural y así obtener una escala de color para una hipotética dieta de 70 ppm de astaxantina de origen sintético, como puede verse en la Tabla 2.9.



Semana	50 ppm sintética	50 ppm natural	50 ppm ( $\Delta\%$ )	70 ppm sintética (Hip.)	70 ppm natural
	Color (escala Roche)				
4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	23.38	23.87	2.10%	25.21	25.74
12	26.47	27.51	3.93%	27.38	28.46
16	27.32	28.79	5.38%	28.40	29.93

Tabla 2.9: Extrapolación del color Roche para filetes de trucha arcoíris.

Por último, con los valores obtenidos trazamos una línea de tendencia con buen ajuste ( $R^2 = 0.99$ ) y la extendemos hasta que la misma llegue a un valor de 30 en la escala de color Roche. Como puede verse en la Figura 2.6, dicho valor se alcanza en la semana 22 de la administración del agente pigmentante en el alimento de las truchas arcoíris.

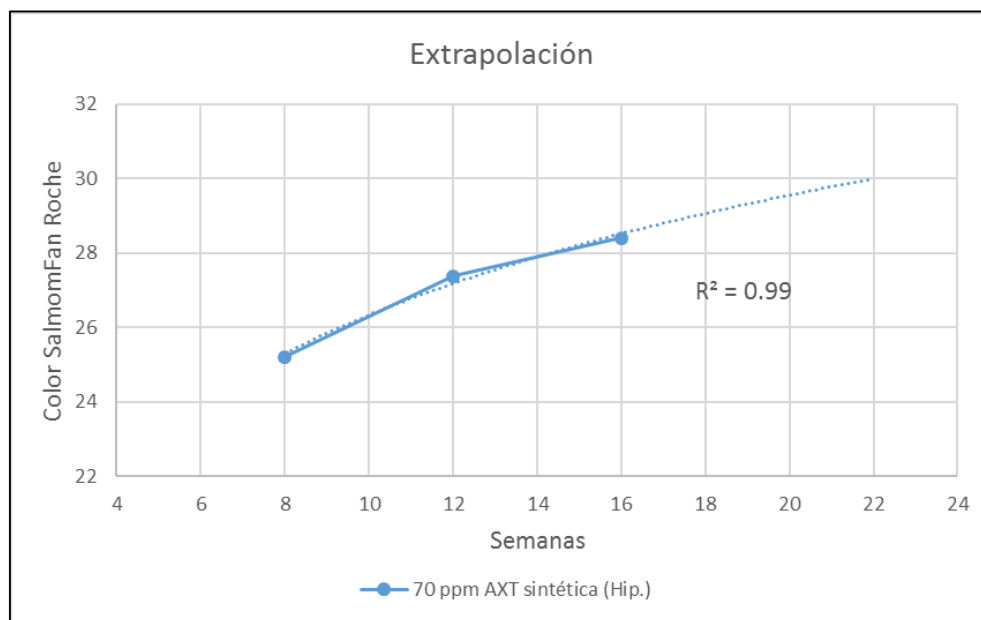


Fig. 2.6: Tendencia en la coloración de la carne de trucha arcoíris con la dieta hipotética.

Como conclusión al estudio, se puede decir que en truchas con un peso final de 300 g una concentración de 70 mg/Kg de astaxantina natural, durante un período de 16 semanas, fue suficiente para lograr un color muy próximo a 30 por el Abanico Colorimétrico SalmonFan de Roche. Por el contrario, para la misma concentración de astaxantina de origen sintético se estimó que sería necesario un período de 22 semanas para lograr la misma coloración.

### 2.2.3. Zonas de producción

La producción de trucha arcoíris se realiza principalmente en los embalses hidroeléctricos del río Limay (Alicurá y Piedra del Águila), en la provincia de Neuquén. Se comercializa preferentemente en pieza entera, desespinaada o fillet, en fresco o congelado, tamaño plato y actualmente también trucha grande. Las ventas alcanzan restaurantes, supermercados, empresas de catering o aquellas dedicadas a delicatessen. La ciudad de Buenos Aires es el mayor mercado receptor seguido de otras importantes como Rosario y Córdoba. Es además comercializada en numerosos centros turísticos del país. El mercado internacional está cubierto por una sola empresa que exporta un reducido volumen hacia Estados Unidos.



*Fig. 2.7:* Cultivo de trucha arcoíris en el embalse Piedra del Águila (Idris Patagonia).

Los cultivos son desarrollados en sistema intensivo en jaulas suspendidas, existiendo, además, otros establecimientos pequeños en tierra, de tipo familiar o pymes, de menor producción, ubicados en zonas turísticas (La Pampa, Jujuy, Salta, Tucumán, Mendoza, Santa Fe y Córdoba, principalmente) siendo su cultivo realizado, en raceways (tanques de cemento, rectangulares alargados) o tanques circulares, con una alta tasa de renovación de agua de excelente calidad (proveniente de las sierras). Abarcan desde unas pocas toneladas anuales, hasta un potencial máximo de 70 toneladas/año.

Los cerramientos denominados “jaulas”, se hicieron populares desde hace más de una década y se los utilizó inicialmente en el cultivo comercial de salmónidos (del Atlántico, del Pacífico y trucha arcoíris, principalmente) para engorde realizado en mar o también, para el caso de cultivo en agua dulce.

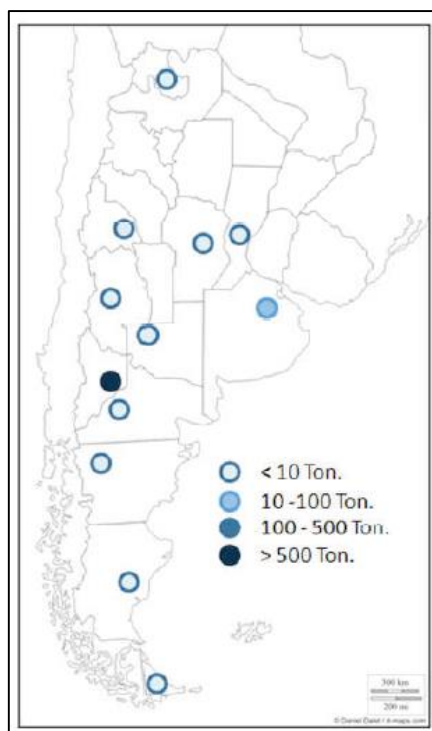


Fig. 2.8: Zonas de producción de producción de trucha arcoíris.

#### 2.2.4. Producción en Argentina

Según informes anuales de la producción acuícola Argentina elaborados por el Ministerio de Agroindustria, Subsecretaria de Pesca y Acuicultura, en lo que refiere a la producción de trucha arcoíris, en el período 2014-2017, se ha mantenido estable. Llegando a representar casi un 40% del total de la producción acuícola y una tasa de crecimiento acumulada (TCAA) negativa de -11.36%.

Período	Trucha arcoíris (Tn)	TCA (%)	TCAA (%)
2009	1 600		
2010	1 650	3.13	3.13
2011	1 364	-17.33	-14.21
2012	1 260	-7.62	-21.83
2013	1 254	-0.48	-22.31
2014	1 425	13.64	-8.67
2015	1 455	2.11	-6.57
2016	1413	-2.89	-9.45
2017	1386	-1.91	-11.36

Tabla 2.10: Crecimiento de la producción de trucha arcoíris en Argentina, período 2010-2017.

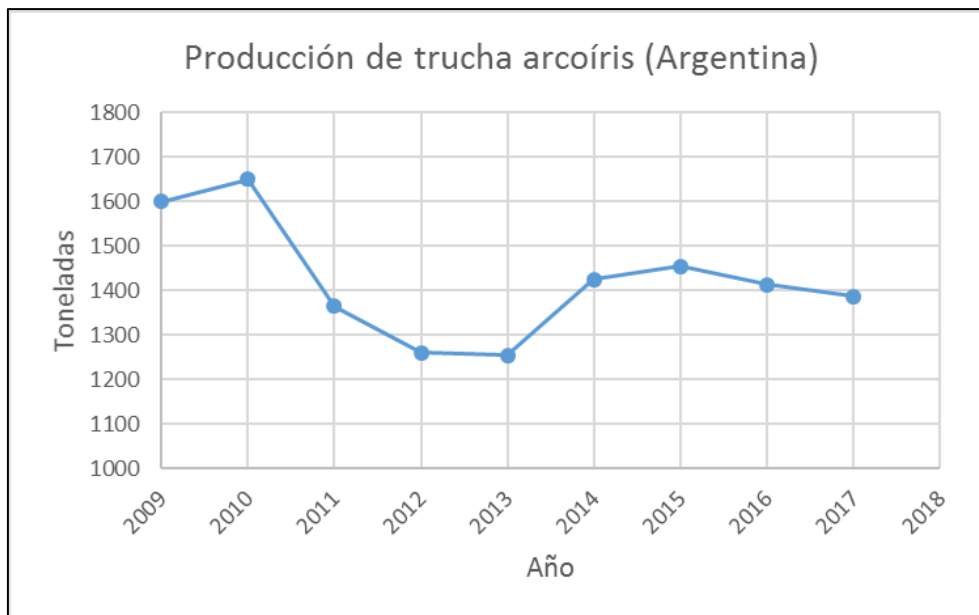


Fig. 2.9: Evolución de la producción de trucha arcoíris en Argentina, período 2009-2017.

### 2.3. Potencialidad de la astaxantina en la acuicultura Argentina

A continuación, realizaremos un cálculo para la estimación de las necesidades de astaxantina y su potencial económico en la acuicultura Argentina, realizando una serie de consideraciones:

1. En la acuicultura Argentina, la astaxantina como pigmento de salmónidos estará principalmente destinado al mercado de la trucha arcoíris en cultivos de jaulas realizados en agua dulce, la cual desde el 2009-2017 tuvo una producción promedio de 1.423 toneladas/año, según la Tabla 2.9.
2. La temperatura de lagos y causes de agua en Neuquén y Río Negro rondan los 12 a 18°C (15°C promedio), dependiendo de la estación del año.
3. La mayor parte de los productores argentinos, llevan su producción hasta un peso de 250 a 300 gramos en agua dulce, hasta una talla de entre 25-30 centímetros. Por lo tanto, según las Tablas 2.6 y 2.7, se debe administrar una cantidad de alimento de 1.54% el peso total de las truchas, dos veces al día.
4. Según el estudio de la sección 2.2.2.1, se debe administrar una dosis de 70 mg de astaxantina por kilogramos de alimentos para las truchas, durante un periodo de 112 días (16 semanas)

para la astaxantina de origen natural y 154 días (22 semanas) para la astaxantina de origen sintético, para lograr una coloración comercialmente competente.

5. Los productores argentinos suelen utilizar mezclas de hígado fresco, vísceras y restos de pescado molidos al tamaño adecuado para el estadio de crecimiento de la trucha, debido a que otros alimentos balanceados (como harinas de carne especialmente formuladas) resultan costosos. El aprovechamiento del alimento suele estar entre 1:5 a 1:8.
6. El aditivo pigmentante de origen sintético más difundido en el mercado es el Carophyll Pink de la empresa “DSM®”, con 10% de astaxantina y un valor en el mercado entorno a los U\$ 1.000/Kg. Por otro lado, dentro de los pigmentantes de origen natural encontramos varios productos, pero el de mayor preponderancia es el NatuRose de la empresa “Cyanotech®”, con 1.5% de astaxantina y un valor de U\$ 170/Kg (precios promedio según los diferentes canales de ventas digitales Ebay, Discus, Zauba, Seahorse Source y AlgoVA, al año 2019).

Trucha arcoíris (Tn/Año)	AXT sintética (Kg/Año)	AXT natural (Kg/Año)	Carophyll Pink 10% (Kg/Año)	NatuRose 1.5% (Kg/Año)	Carophyll Pink 10% (U\$/Año)	NatuRose 1.5% (U\$/Año)
1 600	2 656	1 932	26 562	128 785	26 561 920	21 893 461
1 500	2 490	1 811	24 902	120 736	24 901 800	20 525 120
1 400	2 324	1 690	23 242	112 687	23 241 680	19 156 779
1 300	2 158	1 570	21 582	104 638	21 581 560	17 788 437
1 200	1 992	1 449	19 921	96 589	19 921 440	16 420 096
1 100	1 826	1 328	18 261	88 540	18 261 320	15 051 755
1 000	1 660	1 207	16 601	80 491	16 601 200	13 683 413
900	1 494	1 087	14 941	72 442	14 941 080	12 315 072

Tabla 2.11: Estimaciones de consumo de astaxantina en función de la producción de truchas arcoíris.

Como puede apreciarse en la Tabla 2.11, en el supuesto caso que el mercado acuícola Argentino optara en su totalidad por el uso de astaxantina de origen natural, en lugar de la sintética, significaría un ahorro de aproximadamente un 20%. Esto se debe, a que si bien el gramo de astaxantina sintética es más barato (U\$ 10/g contra U\$ 11.3/g), la mayor eficiencia de deposición en la carne de las truchas arcoíris permite reducir el tiempo de la etapa pigmentante y, por lo tanto, la cantidad de astaxantina utilizada.

#### 2.4. Importaciones de astaxantina en la Argentina

En la Argentina no existe producción local de productos con astaxantina, tanto de origen sintético como natural, por lo tanto, el ingreso de los mismos es debido a su importación. Mediante el sistema

de búsqueda digital de comercio exterior “Scavage”, encontramos las importaciones correspondientes a preparaciones que contenga beta-caroteno, ésteres metílicos o etílicos del ácido 8'-apo-beta-caroteno, astaxantina o cantaxantina de origen sintético, con aceites vegetales, almidón, gelatina, sacarosa o dextrina, aptas para colorear alimentos (clasificación arancelaria 3204.19.12).

**NOTA:**

Cabe aclarar que el sistema Scavage no permitió especificar información de utilidad para realizar un análisis mucho más minucioso, como composición o uso final de los productos que cuadren dentro la clasificación arancelaria.

Año	Cantidad (Kg)	Valor FOB (U\$)
2017	30 834	11 501 082
2016	30 372	11 333 090
2015	28 332	10 554 926
2014	32 059	11 892 687
2013	33 062	13 124 156
2012	33 283	14 769 407
2011	35 782	17 326 801
2010	21 728	10 928 674

*Tabla 2.12: Cantidad y valor de las importaciones Argentinas de las mercaderías 3204.19.12.*

Considerando que el producto de origen sintético más difundido del mercado, el Carophyll Pink de la empresa “DSM®”, posee un valor entorno a los U\$ 1.000/Kg (según un promedio de los canales de ventas digitales Ebay, Discus y Zauba, al año 2019), podemos estimar (según las Tablas 2.11 y 2.12) que las cantidades importadas de este producto, o similares, no alcanzan a suplir el 50% de la demanda potencial promedio del mercado local.

## **2.5. Oportunidad del proyecto en la Argentina**

El hecho de producir un alimento para salmónidos con astaxantina de origen natural, dentro del territorio de la nacional, les permitiría a los criadores locales:

- Menor inversión en alimentos pigmentantes.
- Ampliar la producción local de salmónidos.
- Competitividad frente a mercados extranjeros.
- Apertura a nuevos mercados extranjeros.

### 2.5.1. Plan de negocio

En base a los cálculos hechos en el balance de materia de la sección 7.2.2.3, tenemos una producción de 10 Kg de astaxantina por lote de producción. Siendo 48 los lotes producidos anualmente, tenemos:

- $AXT_{\text{Año}} = (10 \text{ Kg AXT/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 480 \text{ Kg AXT/Año}$

Siendo que para una producción anual promedio de 1.400 toneladas/año de trucha arcoíris, se necesitarían 1.690 Kg de astaxantina natural para abastecer a todo el mercado argentino, estimamos el porcentaje del mercado que seríamos capaces cubrir en el supuesto caso que en su totalidad se inclinara por el uso de astaxantina de origen natural.

- $\text{Mercado} = [(480 \text{ Kg AXT/Año}) / (1.690 \text{ Kg AXT/Año})] * 100\% = 28,40\%$

Por otro lado, debemos calcular el precio de nuestro producto. Para ello, debemos considerar el producto de nuestra competencia (NatuRose de Cyanotech®), siendo que para una concentración de 1.5% de astaxantina, su valor en el mercado es de U\$ 170/Kg y, que la concentración de astaxantina en nuestro producto es de 0.4% (sección 7.3.4), calculamos:

- $\text{Precio} = (0,4 \text{ g AXT} / 1,5 \text{ g AXT}) * (\text{U\$ } 170/\text{Kg}) = \text{U\$ } 45/\text{Kg}$

Una vez que nuestro producto alcance un buen posicionamiento en el mercado local, buscaremos comercializarlo a U\$ 45/Kg. Pero hasta entonces, debemos venderlo a un precio que resulte competitivo frente al resto. Por ello, se decide un precio de lanzamiento de U\$ 36/Kg (un 20% por debajo del precio final), que se incrementara de a poco con el correr del tiempo.





### **3. Estudio de la localización**

Las decisiones referentes a la localización de la planta son de orden estratégico, dado que estas son cruciales al comprometer a la organización con costos a largos períodos de tiempo. El estudio de localización tiene como propósito encontrar la ubicación más ventajosa para el proyecto, es decir, la opción que, cubriendo las exigencias o requerimientos del proyecto, contribuya a minimizar los costos de inversión y los costos y gastos durante el periodo productivo. Las alternativas de localización deben ser revisadas bajo las condiciones de servicios básicos, mano de obra, fuentes de materia prima e insumos, demanda del mercado, etc. El estudio contempla dos aspectos diferentes, la macrolocalización y la microlocalización.

#### **3.1. Macrolocalización**

El estudio de macrolocalización involucra la selección de la región o zona más adecuada, evaluando las que preliminarmente presentan ciertos atractivos para la industria en cuestión. En nuestro caso, la serie de factores que intervienen en el costo de producción:

- Materia prima.
- Mano de obra.
- Transporte.
- Energía eléctrica.
- Gas natural.
- Agua.
- Características ambientales.
- Mercados.
- Tratamiento de desechos.
- Comunicaciones.

La producción de astaxantina natural de origen fúngico tiene como factor esencial y limitante la materia prima, siendo como alternativas viables y bajo costo, la utilización del hollejo de frutas, tales como, uvas, manzanas o peras. Estos son los residuos de las industrias vitivinícolas y frutícolas, en la producción de vino y jugo de frutas, respectivamente. Como la mayor cantidad de productores de estas industrias se concentran principalmente en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, serán las provincias a evaluar preliminarmente en el estudio de macrolocalización.

### 3.1.1. Materia prima

En la estimación del potencial de suministro de materia prima por cada una de las provincias a evaluar primero analizaremos el proveniente de los residuos de uva, teniendo en cuenta las siguientes consideraciones. Primero, se estima que por cada 100 litros de vino producido se obtienen 18 Kg de residuos. Segundo, el hollejo representa el 75% del total de los residuos resultantes de la producción del vino, el resto son 25% de escobajos.

Con los datos aportados por el “Instituto Nacional de Vitivinicultura de la República Argentina” sobre la producción de vino en el año 2017, determinamos que la materia prima proveniente de la uva es ampliamente mayor en la provincia de Mendoza que en las de Neuquén y Río Negro.

Provincia	Producción de vino (H litros)	Total de residuos (Tn)	Hollejo (Tn)
Mendoza	8 666 133	155 990	116 993
Neuquén	57 557	1 036	777
Río Negro	32 868	592	444

*Tabla 3.1:* Estimación de la materia prima proveniente de los residuos de uva al año 2017.

En cuanto a la materia prima proveniente de los residuos de manzana y pera, consideraremos a las provincias de Neuquén y Río Negro como una sola. Esto es debido a que la zona de producción de estos frutos se realiza principalmente en la zona de Valle de Río Negro, la cual es limítrofe entre ambas provincias, y tanto las plantaciones como las empresas productoras de jugo se encuentran distribuidas de manera equivalente en esta región. Por lo tanto, la diferenciación se hará entre las zonas de Valle de Río Grande (entre las provincias de Neuquén y Río Negro) y el Valle de Uco, que es la zona donde se cultivan y procesan estas frutas en la provincia de Mendoza.

Se estima que en la zona del valle de Río Grande se producen el 85% del total de manzanas producidas en el país, mientras que las peras representan un 75% del total. El resto es producido en la zona del valle de Uco. Las cantidades producidas en otras regiones del país no tienen relevancia significativa. La producción de manzana y peras tienen diferentes destinos, los cuales son la exportación, la industrialización y el mercado interno. Según la “Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca”, el destino de la producción se distribuye como indica la Tabla 3.2.

DESTINO DE LA PRODUCCIÓN (%)			
	Exportación	Industria	Mercado interno
Manzana	25	45	30
Pera	60	25	15

Tabla 3.2: Distribución del destino de la producción de manzanas y peras.

Del total destinado para la industrialización, el 80% es destinado para la producción de jugos. Según la información aportada por la empresa “Jugos S.A.” del total de fruta utilizado el 20% son residuos, y de este, el 75% son hollejos. Un informe de la Universidad Nacional de Avellaneda (UNDAV) sobre “la crisis del sector frutícola” en el año 2016, expone la drástica reducción de la producción del sector frutícola en los últimos años.

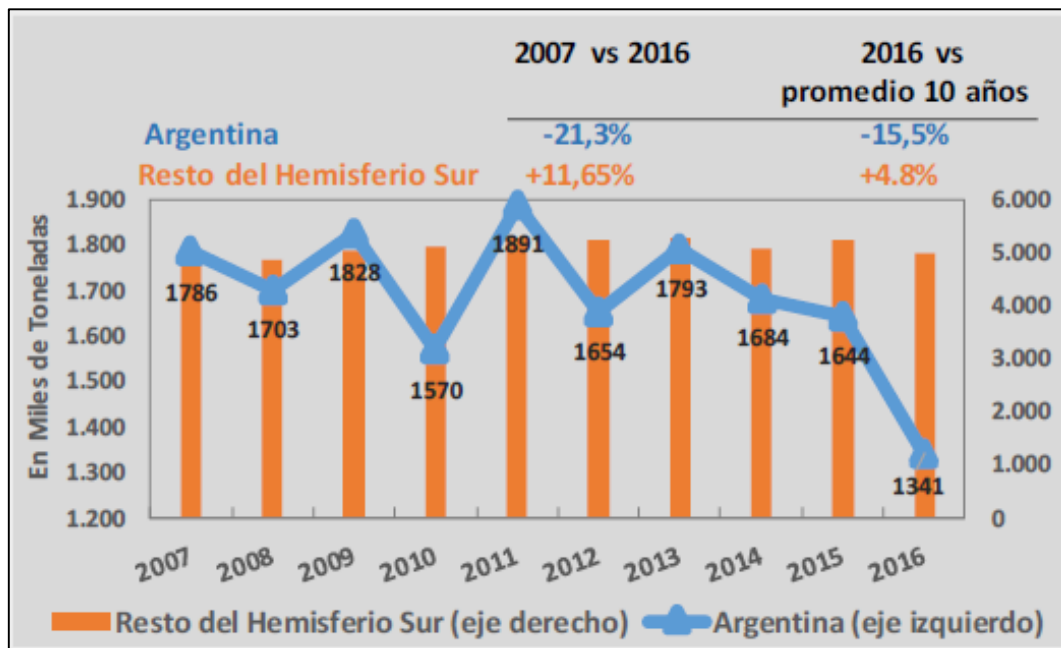


Fig. 3.1: Producción de frutas de pepita, en Argentina y principales países del hemisferio Sur, 2007-2016.

A partir de estos datos, realizamos una estimación para determinar la materia prima proveniente de peras y manzanas. Como se ve en la Tabla 3.3, esta es mayor en la región del Valle de Río Negro que en la del Valle de Uco.

Región	Fruta	Producción total (Tn)	Producción para la industria (Tn)	Producción para jugos (Tn)	Total de residuos (Tn)	Hollejo (Tn)
Valle de Río Grande	Manzana	1 139 850	512 933	410 346	82 069	61 552
	Pera	1 005 750	251 438	201 150	40 230	30 173
Valle de Uco	Manzana	201 150	90 518	72 414	14 483	10 862
	Pera	335 250	83 813	67 050	13 410	10 058

*Tabla 3.3:* Estimación de materia prima proveniente de manzana y pera, al año 2016.

Al realizar la sumatoria de todas las estimaciones de materias primas calculadas en las Tablas 3.2 y 3.3, la provincia de Mendoza es sumamente superior a las de Neuquén y Río Negro, debido al gran cultivo de uva destinado a la industria vitivinícola.

### 3.1.2. Mano de obra

A la hora de evaluar la mano de obra debemos considerar dos factores fundamentales. El primero es la población económicamente activa (PEA). El segundo, es la cantidad de esta población con estudios secundario completo, universitarios incompletos y universitarios completos. Esto nos permite estimar la disponibilidad y facilidad de encontrar mano de obra calificada para las distintas actividades a desarrollar en la empresa.

En base a datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC), al año 2017, podemos ver en la Tabla 3.4 que la cantidad de mano de obra calificada en la PEA es mayor en la provincia de Mendoza y prácticamente igual en las de Neuquén y Río Negro.

Provincia	Habitantes	PEA	PEA		
			Sec. Completo	Univ. Incompleto	Univ. Completo
Mendoza	1 886 000	1 029 756	265 677	155 493	248 171
Neuquén	637 913	349 576	111 515	40 201	123 117
Río Negro	638 645	349 977	111 643	40 247	123 258

*Tabla 3.4:* Estimación de la mano de obra calificada en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2017.

### 3.1.3. Transporte

El factor transporte puede ser cuantificado en base a las rutas provinciales, y los kilómetros de caminos pavimentados y no pavimentados. Esto es un indicador del estado de los caminos para la circulación de vehículos, lo cual es importante, ya que en nuestro país la circulación vial es la única forma de transporte para los insumos, el producto terminado y la movilización de los trabajadores. La

falta caminos en buen estado representa pérdidas de tiempo, gastos económicos extras e incumplimiento con clientes. Otro aspecto a prestar atención son las inversiones comprometidas y programas a futuro en cada una de las provincias a evaluar, ya que nos permitirá hacer estimaciones a futuro sobre la valoración del factor transporte.

Según información aportada por la Dirección Nacional de Viabilidad Nacional y la Cámara Argentina de la Construcción (CAMARCO) a términos del año 2015, Mendoza es la provincia que cuenta una mayor cantidad de kilómetros de ruta pavimentadas y una mayor inversión comprometida y programada a futuro para la infraestructura de los caminos viales, seguida por Río Negro y en último lugar Neuquén.

Provincia	Rutas pavimentadas (Km)	Tipo de obra	Inversión comprometida	Inversión programada
			(millones \$) 2015 - 2020	(millones \$) 2016 - 2025
Mendoza	4 882	Repavimentación	148.4	2 508.2
		Duplicación	750.2	1 956.6
		Seguridad/accesibilidad	38.7	611.0
		Pavimentación 1+1	2 437.8	612.0
		Mantenimiento	0.0	2 427.3
		TOTAL	3 375.1	8 115.1
Neuquén	2 465	Repavimentación	0.0	2 034.0
		Duplicación	281.8	36.0
		Seguridad/accesibilidad	64.0	261.0
		Pavimentación 1+1	23.0	0.0
		Mantenimiento	0.0	1 576.1
		TOTAL	368.8	3 907.1
Río Negro	2 680	Repavimentación	244.4	2 011.0
		Duplicación	1 672.8	665.0
		Seguridad/accesibilidad	171.3	496.0
		Pavimentación 1+1	1 283.3	0.0
		Mantenimiento	0.0	2 951.0
		TOTAL	3 371.8	6 123.0

Tabla 3.5: Estado de rutas al año 2015 e inversiones comprometidas y programadas a futuro.

### 3.1.4. Energía eléctrica

La energía eléctrica es una pieza fundamental en toda industria, tanto para el proceso productivo en sí, como servicios auxiliares, equipos de laboratorio u oficina. Para evaluar el servicio eléctrico en cada provincia nos centraremos en tres aspectos. El primero es la potencia nominal instalada, la cual es la capacidad de transmitir la energía eléctrica en un momento determinado a todas las máquinas instaladas en la misma red eléctrica. La generación de energía eléctrica, que es la capacidad de cumplir

con la demanda de consumo eléctrico por el tiempo en que todas las máquinas conectadas a la red eléctrica estén en funcionamiento. Por último, el sistema de distribución de energía eléctrica, el cual indica en términos kilómetros, los tendidos de líneas de alta y media tensión o la densidad de la potencia nominal en el territorio, dando una perspectiva de la infraestructura del servicio de distribución eléctrico en cada provincia.

Gracias a la información aportada por el “Informe Estadístico del Sector Eléctrico” del año 2015, proveniente del Ministerio de Energía y Minería de la República Argentina, y datos del Ente Nacional Regulador de la Electricidad (ENRE), determinamos que la provincia con mayor potencia nominal instalada y generación eléctrica es ampliamente Neuquén, seguida por Mendoza y Río Negro. Sin embargo, en cuanto al sistema de distribución, la provincia de Mendoza toma la delantera, seguida por las provincias de Neuquén y Río Negro de forma muy equivalente.

Provincia	Potencia nominal (MW)	Generación eléctrica (MWh)	Líneas de alta y media tensión (Km)
Mendoza	1 430	5 130 153	1 259
Neuquén	5 692	17 540 040	765
Río Negro	511	1 313 220	602

*Tabla 3.6:* Comparación del sistema eléctrico entre las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2015.

Como vemos, la provincia de Neuquén cuenta una gran capacidad de potencia nominal y generadora de energía eléctrica para un tendido de red de pocos kilómetros, lo cual le confiere una alta densidad territorial en ambas cualidades. Esto es debido a la gran presencia de centrales eléctricas de origen térmico e hidráulico en la zona (40 en total), donde se destacan las centrales Alicura, Piedra del Aguila y El Chocon. La provincia de Mendoza también cuenta con centrales eléctricas, pero su número (15 en total) y relevancia son menores comparadas a las de Neuquén.

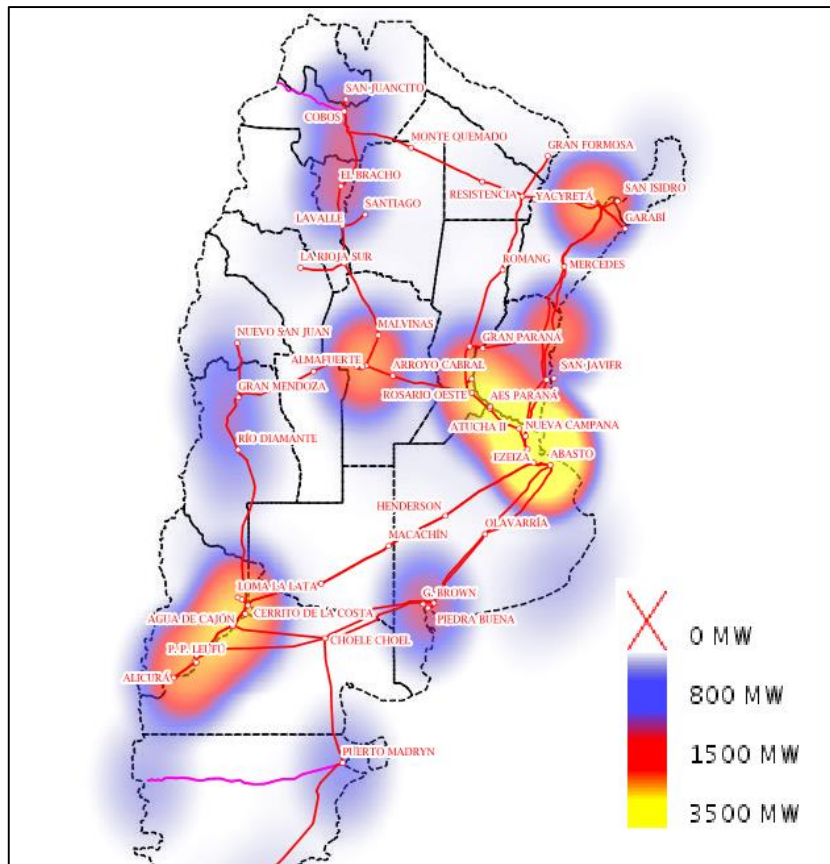


Fig. 3.2: Densidad de la potencia nominal instalada en la Argentina, al año 2015.

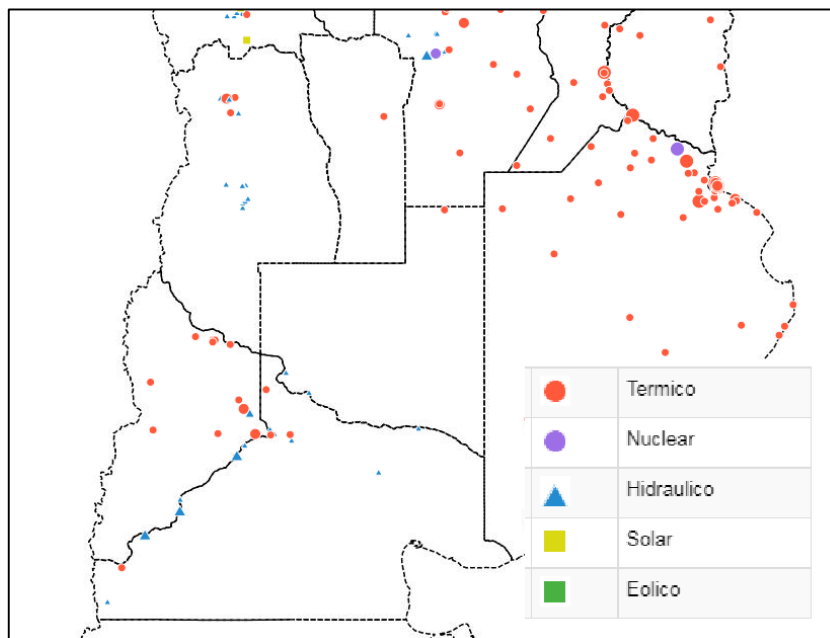


Fig. 3.3: Centrales eléctricas de distinto origen instaladas en la zona central de Argentina, al año 2015.

Otro parámetro a considerar, es el costo del servicio de energía eléctrica. Si la industria tiene una gran demanda energética, esta tendrá un gran peso en los costos de producción. Por lo tanto, los cuadros tarifarios de cada región deben ser estudiados con atención.

A la hora de definir una tarifa cada empresa prestadora las establece de formas diferentes, dependiendo de cantidad de energía (kWh consumidos), costos fijos, la utilización de líneas de baja, media o alta tensión, franja horaria del uso, etc. Sin embargo, a modo comparativo, utilizando información aportada por la Fundación para el Desarrollo Eléctrico (FUNDELEC), al mes de octubre del año 2016, sobre los cuadros tarifarios residenciales (para un consumo de 500 kWh/bimestral y exento de impuestos y cargos adicionales) en las distintas provincias de la República Argentina, podemos ver que la provincia de Mendoza tiene el menor cuadro tarifario, seguida por Río Negro y muy por atrás Neuquén. Aunque cabe aclarar, que este dato debe validar su consistencia para cuadros tarifarios de grandes consumidores.

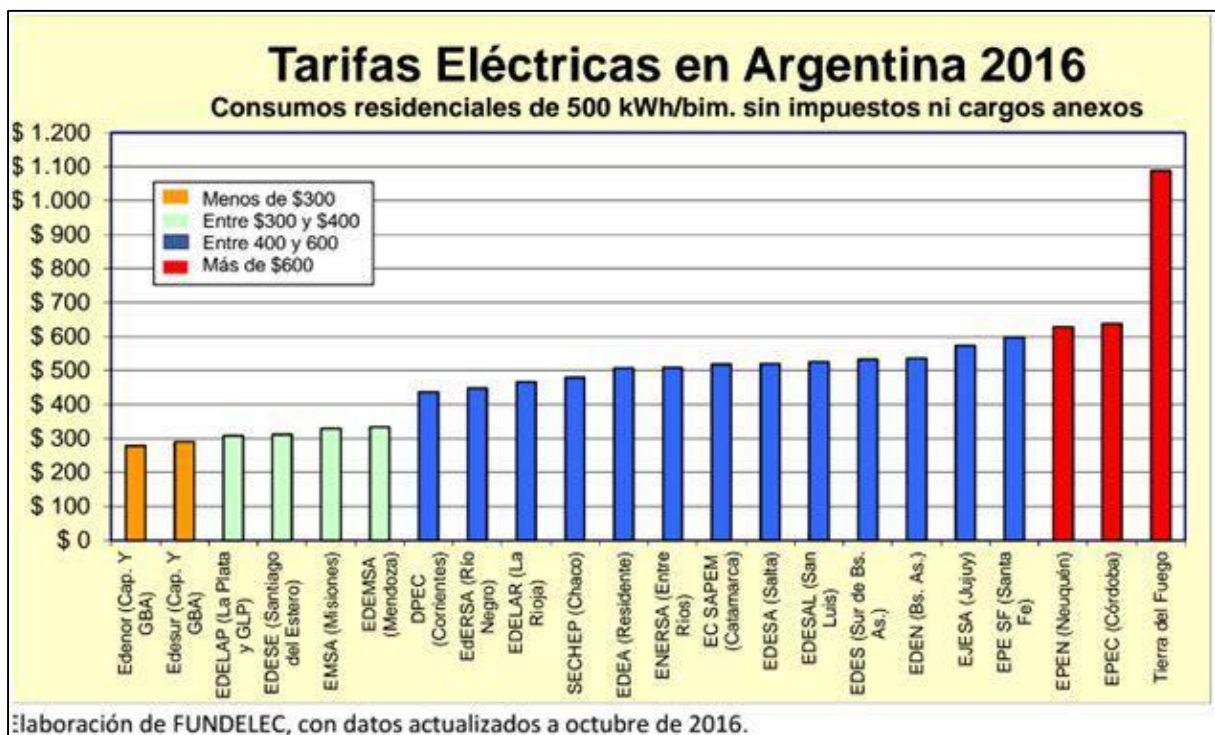


Fig. 3.4: Comparación de la tarifa eléctrica residencial en Argentina, al mes de octubre del año 2016.

### 3.1.5. Gas natural

Al igual que la energía eléctrica, el gas natural puede cumplir un rol determinante en nuestro proceso productivo, dependiendo de la clase de equipos que se elijan para ello, así como para servicios auxiliares que utilizaran durante el transcurso del mismo. Debe evaluarse para este factor, el gas



entregado y su distribución entre los diferentes usuarios (residenciales, pequeños y medianos comerciantes e industriales, grandes usuarios industriales y generación de eléctrica, como combustible vehicular y subdistribuidores) por área de licencia. Cabe aclarar, que el termino área de licencia se utiliza porque las provincias de Neuquén y Río Negro están bajo área de servicio de la empresa Camuzzi Gas de Sur, mientras que la provincia de Mendoza pertenece al área de licencia de Distribuidora Gas Cuyana.

En base al informe del año 2016 del Ente Nacional Regulador del Gas (ENERGAS), podemos observar que la empresa Camuzzi Gas del Sur tiene una capacidad de suministro mayor en prácticamente todos los tipos de consumidores.

Provincia	Empresa	Residencial	PyM Us.	Grandes Us.	GNC	SDB	TOTAL
		MM m <sup>3</sup> /día de 9.300 Kcal					
Mendoza	Distribuidora Gas Cuyana	2,060	0,414	3,434	0,766	0,194	6,868
Neuquén	Camuzzi Gas del Sur	6,781	1,493	13,197	0,150	0,672	22,293
Río Negro							

*Tabla 3.7:* Distribución del servicio de gas a distintos usuarios por las empresas Camuzzi Gas del Sur y Distribuidora Gas Cuyana al año 2016.

Por otro lado, según las empresas Camuzzi Gas del Sur y Distribuidora Gas Cuyana, al mes de abril del año 2018, los cuadros tarifarios para grandes usuarios son mucho mayores para la segunda que para la primera.

Provincia	Empresa	Grandes usuarios	Cargo fijo	Cargo por m <sup>3</sup> /día
Mendoza	Distribuidora Gas Cuyana	Desde 1.000 m <sup>3</sup> /día	7 267.18	4.675
		Desde 10.000 m <sup>3</sup> /día	14 461.12	3.219
Neuquén	Camuzzi Gas del Sur	Desde 1.000 m <sup>3</sup> /día	4 223.65	2.248
		Desde 10.000 m <sup>3</sup> /día	8 404.34	0.665
Río Negro	Camuzzi Gas del Sur	Desde 1.000 m <sup>3</sup> /día	4 223.42	2.236
		Desde 10.000 m <sup>3</sup> /día	8 404.34	0.662

*Tabla 3.8:* Cuadros tarifarios para grandes usuarios de las empresas Camuzzi Gas del Sur y Distribuidora Gas Cuyana, al año 2018.

### 3.1.6. Agua

El agua es un recurso fundamental para toda industria, ya sea para incorporarla en forma directa al proceso productivo como materia prima o para cumplir un rol auxiliar al mismo (por ejemplo, como medio de intercambio de calor, generación de vapor, activación de mecanismos hidráulicos, etc.), además de servicios sanitarios básicos de uso diario.

Los recursos hídricos superficiales, como el caudal de ríos, son importantes para el desarrollo socioeconómico de las regiones áridas y semiáridas (como pertenecen las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro), como fuente de abastecimiento a la población, la industria y el riego. Las aguas de origen subterráneo son aprovechables, pero presentan limitaciones para determinados usos por la calidad y vulnerabilidad de los acuíferos explotables, ya sea, por el uso no sustentable que se realiza sobre los mismos, o de la contaminación de los sistemas provocada por la contaminación humana. Otro aspecto importante a analizar, es el servicio de cobertura de agua de red y cloaca por habitante en cada provincia, ya que es un indicador de calidad de sanitaria.

Gracias a la información provista por el informe “Plan Nacional Federal de los Recursos Hídricos” del Consejo Hídrico Federal (CONIFE), y el de la “Cobertura de los Servicios de Agua y Saneamiento a Nivel Nacional” de la Cámara Argentina de la Construcción (CAMARCO), al año 2015, nos permitió analizar los recursos hídricos de cada provincia y la cobertura del servicio de agua de red y cloaca. Observamos una amplia ventaja de las provincias de Neuquén y Río Negro por sobre la de Mendoza en la disponibilidad de recursos hídricos superficiales. En cuanto al servicio de agua de red, es muy similar para todas las provincias en cuestión. Sin embargo, al analizar el servicio de cloaca se alza con una ventaja la provincia de Neuquén por sobre la de Mendoza y Río Negro.

Provincia	Cuerpo de agua	Caudal medio anual (m <sup>3</sup> /seg)
Mendoza	Río Tunuyán	30
	Río Diamante	35
	Río Atuel	35
Neuquén	Río Neuquén	300
	Río Limay	700
Río Negro	Río Negro	1 000
	Río Colorado	130

*Tabla. 3.9: Caudal medio anual de los cuerpos de agua de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2015.*

Provincia	Servicio de agua de red (Hab.)	Servicio de cloaca (Hab.)	Servicio de agua de red (%)	Servicio de cloacas (%)
Mendoza	1 688 080	1 171 040	90	63
Neuquén	555 915	429 386	94	73
Río Negro	633 431	420 008	93	62

*Tabla 3.10:* Cobertura de los servicios de agua de red y cloaca en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2015.

### 3.1.7. Características ambientales

Las temperaturas máximas y mínimas, nivel de precipitaciones y frecuencia de acontecimientos catastróficos, son algunos de los factores climáticos a analizar. En algunas industrias existen preferencias por determinados tipos de climas, por ejemplo, la industria textil del algodón requiere de un clima húmedo. En el caso de nuestra industria, un bajo nivel de precipitaciones beneficiara las etapas de secado, además, la temperatura óptima de nuestro proceso de fermentación ronda los 20°C, por lo que es deseable que la temperatura media anual de la región ronde dicho valor.

Según los datos del Servicio Meteorológico Nacional, tomando un promedio con los datos desde 1960 hasta el 2010, se observa que, entre las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, no hay una diferencia significativa con la temperatura promedio anual. Pero si lo hay respecto al promedio de milímetros de precipitaciones anuales, siendo la más alta en Río negro y la más baja en Neuquén. Sin embargo, este último dato depende mucho de cada zona en cuestión, por lo tanto, no es un factor al que deba dársele una gran preponderancia.

Provincia	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Promedio
Mendoza	Temperatura media (°C)												
	23	22.5	20	15	11.5	9	8	10	12.5	16	19	22	15.5
	Precipitaciones (mm)												
	61	42.8	37.2	26.1	15.6	9.1	13.2	16	27.5	30.3	38	45.3	362.1
Neuquén	Temperatura media (°C)												
	23.5	22.5	19.5	14.5	9.5	7.5	6.5	9	11.5	15.5	19.5	22	15
	Precipitaciones (mm)												
	12.5	11.9	23.6	15.3	21.1	23.5	15.9	11.4	19.3	20.3	14.5	11.3	200.6
Río Negro	Temperatura media (°C)												
	24.5	23	20	15.5	11.5	9	8.5	10.5	12.5	16.5	20.5	22.5	16
	Precipitaciones (mm)												
	56.6	53.7	78.7	40.7	27.8	28.8	29	27.7	33.3	48.8	34.1	46.2	505.4

*Tabla 3.11:* Temperatura media y nivel de precipitaciones en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, datos históricos desde 1960 a 2010.

Por otro lado, se busca eludir la localización de la planta en regiones con regularidad de inundaciones, sequías, sismos u otros fenómenos naturales con implicaciones destructivas, ya que significa la construcción de edificios con materiales y técnicas especiales, el párate imprevisto de la producción o incluso un daño estructural directo sobre las instalaciones.

Al representar los epicentros de los sismos registrados en la Argentina se observa que la mayor parte de la actividad sísmica se concentra en la región centro-este y noroeste de nuestro país (abarcando las provincias de Mendoza, La Rioja, Catamarca, Córdoba, Salta y Jujuy), debido a su cercanía con el cordón montañoso de los Andes, y la inserción de la placa tectónica Sudamericana con la de Nazca, la transforma en una zona tanto de actividad sísmica, como volcánica recurrente.

La actividad volcánica, dependiendo de la actividad particular de cada volcán, puede traer aparejada actividad sísmica, no por el desplazamiento de las placas tectónicas, sino por el movimiento de flujos de magma. Los volcanes activos pueden expulsar cenizas, generando nubes que pueden dispersarse por largas distancias y representando un riesgo para la salud humana, la flora y fauna de las regiones afectadas.

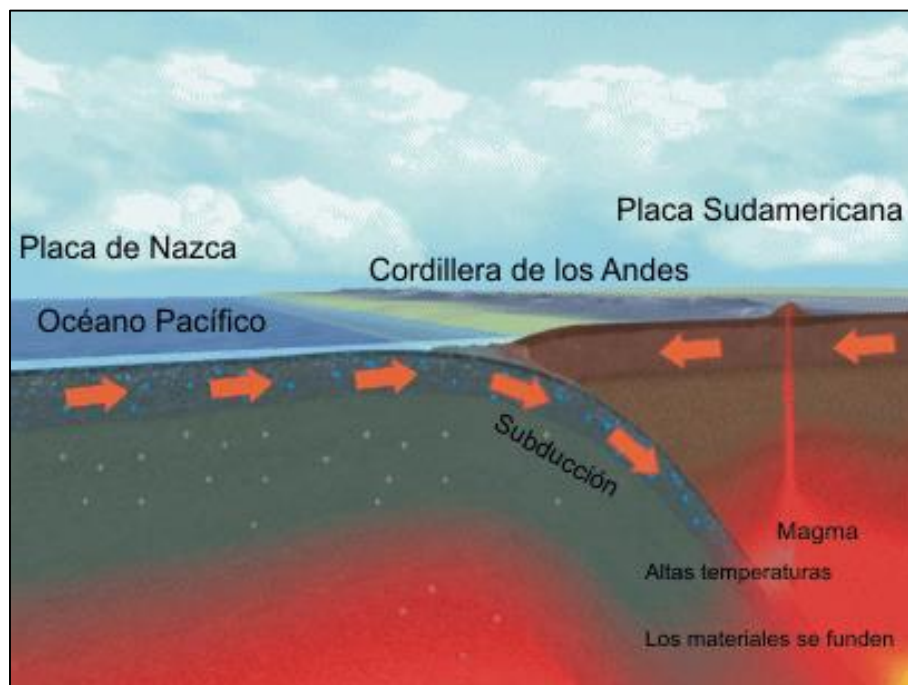


Fig. 3.5: Subducción de la placa de Nazca con la Sudamericana.

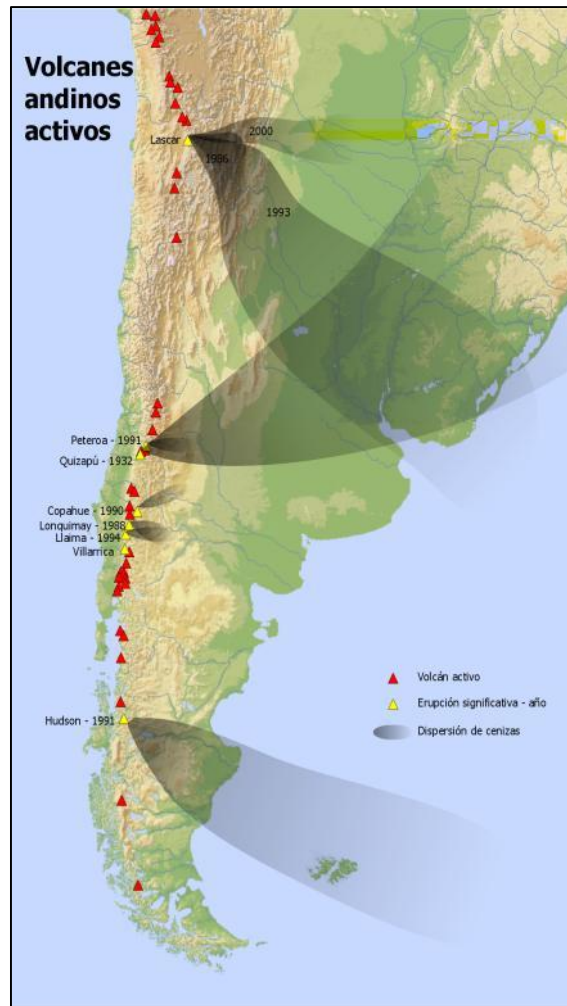


Fig. 3.6: Actividad volcánica en Sudamérica.

En el año 2015, la erupción del volcán chileno Calbuco provocó que las cenizas emitidas se desplazaran por el territorio argentino afectando principalmente a tres áreas. En primer lugar, las zonas adyacentes al volcán Calbuco (oeste de Río Negro y sur de Neuquén) debido a la pluma del volcán. La segunda área afectó el sur de Cuyo (Mendoza y San Luis), La Pampa, y Centro y Sur de Buenos Aires. Finalmente, la tercera zona afectó el este de Córdoba, Centro y Sur de Santa Fe, Centro y Sur de Entre Ríos, extremo Norte de la provincia de Buenos Aires y la República Oriental del Uruguay.

### 3.1.7.1. Características ambientales en Mendoza

En las montañas y el pie de monte se producen nevadas todos los inviernos, y más cerca del llano precipita la lluvia en forma de granizo. La orientación norte-sur de la cordillera no impide el avance del aire tropical ni del polar, lo cual, en conjunción con la altura, propicia las condiciones para el desarrollo del viento Zonda.

El viento Zonda, se origina en el océano Pacífico sur, y al atravesar la cordillera, pierde su humedad en los faldeos cordilleranos de Chile, pasando como viento seco a las provincias andinas. Al descender, en el Baldeo oriental de la cordillera, se va calentando, hasta llegar a la región como un viento cálido, seco, sofocante, con temperaturas que pueden superar los 40°C. Se manifiesta con mayor intensidad en los meses de agosto y septiembre. Los vientos del Atlántico, debido a la distancia con la región, tienen una acción perceptible en el verano. Su acción origina las características tormentas del desierto, torrenciales, concentradas en espacio y tiempo, que se producen principalmente en el período de diciembre a febrero.

Por otro lado, Mendoza es una provincia con una actividad sísmica constante. Según los registros sísmicos del Instituto Nacional de Prevención Sísmica, se registran un promedio de 10 microsismos mensuales de magnitud promedio menor a 3, y entre 1 o 2 significativos al mes.

Fecha	Magnitud	Profundidad (Km)
01/04/2018	3.1	115.2
31/03/2018	2.6	122.7
28/03/2018	2.8	127.8
22/03/2018	3.6	26.0
19/03/2018	5.0	126.3
07/02/2018	2.9	13.5
24/12/2017	4.3	14.3
22/12/2017	4.4	7.4
01/12/2017	4.4	126.9

*Tabla 3.12: Últimos sismos significativos registrado en la provincia de Mendoza.*

Por último, existen 8 volcanes activos en la provincia, entre ellos, el Tupungatito o Bravard en Tunuyán, el San José, también ubicado en Tunuyán, el Maipo, en San Carlos, el Sosneado, en San Rafael, el Risco Plateado, el conjunto Planchón-Peteroa y el Payún Matrú, todos en Malargüe, y el grupo volcánico Cochiquito, sobre Barrancas.

### **3.1.7.2. Características ambientales en Neuquén**

El clima de Neuquén se lo clasifica como continental frío y seco, a excepción del sudoeste, que es frío y húmedo. Se pueden distinguir cuatro tipos de climas bien diferenciados.

- **El nival.** Abarca la zona de alta montaña a lo largo de la cordillera de los Andes. Las temperaturas son bajas, con promedios de congelación durante casi todo el año. El clima es seco y las precipitaciones varían entre los 300 y 500 mm anuales.
- **El clima húmedo de la cordillera patagónica.** Se localiza en el área cordillerana al sur de Pino Hachado, a causa de que la baja altitud de la cordillera permite la entrada de los vientos húmedos del Pacífico. Se extiende hasta el lago Nahuel Huapi. Los veranos son frescos y los inviernos fríos, con fuertes nevadas y precipitaciones, En algunos puntos el nivel de lluvias alcanza registros superiores a los 4.800 mm anuales. La temperatura media anual es de 8 a 10°C.
- **El clima árido de la estepa patagónica.** Se ubica sobre parte de la Meseta Patagónica y los Andes de Transición. Es un clima de características muy ventosas, frío, con estación templada y muy seco. El promedio anual de lluvias oscila entre los 150 y 300 mm al oeste.
- **El clima semiárido.** Comprende la parte norte y este de la provincia. Las precipitaciones son inferiores a los 150 mm anuales. Los veranos son cálidos, con temperaturas de hasta 40°C durante el día con noches frescas. Los inviernos son fríos, registrándose valores mínimos de hasta -14 °C y una temperatura media invernal bajo cero.

Por otro lado, según el Instituto Nacional de Prevención Sísmica, la presencia de microsismos y sismos significativos es menos frecuente que en la provincia de Mendoza.

Fecha	Magnitud	Profundidad (Km)
16/03/2018	3.7	178.1
05/01/2018	3.1	137.6
26/12/2017	4.3	203.2
25/09/2017	4.6	231.7
17/09/2017	4.2	116.8
13/07/2017	4.4	284.3
14/03/2017	3.3	196.6
25/12/2016	2.8	30.1
27/11/2016	3.1	3.7

*Tabla 3.13:* Últimos sismos registrado en la provincia de Neuquén.

Por último, según el Grupo de Estudio y Seguimiento de Volcanes Activos (GESVA), de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, en Neuquén existe un gran número de volcanes activos.

- **Grupo volcánico Cochiquito.** Se trata de un grupo de volcanes jóvenes ubicados al norte de la localidad de Buta Ranquil, cerca donde el Río Grande y el Río Barrancas se unen para formar el Río Colorado.
- **El Volcán Cochiquito.** Es un estratovolcán basáltico alcalino de edad estimada Pleistoceno-Holoceno que tienen ocho conos satélites.
- **Volcán Tromen.** Se trata de un estratovolcán de edad. Se reportó una erupción en 1822 pero no ha sido confirmada.
- **Volcán Copahue.** Posee más de 12 erupciones registradas en los últimos 250 años y las más recientes datan de 1992, 1995 y 2000, 2012, 2013, 2014 y 2015.
- **Volcán Lanín.** Es el extremo oriental de una alineación noroeste-sureste, transversal a los Andes, de un grupo de volcanes que incluye al Villarrica. Fue reportado activo después de un terremoto en 1906, pero no hay erupciones históricas conocidas.
- **Complejo Huanquihué.** Consiste de una cadena de estratovolcanes de edad pleistocena, alineados con dirección noroeste-suroeste.

### 3.1.7.3. Características ambientales en Río Negro

La mayor parte del territorio presenta clima frío seco. En la cordillera tiene precipitaciones de 2.000 a 3.500 mm anuales y en el resto de 600 a 660 mm. El invierno es crudo, y el verano presenta altas temperaturas, las cuales pueden variar de -25°C (Maquinchao) hasta poco más de 45°C (Choele Choe). Predominan los vientos secos del oeste y sudoeste.

Parte del norte y noreste de la provincia, está ubicada en el Pasillo de los Tornados, una zona donde los tornados y las tormentas severas son frecuentes en el verano. La mayoría de los registros sobre estos fenómenos son de tormentas severas o de microrráfagas, que son vientos muy fuertes que descienden en un área muy localizada causando innumerables destrozos. Las tormentas de granizo



también son muy proclives en la zona del valle medio. Según el Servicio Meteorológico Nacional, muestra el registro de tornado hasta la fecha.

- El viernes 5 de noviembre de 1993, un tornado de categoría F1 impactó la zona de Allen en el Alto Valle del Río Negro causando la pérdida total de las plantaciones de fruta por el enorme granizo de 10 cm que cayó. El tornado pasó por las chacras dañando los álamos, dejándolos sin follaje y partidos a la mitad. No hubo que lamentar víctimas ya que fue en las afueras de la ciudad, el fenómeno fue en el mismo año que se dio la extrema y extensa Oleada de tornados de Buenos Aires de 1993 donde se produjeron más de 300 tornados en una noche.
- El domingo 4 de marzo de 2012, un tornado F1 golpeó el pequeño poblado de Cardenal Cagliero en el extremo sur de la Provincia de Buenos Aires. El evento causó la destrucción de una ferretería, voló muchos árboles y dañó severamente la subdelegación local. Anteriormente, el evento golpeó parte de la conurbación Viedma-Carmen de Patagones dañando muchos árboles y volando algunos postes de luz.
- En la tarde del 7 de noviembre de 2013, un tornado de categoría F1 impactó la zona de chacras y el Barrio Unión en la ciudad de Río Colorado causando voladura de árboles, de asilos y de galpones.
- En medio de una situación de tiempo severo, la ciudad de General Conesa sufrió el embate de un enorme tornado que hasta el momento no se ha catalogado. Produjo daños en el poblado, pero no hubo heridos ni muertos. El tornado ocurrido el 21 de enero de este 2016.

Por otro lado, según el Instituto Nacional de Prevención Sísmica, no se han registrado movimientos sísmicos en la provincia de Río Negro hasta la fecha.

Por último, en Río Negro existe solamente un volcán, el Monte Tronador, geológicamente inactivo. Sus últimas erupciones datan de cerca de 1 millón de años y se encuentra en la zona sur de la Cordillera de los Andes, en la frontera entre Argentina y Chile cerca de la ciudad de Bariloche, Argentina.

### 3.1.8. Mercado

La instalación cercana de la empresa a los compradores depende de una serie de factores, como ser, el volumen de ventas, la distribución territorial de los mercados en las zonas de interés y los costos asociados al transporte. Como se vio en la sección 2 (el estudio de mercado), nuestros principales compradores son los acuicultores de trucha arcoíris, los cuales se concentran en la provincia de Neuquén, más específicamente en la región de Piedra del Águila.

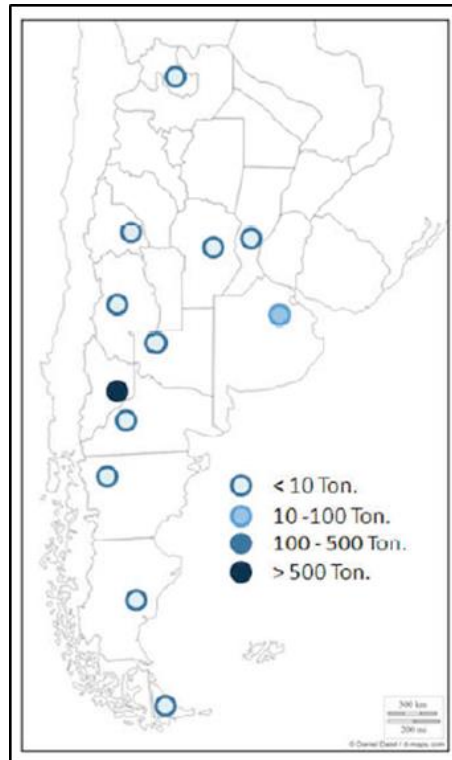


Fig. 3.7: Zonas de producción de trucha arcoíris, al año 2016.

### 3.1.9. Tratamiento de residuos

Las industrias generan gran cantidad de residuos, muchos de los cuales son recuperables. El problema es que las técnicas para reaprovecharlos son caras y en muchas ocasiones no compensa económicamente hacerlo.

Los residuos inertes como ser, los escombros, gravas, arenas y demás, no presentan riesgo para el ambiente. Sin embargo, su inadecuada disposición final puede traer aparejado un impacto negativo desde la visual del sitio en cuestión, razón por la cual deben escogerse lugares, como canteras abandonadas o minas al aire libre, para luego recubrirlos con tierra y plantas de manera de reconstruir el paisaje. Los residuos similares a los sólidos urbanos producidos en las industrias suelen ser

recogidos y tratados de forma similar al resto de los residuos sólidos urbanos (RSU). Los residuos peligrosos, son sustancias inflamables, corrosivas, tóxicas o capaces de producir reacciones químicas, que pudieran poner en riesgo la salud humana o el medio ambiente. La industria química es la que más contribuye a la producción de este tipo de residuos, responsable de alrededor de un tercio de todos los que se generan, seguidas de la automotriz, la metalurgia, la industria papelera y alimenticia

La primera medida considerar es la posibilidad de generar menos residuos o aprovecharlos en otras etapas del proceso. El surgimiento de nuevas tecnologías permite la fabricación de productos con menor producción de residuos, lo que tiene por ventaja la reducción de costos debido al menor desperdicio de materias primas. Sin embargo, al final de todo proceso industrial siempre se generan residuos, en mayor o menor medida. Por eso, en la gestión de residuos inertes, se debe considerar la existencia de lugares adecuados para su disposición final. En el caso de los residuos peligrosos, su tratamiento y confinamiento de manera de minimizar su riesgo. Esto se consigue con diversos procedimientos, dependiendo de cuál sea el tipo de residuo peligroso en cuestión.

- **Los tratamientos físicos, químicos y biológicos.** Consiste en someter a los residuos a procesos físicos (filtrado, centrifugado, decantado, entre otros), biológicos (fermentaciones, digestiones por microorganismos, entre otros) o químicos (neutralizaciones, reacciones de distinto tipo). De esta forma se consigue transformar el producto peligroso, en otros que no lo son o lo son en menor medida y pueden llevarse a rellenos sanitarios, vertederos o usarse como materia prima en otros procesos.
- **La incineración.** Consiste en quemar los residuos en incineradoras especiales. Suele ser el mejor método de deshacerse de los residuos peligrosos. Disminuye drásticamente su volumen y, además permite obtener energía en muchos casos. Entre sus aspectos negativos están las emisiones de gases y las cenizas que se forman.
- **El vertido.** Consiste en que al final de todo proceso siempre hay materias que deben disponerse en rellenos sanitarios o vertederos. Esto es especialmente delicado, ya que debe garantizarse que no se contaminarán las aguas subterráneas o superficiales, que no habrá emisiones de gases o filtraciones de productos tóxicos y que el agua de lluvia no entrará, ya que luego podría salir cargada de contaminantes.

En lo que a nuestra industria respecta, los sólidos residuales (el hollejo de uva exhausto a la salida de la etapa de maceración), son ricos en nutrientes que pueden ser usados como abono o disponerlos

como residuos sólidos urbanos, ya que pueden ser clasificados dentro de la categoría de residuos orgánicos. Por otro lado, los efluentes deben ser previamente tratados antes de devolverla a los cursos de agua, debido al contenido de materia orgánica y microorganismos, sin embargo, se buscará el máximo aprovechamiento de los recursos hídricos para su reutilización.

Según los informes “Residuos Sólidos Urbanos en Argentina” y “Estudio de Estrategia y Factibilidad de la Gestión de Residuos Sólidos Urbanos para la República Argentina” de la Cámara Argentina de la Construcción (CAMARCO), al año 2015, puede verse que la provincia con mayor generación de residuos sólidos urbanos, per cápita y por cantidad de habitantes, es Mendoza, seguida de Neuquén y Río Negro. En cuanto a la correcta disposición final de los residuos, Neuquén es la provincia que posee mayor cantidad de rellenos sanitarios, vertederos controlados y menor cantidad de basurales.

Provincias	GPC (Kg/Hab.día)	Generación (Tn/día)	Planta de separación	Relleno sanitario	Basural
Mendoza	1.15	2 129.82	4	5	16
Neuquén	0.92	559.44	2	5 + 3 Vertederos	9
Río Negro	0.86	530.81	3	1 Vertedero	12
GPC: Generación per cápita					

*Tabla 3.14:* Situación de la gestión de recursos sólidos urbanos en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2015.

### 3.1.10. Comunicaciones

En la actualidad, no puede pensarse en el desarrollo de un país desde el punto de vista social, cultural y económico, si no cuenta con una adecuada infraestructura de telecomunicaciones que brinde a sus habitantes acceso a servicios conocidos como Tecnologías de la Información y Comunicación (TIC). Según la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), la banda ancha es hoy parte de la infraestructura básica que requiere un país para alcanzar su pleno potencial de desarrollo económico y social, como fueron anteriormente, el sistema ferroviario, las redes eléctricas y las autopistas. De la misma manera, los servicios de telecomunicaciones representan una parte fundamental para el funcionamiento y crecimiento de las industrias. La articulación interna entre los diferentes sectores de las compañías, el rápido contacto con proveedores y clientes, son ejemplos de los beneficios que hoy en día ofrecen las telecomunicaciones.

Entre los principales servicios de telecomunicaciones a evaluar esta la teledensidad (acceso a telefonía fija y móvil) y acceso a internet (servicio de banda ancha). Según los datos del “Informe Anual” del

Ente Nacional de Comunicaciones (ENACOM), al año 2017, se observa que la provincia de Mendoza es la que mejor acceso y cobertura de servicio de telefonía fija posee. En cuanto a telefonía móvil Neuquén posee mayor acceso a este servicio, pero Mendoza los supera en cobertura territorial. Por último, en lo que respecta al servicio de conexión de internet, Neuquén es el que posee mayor acceso al servicio, mientras que el nivel de cobertura, prácticamente comparte el primer lugar con Mendoza.

Provincia	Telefonía fija		Telefonía móvil		Acceso a internet	
	(Líneas/100 hab.)	Por Km <sup>2</sup>	(Líneas/100 hab.)	Por Km <sup>2</sup>	(Conex./100 hab.)	Por Km <sup>2</sup>
Mendoza	19.48	2.33	152.33	18.76	9.96	1.06
Neuquén	14.30	0.91	201.58	13.45	18.11	0.97
Río Negro	19.50	0.63	132.66	4.66	14.92	0.48

Tabla 3.15: Situación de los servicios de telecomunicaciones en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2017.

Otro aspecto a analizar, es la infraestructura de las redes de comunicación, que es la que permite el transporte de diversos servicios (telefonía fija, telefonía móvil y acceso a internet) por largas distancia, estructurada por redes troncales y sus nodos. Los vínculos que unen los nodos troncales, en su mayoría son radioeléctricos o de fibra óptica.

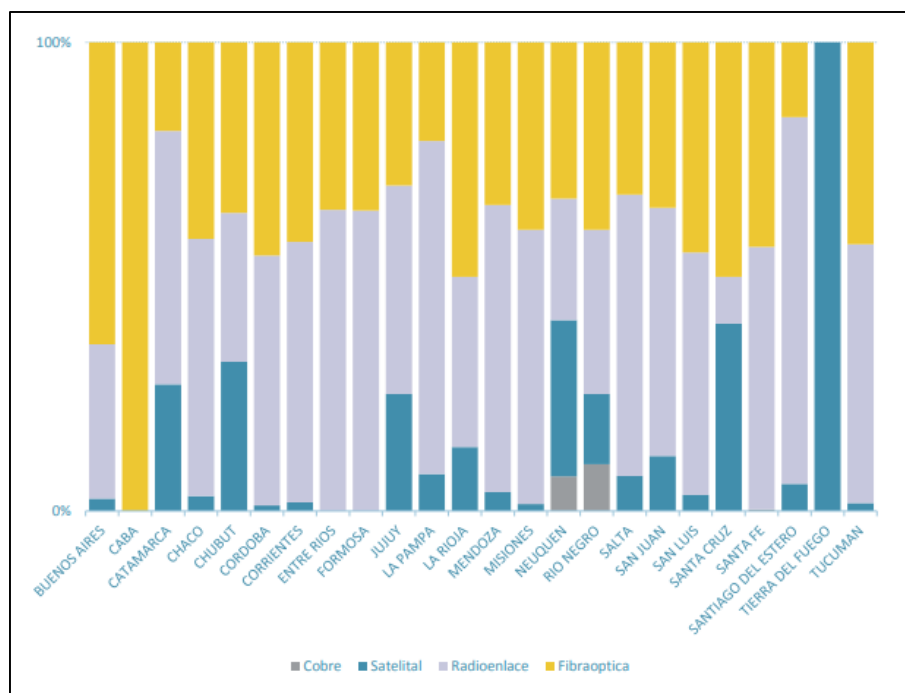


Fig. 3.8: Relación de tipos de vínculos por provincia en Argentina, al año 2017.

### 3.1.11. Impuestos

En Argentina los tributos son recaudados por el gobierno nacional, las provincias y las autoridades municipales. El sistema tributario actual se encuentra estructurado principalmente sobre la imposición a la renta, al patrimonio y al consumo.

El impuesto es el tributo, exacción o la cantidad de dinero que se paga a las administraciones públicas y al Estado obligatoriamente, y está establecida sobre las personas, físicas o jurídicas, para contribuir con la hacienda pública, financiar los gastos del estado y otros entes y servicios públicos, como la construcción de infraestructuras (eléctricas, carreteras, aeropuertos, puertos), prestar los servicios públicos de sanidad, educación, defensa, sistemas de protección social (desempleo, prestaciones por invalidez o accidentes laborales). Según el informe “Costo Argentino” de la Cámara Argentina del Comercio y Servicio, al mes de agosto del año 2017 se observa que, de las provincias a evaluar, Mendoza es la que mayor carga tributaria subnacional posee, seguida de Río Negro y Neuquén. Entre los impuestos más relevantes que las empresas afrontan hoy en día se encuentran.

- **El costo laboral.** Se incluyen dentro del mismo las contribuciones patronales con destino al régimen jubilatorio, sistema de obras sociales y seguro de accidentes. En la actualidad, del monto total que los empleadores pagan en concepto de salario por trabajador registrado, el 37% corresponde al peso de los aportes, contribuciones y cargas.
- **Impuesto sobre los ingresos brutos.** Este impuesto es la principal fuente de ingresos tributarios propios de las provincias y se aplica sobre las actividades económicas, con la particular característica de que se calcula sobre las ventas en todas las etapas.

Provincias	Alicuota de ingresos brutos (%)
Mendoza	4.5
Neuquén	3.0
Río Negro	3.5

*Tabla 3.16:* Alicuota de ingresos brutos en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2016.

- **Comercio e industria municipal.** Se toman en cuenta las alícuotas y tasas de los tributos que abonan determinados comercios por su actividad en los principales municipios. Corresponden a la tasa de seguridad e higiene, a la contribución de inspección del comercio, al tributo

económico municipal y a la tasa por registro, inspección y servicios de contralor, según la denominación adoptada en cada ciudad.

Provincias	Alicuota municipal promedio (%)
Mendoza	0.05
Neuquén	0.71
Río Negro	0.81

*Tabla 3.17:* Alicuota de municipal promedio en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2016.

- **Impuesto al cheque.** También conocido como impuesto a los créditos y débitos bancarios. Este impuesto afecta los movimientos bancarios gravando los créditos y débitos en cuenta corriente con una tasa de 0.6% (6 por mil). Dado que los responsables inscriptos, para poder computar crédito fiscal por sus compras y gastos, deben abonar con medios de pago autorizados todas las operaciones superiores a \$1.000, se considera el supuesto de bancarización total de los mismos. Es decir, el costo derivado de este impuesto es el 1% del total de las ventas brutas (el restante 0.2% no se considera costo porque puede ser tomado a cuenta de otros impuestos).
- **Impuesto a las ganancias.** Es una de las principales fuentes de recaudación tributaria a nivel nacional. Se trata de un impuesto sobre la renta y se calcula como el 35% del resultado neto de las operaciones de las empresas.
- **El costo impositivo sobre la facturación neta.** Estima cuál es la incidencia del pago de todas las obligaciones impositivas que recaen sobre las industrias, en las ventas totales sin incluir el IVA (impuesto al valor agregado).

Provincias	Costo impositivo sobre la facturación neta - sin IVA (%)
Mendoza	15.51
Neuquén	15.35
Río Negro	14.96

*Tabla 3.18:* Costo impositivo sobre la facturación neta en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2016.

- **Costo impositivo sobre margen bruto.** Esta medición muestra la incidencia del pago de los impuestos que recaen sobre las industrias en el margen bruto, que es la diferencia entre las ventas y los costos.

Provincias	Costo impositivo sobre el margen bruto - sin IVA (%)
Mendoza	46.52
Neuquén	44.88
Río Negro	46.05

*Tabla 3.19:* Costo impositivo sobre el margen bruto en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2016.

Gran parte del aumento en la carga tributaria que sufrió la industria durante los últimos años se explica en los tributos que cobran las provincias y los municipios. Las legislaturas provinciales y los concejos deliberantes de las ciudades tratan las leyes impositivas y las ordenanzas tarifarias que establecen las alícuotas y montos que deberán abonarse en concepto de los tributos mencionados.

Provincias	Carga tributaria subnacional (%)	Ranking de carga tributaria subnacional
Mendoza	4.55	8
Neuquén	3.71	15
Río Negro	4.31	10

*Tabla 3.20:* Carga tributaria subnacional en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2016.

### 3.1.12. Parques industriales

Los parques industriales son el sitio donde se emplazará la planta. Es importante analizar su número y superficie disponible en cada provincia, ya que cuanto mayor sean estos dos factores, mayores serán las posibilidades de encontrar el lugar donde radicar nuestra planta.

#### NOTA:

Un análisis más detallado de cada parque industrial en particular, se hará en el estudio de microlocalización (sección 3.2).



Según el “Listado de Parques Industriales Inscriptos” del Ministerio de Producción de la Nación Argentina, a marzo del año 2018, la provincia de Mendoza es la que dispone de la mayor cantidad de parques industriales, seguida de Río Negro y muy por atrás la provincia de Neuquén.

Provincias	Parques industriales	Superficie total (Hectáreas)
Mendoza	12	1 355
Neuquén	3	376
Río Negro	11	1 650

*Tabla 3.21:* Parques industriales en las provincias de Mendoza, Neuquén y Río Negro, al año 2018.

### **3.1.13. Matriz de macrolocalización**

A la hora de confeccionar la matriz se debe dar un peso (en la escala del 1 a 10) a cada factor, relativo a la importancia que el mismo tiene para llevar a cabo el proyecto. Luego, se lo debe multiplicar por el peso que el mismo factor tiene en cada región. Por último, se deben sumar los resultados de todos los factores para cada región y la que tenga el número más alto será la que ofrezca los mayores beneficios para instalar la planta y empezar el análisis de la microlocalización. Si la diferencia entre las diferentes regiones no es muy amplia o están muy próximas, se debe repensar los valores asignados o hacer un análisis más profundo sobre cada uno de ellos.

Como se ve en la Tabla 3.22, la provincia con mayor puntaje y, por lo tanto, la que ofrecerá mayores beneficios para la radicación de nuestra industria, es la provincia de Mendoza.

#### **NOTA:**

Factores climáticos tales como, temperatura, precipitaciones y actividad volcánica no han sido consideradas debido a que el peso ponderado de los mismos en las tres provincias es muy similar.

Factor		Peso	Mendoza		Neuquén		Río Negro	
			Valor	Ponderado	Valor	Ponderado	Valor	Ponderado
Materia prima	Hollejo de uva	12	10	120	0	0	0	0
	Hollejo de manzana y pera	3	1	3	3	9	3	9
Vías de acceso	Rutas pavimentadas	5	8	40	4	20	4	32
	Inversiones en caminos	3	8	24	4	12	6	18
Energía eléctrica	Generación de energía eléctrica	7	6	42	10	70	2	14
	Tarifa de electricidad	7	8	56	4	28	6	42
Gas natural	Capacidad de suministro de gas	7	5	35	7	49	7	49
	Tarifa de gas natural	7	5	35	7	49	7	49
Recursos hídricos	Recursos hídricos superficiales	3	4	12	6	18	8	24
	Servicio de red	7	7	49	8	56	8	56
	Servicio de cloaca	3	6	18	8	24	6	18
Mano de obra calificada		7	9	63	3	21	3	21
Movimientos sísmicos		2	1	2	5	10	9	18
Mercados		7	7	49	9	63	7	49
Tratamiento adecuado de los RSU		4	6	24	7	28	2	8
Parques industriales		8	9	72	3	24	7	56
Carga tributaria		4	4	16	7	28	5	20
Comunicaciones		4	7	28	5	20	3	12
TOTAL		100	TOTAL	688	TOTAL	529	TOTAL	495

Tabla 3.22: Matriz de macrolocalización de planta.

### 3.2. Microlocalización

El estudio de microlocalización contempla la selección del parque industrial y lote adecuados para el emplazamiento de nuestra planta, evaluando los que preliminarmente presentan ciertos factores ventajosos. En nuestro caso, los factores que valoraremos, son:

- Superficie disponible.
- Infraestructura de servicios.
- Beneficios.
- Distancias.

Según el listado de “Parques Industriales Inscriptos” del Ministerio de Producción de la Nación Argentina, a marzo del año 2018, de los 12 parques industriales que dispone la provincia de Mendoza, sólo 6 cuentan con lotes disponibles.

- Parque industrial Minero Eje del Norte (PIMEN).
- Parque industrial provincial de Mendoza (PIP).
- Parque industrial municipal Lujan de Cuyo (PIM).
- Parque industrial General Alvear (PIGA).
- Parque industrial San Rafael (PISR).
- Parque de servicios e industria de Palmira (PASIP).

### 3.2.1. Superficie disponible

Considerando que la superficie ocupada por nuestra planta es aproximadamente 1 hectárea (sección 10), según el informe “Parques industriales de la provincia de Mendoza” del Instituto de Desarrollo Industrial, Tecnológico y de Servicios (IDITS), al año 2015, todos los parques industriales listados, menos el General Alvear (PIGA), disponen de la superficie disponible suficiente.

Parque industrial	Superficie ocupada (Ha.)	Superficie disponible (Ha.)	Superficie total (Ha.)
PIMEN	161	159	320
PIP	321	30	351
PIM	40	234	274
PIGA	8.8	1.2	10
PISR	0	42	42
PASIP	0	111	111

*Tabla 3.23:* Disponibilidad superficial de los parques industriales de Mendoza, al año 2015.

### 3.2.2. Infraestructura de servicios

La disponibilidad de servicios básicos en el lugar de radicación de nuestra empresa contribuye al desarrollo de las actividades industriales, brindando facilidad de acción y ahorro de costos en la instalación de los mismos.

Según el informe “Parques industriales de la provincia de Mendoza” del Instituto de Desarrollo Industrial, Tecnológico y de Servicios (IDITS), al año 2015, se dispone de la lista de servicios básicos con la que cuenta cada uno. De todos los parques industriales, el de servicios e industria de Palmira

(PASIP), es el que cuenta con mayor infraestructura de servicios. Le siguen en orden de preponderancia el parque industrial provincial de Mendoza (PIP) y el General Alvear (PIGA), luego el municipal Luján de Cuyo (PIM) y Minero Eje del Norte (PIMEN) y, en último lugar, el de San Rafael (PISR).

Servicios	PIMEN	PIP	PIM	PIGA	PASIP	PISR
Gas natural	en parte	sí	sí (exterior)	sí	sí	en parte
Energía eléctrica	sí	sí	sí	sí	sí	en parte
Agua potable	sí	sí (pozo)	no	sí	sí	en parte
Agua industrial	no	sí	no	sí	sí	en parte
Cloacas	en parte	no	no	no	sí	en parte
Línea telefónica	sí	sí	sí	sí	sí	no
Internet	sí	sí	sí	sí	sí	no
Helipuerto	no	no	no	sí	sí	no
Ramal ferroviario interno	sí	no	sí	sí	no	no
Pavimientto	en parte	sí	en parte	en parte	sí	no
Limpieza y mantenimiento	sí	en parte	sí	no	sí	no
Alcantarillado	en parte	sí	no	en parte	sí	sí
Perimetraje cerrado	sí	no	en parte	en parte	sí	sí
Seguridad	sí	no	sí	no	sí	sí
Tratamiento de efluentes	no	no	no	no	sí	no

*Tabla 3.24: Servicios básicos de los parques industriales de Mendoza, al año 2015.*

### 3.2.3. Beneficios

Los parques industriales suelen ofrecer beneficios promocionales por un período de tiempo determinado, en búsqueda de atraer empresas para su radicación dentro de ellos.

Según el informe “Parques industriales de la provincia de Mendoza” del Instituto de Desarrollo Industrial, Tecnológico y de Servicios (IDITS), al año 2015, se disponen de los beneficios promocionales que ofrecen cada uno de los parques industriales en cuestión.

Parque industrial	Beneficios promocionales
PIMEN	Régimen promocional para pymes.
PIP	Exención de impuestos provinciales por 3 años.
PIM	Exención de tasas municipales, derechos de industria, comercio, servicios y aforos de construcción por 5 años.
PASIP	No presenta beneficios.
PISR	Exención en el pago de tasas y aforos municipales.
PIGA	Exención de tasas municipales, servicios públicos a disposición de la instalación.

*Tabla 3.25: Beneficios promocionales de los parques industriales de Mendoza, al año 2015.*

### 3.2.4. Distancias

Según el informe “Parques industriales de la provincia de Mendoza” del Instituto de Desarrollo Industrial, Tecnológico y de Servicios (IDITS), al año 2015, se disponen de las distancias entre los parques industriales respecto a puntos estratégicos, tales como, centros urbanos, aeropuertos, ferrocarriles y Mendoza capital.

Puntos estratégicos	PIMEN	PIP	PIM	PIGA	PASIP	PISR
Centro urbano	3 Km	10 Km (Luján)	10 Km (Luján)	3 Km	1 Km (Palmira)	N/A
Aeropuerto	1 Km	37 Km	37 Km	85 Km	40 Km	N/A
Ferrocarril	Pasa por la zona	Pasa por la zona	Pasa por la zona	2 Km	Pasa por la zona	N/A
Mendoza capital	8 Km	27 Km	27 Km	320 Km	34 Km	N/A

*Tabla 3.26: Distancia de los parques industriales a puntos estratégicos de Mendoza.*

### 3.2.5. Matriz de microlocalización

Para confeccionar la matriz de microlocalización, se utiliza el mismo procedimiento que en la matriz de macrolocalización (sección 3.1.13). En base a la información recolectada, preseleccionamos los parques industriales, provincial de Mendoza (PIP), municipal Luján de Cuyo (PIM) y de servicios e industria de Palmira (PASIP), ya que resultan los más prometedores para la instalación de la planta.

Como se ve en la Tabla 3.27, el parque industrial con mayor puntaje y, por lo tanto, el que ofrece los mayores beneficios para la radicación de nuestra industria, es de servicios e industria de Palmira (PASIP).

Factor	Peso	PIP		PIM		PASIP	
		Valor	Pond.	Valor	Pond.	Valor	Pond.
Superficie disponible	15	3	45	10	150	8	120
Gas natural	10	10	100	8	80	10	100
Energía eléctrica	10	10	100	10	100	10	100
Agua potable	10	5	50	0	0	10	100
Cloacas	5	0	0	0	0	10	50
Línea telefonica	7	10	70	10	70	10	70
Internet	7	10	70	10	70	10	70
Alcantarillado	3	10	30	0	0	10	30
Tratamiento de efluentes	7	0	0	0	0	10	70
Distancia a centro urbano	8	7	56	7	56	10	80
Distancia a aeropuerto	5	6	30	6	30	5	25
Distancia a Mendoza capital	8	7	56	7	56	6	48
Beneficios promocionales	5	5	25	8	40	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>TOTAL</b>	<b>632</b>	<b>TOTAL</b>	<b>652</b>	<b>TOTAL</b>	<b>863</b>

Tabla 3.27: Matriz de microlocalización de planta.

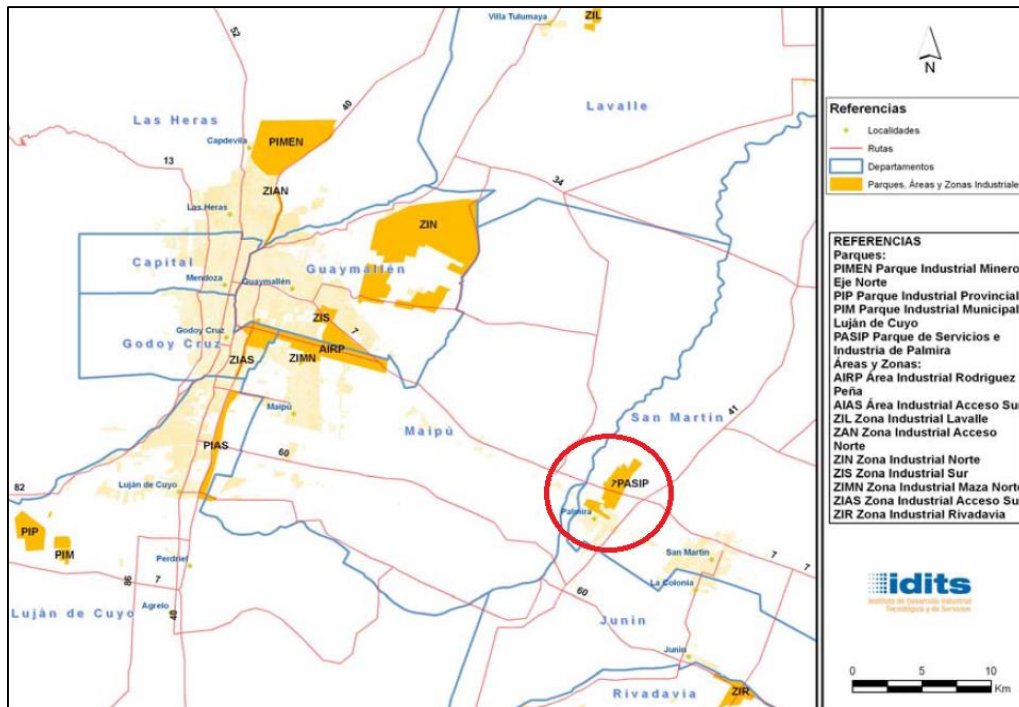


Fig. 3.9: Localización del parque de servicios e industria de Palmira (PASIP).

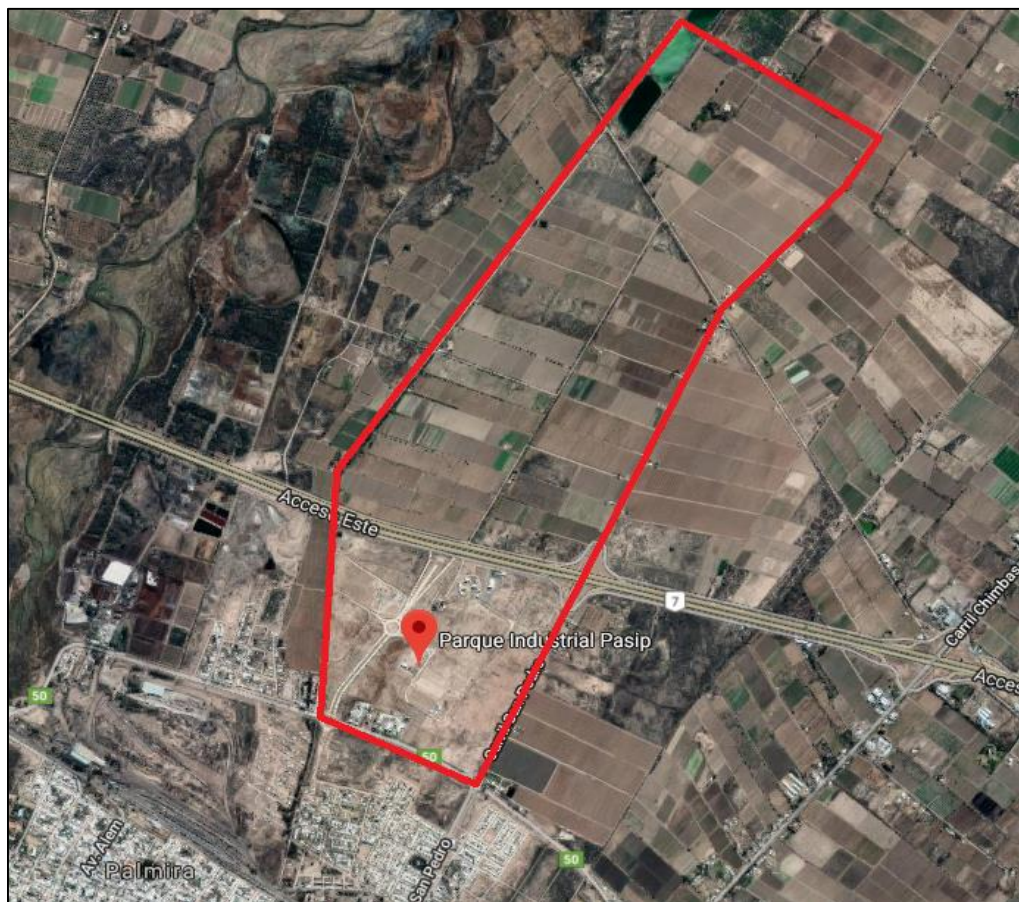


Fig. 3.10: Vista aérea del parque de servicios e industria de Palmira, al año 2018.





## 4. Investigación

El proceso de investigación permite conocer a fondo la naturaleza del producto y su proceso de obtención. Saber cuáles son las variables involucradas, su impacto e interactividad entre sí, son puntos cruciales para dominar el proceso de producción y llevarlo hacia un objetivo de interés particular.

### 4.1. La astaxantina

La astaxantina (3,3'-dihidroxi- $\beta,\beta'$ -caroteno-4,4'-diona) es un pigmento que pertenece a la familia de las xantofilas. Es uno de los principales pigmentos presentes en el medio marino, contribuyendo a la coloración típica del caparazón de muchos crustáceos (camarón, quisquilla, gamba, langosta, etc.), de la carne de salmónidos y de las plumas de algunas aves (flamenco). Este compuesto de coloración rosa-anaranjada fue aislado e identificado por primera vez a partir de langostas.

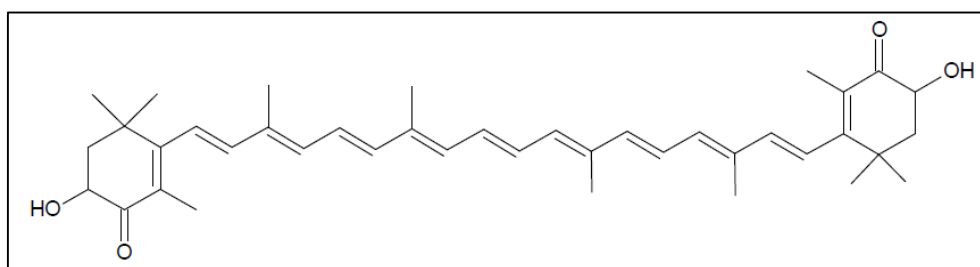


Fig. 4.1: Estructura química de la astaxantina.

#### 4.1.1. Características generales

Presenta un peso molecular de 596.8 Da, teniendo como fórmula  $C_{40}H_{52}O_4$ . Está compuesta por una larga cadena polienica de dobles enlaces con un anillo polar de seis carbonos en los extremos, lo que le confiere carácter insoluble en agua y naturaleza lipofílica. Su temperatura de fusión es de aproximadamente 224°C. Cuando cristaliza forma un cristal fino de color marrón violeta oscuro. Es soluble en compuestos orgánicos como el disulfuro de carbono, acetona, benceno y cloroformo. Es insoluble en solventes acuosos y la mayoría de solventes orgánicos, pero puede disolverse a temperatura ambiente en diclorometano, cloroformo, acetona, dimetilsulfóxido y otros solventes no polares. La longitud de onda a la que presenta una máxima absorción en éter de petróleo es de 475 nm.

Este pigmento es una molécula simétrica, que presenta dos centros quirales y que por lo tanto presenta cuatro estereoisómeros: 3R,3'S; 3S,3'R; 3S,3'S y 3R,3'R. Los estereoisómeros con las conformaciones 3S,3'S y 3R,3'R se denominan enantiómeros, mientras que las conformaciones: 3R,3'S y 3S,3'R se

les suele llamar conformaciones “meso”, siendo formas ópticamente inactivas. En el hongo *X. dendrorhous* la conformación mayoritaria es 3R,3'R; al igual que la existente en el kril.

Su utilización dentro de la industria de la acuicultura es muy importante puesto que provee la coloración rojiza-anaranjada a los animales, al carecer de la fuente natural de este pigmento. También, este compuesto es esencial como componente nutricional dado que favorece un adecuado crecimiento y reproducción de los salmónidos y crustáceos. Además de por su color, la astaxantina tiene un gran valor debido a sus propiedades antioxidantes.

#### 4.1.2. Producción de astaxantina

Debido a su interés en el mercado (es el principal carotenoide usado a nivel mundial en la industria de la acuicultura) la empresa Roche empezó en 1990 la producción de astaxantina sintética, cubriendo prácticamente la totalidad del mercado (estimado en unos 150-200 millones de dólares). Esta astaxantina consiste en una mezcla 1:2:1 de los isómeros (3S, 3'S; 3R, 3'R; 3R, 3'R). Sin embargo, la demanda creciente de este pigmento para su utilización en la producción de alimentos funcionales, una síntesis relativamente compleja y un elevado coste, ha estimulado la búsqueda de distintas fuentes naturales de astaxantina con un uso potencial para la industria.

Su estabilidad y actividad son menores que las del producto natural, y se ha visto que la astaxantina sintética se absorbe y deposita peor que la de origen natural. Por otra parte, cuando se utilizan aditivos para la alimentación humana o animal, los consumidores prefieren que su origen sea biológico antes que químico, además de las estrictas normas y reglamentos que se aplican a estos carotenoides de síntesis química. De forma natural la astaxantina es producida por unos pocos organismos, de los que solamente el alga verde *H. pluvialis* y el hongo levaduriforme *X. dendrorhous* (*P. rhodozyma*) pueden competir con la astaxantina sintética.

	<b>Organismo</b>
<b>Bacterias</b>	<i>Mycobacterium lacticola</i>
	<i>Paracoccus sp. N81106</i>
	<i>Paracoccus haeundaensis</i>
<b>Microalga</b>	<i>Haematococcus pluvialis</i>
	<i>Chlorella zafingiensis</i>
<b>Hongo</b>	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>
<b>Planta</b>	<i>Adonis annua</i>
<b>Insecto</b>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>

Tabla 4.1: Organismos productores de astaxantina.

### 4.1.3. Uso de la astaxantina en la acuicultura

El color de los salmónidos y crustáceos es percibido por los consumidores como un indicador de su calidad. El color rojizo-anaranjado característico de estos organismos procede de los carotenoides obtenidos de la alimentación que se depositan en su piel, músculo exoesqueleto y gónadas, ya sea en su forma química original o modificada dependiendo de la especie. El carotenoide predominante es la astaxantina, por ejemplo, en el exoesqueleto de los camarones la astaxantina representa el 84 al 90%. En el medio acuático las microalgas sintetizan la astaxantina que serán consumidas por el zooplancton, insectos o crustáceos y posteriormente serán ingeridos por los peces para conseguir su coloración característica. Los peces criados en cautividad no tienen acceso a esas fuentes naturales de astaxantina, por lo que es necesario suministrarla en la alimentación.

Además de la coloración que otorga a los animales, la astaxantina tiene otras funciones importantes en las peces relacionadas principalmente con la reproducción, acelera la madurez sexual, incrementa la fertilización y la supervivencia de los huevos. Se ha visto que la astaxantina también mejora la función hepática, aumenta el potencial de defensa frente al estrés oxidativo y tiene una influencia significativa en los mecanismos de biodefensa.

## 4.2. *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*)

Los hongos por sus características morfológicas, fisiológicas y ecológicas forman parte del reino fungi, caracterizados por poseer una estructura celular eucariota, carecer de clorofila, ser unicelulares (levaduras) o pluricelulares (hongos filamentosos), típicamente inmóviles, de nutrición heterótrofa y de reproducción sexual y/o asexual.

El nombre *X. dendrorhous* se usa para denominar la fase sexual y *P. rhodozyma* para la fase asexual reproducción. Según el artículo científico “Biogeografía, especificidad del hospedador y filogenia molecular de la levadura basidiomycetosa *Phaffia rhodozyma* y su forma sexual, *Xanthophyllomyces dendrorhous*” (Diego Libkind, Alejandra Ruffini y Maria van Brook y otros, Universidad del Comahue, Río Negro, Argentina, 2006), hasta el momento no existen indicios científicos de que ambas formas levaduriformes pertenezcan a especies diferentes, ni tampoco que la adopción de una u otra forma repercuta en la ruta biosintética de la astaxantina.

#### 4.2.1. Características generales

*X. dendrorhous* es una levadura ligeramente psicrófila, con una temperatura óptima de crecimiento de 21 °C hasta un máximo de 26 °C. La clasificación taxonómica de este hongo es:

- Reino Fungi
  - Filo Basidiomycota
    - Subfilo Agaromicotina
      - Clase Tremellomicetes
        - Orden Cistofilobasidiales
          - Familia Cistobasidiaceae
            - Género *Xanthophyllomyces*
              - Especie *X. dendrorhous*

Desde que fue descubierta hasta ahora se han encontrado distintos aislados de esta levadura en distintos puntos del planeta con climas fríos, Alaska, Japón, Finlandia, Rusia, Italia, Alemania, Chile y la Patagonia Argentina. Se encuentra en sustratos ricos en azúcar como son los exudados primaverales de los árboles de hoja caduca (como son los géneros *Fagus*, *Betula*, *Alnus* o *Cornus*) o en los cuerpos fructíferos (estroma) del hongo ascomiceto *Cyttaria hariotti* (parásito endémico de *Sothophagus spp.* de la Patagonia). La cepa encontrada en Chile ha sido aislada creciendo sobre las hojas de *Eucalyptus globulus*, medio completamente distinto a los anteriormente nombrados. Esto se corresponde con el hecho de que esta cepa no se agrupa filogenéticamente bien con el resto de cepas encontradas la especificidad de hospedador habría hecho que se separaran al ser las distintas cepas huéspedes en sustratos completamente distintos.

#### 4.2.2. Fuentes de carbono

Una de las características más destacables de este hongo es su gran capacidad para fermentar azúcares. El Dr. Palágyi y sus colaboradores (2001) estudiaron la asimilación de 99 fuentes de carbono por 11 cepas distintas de *X. dendrorhous*.

Algunos compuestos son utilizados por todas las cepas, mientras que otros no son utilizados por ninguna de las estudiadas. Además, existe un tercer grupo en el que se encuentran aquellos compuestos que son utilizados solamente por algunas de las cepas. De aquellos compuestos que son consumidos, sólo algunos alteran la coloración normal de las colonias. Se ha observado que siete de ellos modifican la producción en una o más cepas. Entre ellos se encuentran dos que incrementan la

formación de pigmentos, mientras que la trehalosa tiene efecto en todas las cepas, la D-manosa aumenta la coloración en aproximadamente la mitad de las cepas. Por el contrario, el ácido acético y el ácido succínico provocan una inhibición de la pigmentación.

Por todas las cepas	D-xilosa	D-melecitosa	lactona	ác. L-malico
	D-glucosa	citidina	D-maltosa	etanol
	<b>D-manosa</b>	2-ceto-D-glucónico	D-celobiosa	$\beta$ -metil-D-glucosido
	D-fructosa	arbutina	D-rafinosa	arbutina
	L-arabinosa	salicina	<b>ácido acético</b>	ác. D-glucónico-
	L-xilosa	ác. oxalacético	<b>trehalosa</b>	lactona
Por ninguna de las cepas	sacarosa		almidón	
	D-ribosa	L-alanina	ác. ascórbico	L-asparagina
	D-galactosa	L-valina	D-glucosamina	L-cisteína
	L-ramnosa	L-leucina	ác. o fumárico	L-tirosina
	lactosa	L-isoleucina	ác. gentísico	L-lisina
	D-melibiosa	$\gamma$ -butirolactona	ác. isocitríco	L-arginina
	xilano	vanillina	metanol	L-histidina
	dextrano	ác. gálico	ác. orótico	$\beta$ -alanina
	inulina	ác.	pectina	L-ornitina
	<b>glicerol</b>	L-hidroxibutírico	ác. tartárico	L-citrulina
	i-eritritol	$\beta$ -metil-D-galactósido	$\alpha$ -cetoglutarato	uracilo
	galactitol	metil-D-xilósido	L-metionina	citocina
	ribitol	metil- $\alpha$ -D-	L-fenilalanina	timina
	mioinositol	manopiranosido	L-triptófano	adenosina
	xilitol	ác. cetoisovalérico	L-serina	dihidroxiacetona
	glicina	ác. protocatecuico	L-treonina	
	Por alguna cepa	D-arabinosa		ác. D-glucorónico
L-aspartico		$\alpha$ -metil-D-glucósido	D-xilosa	
ác. glucónico		glicerol-1-monoacetato	L-prolina	
ác. L-glutámico		ác. pirúvico	D-sorbitol	
L-glutamina		<b>ác. succínico</b>	L-sorbosa	
Inosina		ác. 5-ceto-D-glucónico	uridina	
ác. L-láctico			D-manitol	

Tabla 4.2: Asimilación de 99 fuentes de carbono según la capacidad de 11 cepas de *X. dendrorhous* para fermentarlas (Palágyi, 2001).

La suplementación de fuentes de carbono al medio de cultivo afecta sustancialmente al crecimiento y la pigmentación, siendo dependiente de la cepa estudiada. Sin embargo, esta relación de fuentes de carbono asimilables puede ser dependiente del medio en el que se realice el experimento. Un ejemplo de esto puede ser el glicerol, según el estudio del Dr. Palágyi (Palágyi, 2001) *X. dendrorhous* es incapaz de utilizarlo en un medio mínimo. Sin embargo, en el estudio realizado por Kusdiyantini y colaboradores (1998) se observa que si crecemos el hongo en un medio complejo con extracto de levadura y peptona es capaz de consumir totalmente el glicerol (co-metabolización).

### 4.2.3. Pigmentos

El color de las cepas silvestres de *X. dendrorhous* es rojo-anaranjado debido a la presencia de carotenoides en su citoplasma (concretamente se localizan en glóbulos lipídicos en el citoplasma), de los que la astaxantina representa aproximadamente el 85%. Es la única especie de levadura conocida que produce astaxantina en cantidad considerable (200-300 microgramos de astaxantina por gramo de peso seco). Esta xantofila es común en ambientes marinos, y proporciona una pigmentación vívida y característica a ciertos animales, incluyendo salmónidos, crustáceos y algunas aves como los flamencos. En la naturaleza, el origen de la astaxantina probablemente se encuentre en ciertas algas, hongos y pequeños crustáceos, estos organismos se encuentran al principio de la cadena alimentaria, y ello conduce a la pigmentación de los animales superiores que se alimentan de ellos.

La astaxantina aislada de *X. dendrorhous* presenta configuración 3R, 3'R, al contrario de lo que ocurre con la procedente de otros organismos estudiados, que sintetizan el isómero 3S, 3'S. Éste fue el primer ejemplo de un carotenoide sintetizado de forma natural con diferentes configuraciones ópticas, lo que plantea interesantes cuestiones sobre las propiedades de las enzimas implicadas en la ruta de biosíntesis de R-astaxantina en *X. dendrorhous* en comparación con los organismos que sintetizan S-astaxantina, o sobre el orden de introducción de los grupos ceto e hidroxilo en la molécula de  $\beta$ -caroteno.

Aunque la astaxantina es el carotenoide mayoritario, no es el único que produce este hongo. Además de astaxantina también existen otros compuestos como son el  $\beta$ -caroteno, foenicoxantina, 3-hidroxi-3',4'-didehidro- $\beta$ - $\psi$ -caroteno-4-ona). Se han encontrado otros compuestos como la criptoxantina ( $\beta$ -caroteno monohidroxilado), zeaxantina ( $\beta$ -caroteno dihidroxilado), cantaxantina ( $\beta$ -caroteno dicetolado), y el toruleno (compuesto monocíclico).

Carotenoide	Porcentaje
Astaxantina	83-87 %
Foenicoxantina	5-7 %
3-hidroxi-3',4'-didehidro- $\beta$ - $\psi$ -caroteno-4-ona	3-4 %
$\beta$ -caroteno	2-2,5 %
Equinona	2-4 %
HDCO	0,3-0,5 %
$\gamma$ -caroteno	$\leq 0,01$ %
neurosporeno	
licopeno	

Tabla 4.3: Carotenoides producidos por el *X. dendrorhous*.

### 4.3. Biosíntesis de astaxantina

#### 4.3.1. Ruta de biosíntesis. Etapas tempranas

La astaxantina deriva de la ruta de biosíntesis de los isoprenoides: a partir del acetil-CoA y por la vía del mevalonato se forma isopentenilpirofosfato (IPP). Éste es isomerizado en dimetililpirofosfato (DMAPP) (enzima codificada por el gen *idi*), seguido por la adicción secuencial (enzima codificada por el gen *crtE*) de 3 moléculas de IPP para dar el precursor C<sub>20</sub> geranylgeranylpirofosfato (GGPP). El primer paso específico y crucial de la ruta de síntesis de los carotenoides es la formación de fitoeno, por condensación de dos moléculas de GGPP (enzima codificada por el gen *crtYB*). Posteriormente se producen 4 deshidrogenaciones (enzima codificada por el gen *crtI*) y 2 ciclaciones (enzima codificada por el gen *crtYB*), que originan el β-caroteno.

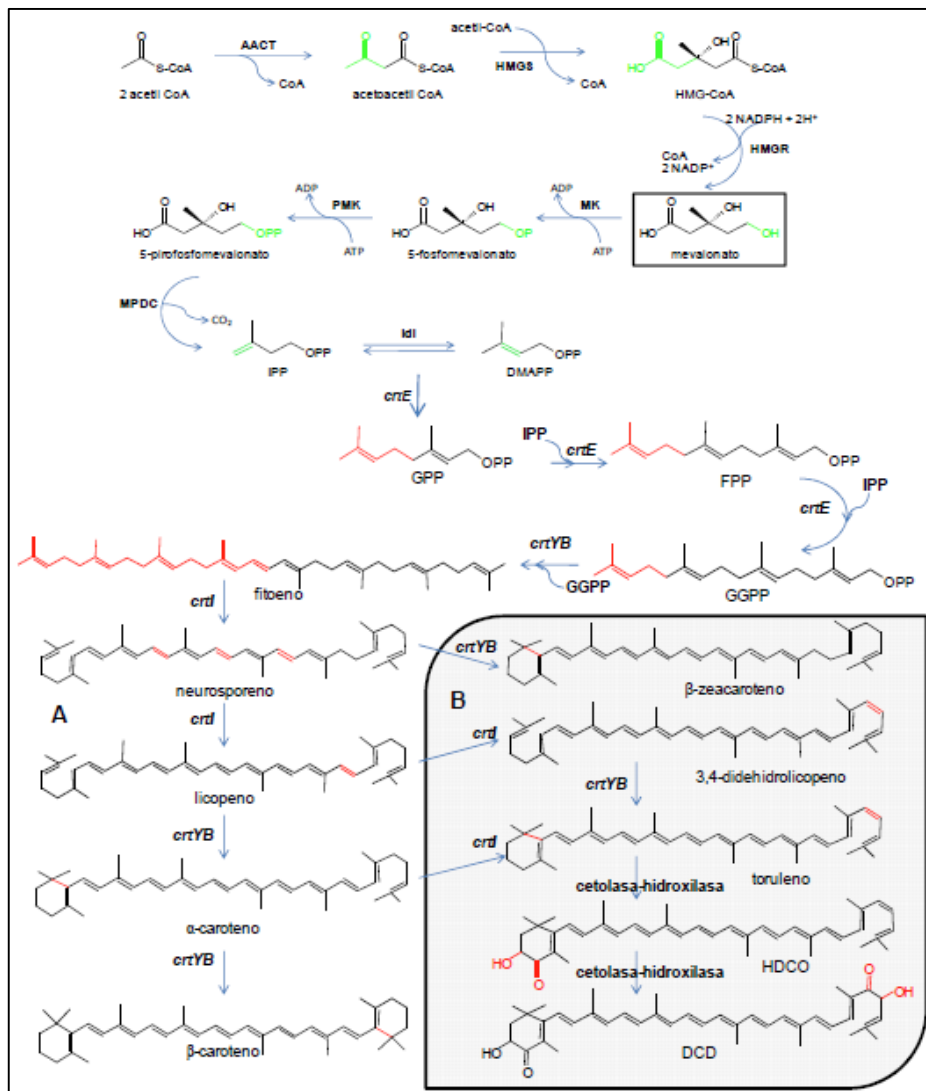


Fig. 4.2: Ruta de biosíntesis de astaxantina en *X. dendrorhous*. A: Ruta entre la moléculainicial acetil-CoA y β-caroteno. B: Ruta monocíclica.

Al mismo tiempo parece existir una vía paralela que termina en la formación de compuestos monocíclicos. Esta ruta diverge de la ruta bicíclica a nivel del neurosporeno, para dar  $\beta$ -zeacaroteno,  $\gamma$ -caroteno, toruleno, 3-hidroxi-3',4'-didehidro- $\beta$ , $\Psi$ -caroteno-4-ona (HDCO) y finalmente 3,3'-dihidroxi- $\beta$ , $\Psi$ -caroteno,4,4'-diona (DCD). El aumento del contenido en HDCO y DCD en mutantes de *X. dendrorhous* superproductores de carotenoides en relación a las cepas silvestres parece indicar que cuanto mayor es el contenido en carotenoides, mayor es el uso de la ruta monocíclica. Este resultado sugiere que las enzimas carotenogénicas forman complejos enzimáticos, y que las mutaciones que afectan a la carotenogénesis provocan cambios en la proporción de las enzimas en los complejos. El aumento del contenido en estos pigmentos en mutantes superproductores de carotenoides deteriora la calidad de la levadura como fuente de pigmentos, ya que estos compuestos apenas se encuentran en la carne del salmón alimentado con *X. dendrorhous*. Con todo, si no existe la llamada ruta monocíclica de biosíntesis de carotenoides, queda la duda de porqué se acumulan grandes cantidades de HDCO en *X. dendrorhous*. La presencia de este tipo de pigmentos se ha intentado explicar de varias formas:

- Como precursor de la síntesis de astaxantina.
- Como producto de degradación parcial de otra xantofila por la acción de radicales libres.
- Como resultado de la inhibición de la ciclación.

#### 4.3.2. Ruta de biosíntesis. Etapas tardías.

Si nos centramos en el proceso de conversión de  $\beta$ -caroteno en astaxantina vemos que en otros organismos como son la bacteria *Paracoccus sp.* N81106 o el alga verde *H. pluvialis* se requieren dos actividades enzimáticas, una cetolasa que incorpora dos grupos ceto en los carbonos C-4 y C-4' (gen crtW en *Paracoccus* y gen bkt en *Haematococcus*) y una hidroxilasa que incorpora dos grupos hidroxilo en los carbonos C-3 y C-3' (gen crtZ en *Paracoccus*, gen chy en *Haematococcus*), apareciendo varios intermediarios hidroxilados o cetolados dependiendo del organismo. Sin embargo, en *Xanthophyllomyces* la ruta biosintética de la astaxantina no está clara, se han buscado en el genoma los genes homólogos a estas cetolasas e hidroxilasas, pero no se han podido localizar. Sin embargo, se han clonado dos genes que codifican para dos citocromos P-450 implicadas en la transformación de  $\beta$ -caroteno en astaxantina. El primero de los dos genes es el gen crtS que codifica para un citocromo P-450 monooxigenasa, el cual se ha comprobado ampliamente su participación en la biosíntesis de astaxantina a partir de  $\beta$ -caroteno. La función de la proteína codificada por el gen crtS no está clara, puesto que se desconoce qué actividad enzimática lleva a cabo. El segundo gen encontrado se denominada crtR, que codifica para un citocromo P-450 reductasa. Su función sería la de donar los electrones necesarios para modificar el  $\beta$ -caroteno, de forma que las proteínas CrtS y CrtR formarían un sistema típico de citocromos P-450.



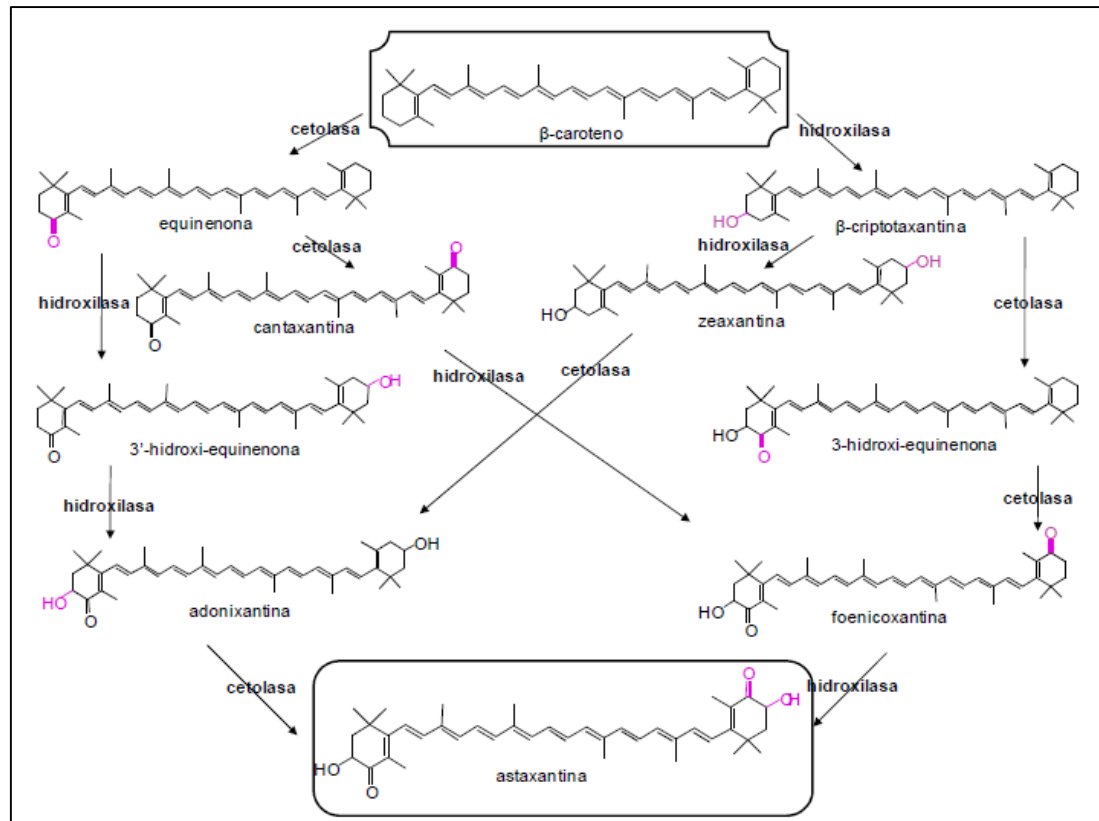


Fig. 4.3: Esquema de las posibles vías de conversión de  $\beta$ -caroteno en astaxantina.

#### 4.3.3. Etapas enzimáticas limitantes

La conversión de 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) en mevalonato, llevada a cabo por la enzima HMG-CoA reductasa, es una etapa limitante en la síntesis de astaxantina, como se pone de manifiesto al adicionar mevalonato. Se observa un aumento de 4 veces de los niveles de astaxantina y carotenoides totales. Los compuestos isoprenoides son precursores de otras rutas, como por ejemplo en la síntesis de colesterol. Por ello, cuando se añaden al medio de cultivo inhibidores de la biosíntesis de colesterol (como los inhibidores del tipo fenoxipropilamina que inhibe la escualeno sintasa) la producción de astaxantina se ve incrementada 1.3 veces.

#### 4.3.4. Regulación de biosíntesis de carotenoides

En el caso de *X. dendrorhous* existe muy poca información sobre la regulación de la carotenogénesis. La astaxantina se produce como metabolito secundario, y determinadas condiciones nutricionales afectan a su biosíntesis. Concretamente, niveles elevados de glucosa y condiciones semianaeróbicas reducen notablemente la formación de carotenoides. Bajo estas condiciones, además, no se producen xantofilas o se producen a concentraciones muy bajas. La relación carbono/nitrógeno ha sido descrita como un factor crítico para la máxima producción de astaxantina.

#### 4.3.4.1. Regulación por la luz

La carotenogénesis se ve afectada por la irradiación con luz blanca en muchos organismos como algas, hongos y bacterias, aunque la intensidad y la exposición depende de cada microorganismo, en el alga *H. pluvialis*, la producción de astaxantina se ve estimulada por intensidades luminosas altas. En *Xanthophyllomyces* se ha propuesto que la producción de astaxantina es fotoinducible, se ha visto que la concentración de astaxantina permanece constante en células crecidas en oscuridad, pero bajo iluminación intensa los niveles de astaxantina aumentan. Esta estimulación es transitoria, y cuando los cultivos se incuban de nuevo en oscuridad, se observa una reducción en el contenido total de carotenoides. La producción máxima de astaxantina se obtiene cuando los cultivos se iluminan continuamente a intensidades luminosas moderadas. An y Johnson (1990) señalaron que la exposición a la luz estimula la producción total de carotenoides en *Xanthophyllomyces* (principalmente astaxantina), y que tiene un efecto negativo sobre el crecimiento. Se ha sugerido que las especies reactivas de oxígeno participan de forma activa en el aumento de la producción de carotenoides inducido por la luz en *X. dendrorhous*.

#### 4.3.4.2. Efecto de la temperatura

La temperatura es otro factor importante que afecta tanto al crecimiento como a la formación de metabolitos al provocar cambios en muchas de las rutas biosintéticas, incluyendo la ruta de los carotenoides. Estudios realizados con diferentes cepas silvestres de *X. dendrorhous* indican que la temperatura óptima para el crecimiento celular y la formación de pigmentos está entre 20 y 22°C (Johnson y Lewis, 1979), al igual que ocurre en las cepas superproductoras de astaxantina estudiadas (Fang y Chiou, 1996). Se ha visto que las bajas temperaturas (4°C) provocan cambios en la composición y en la concentración (con un aumento del 50%) de carotenoides totales (Ducrey-Santopietro y Kula, 1998). Así mismo, una temperatura de 30° C hace que el patrón de carotenoides cambie de forma que los compuestos presentes son torularrodina (60%), toruleno (30%) y  $\beta$ -caroteno (5%), (Polulyakh, 1992).

#### 4.3.4.3. Efecto de la fuente de carbono

En *X. dendrorhous* puede llevar a cabo dos tipos de metabolismo dependiendo del tipo de fuente de carbono presente en el medio de cultivo. La glucosa y otros azúcares fermentables son asimilados a través de la ruta glicolítica seguido de una fermentación alcohólica hasta la formación de etanol, incluso en presencia de oxígeno. Sin embargo, las fuentes de carbono no fermentables como el etanol o el succinato se transforman mediante oxidación en acetil-CoA para incorporarse al ciclo del ácido cítrico. Como sucede con algunos metabolitos secundarios el uso de concentraciones elevadas de glucosa como fuente de carbono suponen una mínima producción de pigmentos. Así mismo, la

inducción de la carotenogénesis coincide con el agotamiento de azúcar y el comienzo del consumo de etanol. Esto se lleva a cabo a través de la regulación a nivel transcripcional, estando implicados los genes de biosíntesis crtI, crtYB y crtS probablemente relacionado con la presencia de sitios de unión para el regulador catabólico general MIG1 en los promotores de dichos genes. Sin embargo, fuentes de carbono no fermentables como el etanol provocan un aumento en la síntesis de pigmentos en *X. dendrorhous* (Gu, 1997; Johnson y Lewis, 1979; Marcoleta, 2011; Vazquez, 1997). Se han propuesto tres posibles explicaciones para este fenómeno, el etanol y su posterior conversión en acetato por el aldehído oxidasa genera radicales superóxido, que son los que inducen la síntesis de carotenoides. Alternativamente el acetato puede continuar la ruta metabólica para formar acetil-CoA, siendo precursor en la síntesis de isoprenoides por la ruta del mevalonato. En tercer lugar, se ha propuesto que el aumento en la biosíntesis de carotenoides por efecto del etanol se debe a una combinación de los mecanismos anteriormente propuestos junto a otros todavía no descritos.

#### **4.3.4.4. Efecto de la fuente de nitrógeno**

En *H. pluvialis*, la limitación de nitrógeno es un factor clave para el acúmulo de astaxantina. Algo similar ocurre en *X. dendrorhous*, donde el nitrógeno afecta de forma significativa a la carotenogénesis. En diversos estudios se observó un incremento en la producción de carotenoides relacionado con un descenso en la concentración de nitrógeno en el medio (Meyer y du Preez, 1994; Yamane, 1997; Flores-Cotera, 2001). El descenso en la concentración de nitrógeno provoca una reducción en la síntesis de proteínas, lo que hace que aumenten los niveles de carbono, ATP y NADPH en la célula. Para adecuar estos niveles al estado normal, se produce un aumento en la síntesis de ácidos grasos y carotenoides. Esto confirma el hecho de que mutantes de *X. dendrorhous* con el contenido en carotenoides incrementado presenten una reducción de la tasa de utilización de nitrógeno, o que sean deficientes en la aminación de intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbóxicos, y que fuentes de nitrógeno que se metabolizan lentamente hayan sido seleccionadas para la producción de astaxantina.

#### **4.3.4.5. Regulación por fosfato**

Otro de los elementos que parece afectar a la carotenogénesis es el fosfato, un nutriente que regula muchos metabolitos secundarios. Se ha visto que bajas concentraciones de fosfato en el medio provocan un aumento en la producción de astaxantina en *Xanthophyllomyces*. Ello puede ser debido también a un descenso en la síntesis de proteínas, provocado por la escasez de fosfato para la síntesis de ARN. Otra explicación sería que la limitación de fosfato disminuyese la actividad de la cadena respiratoria, de forma similar a como lo hace la antimicina A, y que se ha visto que incrementa la producción de astaxantina en *X. dendrorhous*. O puede que las bajas concentraciones de fosfato

incrementen la actividad de fosfatasas, como ocurre en otros microorganismos, y que son necesarias para la síntesis de carotenoides ya que sus precursores se encuentran fosforilados.

#### **4.3.4.6. Efecto de la aireación**

Un factor importante para la biosíntesis de muchos metabolitos secundarios es la aireación del medio de cultivo. La carotenogénesis es un proceso aeróbico, de forma que el flujo de aire en el cultivo es un factor esencial para la asimilación del sustrato, así como para el crecimiento y la producción. La disminución de la disponibilidad de oxígeno reduce la síntesis de astaxantina, y provoca el acúmulo de carotenos, esto indica que la oxigenación de los carotenos a través de la activación del oxígeno molecular es un factor limitante para la síntesis de astaxantina. Por analogía con otras rutas biosintéticas relacionadas (por ejemplo, la biosíntesis de esteroides), la fuente de oxígeno activo y de enzimas implicadas en la oxigenación podría ser la cadena respiratoria mitocondrial y las proteínas de tipo hemo asociadas (por ejemplo, el citocromo P-450 monooxigenasas) (Nelson y Strobel, 1987).

#### **4.3.4.7. Otros factores**

La adición de intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbóxicos al medio de cultivo reprime el acúmulo de carotenoides en *X. dendrorhous* (An, 2001). Una respiración y actividad del ciclo de los ácidos tricarbóxicos elevadas están asociadas a la producción de grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno, que provocan un aumento en la producción de carotenoides (Schroeder y Johnson, 1993). Por otro lado, la adición de citrato al medio provoca un incremento de la concentración de carotenoides en las células, y de forma paralela se reduce la síntesis de proteínas, lo que sugiere que la restricción de la síntesis de proteínas juega un papel importante en la síntesis de carotenoides (Flores-Cotera et al., 2001).

Ciertos inhibidores respiratorios, como la antimicina A, modulan fuertemente la síntesis de astaxantina. Al sembrar *X. dendrorhous* en medio de cultivo suplementado con antimicina A, se forman colonias de morfología inusual, caracterizadas por la presencia de una superficie inferior lisa no pigmentada, que desarrolla unas microcolonias hijas (papillae) muy pigmentadas después de uno o dos meses de incubación. Otro factor a tener en cuenta son los ácidos grasos presentes en la célula. Se ha visto que existe una correlación negativa entre los niveles de astaxantina y la biosíntesis de ácidos grasos (Miao et al., 2010). La supresión de la síntesis de ácidos grasos mediante el tratamiento con el inhibidor metabólico triclosán provoca un aumento en la producción de astaxantina. Así mismo mutantes producidos con nitrosoguanidina y Co-60 seleccionados por una mayor temperatura de crecimiento y una mayor producción de astaxantina, muestran un menor contenido en ácidos grasos.

Una disminución en la presencia de ácidos grasos podría provocar la acumulación de acetyl-CoA, que como precursor de astaxantina favorecería su síntesis.

#### **4.4. Biotecnología en *X. dendrorhous***

Las mayores limitaciones para utilizar las cepas silvestres de *X. dendrorhous* como fuente comercial de astaxantina son los bajos niveles de astaxantina encontrados, así como el grosor y la rigidez de su pared celular, lo que dificulta su extracción (Johnson y Lewis, 1979; Johnson y An, 1991; Johnson y Schroeder, 1995; Johnson, 2003). El contenido en astaxantina de las cepas silvestres varía entre 200 y 400 µg de astaxantina por gramo de peso seco (Johnson y Lewis, 1979; Johnson y Schroeder, 1995). Estos niveles tienen que incrementarse entre 10 y 50 veces para ser competitivos con la astaxantina procedente de síntesis química (Johnson y Schroeder, 1995). Por lo tanto, la biotecnología tiene un papel esencial para aumentar sus niveles y reducir el elevado coste de producción, que limita el uso de *X. dendrorhous* como fuente natural de astaxantina. Existen distintas aproximaciones para mejorar la producción como pueden ser:

- Optimización de los medios de cultivo y de los parámetros físicos y químicos de la fermentación.
- Desarrollo de cepas mutantes superproductoras de astaxantina.
- Mejora en la extracción de la astaxantina.

##### **4.4.1. Adición al medio de precursores y compuestos que estimulan la producción**

Se ha visto que diferentes compuestos añadidos al medio de cultivo incrementan la producción de carotenoides en *X. dendrorhous*. Entre estos compuestos está la valina (Meyer, 1993), el extracto de levadura (Fang y Cheng, 1993), el ácido acético (Meyer y du Preez, 1993), el ácido mevalónico (Calo, 1995) y el etanol (Gu, 1997). También precursores de la síntesis de astaxantina, como el licopeno, añadidos al medio de cultivo estimulan la producción de astaxantina. El uso de algunos de estos compuestos, como el mevalonato (precursor de los isoprenoides), incrementa significativamente la producción de astaxantina (hasta 4 veces), pero es demasiado caro para utilizarlo en fermentaciones a gran escala (Calo, 1995). Sin embargo, otros compuestos como el etanol, constituyen una forma simple y económica de incrementar la producción de astaxantina en procesos industriales (Gu, 1997).

En el estudio realizado por Gu y colaboradores (1997) se vio que la adición de una concentración de etanol del 0.2% al medio de cultivo provocaba un incremento en la síntesis de carotenoides en mutantes de *X. dendrorhous* con el metabolismo respiratorio alterado, y que no afectaba de forma apreciable al crecimiento de la levadura. Este efecto se puede explicar de varias formas:

- Por un lado, el etanol provoca un incremento en la formación de especies reactivas de oxígeno, que ya se ha visto que estimulan la síntesis de astaxantina en *Xanthophyllomyces*. Algunas de las reacciones de eliminación del etanol generan acetato, que incrementa la producción de carotenoides en *X. dendrorhous*.
- El etanol incrementa la actividad de la enzima HMG-CoA reductasa, que es clave en la biosíntesis de isoprenoides, y cuya sobreexpresión provoca un aumento en la producción de carotenoides.

El uso de compuestos estimulantes procedentes de hongos se ha convertido en una estrategia importante para incrementar la producción de metabolitos secundarios en cultivos celulares, entre ellos astaxantina y otros carotenoides de importancia económica, como  $\beta$ - caroteno, licopeno, cantaxantina, zeaxantina y luteína. En el caso de *X. dendrorhous*, se ha visto que varios metabolitos fúngicos provocan un incremento en el crecimiento y en la producción de carotenoides totales y de astaxantina. Sin embargo, se desconoce cuál es el mecanismo por el que actúan, aunque en algunos de los casos podría ser que estos metabolitos fúngicos fuesen precursores de la síntesis de astaxantina. El uso de estos compuestos supone una nueva forma de incrementar la producción de carotenoides utilizando esta levadura en procesos industriales.

#### **4.4.2. Optimización de las condiciones de fermentación**

La composición del medio de cultivo, entre otros factores ambientales, afecta a la producción de astaxantina en *X. dendrorhous*. El perfil de carotenoides producidos depende de la cepa, de la fuente de carbono utilizada y de las condiciones de cultivo, por lo que es necesario realizar una optimización específica para cada cepa que va a ser utilizada de forma industrial. Aunque para la producción de astaxantina a gran escala es necesario obtener la máxima producción posible de biomasa, este incremento en la producción de biomasa está acompañado, normalmente, por un descenso en la producción de carotenoides (An, 1989). Por lo tanto, es necesario encontrar medios de cultivo y condiciones de fermentación que incrementen la producción de biomasa sin que descienda la producción de carotenoides.

La carotenogénesis en las cepas silvestres de *X. dendrorhous* ocurre una vez que la glucosa del medio se ha agotado, por lo que concentraciones elevadas de glucosa provocan un descenso en la síntesis de carotenoides y llevan al acúmulo de carotenos (Johnson y Lewis, 1979). La glucosa proporciona altas tasas de crecimiento, pero una producción de astaxantina moderada (Johnson y Lewis, 1979). Por lo

tanto, la disponibilidad de fuentes de carbono no represoras además de la del nitrógeno son importantes para la regulación de la carotenogénesis.

El oxígeno disuelto es el principal factor para el crecimiento y la carotenogénesis, la limitación de la disponibilidad de oxígeno reduce drásticamente la producción de astaxantina. *X. dendrorhous* es un organismo aeróbico, cuyo crecimiento depende del aporte de oxígeno al cultivo. La tasa de producción de astaxantina en cultivos en medio líquido aumenta al incrementarse la captación de oxígeno. Por ello debe tenerse en cuenta que la tasa de transferencia de oxígeno del espacio libre del matraz a las células es directamente proporcional a la velocidad de agitación e inversamente proporcional al volumen de líquido del matraz (Yamane, 1997; Liu, 2006). La adición al medio de cultivo de aminoácidos derivados del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (CAT), como son ácido aspártico, asparragina, glutamato, glutamina y prolina provoca un incremento de la biomasa generada, pero disminuye la producción de carotenoides en relación a los resultados obtenidos al utilizar sulfato amónico como fuente de nitrógeno. Por otra parte, los intermediarios del CAT (succinato,  $\alpha$ -cetoglutarato, fumarato, malato y citrato) promueven el crecimiento, pero no reducen el contenido en carotenoides. El hecho de que el aporte de aminoácidos derivados de los intermediarios del CAT provoque un incremento en el crecimiento y un descenso en la producción de carotenoides se explica porque la transferencia de nitrógeno requiere energía, y este proceso induce la formación de especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto, el aporte de aminoácidos derivados de los intermediarios del CAT provoca un descenso en la producción de especies reactivas de oxígeno debido a un descenso de la actividad del CAT, lo que puede reducir la producción de carotenoides (An, 2001).

Los resultados de todos estos estudios resultan útiles para el cultivo a gran escala de *X. dendrorhous*, complementándose con los estudios realizados sobre el uso a nivel industrial de medios de cultivo de bajo coste, como pueden ser los elaborados a base de melazas (Haard, 1988), extracto líquido de maceración de maíz (Kesava, 1998) y subproductos de la trituration húmeda del maíz (Hayman, 1995). Estos medios pueden ser utilizados junto con otros que son ricos en ácidos orgánicos del CAT, como zumo de uva (Meyer y du Preez, 1994), para incrementar la producción de biomasa sin que se produzca pérdida en la producción de carotenoides. El sistema tradicional de producción en “batch” tiene el inconveniente de inducir el efecto Crabtree (caracterizado por la síntesis de etanol y ácidos orgánicos como productos de la fermentación), debido a las altas concentraciones de azúcares inicial, la disminución de pigmento y el rendimiento de la biomasa. Por encima de 12 g/l de concentración de carbono, la producción de carotenoides por *X. dendrorhous* comienza a disminuir y se observa el efecto Crabtree (Reynders, 1997). La estrategia para resolver este problema es el cultivo en “fed-batch”.

#### 4.4.3. Uso de medios de cultivo de bajo coste

Aunque *X. dendrorhous* tiene un gran valor comercial como fuente de carotenoides naturales, el elevado coste de producción limita su uso. Una forma de reducir este coste es utilizando sustratos más baratos. Esta levadura puede crecer en una gran variedad de fuentes de carbono, que incluyen monosacáridos y disacáridos, como glucosa, maltosa, sacarosa, celobiosa, xilosa, arabinosa y lactosa (Johnson y An, 1991; Fang y Cheng, 1993). Además, se han realizado estudios sobre el uso de medios de cultivo elaborados a base de subproductos de bajo coste y residuos de origen agroindustrial para la producción de astaxantina en *Xanthophyllomyces*, como residuos de alfalfa (Okagbue y Lewis, 1984), melazas de caña de azúcar (Haard, 1988; Fontana, 1996), hidrolizados de turba (Martin, 1993; Vázquez y Martin, 1998), zumo de uva (Meyer y du Preez, 1994), subproductos de la maceración húmeda del maíz (Hayman, 1995), jugo de caña de azúcar (Florêncio, 1998), hidrolizados hemicelulósicos de eucalipto (Parajó, 1998), hidrolizados de *Yucca fillifera* (Ramírez, 2000), leche de coco (Domínguez-Bocanegra y Torres-Muñoz, 2004) o residuos de mostaza (Tinoi, 2006). En general, el uso de estos medios de cultivo de bajo coste provoca un incremento significativo del crecimiento y de la síntesis de astaxantina (1.1 a 3.8 veces) comparado con los resultados obtenidos en un medio estándar (Tinoi, 2006).

Sustrato	Suplemento	Cepa	Producción (µg/g de peso seco)
Melazas de caña	Peptona	UCD 67-210	1182
Hidrolizados de turba	Peptona	NCHU-FS301*	1567
Jugo de uvas	Peptona y YE	N9*	1240
Subproductos de la maceración húmeda del maíz	-----	NRRL Y-17270	400
Hidrolizados de eucalipto	Peptona	NRRL Y-17268	448
Xilosa	Peptona, YE y ME	NRRL Y-17268	571
Jugo de <i>Yucca</i>	-----	25-2*	1203
Jugo de piña	-----	GM807*	493.84
Residuos de mostaza	-----	TISTR 5730	1312
Melaza	Peptona	UCD 67-210	1182
Leche de coco	-----	NRRL -10921	850
		R1*	1850

Tabla 4.4: Sustratos en los que han crecido distintas cepas de *X. dendrorhous*, indicando la producción de astaxantina. (\*) Cepas mutantes.

YE: Extracto de levadura, ME: Extracto de malta.

##### 4.4.3.1. Referencia de uso del orujo de uva

Se ha encontrado referencia del uso del orujo de uva en la producción astaxantina por la levadura *Phaffia Rhodozyma* en el artículo “Astaxanthin production by *Phaffia Rhodozyma* mutant on grape juice” (P. Mayer y J. Du Preez, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1994). En el



mismo se reportaron en Erlenmeyer agitados con jugo de uva como medio de cultivo, concentraciones finales de pigmentos totales y astaxantina de 2.120  $\mu\text{g/g}$  y 1.350  $\mu\text{g/g}$  sobre peso seco celular, respectivamente. El rendimiento biomasa-sustrato fue de 0.33 g/g. Se cree que la gran concentración de azúcares, así como limitaciones en el oxígeno disuelto, disminuyeron el contenido de astaxantina en las células. Adicionalmente, el agregado de extracto de levadura al jugo de uva aumento la velocidad máxima de crecimiento, el contenido de pigmentos totales y de astaxantina.

#### 4.5. Patente de referencia

La patente “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), desarrolla las directrices técnicas para la obtención de un alimento para salmónidos. El mismo se compone principalmente de células inactivas de levadura con astaxantina como agente pigmentante. En base a ello, tomamos las bases para la elección de la cepa mutante de la levadura *P. rhodozyma*, los medios de cultivos y condiciones de operación.

##### 4.5.1. Cepas mutantes

Para obtener un proceso económicamente rentable es preciso la utilización de cepas mutantes que produzcan niveles de astaxantina notablemente superiores a las cepas salvajes. Existen numerosos métodos de mutación con agentes químicos, como nitrosoguanidina (NTG), etilmetanosulfonato (EMS) y no químicos, como luz ultravioleta, capaces de inducir cambios genéticos en las células de la levadura. A esto le sigue un periodo de incubación, del cual se seleccionan las colonias mayormente pigmentadas, para luego, ser aisladas en placas de agar con medio nutritivo.

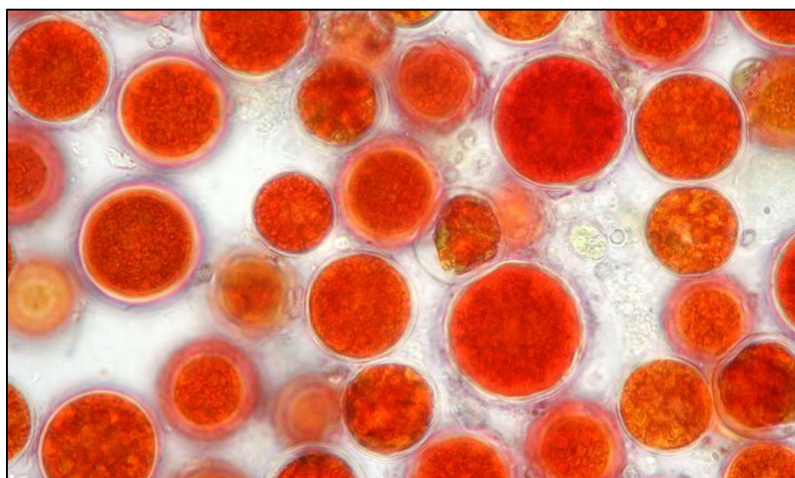


Fig. 4.4: Células de *P. Rhodozyma* mutante superproductoras.

Se encontraron tres cepas de prometedoras para su explotación industrial, propiedad del ATCC (American Type Culture Collection). Siendo las mismas: ATCC – 74218 (UBV – AX1), ATCC – 74219 (UBV – AX2), ATCC – 74220 (UBV – AX3), ATCC – 74221 (UBV – AX4).

Por razones económicas se decide la compra de las cepas mutantes, en lugar de su obtención en laboratorio, lo que requeriría una gran inversión en reactivos y equipos de laboratorio injustificados. En particular se ha optado por la cepa ATCC – 74218 (UBV – AX1), ya que ha sido posible su escalado a nivel industrial con rendimientos que hacen el proceso económicamente viable.

#### 4.5.1.1. Prueba con ATCC – 74218 (UBV – AX1)

Se inocularon 4.000 litros de un caldo de fermentación con 160 Kg de levadura sólida seca en un fermentador de 40.000 litros, con 13.500 litros de medio de cultivo.

INGREDIENT	AMOUNT (kg)
YEAST EXTRACT	81
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	68
MONOBASIC SODIUM PHOSPHATE	14
MAGNESIUM SULFATE	80
DEXTROSE	50
FERROUS SULFATE	0,650
CALCIUM PANTOTHENATE	0,470
ZINC SULFATE	0,150
CITRIC ACID	0,060
MANGANOUS SULFATE	0,035
COPPER SULFATE	0,035
SODIUM MOLYBDATE	0,020
BIOTIN	0,0035
COBALT SULFATE	0,0035
THIAMINE HYDROCHLORIDE	0,0018
BORIC ACID	0,0023
TAP WATER	13,500
ANTI-FOAM	5 l
pH	5,5

Tabla 4.5: Formulación del medio de cultivo en el biorreactor de 40.000 litros.

El caudal de aireación fue de 8.000 litros por minuto, con una agitación de 40 rpm. El pH fue controlado a 5.5 con anhídrido de amonio. Se añadió antiespumante de grado alimenticio cuando fuera necesario. El cultivo se alimentó con 17.000 Kg de una solución al 42% en peso de jarabe de maíz sin refinar, de manera que la glucosa en el medio de cultivo no sea mayor que 5 g/L, preferiblemente 0.1 a 2.5 g/L. El oxígeno disuelto fue controlado con la agitación y la aireación entre el 20 y 70% de la saturación.

<u>Astaxanthin Production in 40,000 l Fermentor</u>			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin ( $\mu\text{g/g dys}^*$ )
UBV-AX1	157	7.8	5060

\*Dry Yeast Solids

Tabla 4.6: Resultados de la fermentación en el biorreactor de 40.000 litros.

#### 4.5.1.2. Prueba con ATCC – 74219 (UBV – AX2)

Se inocularon 120 litros de un caldo fermentación con 3.6 Kg de levadura sólida seca en un fermentador de 2.000 litros, con 700 litros de medio de cultivo.

INGREDIENT	AMOUNT
YEAST EXTRACT	6 kg
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	4 kg
MAGNESIUM SULFATE	4 kg
DEXTROSE	3 kg
SODIUM CHLORIDE	700 g
FERROUS SULFATE	55 g
CALCIUM PANTOTHENATE	25 g
ZINC SULFATE	15 g
CITRIC ACID	5 g
MANGANOUS SULFATE	3 g
COPPER SULFATE	1 g

INGREDIENT	AMOUNT
BIOTIN	400 mg
COBALT SULFATE	300 mg
THIAMINE HYDROCHLORIDE	200 mg
BORIC ACID	80 mg
TAP WATER	700 l
ANTIFOAM	200 ml
pH	5.5

Tabla 4.7: Formulación del medio de cultivo en el biorreactor de 2.000 litros.

El caudal de aireación fue de 700 litros por minuto, con una agitación de 100 rpm. El pH fue controlado a 5.5 con anhídrido de amonio. Se añadió antiespumante de grado alimenticio cuando fuera necesario. El cultivo se alimentó con 800 Kg de una solución al 45% en peso de jarabe de maíz sin refinar, de manera que la glucosa en el medio de cultivo no sea mayor que 5 g/L, preferiblemente 0.1 a 2.5 g/L. El oxígeno disuelto fue controlado con la agitación y la aireación entre el 20 y 70% de la saturación. El volumen del medio de cultivo finaliza en 1.500 litros.

<u>Astaxanthin Production in 2,000 l Fermentor</u>			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin ( $\mu\text{g/g dry}^*$ )
UBV-AX2	136	10.9	5321

\*Dry Yeast Solids

Tabla 4.8: Resultados de la fermentación en el biorreactor de 2.000 litros.

#### 4.5.1.3. Prueba con ATCC – 74220 y 74221 (UBV – AX3 y AX4)

Se inocularon 1.5 litros de un caldo de fermentación con alrededor de 30 g de levadura sólida seca en un fermentador de 14 litros, con 5 litros de medio de cultivo.

INGREDIENT	AMOUNT (g)
YEAST EXTRACT	75
AMMONIUM SULFATE	25
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	15
MAGNESIUM SULEATE	5
INOSITOL	0.65
PYRIDOXINE	0.35
ZINC SULFATE	0.15
THIAMINE HYDROCHLORIDE	0.1
CALCIUM PANTOTHENATE	0.08
FERRIC AMMONIUM SULFATE	0.05
CUPRIC SULFATE	0.01
BIOTIN	0.0005
TAP WATER	5 l
ANTI-FOAM	5 ml
pH	5.5

Tabla 4.9: Formulación del medio de cultivo en el biorreactor de 14 litros.

El caudal de aireación fue de 8 litros por minuto, con una agitación de 500 rpm. El pH fue controlado a 5.5 con 750 ml de una dilución 1:3 de hidróxido de amonio. Se añadió antiespumante de grado alimenticio cuando fuera necesario. El cultivo se alimentó con 1.750 g de glucosa con una solución al 50% en peso, de manera que la glucosa en el medio de cultivo no sea mayor que 5 g/L, preferiblemente 0.1 a 2.5 g/L. El oxígeno disuelto fue controlado con la agitación y la aireación entre el 20 y 90% de la saturación. El resultado de la fermentación fue:

<u>Astaxanthin Production in 14 l Fermentor</u>			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin ( $\mu\text{g/g dys}^*$ )
UBV-AX3	115	8.6	6660
UBV-AX4	115	7.7	4670

\*dys: Dry Yeast Solids

Tabla 4.10: Resultados de la fermentación en el biorreactor de 14 litros.

#### 4.5.1.4. Caso de estudio sobre la incorporación de aditivos

Un estudio presente en la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, demuestra como una formulación de levadura de *P. rhodozyma* con etoxiquina, lecitina de soja y aceite de girasol incrementó la deposición de astaxantina en la carne de los salmónidos de manera significativa.

La dieta de pigmentación de las truchas arcoíris contenía levadura de *P. rhodozyma* y se compararon las cantidades de astaxantina depositadas en la carne con tres dietas de diferente formulación. La dieta A, contenía levadura con 2.000 ppm de etoxiquina. La dieta B, contenía levadura con 2.000 ppm de etoxiquina y 2.5% de lecitina de soja. La dieta C, contenía levadura con 2.000 ppm de etoxiquina, 2.5% de lecitina de soja y 2.5% de aceite de girasol. La Tabla 4.11 muestra los resultados de la alimentación con las tres dietas a los 93 días.

<u>Pigmentation of Fish Flesh at 93 Days</u>		
Diet	Astaxanthin in Feed (ppm)	in Flesh (ppm/wet wt)
A	49	2.01 $\pm$ 1.32
B	49	3.02 $\pm$ 1.87
C	48	4.50 $\pm$ 1.40

Tabla 4.11: Resultados de las distintas dietas de salmónidos con aditivos.

## 4.6. Determinación de parámetros cinéticos

Es preciso determinar una serie de parámetros cinéticos propiamente característicos de la levadura *P. rhodozyma*, tanto en procesos tipo batch, como fed-batch.

Según la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), si bien la levadura utilizada en el proceso es una cepa mutante super-productora de astaxantina, su modificación genética sólo repercute en la capacidad de síntesis del pigmento y no exhibe diferencia en el crecimiento celular, necesidades nutricionales o condiciones del entorno para su desarrollo con respecto a la cepa salvaje.

### 4.6.1. Estudios en sistemas batch

Se determinan los parámetros cinéticos relacionados a la velocidad de crecimiento de biomasa, en base a los siguientes trabajos de investigación sobre cepas salvajes de *P. rhodozyma* en sistemas tipo batch.

1. “Astaxanthin formation by the yeast *P. rhodozyma*” (Eric A. Johnson y Micheal J. Lewis, Department of Food Science and Technology, University of California, USA, 1979).
2. “Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma*” (Danilo G. Moriel y Iara M. Pereira Machado, Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2004)

#### 4.6.1.1. Primer estudio batch

En el primer proyecto de investigación, según la Figura 4.5, se muestra la evolución de un proceso de fermentación batch. Identificamos el comienzo de la fase exponencial a las 10 horas y su culminación a las 50 horas.

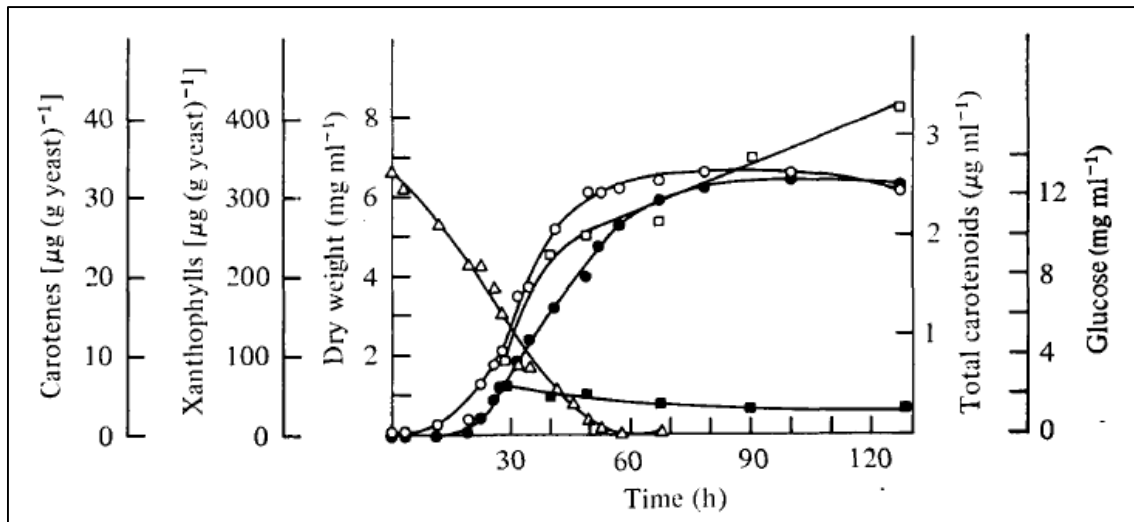


Fig. 4.5: Producción de carotenoides por *P. rhodozyma* en fermentador batch. crecimiento de levadura ( $\circ$ ), formación total de carotenoides ( $\bullet$ ), formación de astaxantina ( $\square$ ), síntesis de carotenos ( $\blacksquare$ ) y utilización de glucosa ( $\Delta$ ).

- Para el cálculo de la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) se determinan, a partir de la Figura 4.5, los siguientes parámetros:

- $t_{\text{exp}} = 40 \text{ hs}$
- $X_i = 0,55 \text{ g biomasa/L}$
- $X_f = 6,00 \text{ g biomasa/L}$

- Según la ecuación de crecimiento de biomasa en sistemas batch:

- $dX/dt = X * \mu$

Integrando se tiene:

- $X_f = X_i * e^{\mu_{\text{máx}} * t_{\text{exp}}}$

Entonces:

- $6,00 \text{ g biomasa/L} = 0,55 \text{ g biomasa/L} * e^{\mu_{\text{máx}} * 40 \text{ hs}}$
- $\mu_{\text{máx}} = 0,060 \text{ hs}^{-1}$

#### 4.6.1.2. Segundo estudio batch

En el segundo proyecto de investigación, según la Figura 4.6, se muestra la evolución de un proceso de fermentación batch. Identificamos el comienzo de la fase exponencial a las 24 horas y su culminación a las 72 horas.

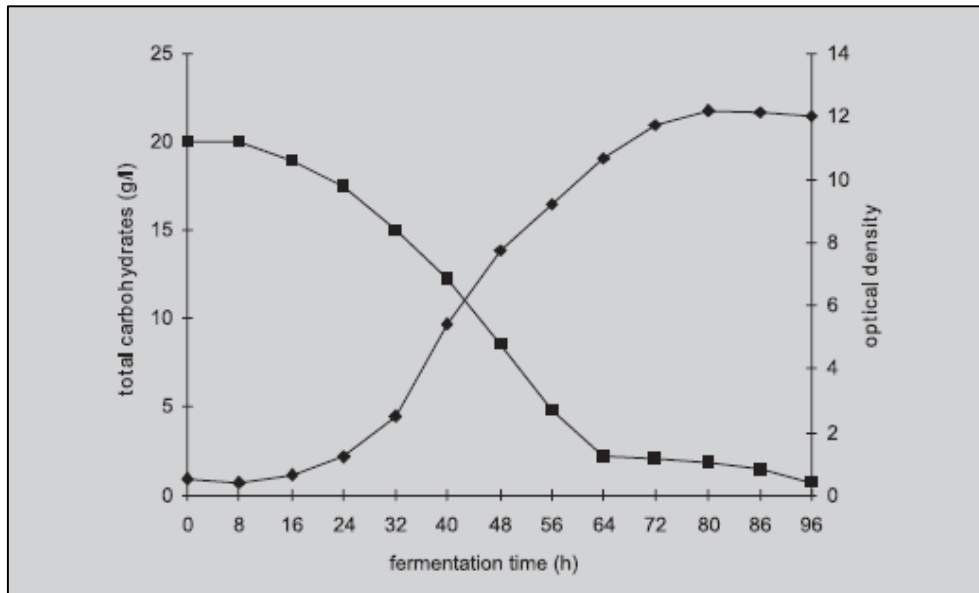


Fig. 4.6: Consumo de sustrato y formación de biomasa en un proceso batch.  
Carbohidratos totales (■), densidad óptica (◆).

La densidad óptica (DO) se determina por espectrofotometría y se usa para inferir la concentración de biomasa.

- Sabiendo que una DO de 12 equivale a 6.9 g/L de biomasa, se determinan los siguientes parámetros:
  - $t_{\text{exp}} = 48 \text{ hs}$
  - $X_i = 0,71 \text{ g biomasa/L}$
  - $X_f = 6,74 \text{ g biomasa/L}$
- Según la ecuación de crecimiento de biomasa en sistemas batch:
  - $dX/dt = X * \mu$



Integrando se tiene:

- $X_f = X_i * e^{\mu_{\text{máx}} * t_{\text{exp}}}$

Entonces:

- $6,74 \text{ g biomasa/L} = 0,71 \text{ g biomasa/L} * e^{\mu_{\text{máx}} * 48 \text{ hs}}$
- $\mu_{\text{máx}} = 0,047 \text{ hs}^{-1}$

3. Promediando los valores de  $\mu_{\text{máx}}$  en ambos estudios, obtenemos:

- $\mu_{\text{máx}} = 0,054 \text{ hs}^{-1}$

4. En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato ( $Y_{\text{XS}}$ ), el estudio nos provee del valor del mismo, siendo este:

- $Y_{\text{XS}} = 0,36 \text{ g biomasa/g sustrato}$

La velocidad de crecimiento ( $\mu$ ) de la levadura *P. rhodozyma* varia constantemente durante todo el período de formación de biomasa, pero alcanza un punto máximo, la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) en el transcurso de la fase exponencial. Esta velocidad máxima se utiliza como un límite práctico a igualar, o al menos a aproximarse, cuando se hace el desarrollo el proceso en un sistema tipo fed-batch debido a que la velocidad de crecimiento puede ser ajustada con el patrón de alimentación elegido.

#### 4.6.2. Estudios en sistemas fed-batch

Se determinan los parámetros cinéticos relacionados a la velocidad de crecimiento de biomasa y el rendimiento biomasa-sustrato, en base a los siguientes trabajos de investigación sobre cepas salvajes de *P. rhodozyma* en sistemas tipo fed-batch.

1. “Effect of feeding methods on the astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in fed-batch process” (Danilo G. Moriel, Miriam B. Chociai y Iara M. Machado, Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2005).

2. “Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma*” (Danilo G. Moriel y Iara M. Machado, Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2004).

El rendimiento de biomasa-sustrato es un parámetro importante a determinar en el análisis de los sistemas fed-batch, ya que nos permitirán determinar el caudal de alimentación al biorreactor.

#### 4.6.2.1. Primer estudio fed-batch. Alimentación por pulso

En el primer trabajo de investigación, según la Figura 4.7, se muestra un método de alimentación por pulso. Cuando la concentración de azúcares baja de un determinado valor se introduce un pequeño caudal de la solución del reservorio. Las flechas en las imágenes representan, en el caso de la alimentación por pulso, los instantes de ingreso de solución del reservorio.

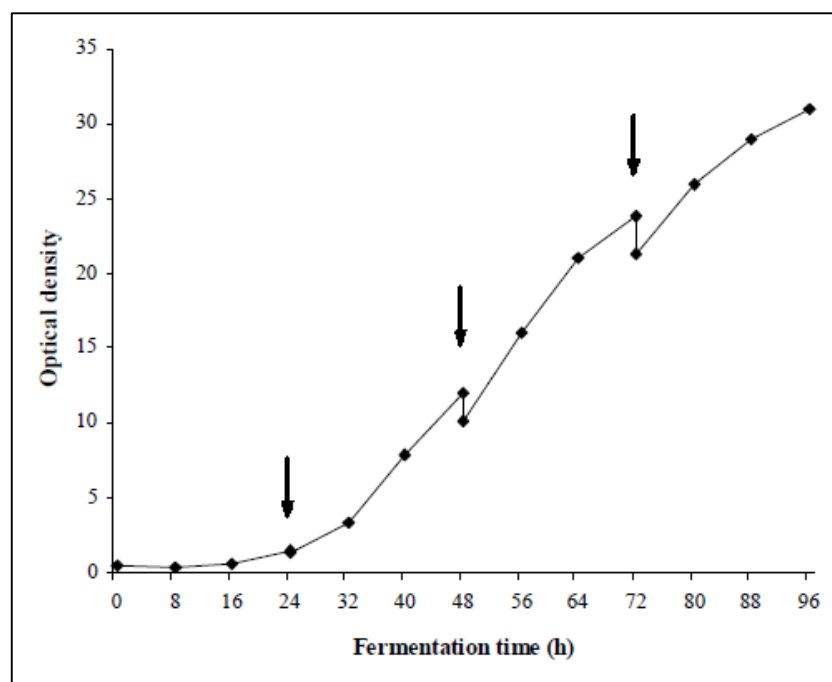


Fig. 4.7: Se observa la evolución de un proceso fed-batch alimentado por pulso. Densidad óptica (♦).

- Sabiendo que una DO de 30.7 equivale a 18.75 g/L de biomasa, se determinan se determinan los siguientes parámetros:
  - $t_{\text{exp}} = 72 \text{ hs}$
  - $V_i = 0,8 \text{ L}$

- $V_f = 1,25 \text{ L}$
- $X_i = 0,87 \text{ g biomasa/L}$
- $X_f = 18,75 \text{ g biomasa/L}$

2. Según la ecuación de crecimiento de biomasa en sistemas fed-batch:

- $d(XV)/dt = X * V * \mu$

Integrando y suponiendo una alimentación del tipo exponencial, se tiene:

- $X_f * V_f = X_i * V_i * e^{\mu * t_{\text{exp}}}$

Entonces:

- $(18,75 \text{ g biomasa/L}) * 1,25 \text{ L} = (0,87 \text{ g biomasa/L}) * 0,8 \text{ L} * e^{\mu * 72 \text{ hs}}$
- $\mu = 0,049 \text{ hs}^{-1}$

3. En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato ( $Y_{XS}$ ), el estudio nos provee del valor del mismo, siendo este:

- $Y_{XS} = 0,39 \text{ g biomasa/g sustrato}$

La velocidad de crecimiento de la levadura está en concordancia con el valor de  $\mu_{\text{máx}}$  promedio de los procesos batch (sección 4.6.1).

#### 4.6.2.2. Primer estudio fed-batch. Alimentación continua

En el primer trabajo de investigación, según la Figura 4.8, se muestra un método de alimentación continua. Lo que se intenta es incrementar el caudal de alimentación de la misma forma que lo hace la biomasa. Las flechas en las imágenes representan el inicio y el cese del ingreso de la alimentación del reservorio.

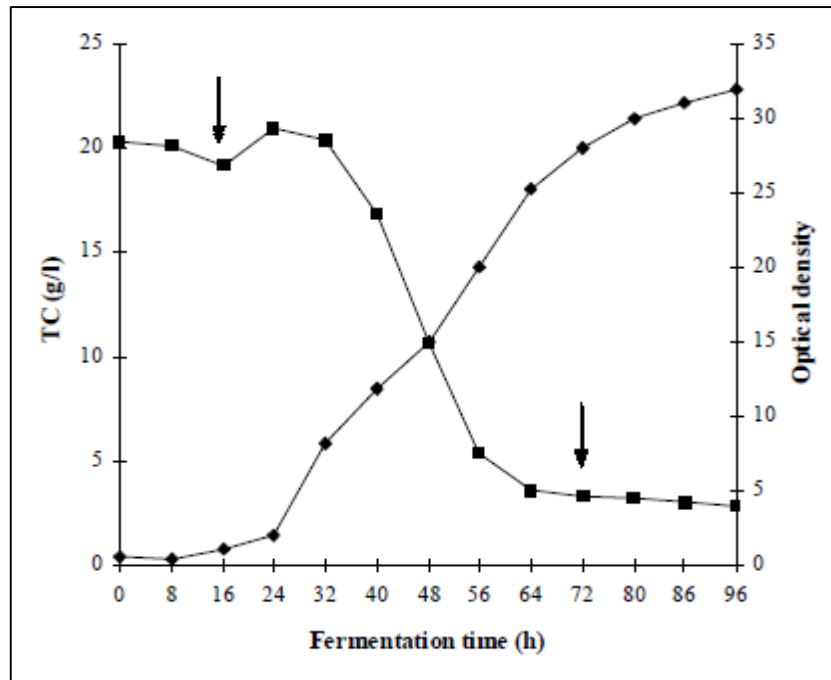


Fig. 4.8: Se observa la evolución de un proceso fed-batch alimentado de forma continua. Carbohidratos totales (■), densidad óptica (◆).

1. Sabiendo que una DO de 31.9 equivale a 19.35 g/L de biomasa, se determinan los siguientes parámetros:

- $t_{\text{exp}} = 48 \text{ hs}$
- $V_i = 0,8 \text{ L}$
- $V_f = 1,25 \text{ L}$
- $X_i = 1,47 \text{ g biomasa/L}$
- $X_f = 16,13 \text{ g biomasa/L}$

2. Según la ecuación de crecimiento de biomasa en sistemas fed-batch:

- $d(XV)/dt = X * V * \mu$

Integrando y suponiendo una alimentación del tipo exponencial, se tiene:

- $X_f * V_f = X_i * V_i * e^{\mu * t_{\text{exp}}}$

Entonces:

- $(16,13 \text{ g biomasa/L}) * 1,25 \text{ L} = (1,47 \text{ g biomasa/L}) * 0,8 \text{ L} * e^{\mu * 48 \text{ hs}}$

- $\mu = 0,059 \text{ hs}^{-1}$

3. En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato ( $Y_{XS}$ ), el estudio nos provee del valor del mismo, siendo este:

- $Y_{XS} = 0,41 \text{ g biomasa/g sustrato}$

La velocidad de crecimiento de la levadura, en el sistema con alimentación continua, obtuvo una mayor aproximación con el valor de  $\mu_{\text{máx}}$  promedio de los procesos batch (sección 4.6.1), que el sistema con alimentación por pulso. En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato, no hubo diferencias significativas con las dos formas de alimentación.

#### 4.6.2.3. Segundo estudio fed-batch

En el segundo trabajo de investigación, según la Figura 4.9, se muestra la evolución de un proceso fed-batch con alimentación continua. Las flechas determinan el inicio y el cese del ingreso de la solución del reservorio.

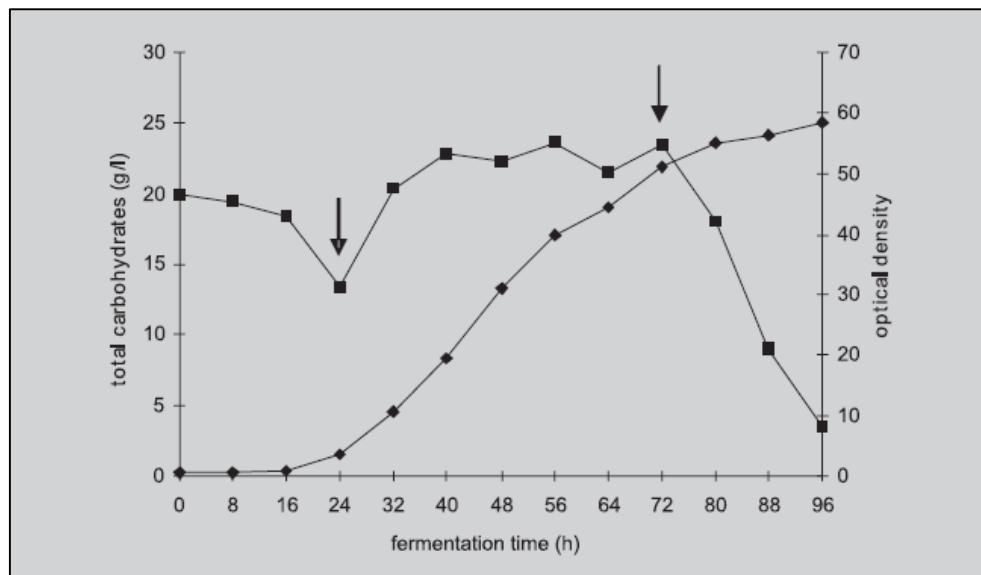


Fig. 4.9: Se observa la evolución de un proceso fed-batch con alimentación continua. Carbohidratos totales (■), densidad óptica (♦).

1. Sabiendo que una DO de 58.1 equivale a 31.4 g/L de biomasa, se determinan se determinan los siguientes parámetros:

- $t_{\text{exp}} = 48 \text{ hs}$

- $V_i = 1,0 \text{ L}$
- $V_f = 1,2 \text{ L}$
- $X_i = 2,01 \text{ g biomasa/L}$
- $X_f = 27,37 \text{ g biomasa/L}$

2. Según la ecuación de crecimiento de biomasa en sistemas fed-batch:

- $d(XV)/dt = X * V * \mu$

Integrando y suponiendo una alimentación del tipo exponencial, se tiene:

- $X_f * V_f = X_i * V_i * e^{\mu * t_{exp}}$

Entonces:

- $(27,37 \text{ g biomasa/L}) * 1,2 \text{ L} = (2,01 \text{ g biomasa/L}) * 1,0 \text{ L} * e^{\mu * 48 \text{ hs}}$
- $\mu = 0,058 \text{ hs}^{-1}$

3. En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato ( $Y_{XS}$ ), el estudio nos provee del valor del mismo, siendo este:

- $Y_{XS} = 0,39 \text{ g biomasa/g sustrato}$

Este resultado es muy similar al obtenido en el proceso de alimentación fed-batch de manera continua del primer trabajo de investigación. Se concluye que, en ambos estudios, el valor de la velocidad de crecimiento con alimentación continua alcanza un valor muy próximo a la  $\mu_{\text{máx}}$ . En cuanto al rendimiento biomasa-sustrato, no hubo diferencias significativas con respecto al primer estudio.

#### 4.6.3. Formación de producto

En búsqueda del mayor rédito económico del proyecto, debemos maximizar la obtención del producto de interés. En base al estudio de investigación, "Production of astaxanthin by *X. dendrorhous* ZJUT46 with fed-batch fermentation in 2.0 m<sup>3</sup> fermentor" (Zhong-Ce Hu, y Yu-Guo Zheng, Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, China, 2006), se observa como en un biorreactor batch de 2 m<sup>3</sup> la concentración de astaxantina se incrementa notablemente en la fase estacionaria con respecto a la fase de crecimiento exponencial (Figura 4.10).

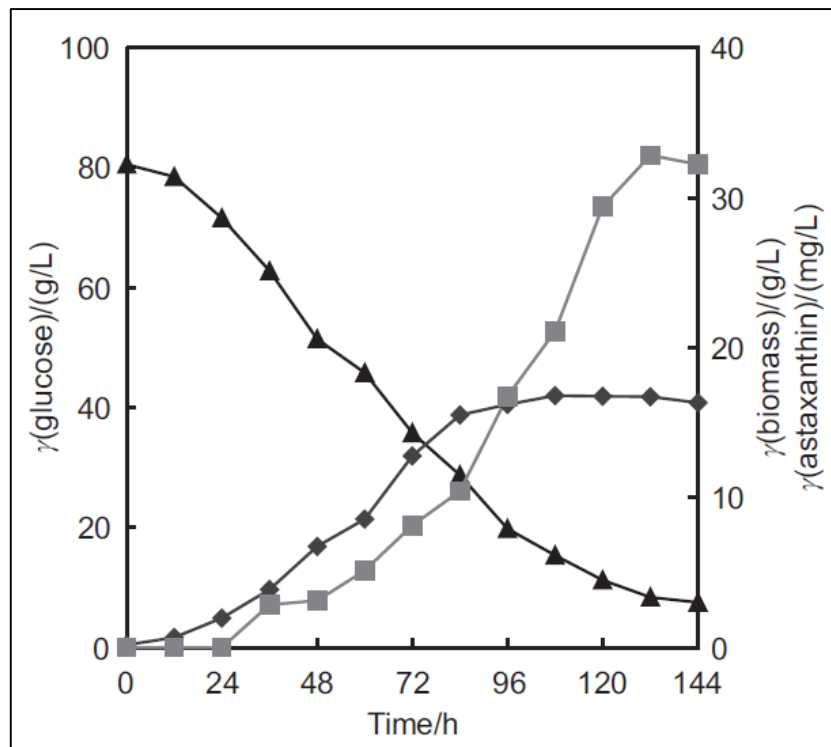
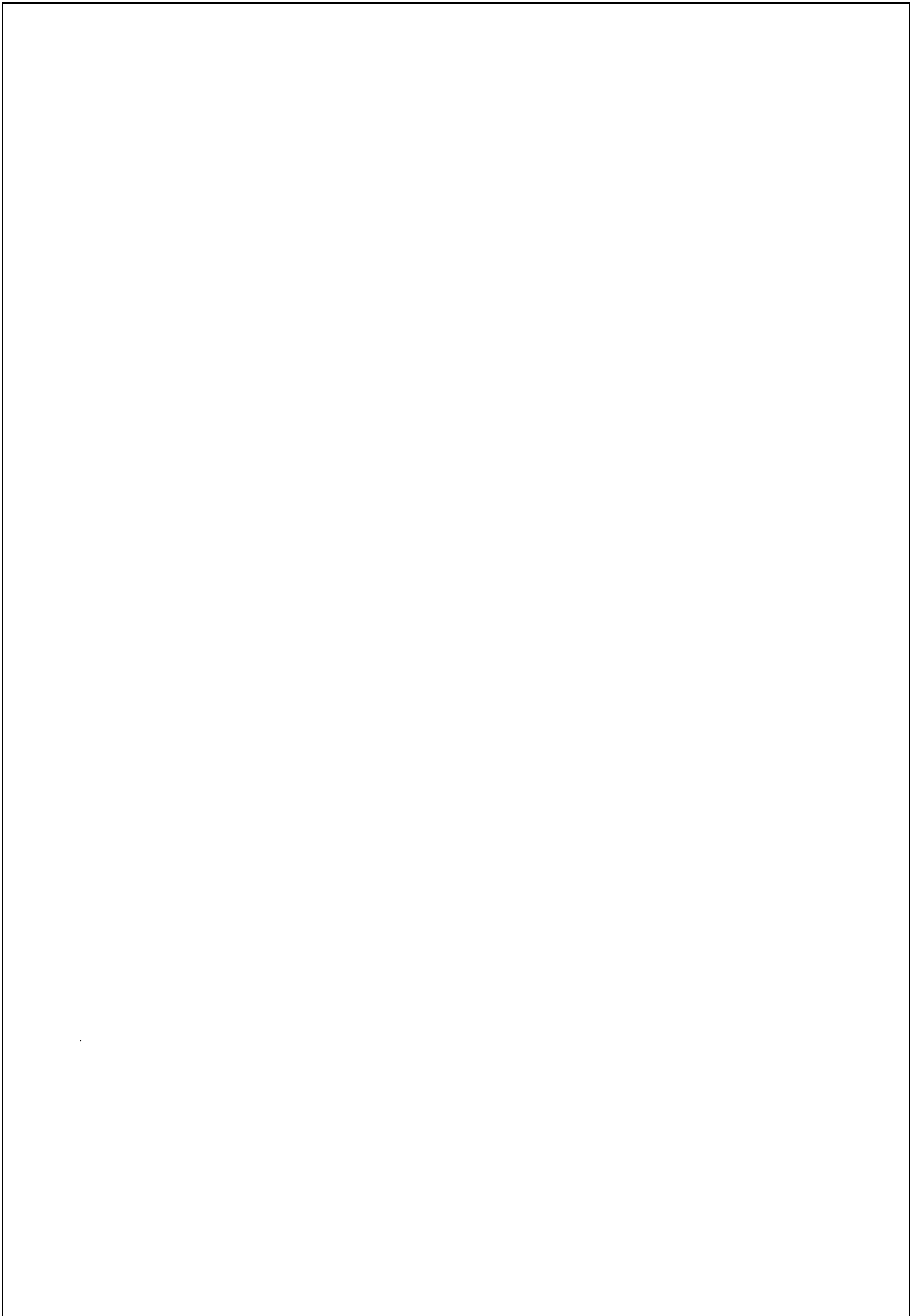


Fig. 4.10: Producción de astaxantina en una fermentación batch a 20°C y pH constante de 5.0. Astaxantina (■), biomasa (◆).

Al finalizar la fase exponencial de crecimiento, a las 96 horas, la concentración de astaxantina es de 17.5 mg/L. Y al finalizar la fase estacionaria, a las 144 horas, la concentración de astaxantina es de 36.19 mg/L. Como se ve, la diferencia en la obtención de astaxantina es sustancial, por lo que una vez terminada la fase exponencial se debe continuar la fermentación entre 2 a 4 días más, a fin de incrementar el nivel de producción del pigmento.





## 5. Proceso de producción

Como en la gran mayoría de los procesos biotecnológicos, podemos dividir nuestro proceso en 3 partes, el upstream, la biorreacción y el downstream. Los procesos de upstream, contemplan la preparación del medio de cultivo y selección del microorganismo apropiado para llevar a cabo la reacción dentro del biorreactor. La biorreacción en sí misma, no sólo abarca el control las variables del proceso, sino también el escalado desde sus inicios en ampollas o placas de Petri hasta el biorreactor de nivel industrial. Por último, las operaciones de downstream buscan la separación y purificación del producto de interés hasta darle su formato de comercialización.

### 5.1. Orujo de uva como medio de cultivo

El orujo de uva debido a su matriz composicional, gran disponibilidad en la provincia de Mendoza y sumado al hecho de ser un producto residual de bajo costo, lo hacen una materia prima prometedora para la incorporación del medio de cultivo destinado a la fermentación de la levadura *P. rhodozyma*.

El orujo de uva es un residuo derivado del prensado de uvas frescas, fermentado o no, para la elaboración de vinos. Según el trabajo de investigación “Composition and utilization of Florida grape pomace” (M. Starnes Saunders y F. Takeda, División Ciencias de la Agricultura, Universidad de Florida, Florida, EE. UU, 1982). La composición promedio del orujo de uva se detalla en la Tabla 5.1. Cabe aclarar que, del total de carbohidratos presentes, se estipula que entre el 55 al 60% son azúcares simples, principalmente glucosa y fructosa.

Variedad	Humedad	Peso seco								
		CHO	Lípidos	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Sodio	Calcio	Magnesio	Zinc
Stover	59.4%	25.4%	4.99%	1.76%	0.36%	2.41%	0.05%	0.67%	0.16%	0.0014%
Dixie	78.9%	48.8%	4.86%	1.88%	0.39%	1.56%	0.09%	0.52%	0.18%	0.0015%
Carlos	71.5%	39.7%	4.76%	1.81%	0.32%	2.00%	0.13%	0.55%	0.19%	0.0022%
Noble	70.9%	31.7%	4.75%	1.83%	0.41%	1.48%	0.10%	0.53%	0.18%	0.0017%
Noble	70.6%	27.9%	4.47%	1.78%	0.43%	1.42%	0.11%	0.62%	0.16%	0.0018%
Promedio	70.3%	34.7%	4.77%	1.81%	0.38%	1.77%	0.10%	0.58%	0.17%	0.0017%

Tabla 5.1: Composición de distintas especies de orujos de uva.

Los desechos de uva de la industria vitivinícola están conformados por:

- **El hollejo o piel del grano.** Es el pericarpio del fruto, dentro del cual están contenidos los tejidos intersticiales, donde se deposita el mosto o azúcares que al fermentar formaran el

alcohol y los aldehídos aromáticos. Desde el punto de vista de la alimentación constituye el componente fundamental.

- **Raspón o escobajo.** Es de baja riqueza nutritiva y de consistencia leñosa, debido a su elevado contenido de celulosa y lignina. Es separado previamente del resto del grano de uva en los procesos de vinificación mediante el despalillado del racimo.
- **Pepitas o semillas.** Contienen ácidos grasos insaturados, linoleico y oleico.

Según la Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), se estipula que aproximadamente el 55% de los desechos de la uva en el proceso de elaboración de vino son piel, el 20% son semillas, y el otro 25% son escobajos. Pero cabe recordar que previo al procesamiento de la uva se realiza un despalillado para eliminar las ramas, por lo que la conformación del orujo es aproximadamente 75% de piel y 25% de semillas.



*Fig. 5.1:* Orujo de uva, luego del proceso de prensado para la elaboración de vino.

Según el proceso industrial enológico se obtienen dos tipos de orujos:

- **Orujos vírgenes, también llamados orujos crudos.** Proviene de un sistema de vinificación en el que son separados antes de que el mosto haya iniciado su fermentación. Es el método que se utiliza para la elaboración de vinos blancos. Luego de ser prensado, puede extenderse en amplias superficies para secarlo a la intemperie o en equipos industriales, hasta alcanzar una humedad del 12% para que no registre fermentaciones. Una vez alcanzado este punto, el orujo seco puede apilarse en silos por un período de tiempo mayor a dos años.

El problema detrás del manejo del orujo virgen es la rapidez con que debe secarse, esperar mucho tiempo produce fermentaciones alcohólicas-acéticas que pueden destruirlo en breve tiempo.

- **Orujos fermentados.** Se los obtiene después de la elaboración de vinos tintos donde el mosto fermenta con el orujo. El orujo fermentado permite un mayor margen de tiempo para su secado que el orujo virgen. Sin embargo, si el silo no se encuentra bien cerrado, puede producirse un proceso acético e incluso butírico, que destruiría el orujo.

### **5.1.1. Procesado del orujo de uva**

Para la buena incorporación de los nutrientes del orujo de uva al medio de cultivo se lo macera con agua caliente hasta obtener una solución rica en nutrientes, pero especialmente, rica en azúcares. Pero antes de ello, debe asegurarse tanto el stock suficiente de materia prima, como su estabilidad a lo largo del tiempo, por lo que el transporte, el secado y el almacenamiento jugarán un papel fundamental para el proceso.

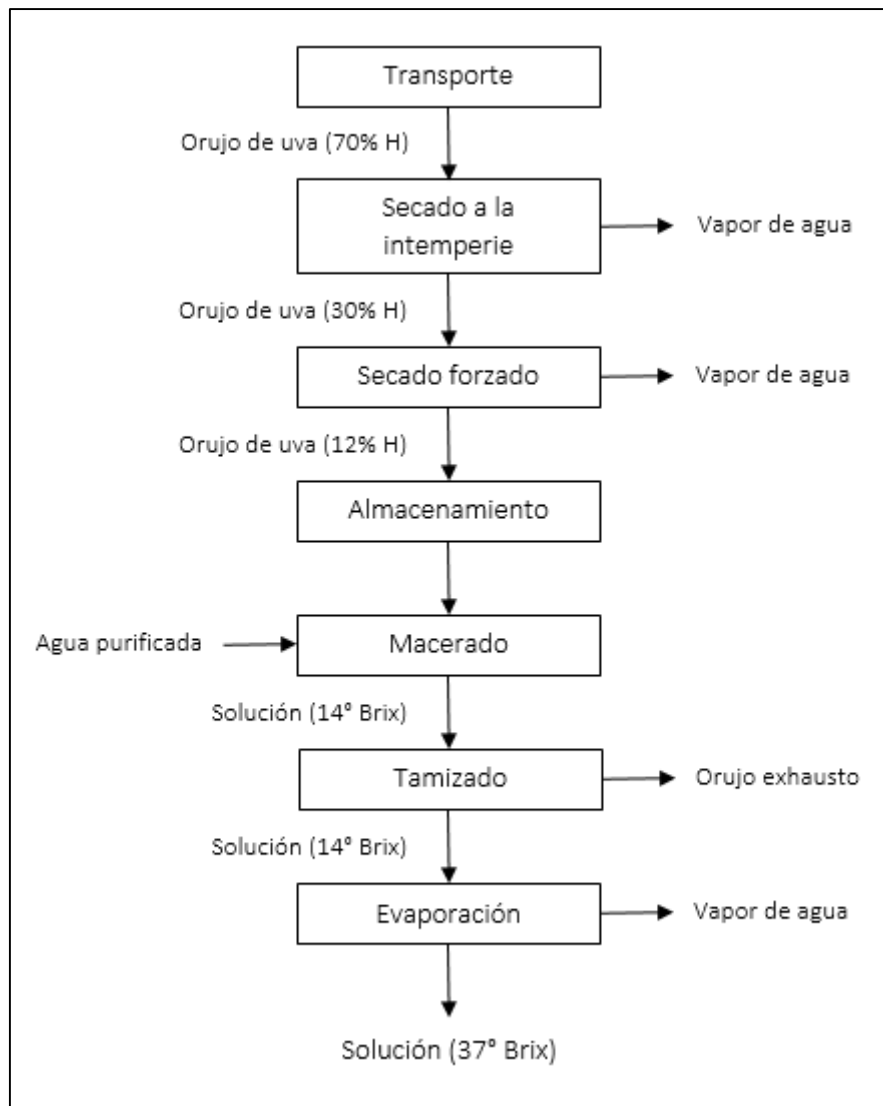


Fig. 5.2: Diagrama de flujo para la obtención de la solución concertada en nutrientes.

#### 5.1.1.1. Transporte del orujo de uva

En Argentina, la temporada de cosecha de uvas se encuentra entre los meses de febrero y mayo, por lo tanto, en este período se deben concentrar los esfuerzos por recibir la totalidad del orujo necesario para la producción anual. La manera más viable de transportar el orujo de uva desde las bodegas productoras de vino, hasta nuestra planta de producción, es mediante camiones de carga de gran capacidad, como los tipos bitrenes con tolva para transporte de cereales.



Fig. 5.3: Camión bitren para transporte de cereales.

La carga del camión con la materia prima se realiza mediante una elevadora de tornillo sin fin móvil. El equipo es básicamente un conducto de transporte con un tornillo helicoidal en su interior, el cual, mediante la acción de un motor eléctrico gira alrededor de 200 rpm, permitiendo arrastrar el orujo desde el nivel del suelo en un extremo del conducto, hasta lo alto del equipo en el otro y descargarlo dentro del camión. La inclinación del equipo dependerá tanto del conducto como de la altura del camión, sin embargo, esta nunca deberá sobrepasar los  $45^\circ$  ya que se reduciría la eficiencia del transporte por efecto cascada.



Fig. 5.4: Elevadora de tornillo sin fin realizando la carga de un camión de transporte de granos.

Para descargar el orujo se abren las puertas instaladas en las paredes de la tolva, se lo deja caer dentro de la boca de ingreso de la elevadora de tornillo y, finalmente, se lo deposita dentro de los llamados “silos australianos o silos celdas” para la siguiente etapa del proceso.



*Fig. 5.5:* Descarga de camión cerealero en silo australiano mediante elevadora de tornillo.

#### 5.1.1.2. Secado del orujo de uva

El orujo de uva debe secarse hasta una humedad entorno al 12% para evitar la degradación de nutrientes valiosos en el proceso de fermentación, pero el alto contenido de humedad inicial y los grandes volúmenes de procesamiento requerirían un equipo de secado industrial de gran porte, a la par, de un gran consumo energético.

Sin embargo, según el trabajo de investigación “Producción de un compostaje a partir de desechos de uva” (Ferrer J., Mujica D. y Páez G., Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1993). Se expone un método mucho más económico, en el cual el orujo de uva recién prensado es dispuesto en forma de pila y expuesto a la intemperie, logrando una reducción en el contenido humedad del 73 a 33% en un período de 10 días. Como se detalla en la Tabla 5.2, la pila N°3 no tuvo ningún agregado de aditivos ni sistema de aireación incorporado.

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
1	73.56	73.56	73.52	71.66
3	69.15	64.83	66.30	65.20
10	50.08	32.73	32.93	34.91
25	22.52	18.84	29.63	18.08

*Tabla 5.2:* Descenso de humedad en pilas de desechos de uva con diferentes sistemas de secado en el transcurso del tiempo.

Por lo tanto, se utilizará una metodología similar hasta alcanzar una humedad en el orujo de uva entorno al 30%. Una vez alcanzado dicho valor, se lleva la humedad hasta un 12% con un equipo industrial de secado.

Las pilas orujo de uva se disponen en silos celdas a cielo abierto a la espera de cumplir los 10 días de secado. Estos contenedores pueden ser desmontables, contruidos por placas y soportes de chapa galvanizada, o fijos, concebidos a partir de una estructura de hormigón armado. En nuestro caso, se opta por silos celda con estructura de hormigón armado, ya que permiten la construcción de un fondo en “V” con túnel enterrado para alojar un tornillo sin fin que facilita el transporte de materia prima.



*Fig. 5.6:* Fondo inclinado con tornillo transportador.

Para proteger la materia prima de fenómenos meteorológicos adversos, como lluvia o granizo, las pilas se cubren con lonas de material plástico con la ayuda de una grúa móvil con brazo telescópico.



*Fig. 5.7:* Lona protectora para silos tipo celda.



Cumplidos los 10 días, el orujo es arrastrado por el tornillo giratorio a través del túnel hasta un canal común de transporte. Este canal conduce el orujo hasta el equipo industrial de secado, el cual lo llevará hasta su nivel de humedad final de 12%.

Uno de los equipos de secado más utilizado a nivel industrial, tanto por sus amplias capacidades de procesamiento, como adaptación a diferentes tipos de productos, es el secador de tambor rotatorio. En este equipo el agua se remueve insuflando aire caliente a través del producto a secar. La alimentación entra por un extremo del tambor y sale por el otro después de haber permanecido en el interior lo suficiente como para alcanzar el nivel de humedad deseado.

El tambor se encuentra ligeramente inclinado, típicamente entre 3 a 7°, las velocidades de rotación rondan entre 0.5 a 20 rpm y la superficie interna se encuentra estriada o con pequeñas protuberancias que permiten el volteo del producto a medida que gira. Este conjunto de características permite el desplazamiento controlado del orujo de un extremo del tambor al otro, de manera de asegurar el tiempo de residencia necesario dentro del mismo, y la uniformidad en su secado durante dicho tiempo. La rotación del tambor se logra mediante ruedas de engranaje, el llamado conjunto corona-piñón, accionadas por un motor eléctrico. Por otro lado, una serie de rodamientos a lo largo del equipo le confieren estabilidad y favorecen el movimiento giratorio.

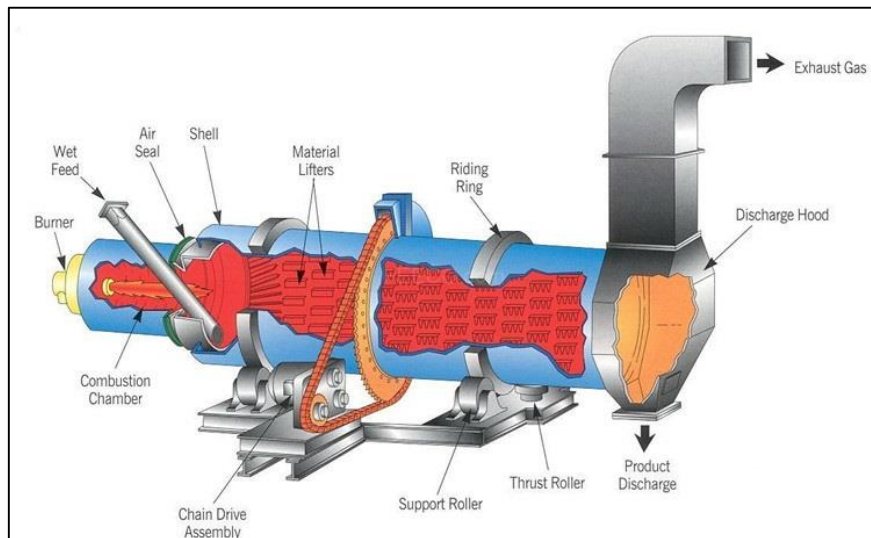


*Fig. 5.8:* Secador de tambor rotativo de pequeño tamaño.

Otros dos componentes que son fundamentales para el funcionamiento del equipo son, el quemador y el extractor de aire. El quemador es el encargado de elevar la temperatura del aire. Cuando se trata de un producto sensible al calor, como es el caso del orujo de uva, se lo instala en el extremo de la alimentación en una cámara apartada del tambor. Por otro lado, el extractor de aire aporta el caudal



aire necesario para la operación. Cuando se busca enfriar el producto rápidamente a la salida, se lo instala en el extremo de descarga del tambor. Una mala regulación del flujo de aire podría provocar un nivel indeseado de humedad en el producto a la salida del equipo, o su daño por exceso de calor.



*Fig. 5.9:* Esquema y configuración del secador del tambor rotatorio para el secado del orujo de uva.

Una vez seco, el orujo debe almacenarse en los silos cilíndricos verticales para protegerlo del medio exterior. La forma más práctica de hacerlo es con las llamadas “norias de elevación o elevador de cangilones”, las mismas transportan el orujo desde el suelo hasta lo alto del equipo por una serie de canastos plásticos rectangulares unidos a una correa que les imparte movimiento desde un motor eléctrico. Una vez en la cima, el orujo es descargado por conductos y entra a los silos por el techo.



*Fig. 5.10:* Noria elevadora para el llenado de silos.

### 5.1.1.3. Almacenamiento del orujo de uva

Debido que el orujo de uva sólo se encuentra disponible sólo en un período específico del año, nos obliga a tener de grandes volúmenes de almacenamiento a fin poseer un stock de materia prima suficientemente como para toda la producción anual.



*Fig. 5.11:* Silos verticales de fondo cónico con base de hormigón.

Un adecuado sistema de succión de aire en los silos es importante, ya que nos permite mantener la temperatura lo más baja posible, remover el calor de respiración de microorganismos, mantener la temperatura uniforme y controlar el nivel de humedad.



*Fig. 5.12:* Extractor centrífugo de aire instalado en silo de almacenamiento.

Para extraer el orujo almacenado se usan sistemas de descarga asistida. En los silos de almacenamiento los más comúnmente usados son las elevadoras de tornillo sin fin fijas, o también llamadas roscas extractoras.



*Fig. 5.13:* Rosca extractora instalada en silo de almacenamiento.

#### **5.1.1.4. Maceración del orujo de uva**

Un medio de cultivo líquido ofrece mayor homogeneidad y un control más eficiente sobre las variables que gobiernan el proceso de fermentación. La disolución de nutrientes en el medio líquido facilita a la levadura disponer de los mismos, en cuanto a los restos sólidos del orujo, su remoción ayuda a evitar la aparición de gradientes indeseados de células, nutrientes y temperatura, entre otros.

El orujo de uva se descarga en un mezclador de eje horizontal con cámara de acero inoxidable, donde se lo pone en contacto con agua caliente. Esto favorecen la difusión de azúcares, compuestos nitrogenados (como proteínas, pectinas, aminos y amidas) y minerales (como potasio, sodio, magnesio, fosfatos) debido a la desnaturalización del protoplasma celular.



Fig. 5.14: Mezclador continuo de eje horizontal.

Una célula de vegetal consiste en una pared celular, el protoplasma y una vacuola. Los azúcares se encuentran en la vacuola rodeada por el protoplasma, que tiene una estructura de membrana delgada de 2  $\mu\text{m}$  de grosor. El protoplasma es semipermeable e impide el proceso de difusión, a menos que se produzca una deformación de su estructura. Después de desnaturalizar el protoplasma, es permeable y está listo para el proceso de difusión. Esta desnaturalización puede ser lograda mediante calor.

En base al proyecto de grado “Proyecto de instalaciones necesarias en una planta azucarera” (A. García y V. Santías, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2017). Para el procesado del orujo de uva, se utiliza agua caliente entre 70 a 80°C, y se tarda aproximadamente 8 minutos para desnaturalizar el 90% del protoplasma de las células. Sin embargo, no debe sobrepasarse este rango de temperatura, ya que podría provocar la contracción de la superficie del orujo a causa de coagulación de las proteínas e impidiendo que los azúcares se disuelvan en el agua. Se estipula que luego de un tiempo de 60 minutos, el orujo pierde aproximadamente el 98% de sus azúcares por difusión en el agua.

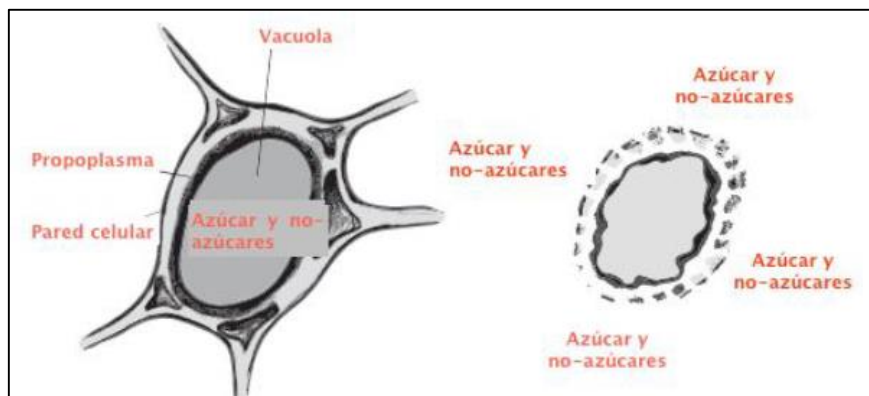


Fig. 5.15: Estructura del orujo antes y después del tratamiento térmico.

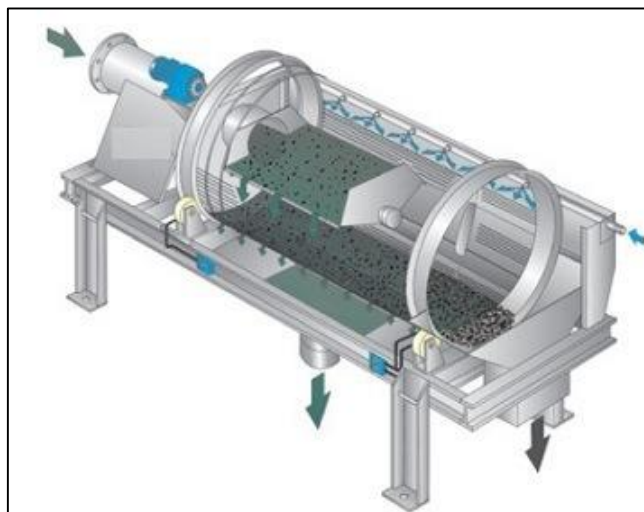


Luego de cumplir el tiempo de residencia necesario, el macerado es evacuado por la válvula de guillotina en la boca de descarga del mezclador y llevado hasta un tamiz de tambor rotativo para remover los restos sólidos del orujo.



*Fig. 5.16:* Tamiz de tambor rotativo.

El equipo está formado por un tambor filtrante de chapa perforada con un tornillo sin fin interno para la extracción de sólidos. La cesta filtrante se encarga de separar los sólidos contenidos en el líquido. La solución tamizada es conducida por gravedad hacia la brida de salida ubicada en la parte anterior del equipo, y los sólidos son transportados con ayuda del tornillo sin fin hacia la parte posterior, donde son descargados. La cesta suele tener una ligera inclinación de  $5^\circ$  hacia la zona de descarga, la cual contribuye a la separación de la fracción líquida de la sólida.



*Fig. 5.17:* Esquema del funcionamiento de un tamiz de tambor rotativo.

La solución azucarada se dirige a la siguiente etapa de productiva mientras que, el orujo exhausto, sale del proceso como un residuo. Este último, se recoge volquetes fuera de la planta y se lo comercializa con las empresas agrícola-ganaderas de la región como, alimento para animales o abono de suelos.

#### 5.1.1.5. Evaporación del macerado

Esta es la última etapa en el procesado del orujo de uva. La solución resultante del tamiz de tambor rotativo se concentra mediante la evaporación del agua, hasta obtener una solución entorno a los 37° Brix (37 g de azúcares por 100 g de solución).

Solución concentrada del orujo de uva	
Elementos	Composición
Azúcares	37.5%
Nitrógeno	3.36%
Potasio	3.28%
Fósforo	0.70%
Azúfre	0.28%
Magnesio	0.32%
Sodio	0.19%
Calcio	1.08%
Hierro	0.07%
Zinc	0.003%
Manganeso	0.002%
Cobre	0.009%
Cobalto	0.001%

*Tabla 5.3:* Composición de la solución concentrada.

El mejor equipo para llevar a cabo la operación es el evaporador tubular de película descendente, ya que permite la concentración de productos altamente sensibles al calor, como los jugos de frutas, que requieren un tiempo mínimo de exposición sobre una superficie caliente.



*Fig. 5.18:* Evaporador tubular de película descendente triple efecto.

En este equipo el líquido entra por la parte superior, desciende como una película por el interior de los tubos calentados con vapor de agua, y sale por el fondo hacia una unidad adyacente que separa la solución concentrada del vapor proveniente de la misma. El calor proveniente de este vapor es factible de ser aprovechado por un evaporador continuo, a fin de lograr la concentración de la solución con un menor gasto energético. Esta configuración de evaporadores en serie se la denomina de “múltiple efecto”. Los tubos definen el área de intercambio térmico y para su maximización en relación al volumen del mazo de tubos, es conveniente el uso de un gran número de tubos largos y diámetro pequeño, típicamente de 3 a 10 m de longitud y de 20 a 250 mm de diámetro.

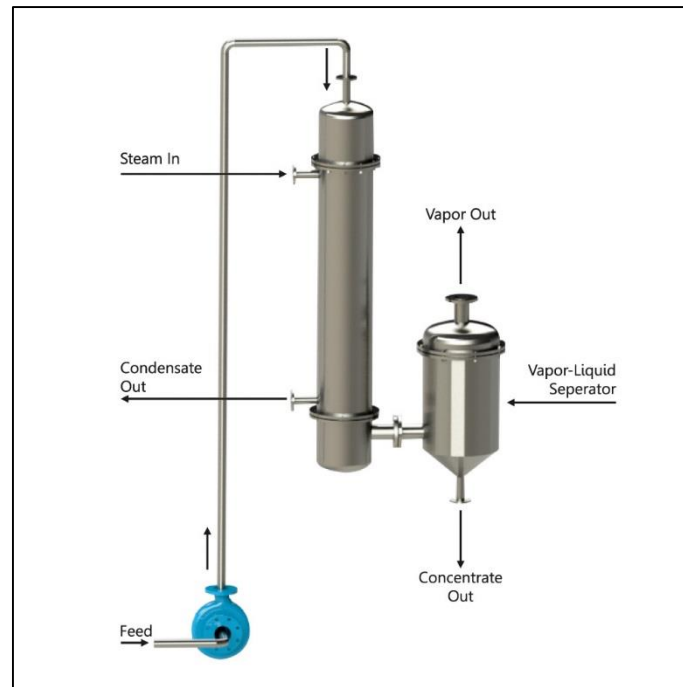


Fig. 5.19: Esquema del funcionamiento de evaporador tubular de película descendente simple efecto.

## 5.2. Medio de cultivo y solución de reservorio

En base a la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), se obtuvieron las composiciones promedio del medio de cultivo y solución de reservorio en que la cepa mutante de levadura fue capaz de crecer y producir cantidades significativas de astaxantina, tanto en sistemas tipo batch como fed-batch.

### 5.2.1. Formulación para sistemas tipo batch

En una operación tipo batch, no existe una alimentación al biorreactor. Todo el medio se introduce el momento inicial, con una concentración moderada de azúcares de 20 g/L. Concentraciones más altas podrían resultar inhibitorias por la formación de metabolitos no deseados. Este tipo de operación es el que se utiliza para llevar a cabo la fermentación a escala de laboratorio.



Medio de cultivo batch	
Elementos	Concentración
Azúcares	20 g/L
Nitrógeno	0.65 g/L
Potasio	1.44 g/L
Fósforo	1.42 g/L
Azúfre	1.59 g/L
Magnesio	1.19 g/L
Sodio	0.20 g/L
Calcio	1.40 mg/L
Hierro	14.0 mg/L
Zinc	15.0 mg/L
Manganeso	1.00 mg/L
Cobre	1.00 mg/L
Cobalto	0.10 mg/L
Tiamina (B1)	0.14 mg/L
P. de calcio (B5)	1.40 mg/L
Biotina (B8)	0.26 mg/L
Ácido cítrico	4.50 mg/L
Ácido bórico	0.17 mg/L

*Tabla 5.4:* Composición objetivo del medio de cultivo tipo batch.

### 5.2.2. Formulación para sistemas tipo fed-batch

En una operación tipo fed-batch, existe un patrón de alimentación que nos permite mantener bajas concentraciones de azúcares en el medio, próximas a 0.1 g/L. La solución de reservorio se caracteriza por tener una alta concentración de azúcares. La estrategia de esto, es alimentar al biorreactor con pequeños caudales, de manera que la levadura consuma inmediatamente el sustrato de carbono prácticamente en su totalidad para mantener la concentración de azúcares lo más baja posible.

Solución de reservorio				
Elementos	Biorreactor 30 L	Biorreactor 300 L	Biorreactor 3 m <sup>3</sup>	Biorreactor 30 m <sup>3</sup>
	Concentración			
Azúcares	450 g/L			

*Tabla 5.5:* Composición objetivo de la solución de reservorio para los biorreactores en operación fed-batch.

Medio de cultivo fed-batch	
Elementos	Concentración
Azúcares	4.30 g/L
Nitrógeno	0.65 g/L
Potasio	1.44 g/L
Fósforo	1.42 g/L
Azúfre	1.59 g/L
Magnesio	1.19 g/L
Sodio	0.20 g/L
Calcio	1.40 mg/L
Hierro	14.0 mg/L
Zinc	15.0 mg/L
Manganeso	1.00 mg/L
Cobre	1.00 mg/L
Cobalto	0.10 mg/L
Tiamina (B1)	0.14 mg/L
P. de calcio (B5)	1.40 mg/L
Biotina (B8)	0.26 mg/L
Ácido cítrico	4.50 mg/L
Ácido bórico	0.17 mg/L

Tabla 5.6: Composición objetivo del medio de cultivo tipo fed-batch.

### 5.3. Fermentación

El proceso de llevar un microorganismo desde su cultivo en placa de Petri o ampollas hasta biorreactores de tamaños superiores a los 10 m<sup>3</sup> se denomina “escalado”, el cual comprende el cultivo de microorganismos en sistemas intermedios de fermentación en progresivamente mayores hasta llegar al biorreactor de producción industrial. La razón radica en la fase de latencia, también conocida como “lag”, por la que todo microorganismo atraviesa al momento de introducirse en un nuevo medio de cultivo al que debe adaptarse.

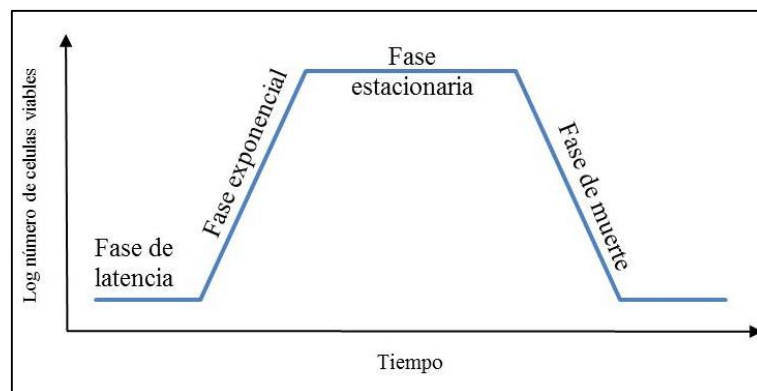


Fig. 5.20: Esquema del ciclo de vida de los microorganismos.

Los factores que ayudan a un microorganismo a su adaptación en nuevos medios de cultivo, son:

- Presencia de otros microorganismos del mismo tipo en el medio de cultivo (efecto de sinergia).
- Óptimas condiciones dentro del biorreactor (temperatura, agitación, aireación, pH).
- Medios de cultivo correctamente formulados para el objetivo de la fermentación (crecimiento de biomasa o producción de un metabolito específico).

El tamaño del inóculo es fundamental en el proceso de escalado. Un tamaño de inóculo demasiado pequeño en el nuevo medio de cultivo puede traer aparejado una fase de latencia demasiado larga, la cual demoraría el proceso de producción hasta su inviabilidad económica, o inclusive puede llegar hasta la incapacidad de adaptación y consecuente muerte del microorganismo.

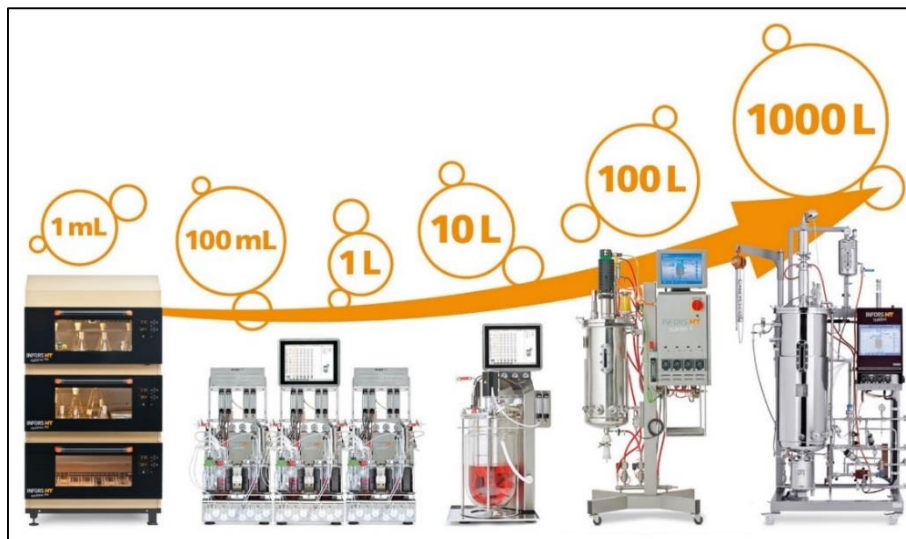


Fig. 5.21: Esquema del protocolo típico de escalado en biorreactores.

### 5.3.1. Escala de laboratorio

En base a la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), se describe la siguiente metodología de cultivo y escalado de la levadura *Phaffia rhodozyma*.

1. La cepa ATCC – 74218 (UBV – AX1) se presenta en forma de ampollas congeladas y envasadas en hielo seco, y deben almacenarse en nitrógeno líquido (por debajo de  $-70^{\circ}\text{C}$ ), el almacenaje en refrigeradores (generalmente  $-20^{\circ}\text{C}$ ) provocara la muerte del cultivo.

2. Para descongelar la ampolla se coloca en un baño de agua de 25 a 30°C, hasta que se descongele (aproximadamente 5 minutos). Se debe sumergir la ampolla solo lo suficiente para cubrir el material congelado sin agitarlo.
3. Inmediatamente después de la descongelación, se debe limpiar la ampolla con etanol al 70% y transferir asépticamente al menos 50 µL del contenido a un Erlenmeyer de 50 mL con 10 mL de medio líquido YEPD (20 g de dextrosa/L, 20 g de peptona/L y 10 g de extracto de levadura/L, ajustado a un pH de 5.5).
4. El inóculo se incuba por 6 a 10 días, a una temperatura entre 20 a 22°C y una velocidad de agitación de 200 rpm en un agitador orbital termostatzado. Con el fin de reproducir la cepa mutante original adquirida, se toman alícuotas de 0.2 a 0.5 mL, se las introduce nuevamente en ampollas y se almacenan a menos 80°C hasta su nueva utilización.



*Fig. 5.22: Agitador incubador para Erlenmeyers.*

5. Continuando con el proceso de escalado, un Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 mL de medio líquido YEPD es inoculado con 250 µL con células de la levadura mutante. Nuevamente las condiciones de incubación son 20 a 22°C con una agitación de 200 rpm por 3 días.
6. Cuatro de estos Erlenmeyers de 250 mL con 50 mL del medio de cultivo son utilizados para inocular el biorreactor batch de laboratorio de 3 litros, con aproximadamente 2 litros del medio de cultivo de la solución concentrada de orujo de uva.



Fig. 5.23: Biorreactor de laboratorio con equipo de control automático.

Todos los componentes del biorreactor, así como el medio de cultivo son esterilizados en autoclave por 15 a 20 minutos, a una temperatura de 121°C y 1 bar de presión antes de su inoculación, de manera de eliminar todos los microorganismos ajenos al proceso.

#### 5.3.1.1. Biorreactor batch de 3 L

El biorreactor de laboratorio posee un papel fundamental en las etapas posteriores del escalado, ya que su fácil control y monitoreo de aspectos tales como, la composición del medio de cultivo a medida que avanza la fermentación, la formación de productos (astaxantina), el crecimiento de biomasa, la concentración de oxígeno disuelto, la velocidad de agitación, el pH y el nivel de espuma.

Estos nos permitirán determinar los parámetros necesarios para el control de las fermentaciones posteriores a mayor escala, en búsqueda de los mayores rendimientos posibles. Estos parámetros son, necesidad de oxígeno de las células, velocidad de crecimiento de biomasa, velocidad de formación de producto, sensibilidad al estrés hidrodinámico, rendimiento de producto y rendimiento de biomasa.

En base a la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, el biorreactor batch de laboratorio se opera de la siguiente manera:

- El pH del medio se mantiene en 5.5, utilizando soluciones 2 M de ácido clorhídrico y 2 M de hidróxido de sodio cuando sea necesario.

- El oxígeno disuelto en el medio se controla por el sistema de aireación y agitación entre el 20 a 90% de saturación.
- La aireación se realiza con aire esterilizado, por un sistema de filtros, e inyectado a un caudal de 2 litros/minuto.
- El volumen del medio de cultivo donde se lleva a cabo la fermentación es de 2 litros.
- La agitación se mantiene a 700 rpm con un agitador de paletas de inclinadas.
- La temperatura se regulada con un serpentín interno entre 20 a 22°C.

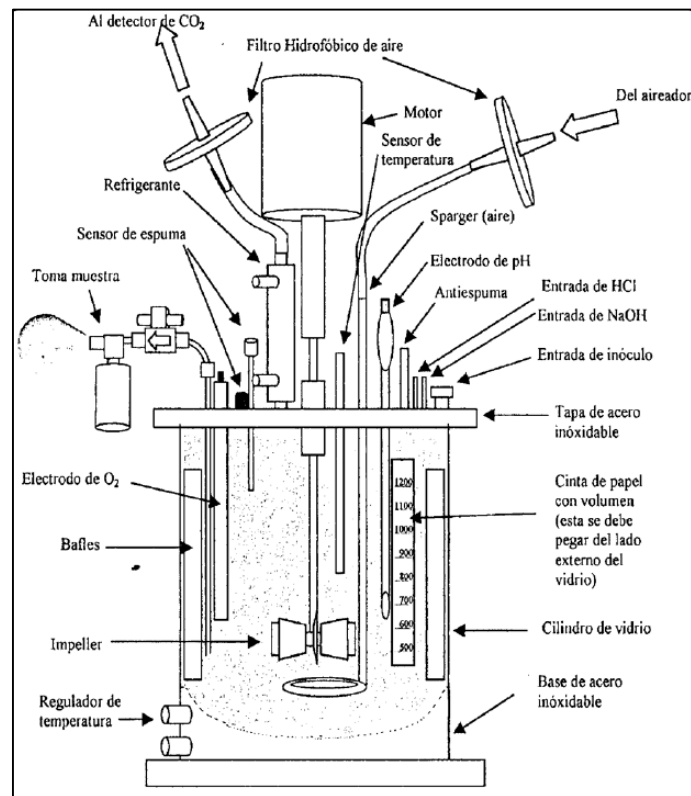


Fig. 5.24: Esquema de los componentes que conforman el biorreactor de laboratorio.

El proceso de fermentación completo demora 144 horas (6 días), de las cuales las primeras 24 horas pertenecen a la fase de latencia, de las 24 a las 72 horas a la fase de crecimiento exponencial y de las 72 a las 144 horas a la fase estacionaria.

### 5.3.2. Escala de planta piloto

Los biorreactores de planta piloto poseen volúmenes que rondan entre los 30 y 3.000 litros. El objetivo en esta etapa es reproducir el comportamiento optimizado del biorreactor de laboratorio en volúmenes

superiores, evaluar la respuesta de las células al cambio de escala y examinar pérdidas o variaciones en el rendimiento.

En base a la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), se evidencia que la formación de grandes cantidades de astaxantina está asociada con la formación de grandes cantidades de biomasa. Por lo tanto, se necesita que el biorreactor de producción industrial alcance una alta concentración celular para obtener una productividad de astaxantina que resulte económicamente viable. Para ello, los biorreactores de planta piloto e industrial deben operar en formato fed-batch.

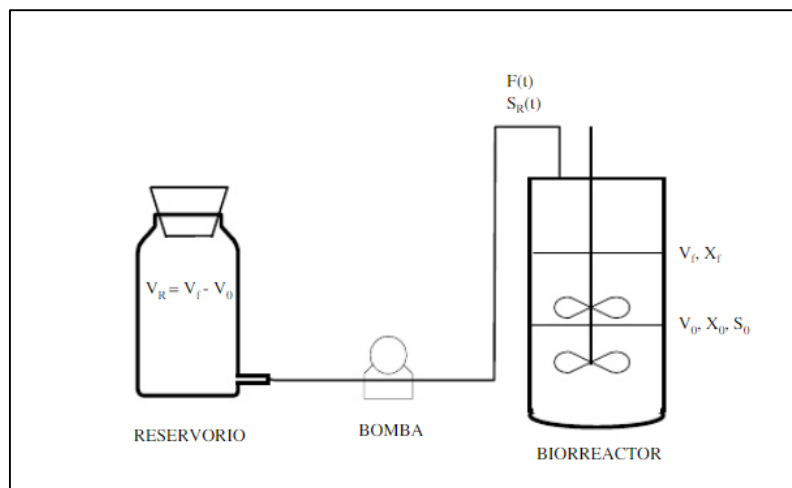


Fig. 5.25: Esquema del modo de operación en biorreactores fed-batch.

Los biorreactores en formato batch, donde la carga del medio de cultivo dentro del mismo es completa desde el inicio, pueden dar lugar a la inhibición del crecimiento de biomasa debido a la alta concentración de azúcares (efecto Crabtree). Esto se debe a la formación de metabolitos tales como, etanol, metanol, ácido acético o compuestos aromáticos, aún en presencia de suficiente oxígeno disuelto. El formato fed-batch corrige esta problemática alimentando el caldo de fermentación sólo con los nutrientes que necesarios en el momento preciso, de esta manera, mantiene la concentración de azúcares lo más bajo posible y evita la formación de metabolitos perjudiciales. Este tipo de biorreactores cuentan con sistemas de esterilización in-situ con vapor de agua a fin de asegurar la asepsia del recipiente, sus accesorios y el medio de cultivo.

### **5.3.2.1. Biorreactor fed-batch de 30 L**

Los 2 litros del caldo de fermentación provenientes del biorreactor de laboratorio, son inoculados en un biorreactor de 30 litros, donde el medio de cultivo inicial de 10 litros es formulado para obtener una concentración de 5 g/L en azúcares. Mientras que la concentración de azúcares en la solución de reservorio, con la que se realiza la alimentación del biorreactor, es de 450 g/L.

En base a la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, el biorreactor fed-batch de 30 litros se opera de la siguiente manera:

- El flujo inicial de alimentación es 13 mL/hs, comienza a las 24 horas, y crece de forma exponencial hasta 210 mL/hs, terminando a las 72 horas.
- El pH del medio se mantiene a 5.5, utilizando soluciones 2 M de ácido clorhídrico y 2 M de hidróxido de sodio cuando sea necesario.
- El oxígeno disuelto en el medio se controla por el sistema de aireación y agitación entre el 20 a 70% de saturación.
- El volumen del medio de cultivo donde se lleva a cabo la fermentación comienza con 10 litros y termina con 20 litros.
- La aireación se realiza con aire esterilizado, por un sistema de filtros, e inyectado a un caudal de 20 litros/minuto.
- La agitación se mantiene a 500 rpm con un agitador de 3 propelas con 4 paletas inclinadas.
- La concentración de azúcares en el medio se mantiene entre 0.1 a 2.5 g/L.
- La temperatura se regulada con un serpentín interno entre 20 a 22°C.

La duración de la fase de latencia es de 24 horas y el proceso de fermentación se detiene en cuando culmina la fase exponencial de crecimiento, aproximadamente a las 72 horas, alcanzándose una concentración celular próxima al 8%.





Fig. 5.26: Biorreactor de 30 litros.

### 5.3.2.2. Biorreactor fed-batch de 300 L

Los 20 litros del caldo de fermentación provenientes del biorreactor fed-batch de 30 litros, son inoculados en un biorreactor de 300 litros, donde el medio de cultivo inicial de 100 litros es formulado para obtener una concentración de 5 g/L en azúcares. Mientras que la concentración de azúcares en la solución de reservorio, con la que se realiza la alimentación del biorreactor, es de 450 g/L.

En base a la patente referencia Estadounidense N° 6.015.684, el biorreactor fed-batch de 300 litros se opera de la siguiente manera:

- El flujo inicial de alimentación es 130 mL/hs, comienza a las 24 horas, y crece de forma exponencial hasta 2.1 L/hs, terminando a las 72 horas.
- El pH del medio se mantiene a 5.5, utilizando soluciones 2 M de ácido clorhídrico y 2 M de hidróxido de sodio cuando sea necesario.
- El oxígeno disuelto en el medio se controla por el sistema de aireación y agitación entre el 20 a 70% de saturación.
- El volumen del medio de cultivo donde se lleva a cabo la fermentación comienza con 100 litros y termina con 200 litros.
- La aireación se realiza con aire esterilizado, por un sistema de filtros, e inyectado a un caudal de 150 litros/minuto.
- La agitación se mantiene a 300 rpm con un agitador de 3 propelas con 4 paletas inclinadas.

- La concentración de azúcares en el medio se mantiene entre 0.1 a 2.5 g/L.
- La temperatura se regulada con un serpentín interno entre 20 a 22°C.
- El proceso de fermentación se detiene a las 72 horas.



Fig. 5.27: Biorreactor de 300 litros.

### 5.3.2.3. Biorreactor fed-batch de 3 m<sup>3</sup>

Los 200 litros del caldo de fermentación provenientes del biorreactor fed-batch de 300 litros, son inoculados en un biorreactor de 3 m<sup>3</sup>, donde el medio de cultivo inicial de 1.000 litros es formulado para obtener una concentración de 5 g/L en azúcares. Mientras que la concentración de azúcares en la solución de reservorio, con la que se realiza la alimentación del biorreactor, es de 450 g/L.

En base a la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, el biorreactor fed-batch de 3 m<sup>3</sup> se opera de la siguiente manera:

- El flujo inicial de alimentación es 1.29 L/hs, comienza a las 24 horas, y crece de forma exponencial hasta 21 L/hs, terminando a las 72 horas.
- El pH del medio se mantiene a 5.5, utilizando soluciones 2 M de ácido clorhídrico y 2 M de hidróxido de sodio cuando sea necesario.

- El oxígeno disuelto en el medio se controla por el sistema de aireación y agitación entre el 20 a 70% de saturación.
- El volumen del medio de cultivo donde se lleva a cabo la fermentación comienza con 1.000 litros y termina con 2.000 litros.
- La aireación se realiza con aire esterilizado, por un sistema de filtros, e inyectado a un caudal de 800 litros/minuto.
- La agitación se mantiene a 100 rpm con un agitador de 3 propelas con 4 paletas inclinadas.
- La concentración de azúcares en el medio se mantiene entre 0.1 a 2.5 g/L.
- La temperatura se regulada con un serpentín interno entre 20 a 22°C.
- El proceso de fermentación se detiene a las 72 horas.



*Fig. 5.28: Biorreactor de 3 m<sup>3</sup>.*

### **5.3.3. Escala de industrial**

Esta es la etapa final en el proceso de escalado. En este biorreactor se producen los mayores volúmenes productivos de astaxantina, a los que, posteriormente, le seguirán las etapas del downstream, las cuales buscan darle al producto su formato de comercialización.

### 5.3.3.1. Biorreactor fed-batch de 30 m<sup>3</sup>

Los 2 m<sup>3</sup> del caldo de fermentación provenientes del biorreactor fed-batch de 3 m<sup>3</sup>, son inoculados en un biorreactor de 30 m<sup>3</sup>, donde el medio de cultivo inicial de 10 m<sup>3</sup> es formulado para obtener una concentración de 5 g/L en azúcares. Mientras que la concentración de azúcares en la solución de reservorio, con la que se realiza la alimentación del biorreactor, es de 450 g/L.

En base a la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, el biorreactor fed-batch de 30 m<sup>3</sup> se opera de la siguiente manera:

- El flujo inicial de alimentación es 12.9 L/hs, comienza a las 24 horas, y crece de forma exponencial hasta 210 L/hs, terminando a las 72 horas.
- El pH del medio se mantiene a 5.5, utilizando soluciones 2 M de ácido clorhídrico y 2 M de hidróxido de sodio cuando sea necesario.
- El oxígeno disuelto en el medio se controla por el sistema de aireación y agitación entre el 20 a 70% de saturación.
- El volumen del medio de cultivo donde se lleva a cabo la fermentación comienza con 10 m<sup>3</sup> y termina con 20 m<sup>3</sup>.
- La aireación se realiza con aire esterilizado, por un sistema de filtros, e inyectado a un caudal de 5 m<sup>3</sup>/minuto.
- La agitación se mantiene a 50 rpm con un agitador de 3 propelas con 4 paletas inclinadas.
- La concentración de azúcares en el medio se mantiene entre 0.1 a 2.5 g/L.
- La temperatura se regulada con un serpentín interno entre 20 a 22°C.
- El proceso de fermentación se detiene a las 144 horas.

## 5.4. Operaciones de downstream

En los procesos biotecnológicos, una vez concluida la reacción biológica en el biorreactor de producción industrial, le siguen las llamadas operaciones de downstream. Las mismas comprenden operaciones de separación sólido-líquido, concentración, purificación y formulación, dependiendo de las características del producto a elaborar, tales como, formato, estabilidad del compuesto activo, grado de purificación, modos de uso y consumidores finales, entre otras.

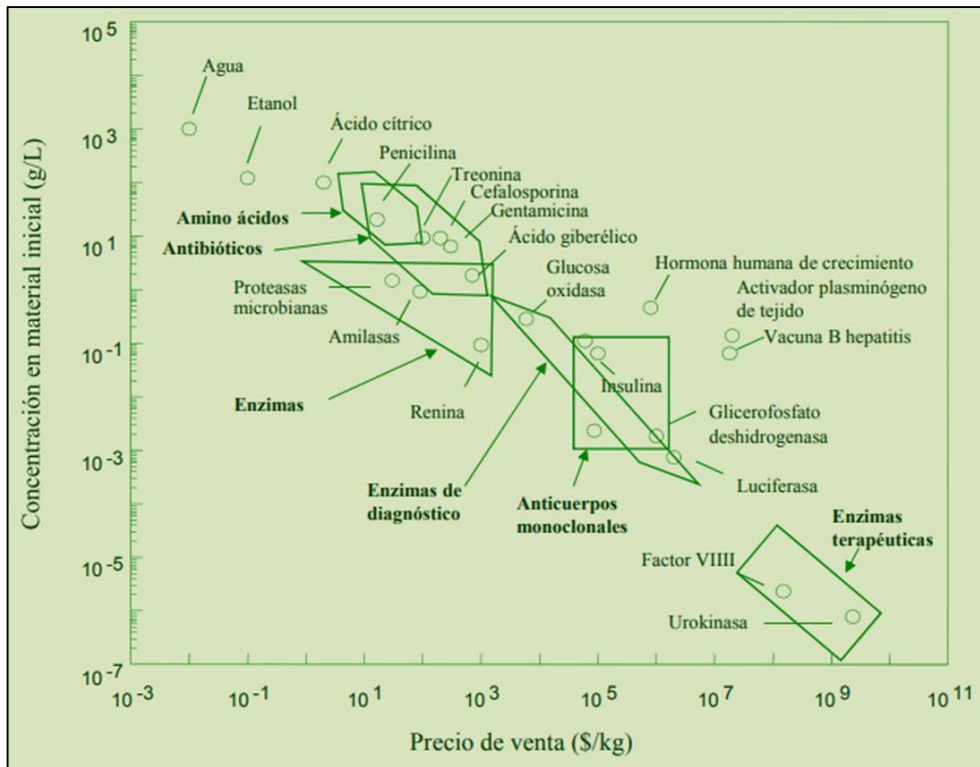


Fig. 5.29: Relación de precio-concentración de distintos compuestos biológicos.

Considerando que el producto a comercializar se trata de un alimento funcional, destinado a la pigmentación de salmónidos criados por acuicultura, las operaciones de concentración y purificación (que suelen ser las más costosas) no tendrán el mismo grado de complejidad, especificidad y número de etapas que otros compuestos biológicos como, por ejemplo, las hormonas terapéuticas de uso en humanos. Las operaciones de downstream necesarias para la obtención del alimento funcional de salmónidos se muestran en la Figura 5.30.

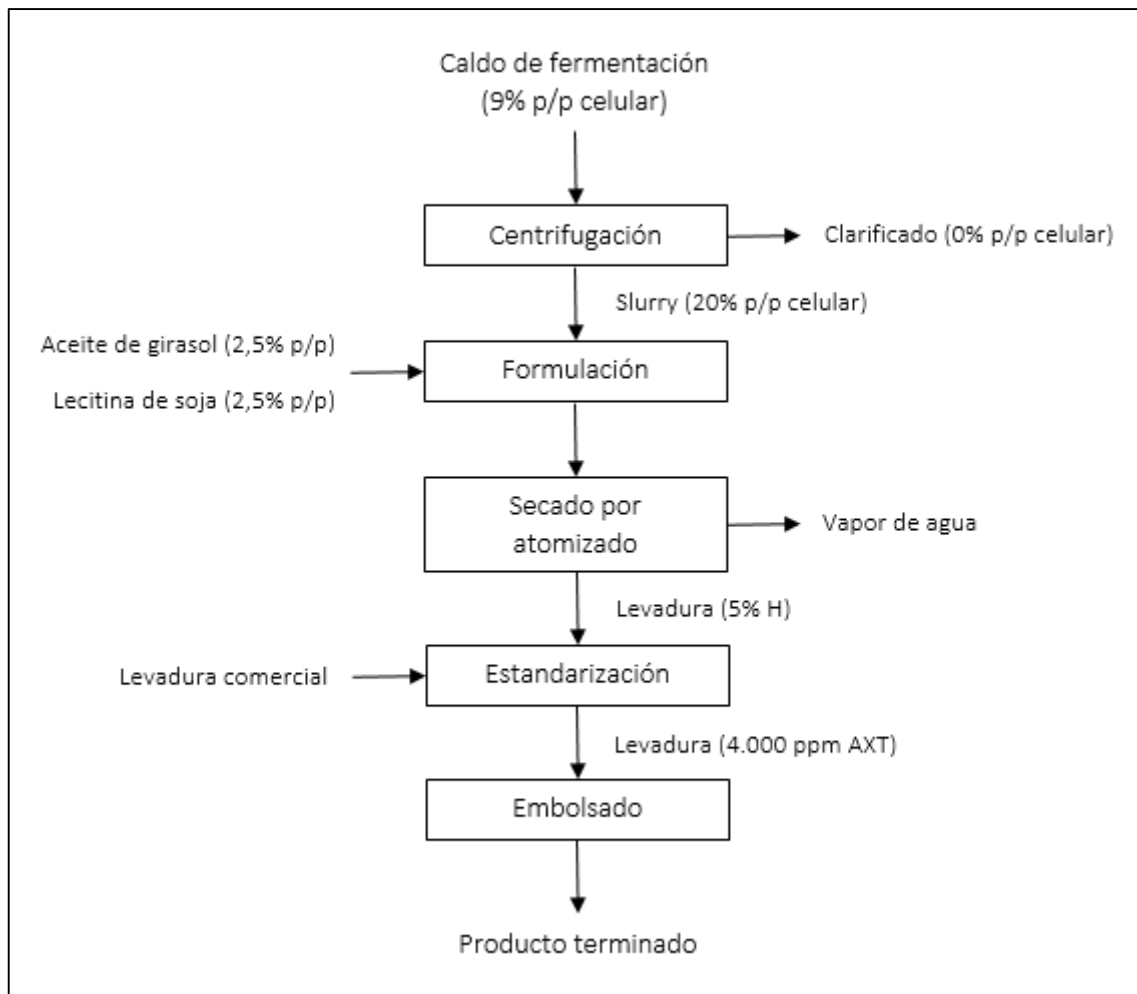


Fig. 5.30: Diagrama de flujo de las operaciones de downstream.

#### 5.4.1. Separación sólido-líquido

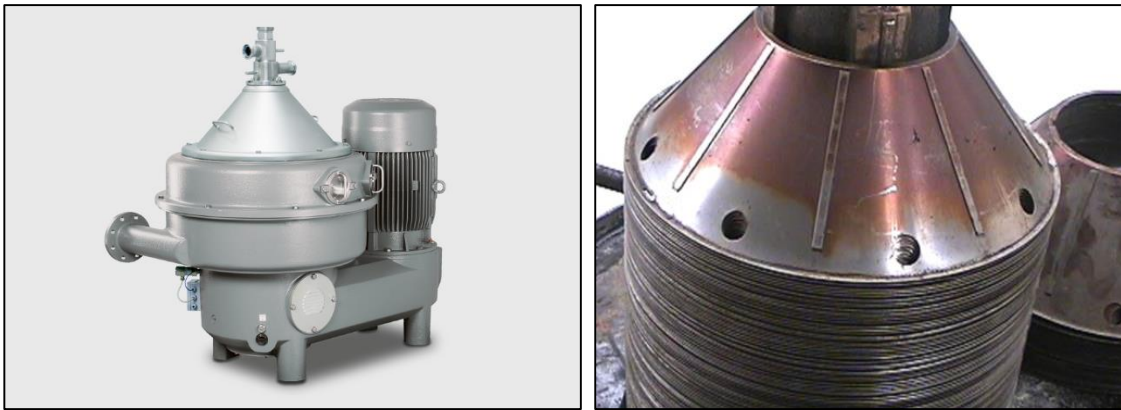
Las fermentaciones en medio líquido requieren la separación de los sólidos (biomasa celular y compuestos insolubles) del caldo de fermentación. En este proceso, la astaxantina se produce intracelularmente, por lo que el interés está puesto en la fracción sólida.

Las dos operaciones más usadas para llevar a cabo esta operación son la centrifugación y la filtración. En este caso se optará por la centrifugación, ya que es capaz de ofrecer un producto concentrado en partículas sólidas de pequeño tamaño partiendo de suspensiones diluidas con una gran eficiencia de separación, además, de una gran capacidad de procesamiento en periodos muy cortos de tiempo. Pero en contrapartida, se tratan de equipos más caros, con mayores consumos energéticos por unidad de tiempo, mayores generaciones de calor y elevados niveles de ruido.

La centrifugación es una operación en la que se separan sustancias por la acción de una fuerza centrífuga que actúa de manera mucho más rápida de lo que lo haría la gravedad por sedimentación. Se basa en la diferencia de densidad entre las fracciones sólida y el líquida. Para los procesos de separación a gran escala el equipo más utilizado es la centrifuga de discos.

#### 5.4.1.1. Centrifuga de discos

La centrifuga de discos está compuesta por una serie de conos metálicos conocidos como discos, separados entre sí por espacios muy pequeños. La alimentación ingresa desde la parte superior hacia el fondo de la centrifuga por un conducto central, allí la suspensión se distribuye radialmente y sube por unos pequeños agujeros presentes en los discos.



*Fig. 5.31:* A la izquierda, centrifuga de discos. A la derecha, discos metálicos internos de la centrifuga.

Cuando la suspensión penetra entre el pequeño espacio entre los discos la separación de las fracciones sólidas y líquidas se produce por la generación de los esfuerzos de corte entre las mismas. La fase menos densa se desplaza por la superficie del disco inferior hacia el centro, y la fase más densa por la superficie del disco superior hacia la periferia. De esta manera, los sólidos quedan retenidos o son descargados por un sistema de apertura continuo o intermitente en el borde de los discos y el líquido es eliminado por la parte superior de la centrifuga.

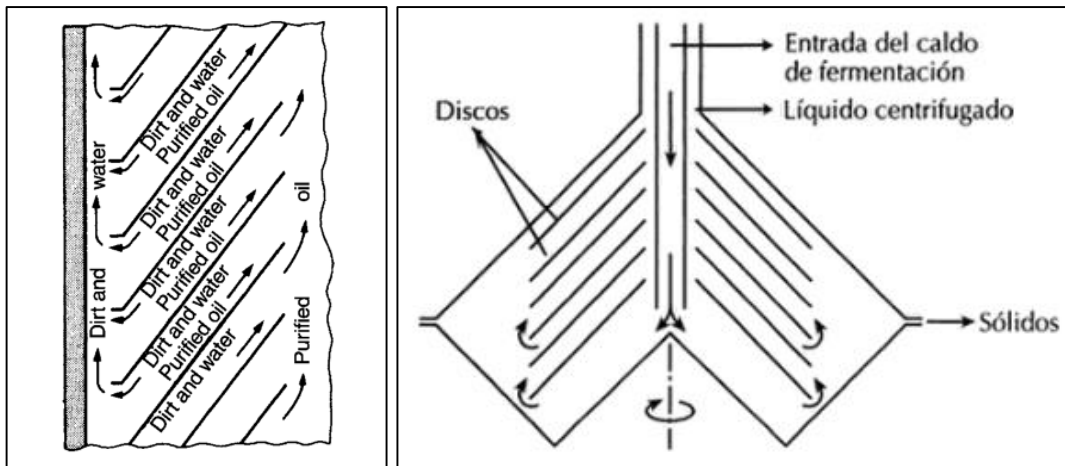


Fig. 5.32: A la izquierda, mecanismo de separación entre los discos de la centrifuga.  
A la derecha, esquema interno de la centrifuga de discos.

En base a catálogos de las empresas “Tetra Pak®”, “Flottweg®” y “Alfa Laval®”, junto con información proveniente del libro “Procesos de separación de biotecnología industrial” (F. R. Baxarias, editorial UPC, 2018) las características operacionales de las centrifugas de discos, son las siguientes:

- Tienen la ventaja frente a otras operaciones industriales de separación líquido-sólido de procesar eficazmente tamaños de partículas muy pequeños, hasta los 0.5  $\mu\text{m}$ , en suspensiones de sólidos menores al 10% en peso seco. Pero en desventaja, por encima de este valor su eficiencia se ve comprometida.
- En general, se obtienen muy buenos resultados en el clarificado, presentando prácticamente ausencia total de sólidos. Por otro lado, la corriente líquida que lleva la totalidad de los sólidos, denominada “slurry”, suele poseer una concentración de sólidos entre 18 a 22% en peso seco.
- A mayor número de revoluciones por minuto (usualmente entre 3.000 y 8.000 rpm, dependiendo el tamaño del equipo), mayor es la aceleración centrífuga y más rápida es la separación entre las partículas por el aumento en la diferencia de su peso relativo.



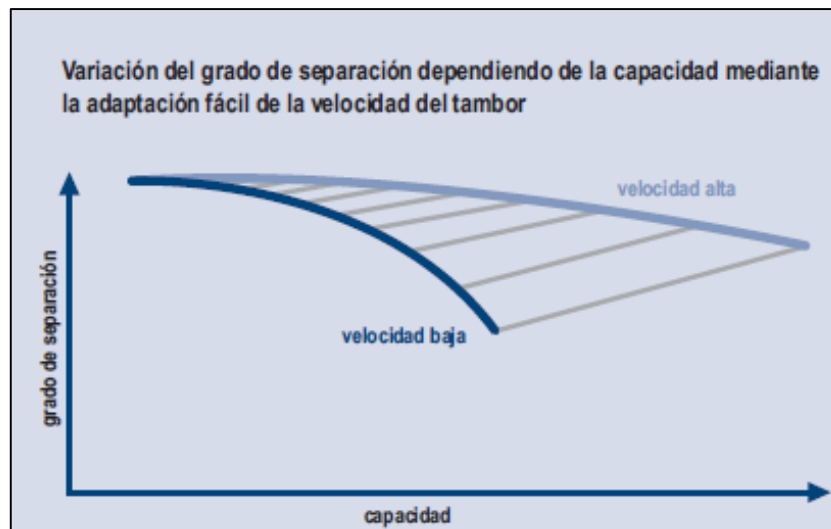


Fig. 5.33: Grado de separación en función de capacidad y velocidad de la centrifuga.

La eficiencia de separación del equipo es mayor cuando:

- **Las partículas a separar son grandes.** En el caso de la levadura UBV – AX1 ( $4.2 \times 6.3 \mu\text{m}$  a  $8.4 \times 12.6 \mu\text{m}$ ), lo cual es considerado grande, en lo que respecta al tamaño de células en general.
- **La viscosidad del líquido a tratar es baja.** En el caso de la levadura UBV – AX1, al ser un microorganismo unicelular no provoca un incremento en la viscosidad del caldo de fermentación. Si lo hacen hongos filamentosos, como el *Aspergillus*, el *Penicillium* o el *Streptomyces*. Por otro lado, la viscosidad del caldo de fermentación es lo suficientemente baja para asegurar que traerá inconvenientes al proceso de separación, siendo la misma 3.23 mPa.s.
- **La diferencia de densidad entre el sólido y el líquido.** La densidad del caldo de fermentación no diverge demasiado respecto a las células de levadura (ambos rondan los  $1.100 \text{ Kg/m}^3$ ), pero con una pequeña dilución del caldo de fermentación que reduzca ligeramente su densidad, bastará para que las grandes fuerzas desarrolladas en el interior de la centrifuga provoquen la separación de las fracciones sólidas y líquidas.

El producto resultante en la corriente de slurry se denomina “crema de levadura” y se dirige a un tanque de mezcla para la realizar su formulación.

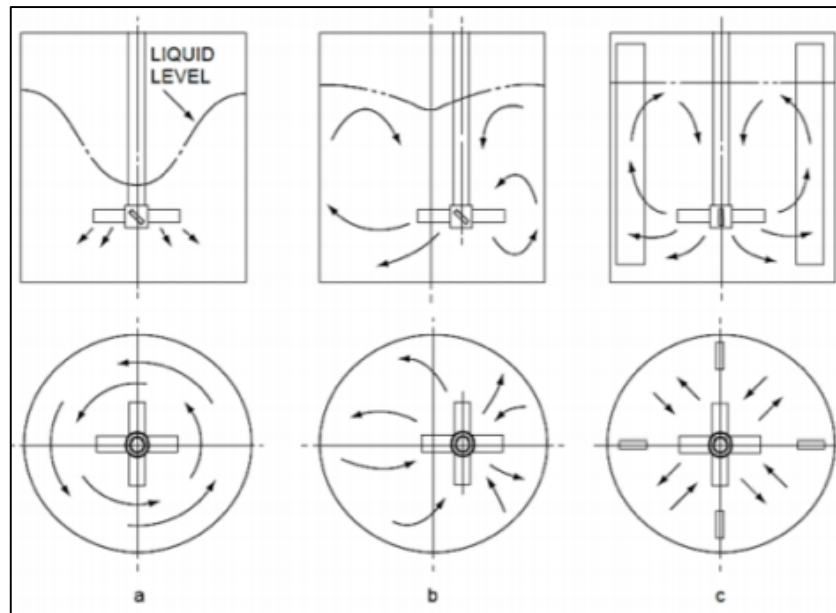
## **5.4.2. Formulación**

El tanque de mezcla donde se lleva la crema de levadura cumple dos funciones. La primera, es funcionar como recipiente durante el agregado de los aditivos que formarán parte de la formulación final del producto a comercializar, y la segunda, es proporcionar almacenamiento momentáneo para permitir la dosificación del producto a la siguiente etapa productiva.

### **5.4.2.1. Tanque de mezclado**

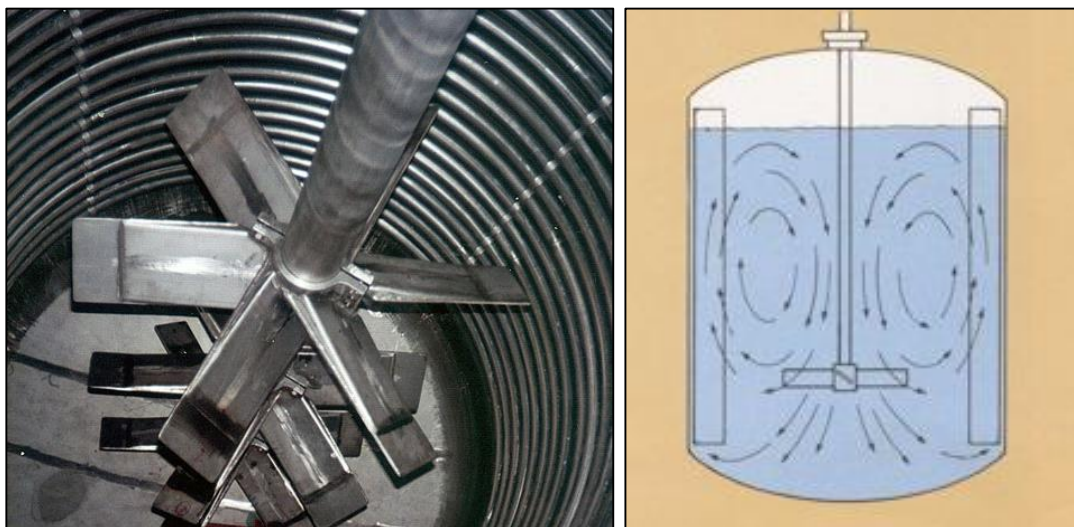
La elección del tanque mezcla adecuado depende del tipo y la cantidad del producto a contener, así como las tareas a desarrollar en el mismo. Debido a que la crema de levadura permanecerá en el tanque de mezclado de manera momentánea, si se dispone de una adecuada aislación térmica en las paredes del recipiente que minimice el intercambio térmico con el medio ambiente, no habrá necesidad de instalar un sistema de refrigeración para el producto en el interior del mismo. Por tal motivo, se utiliza un tanque de acero inoxidable con aislación térmica de poliuretano expandido.

La adición de aditivos requiere de mezclado para su homogeneización, por lo que la correcta elección del tipo de agitador y potencia del motor eléctrico serán fundamentales para brindar el adecuado patrón de flujo en el mezclado. Para un mezclado eficiente se debe evitar la formación de vórtices o remolinos, ya que el líquido circulará alrededor del eje en forma de flujo laminar sin mezclarse y desaprovechando potencia, además de incorporar aire que no es deseado. La solución más sencilla para este inconveniente es colocar el agitador desplazado respecto del eje central del tanque. Otra alternativa, es la instalación de deflectores o baffles en las paredes del tanque, aunque esto depende del diseño del tanque elegido.



*Fig. 5.34:* (a): Agitador centrado. (b): Agitador descentrado. (c): Agitador centrado en tanque con deflectores.

Por otro lado, se debe evitar que la levadura se deposite en el fondo y que el mezclado sea parejo a toda altura del tanque. Para ello, se usa un agitador de paletas inclinadas con múltiples propulsores a diferentes alturas del eje. De esta manera, se consigue un flujo axial que impulsa las corrientes hacia abajo y levanta la levadura que se deposita en el fondo.



*Fig. 5.35:* A la izquierda, eje de agitación con múltiples paletas. A la derecha, esquema del patrón de flujo axial en tanque de agitación.

#### **5.4.2.2. Agregado de aditivos**

Dentro de los aditivos alimenticios agregados a la crema de levadura encontramos aceites vegetales, como el de maíz, girasol o soja, y emulsionantes, como lecitina de soja o esteres de sorbitano. Según la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), el agregado de estos aditivos promueve la deposición del pigmento en la carne de los salmónidos. Además, protegen la astaxantina en la operación posterior de secado y durante su almacenamiento como producto terminado.

Las proporciones usadas, en base al contenido de peso seco de levadura, son:

- Aceites vegetales: entre 0.1 al 10%.
- Emulsionantes: entre 0.1 al 10%

En base al caso de estudio expuesto en la patente de referencia (sección 4.5.1.4), se eligió la siguiente formulación:

- Aceite de girasol: 2.5% por peso de levadura.
- Lecitina de soja: 2.5% por peso de levadura.

#### **5.4.2.3. Almacenamiento de aditivos**

Como toda materia prima que se almacena, se necesitará un recipiente que proporcione el tamaño y las condiciones adecuadas. En el caso del aceite de girasol y la lecitina de soja, se precisan tanques con una capacidad suficiente para almacenar las cantidades necesarias para tres meses de producción, un material de construcción apto para productos alimenticios y una aislación térmica adecuada para minimizar el intercambio de calor con el medio ambiente.

Según el informe “Código de prácticas para el almacenamiento y transporte de aceites y grasas comestibles a granel” (CAC/RCP 36-1987, Codex Alimentarius, FAO). El aceite de girasol y la lecitina de soja puede ser almacenados a temperatura ambiente, por lo que no habrá la necesidad de utilizar sistemas de refrigeración si tiene una buena aislación térmica.

#### **5.4.3. Secado**

El elevado grado de humedad en la crema de levadura incorpora un peso extra sin valor comercial al producto, encareciendo su transporte y perjudicando su vida útil. En cambio, el formato de levadura en

polvo, con niveles de agua inferiores al 5%, presenta practicidad al momento de su comercialización, transporte y uso. Además, es un producto cuya vida útil puede extenderse hasta dos años si es conservado en un sitio seco y fresco a una temperatura ambiente.

Existen diversas operaciones industriales capaces de remover el agua presente en el concentrado de levadura, pero el secador por atomización o secado spray, es el que nos ofrece mayores ventajas. Esta operación es puede entregarnos un producto con bajos niveles de humedad, uniformidad en el secado, pequeños tamaños de partícula y un menor riesgo de alterar o destruir el producto de interés.

#### 5.4.3.1. Secado por atomizado

El secado por atomización es el proceso de pulverizar una solución o suspensión en una corriente de aire caliente que los deshidrata en forma casi instantánea. La alimentación líquida es convertida en una cantidad enorme de pequeñas gotas, lo cual incrementa su área superficial, y son dispersas en el aire. Las gotas formadas viajan a través de la cámara haciendo que el sólido se aglomere en el centro de la partícula hasta convertirse en materia seca. Durante esta fase el solvente se evapora y el diámetro de la gota decrece. La evaporación del líquido enfría el sólido y lo protege del choque térmico.

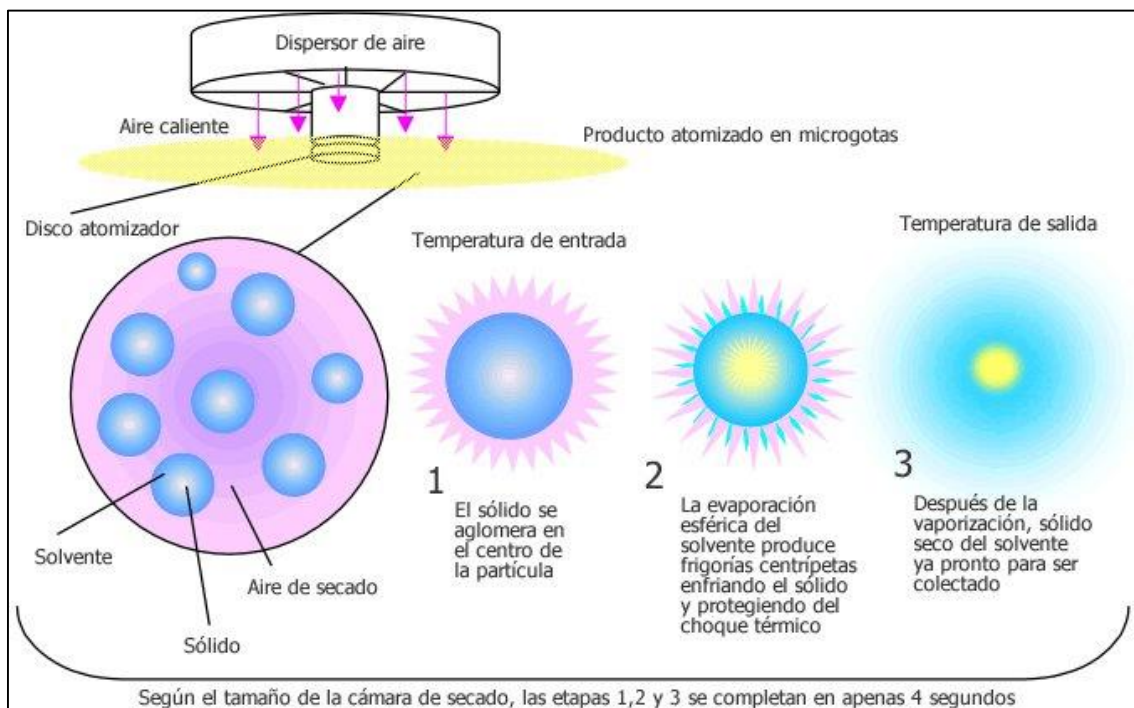


Fig. 5.36: Mecanismo del secado por atomización.

La crema de levadura, alojada en el tanque de alimentación, es impulsada por una bomba por el conjunto de tuberías y accesorios hasta el atomizador. El quemador del horno y su cámara proveen la temperatura necesaria para la corriente de aire caliente que, forzada por el ventilador, circula a través del dispersor distribuyéndose uniformemente alrededor del disco del atomizador, del cual fluye el líquido pulverizado. Cuando éste último choca con el aire caliente el secado se produce en forma casi instantánea debido al tamaño de la gota. Como parte de ésta es sólido (aproximadamente el 20%), cae en forma de polvo en el interior de la cámara de secado, siendo aspirado por el ventilador, es llevado por la tubería de interconexión hasta el ciclón, que es el encargado de separar el polvo del aire y extraerlo en forma de levadura seca (con un 5% de humedad). Este último sale mediante una válvula rotativa. El aire separado escapa al exterior por medio de una chimenea. El polvo de levadura seco cae a través de la válvula del ciclón directo un tanque mezclador de sólidos para realizar la estandarización del producto.



*Fig. 5.37:* Equipo de secado spray.

**NOTA:**

Según el artículo científico “propuesta para implementar el secado por atomización en el proceso de activación de la bentonita con ácido sulfúrico” (P. Romero y M. Otiniano, Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad de Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, 2010), los secadores

spray operan en un amplio rango de condiciones. Manipulan soluciones diluidas del 1% hasta de 70% de concentración de sólidos, y operan con temperaturas de entrada entre 80 a 760°C.

#### 5.4.4. Estandarización

Se debe estandarizar el contenido de astaxantina del producto a comercializar, siendo el mismo de 4.000 mg de astaxantina por kilogramo total de producto. La concentración del pigmento se regula añadiendo algún tipo de levadura comercial (por ejemplo, levadura inactiva) apta para la alimentación de peces, la cual actúa como diluyente hasta que se alcance el contenido astaxantina deseado. La composición final del alimento para salmónidos a base de levadura *P. rhodozyma* se detalla en la Tabla 5.7.

Levadura de <i>P. rhodozyma</i>	
Astaxantina	4.000 ppm
Húmedad	5%
Proteínas	44%
Carbohidratos	32%
Grasas	11%
Cenizas	7%
Tamaño	100 $\mu\text{m}$
Densidad	1 095 $\text{Kg/m}^3$

Tabla 5.7: Composición del alimento para salmónidos.

##### 5.4.4.1. Mezclador de tornillo sin fin

La operación de mezclado se lleva a cabo una vez que toda la carga del lote ha sido introducida, realizando el proceso en modo de batch. La máquina posee dos tornillos sin fin de doble filete que giran transportando el producto en sentido contrario y mezclando los dos tipos de levadura entre sí. La construcción asegura una mezcla homogénea en 3 a 5 minutos.



*Fig. 5.38:* Interior del mezclador de sólidos con doble tornillo.

La descarga se realiza por una boca de salida pequeña en un extremo del recipiente. Al accionar el movimiento de los tornillos, con mayor o menor velocidad de giro, podemos regular el caudal de descargar. El producto sólido cae por una tolva y es transportado hasta la máquina embolsadora.

#### **5.4.5. Embolsado**

El producto ingresa a la tolva superior donde un removedor asegura que el flujo no se interrumpa. Debajo de él, un tornillo sin fin dosifica el ingreso del producto a la bolsa. El operador coloca la bolsa en el pico y presiona el pedal de inicio. Automáticamente la bolsa es sujeta y comienza a llenarse. Posee una balanza electrónica con dos cortes, al alcanzar el primer corte, se reduce la velocidad de alimentación para lograr mayor precisión. Una vez alcanzado el peso final, la pieza sujeta-bolsa se libera y el pie hace girar la bolsa alejándola del pico y haciéndola caer.





Fig. 5.39: Proceso de embolsado semiautomático.

Las bolsas una vez llenas, se las cierra con una maquina selladora de calor que derrite el plástico en la boca del envase. Luego, son dispuestas en estantes alejadas del suelo en ambientes secos y frescos al resguardo de la luz.

#### 5.4.5.1. Bolsas

Se usan bolsas tubulares confeccionadas de polipropileno laminado para envasado de la levadura en polvo. En la industria se las emplea para almacenar harinas, azúcar, cereales, sal, alimento balanceado, productos químicos y fertilizantes. El polipropileno le confiere al envase una alta resistencia mecánica ante las cargas que debe soportar en el traslado del producto, buena resistencia ante la corrosión por agentes químicos, impermeabilidad ante la humedad exterior y una barrera ante la luz solar.



Fig. 5.40: Ejemplos de los distintos tipos de bolsas tubulares de polipropileno laminado del mercado.



## 6. Servicios auxiliares

Los servicios auxiliares son una parte fundamental de la industria. Si bien no participan directamente del proceso productivo, ya que no están en la línea de flujo de la materia primas, permiten el funcionamiento de los equipos que se encuentran en la línea principal de producción. En nuestro proceso podemos encontrar:

- Caldera generadoras de vapor.
- Enfriador industrial de agua.
- Suministro de agua purificada.
- Suministro de aire purificado.

### 6.1. Caldera generadora de vapor

La caldera es un equipo diseñado para la generación de vapor. Este vapor se genera por la quema de un combustible y la transferencia de calor hasta un fluido, en estado líquido, hasta su cambio de fase a vapor saturado. El principio básico de funcionamiento consiste en una cámara donde se produce la combustión, con la ayuda del aire como comburente y una superficie de intercambio térmico, donde se realiza la transferencia de calor.



*Fig. 6.1:* Caldera industrial generadora de vapor.

Las partes principales que componen una caldera son:

- **Quemador.** Quema en combustible (gas natural, gas oil, fuel oil, etc) y produce los gases calientes que transfieren el calor al agua.
- **Hogar.** Alberga el quemador y en su interior se realiza la combustión del combustible utilizado y la generación de los gases calientes.
- **Tubos de intercambio térmico.** El flujo de calor desde gases hasta el agua se efectúa a través de su superficie.
- **Chimenea.** Es la vía de escape de los humos y gases de combustión después de haber cedido su calor al fluido.
- **Carcasa.** Contiene el hogar y el sistema de tubos de intercambio térmico.

En nuestro proceso productivo se genera vapor a 120°C y 2 bares, el cual suministra el calor necesario al evaporador de película descendente para la concentración de la solución azucarada, cuyo condensado es aprovechado para la etapa de maceración, y para la esterilización de los biorreactores previo a su inoculación. Como puede verse, el vapor tiene un rol sensible desde punto de vista químico y microbiológico en este proceso, razón por la cual se utiliza agua purificada para su generación.

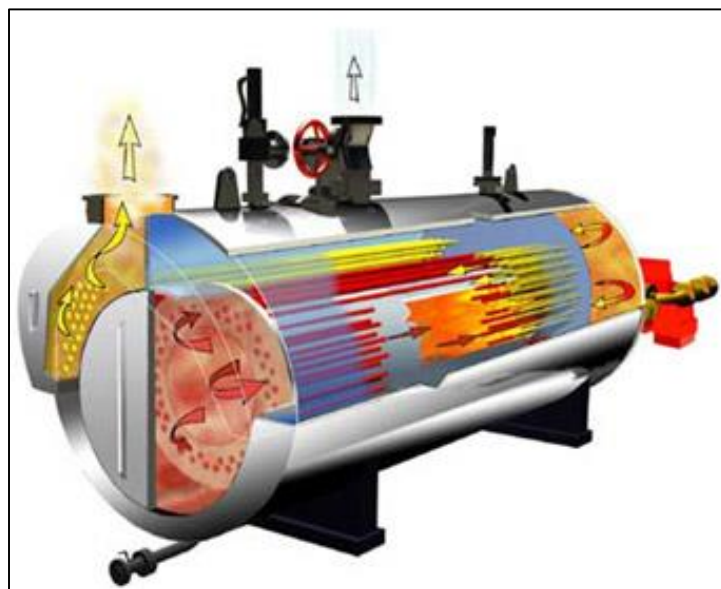


Fig. 6.2: Esquema de caldera humo tubular.

Por otro lado, la caldera utilizada es del tipo humo tubular, ya que permite una fácil limpieza de las partes del equipo en contacto con el agua. En estas calderas, los gases calientes producto de la combustión circulan por dentro del mazo de tubos hasta su evacuación por la chimenea, mientras que el agua se encuentra por fuera de ellos.

## 6.2. Enfriador industrial de agua

Un enfriador de agua o “chiller” es una máquina que transfiere calor de un proceso al ambiente y para lo cual se vale de agua como medio de transferencia. El chiller enfría agua y esta, al ponerse en contacto con el proceso, reduce o mantiene su temperatura.



Fig. 6.3: Chiller industrial para el enfriamiento de agua.

El chiller es un sistema completo de refrigeración que incluye un compresor, un condensador, evaporador, válvula de expansión, refrigerante y tuberías, además de bomba de impulsión de agua, sistema electrónico de control y demás.

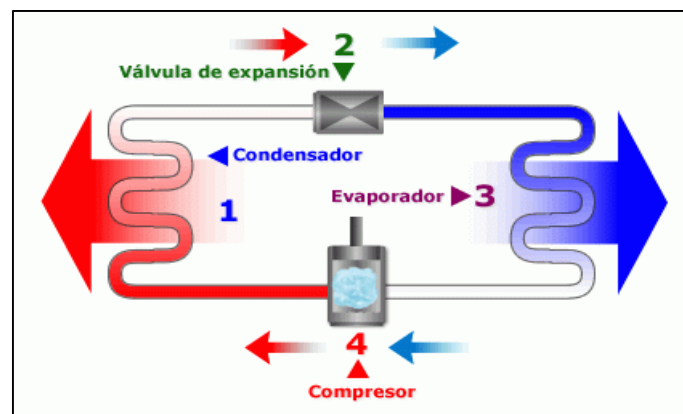


Fig. 6.4: Esquema básico de un sistema de refrigeración.

Es posible utilizar otro tipo fluido o mezclas de fluidos refrigerantes, como etilenglicol o propilenglicol, con los que es posible llegar a temperaturas de  $-30^{\circ}\text{C}$ . Pero tienen como desventaja, además de sus costos, el regular control del pH en un valor próximo a 7 debido a que en contacto con el aire generan compuestos ácidos que corroer el equipo enfriador y reduciendo su tiempo de vida. Por esos motivos, se ha optado por el uso de agua corriente a  $5^{\circ}\text{C}$  como fluido refrigerante.

En nuestro proceso la principal demanda de agua refrigerante proviene de los biorreactores, en especial durante la etapa de crecimiento exponencial, para mantener la temperatura del caldo de fermentación entre los  $20$  a  $22^{\circ}\text{C}$ , y del intercambiador de placas a la salida del evaporador de película descendente para enfriar la solución concentrada de azúcares a  $20^{\circ}\text{C}$  y evitar cualquier degradación térmica de los componentes de la misma.

### 6.3. Suministro de agua purificada

Los ensayos analíticos de laboratorio, así como el medio de cultivo y solución de reservorio para el proceso de fermentación en los biorreactores necesitan de un agua libre de exceso de minerales, metales pesados y microorganismo que pudieran interferir al momento de su uso.

Debido a que el agua extraída de la red u otras fuentes contienen turbidez, microorganismos (bacterias, hongos, etc), minerales (sodio, calcio, magnesio) y en algunos casos (arsénico, nitritos y nitratos) es necesario purificarla mediante una planta compacta de tratamiento propia, para luego almacenarla en tanques de acero inoxidable para su posterior uso.



Fig. 6.5: Planta compacta de tratamiento de agua.

Los subsistemas que conforman la planta compacta de tratamiento de agua son:

- **Bomba de alta presión.** Se trata una bomba centrífuga que le confiere al agua fuerza suficiente para atravesar la serie filtros que encontrará de principio a fin en planta de tratamiento.
- **Filtros rápidos.** Son membranas semipermeables en las cuales el agua es forzada a pasar y debido al tamaño de los poros, sólo quedan retenidos los sólidos en suspensión y bacterias.
- **Filtros de carbón activado.** Consisten en un lecho de carbón activado que por absorción elimina micro contaminantes, compuestos orgánicos, sabores, olores, exceso de cloro y trihalometanos.
- **Esterilizador ultravioleta.** Los equipos de desinfección ultravioleta canalizan el agua a través de lámparas que emiten altas dosis de rayos UV en el rango de 200 a 280 nm para destruir bacterias, amebas y virus. La luz ultravioleta con longitud de onda de 254 nm tiene la capacidad de matar bacterias penetrando a través de su capa celular y destruyendo su información genética (ADN).
- **Osmosis inversa.** Se tratan de membranas semipermeables en las cuales el agua es forzada a pasar desde el lado de mayor concentración de sales hacia el lado de menor concentración mediante la aplicación de una presión.

#### **6.4. Suministro de aire purificado**

El proceso de fermentación al tratarse de un proceso aeróbico requiere de grandes cantidades de aire, el cual puede ser provisto por algún tipo de compresor de uso industrial. Sin embargo, debe asegurarse su inocuidad para evitar el ingreso de microorganismos o contaminantes indeseados que interfieran con la reacción, por lo que previo a su ingreso al biorreactor debe pasar por una serie de filtros.





Fig. 6.6: Sistema para suministro de aire purificado.

El sistema completo para suministro aire purificado incluye:

- **Compresor de cuña libre de aceite.** Proporciona el caudal y la presión de aire necesarios.
- **Tanque pulmón.** Almacenan el aire comprimido para su uso posterior, brindan amortiguación en los picos de consumo y separan el condensado del aire.
- **Sistema de filtros.** Consta de filtros separadores de agua y aceite, filtros desecantes para reducir la humedad remanente y evitar todo riesgo de condensación y crecimiento de bacterias, filtros de carbón activado para eliminar hidrocarburos y filtros bacterial para remover las bacterias remanentes con una eficiencia del 99.99%.





## 7. Balances de materia

El balance de materia nos permite determinar consumos de materia prima, caudales, tiempos de operación, elección de equipos y análisis económicos.

### 7.1. Procesado del orujo de uva

Considerando la cantidad de solución concentrada en azúcares necesaria para un lote de producción (sección 7.2.2.1), se calculan las necesidades anuales de orujo de uva (OU) para su elaboración.

- Según las consideraciones del proceso de maceración (sección 7.1.4.1), la eficiencia de difusión de los azúcares presentes en el orujo de uva hasta el agua que formará la solución concentrada (SC) es del 98%. Con ello, calculamos las necesidades de orujo de uva con 12% de humedad para un lote de producción.

- $OU_{\text{Lote}} = SC_{\text{Lote}} * C_{\text{AZ}} * (100/98) * (100 \text{ Kg } OU_{12\%H}/17,7 \text{ Kg } AZ)$
- $OU_{\text{Lote}} = (11.222 \text{ L/Lote}) * (450 \text{ g } AZ/L) * (100 / 98) * (100 \text{ g } OU_{12\%H}/17,7 \text{ g } AZ)$
- $OU_{\text{Lote}} = 29.114 \text{ Kg } OU_{12\%H}/\text{Lote}$

- Considerando que se producen 48 lotes anuales, calculamos las necesidades de orujo de uva con 12% de humedad para todo el año.

- $OU_{\text{Año}} = OU_{\text{Lote}} * (48 \text{ Lotes/Año})$
- $OU_{\text{Año}} = (29,12 \text{ Tn/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 1.400 \text{ Tn } OU_{12\%H}/\text{Año}$

- Calculamos las necesidades anuales de orujo de uva con 70% de humedad (previo a las etapas de secado).

- $OU_{\text{Año}} = (1.400 \text{ Tn/Año}) * (88 \text{ Kg } OU_{\text{Seco}}/100 \text{ Kg } OU_{12\%H}) = 1.231 \text{ Tn } OU_{\text{Seco}}/\text{Año}$

Entonces:

- $OU_{\text{Año}} = (1.231 \text{ Tn/Año}) * (100 \text{ Kg } OU_{70\%H}/30 \text{ Kg } OU_{\text{Seco}}) = 4.103 \text{ Tn } OU_{70\%H}/\text{Año}$

- Calculamos las necesidades anuales de orujo de uva con 70% de humedad, con un margen extra del 20%.

- $OU_{\text{Año}} = (4.103 \text{ Tn/Año}) * 1,20 = 4.924 \text{ Tn } OU_{70\%H}/\text{Año}$

### 7.1.1. Transporte del orujo de uva

En base a las necesidades anuales del orujo de uva para el proceso de producción, la capacidad de transporte del vehículo utilizado y el lapso de tiempo de disponibilidad de dicha materia prima, se elabora un protocolo para la recolección y transporte del orujo desde las bodegas productoras de vino hasta nuestra planta de producción.

1. Con ayuda del informe “Uso del vehículo bitren y sus implicancias” (R. Barraza y otros, 2015), se obtiene la capacidad de transporte de un camión bitren con tolva cerealera.

- Capacidad = 76,5 m<sup>3</sup>/Camión

2. Para estimar la cantidad de toneladas de orujo de uva que un camión es capaz de transportar calculamos la densidad del orujo de uva con un contenido de humedad del 70%. Gracias al informe “Biocombustibles y calderas de biomasa” (Centro Nacional de Energías Renovables (CENER), Gobierno de Navarra, España, 2012), se sabe que la densidad del orujo de uva con un contenido de humedad del 12% es de 300 Kg/m<sup>3</sup>.

- $\rho_{OU_{12\%H}} = \rho_{H_2O} * X_{H_2O} + \rho_{OU_{Seco}} * X_{OU_{Seco}}$

- $300 \text{ Kg/m}^3 = (1.000 \text{ Kg/m}^3) * 0,12 + X_{OU_{Seco}} * 0,88$

- Obtenemos,  $X_{OU_{Seco}} = 205 \text{ Kg/m}^3$

Entonces:

- $\rho_{OU_{70\%H}} = \rho_{H_2O} * X_{H_2O} + \rho_{OU_{Seco}} * X_{OU_{Seco}}$

- $\rho_{OU_{70\%H}} = (1.000 \text{ Kg/m}^3) * 0,70 + (205 \text{ Kg/m}^3) * 0,30 = 760 \text{ Kg/m}^3$

3. Calculamos la cantidad de toneladas de orujo de uva que puede transportar en camión bitren, pero teniendo en cuenta que, la legislación Argentina no permite la circulación de vehículos con pesos de carga superiores a las 75 toneladas (R. Barraza y otros, 2015).

- Capacidad = (76,5 m<sup>3</sup>/Camión) \* (760 Kg/m<sup>3</sup>) = 58.140 Kg OU<sub>70%H</sub>/Camión

4. Calculamos la cantidad de traslados necesarios para transportar el orujo requerido para la producción anual de nuestra planta (sección 7.1).

- Traslados = OU<sub>Año</sub>/Capacidad

- Traslados = (4.924 Tn/Año)/(58,14 Tn/Camión) = 85 Camiones/Año

5. Calculamos las cantidades de orujo y traslados necesarios semanalmente, considerando que el período disponibilidad del orujo de uva comprende los meses entre febrero y mayo, durante la vendimia.

- $\text{Traslados} = (85 \text{ Camiones/Año}) / [(4 \text{ Meses/Año}) * (4 \text{ Semana/Mes})]$
- $\text{Traslados} = 6 \text{ Camiones/Semana}$

En términos de orujo de uva, significa:

- $\text{OU}_{70\%H} = \text{Traslados} * \text{Capacidad}$
- $\text{OU}_{70\%H} = (6 \text{ Camiones/Semana}) * (58,14 \text{ Tn/Cami3n}) = 350 \text{ Tn/Semana}$

En base al trabajo de investigación “Producción de un compostaje a partir de desechos de uva” (Ferrer J., Mujica D. y Páez G., Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1993), en el cual se consigue la reducción de los niveles de humedad en el orujo de uva del 73 al 33%, mediante su disposición en forma de pilas expuestas a la intemperie por un período de 10 días, se decide programar el viaje de 3 camiones bitrenes, 2 veces por semana, los días lunes y jueves, durante los meses de febrero a mayo.

### **7.1.2. Secado del orujo de uva**

El llevar el orujo de uva desde una humedad del 70 al 12% requiere dos procesos de secado por limitaciones del tipo técnicas y económicas. El secado a la intemperie, es un método económico para remover el agua contenida en la materia prima. Sin embargo, a medida que alcanzamos niveles bajos de humedad, se necesita más tiempo para remover cantidades cada vez menores de agua. Por otro lado, el secador industrial de tambor rotativo, es capaz de llevar el orujo de uva a niveles de humedad mucho menores en menor cantidad de tiempo. Pero la remoción de cantidades tan grandes de agua requeriría un equipo de gran escala y grandes consumos energéticos.

#### **7.1.2.1. Secado a la intemperie**

En base a las cantidades de orujo de uva recibidos semanalmente y los tiempos de secado, se definen, capacidad y cantidad de silos celdas, diferencias de peso en la materia prima debido al proceso de evaporación del agua y un protocolo para dicha etapa.

1. En base al trabajo de investigación “Producción de un compostaje a partir de desechos de uva” (Ferrer J., Mujica D. y Páez G., Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1993), de manera de agilizar el proceso de secado a la intemperie, cumpliendo con el lapso de 10 días para nuestro propósito, se decide dividir la carga semanal del orujo de uva en 2 silos celdas (teniendo un total de 4 silos celda), de modo de llevar a cabo el protocolo de la Figura 7.1.

- Celda =  $OU_{70\%H}/2$  Celdas
- Celda =  $(350 \text{ Tn/Semana})/2$  Celdas =  $175 \text{ Tn } OU_{70\%H}/\text{Celda}$

Semana 1						
Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
<b>Carga:</b> Celda N°1 (3 Camiones)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 2)	<b>Carga:</b> Celda N°2 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 3)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 4) Celda N°2 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 5) Celda N°2 (Día 2)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 6) Celda N°2 (Día 3)
Semana 2						
Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
<b>Carga:</b> Celda N°3 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 7) Celda N°2 (Día 4)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 8) Celda N°2 (Día 5) Celda N°3 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 9) Celda N°2 (Día 6) Celda N°3 (Día 2)	<b>Carga:</b> Celda N°4 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 10) Celda N°2 (Día 7) Celda N°3 (Día 3)	<b>Descarga:</b> Celda N°1 <b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 8) Celda N°3 (Día 4) Celda N°4 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 9) Celda N°3 (Día 5) Celda N°4 (Día 2)	<b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 10) Celda N°3 (Día 6) Celda N°4 (Día 3)
Semana 3						
Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
<b>Descarga:</b> Celda N°2 <b>Carga:</b> Celda N°1 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°3 (Día 7) Celda N°4 (Día 4)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 1) Celda N°3 (Día 8) Celda N°4 (Día 5)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 2) Celda N°3 (Día 9) Celda N°4 (Día 6)	<b>Carga:</b> Celda N°2 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 3) Celda N°3 (Día 10) Celda N°4 (Día 7)	<b>Descarga:</b> Celda N°3 <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 4) Celda N°2 (Día 1) Celda N°4 (Día 8)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 5) Celda N°2 (Día 2) Celda N°4 (Día 9)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 6) Celda N°2 (Día 3) Celda N°4 (Día 10)
Semana 4						
Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
<b>Descarga:</b> Celda N°4 <b>Carga:</b> Celda N°3 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 7) Celda N°2 (Día 4)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 8) Celda N°2 (Día 5) Celda N°3 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 9) Celda N°2 (Día 6) Celda N°3 (Día 2)	<b>Carga:</b> Celda N°4 (3 Camiones) <b>Secado:</b> Celda N°1 (Día 10) Celda N°2 (Día 7) Celda N°3 (Día 3)	<b>Descarga:</b> Celda N°1 <b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 8) Celda N°3 (Día 4) Celda N°4 (Día 1)	<b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 9) Celda N°3 (Día 5) Celda N°4 (Día 2)	<b>Secado:</b> Celda N°2 (Día 10) Celda N°3 (Día 6) Celda N°4 (Día 3)

Fig. 7.1: Protocolo para el secado del orujo de uva a la intemperie.

2. Calculamos las cantidades de agua evaporada y el peso final del orujo de uva considerando que es factible reducir su contenido de humedad hasta un 30%, luego de 10 días de secado a la intemperie (Ferrer J., Mujica D. y Páez G., Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1993).

- $Celda = (175 \text{ Tn/Celda}) * (30 \text{ Kg } OU_{\text{Seco}} / 100 \text{ Kg } OU_{70\%H}) = 52,5 \text{ Tn } OU_{\text{Seco}}/\text{Celda}$

Entonces:

- $Celda = (52,5 \text{ Tn/Celda}) * (100 \text{ Kg } OU_{30\%H} / 70 \text{ Kg } OU_{\text{Seco}}) = 75 \text{ Tn } OU_{30\%H}/\text{Celda}$

La cantidad de agua evaporada en el período de 10 días, se calcula como:

- $H_2O_{\text{Evap}} = OU_{70\%H} - OU_{30\%H}$
- $H_2O_{\text{Evap}} = (175 \text{ Tn/Celda}) - (75 \text{ Tn/Celda}) = 100 \text{ Tn/Celda}$

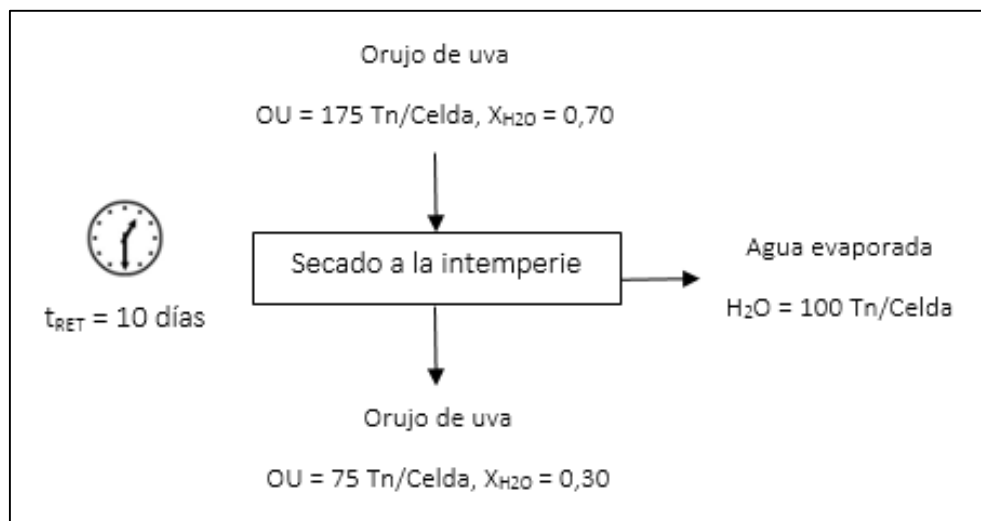


Fig. 7.2: Diagrama de flujos másicos del proceso de secado a la intemperie.

### 7.1.2.2. Secador de tambor rotativo

Antes del almacenaje definitivo del orujo de uva en los silos cilíndricos verticales, debe ser llevado hasta un nivel de humedad que impida su degradación por acción de microorganismos. Para llevar a cabo esta última etapa de secado, definiremos, tiempos de operación del equipo, caudales de entrada y salida de materia prima y agua evaporada

1. Considerando el protocolo de secado a la intemperie (Figura 7.1), el secador de tambor rotativo operará sólo los días de descarga del silo celda correspondiente, de forma tal, que procese la totalidad del orujo en un período de 24 horas. Con ello, calculamos el caudal de entrada de orujo de uva.

- $\dot{OU}_{30\%H} = OU_{30\%H}/t_{Op}$
- $\dot{OU}_{30\%H} = 75 \text{ Tn}/24 \text{ hs} = 3,13 \text{ Tn}/\text{hs}$

2. Calculamos el caudal de salida de materia prima y agua evaporada del secador industrial, recordando que la humedad final del orujo es del 12%.

- $\dot{OU}_{Seco} = \dot{OU}_{30\%H} * (70 \text{ Kg } OU_{Seco}/100 \text{ Kg } OU_{30\%H})$
- $\dot{OU}_{Seco} = (3,13 \text{ Tn}/\text{hs}) * (70 \text{ Kg } OU_{Seco}/100 \text{ Kg } OU_{30\%H}) = 2,19 \text{ Tn}/\text{hs}$

Entonces:

- $\dot{OU}_{12\%H} = \dot{OU}_{Seco} * (100 \text{ Kg } OU_{12\%H}/88 \text{ Kg } OU_{Seco})$
- $\dot{OU}_{12\%H} = (2,19 \text{ Tn}/\text{hs}) * (100 \text{ Kg } OU_{12\%H}/88 \text{ Kg } OU_{Seco}) = 2,49 \text{ Tn}/\text{hs}$

La cantidad de agua evaporada, se calcula como:

- $H2O_{Evap} = \dot{OU}_{30\%H} - \dot{OU}_{12\%H}$
- $H2O_{Evap} = 3,13 \text{ Tn}/\text{hs} - 2,49 \text{ Tn}/\text{hs} = 0,64 \text{ Tn}/\text{hs}$

3. Calculamos el tiempo de residencia del orujo dentro del tambor rotativo. Consideramos el caudal ( $\rho_P$ ) y la densidad ( $\rho_P$ ) promedio de los caudales de entrada y salida al equipo.

- $\rho_{OU30\%H} = \rho_{H2O} * X_{H2O} + \rho_{OU_{Seco}} * X_{OU_{Seco}}$
- $\rho_{OU30\%H} = (1.000 \text{ Kg}/\text{m}^3) * 0,30 + (205 \text{ Kg}/\text{m}^3) * 0,70 = 444 \text{ Kg}/\text{m}^3$

Entonces:

- $\rho_{OUP} = (\rho_{OU30\%H} + \rho_{OU12\%H})/2$
- $\rho_{OUP} = [(444 \text{ Kg}/\text{m}^3) + (300 \text{ Kg}/\text{m}^3)]/2 = 372 \text{ Kg}/\text{m}^3$

Por otro lado:

- $O\dot{U}_P = (O\dot{U}_{30\%H} + O\dot{U}_{12\%H})/2$
- $O\dot{U}_P = [(3,13 \text{ Tn/hs}) + (2,49 \text{ Tn/hs})]/2 = 2,81 \text{ Tn/hs}$

Según el libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), para un funcionamiento eficiente las capacidades de los secadores de tambor rotativo deben ser entre el 10 al 15% de su volumen total. Calculamos este volumen en base a las medidas del equipo diseñado (sección 9.3.1).

- $V_{\text{Tambor}} = \pi * r^2 * L$

Siendo:

- r: Radio del interior del tambor (0,3 m).
- L: Largo del tambor (6 m).

Entonces:

- $V_{\text{Tambor}} = \pi * (0,3 \text{ m})^2 * (6 \text{ m})$
- $V_{\text{Tambor}} = 1,70 \text{ m}^3$

Ahora podemos calcular el tiempo de residencia.

- $t_{\text{Res}} = (V_{\text{Tambor}} * 0,15) * (1/O\dot{U}_P) * \rho_{\text{OUP}}$
- $t_{\text{Res}} = (1,70 \text{ m}^3 * 0,15) * (\text{hs}/2.810 \text{ Kg}) * (372 \text{ Kg}/\text{m}^3) = 0,034 \text{ hs}$
- $t_{\text{Res}} = 2,02 \text{ min}$



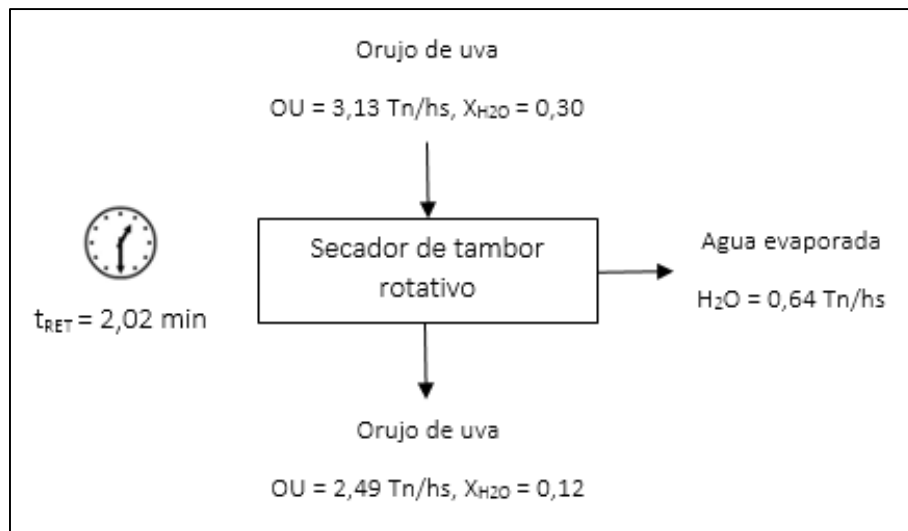


Fig. 7.3: Diagrama de flujos másicos en el secador de tambor rotativo.

### 7.1.3. Almacenamiento del orujo de uva

El almacenamiento del orujo de uva no sólo comprende el confinamiento de un gran volumen de materia prima, sino también su conservación mediante el apropiado sistema de aireación.

#### 7.1.3.1. Silos verticales

Una vez que el orujo de uva alcanza el 12% de humedad, debe almacenarse para protegerlo del medio ambiente. Para ello, se utilizan silos verticales con base de hormigón, ya que permiten el resguardo de grandes cantidades de materia prima con una gran relación volumen-área.

1. En base a las cantidades de orujo de uva necesarias para la producción anual de nuestra planta (sección 7.1), calculamos la cantidad de orujo de uva que deben almacenar los silos.

- $\text{Silos} = \text{OU}_{\text{Año}} * (30 \text{ Kg } \text{OU}_{\text{Seco}} / 100 \text{ Kg } \text{OU}_{70\%H})$
- $\text{Silos} = (4.924 \text{ Tn/año}) * (30 \text{ Kg } \text{OU}_{\text{Seco}} / 100 \text{ Kg } \text{OU}_{70\%H}) = 1.477 \text{ Tn } \text{OU}_{\text{Seco}}/\text{año}$

Entonces:

- $\text{Silos} = (1.477 \text{ Tn/Año}) * (100 \text{ Kg } \text{OU}_{12\%H} / 88 \text{ Kg } \text{OU}_{\text{Seco}}) = 1.680 \text{ Tn } \text{OU}_{12\%H}/\text{Año}$

### 7.1.3.2. Sistema de aireación

Según catálogos de la empresa “Tres Eme S.A.®”, se necesita una succión de aire de 0.1 m<sup>3</sup> por tonelada del producto almacenado por minuto, para proporcionar el adecuado control de la humedad en los silos.

1. Calculamos el caudal de aire que necesita ser extraído de cada silo, en base a las cantidades de orujo de uva que contiene cada uno (sección 7.1.3.1).

- Aire = (1.680 Tn/Silo) \* (0,1 m<sup>3</sup>/Tn \* mín) = 168 m<sup>3</sup>/Silo \* mín

### 7.1.4. Preparación de la solución de orujo de uva

Analizando la mejor manera de llevar a cabo la preparación de la solución azucarada, se investigaron numerosos proyectos de grado y patentes comerciales. Se encontró que, tanto el producto que se desea obtener, como la materia prima de la que se parte, presentan grandes similitudes con el proceso de elaboración de azúcar a partir de remolacha.

Esto puede observarse en los proyectos de grado “Planta de producción de jarabe de azúcar de remolacha” (M. Zamora, Universidad de Cádiz, Cádiz, España, 2010) y “Proyecto de instalaciones necesarias en una planta azucarera” (A. García y V. Santías, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2017). Por lo tanto, basaremos la preparación de la solución azucarada a partir del orujo de uva, en las operaciones de maceración y evaporación utilizadas en la obtención de azúcar a partir de remolacha.

#### 7.1.4.1. Maceración del orujo de uva

El orujo se introduce en un mezclador donde debe permanecer en contacto con agua caliente a una temperatura de entre 70 a 80°C durante 60 minutos. Del proyecto de grado “Planta de producción de jarabe de azúcar de remolacha” (M. Zamora, Universidad de Cádiz, Cádiz, España, 2010), se detalla el balance de materia en la etapa de difusión (Figura 7.4).

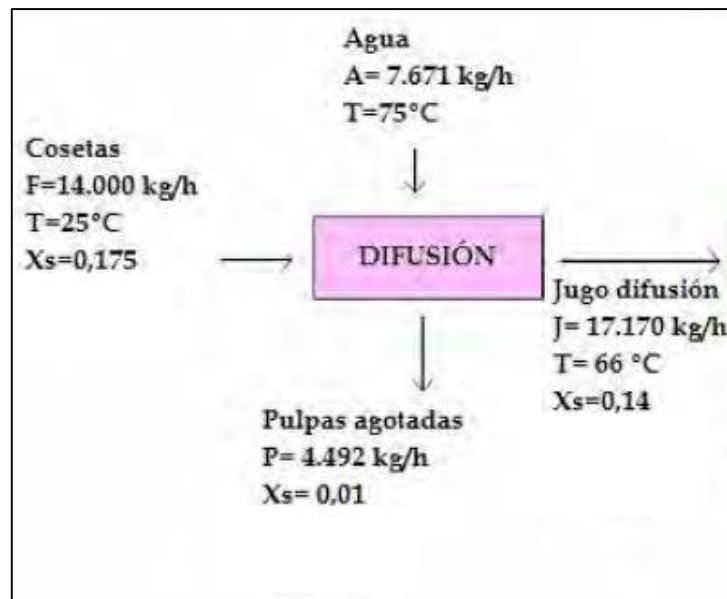


Fig. 7.4: Diagrama de flujo de la etapa de difusión en el proceso de obtención del azúcar de remolacha.

Tanto la temperatura, como el tiempo de maceración y la cantidad de agua utilizada son los parámetros claves para el control de la etapa de difusión. El primero controla la velocidad de difusión del azúcar, el segundo define cantidad de azúcar difundida, y el tercero determina la cantidad de azúcar capaz de absorberse en el medio líquido.

1. Calculamos la eficiencia ( $\eta$ ) con que el azúcar emigra desde la remolacha hasta el agua.

- $\eta = \dot{A}_J / \dot{A}_F$
- $\eta = (X_{AZ-J} * J) / (X_{AZ-F} * \dot{F})$
- $\eta = [0,14 * (17.170 \text{ Kg/hs})] / [0,175 * (14.000 \text{ Kg/hs})] = 0,98$

2. Calculamos el coeficiente de difusión (D) del azúcar en la remolacha hasta el agua.

- $D = \Delta X_{AZ} / \Delta t = (X_{AZ-F} - X_{AZ-J}) / t_{Res}$
- $D = (0,175 - 0,14) / 60 \text{ mín} = 5,83 \times 10^{-4} \text{ mín}^{-1}$

3. Calculamos la relación azúcar-agua ( $X_{AZ/H_2O}$ ).

- $X_{AZ/H_2O} = \dot{A}_Z / \dot{H}_2O$
- $X_{AZ/H_2O} = (X_{AZ-F} * \dot{F}) / \dot{H}_2O$
- $X_{AZ/H_2O} = 0,175 * (14.000 \text{ Kg/hs}) / (7.671 \text{ Kg/hs}) = 0,32 \text{ Kg AZ/Kg H}_2O$

Tomamos los parámetros calculados del proyecto como referencia para realizar el balance de materia de nuestro proceso, específicamente, para la difusión del azúcar desde el orujo de uva hasta el agua.

1. Calculamos la concentración de azúcar en el orujo de uva a la entrada, sabiendo que la concentración de azúcar del orujo, en base seca, es del 20%.

- $X_{AZ-OU} = X_{AZ-OU_{Seco}} * (0,88 \text{ Kg } OU_{Seco} / \text{Kg } OU_{12\%H})$
- $X_{AZ-OU} = (0,20 \text{ Kg AZ/Kg } OU_{Seco}) * (0,88 \text{ Kg } OU_{Seco} / \text{Kg } OU_{12\%H})$
- $X_{AZ-OU} = 0,176 \text{ Kg AZ/Kg } OU_{12\%H}$

2. Para llevar a cabo el proceso de maceración se utiliza un mezclador continuo de eje horizontal, el cual opera a un 50% de su volumen total. En el equipo seleccionado, modelo WAH15000 de la empresa “MAP®”, este volumen representa unos 7.5 m<sup>3</sup>. Calculamos la cantidad de agua y orujo que puede contener el mezclador.

- $V_{Mezclador} = [(\rho_{H_2O} * X_{H_2O/AZ} * X_{AZ-OU}) * OU] + (\rho_{OU_{12\%H}} * OU)$
- $7,5 \text{ m}^3 = [(1 \text{ m}^3 / 1.000 \text{ Kg}) * 3,125 * 0,176] * OU + (1 \text{ m}^3 / 300 \text{ Kg}) * OU$
- Obtenemos,  $OU = 1.933 \text{ Kg}$

Entonces:

- $H_2O = (X_{H_2O/AZ} * X_{AZ-OU}) * OU$
- $H_2O = (3,125 * 0,176) * 1.933 \text{ Kg}$
- Obtenemos,  $H_2O = 1.063 \text{ Kg}$

3. Calculamos los caudales de agua y orujo entrantes al mezclador, recordando que el tiempo de residencia son 60 minutos.

- $\dot{O}U = OU/t_{Res}$
- $\dot{O}U = (1.933 \text{ Kg}/60 \text{ min}) * (60 \text{ min}/1 \text{ hs}) = 1.933 \text{ Kg}/\text{hs}$

Por otro lado:

- $H\dot{2}O = H2O/t_{Res}$
- $H\dot{2}O = (1.063 \text{ Kg}/60 \text{ min}) * (60 \text{ min}/1 \text{ hs}) = 1.063 \text{ Kg}/\text{hs}$

NOTA:

El caudal de agua proviene del vapor condensado del primer efecto en la etapa de evaporación, a fin de maximizar el uso de los recursos de la planta.

4. Calculamos la concentración de azúcar en la solución (S) resultante del proceso de maceración.

- $D = \Delta X_{AZ}/\Delta t = (X_{AZ-OU} - X_{AZ-S})/t_{Res}$
- $5,83 \times 10^{-4} \text{ mín}^{-1} = (0,176 - X_{AZ-S})/60 \text{ mín}$
- Obtenemos,  $X_{AZ-S} = 0,141$

5. Calculamos los caudales salientes de la solución azucarada y el orujo exhausto (OE).

- $X_{AZ-S} * \dot{S} = \eta * X_{AZ-OU} * \dot{O}U$
- $0,141 * \dot{S} = 0,98 * 0,176 * 1.933 \text{ Kg}/\text{hs}$
- Obtenemos,  $\dot{S} = 2.365 \text{ Kg}/\text{hs}$

Entonces:

- $\dot{O}U + H\dot{2}O = \dot{S} + \dot{O}E$
- $1.933 \text{ Kg}/\text{hs} + 1.063 \text{ Kg}/\text{hs} = 2.365 \text{ Kg}/\text{hs} + \dot{O}E$
- Obtenemos,  $\dot{O}E = 631 \text{ Kg}/\text{hs}$

6. Calculamos la concentración de azúcar en el orujo exhausto.

- $X_{AZ-OU} * \dot{O}U + X_{AZ/H2O} * \dot{H2O} = X_{AZ-S} * \dot{S} + X_{AZ-OE} * \dot{O}E$
- $0,176 * 1.933 \text{ Kg/hs} + 0 * 1.063 \text{ Kg/hs} = 0,141 * 2.365 \text{ Kg/hs} + X_{AZ-OE} * 631 \text{ Kg/hs}$
- Obtenemos,  $X_{AZ-OE} = 0,011$

7. Calculamos el tiempo de operación y el total de agua necesarios, recordando que deben procesarse 29.114 Kg (sección 7.1) de orujo de uva por lote de producción.

- $OU_{Lote} = 29.114 \text{ Kg/Lote}$

A este valor le agregaremos un margen extra del 10%, para estar cubiertos de posibles pérdidas o ineficiencias en el proceso de difusión de los azúcares, por lo tanto:

- $OU_{Lote} = 32.026 \text{ Kg/Lote}$

Entonces:

- $t_{Op} = OU_{Lote} / \dot{O}U$
- $t_{Op} = (32.026 \text{ Kg/Lote}) / (1.933 \text{ Kg/hs}) = 16,6 \text{ hs}$

Por otro lado:

- $H2O_{Lote} = X_{H2O/AZ} * X_{AZ-OU} * OU_{Lote}$
- $H2O_{Lote} = 3,125 * 0,176 * (32.026 \text{ Kg/Lote}) = 17.614 \text{ Kg/Lote}$

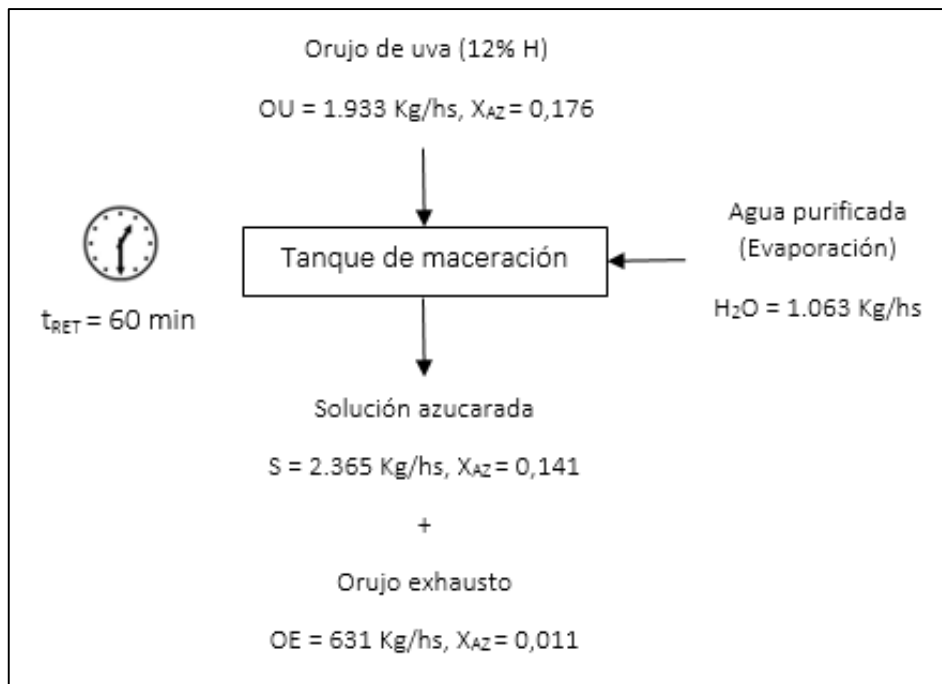


Fig. 7.5: Diagrama de flujos másicos de la etapa de maceración.

#### 7.1.4.2. Separación del macerado

Una vez que el macerado ha cumplido el tiempo de residencia necesario dentro del mezclador, es llevado hasta un tamiz de tambor rotativo, donde se separa el orujo exhausto de la solución azucarada.

Considerando que la uva posee un diámetro promedio de 10 a 20 mm y que el tamiz de tambor rotativo seleccionado, modelo RTV 900X1000 de la empresa "SAVECO®", posee un paso de malla de 1 mm, podemos suponer una separación prácticamente completa de las fracciones líquidas y sólidas.

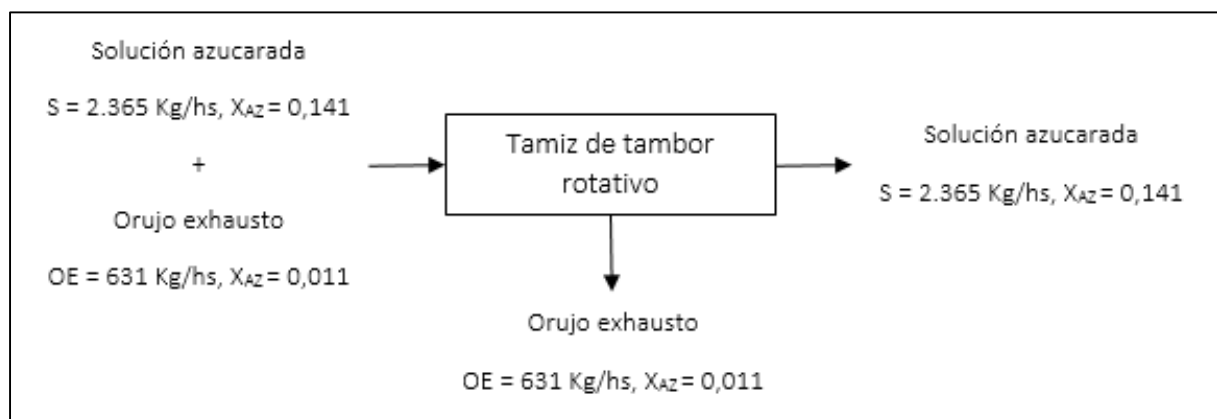


Fig. 7.6: Diagrama de flujos másicos de la etapa de separación del macerado.

### 7.1.4.3. Evaporación del macerado

La solución azucarada saliente del tamiz posee una concentración en azúcares del 14.1%, y requiere ser llevada hasta 37.5% mediante la evaporación del exceso de agua.

- Según el informe "Sugar Technologists Manual" (Z. Bubnik, P. Kadlec y otros), sabemos que la densidad de la solución azucarada con 37° Brix a una temperatura de 20°C, es 1.200 Kg/m<sup>3</sup>. Con ese valor, calculamos la concentración de la solución concentrada en azúcares (SC), en términos de gramos por litro.

- $C_{AZ-SC} = X_{AZ-SC} * \rho_{SC}$
- $C_{AZ-SC} = (37,5 \text{ g AZ}/100 \text{ g}) * (1.200 \text{ g/L}) = 450 \text{ g AZ/L}$

- Calculamos los caudales de agua evaporada y de solución concentrada a la salida del evaporador.

- $X_{AZ-S} * \dot{S} = X_{AZ/H_2O} * H_2O_{Evap} + X_{AZ-SC} * \dot{S}C$
- $0,141 * 2.365 \text{ Kg/hs} = 0 + 0,375 * \dot{S}C$
- Obtenemos,  $\dot{S}C = 889 \text{ Kg/hs}$

Entonces:

- $\dot{S} = H_2O_{Evap} + \dot{S}C$
- $2.365 \text{ Kg/hs} = H_2O_{Evap} + 889 \text{ Kg/hs}$
- Obtenemos,  $H_2O_{Evap} = 1.476 \text{ Kg/hs}$

- Calculamos el total de agua evaporada y de solución concentrada por lote de producción.

- $SC_{Lote} = \dot{S}C * t_{Op}$
- $SC_{Lote} = (889 \text{ Kg/hs}) * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 14.731 \text{ Kg/Lote}$

Por otro lado:

- $H_2O_{Lote} = H_2O_{Evap} * t_{Op}$
- $H_2O_{Lote} = (1.476 \text{ Kg/hs}) * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 24.457 \text{ Kg/Lote}$



**NOTA:**

El sistema de evaporadores de película descendente es de “doble efecto”, pero es necesario considerar balances de energía para dar mayor detalle sobre las corrientes (sección 8.1.3.3).

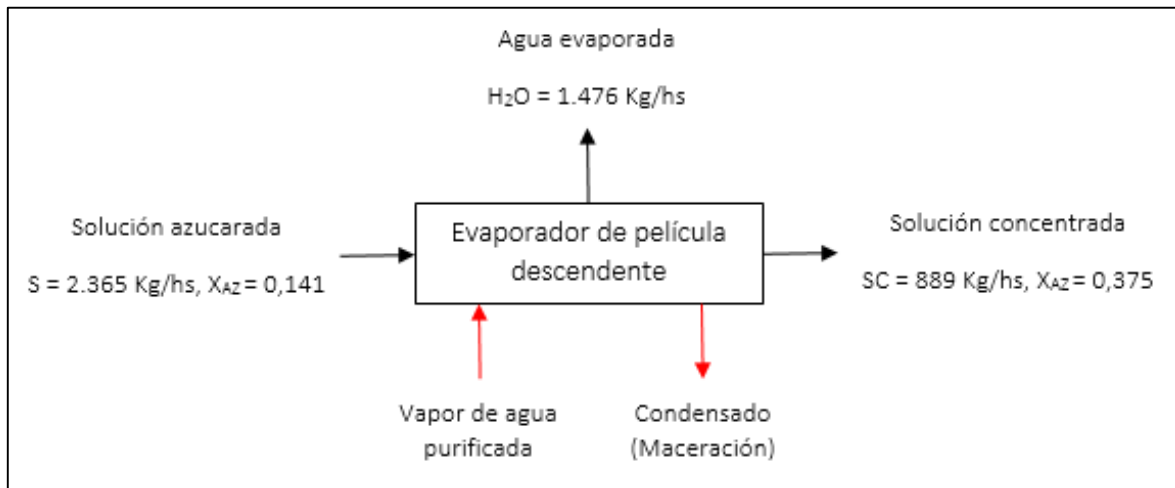


Fig. 7.7: Diagrama de flujos másicos de la etapa de evaporación de la solución azucarada.

## 7.2. Fermentación

Para realizar cualquier cálculo respecto al proceso de fermentación, es preciso tener en cuenta los parámetros cinéticos característicos de la levadura *P. rhodozyma*, tanto en procesos tipo batch, como fed-batch.

### 7.2.1. Escalado

En base a los parámetros cinéticos recolectados en los estudios de la sección 4.6 y la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, hacemos un análisis del proceso de escalado llevado a cabo desde el biorreactor de laboratorio hasta biorreactor industrial por la cepa mutante UBV-AX1 de la levadura *P. rhodozyma*.

#### 7.2.1.1. Crecimiento de biomasa

Para estimar el crecimiento de la biomasa en cada biorreactor, consideramos la siguiente ecuación:

- $Y_{XS} = \Delta X / \Delta S = X_f - X_i / S_i - S_f$

Establecemos una secuencia de cálculo, probando valores de concentración de sustrato en la solución de reservorio, hasta obtener un valor próximo en la concentración de biomasa final de 100 g/L en el biorreactor de 30 m<sup>3</sup>.

1. Para el biorreactor batch, utilizamos los siguientes parámetros:

- $Y_{XS} = 0,36$  g biomasa/g sustrato
- $\Delta S = 20$  g sustrato/L

2. Para los biorreactores fed-batch, utilizamos los siguientes parámetros:

- $Y_{XS} = 0,39$  g biomasa/g sustrato
- $X_f (30 \text{ m}^3) \approx 100$  g biomasa/L

3. Todo el contenido del biorreactor N-1, al finalizar la fermentación, es inoculado en el siguiente biorreactor N. La concentración inicial de biomasa ( $X_i$ ) en cada biorreactor, se expresa como:

- $X_{iN} = (V_{fN-1} * X_{fN-1}) / V_{iN}$

Siendo:

- N, el parámetro correspondiente del biorreactor actual en la secuencia de escalado.
- N-1, el parámetro correspondiente del biorreactor anterior en la secuencia de escalado.

4. Los volúmenes iniciales ( $V_i$ ) de cada uno de los biorreactores de 30, 300, 3.000 y 30.000 litros, son 10, 100, 1.000 y 10.000 litros, respectivamente.

5. Los volúmenes finales ( $V_f$ ) de cada uno de los biorreactores de 30, 300, 3.000 y 30.000 litros, son 20, 200, 2.000 y 20.000 litros, respectivamente.

Escalado de biorreactores			
Batch	Biorreactor de 3 L		Concentración de azúcares en el medio
	Conc. inicial de biomasa	0.00 g/L	
	Conc. final de biomasa	7.20 g/L	20 g/L
Fed-Batch	Biorreactor de 30 L		Concentración de azúcares en el reservorio
	Conc. inicial de biomasa	1.44 g/L	
	Conc. final de biomasa	90.72 g/L	450 g/L
	Biorreactor de 300 L		Concentración de azúcares en el reservorio
	Conc. inicial de biomasa	18.14 g/L	
	Conc. final de biomasa	99.07 g/L	450 g/L
	Biorreactor de 3.000 L		Concentración de azúcares en el reservorio
	Conc. inicial de biomasa	19.81 g/L	
	Conc. final de biomasa	99.91 g/L	450 g/L
	Biorreactor de 30.000 L		Concentración de azúcares en el reservorio
	Conc. inicial de biomasa	19.98 g/L	
	Conc. final de biomasa	99.99 g/L	450 g/L

Tabla 7.1: Regresión de cálculo para la determinación de biomasa en biorreactores.

### 7.2.1.2. Alimentación del biorreactor

Según la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, a fin de asegurar una alta densidad celular al finalizar la fermentación, el caudal de alimentación al biorreactor debe ser tal que la concentración de azúcares dentro del mismo se mantenga entre 0.01 y 2.5 g/L, para evitar el efecto inhibitorio “Crabtree” por el exceso de azúcares.

Como la demanda de sustrato por parte de la levadura incrementa de forma exponencial, se busca incrementar el flujo de alimentación de igual manera. Dicha evolución en la alimentación se expresa como:

- $F = F_i * e^{\mu * t}$

Siendo el flujo de alimentación inicial ( $F_i$ ):

- $F_i = (V_f - V_i) / (e^{\mu * t} * t)$

Para los biorreactores fed-batch utilizamos los siguientes parámetros:

- $\mu = 0,058 \text{ hs}^{-1}$
- $t_{\text{exp}} = 48 \text{ hs}$

Biorreactor de 30 L			
Flujo inicial	Flujo final	Volumen inicial	Volumen final
mL/hs	mL/hs	Litros	Litros
13	210	10	20
Biorreactor de 300 L			
Flujo inicial	Flujo final	Volumen inicial	Volumen final
L/hs	L/hs	Litros	Litros
0.13	2.10	100	200
Biorreactor de 3.000 L			
Flujo inicial	Flujo final	Volumen inicial	Volumen final
L/hs	L/hs	Litros	Litros
1.29	21.0	1 000	2 000
Biorreactor de 30.000 L			
Flujo inicial	Flujo final	Volumen inicial	Volumen final
L/hs	L/hs	Litros	Litros
12.9	210	10 000	20 000

*Tabla 7.2:* Flujo inicial y final de alimentación para los distintos biorreactores fed-batch.

Con los valores de los flujos de alimentación cálculos en la Tabla 7.2, los biorreactores fed-batch se operan de la siguiente manera:

1. **Biorreactor de 30 litros.** El volumen inicial en el biorreactor es de 10 litros, la alimentación empieza a las 24 horas con un flujo inicial de 13 mL/hs, e incrementándose exponencialmente hasta 210 mL/hs a las 72 horas, cuando se corta la alimentación y se alcanza un volumen final de 20 litros. La concentración de azúcares en la solución de reservorio es de 450 g/L.
2. **Biorreactor de 300 litros.** El volumen inicial en el biorreactor es de 100 litros, la alimentación empieza a las 24 horas con un flujo inicial de 130 mL/hs, e incrementándose exponencialmente hasta 2.10 L/hs a las 72 horas, cuando se corta la alimentación y se alcanza un volumen final de 200 litros. La concentración de azúcares en la solución de reservorio es de 450 g/L.
3. **Biorreactor de 3.000 litros.** El volumen inicial en el biorreactor es de 1.000 litros, la alimentación empieza a las 24 horas con un flujo inicial de 1.29 L/hs, e incrementándose exponencialmente hasta 21 L/hs a las 72 horas, cuando se corta la alimentación y se alcanza un volumen final de 2.000 litros. La concentración de azúcares en la solución de reservorio es de 450 g/L.

4. **Biorreactor de 30.000 litros.** El volumen inicial en el biorreactor es de 10 m<sup>3</sup>, la alimentación empieza a las 24 horas con un flujo inicial de 12.9 L/hs, e incrementándose exponencialmente hasta 210 L/hs a las 72 horas, cuando se corta la alimentación y se alcanza un volumen final de 20 m<sup>3</sup>. La concentración de azúcares en la solución de reservorio es de 450 g/L.

### 7.2.2. Producción

La estimación de cantidades de materia prima consumidas, el producto obtenido y los tiempos de producción, son los indicadores globales fundamentales para el análisis de la productividad y rentabilidad del proceso, ya que todas las acciones sobre las variables independientes del mismo tienen por objetivo optimizar los valores de cada una de ellas, a fin de obtener el mayor rédito económico.

#### NOTA:

La formación de astaxantina sólo será analizada en el biorreactor industrial de 30 m<sup>3</sup>, ya que las cantidades producidas en los biorreactores de tamaños inferiores son despreciables.

#### 7.2.2.1. Necesidades de materia prima

Se calculan las necesidades de materia prima para el cultivo de la cepa *P. rhodozyma* UBV-AX1, desde su inoculación a escala laboratorio hasta el nivel de producción industrial.

1. Calculamos las cantidades de materia prima necesarias para la formulación de los medios de cultivo sintéticos YEPD para 4 Erlenmeyers de 50 y 250 mL, con 10 mL y 50 mL de medio de cultivo, respectivamente (Tabla 7.3).

Medio de cultivo YEPD			
Materia prima	Cantidades	Por lote	Por año (48 lotes)
Agua	1 L	0.24 L	11.52 L
Dextrosa	20.0 g	4.80 g	230.4 g
Ext. de Levadura	10.0 g	2.40 g	115.2 g
Peptona	20.0 g	4.80 g	230.4 g

Tabla 7.3: Cantidades de materia prima necesarias por lote y por año del medio sintético de YEPD.

2. Calculamos las cantidades de materia prima necesarias para formular el medio de cultivo y la solución de reservorio en los biorreactores batch y fed-batch, considerando la composición objetivo, reportada en las secciones 5.2.1 y 5.2.2.

Medio de cultivo							
Materia prima	Biorreactor 3 L	Biorreactor 30 L	Biorreactor 300 L	Biorreactor 3.000 L	Biorreactor 30.000 L	Por lote	Por año (48 lotes)
Agua	1.91 L	7.90 L	79,0 L	790 L	7.900 L	8.779 L	422.000 L
Solución de orujo de uva	90 mL	0,10 L	1,00 L	10,0 L	100 L	111,2 L	5.338 L
Extracto de levadura	N/A	10,0 g	0,10 Kg	1,00 Kg	10,0 Kg	11,2 Kg	538 Kg
MgSO <sub>4</sub>	9,00g	40,0 g	0,40 Kg	4,00 Kg	40,0 Kg	44,5 Kg	2.136 Kg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	7,00 g	30,0 g	0,30 Kg	3,00 Kg	30,0 Kg	33,4 Kg	1.603 Kg
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,44 g	6,00 g	0,06 Kg	0,60 Kg	6,0 Kg	6,67 Kg	320 Kg
FeSO <sub>4</sub>	N/A	0,10 g	1,00 g	10,0 g	0,10 Kg	0,12 Kg	5,34 Kg
ZnSO <sub>4</sub>	70,0 mg	0,25 g	2,50 g	25,0 g	0,25 Kg	0,28 Kg	13,4 Kg
MnSO <sub>4</sub>	N/A	20,0 mg	0,20 g	2,00 g	20,0 g	22,3 g	1,07 Kg
Tiamina (B1)	0,30 mg	0,80 mg	8,00 mg	80,0 mg	0,80 g	0,89 g	0,04 Kg
Pentatonato de calcio (B5)	3,00 mg	10,0 mg	0,10 g	1,00 g	10,0 g	11,2 g	0,54 Kg
Biotina (B8)	5,00 mg	2,00 mg	20,0 mg	0,20 g	2,00 g	2,23 g	0,11 Kg
Ác. bórico	0,40 mg	2,00 mg	20,0 mg	0,20 g	2,00 g	2,23 g	0,11 Kg
Ácido cítrico	9,00 mg	30,0 mg	0,30 g	3,00 g	30,0 g	33,4 g	1,60 Kg
Solución de reservorio							
Materia prima	Biorreactor 3 L	Biorreactor 30 L	Biorreactor 300 L	Biorreactor 3.000 L	Biorreactor 30.000 L	Por lote	Por año (48 lotes)
Solución de orujo de uva	N/A	10 L	100 L	1.000 L	10.000 L	11.110 L	533.000 L

*Tabla 7.4:* Cantidades de materia prima necesarias por lote y por año, para el medio de cultivo y soluciones de reservorio para los biorreactores batch y fed-batch.

### 7.2.2.2. Tiempos de fermentación

En base a la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, se establece la duración en cada fermentación en el proceso de escalado.

1. **Erlenmeyer de 50 mL.** El tiempo de fermentación es de 6 a 10 días. Al ser la primera etapa de propagación de la levadura en un nuevo medio de cultivo, se le debe dar el tiempo necesario para asegurar su adaptación.
2. **Erlenmeyer de 250 mL.** El tiempo de fermentación es de 3 días. Se continua la fermentación hasta el final de la fase de crecimiento exponencial, a fin de obtener la máxima concentración de biomasa. Pero no más allá, ya que se perdería tiempo de producción.
3. **Biorreactor batch de 3 L.** El tiempo de fermentación es de 6 a 7 días. Es la etapa en la cual se determinan parámetros cinéticos y necesidades del microorganismo, por lo cual, la fermentación se continua hasta que se observa el cese en el crecimiento de la biomasa o la formación de astaxantina.

4. **Biorreactores fed-batch de 30 L, 300 L y 3 m<sup>3</sup>.** Los tiempos de fermentación son de 3 días. Las fermentaciones se continúan hasta el final de la fase exponencial de crecimiento, de manera de obtener la máxima concentración de biomasa posible.
5. **Biorreactor fed-batch de 30 m<sup>3</sup>.** El tiempo de fermentación es de 6 a 7 días. Es la etapa productiva del proceso y se continua hasta que se observe la merma en la formación de astaxantina.

Podemos concluir que el tiempo necesario para todo el proceso de fermentación desde su extracción de la cepa de *P. rhodozyma* de las ampollas congeladas, hasta el fin de la operación en el biorreactor industrial de 30 m<sup>3</sup>, es de aproximadamente de 30 días.

### 7.2.2.3. Productividad de biomasa y astaxantina

Estimamos la cantidad de levadura (LV) *P. rhodozyma* producida al finalizar el proceso de fermentación en el biorreactor industrial, según el modelo de crecimiento de biomasa de la Tabla 7.1.

- $LV = X_f * V_f$
- $LV = (100 \text{ g Levadura/L}) * (20.000 \text{ L/Lote}) = 2,0 \times 10^6 \text{ g Levadura/Lote}$
- $LV = 2.000 \text{ Kg Levadura/Lote}$

En cuanto la formación de astaxantina (AXT), calculamos las cantidades producidas al finalizar el proceso de fermentación en el biorreactor industrial. Teniendo en cuenta la patente de referencia Estadounidense N° 6.015.684, con en el medio de cultivo elegido y un formato de operación tipo fed-batch, podemos esperar un rendimiento de producto-biomasa ( $Y_{PX}$ ) de 5.060 µg de astaxantina por gramo de biomasa seca (sección 4.5).

- $AXT = Y_{PX} * X_f * V_f$
- $AXT = (5,00 \text{ mg AXT/g Levadura}) * (2,0 \times 10^6 \text{ g Levadura/Lote}) = 1,0 \times 10^7 \text{ mg AXT/Lote}$
- $AXT = 10 \text{ Kg AXT/Lote}$

### 7.3. Operaciones de downstream

Tanto las células de la levadura *P. rhodozyma*, como la astaxantina dentro de estas, son el producto a aislar del caldo de fermentación en el biorreactor industrial, y atravesará una serie de procesos hasta obtener el alimento funcional para la pigmentación de salmónidos a comercializar.

#### 7.3.1. Separación líquido-sólido

Las centrifugas de discos son equipos de alta eficiencia y capaces de ofrecer una separación prácticamente completa cuando las condiciones de operación elegidas son las correctas.

1. Las centrifugas son equipos que separan las partículas por diferencia de densidad, como esta no es muy gran entre el caldo de fermentación (CF) y las células de levadura, se diluye el caldo para incrementar esta diferencia y arrastrar los sólidos remanentes en el biorreactor. Según ejemplos citados en el libro “Procesos de separación de biotecnología industrial” (F. Baxarias, UPC, 2018), para la separación caldos biológicos mediante centrifuga de discos, buscamos una diferencia densidad del 5% entre el medio líquido y células de levadura.

Calculamos el caudal de agua de dilución necesario para un lote de producción.

- $H_2O_{Dil} * \rho_{H_2O} + CF * \rho_{CF} = (H_2O_{Dil} + CF) * (\rho_{CF} * 0,95)$
- $H_2O_{Dil} * (1.000 \text{ Kg/m}^3) + (20 \text{ m}^3/\text{Lote}) * (1.100 \text{ Kg/m}^3) = [(1.100 \text{ Kg/m}^3) * 0.95] * [H_2O_{Dil} + (20 \text{ m}^3/\text{Lote})]$
- Obtenemos,  $H_2O_{Dil} = 25 \text{ m}^3/\text{Lote}$

También se ve modificada la viscosidad del medio líquido, entonces:

- $H_2O_{Dil} * \mu_{H_2O} + CF * \mu_{CF} = (H_2O_{Dil} + CF) * \mu_M$
- $(25 \text{ m}^3 / \text{Lote}) * (1 \times 10^{-3} \text{ Kg} / \text{m seg}) + (20 \text{ m}^3 / \text{Lote}) * (3,23 \times 10^{-3} \text{ Kg} / \text{m seg}) = (45 \text{ m}^3 / \text{Lote}) * \mu_M$
- Obtenemos,  $\mu_M = 2,0 \times 10^{-3} \text{ Kg/m seg}$

2. Calculamos el caudal de alimentación necesario para asegurar la sedimentación del 100% de las células de levadura en el caldo de fermentación, por la acción de la fuerza centrífuga. Para



ello, usamos las siguientes expresiones del libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999):

- $\dot{Q} = v_{\omega} * \Sigma$

Siendo:

- $v_{\omega}$ : velocidad de sedimentación centrifuga.
- $\Sigma$ : Factor sigma de centrifuga.

Calculamos la velocidad de sedimentación centrifuga, mediante la siguiente expresión derivada de la Ley de Stokes.

- $v_{\omega} = (d_p^2 * \Delta\rho * g) / 18 * \mu$

Siendo:

- $d_p$ : Diámetro medio de partícula (5  $\mu\text{m}$ ).
- $\rho_p$ : Densidad de partícula (1.100  $\text{Kg/m}^3$ ).
- $\rho_L$ : Densidad de líquido (1.045  $\text{Kg/m}^3$ ).
- $\mu$ : Viscosidad del líquido (2,0  $\text{mPa.s}$ ).
- $g$ : Gravedad (9,8  $\text{m/seg}^2$ ).

Entonces:

- $v_{\omega} = [(5 \times 10^{-6} \text{ m})^2 * (55 \text{ Kg/m}^3) * (9,80 \text{ m/seg}^2)] / [18 * (2 \times 10^{-3} \text{ Kg/m seg})]$
- Obtenemos,  $v_{\omega} = 3,74 \times 10^{-7} \text{ m/seg}$

Calculamos el factor sigma de la centrifuga seleccionada, modelo MBUX 214 de la empresa “Alfa Laval®”.

- $\Sigma = [(2 * \pi * n * \omega^2) / 3 * g] * (R_e^3 - R_i^3) * \cot(\theta)$

Siendo:

- $n$ : Número de discos (200).

- $\omega$ : Velocidad de rotación (100 rev/seg).
- $R_e$ : Radio externo de discos respecto del eje (350 mm).
- $R_i$ : Radio interno de discos respecto del eje (140 mm).
- $\Theta$ : Angulo de discos ( $50^\circ$ ).

Entonces:

- $\Sigma = [2 * \pi * 200 * (100 \text{ rev/seg})^2 / 3 * (9,8 \text{ m/seg}^2)] * [(0,35 \text{ m})^3 - (0,14 \text{ m})^3] * \cot(50^\circ)$
- Obtenemos,  $\Sigma = 14.354 \text{ m}^2$

Podemos calcular el caudal de alimentación.

- $\dot{Q} = (3,74 \times 10^{-7} \text{ m/seg}) * (14.354 \text{ m}^2) = 5,37 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}$
- $\dot{Q} = 19,34 \text{ m}^3/\text{hs}$

3. Este caudal es producto de una serie de suposiciones teóricas y no hechos empíricos afectados por un factor de eficiencia. Se estima que para centrifugas de discos este factor ronda el 45% (F. Baxarias, UPC, 2018). Ahora, calculamos el caudal “real”.

- $\eta = \dot{Q}_{\text{Real}} / \dot{Q}$
- $0,45 = \dot{Q}_{\text{Real}} / (19,34 \text{ m}^3/\text{hs})$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_{\text{Real}} = 8,07 \text{ m}^3/\text{hs}$

4. Este caudal real está compuesto por dos corrientes, la del caldo de fermentación y la del agua de dilución. Calculamos los caudales de cada una.

- $\dot{C}F = (20 \text{ m}^3 \text{ CF} / 45 \text{ m}^3 \text{ Total}) * \dot{Q}_{\text{Real}}$
- $\dot{C}F = (20 \text{ m}^3 \text{ CF} / 45 \text{ m}^3 \text{ Total}) * (8,07 \text{ m}^3/\text{hs}) = 3,59 \text{ m}^3/\text{hs}$

En términos másicos, tenemos:

- $\dot{C}F = (3,59 \text{ m}^3/\text{hs}) * (1.100 \text{ Kg}/\text{m}^3) = 3.950 \text{ Kg}/\text{hs}$

Por otro lado:

- $H2\dot{O}_{Dil} = (25 \text{ m}^3 \text{ H}_2\text{O}/45 \text{ m}^3 \text{ Total}) * Q_{Real}$
- $H2\dot{O}_{Dil} = (25 \text{ m}^3 \text{ H}_2\text{O}/45 \text{ m}^3 \text{ Total}) * (8,07 \text{ m}^3/\text{hs}) = 4,48 \text{ m}^3/\text{hs}$

En términos másicos, tenemos:

- $H2\dot{O}_{Dil} = (4,48 \text{ m}^3/\text{hs}) * (1.000 \text{ Kg}/\text{m}^3) = 4.480 \text{ Kg}/\text{hs}$

NOTA:

El agua de dilución debe ser purificada previamente, ya que entra en contacto directo con el producto.

- Según los catálogos de las empresas “Tetra Pak®”, “Flottweg®” y “Alfa Laval®”, es posible conseguir una corriente de clarificado (C) con usencia de sólidos y una de lodos (L) con aproximadamente 20% de sólidos cuando las variables del proceso correctamente ajustadas.

Calculamos los caudales del clarificado y los lodos a la salida de la centrifuga.

- $\dot{C}F * X_{Lev} + H2\dot{O}_{Dil} * X_{Lev} = \dot{C} * X_{Lev} + \dot{L} * X_{Lev}$
- $(3.949 \text{ Kg}/\text{hs}) * 0,091 + (4.480 \text{ Kg}/\text{hs}) * 0 = \dot{C} * 0 + \dot{L} * 0,20$
- Obtenemos,  $\dot{L} = 1.797 \text{ Kg}/\text{hs}$

Por lo tanto

- $(3.949 \text{ Kg}/\text{hs}) + (4.480 \text{ Kg}/\text{hs}) = \dot{C} + (1.797 \text{ Kg}/\text{hs})$
- Obtenemos,  $\dot{C} = 6.632 \text{ Kg}/\text{hs}$

- Calculamos las cantidades totales obtenidas de clarificado y lodos, así como el tiempo que demora la operación de separación.

- $L_{Lote} = LV_{Lote} * (100 \text{ Kg Lodo}/20 \text{ Kg Levadura})$
- $L_{Lote} = (2.000 \text{ Kg Levadura}/\text{Lote}) * (100 \text{ Kg Lodo}/20 \text{ Kg Levadura})$

- $L_{\text{Lote}} = 10.000 \text{ Kg Lodo/Lote}$

Entonces:

- $t_{\text{Op}} = L_{\text{Lote}}/\dot{L}$
- $t_{\text{Op}} = (10.000 \text{ Kg Lodo/Lote})/(1.797 \text{ Kg/hs}) = 5,56 \text{ hs/Lote}$

En cuanto al clarificado:

- $C_{\text{Lote}} = \dot{C} * t_{\text{Op}}$
- $C_{\text{Lote}} = (6.632 \text{ Kg/hs}) * (5,56 \text{ hs/Lote}) = 36.906 \text{ Kg Clarificado/Lote}$

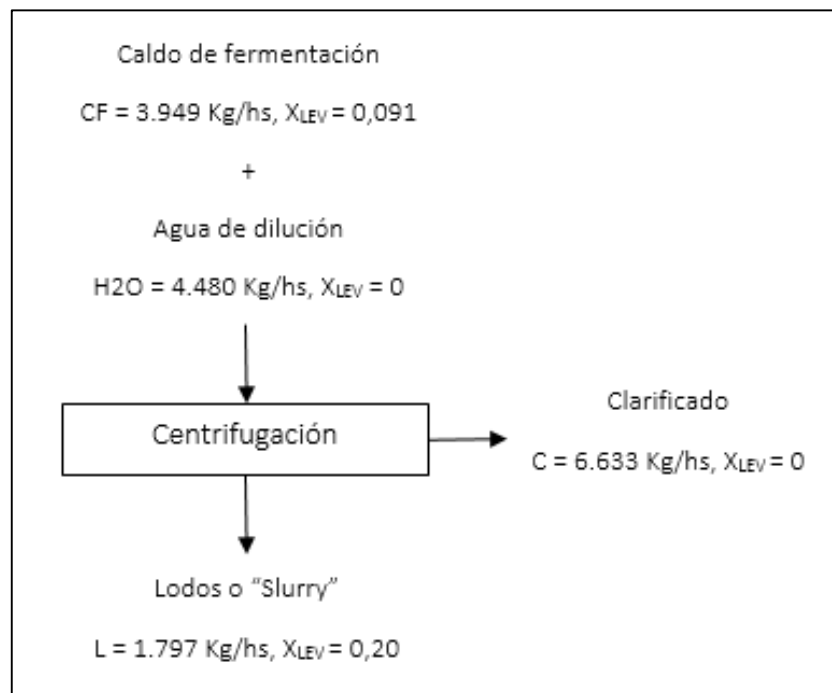


Fig. 7.14: Diagrama de flujos másicos de la etapa de centrifugación.

### 7.3.2. Tanque de mezclado

La corriente de lodos rica en levadura proveniente de la centrifuga, llamada “crema de levadura” (CL), es almacenada en un tanque de mezclado con el objetivo de realizar la formulación del producto final mediante la adición de aceite de girasol (AG) y lecitina de soja (LS), y permitir la dosificación en la siguiente etapa de producción.

- Según la patente de referencia “Astaxanthin over-producing strains of *Phaffia rhodozyma* method for their cultivation and their use in animal feed” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), la formulación utilizada con la que se obtuvieron resultados notables en la deposición de pigmentos en la carne de los salmónidos fue, 2.5% de aceite de girasol y 2.5% de lecitina de soja, respecto del contenido de levadura.

Calculamos la cantidad de aceite de girasol y lecitina de soja por lote de producción.

- $AG_{Lote} = LV_{Lote} * (2,5 \text{ Kg AG}/100 \text{ Kg Levadura})$
- $AG_{Lote} = (2.000 \text{ Kg Levadura}/Lote) * (2,5 \text{ Kg AG}/100 \text{ Kg Levadura}) = 90 \text{ Kg AG}/Lote$

Por otro lado:

- $LS_{Lote} = LV_{Lote} * (2,5 \text{ Kg LS}/100 \text{ Kg Levadura})$
- $LS_{Lote} = (2.000 \text{ Kg Levadura}/Lote) * (2,5 \text{ Kg LS}/100 \text{ Kg Levadura}) = 90 \text{ Kg LS}/Lote$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $AG_{Año} = (90 \text{ Kg AG}/Lote) * (48 \text{ Lotes}/Año) = 4.320 \text{ Kg AG}/Año$
- $LS_{Año} = (90 \text{ Kg LS}/Lote) * (48 \text{ Lotes}/Año) = 4.320 \text{ Kg LS}/Año$

### 7.3.3. Secado por atomización

Con el objetivo de obtener un producto en formato de polvo seco, a partir de la crema de levadura, se utiliza el método de secado por atomización.

- Calculamos el contenido de humedad en la crema de levadura después de la formulación.

- $X_{CL-H_2O} = (L_{Lote} - LV_{Lote} - AG_{Lote} - LS_{Lote})/L_{Lote}$
- $X_{CL-H_2O} = (10.180 \text{ Kg} - 2.000 \text{ Kg} - 90 \text{ Kg} - 90 \text{ Kg})/10.180 \text{ Kg CL}$
- $X_{CL-H_2O} = 78,6 \text{ Kg H}_2\text{O}/100 \text{ Kg CL}$

- Según el secador spray seleccionado, modelo 3530 de la empresa “Galaxie Secado Spray®”, el mismo posee una capacidad de evaporación de agua de 800 L/hs. Considerando que la levadura al salir del secador debe poseer una humedad del 5% y que se utiliza un 10% del total

de crema de levadura en forma de agua para arrastrar todo el contenido remanente del tanque, calculamos los caudales entrantes de crema de levadura y agua de arrastre, y los caudales salientes de levadura en polvo (LP) y agua evaporada.

- $\dot{C}L + H_2O = H_2O_{Evap} + \dot{L}P$

Siendo:

- $H_2O = \dot{C}L * 0,1$

Entonces:

- $\dot{C}L + \dot{C}L * 0,1 = H_2O_{Evap} + \dot{L}P$

- $\dot{C}L * X_{CL-H_2O} + \dot{C}L * 0,1 = H_2O_{Evap} + \dot{L}P * X_{LP-H_2O}$

Reemplazando:

- $[(H_2O_{Evap} + \dot{L}P)/1,10] * X_{CL-H_2O} + [(H_2O_{Evap} + \dot{L}P)/1,10] * 0,1 = H_2O_{Evap} + \dot{L}P * X_{LP-H_2O}$

- $[(800 \text{ L/hs}) * (1 \text{ Kg/L}) + \dot{L}P] * 0,786/1,10 + [(800 \text{ L/hs}) * (1 \text{ Kg/L}) + \dot{L}P] * 0,1/1,10 = [(800 \text{ L/hs}) * (1 \text{ Kg/L})] + \dot{L}P * 0,05$

- Obtenemos,  $\dot{L}P = 206 \text{ Kg/hs}$

Podemos despejar los caudales de crema de levadura y agua de arrastre:

- $\dot{C}L * (1,10) = [(800 \text{ L/hs}) * (1 \text{ Kg/L})] + (206 \text{ Kg/hs}) = 915 \text{ Kg/hs}$

- $H_2O = (915 \text{ Kg/hs}) * 0,1 = 91 \text{ Kg/hs}$

NOTA:

El agua de arrastre debe ser purificada previamente, ya que entra en contacto directo con el producto.

3. Calculamos las cantidades totales de agua de arrastre, polvo de levadura y agua evaporada, además del tiempo necesario para procesar un lote de producción.

- $LP_{Lote} = (LV_{Lote} + AG_{Lote} + LS_{Lote}) * (100 \text{ Kg LP}/95 \text{ Kg Seco})$

- $LP_{Lote} = (2.000 \text{ Kg/Lote} + 90 \text{ Kg AG/Lote} + 90 \text{ Kg LS/Lote}) * (100 \text{ Kg LP}/95 \text{ Kg Seco})$

- $LP_{\text{Lote}} = 2.295 \text{ Kg/Lote}$

Por otro lado:

- $H2O_{\text{Lote}} = CL_{\text{Lote}} * 0,1$
- $H2O_{\text{Lote}} = (10.180 \text{ Kg/Lote}) * 0,1 = 1.018 \text{ Kg/Lote}$

Entonces:

- $CL_{\text{Lote}} + H2O_{\text{Lote}} = H2O_{\text{Lote}} + LP_{\text{Lote}}$
- $10.180 \text{ Kg CL/Lote} + 1.018 \text{ Kg/Lote} = H2O_{\text{Lote}} + 2.295 \text{ Kg LP/Lote}$
- Obtenemos,  $H2O_{\text{Lote}} = 8.903 \text{ Kg H2O/Lote}$

Por lo tanto, el tiempo necesario para la operación es:

- $t_{Op} = LP_{\text{Lote}} / LP$
- $t_{Op} = (2.295 \text{ Kg/Lote}) / (206 \text{ Kg/hs}) = 11,14 \text{ hs/Lote}$

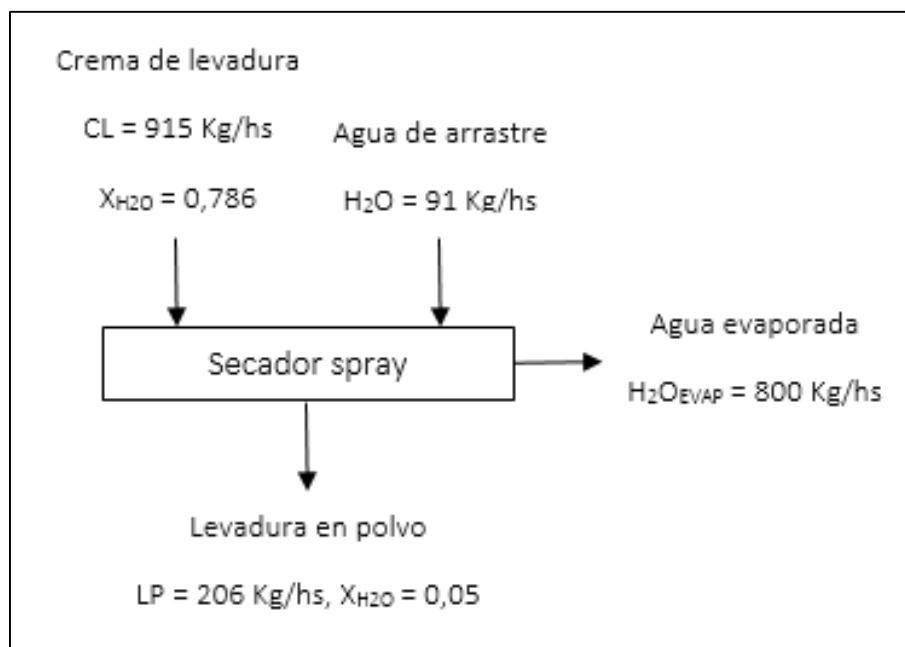


Fig. 7.15: Diagrama flujos másicos de la etapa de secado por atomizado.

### 7.3.4. Estandarización

Mediante el agregado de levadura comercial, se busca estandarizar en un valor definido el contenido de astaxantina (AXT) en el producto a comercializar.

1. Buscando ofrecer un alimento funcional (AF) con una concentración de astaxantina de 4.000 ppm, se calcula la cantidad de levadura comercial (LC) a agregar.

- $X_{LP-AXT} = (Y_{PX} * LV_{Lote}) / LP_{Lote}$
- $X_{LP-AXT} = (5 \text{ mg AXT/g LV}) * (2.000 \text{ Kg LV/Lote}) / (2295 \text{ Kg LP / Lote})$
- $X_{LP-AXT} = 4,36 \text{ mg AXT/g LP}$

Entonces:

- $AF_{Lote} = LP_{Lote} + LC_{Lote}$
- $AF_{Lote} * X_{AF-AXT} = LP_{Lote} * X_{LP-AXT} + LC_{Lote} * X_{LC-AXT}$

Reemplazando:

- $(LP_{Lote} + LC_{Lote}) * X_{AF-AXT} = LP_{Lote} * X_{LP-AXT} + LC_{Lote} * X_{LC-AXT}$
- $(2.295 \text{ Kg LP/Lote} + LC_{Lote}) * (4,00 \text{ mg AXT/g LP}) = (2.295 \text{ Kg LP/Lote}) * (4,36 \text{ mg AXT/g LP}) + LC_{Lote} * 0$
- Obtenemos,  $LC_{Lote} = 207 \text{ Kg LC/Lote}$

Por lo tanto:

- $AF_{Lote} = (2.295 \text{ Kg LP/Lote}) + (207 \text{ Kg LC/Lote}) = 2.502 \text{ Kg AF/Lote}$



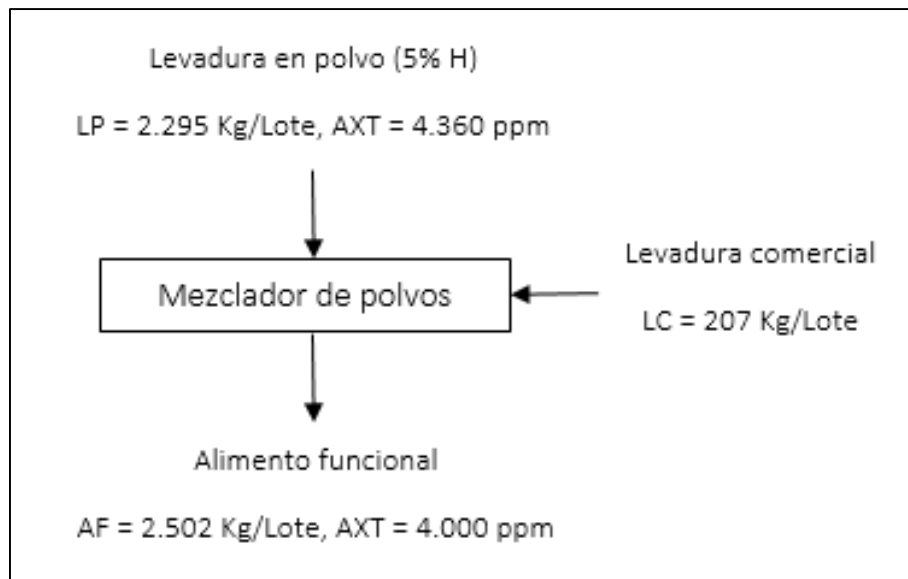


Fig. 7.16: Diagrama flujos másicos de la etapa de estandarización.

### 7.3.5. Embolsado

Una vez obtenido alimento funcional para salmónidos, se lo embolsa para su conservación y comercialización.

- Se decide comercializar el producto en bolsas de 25 Kg. Calculamos la cantidad de bolsas necesarias por lote de producción.
  - $Bolsas = AF_{Lote} / (25 \text{ Kg/Bolsa})$
  - $Bolsas = (2.502 \text{ Kg AF/Lote}) / (25 \text{ Kg/Bolsa}) = 100 \text{ Bolsas/Lote}$
- La embolsadora seleccionada, modelo Eby 200 de la empresa “Prillwitz y Cia®”, posee la capacidad de embolsar entre 50 a 150 bolsas por hora. Por lo tanto, el embolsado de todo un lote del alimento para salmónidos demora aproximadamente 1 hora.

## 7.4. Servicios auxiliares

De todos los servicios auxiliares el suministro de agua purificada, al ser posible almacenarla, es el único que funciona a destiempo del proceso de producción. Por lo tanto, si bien su generación debe responder a las necesidades del proceso de producción, no está directamente asociado a una etapa que requiere de su funcionamiento en un momento preciso como, por ejemplo, la caldera y el evaporador de película descendente.

### 7.4.1. Suministro de agua purificada

Considerando las necesidades de agua purificada en cada operación, calculadas en los balances de materia, estimaremos la producción necesaria para proveer a la planta.

1. Calculamos las necesidades de agua purificada en el proceso de producción, considerando que los principales consumos son:

- Maceración (sección 8.1.3.1): 697 L/Lote.
- Evaporación (sección 8.1.3.3): 16.950 L/Lote.
- Biorreactores (sección 7.2.2.1): 8.779 L/Lote.
- Centrifugación (sección 7.3.1): 25.000 L/Lote.
- Secado por atomización (sección 7.3.3): 1.014 L/Lote.

Entonces, en total tenemos:

- $H2O_{Lote} = 52.422 \text{ L/Lote}$

Con un margen extra del 20% por posibles pérdidas y necesidad de agua purificada por parte del laboratorio, tenemos:

- $H2O_{Lote} = 62.907 \text{ L/Lote}$

2. Considerando una producción anual de 48 lotes, lo que significa que se produce un lote por semana, calculamos producción diaria necesaria de agua purificada.

- $H2O_{Día} = H2O_{Lote} * (4 \text{ Lotes/Mes}) * (\text{Mes}/30 \text{ Días})$
- $H2O_{Día} = (62.907 \text{ L/Lote}) * (4 \text{ Lotes/Mes}) * (\text{Mes}/30 \text{ Días}) = 8.388 \text{ L/Día}$



## 8. Balances de energía

Los balances de energía nos aportan información sobre el consumo de energía en dos formas, térmica y eléctrica. Esto permite determinar el uso de servicios auxiliares, combustibles, fluidos refrigerantes, elección de equipos y análisis económicos.

### 8.1. Procesado del orujo de uva

De todas las etapas del procesado del orujo de uva hasta la obtención de solución concentrada a 37° Brix, omitiremos en análisis del secado a la intemperie, ya que no es posible estimar parámetros concretos para el análisis de la evaporación. Además, si bien existe un consumo energía eléctrica, este está asociado al funcionamiento del secador de tambor rotativo.

#### 8.1.1. Secador de tambor rotativo

Considerando el balance de materia en esta etapa (sección 7.1.2.2), calculamos los recursos energéticos necesarios para evaporar el agua contenida en el orujo de uva y llevarlo de una humedad del 30% a una del 12%.

1. Calculamos la humedad absoluta ( $R_{H_2O/AS}$ ) con la cual el aire de secado (AS) sale del tambor rotativo, teniendo en cuenta que, según información del “Servicio Meteorológico de la Nacional Argentino”, el aire ambiental se encuentra a una temperatura de 20°C y una humedad del 60% (condiciones promedio entre los meses de febrero y mayo). Esto se corresponde con una humedad absoluta de 0.010 Kg de agua por Kg de aire seco.

Planteamos el balance de materia para el proceso de evaporación.

$$\bullet \quad \dot{A}S * (1 + R_{f_{H_2O/AS}}) + \dot{O}U_{12\%H} = \dot{A}S * (1 + R_{i_{H_2O/AS}}) + \dot{O}U_{30\%H}$$

Planteamos el balance de energía para el proceso de evaporación.

$$\bullet \quad \dot{A}S * C_{S_{AS}} * (T_f - T_{ref}) + \dot{A}S * R_{f_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_f - T_{ref})] + \dot{O}U_{12\%H} * C_{p_{OU_{12}}} * (T_f - T_{ref}) = \dot{A}S * C_{S_{AS}} * (T_i - T_{ref}) + \dot{A}S * R_{i_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_i - T_{ref})] + \dot{O}U_{30\%H} * C_{p_{OU_{30}}} * (T_i - T_{ref})$$

Considerando para el orujo de uva los siguientes parámetros:

- $OU_{30\%H}$ : Caudal de orujo de uva con 30% de humedad (3.130 Kg/hs).
- $OU_{12\%H}$ : Caudal de orujo de uva con 12% de humedad (2.490 Kg/hs).
- $CS_{OU30H}$ : Calor sensible del orujo con 30% de humedad (0,70 Kcal/Kg °C).
- $CS_{OU12H}$ : Calor sensible del orujo con 12% de humedad (0,63 Kcal/Kg °C).
- El orujo entra al tambor a una temperatura de 20°C y sale a 70°C, siempre a presión atmosférica.

Consideramos para el aire de secado los siguientes parámetros:

- $CS_{AS}$ : Calor sensible del aire (0,24 Kcal/Kg °C).
- $CS_{VP}$ : Calor sensible del vapor (0,46 Kcal/Kg °C).
- $CV_{H_2O}$ : Calor latente del agua (600 Kcal/Kg).
- El aire se calienta y entra al tambor a una temperatura de 300°C y sale a 70°C.

Entonces:

- $\dot{A}S * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (70 - 0)^\circ\text{C} + \dot{A}S * R_{f_{H_2O/AS}} * [(600 \text{ Kcal/Kg}) + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (70 - 0)^\circ\text{C}] + (2.490 \text{ Kg/hs}) * (0,63 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (70 - 0)^\circ\text{C} = \dot{A}S * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (300 - 0)^\circ\text{C} + \dot{A}S * (0,010 \text{ Kg/Kg}) * [(600 \text{ Kcal/Kg}) + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (300 - 0)^\circ\text{C}] + (3.130 \text{ Kg/hs}) * (0,70 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (20 - 0)^\circ\text{C}$

Reemplazamos el caudal de aire seco por la siguiente expresión:

- $\dot{A}S = H_2O_{Evap} / (R_{f_{H_2O/AS}} - R_{i_{H_2O/AS}})$

Siendo:

- $H_2O_{Evap}$ : Caudal de agua evaporada (640 Kg/hs).

Obtenemos:

- $R_{f_{H_2O/AS}} = 0,087 \text{ Kg H}_2\text{O/Kg AS}$

Con ayuda del diagrama psicrométrico, podemos establecer las condiciones del aire a la salida del tambor rotativo, siendo estas, una temperatura de 70°C y una humedad del 40%.

2. Calculamos el caudal de aire seco necesario para el secado.

- $\dot{A}S = H_2O_{Evap} / (R_{f_{H_2O/AS}} - R_{i_{H_2O/AS}})$
- $\dot{A}S = (640 \text{ Kg H}_2\text{O/hs}) / (0,087 - 0,010) \text{ Kg H}_2\text{O/Kg AS} = 8.312 \text{ Kg AS/hs}$

3. Calculamos las cantidades de energía ( $\dot{Q}_C$ ) y combustible necesario para el calentamiento del aire de secado hasta los 300°C.

- $\dot{Q}_C = \dot{A}S * C_{S_{AS}} * (T_f - T_i) + \dot{A}S * R_{i_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_f - T_i)]$
- $\dot{Q}_C = (8.312 \text{ Kg/hs}) * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (300 - 20)^\circ\text{C} + (8.312 \text{ Kg/hs}) * (0,010 \text{ Kg/Kg}) * [600 \text{ Kcal/Kg} + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (300 - 20)^\circ\text{C}]$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_C = 6,21 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

4. Pero deben ser consideradas las pérdidas de energía ( $\dot{Q}_P$ ) a través de las paredes del tambor. Basándonos en las características constructivas del equipo (sección 9.3.1), planteamos la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas.

- $\dot{Q}_P = 2 * \pi * L * (T_i - T_p) / [(1/h_o * r_o) + \Sigma (1/k) * \ln(r_i/r_{i-1}) + (1/h_e * r_e)]$

Consideramos los siguientes parámetros:

- $T_i$ : Temperatura interna dentro del tambor (185°C).
- $k_{AC}$ : Conductividad térmica del acero (43 W/m °C).
- $k_{LV}$ : Conductividad térmica de la lana de vidrio (0,038 W/m °C).
- $r_i$ : Radio interno de tambor (0,3 m).
- $e_{int}$ : Espesor de pared interior (6,35 mm).
- $e_{ast}$ : Espesor de capa aislante (25,4 mm).
- $e_{ext}$ : Espesor de pared exterior (6,35 mm).
- $L$ : Largo del tambor (6 m).

El coeficiente pelicular ( $h$ ), es un parámetro que indica la resistencia al flujo de calor por el fenómeno de convección. A medida que el flujo calor circula desde el seno de un fluido turbulento hasta una pared se encuentra, cada vez, con mayor resistencia a su paso. Esto se debe a que próximo a la pared existe una capa laminar de fluido que, a diferencia del flujo turbulento, dificulta el intercambio energético.

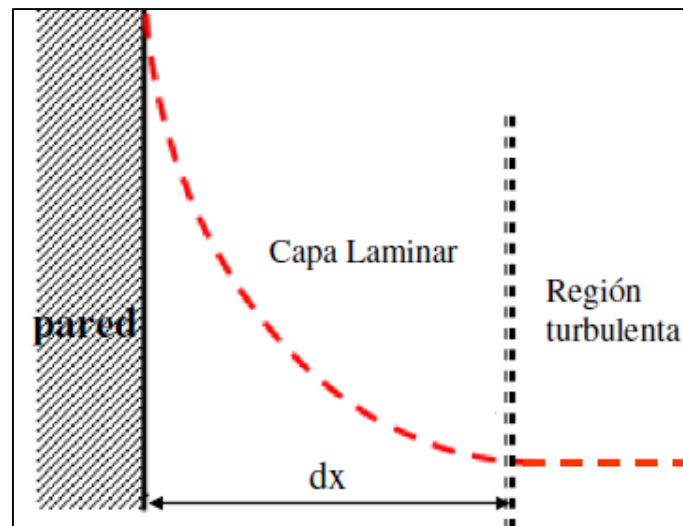


Fig. 8.1: Aparición del fenómeno de capa laminar en la proximidad de una pared.

En el caso del secador de tambor rotativo es difícil estimarlo, ya que la superficie interna se encuentra en constante movimiento rotativo con una capa orujo y aire caliente moviéndose caóticamente sobre la misma. Esto hace difícil el uso de las correlaciones típicas que pueden encontrarse en la bibliografía para obtener un valor estimativo. Por ello, sobreestimaremos la pérdida de energía a través del tambor.

A fin de obtener la pérdida de calor más grande posible, a través de la pared del tambor, despreciaremos la resistencia convectiva interna ( $h_o$ ), y adoptaremos la temperatura de pared ( $T_p$ ) que maximice el flujo de energía hacia el exterior, siendo esta  $20^\circ\text{C}$ .

Reescribimos la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas.

- $\dot{Q}_p = 2 * \pi * L * (T_i - T_p) / [\Sigma(1/k) * \ln(r_i/r_{i-1})]$
- $\dot{Q}_p = 2 * \pi * (6 \text{ m}) * (185 - 20)^\circ\text{C} / [(1/43) * \ln(0,3063/0,30) + (1/0,038) * \ln(0,3317/0,3063) + (1/43) * \ln(0,3380/0,3317)]$
- $\dot{Q}_p = 6.217 \text{ m }^\circ\text{C} / (4,83 \times 10^{-4} \text{ m }^\circ\text{C}/\text{W} + 2,10 \text{ m }^\circ\text{C}/\text{W} + 4,37 \times 10^{-4} \text{ m }^\circ\text{C}/\text{W})$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_p = 2.959 \text{ W}$ , convirtiendo a Kcal/hs,  $\dot{Q}_p = 2.545 \text{ Kcal/hs}$

Sumando las energías necesarias para el calentamiento del aire y las pérdidas a través de la pared del tambor, obtenemos:

- $\dot{Q}_T = \dot{Q}_C + \dot{Q}_P$
- $\dot{Q}_T = 6,21 \times 10^5 \text{ Kcal/hs} + 2.545 \text{ Kcal/hs} = 6,24 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

NOTA:

Como puede verse, las pérdidas de energía a través de las paredes del tambor son despreciables frente a la destinada al calentamiento del aire.

5. Calculamos los recursos energéticos consumidos en la operación, sabiendo que:

- El quemador seleccionado para el calentamiento de aire, modelo MJ3 de la empresa “Wayler®”, posee una capacidad calorífica de hasta 900.000 Kcal/hs, un consumo de energía eléctrica de 1 kW y una eficiencia térmica del 90%.
- El extractor centrifugo seleccionado para inducir el flujo del aire, modelo SBT59028 de la empresa “Czerweny®”, posee un consumo de energía eléctrica de 14.9 kW.
- El motor eléctrico seleccionado para impartir el movimiento rotativo al tambor, modelo MSEJ 112M-2 de la empresa “Czerweny®”, posee un consumo de energía eléctrica de 2.61 kW.
- Los 2 tornillos helicoidales seleccionados para arrastrar el orujo de uva por el silo celda y el canal de descarga, modelos TCS 20 de la empresa “Sansoni®”, poseen un consumo de energía eléctrica de 0.46 kW.
- La rosca extractora seleccionada para elevar el orujo de uva y alimentar el equipo de secado, modelo RES 20 de la empresa “Sansoni®”, posee un consumo de energía eléctrica de 0.24 kW.
- El elevador de cangilones seleccionado para llevar el orujo de uva hasta los silos verticales, modelo NS 20 de la empresa “Sansoni®”, posee un consumo de energía eléctrica de 0.31 kW.



A. Planteamos el consumo de gas natural (GN).

- $\dot{G}N = \eta * PC_{GN} * \dot{Q}_T$

Siendo:

- $PC_{GN}$ : Poder calorífico del gas natural (8.800 Kcal/m<sup>3</sup>).
- $\eta$ : Eficiencia del quemador (90%).

Entonces:

- $\dot{G}N = (100/90) * (m^3/8.800 \text{ Kcal}) * (6,24 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) = 78,8 \text{ m}^3/\text{hs}$

Por lo tanto, para una jornada de 24 horas de operación, tenemos:

- $GN_{\text{Jornada}} = \dot{G}N * (24 \text{ hs/Jornada})$
- $GN_{\text{Jornada}} = (78,8 \text{ m}^3/\text{hs}) * (24 \text{ hs/Jornada}) = 1.891 \text{ m}^3/\text{Jornada}$

Para 2 jornadas semanales, durante los meses de febrero a mayo:

- $GN_{\text{Año}} = (1.891 \text{ m}^3/\text{Jornada}) * (2 \text{ Jornadas/Semana}) * (16 \text{ Semanas/Año})$
- $GN_{\text{Año}} = 60.509 \text{ m}^3/\text{Año}$

B. Planteamos el consumo de energía eléctrica para una jornada de 24 horas de operación.

- $EE_{\text{Jornada}} = (POT_{\text{Quemador}} + POT_{\text{Extractor}} + POT_{\text{Motor}} + 2 * POT_{\text{Tornillo}} + POT_{\text{Rosca}} + POT_{\text{Elevador}}) * (24 \text{ hs/Jornada})$
- $EE_{\text{Jornada}} = (1 \text{ kW} + 14,9 \text{ kW} + 2,61 \text{ kW} + 2 * 0,46 \text{ kW} + 0,24 \text{ kW} + 0,31 \text{ kW}) * (24 \text{ hs/Jornada}) = 480 \text{ kW/Jornada}$

Para 2 jornadas semanales, durante los meses de febrero a mayo:

- $EE_{\text{Año}} = (480 \text{ kW/Jornada}) * (2 \text{ Jornadas/Semana}) * (16 \text{ Semanas/Año})$
- $EE_{\text{Año}} = 15.345 \text{ kW/Año}$

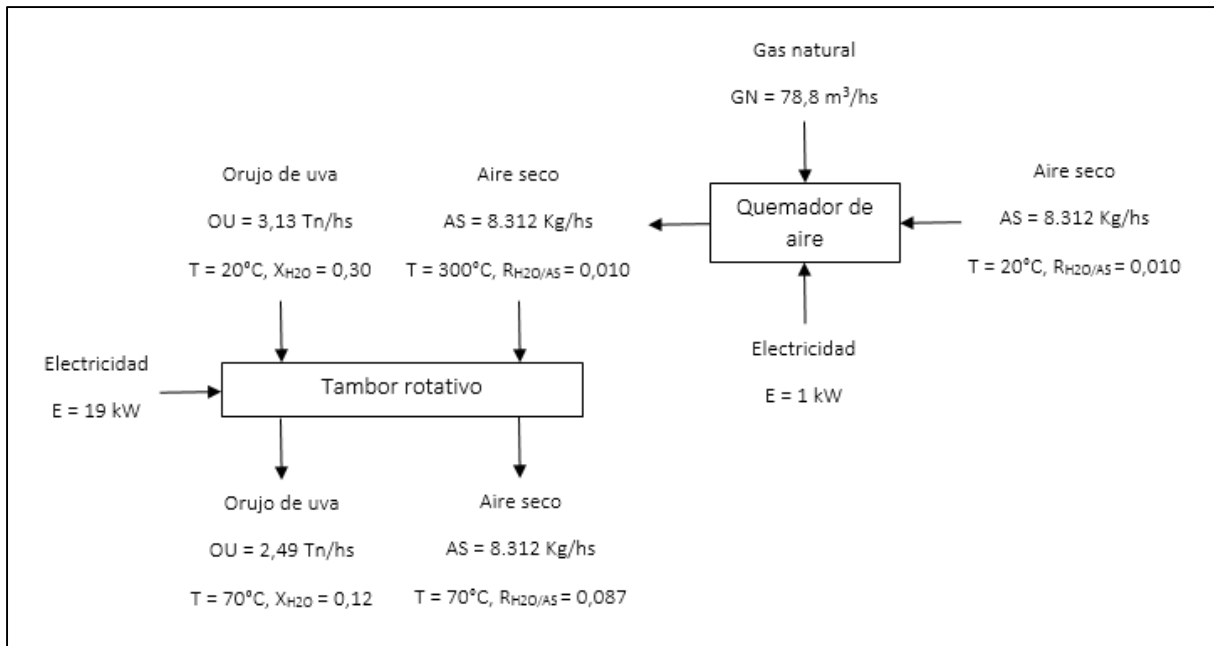


Fig. 8.2: Diagrama de flujos energéticos del secador de tambor rotativo.

### 8.1.2. Almacenamiento del orujo de uva

A excepción de la energía eléctrica necesaria para los extractores centrífugos mantengan bajo control la humedad el orujo, no existen otros análisis energéticos de importancia en esta etapa.

#### 8.1.2.1. Extractor centrífugo

Con la información técnica del equipo seleccionado, calculamos la energía eléctrica necesaria para remover el caudal de aire calculado (sección 7.1.3.2), a fin de mantener bajo control la humedad del orujo de uva durante su almacenamiento.

La provincia de Mendoza, donde esta radica nuestra planta productiva, se caracteriza por un tener bajos niveles de húmedas. Según datos del “Servicio Meteorológico de la Nacional Argentino”, el promedio histórico indica que solamente en los meses de marzo a julio se registran niveles de humedad ambiente mayores al 60%. Con esta información, debemos considerar la necesidad de funcionamiento de los equipos extractores de aire de manera continua o solamente ocasional.

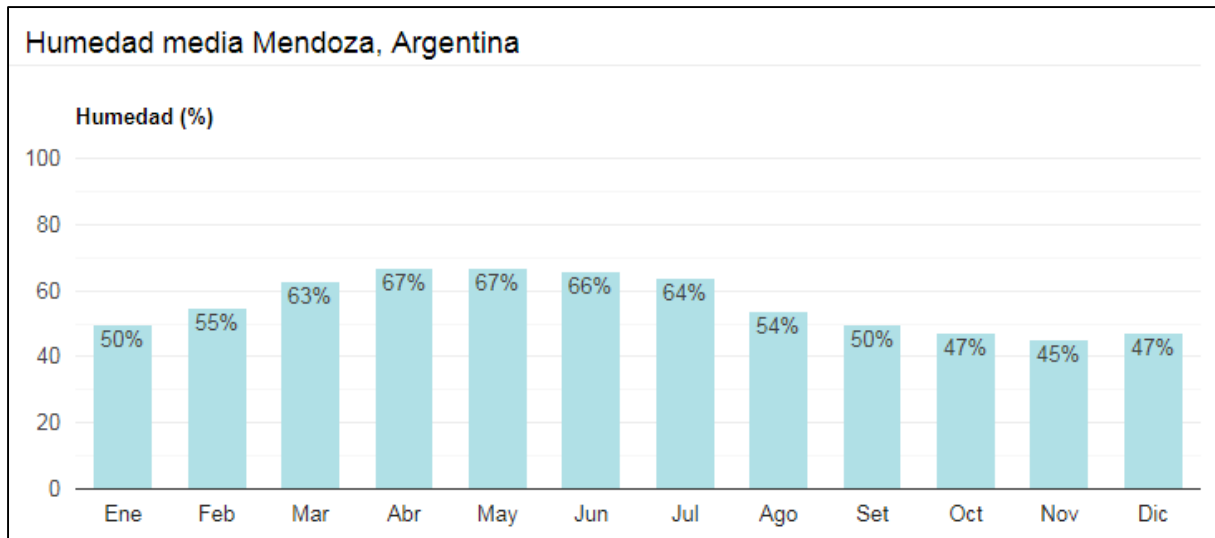


Fig. 8.3: Promedio histórico de humedad en la provincia de Mendoza.

1. Los 2 extractores centrífugos seleccionados, modelos SBM5909 de la empresa “Czerweny®”, poseen un consumo de energía eléctrica de 0.56 kW cada uno. Considerando el funcionamiento de los extractores instalados en los meses de marzo a julio, durante el período diurno (12 horas) y ocasionalmente durante el año (20% de tiempo extra), calculamos la energía eléctrica consumida anualmente.

- $EE_{\text{Año}} = 2 * POT_{\text{Extractor}} * (12 \text{ hs/Día}) * (30 \text{ Días/Mes}) * (5 \text{ Meses/Año}) * 1,20$
- $EE_{\text{Año}} = 2 * 0,56 \text{ kW} * (12 \text{ hs/Día}) * (30 \text{ Días/Mes}) * (5 \text{ Meses/Año}) * 1,20$
- $EE_{\text{Año}} = 2.420 \text{ kW/Año}$

### 8.1.3. Preparación de la solución de orujo de uva

Si bien la mayoría de las etapas del proceso productivo funcionan en formato batch, las tres correspondientes a la preparación de la solución del orujo de uva funcionan en forma continua y aprovechando unas los caudales salientes de las otras, de manera de optimizar el uso de los recursos energéticos.

#### 8.1.3.1. Maceración del orujo de uva

Considerando el balance de materia en esta etapa (sección 7.1.4.1), calculamos los recursos energéticos consumidos por el equipo mezclador para asegurarnos que la temperatura en su interior sea la óptima para la difusión de los azúcares en el agua.

1. Calculamos las pérdidas de energía a través de la pared del mezclador. Planteamos la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas.

- $$\dot{Q}_p = 2 * \pi * L * (T_i - T_m) / [(1/r_o * h_o) + \Sigma(1/k) * \ln(r_i/r_{i-1}) + 1/(r_e * h_e)]$$

En el caso del mezclador de eje horizontal, es difícil estimar el coeficiente pelicular interno ( $h_o$ ), ya que en su interior se encuentra una mezcla de solución azucarada con orujos de uva en constante movimiento. Esto hace difícil el uso de las correlaciones típicas que pueden encontrarse en la bibliografía para obtener un valor estimativo. Por ello, sobreestimaremos la pérdida de energía a través de la pared del mezclador, despreciando las resistencias próximas a la superficie interna.

Por otro lado, si podemos estimar el coeficiente pelicular externo ( $h_e$ ). Para ello, usamos la siguiente correlación para la convección natural desde una superficie cilíndrica horizontal hacia el aire a presión atmosférica, donde ( $\Delta T$ ) es la diferencia de temperatura entre la pared y el medio ambiente en grados Celsius y ( $D$ ) el diámetro del cilindro en metros.

- $$h_e = 1,32 * (\Delta T/D)^{0,25}$$

Consideramos la diferencia de temperatura más amplia posible entre la pared exterior y el medio ambiente, a fin contemplar la situación más desfavorable para la pérdida de energía a través de la pared del equipo.

- $$\Delta T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$$

Entonces:

- $$h_e = 1,32 * (50 \text{ }^\circ\text{C}/2,10 \text{ m})^{0,25}$$

- Obtenemos,  $h_e = 2,92 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$

Por último, no se dispone del espesor de la pared del mezclador, pero se sabe que su material de construcción es acero inoxidable AISI 304, cuya conductividad térmica es  $16 \text{ W/m }^\circ\text{C}$ . Esto hace que su resistencia al flujo térmico sea despreciable frente a la que ofrece el coeficiente pelicular externo. Por lo tanto, podemos reescribir la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas de la siguiente manera:

- $$\dot{Q}_p = 2 * \pi * L * (T_i - T_m) / [1/(r_e * h_e)]$$

Siendo:

- L: Largo del mezclador (4,65 m).
- $r_e$ : Radio exterior del mezclador (1,05 m).
- $T_i$ : Temperatura promedio en su interior ( $75^\circ\text{C}$ ).
- $T_m$ : Temperatura del medio ambiente ( $20^\circ\text{C}$ ).

Entonces:

- $\dot{Q}_p = 2 * \pi * (4,65 \text{ m}) * (74 - 20)^\circ\text{C} / [1 / (1,05 * 2,92)]$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_p = 5.014 \text{ W}$ , convirtiendo a Kcal/hs,  $\dot{Q}_p = 4.312 \text{ Kcal/hs}$

2. Calculamos la temperatura del caudal de salida.

- $\dot{O}U * C_{pOU} * (T_e - T_o) + H_2O * C_{pH_2O} * (T_e - T_o) = \dot{Q}_p + \dot{S} * C_{pS} * (T_s - T_o) + \dot{O}E * C_{pOE} * (T_s - T_o)$

Siendo:

- $C_{pOU}$ : Capacidad térmica del orujo de uva ( $0,63 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}$ ).
- $C_{pH_2O}$ : Capacidad térmica del agua ( $1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}$ ).
- $C_{pS}$ : Capacidad térmica de la solución azucarada ( $0,89 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}$ ).
- $T_e$ : Temperatura del agua de entrada ( $97^\circ\text{C}$ ).

Entonces:

- $(1.933 \text{ Kg / hs}) * (0,64 \text{ Kcal / Kg } ^\circ\text{C}) * (20 - 20)^\circ\text{C} + (1.063 \text{ Kg/hs}) * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (97 - 20)^\circ\text{C} = 4.312 \text{ Kcal/hs} + (2.365 \text{ Kg/hs}) * (0,89 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (T_s - 20^\circ\text{C}) + (631 \text{ Kg/hs}) * (0,64 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (T_s - 20^\circ\text{C})$
- Obtenemos,  $T_s = 51^\circ\text{C}$

3. Calculamos la temperatura en el interior del mezclador, debiendo asegurarnos que se encuentre entre los  $70$  a  $80^\circ\text{C}$ .

- $T_i = (T_e + T_s) / 2$
- $T_i = (97 + 51)^\circ\text{C} / 2 = 74^\circ\text{C}$

NOTA:

El vapor condensado a 100°C proveniente de la etapa de evaporación, es aprovechado para la preparación de la solución azucarada. El mismo es producto de la vaporización del agua purificada en la caldera de la planta, lo que lo hace apto química y microbiológicamente hablando.

4. Según los balances de materia para esta etapa, la maceración del orujo de uva necesita un caudal de agua de 1.063 Kg/hs. El caudal del vapor condensado (VC) proveniente de la etapa de evaporación es de 1.021 Kg/hs. Considerando que esta pequeña diferencia se ajusta con agua purificada a 20°C, calculamos la temperatura del flujo resultante.

- $\dot{V}C * C_{p_{H_2O}} * (T_i - T_o) + (H_2O_M - \dot{V}C) * C_{p_{H_2O}} * (T_i - T_o) = H_2O_M * C_{p_{H_2O}} * (T_f - T_o)$
- $(1.021 \text{ Kg / hs}) * (1 \text{ Kcal / Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 20)^\circ\text{C} + (1.063 - 1.021) \text{ Kg / hs} * (1 \text{ Kcal / Kg } ^\circ\text{C}) * (20 - 20)^\circ\text{C} = (1.063 \text{ Kg / hs}) * (1 \text{ Kcal / Kg } ^\circ\text{C}) * (T_f - 20)^\circ\text{C}$
- Obtenemos,  $T_f = 97^\circ\text{C}$

NOTA:

Como puede verse, el ligero ajuste del caudal con agua purificada a 20°C no afecta en gran medida la temperatura del flujo de agua para la etapa de maceración.

5. Considerando que el mezclador de eje horizontal seleccionado, modelo WAH15000 de la empresa “MAP®”, posee un consumo de energía eléctrica de 11 kW y se mantiene operativo por un tiempo de 16.6 horas, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

Planteamos la energía eléctrica consumida por lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = POT_{\text{Mezclador}} * t_{op}$
- $EE_{\text{Lote}} = 11 \text{ kW} * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 183 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = 183 \text{ kW} * (48 \text{ Lotes/Año}) = 8.784 \text{ kW/Año}$

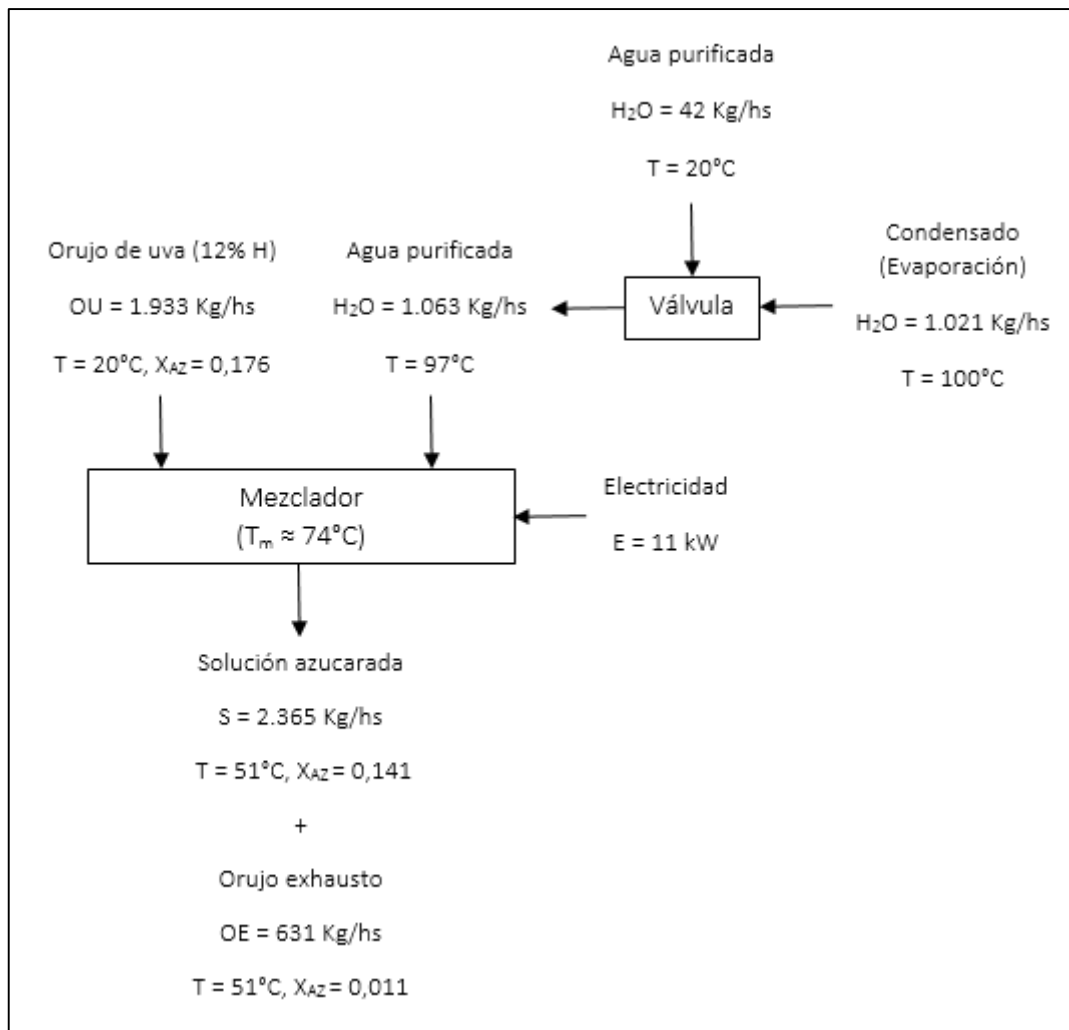


Fig. 7.4: Diagrama de flujos energéticos de la etapa de maceración.

### 8.1.3.2. Separación del macerado

Considerando la información técnica del equipo seleccionado, calculamos la energía eléctrica necesaria para el funcionamiento del equipo separador.

1. El tamiz de tambor rotativo seleccionado, modelo RTV 500X1000 de la empresa "SAVECO®", poseen un consumo de energía eléctrica de 0.37 kW. Considerando un tiempo de 16.6 horas definido por la etapa de maceración, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

Planteamos el consumo de energía eléctrica por lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = POT_{\text{Tamiz}} * t_{Op}$
- $EE_{\text{Lote}} = 0,37 \text{ kW} * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 6,14 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (6,14 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 295 \text{ kW/Año}$

### 8.1.3.3. Evaporación del macerado

Teniendo en cuenta el balance de materia en esta etapa (sección 7.1.4.3), calculamos los recursos energéticos necesarios para remover el agua de la solución azucarada a 14° Brix y concentrarla hasta los 37° Brix.

1. Planteamos el balance de energía para un evaporador de doble efecto con alimentación en paralelo, considerando:
  - Alimentación con vapor saturado a 120°C y 2 bares (presión absoluta).
  - Presión absoluta de 1.5 bares en el primer evaporador.
  - Presión absoluta de 1 bar en el segundo evaporador.

Siendo:

- $H_V$ : Entalpía de vapor saturado a la entrada (646 Kcal/Kg).
- $H_C$ : Entalpía del vapor condensado a la salida (120 Kcal/Kg).
- $\lambda_e$ : Calor latente de evaporación del agua (640 Kcal/Kg).
- $C_{ps}$ : Capacidad térmica de la solución azucarada (0,89 Kcal/Kg °C).
- $C_{psc}$ : Capacidad térmica de la solución concentrada (0,83 Kcal/Kg °C).
- $R_{H_2O/S}$ : Relación de remoción de agua (0,625 Kg H<sub>2</sub>O/Kg Solución).

La diferencia de presión en cada evaporador determina la temperatura de ebullición de la solución azucarada en cada uno de ellos. Siendo esta en el primero 110°C, y en el segundo 100°C.

#### NOTA:

Según el informe “Sugar Technologists Manual” (Z. Bubnik, P. Kadlec y otros), una concentración de azúcares de 14 y 37° Brix no provoca una elevación del punto de ebullición, respecto del agua, lo suficientemente alta como para considerarla en los cálculos.



Recordando que:

- $\dot{S} = \dot{S}_1 + \dot{S}_2 = 2.365 \text{ Kg/hs}$

Planteamos para el primer efecto:

- $[\dot{S}_1 * (0,89 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (50 - 20)^\circ\text{C}] + [\dot{V} * (646 - 120)\text{Kcal/Kg}] = [\dot{S}_1 * (0,625 \text{ Kg/Kg}) * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (110 - 50)^\circ\text{C}] + [\dot{S}_1 * (0,625 \text{ Kg/Kg}) * (640 \text{ Kcal/Kg})] + [\dot{S}_1 * (1 - 0,625 \text{ Kg/Kg}) * (0,83 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (110 - 20)^\circ\text{C}]$

Planteamos para el segundo efecto:

- $[(2.365 \text{ Kg/hs}) - \dot{S}_1] * (0,89 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (50 - 20)^\circ\text{C} + [\dot{S}_1 * (0,625 \text{ Kg/Kg}) * (640 \text{ Kcal/Kg})] = [(2.365 \text{ Kg/hs}) - \dot{S}_1] * (0,625 \text{ Kg/Kg}) * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 50)^\circ\text{C} + [(2.365 \text{ Kg/hs}) - \dot{S}_1] * (0,625 \text{ Kg/Kg}) * (640 \text{ Kcal/Kg}) + [(2.365 \text{ Kg/hs}) - \dot{S}_1] * (1 - 0,625 \text{ Kg/Kg}) * (0,83 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 20)^\circ\text{C}$

Despejamos  $S_1$  de la ecuación del segundo efecto y la reemplazamos en la del primer efecto para despejar  $V$ .

- Obtenemos,  $\dot{V} = 1.021 \text{ Kg/hs}$

Despejamos los caudales de entrada en cada evaporador:

- $\dot{S}_1 = 1.224 \text{ Kg/hs}$

- $\dot{S}_2 = 1.141 \text{ Kg/hs}$

Despejamos los caudales de salida en cada evaporador:

- $\dot{S}\dot{C}_1 = 460 \text{ Kg/hs}$

- $\dot{S}\dot{C}_2 = 429 \text{ Kg/hs}$

**NOTA:**

El vapor condensado del primer evaporador, al tratarse de agua purificada a  $100^\circ\text{C}$ , es enviado a la etapa de maceración para la extracción de los azúcares del orujo de uva. Por otro lado, el condensado del segundo evaporador es enviado a un tanque cisterna con agua de red para su aprovechamiento, mientras que el vapor de agua generado es liberado a la atmósfera.

2. Considerando que para la generación de vapor saturado se utiliza agua purificada a una temperatura de 20°C y una presión de 1 bar, calculamos la energía necesaria para transformarla en vapor ( $Q_V$ ) a 120°C y 2 bares.

$$\dot{Q}_V = \dot{V} * (H_V - H_L)$$

Siendo:

- $H_L$ : Entalpia del agua líquida (20 Kcal/Kg).

Entonces:

$$\dot{Q}_V = (1.021 \text{ Kg/hs}) * (646 - 20) \text{ Kcal/Kg} = 6,39 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$$

3. La solución concentrada, saliente del segundo evaporador, se encuentra a 100°C necesita ser enfriada de inmediato a 20°C para evitar la degradación de los azúcares. Para ello, se la hace circular a través de un intercambiador de placas, utilizando agua en contracorriente como fluido refrigerante. Considerando que el agua de refrigeración entra al intercambiador a 5°C y sale a 35°C, calculamos el caudal de agua necesario para el enfriamiento de la solución concentrada.

- $\dot{S}C * C_{p_{SC}} * (T_e - T_s) = H_2O_R * C_{p_{H_2O}} * (T_s - T_e)$
- $(889 \text{ Kg/hs}) * (0,81 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 20)^\circ\text{C} = H_2O_R * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (35 - 5)^\circ\text{C}$
- Obtenemos,  $H_2O_R = 1.920 \text{ Kg/hs}$

En térmicos energéticos ( $Q_R$ ), esto representa:

- $\dot{Q}_R = \dot{S}C * C_{p_{SC}} * (T_e - T_s)$
- $\dot{Q}_R = (889 \text{ Kg/hs}) * (0,81 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 20)^\circ\text{C} = 57.607 \text{ Kcal/hs}$

4. Calculamos los recursos energéticos necesarios para la operación, considerando los siguientes equipos asociados al evaporador de película descendente:

- Una caldera generadora de vapor, modelo 3 PH de la empresa “Caldimet®”, con una eficiencia térmica del 85%.
- Un enfriador industrial de agua, modelo 150-A de la empresa “Alfaliq®”, con un consumo de energía eléctrica de 30 kW.

- 2 bombas centrifugas sanitarias, modelos LKH-10 de la empresa “Alfa Laval®”, con un consumo de energía eléctrica de 1.5 kW cada una.

A. Planteamos el consumo de gas natural.

- $\dot{G}N = \eta * PC_{GN} * \dot{Q}_V$
- $\dot{G}N = (100/85) * (m^3/8.800 \text{ Kcal}) * (6,39 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) = 85,4 \text{ m}^3/\text{hs}$

Considerando un tiempo de operación de 16.6 horas, calculamos el gas natural necesario por lote de producción.

- $G_{N\text{Lote}} = \dot{G}N * t_{Op}$
- $G_{N\text{Lote}} = (85,4 \text{ m}^3/\text{hs}) * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 1.418 \text{ m}^3/\text{Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $G_{NAño} = (1.418 \text{ m}^3/\text{Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 68.047 \text{ m}^3/\text{Lote}$

B. Planteamos el consumo de energía eléctrica por lote de producción.

- $EE_{Lote} = (POT_{Enfriador} + 2 * POT_{Bomba}) * t_{Op}$
- $EE_{Lote} = (30 \text{ kW} + 2 * 1,5 \text{ kW}) * (16,6 \text{ hs/Lote}) = 548 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{Año} = (548 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 26.294 \text{ kW/Año}$

C. El agua de refrigeración para el intercambiador de placas es agua de red proveniente de un tanque cisterna. Primero se dirige a un enfriador industrial donde se reduce su temperatura para posteriormente ingresar al intercambiador. Dentro de este, circula por un circuito separado de la solución azucarada, por lo tanto, el agua saliente se encuentra en condiciones de ser devuelta al tanque cisterna, formándose así un circuito cerrado sin generar un gasto aparente de la misma.

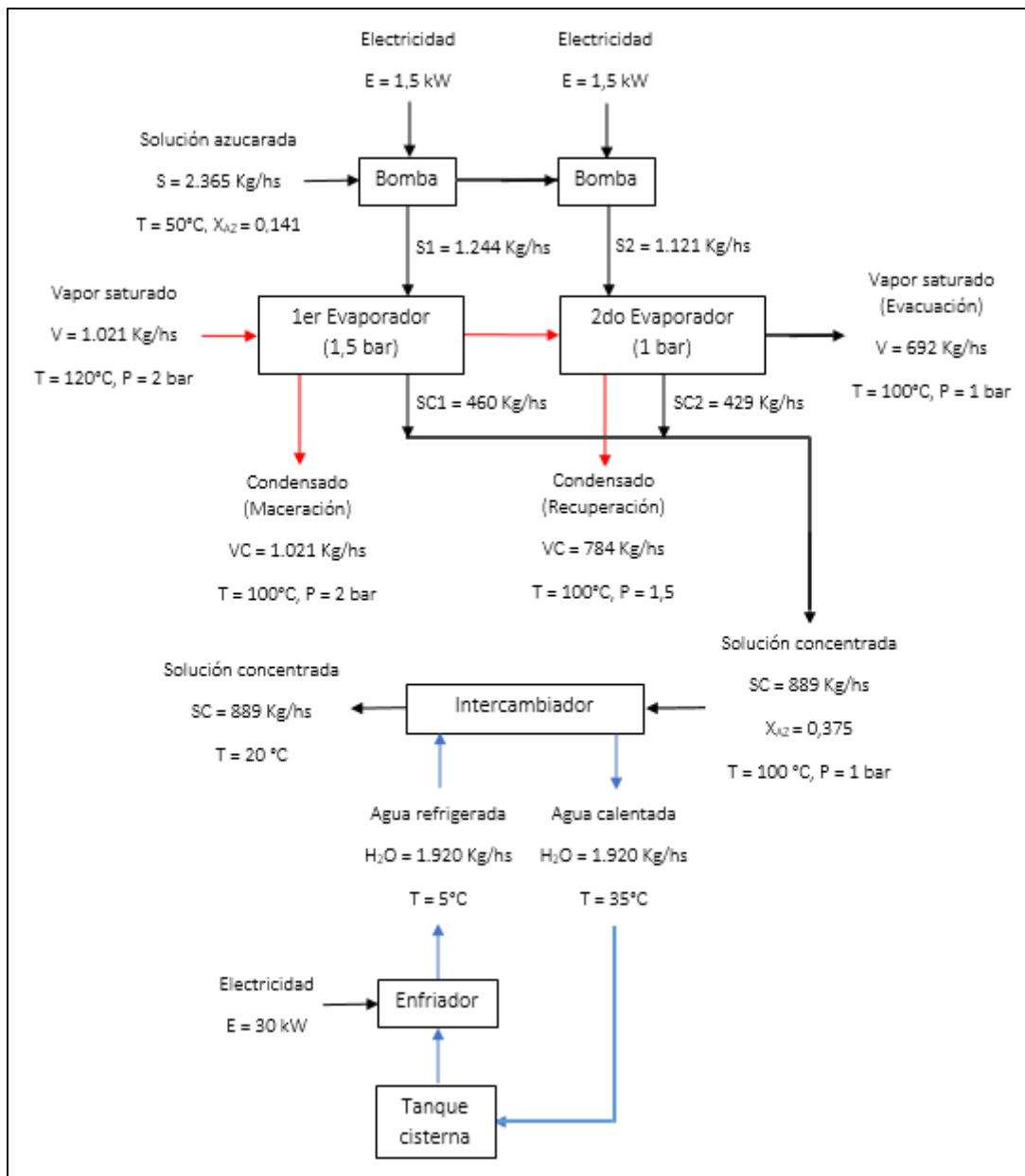


Fig. 8.5: Diagrama de flujo energético de la etapa de evaporación.

## 8.2. Fermentación

En los procesos de fermentación, las levaduras pueden utilizar distintas vías de metabolismo para obtener la energía necesaria para cumplir con sus procesos vitales. Estos metabolismos pueden ser, oxidativo (aeróbico) o reductivo (anaeróbico). En el caso de la levadura *P. rhodozyma* para la producción astaxantina, el metabolismo es oxidativo. En base a información proveniente del libro “Bioprocess Engineering Principles” (P. Doran, Elsevier Science and Technology Books, 1995), se obtienen las entalpías de fermentación promedio para bacterias y levaduras (Tabla 8.1).

(From J.-L. Cordier, B.M. Butsch, B. Birou and U. von Stockar, 1987, *The relationship between elemental composition and heat of combustion of microbial biomass*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25, 305–312)

Organism	Substrate	$\Delta h_c$ (kJ g <sup>-1</sup> )
<b>Bacteria</b>		
<i>Escherichia coli</i>	glucose	-23.04 ± 0.06
	glycerol	-22.83 ± 0.07
<i>Enterobacter cloacae</i>	glucose	-23.22 ± 0.14
	glycerol	-23.39 ± 0.12
<i>Methylophilus methylotrophus</i>	methanol	-23.82 ± 0.06
<i>Bacillus thuringiensis</i>	glucose	-22.08 ± 0.03
<b>Yeast</b>		
<i>Candida lipolytica</i>	glucose	-21.34 ± 0.16
<i>Candida boidinii</i>	glucose	-20.14 ± 0.18
	ethanol	-20.40 ± 0.14
	methanol	-21.52 ± 0.09
	lactose	-21.54 ± 0.07
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	galactose	-21.78 ± 0.10
	glucose	-21.66 ± 0.19
	glucose*	-21.07 ± 0.07
		-21.30 ± 0.10
		-20.66 ± 0.26
	-21.22 ± 0.14	

Tabla. 8.1: Entalpias de fermentación típicas de diferentes microorganismos.

Tomando un promedio para las levaduras que utilizan glucosa (el azúcar principal del medio de cultivo y la solución del reservorio), utilizaremos un valor de entalpia de fermentación ( $\Delta h_f$ ) para la *P. rhodozyma* de 21.3 KJ (5.09 Kcal) por gramo de levadura.

### 8.2.1. Biorreactores

El calor generado en el proceso de fermentación y el intercambiado con el medio ambiente deben ser controlados, a fin de mantener la temperatura en el interior de los biorreactores dentro de un rango acotado. Para ello, se utilizará agua como fluido refrigerante, debido a su amplia disponibilidad, no tener aparejados problemas de ensuciamiento y ser significativamente económica frente a otros fluidos de uso industrial. La misma circulará por una camisa externa al biorreactor, en un circuito cerrado de intercambio térmico. Por otro lado, llevar el agua hasta una temperatura lo suficientemente baja como para tener un eficiente intercambio energético requiere del uso de equipos industriales de enfriamiento, por lo tanto, la transferencia de calor estará directamente asociada con el consumo eléctrico de estos equipos.

A fin de estimar estos consumos en toda la serie de biorreactores fed-batch de planta piloto (30, 300 y 3.000 litros), utilizaremos como referencia los consumos del biorreactor fed-batch industrial de 30 m<sup>3</sup>, del cual se dispone mayor información para realizar los cálculos con mayor exactitud.

### 8.2.1.1. Biorreactor fed-batch de 30 m<sup>3</sup>

Considerando el balance de materia en esta etapa (sección 7.2), calculamos la energía eléctrica consumida por los equipos acoplados al biorreactor, para mantener el proceso de fermentación bajo control.

1. Calculamos el calor intercambiado con el medio ambiente con la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas.

- $$\dot{Q}_p = 2 * \pi * L * (T_i - T_m) / [(1/r_o * h_o) + \Sigma(1/k) * \ln(r_i/r_{i-1}) + 1/(r_e * h_e)]$$

Debemos calcular el valor del coeficiente pelicular interno ( $h_o$ ). En base al libro “Bioprocess Engineering Principles” (P. Doran, Elsevier Science and Technology Books, 1995), usamos las siguientes correlaciones para recipientes con líquidos agitados, y transferencia de calor desde o hacia una camisa de intercambio térmico.

- $$Nu = 0,36 * Re_i^{0.67} * Pr^{0.33} * (\mu_b/\mu_w)^{0.14}$$

Calculamos el número de Prandt (Pr), siendo las variables para el cálculo del mismo las correspondientes al caldo de fermentación. La levadura *P. rhodozyma* no incide de forma significativa sobre las variables del caldo, tales como, la densidad o viscosidad, debido a características de su naturaleza biológica. Siendo así, las variables del caldo de fermentación se estiman ponderando en un 50% las de agua, y otro 50% las de la solución azucarada a 37.5° Brix, a una temperatura de 20°C.

- $$Pr = C_p * \mu / k$$

Siendo:

- $C_p$ : Capacidad calorífica del caldo de fermentación (3.96 KJ/Kg °C).
- $k$ : Conductividad térmica del caldo de fermentación (0,58 W/m °C).
- $\mu$ : Viscosidad del caldo de fermentación (3,23 mPa.s).

Entonces:

- $$Pr = [(3.960 \text{ J/Kg } ^\circ\text{C}) * (3,23 \times 10^{-3} \text{ Kg/m seg})] / (0,58 \text{ J/seg m } ^\circ\text{C}) = 22,05$$

Calculamos el número de Reynold para agitación ( $Re_i$ ).

- $Re_i = N_i * D_i^2 * \rho / \mu$

Siendo:

- $N_i$ : Velocidad de agitación del biorreactor (50 rpm).
- $D_i$ : Diámetro interno del tanque (3 m).
- $\rho$ : Densidad del caldo de fermentación (1.100 Kg/m<sup>3</sup>).

Entonces:

- $Re_i = [(50/\text{min}) * (\text{min}/60 \text{ seg}) * (3 \text{ m})^2 * (1.100 \text{ Kg}/\text{m}^3)] / (3,23 \times 10^{-3} \text{ Kg}/\text{m seg})$
- $Re_i = 2,55 \times 10^6$

Para líquidos poco viscosos, podemos asumir que:

- $\mu_b \approx \mu_w$
- Entonces,  $\mu_b / \mu_w = 1$

Podemos despejar el coeficiente pelicular ( $h_o$ ), a partir de número de Nusselt (Nu), siendo (D) el diámetro del tanque y (k) la conductividad térmica del líquido en el interior.

- $Nu = (h_o * D_i) / k$

Reemplazando en la correlación para recipientes con líquidos agitados, y transferencia de calor desde o hacia una camisa de intercambio térmico, tenemos:

- $(h_o * D_i) / k = 0,36 * Re_i^{0.67} * Pr^{0.33} * (\mu_b / \mu_w)^{0.14}$
- $(h_o * 3 \text{ m}) / (0,58 \text{ J}/\text{seg m } ^\circ\text{C}) = 0.36 * (2,55 \times 10^6)^{0.67} * (22,05)^{0.33} * (1)^{0.14}$
- Obtenemos,  $h_o = 3.787 \text{ W}/\text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$

Ahora debemos obtener el coeficiente pelicular externo ( $h_e$ ), para ello utilizamos la correlación para convección natural desde una superficie cilíndrica vertical hacia el aire a presión atmosférica. Considerando una temperatura promedio anual de 20°C según el “Servicio Meteorológico Nacional Argentino”, tomaremos una amplitud térmica de 15°C, correspondiente a una temperatura superior de 35°C y una inferior de 5°C.

- $h_e = 1,42 * (\Delta T/L)^{0.25}$

Siendo:

- $\Delta T$ : Diferencia de temperatura entre la pared y el ambiente en grados Celsius (15°C).
- L: Largo del cilindro en metros (4,4 m).

Entonces:

- $h_e = 1,42 * (15 \text{ °C}/4,4 \text{ m})^{0.25}$
- Obtenemos,  $h_e = 1,93 \text{ W/m}^2 \text{ °C}$

Considerando las características constructivas del biorreactor de 30 m<sup>3</sup> (sección 9.6.1), el coeficiente pelicular interno a la camisa (sección 9.6.3.1) y las propiedades físicas de los materiales, tenemos:

- L: Largo del biorreactor (4,40 m)
- D<sub>i</sub>: Diámetro interior del biorreactor (3 m).
- e<sub>1</sub>: Espesor de capa de acero inoxidable interna (4,76 mm).
- e<sub>2</sub>: Espesor de capa de agua de refrigeración (100 mm).
- e<sub>3</sub>: Espesor de capa de acero inoxidable interna (4,76 mm).
- e<sub>4</sub>: Espesor de capa aislante intermedia (15,87 mm).
- e<sub>5</sub>: Espesor de capa de acero inoxidable externa (4,76 mm).
- k<sub>PE</sub>: Conductividad térmica del poliuretano expandido (0,024 W/m °C).
- k<sub>AI</sub>: Conductividad térmica del acero inoxidable (16 W/m °C).
- h<sub>i</sub>: Coeficiente pelicular interno a la camisa (3.635 W/m<sup>2</sup> °C).

Entonces:

- $\dot{Q}_p = 2 * \pi * (4,40 \text{ m}) * (15 \text{ °C}) / [1/(1,50 * 3.787) + (1/16) * \ln(1,5048/1,50) + 1/(1,5048 * 3.635) + 1/(1,6048 * 3.635) + (1/16) * \ln(1,6095/1,6048) + (1/0,024) * \ln(1,6254/1,6095) + (1/16) * \ln(1,6301/1,6254) + 1/(1,6301 * 1,93)]$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_p = 567 \text{ W}$ , convirtiendo a Kcal/hs,  $\dot{Q}_p = 488 \text{ Kcal/hs}$

2. Considerando el crecimiento de biomasa en esta etapa (sección 7.2.1.1), calculamos el calor de fermentación (Q<sub>F</sub>) desprendido durante la fase exponencial de crecimiento.



$$\dot{Q}_F = \Delta h_c * (X_f * V_f - X_i * V_i) / t_{exp}$$

Siendo:

- $X_f$ : Concentración final de biomasa (100 g/L).
- $X_i$ : Concentración inicial de biomasa (20 g/L).
- $V_f$ : Volumen final del caldo de fermentación (20 m<sup>3</sup>).
- $V_i$ : Volumen inicial del caldo de fermentación (10 m<sup>3</sup>).

Se estipula que la fase de crecimiento exponencial dura aproximadamente 48 horas, entonces:

- $\dot{Q}_{exp} = (5,09 \text{ Kcal/g}) * [(100 \text{ g/L}) * 20.000 \text{ L} - (20 \text{ g/L}) * 10.000 \text{ L}] / 48 \text{ hs}$
- $\dot{Q}_{exp} = 1,91 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

NOTA:

Como puede verse, las pérdidas de calor con el medio ambiente son totalmente despreciables frente al desprendido durante la fase exponencial.

3. El calor de fermentación está directamente asociado al consumo de sustrato del microorganismo. Si bien el mayor consumo de sustrato y, por lo tanto, mayor desprendimiento de calor ocurre durante la fase exponencial de crecimiento, por fuera de este período existe un desprendimiento de calor mucho menor (en muchos casos despreciable) asociado al mantenimiento de células. A fines prácticos consideraremos una entalpia de mantenimiento ( $\Delta h_m$ ) del 10% de la entalpia de crecimiento, para calcular el calor desprendido durante la fase de mantenimiento ( $Q_m$ ).

- $\Delta h_m = \Delta h_c * 0,10$
- $\Delta h_m = (5,09 \text{ Kcal/g}) * 0,10 = 0,51 \text{ Kcal/g}$

Se estipula que la fase de mantenimiento dura aproximadamente 72 horas, entonces:

- $\dot{Q}_m = (\Delta h_m * X_f * V_f) / t_m$
- $\dot{Q}_m = [(0,51 \text{ Kcal/g}) * (100 \text{ g/L}) * 20.000 \text{ L}] / 72 \text{ hs} = 14.139 \text{ Kcal/hs}$

4. Considerando la entrada de agua de refrigeración a la camisa del biorreactor a 5°C y su salida a 15°C, calculamos el caudal necesario para mantener la temperatura del caldo de fermentación a 20°C durante de fase de crecimiento exponencial.

- $\dot{Q}_{exp} = \dot{H}_2O_{exp} * C_{SH_2O} * (T_f - T_i)$
- $(1,91 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) = \dot{H}_2O * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (15 - 5)^\circ\text{C}$
- Obtenemos,  $\dot{H}_2O_{exp} = 19.100 \text{ Kg /hs}$

5. Considerando la entrada de agua de refrigeración a la camisa del biorreactor a 5°C y su salida a 15°C, calculamos el caudal necesario para mantener la temperatura del caldo de fermentación a 20°C durante de fase de mantenimiento.

- $\dot{Q}_m + \dot{Q}_p = \dot{H}_2O_m * C_{SH_2O} * (T_f - T_i)$
- $[(14.139 \text{ Kcal/hs}) + (460 \text{ Kcal/hs})] = \dot{H}_2O_m * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (15 - 5)^\circ\text{C}$
- Obtenemos,  $\dot{H}_2O_m = 1460 \text{ Kg/hs}$

6. Calculamos las necesidades de energía eléctrica, considerando los equipos de mayor consumo eléctrico asociados al biorreactor. Siendo estos:

- Un enfriador industrial de agua, modelo 150-A de la empresa “Alfaliq®”, con una potencia de 120 kW durante la fase de crecimiento exponencial y 7.5 kW durante la fase de mantenimiento.
- Un compresor de cuña para el suministro de aire, modelo ZT 22-MED de la empresa “Atlas Copco®”, con una potencia de 20 kW.
- Un agitador con motoreductor y eje de 3 propelas, pedido por encargo a la empresa “MyV Mixing®”, con una potencia de 4 kW.

- A. Planteamos el consumo de energía eléctrica por lote de producción.

- $EE_{Lote} = [POT_{Enfriador} * (t_{exp} / Lote)] + [POT_{Enfriador} * (t_m / Lote)] + [(POT_{Compresor} + POT_{Agitador}) * (t_T / Lote)]$
- $EE_{Lote} = [120 \text{ kW} * (48 \text{ hs} / Lote)] + [7,5 \text{ kW} * (72 \text{ hs} / Lote)] + [(20 \text{ kW} + 4 \text{ kW}) * (144 \text{ hs} / Lote)]$

- $EE_{\text{Lote}} = 9.756 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (9.756 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 4,68 \times 10^5 \text{ kW/Año}$

B. El agua de refrigeración para el proceso de fermentación es agua de red proveniente de un tanque cisterna. Primero se dirige a un enfriador industrial donde se reduce su temperatura para posteriormente ingresar al biorreactor. Dentro de este, circula por una camisa separada del caldo de fermentación. Por lo tanto, el agua saliente del biorreactor se encuentra en condiciones de ser devuelta al tanque cisterna, formándose así un circuito cerrado, sin generar un gasto aparente de la misma.

### 8.2.1.2. Sistema de biorreactores

Realizando la misma secuencia de calculo que en el balance energético del biorreactor de 30 m<sup>3</sup> (sección 8.2.1.1) para cada uno de los biorreactores de escala piloto, con sus respectivas condiciones de operación (sección 5.3.2), estimamos las necesidades de energía eléctrica en los equipos de mayor consumo asociados a cada. Despreciamos los consumos de equipos periféricos como, bombas peristálticas, equipos digitales y sensores, debido a su poca relevancia respecto de otros. Se omite del análisis el biorreactor de escala laboratorio, ya que por su tamaño la estimación de sus consumos energéticos resulta despreciable frente a los otros.

Equipo	Biorreactor 30 L	Biorreactor 300 L	Biorreactor 3.000 L	Biorreactor 30.000 L	Por lote	Por año (48 lotes)
Enfriador industrial	24 kW	91 kW	528 kW	6300 kW	6943 kW	333 MW
Compresor de aire	36 kW	144 kW	540 kW	2880 kW	3600 kW	173 MW
Agitador	54 kW	107 kW	161 kW	576 kW	900 kW	43 MW
TOTAL	114 kW	342 kW	1229 kW	9756 kW	11,4 MW	549 MW

Tabla 8.2: Estimación del consumo eléctrico del sistema de biorreactores.

### 8.3. Operaciones de downstream

Las operaciones del downstream, al tratarse principalmente de procesos de separación y mezcla, sólo tienen asociado consigo el consumo de energía eléctrica de los equipos utilizados como razón de análisis del balance energético. Caso aparte es la etapa de secado por atomización, donde se hace un análisis más detallado.

### 8.3.1. Separación líquido-sólido

Debido a la complejidad de los cálculos y la falta de información al respecto, estimamos la temperatura de los caudales de salida de la centrifuga de discos mediante información bibliográfica basada hechos empíricos. Por otro lado, teniendo en cuenta el balance de materia en esta etapa (sección 7.3.1), calculamos la energía eléctrica necesaria para el funcionamiento de la centrifuga de discos en las condiciones de que nos permitan obtener la más alta eficiencia de separación.

1. Según el libro “Drug biotechnology regulation: scientific basis and practices” (Y. Chiu y J. Gueriguan, Food and Drug Administration, Marcel Dekker Inc, 1991), se informa que con el uso de las centrifugas de discos, es común esperar una elevación de entre 10 a 15°C en la temperatura de los caudales de salida. Esto supondría una temperatura máxima de 35°C, la cual no es una preocupación, ya que encuentra lejos de poder provocar un daño sobre la astaxantina contenida en las células de levadura.
2. La centrifuga de discos seleccionada, modelo MBUX 214 de la empresa “Alfa Laval®”, con un consumo de energía eléctrica de 55 kW y una necesidad de agua de refrigeración de 500 L/hs. Considerando un tiempo de 5.56 horas por el cual debe mantenerse su funcionamiento, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

A. Planteamos el consumo de energía eléctrica por lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = POT_{\text{Centrifuga}} * t_{\text{Op}}$
- $EE_{\text{Lote}} = 55 \text{ kW} * (5,56 \text{ hs/Lote}) = 306 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (306 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 14.688 \text{ kW/Año}$

B. La refrigeración de la centrifuga se realiza con agua red proviene de un tanque cisterna. La misma circula dentro del equipo, por circuito separado del bowl donde se separan las fracciones líquidas y sólidas. Por lo tanto, el agua saliente de la centrifuga se encuentra en condiciones de ser devuelta al tanque cisterna, formándose así un circuito cerrado, sin generar un gasto aparente de la misma.

### 8.3.2. Tanque de mezcla

Una vez lleno el tanque con la totalidad de “crema de levadura” proveniente de la etapa de centrifugación, se procede al agregado de aditivos y el mezclado para la integración de los mismos. Esto demora poco tiempo (menos de 5 minutos). Pero el tanque continúa agitándose, ya que cumple la función de recipiente dosificador para la próxima etapa del proceso (secado spray), y debe asegurarse que el caudal de alimentación permanezca homogéneo. Por lo tanto, será el tiempo de duración de la etapa de secado por atomización, quien gobierne el tiempo de agitación. Entonces, con el tiempo de operación de dicha etapa (sección 7.3.3), calculamos la energía eléctrica necesaria para la agitación y homogeneidad de la formulación realizada.

1. Calculamos la pérdida de energía a través de la pared del tanque. Planteamos la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas.

- $$\dot{Q}_p = 2 * \pi * L * (T_i - T_m) / [(1/r_o * h_o) + \Sigma(1/k) * \ln(r_i/r_{i-1}) + 1/(r_e * h_e)]$$

Sobreestimaremos la pérdida de energía a través de la pared del mezclador desestimando las resistencias próximas a la superficie interna del mismo. Por lo tanto, despreciamos el coeficiente pelicular interno ( $h_o$ ).

Por otro lado, estimamos el coeficiente pelicular externo ( $h_e$ ). Para ello, usamos la siguiente correlación para la convección natural desde una superficie cilíndrica vertical hacia el aire a presión atmosférica, donde ( $\Delta T$ ) es la diferencia de temperatura entre la pared y el medio ambiente en grados Celsius y ( $L$ ) el largo del cilindro en metros.

- $$h_e = 1,42 * (\Delta T/L)^{0.25}$$

Consideramos la diferencia de temperatura más amplia posible entre la pared exterior y el medio ambiente, a fin contemplar la situación más desfavorable para la pérdida de energía través de las paredes del equipo. Suponemos una temperatura de pared a 35°C y una de medio ambiente a 5°C.

- $$\Delta T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$$

Entonces:

- $h_e = 1,42 * (30 \text{ }^\circ\text{C}/4 \text{ m})^{0,25}$
- Obtenemos,  $h_e = 2,35 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$

Por último, se sabe que el tanque posee de una capa aislante de poliuretano expandido, con un espesor de 50 mm, y otras capas internas y externas de acero inoxidable AISI 304. De estas últimas, se desconocen sus espesores, pero sabiendo que su material de construcción posee una alta conductividad térmica, nos permite despreciar su resistencia al flujo térmico frente a la que ofrece la capa aislante y coeficiente pelicular externo. Por lo tanto, podemos reescribir la ecuación de transferencia de calor para figuras cilíndricas de la siguiente manera:

$$\dot{Q}_P = 2 * \pi * L * (T_P - T_m) / [\Sigma(1/k_{PE}) * \ln(r_e/r_e - e_a) + 1/(r_e * h_e)]$$

Siendo:

- L: Largo del tanque (4 m).
- $r_e$ : Radio exterior del tanque (1 m).
- $e_a$ : Espesor de capa aislante (50 mm).
- $T_P$ : Temperatura de pared interior (35°C).
- $T_m$ : Temperatura del medio ambiente (5°C).
- $k_{PE}$ : Conductividad térmica del poliuretano expandido (0,024 W/m °C).

Entonces:

- $\dot{Q}_P = 2 * \pi * (4 \text{ m}) * (35 - 5)^\circ\text{C} / [(1/0,024) * \ln(1,00/0,95) + 1/(1,00 * 2,35)]$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_P = 294 \text{ W}$ , convirtiendo a Kcal/hs,  $\dot{Q}_P = 253 \text{ Kcal/hs}$

2. Calculamos la temperatura de la crema de levadura, luego de un tiempo de operación de 11.14 horas.

$$\dot{Q}_P * t_{Op} = CL_{Lote} * Cp_{CL} * (T_f - T_i)$$

Siendo:

- $CL_{Lote}$ : Cantidad de crema de levadura por lote (10.180 Kg).
- $Cp_{CL}$ : Capacidad calorífica de la crema de levadura (0,95 Kcal/Kg °C).
- $T_i$ : Temperatura inicial de la crema de levadura (35°C).

Entonces:

- $(-253 \text{ Kcal/hs}) * (11,14 \text{ hs/Lote}) = (10.180 \text{ Kg/Lote}) * (0,95 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (T_f - 35^\circ\text{C})$
- Obtenemos,  $T_f = 34,7^\circ\text{C}$

NOTA:

Como puede verse, la aislación térmica del tanque es tal que, aún en las condiciones más desfavorables, el intercambio energético con el medio ambiente no provoca una variación apreciable de la temperatura.

3. El agitador con motoreductor y eje de 3 propelas, pedido por encargo a la empresa “MyV Mixing®”, posee un consumo de energía eléctrica de 2.23 kW. Considerando un tiempo de 11.14 horas por el cual debe mantenerse la agitación, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

Planteamos el consumo de energía eléctrica para un lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = POT_{\text{Agitador}} * t_{\text{Op}}$
- $EE_{\text{Lote}} = 2,23 \text{ kW} * (11,14 \text{ hs/Lote}) = 24,8 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (24,8 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 1.192 \text{ kW/Año}$

### 8.3.3. Secado por atomización

Para el balance de materia de esta etapa (sección 7.3.3), nos basamos en la información técnica aportada por el fabricante del equipo seleccionado. Sin embargo, analizaremos dicha información a fin de evaluar la capacidad del equipo para cubrir con las necesidades técnicas en esta etapa del proceso. Luego, los recursos energéticos necesarios para evaporar el agua de la crema de levadura y obtener un producto en formato de polvo seco.

1. Calculamos la cantidad de energía que se necesita entregar al aire de secado para remover un caudal de 800 L/hs de agua del producto en cuestión.

Planteamos el balance de materia para el proceso de evaporación.

$$\bullet \quad \dot{A}S * (1 + R_{f_{H_2O/AS}}) + \dot{L}P = \dot{A}S * (1 + R_{i_{H_2O/AS}}) + \dot{C}L + \dot{H}2O$$

Planteamos el balance de energía para el proceso de evaporación.

$$\bullet \quad \dot{A}S * C_{SAS} * (T_f - T_{ref}) + \dot{A}S * R_{f_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_f - T_{ref})] + \dot{L}P * C_{P_{LP}} * (T_f - T_{ref}) = \dot{A}S * C_{SAS} * (T_i - T_{ref}) + \dot{A}S * R_{i_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_i - T_{ref})] + \dot{C}L * C_{P_{CL}} * (T_i - T_{ref}) + \dot{H}2O * C_{S_{H_2O}} * (T_i - T_{ref})$$

Consideramos para las corrientes de entrada y salida los siguientes parámetros:

- CL: Caudal de crema de levadura (915 Kg/hs).
- LP: Caudal de levadura en polvo (206 Kg/hs).
- H<sub>2</sub>O: Caudal de agua de arrastre (91 Kg/hs).
- C<sub>SCL</sub>: Calor sensible de la crema de levadura (0,95 Kcal/Kg °C).
- C<sub>SLP</sub>: Calor sensible de la levadura en polvo (0,78 Kcal/Kg °C).
- La crema de levadura y el agua de arrastre ingresan al secador spray a una temperatura de 35°C y 20°C, respectivamente.

Consideramos para el aire de secado los siguientes parámetros:

- C<sub>SAS</sub>: Calor sensible del aire (0,24 Kcal/Kg °C).
- C<sub>SVP</sub>: Calor sensible del vapor (0,46 Kcal/Kg °C).
- C<sub>VH<sub>2</sub>O</sub>: Calor latente del agua (600 Kcal/Kg).
- El aire se calienta y entra al tambor a una temperatura de 550°C y sale a 100°C.
- El aire ambiental se encuentra a una temperatura de 20°C y una humedad del 60% (condiciones promedio), esto se corresponde con una humedad absoluta de 0.010 Kg de agua por Kg de aire seco.

Entonces:

$$\bullet \quad \dot{A}S * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 0)^\circ\text{C} + \dot{A}S * R_{f_{H_2O/AS}} * [(600 \text{ Kcal/Kg}) + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 0)^\circ\text{C}] + (206 \text{ Kg/hs}) * (0,78 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (100 - 0)^\circ\text{C} = \dot{A}S * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (550 - 0)^\circ\text{C} + \dot{A}S * (0,010 \text{ Kg/Kg}) * [(600 \text{ Kcal/Kg}) + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (550 - 0)^\circ\text{C}] + (915 \text{ Kg/hs}) * (0,95 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (35 - 0)^\circ\text{C} + (91 \text{ Kg/hs}) * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (20 - 0)^\circ\text{C}$$



Reemplazamos el caudal de aire seco por la siguiente expresión:

- $\dot{A}S = \dot{H}_2O_{Evap} / (R_{f_{H_2O/AS}} - R_{i_{H_2O/AS}})$

Siendo el caudal de agua evaporada 800 Kg/hs, obtenemos:

- $R_{f_{H_2O/AS}} = 0,186 \text{ Kg H}_2\text{O/Kg AS}$

6. Calculamos el caudal de aire seco necesario para el secado.

- $\dot{A}S = \dot{H}_2O_{Evap} / (R_{f_{H_2O/AS}} - R_{i_{H_2O/AS}})$

- $\dot{A}S = (800 \text{ Kg H}_2\text{O/hs}) / (0,186 - 0,010) \text{ Kg H}_2\text{O/Kg AS} = 4.546 \text{ Kg AS/hs}$

7. Calculamos la cantidad de energía necesaria para llevar el aire de secado hasta los 550°C.

- $\dot{Q}_C = \dot{A}S * C_{S_{AS}} * (T_f - T_i) + \dot{A}S * R_{i_{H_2O/AS}} * [C_{V_{H_2O}} + C_{S_{VP}} * (T_f - T_i)]$

- $\dot{Q}_C = (4.546 \text{ Kg/hs}) * (0,24 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (550 - 20)^\circ\text{C} + (4.546 \text{ Kg/hs}) * (0,010 \text{ Kg/Kg}) * [600 \text{ Kcal/Kg} + (0,46 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * (550 - 20)^\circ\text{C}]$

- Obtenemos,  $\dot{Q}_C = 6,17 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

NOTA:

El fabricante del equipo declara que se necesitan 795.000 Kcal/hs para la remoción de 800 L/hs de agua. Habiendo obtenido un valor 20% menor, consideramos que equipo de secado spray es capaz de cubrir con nuestras necesidades técnicas.

2. El secador spray seleccionado, modelo 3530 de la empresa “Galaxie Secado Spray®”, para una capacidad de evaporación de 800 L/hs de agua posee un consumo de combustible equivalente a 795.000 Kcal/hs y uno de energía eléctrica de 30 kW. Considerando un tiempo de operación de 11.14 horas, calculamos el consumo de los recursos energéticos en dicho tiempo.

A. Utilizando gas natural para el calentamiento del aire de secado, planteamos su consumo de la siguiente manera:

- $\dot{G}N = PC_{GN} * \dot{Q}_C$

- $\dot{G}N = (\text{m}^3/8.800 \text{ Kcal}) * (7,95 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) = 90,4 \text{ m}^3/\text{hs}$

Planteamos el consumo de gas natural por lote de producción.

- $GN_{\text{Lote}} = \dot{G}N * t_{\text{Op}}$
- $GN_{\text{Lote}} = (90,4 \text{ m}^3/\text{hs}) * (11,14 \text{ hs/Lote}) = 1.007 \text{ m}^3/\text{Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $GN_{\text{Año}} = (1.007 \text{ m}^3/\text{Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 48.307 \text{ m}^3/\text{Año}$

B. Planteamos el consumo de energía eléctrica por lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = POT_{\text{Spray}} * t_{\text{Op}}$
- $EE_{\text{Lote}} = 30 \text{ kW} * (11,14 \text{ hs/Lote}) = 334 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (334 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 16.032 \text{ kW/Año}$

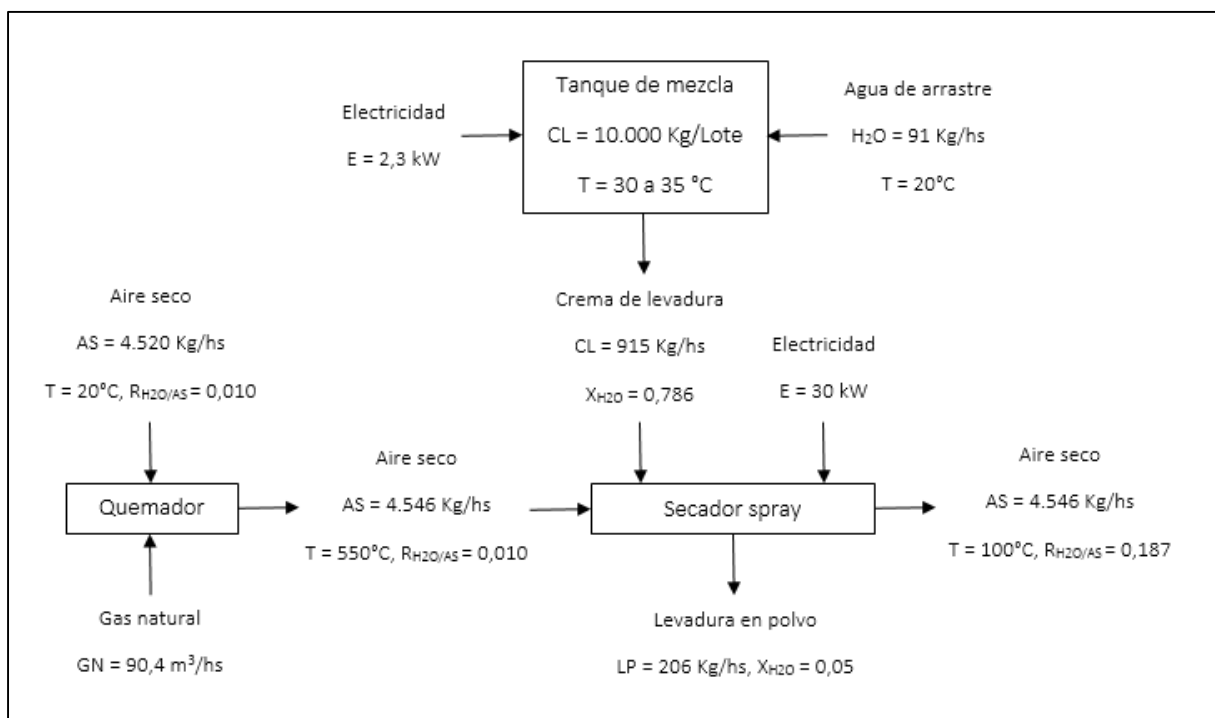


Fig. 8.6: Diagrama del flujo energético en la etapa de secado por atomización.

### 8.3.4. Estandarización

Teniendo en cuenta la información técnica aportada por el fabricante del equipo seleccionado para esta etapa, calculamos la energía eléctrica necesaria para la mezcla de los distintos tipos de levadura en polvo y estandarizar el contenido de astaxantina.

1. El mezclador de tornillos sin fin seleccionado, modelo Hit 2 de la empresa “Prillwitz y Cia®”, posee un consumo de energía eléctrica de 12 kW. Considerando que el fabricante declara que es posible lograra la completa homogeneización de la mezcla de polvos en 5 minutos, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

Planteamos el consumo de energía eléctrica para un lote de producción.

- $EE_{Lote} = POT_{Mezclador} * t_{Op}$
- $EE_{Lote} = 12 \text{ kW} * (0,083 \text{ hs/Lote}) = 1 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{Año} = (1 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 48 \text{ kW/Año}$

### 8.3.5. Embolsado

Teniendo en cuenta la información técnica aportada por el fabricante del equipo seleccionado para esta etapa, calculamos la energía eléctrica necesaria para el embolsado de 100 bolsas de 25 Kg del producto terminado.

1. La embolsadora de válvula de tornillo seleccionada, modelo Ebv 200 de la empresa “Prillwitz y Cia®”, posee un consumo de energía eléctrica de 2 kW. Considerando que el fabricante declara que el tiempo de embolsado de 50 a 150 bolsas es aproximadamente 1 hora, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

Planteamos el consumo de energía eléctrica para un lote de producción.

- $EE_{Lote} = POT_{Embolsadora} * t_{Op}$
- $EE_{Lote} = 2 \text{ kW} * (1 \text{ hs/Lote}) = 2 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (2 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 96 \text{ kW/Año}$

## 8.4. Servicios auxiliares

La producción de agua purificada tiene asociado consigo un gasto de energía eléctrica, producto del uso de bombas de alta presión, para forzar el paso del fluido a través de los sistemas de filtros y membranas. También tiene asociado un gasto por el uso de una lámpara de luz ultravioleta para la eliminación de virus y bacterias, aunque su consumo eléctrico es mucho menor al de la bomba.

### 8.4.1. Sistema purificador de agua

Con la necesidad de producción diaria de agua purificada (sección 7.4.1), calcúlos el consumo eléctrico necesario para cumplir dicha demanda.

1. La planta compacta purificadora de agua, modelo IO-501 de la empresa “OsmoVic®”, posee para una capacidad productiva de 1.200 L/hs un consumo de energía eléctrica de 2.23 kW, considerando un tiempo de operación de 8 horas diarias, calculamos la energía eléctrica consumida en dicho tiempo.

- $EE_{\text{Día}} = POT_{\text{Planta}} * t_{\text{Op}}$
- $EE_{\text{Día}} = 2,23 \text{ kW} * (8 \text{ hs/Día}) = 17,8 \text{ kW/Día}$

Siendo que la producción de un lote demora 30 días, calculamos el consumo eléctrico por lote de producción.

- $EE_{\text{Lote}} = (17,8 \text{ kW/Día}) * (30 \text{ Días/Lote}) = 535 \text{ kW/Lote}$

Por lo tanto, para 48 lotes anuales tenemos:

- $EE_{\text{Año}} = (535 \text{ kW/Lote}) * (48 \text{ Lotes/Año}) = 25.690 \text{ kW/Año}$





## 9. Selección y diseño de equipos

En esta sección justificaremos la adquisición y el diseño de los equipos necesarios para llevar a cabo nuestro proceso productivo. Entre los equipos diseñados tenemos, la instalación para el secado a la intemperie del orujo de uva, el secador de tambor rotativo y el biorreactor industrial de 30 m<sup>3</sup>.

### 9.1. Transporte

Como se ha mencionado en el balance de materia (sección 7.1.1), el transporte del orujo de uva desde las bodegas productores de vino hasta nuestra planta se realiza mediante camiones bitrenes con tolva cerealera, debido a su gran capacidad de transporte.



Fig. 9.1: Dimensiones típicas de un camión bitren con tolva cerealera.

### 9.2. Silos celdas

Los silos celdas se construyen con hormigón armado y se les instalan bateas de tornillo helicoidal para arrastrar el orujo al momento de su descarga.

1. Con la cantidad de orujo de uva que debe contener cada silo celda (sección 7.1.2.1), calculamos las dimensiones adecuadas para el mismo.

- $V_{\text{Celda}} = OU_{70\%H} * \rho_{OU70\%H}$
- $V_{\text{Celda}} = (175 \text{ Tn/Celda}) * (m^3/0,76 \text{ Tn}) = 230 \text{ m}^3/\text{Celda}$

Considerando un margen extra del 20% tenemos:

- $V_{\text{Celda}} = 276 \text{ m}^3/\text{Celda}$

2. Según el trabajo de investigación “Producción de un compostaje a partir de desechos de uva” (Ferrer J., Mujica D. y Páez G., Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1993), las pilas de orujo de uva se disponen de manera que exista una relación 0.6 de altura-diámetro ( $50^\circ$  de inclinación).

Proponemos el diseño para la construcción de cada silo celda con sus respectivas medidas, en las Figuras 9.2, 9.3 y 9.4.

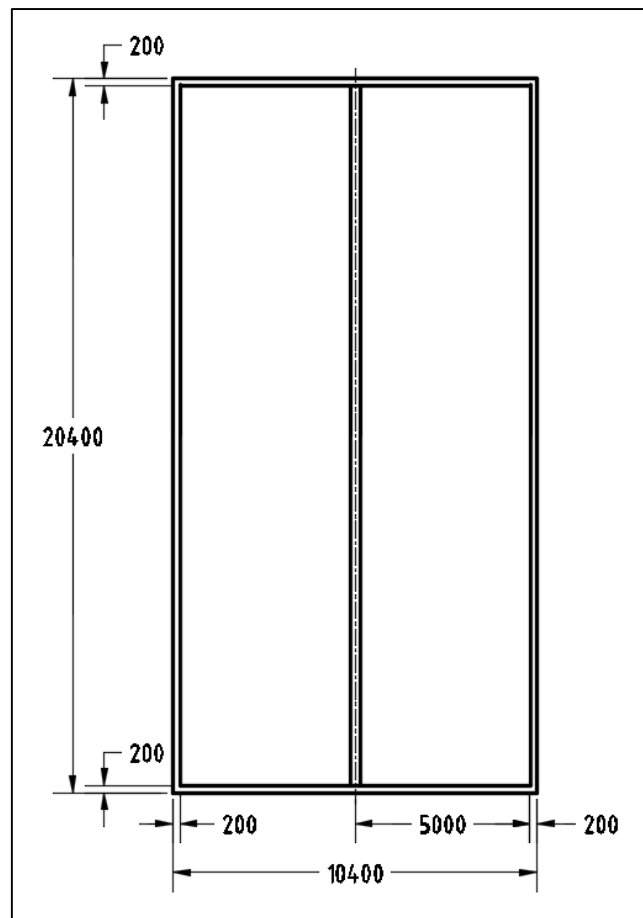


Fig. 9.2: Vista superior del silo celda con sus respectivas medidas.

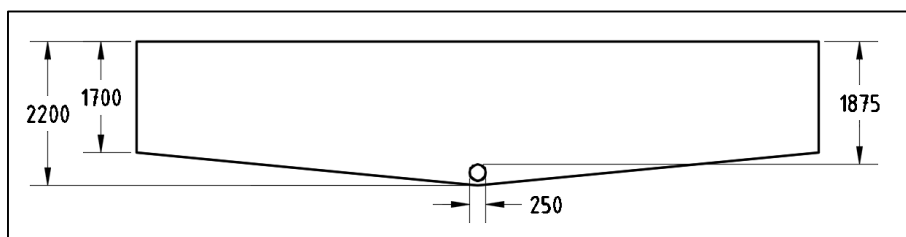


Fig. 9.3: Vista frontal del silo celda con sus respectivas medidas.



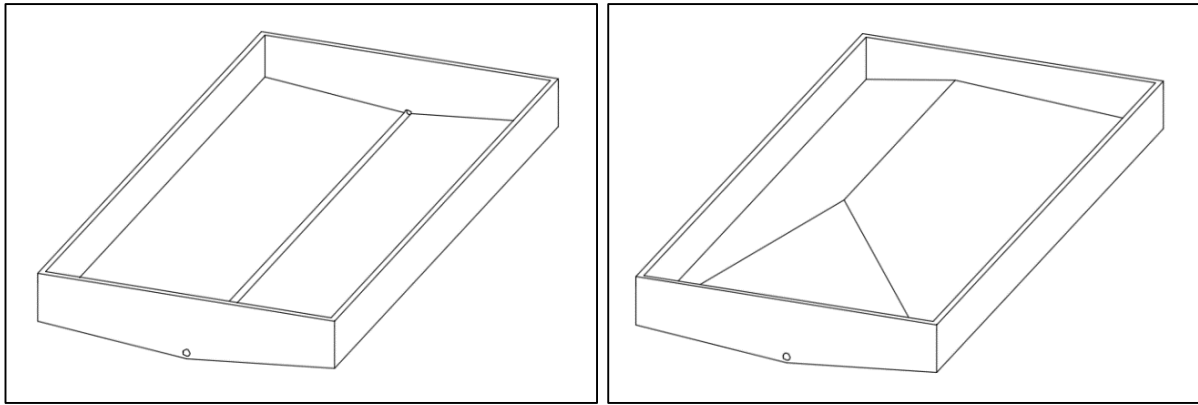


Fig. 9.4: A la izquierda, silo celda vacío. A la derecha, silo celda con pila de orujo de uva.

3. El diseño del silo celda contempla que la pila de orujo de uva no sobrepase los 3 metros de altura. Calculamos el ángulo de inclinación de la pila.

- $\text{Tag}(\alpha) = (3 \text{ m}/5 \text{ m})$
- Obtenemos,  $\alpha = 31^\circ$

**NOTA:**

Como podemos ver, el ángulo de inclinación de la pila es menor al reportado en el proyecto de investigación. Esto es beneficioso, ya que significa más cantidad de orujo cerca de la superficie y no apilado uno encima del otro.

Se instalan un total de 4 silos celdas para agilizar el proceso, como se especifica en el protocolo secado (sección 7.1.2.1). Los silos se encuentran conectados entre sí por un canal de descarga principal, como el detallado en las Figuras 9.5, 9.6, 8.7 y 9.8.

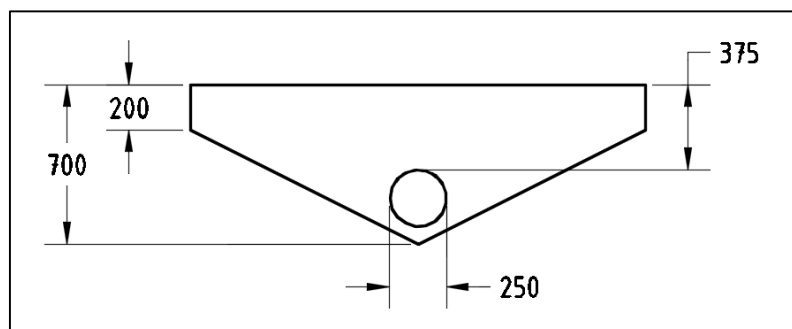
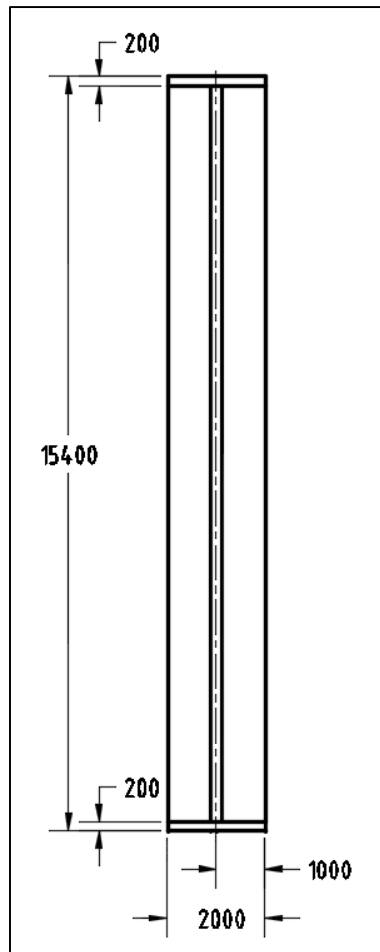
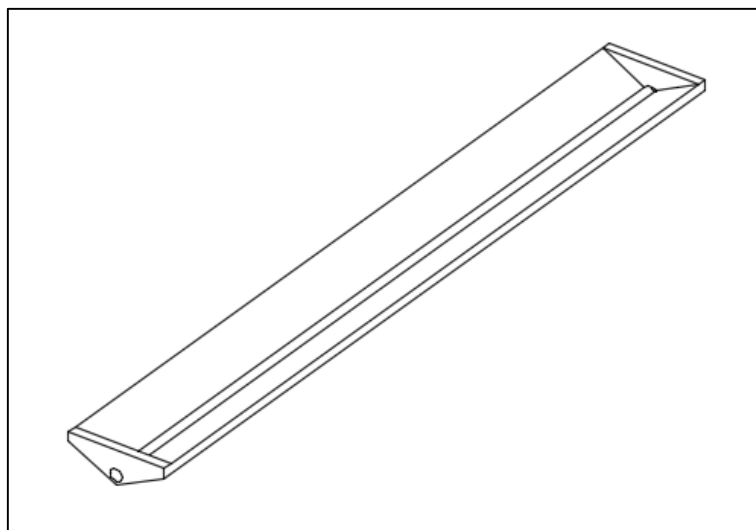


Fig. 9.5: Vista frontal del canal de descarga con sus respectivas medidas.



*Fig. 9.6:* Vista superior del canal de descarga con sus respectivas medidas.



*Fig. 9.7:* Perspectiva del canal de descarga.

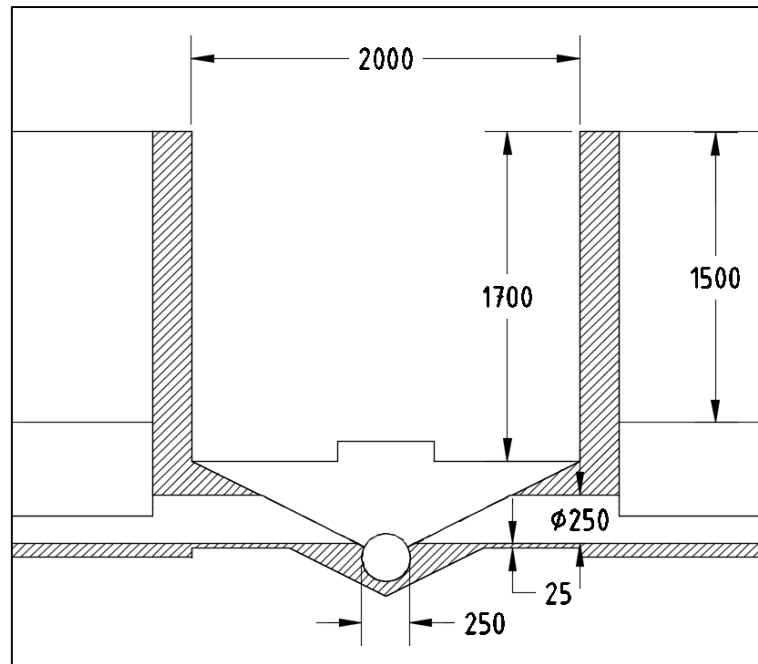


Fig. 9.8: Corte de la unión de canal de descarga y los silos celda con sus respectivas medidas.

Luego de recorrer el canal, el orujo cae en una fosa, como la que se detalla en la Figura 9.9. Dentro de ella un tornillo helicoidal inclinado con tolva lo recoge y eleva hasta una altura suficiente como para descargarlo dentro de la boca de alimentación del secador de tambor rotativo.

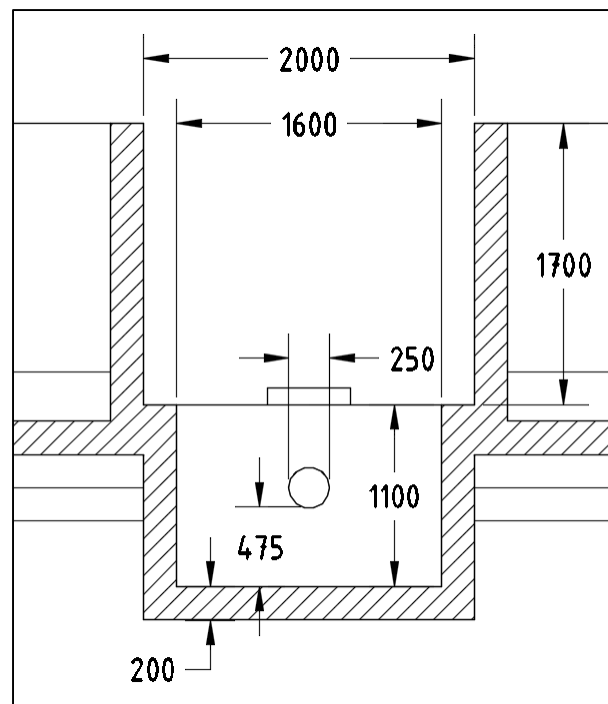


Fig. 9.9: Corte de la fosa con sus respectivas medidas.

La instalación completa con los silos celdas, el canal de descarga y la fosa se detalla en las Figuras 9.10 y 9.11.

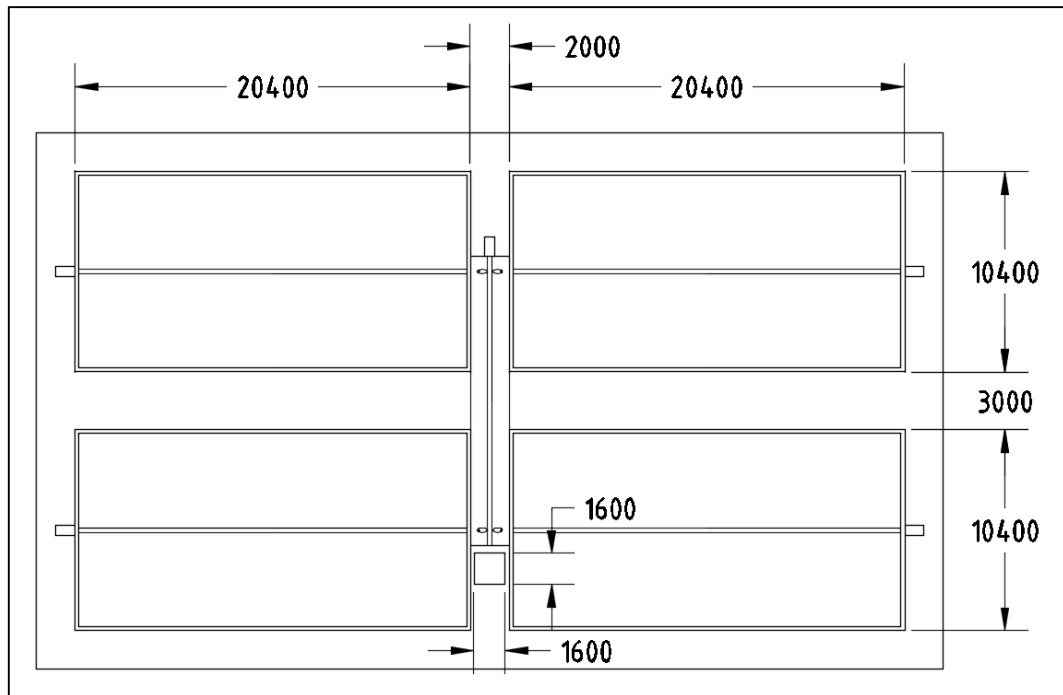


Fig. 9.10: Instalación completa para el secado a la intemperie con sus respectivas medidas.

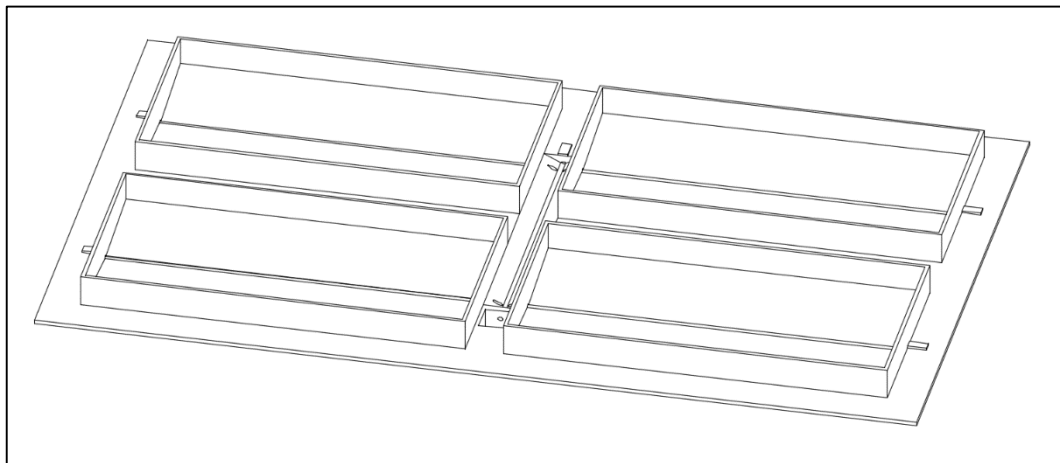


Fig. 9.11: Perspectiva de la instalación completa para el secado a la intemperie.

4. Según el programa informático “Autodesk AutoCAD®”, con el cual se ha diseñado la instalación, su volumen total es de 343 m<sup>3</sup>. Para su construcción en hormigón estructural tipo H30, debemos tener en cuenta los reglamentos CIRSOC 201 (Reglamento Argentino de Estructuras de Hormigón) con las siguientes consideraciones:

- Clasificación: Hormigón estructural, tipo H30.
- Materiales: Cemento portland, agua, arena y piedra granítica.
- Resistencia mínima: 300 MPa.
- Contenido mínimo de cemento: 440 Kg/m<sup>3</sup>.
- Relación agua-cemento: 0,5 (En peso).
- Relación cemento-arena-piedra: 1:3:3 (En volumen).
- Tamaño máximo de agregado grueso: 32 mm.

Calculamos la cantidad de cemento (CM), agua y áridos (AR) necesarios.

- $CM = V_{\text{Total}} * CM_{\text{mín}}$
- $CM = (343 \text{ m}^3/\text{Obra}) * (440 \text{ Kg/m}^3) = 1,51 \times 10^5 \text{ Kg CM/Obra}$

NOTA:

Para la preparación del hormigón se seleccionó el cemento portland compuesto CPC 40 de la empresa “Cementos Avellaneda®”.

En cuanto al agua, tenemos:

- $H2O = CM * R_{H2O/CM}$
- $H2O = (1,51 \times 10^5 \text{ Kg CM/Obra}) * (0,5 \text{ Kg H2O/Kg CM})$
- $H2O = 75.500 \text{ Kg H2O/Obra}$

Para el cálculo de los áridos debemos considerar las densidades, siendo la del cemento 3.150 Kg/m<sup>3</sup>, y tanto la de la arena como la grava 1.500 Kg/m<sup>3</sup>. Por lo tanto:

- $AR = R_{AR/CM} * \rho_{AR} * CM * (1/\rho_{CM})$
- $AR = (6 \text{ m}^3 \text{ AR}/1 \text{ m}^3 \text{ CM}) * (1.500 \text{ Kg AR/m}^3) * (1,51 \times 10^5 \text{ Kg CM/Obra}) * (\text{m}^3/3.150 \text{ Kg})$
- $AR = 4,31 \times 10^5 \text{ Kg AR/Obra}$

### 9.2.1. Transporte de tornillo helicoidal

La instalación cuenta con un sistema de transporte de tornillos helicoidales para movilizar el orujo de uva. En las celdas y el canal de descarga se encuentran dispuestos como bateas, mientras que en la fosa se lo dispone inclinado en un ángulo menor a 45°.

#### 9.2.1.1. Batea de tornillo helicoidal

Los canales cilíndricos dejados a lo largo de los silos y el canal de descarga, son para la instalación de tornillos sin fin con la capacidad de barrer el orujo de uva dispuesto en el fondo.

1. Su capacidad de transporte debe responder al caudal de alimentación del secador de tambor rotativo (sección 7.1.1), siendo este 3.130 Kg/hs de orujo de uva con 30% de humedad. Como en la mayoría de los catálogos la capacidad de estos equipos está dada en términos de volumen, calculamos el caudal volumétrico equivalente de alimentación necesario.

- $\dot{OU}_{30\%H} = (3.130 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/444 \text{ Kg})$
- $\dot{OU}_{30\%H} = 7,05 \text{ m}^3/\text{hs}$

2. Debemos calcular la potencia necesaria para que el motor eléctrico accione el tornillo helicoidal y arrastre el orujo a lo largo del canal.

- $POT_T = POT_H + POT_N$

Siendo:

- $POT_H$ : Potencia necesaria para el desplazamiento horizontal del material (kW).
- $POT_N$ : Potencia necesaria para el accionamiento del tornillo vacío (kW).

Calculamos la potencia para el desplazamiento horizontal del material.

- $POT_H = (c_o * L * \dot{Q})/367$

Siendo:

- $Q$ : Flujo del material transportado (3,13 Tn/hs).
- $L$ : Longitud del transportador (20 m).
- $c_o$ : Coeficiente de resistencia del material transportado (Para materiales no abrasivos que fluyen fácilmente como, cebada, trigo, malta, arroz y similares, es 1,2).

Entonces:

- $POT_H = [1,2 * 20 \text{ m} * (3,13 \text{ Tn/hs})]/367 = 0,21 \text{ kW}$

Calculamos la potencia para el desplazamiento horizontal del material.

- $POT_N = D * L/20$

Siendo:

- D: Diámetro del canalón del transportador (0,25 m).
- L: Longitud del transportador (20 m).

Entonces:

- $POT_N = (0,25 \text{ m} * 20 \text{ m})/20 = 0,25 \text{ kW}$

Por lo tanto:

- $POT_T = 0,21 \text{ kW} + 0,25 \text{ kW} = 0,46 \text{ kW}$

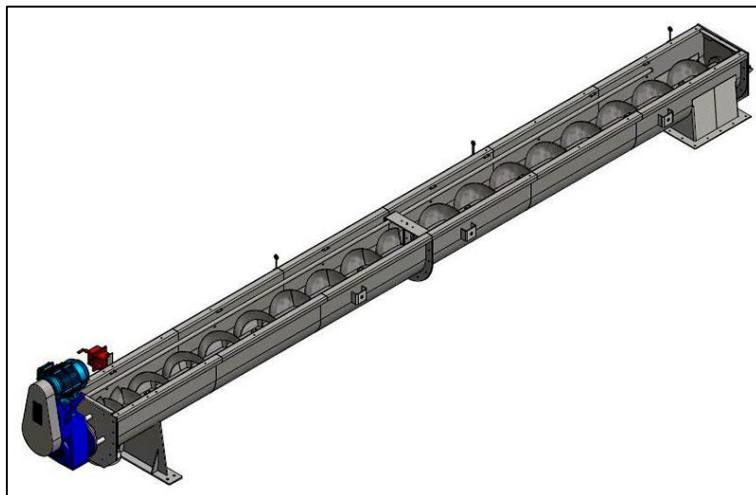
Se seleccionaron un total de 5 bateas de tornillo helicoidal, modelos TCS 20 de la empresa “Sansoni®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.1.

Material	Acero al carbón
Capacidad	Hasta 25 m <sup>3</sup> /hs
Diámetro de rosca	200 mm
Largo de batea	Regulable
Velocidad de giro	Hasta 150 rpm
Potencia eléctrica	2,23 kW

*Tabla 9.1:* Especificaciones técnicas de las bateas de tornillo helicoidal.



*Fig. 9.12:* Piezas de ensamble de bateas de tornillo helicoidal.

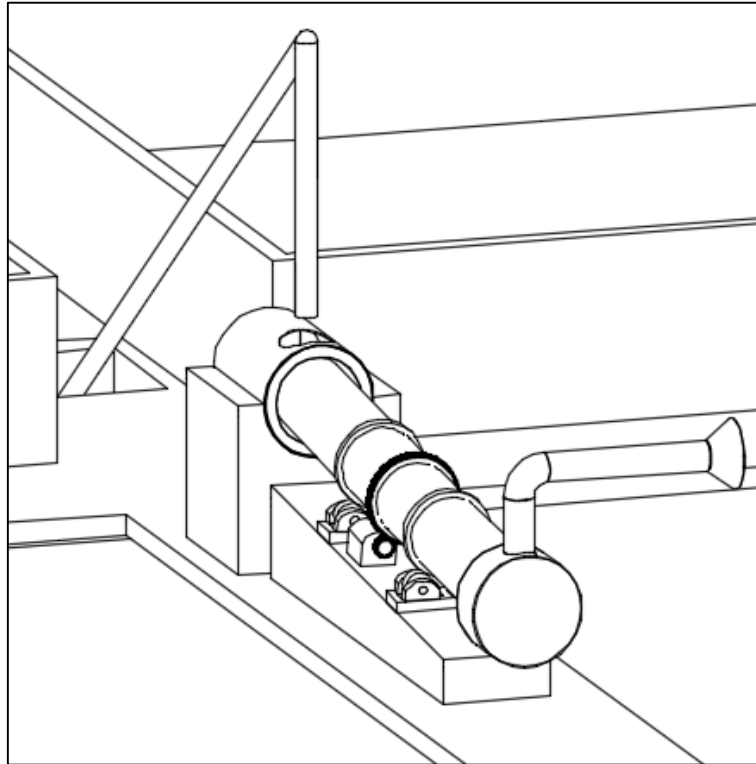


*Fig. 9.13:* Esquema de bateas de tornillo helicoidal ensamblada.



### 9.2.1.2. Tornillo helicoidal inclinado

El tornillo helicoidal inclinado, también llamado “rosca extractora”, se instala en la fosa para llevar el orujo de uva hasta el secado de tambor rotativo.



*Fig. 9.14:* Esquema de descarga de la rosca en el secador de tambor rotativo.

1. Su capacidad de transporte debe responder al caudal de alimentación del secador de tambor rotativo. Este cálculo es el mismo al realizado en la sección 9.2.1.1.
2. Debemos calcular la potencia necesaria para que el motor eléctrico accione el tornillo helicoidal y arrastre el orujo por un plano inclinado.

- $POT_T = POT_H + POT_N + POT_i$

Siendo:

- $POT_H$ : Potencia necesaria para el desplazamiento horizontal del material (kW).
- $POT_N$ : Potencia necesaria para el accionamiento del tornillo vacío (kW).
- $POT_i$ : Potencia en el caso de un tornillo helicoidal inclinado (kW).

---

Calculamos la potencia para el desplazamiento horizontal del material.

- $POT_H = (c_o * L * \dot{Q})/367$

Siendo:

- Q: Flujo del material transportado (3,13 Tn/hs).
- L: Longitud del transportador (10 m).
- $c_o$ : Coeficiente de resistencia del material transportado (Para materiales no abrasivos que fluyen fácilmente como, cebada, trigo, malta, arroz y similares, es 1,2).

Entonces:

- $POT_H = [1,2 * 10 \text{ m} * (3,13 \text{ Tn/hs})]/367 = 0,1 \text{ kW}$

Calculamos la potencia para el desplazamiento horizontal del material.

- $POT_N = D * L/20$

Siendo:

- D: Diámetro del conducto de transporte (0,20 m).
- L: Longitud del transportador (10 m).

Entonces:

- $POT_N = (0,20 \text{ m} * 10 \text{ m})/20 = 0,1 \text{ kW}$

Calculamos la potencia en el caso de un tornillo helicoidal inclinado.

- $POT_i = \dot{Q} * H/367$

Siendo:

- Q: Flujo del material transportado (3,13 Tn/hs).
- H: Altura de descarga (m).

Considerando que las dimensiones de la fosa son 1.60 x 1.60 metros de lado y 1.10 metros de altura, calculamos la inclinación y la altura de la boca de descarga de la rosca extractora.

- $\text{Tan}(\alpha) = (Y/X)$
- $\text{Tan}(\alpha) = (1,10 \text{ m}/1,60 \text{ m})$
- Obtenemos,  $\alpha = 34^\circ$

Por lo tanto, con una longitud del canal transportador de 10 metros tenemos:

- $\text{Sen}(\alpha) = (Y/\text{Hip})$
- $\text{Sen}(34^\circ) = (Y/10 \text{ m})$
- Obtenemos,  $Y = 4,47 \text{ m}$

Entonces:

- $\text{POT}_i = [4,47 \text{ m} * (3,13 \text{ Tn/hs})]/367 = 0,038 \text{ kW}$

Por lo tanto:

- $\text{POT}_T = 0,1 \text{ kW} + 0,1 \text{ kW} + 0,038 \text{ kW} = 0,24 \text{ kW}$

Se seleccionó una rosca extractora con tolva, modelo RES 20 de la empresa “Sansoni®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.2.

Material	Acero al carbón
Capacidad	Hasta 25 m <sup>3</sup> /hs
Diámetro de rosca	200 mm
Largo de conducto	10 m
Velocidad de giro	Hasta 150 rpm
Potencia eléctrica	2,23 kW

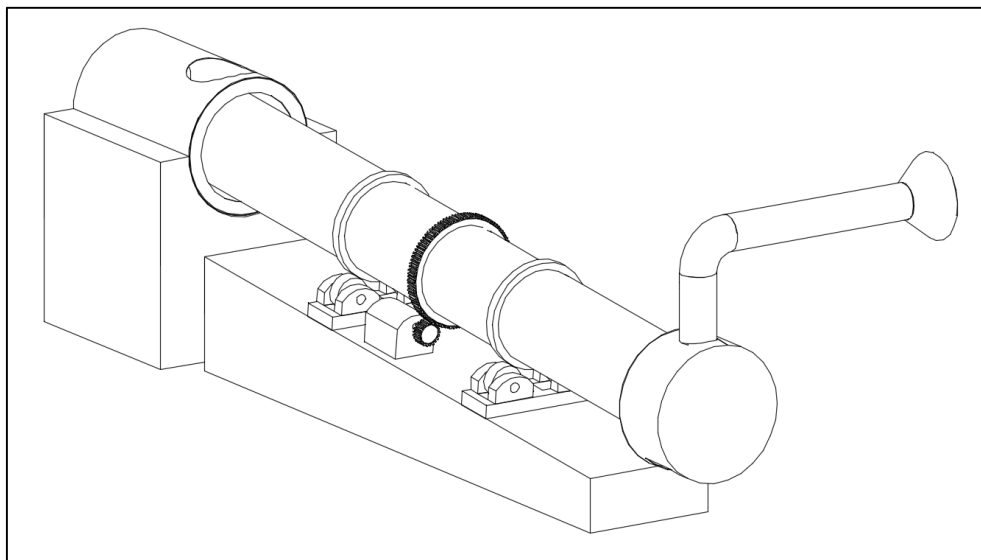
*Tabla 9.2:* Especificaciones técnicas de la rosca extractora.



*Fig. 9.15:* Rosca extractora para granos.

### 9.3. Secador de tambor rotativo

El secador de tambor rotativo consta de básicamente de 5 partes fundamentales el tambor rotativo, los cabezales de entrada y salida, el ducto extractor de aire, el sistema de rotación y las estructuras de apoyo. Y, además 4 equipos asociados a su funcionamiento, tales como, un quemador de aire, un extractor centrifugo, un motor eléctrico y un elevador de cangilones. Las cuales, integradas, conforman un equipo que se muestra en la Figura 9.16.



*Fig. 9.16:* Esquema del secador de tambor rotativo diseñado.

Para conformar las diferentes piezas del horno rotativo se utilizan chapas y tubos sin costuras de acero provenientes de la empresa “Klockmetal®”, mientras que las piezas moldeadas se piden por encargo a la empresa “Fundición Boherdi®”.

Material	Norma	Calidad	Usos	Análisis Químicos (%)					Propiedades Mecánicas		
				C. Máx.	Mn. Máx.	P. Máx.	S. Máx.	Si. Máx.	RT Mín. (Mpa)	E Mín. (Mpa)	A % (Lo: 50 mm)
Acero	ASTM	A-36	Estructural	0.25	0.8 a 1.2	0.04	0.05	0.4	400 a 500	250	21
Acero	ASTM	A-53	Tubos	0.25	0.95	0.05	0.045	N/A	330	205	35
Acero	SAE	1045	Partes de máquinas	0.43 a 0.5	0.6 a 0.9	0.04	0.05	0.1 a 0.3	650 a 770	390 a 460	16
Hierro Fundido	ASTM	A-47	Moldeado (General)	2.5	0.55	N/A	N/A	1	340	220	10

Tabla 9.3: Características de los diferentes materiales de construcción del secador de tambor rotativo.

### 9.3.1. Tambor rotativo

El tambor es lugar donde el orujo de uva y el aire de secado se ponen en contacto, recorriendo su longitud en un tiempo estipulado. Las diferentes partes que conforman el tambor son, un cilindro interno, barras interiores para el volteo del orujo, los anillos de refuerzo, el aislante de fibra de vidrio y un cilindro externo. Las características constructivas del cilindro interno se muestran en la Tabla 9.4.

Material	Acero ASTM-36
Diámetro	600 m
Largo	6,0 m
Espesor	6,35 mm
Piezas de construcción	6 chapas de 4' x 8' y un espesor de 1/4"

Tabla 9.4: Características técnicas del cilindro interno del tambor.

Para la construcción del cilindro interno del tambor, se unen por soldadura 3 cilindros de 2 metros de largo, 0.6 metros de diámetro interno y 6.35 milímetros de espesor.

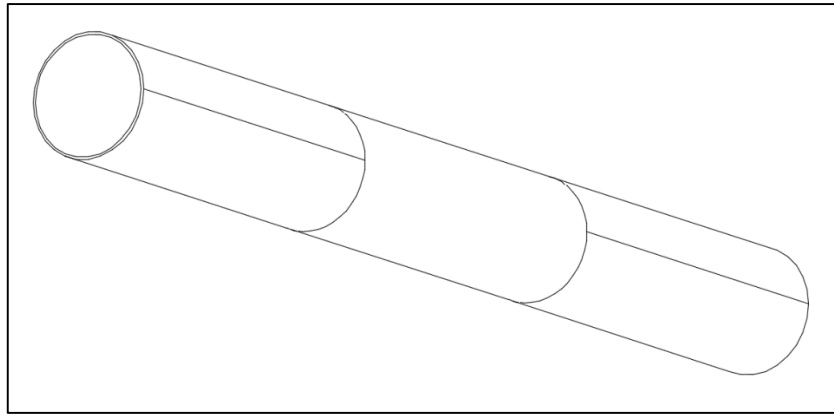


Fig. 9.17: Cilindro interno del tambor unido por soldadura.

El acero ASTM A-36 posee buenas características de soldabilidad, por lo que la unión de las juntas no requiere de medidas o técnicas especializadas. Se utiliza una unión tradicional con bisel en V con un equipo de arco eléctrico para construir la estructura cilíndrica interna del tambor.

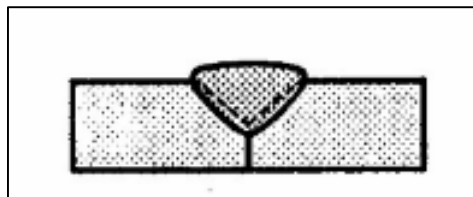


Fig. 9.18: Soldadura con bisel en V.

La superficie interior del tambor por donde circula el orujo a secar tiene una serie de barras sobresalientes que voltean el orujo a medida que gira, lo cual, ayuda a obtener un secado más homogéneo. Las características constructivas de las barras interiores se muestran en la Tabla 9.5.

Material	Acero ASTM-36
Largo	6,0 m
Altura	30 mm
Ancho	6,35 mm
Cantidad	13 barras
Disposición	1 barra cada 15°
Piezas de construcción	2 chapas de 4' x 8' y un espesor de 1/4"

Tabla 9.5: Características técnicas de las barras interiores del tambor.

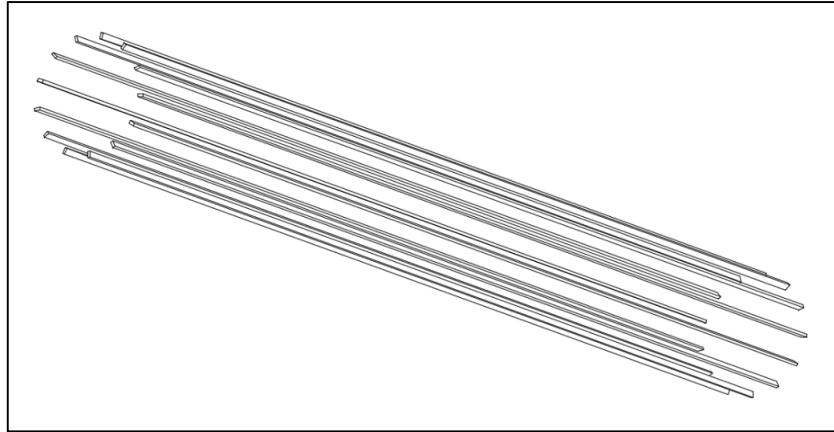


Fig. 9.19: Barras interiores del tambor.

La soldadura de las barras con el interior del cilindro se hace con unión en T de doble filete. La conformación entre las barras interiores y el cilindro interno del tambor se muestra en la Figura 9.21.

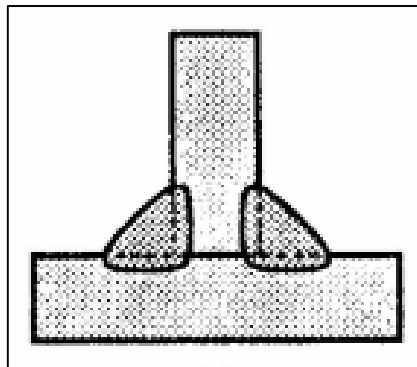


Fig. 9.20: Soldadura con unión en T.

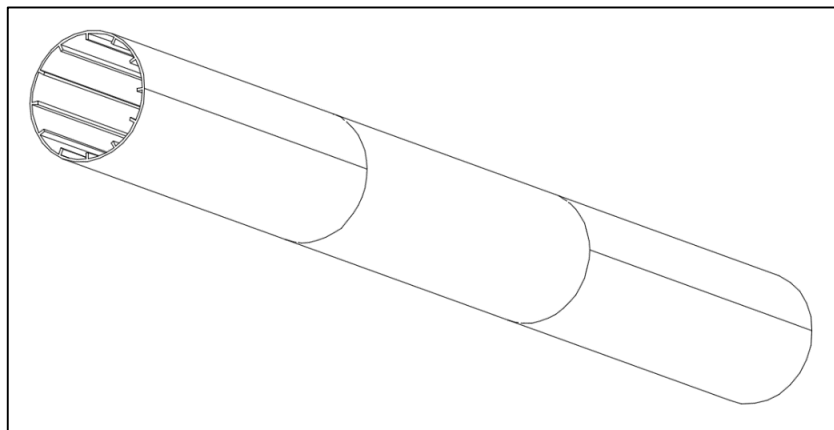
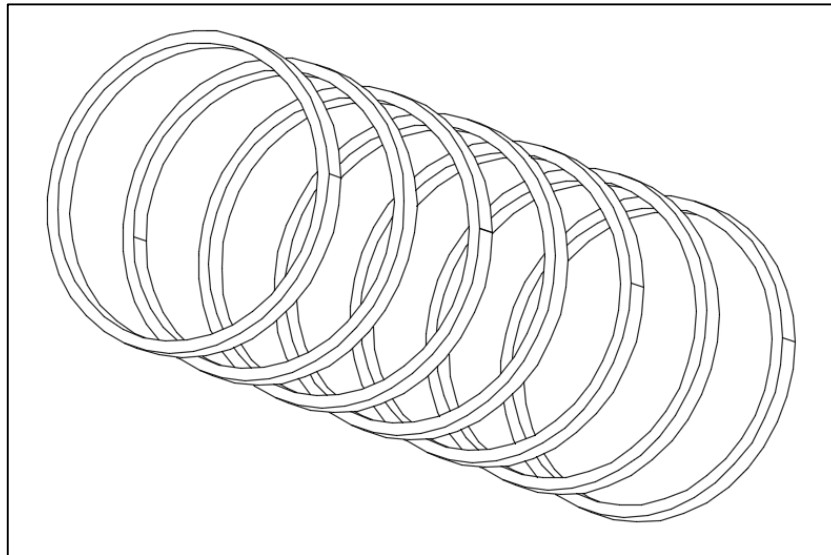


Fig. 9.21: Conformación de las barras interiores y el cilindro interno del tambor.

El tambor posee, entre el cilindro interno y externo, un espacio reservado para el material aislante que detiene la pérdida de calor a través de las paredes. Para brindar este espacio y dar integridad estructural al tambor se disponen de anillos de refuerzo equidistantes en medio de ambos cilindros. Las características constructivas de los anillos de refuerzo se muestran en la Tabla 9.6.

Material	Acero ASTM-36
Diámetro	612,7 mm
Largo	50 mm
Espesor	25,4 mm
Cantidad	7 anillos
Disposición	Equidistantes a lo largo del tambor
Piezas de construcción	1 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1"

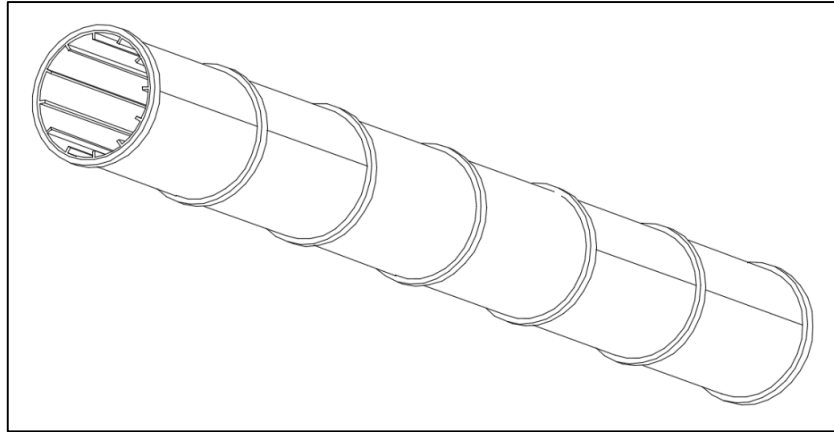
*Tabla 9.6:* Características técnicas de los anillos de refuerzo del tambor.



*Fig. 9.22:* Anillos de refuerzo del tambor rotativo.

La soldadura de los anillos con el exterior del cilindro se hace con unión en T de doble filete. La conformación entre los anillos de refuerzo y el cilindro interno del tambor rotativo se muestra en la Figura 9.23.





*Fig. 9.23:* Conformación de los anillos de refuerzo y el cilindro interno del tambor.

Entre los anillos se coloca una manta de lana de vidrio revestida con una malla de acero en una de sus caras, modelo TECH Wired Mat MT 5.1 de la empresa “Isover®”, con temperatura máxima de servicio de 660°C.



*Fig. 9.24:* Manta de lana de vidrio en el interior del tambor.

1. Calculamos la cantidad de aislante necesario. Para ello, necesitamos conocer el perímetro exterior ( $P_{ext}$ ) del cilindro.

- $P_{ext} = 2 * \pi * r_{ext}$
- $P_{ext} = 2 * \pi * (0,3063 \text{ m}) = 2,083 \text{ m}$

Considerando que existen 6 espacios vacíos de 1 metro cada uno para colocar el film aislante, entonces:

- $L = P_{\text{ext}} * 6$
- $L = 2,083 \text{ m} * 6 = 12,5 \text{ m}$

NOTA:

El proveedor de la lana de vidrio seleccionada, comercializa el rollo con un tamaño de 1.20 metros de ancho por 18 metros de largo. Por lo tanto, un solo rollo basta para el recubrimiento total del tambor.

Una vez colocada la lana de vidrio, se la confina con el cilindro exterior del tambor. Las características constructivas del cilindro externo se muestran en la Tabla 9.7.

Material	Acero ASTM-36
Diámetro	663,5 mm
Largo	6,0 m
Espesor	6,35 mm
Piezas de construcción	6 chapas de 4' x 8' y un espesor de 1/4"

*Tabla 9.7:* Características técnicas de los cilindro exterior del tambor.

Utilizando una soldadura de unión con bisel en V, se conforma por completo el tambor del secador rotativo, como se muestra en la Figura 9.25.

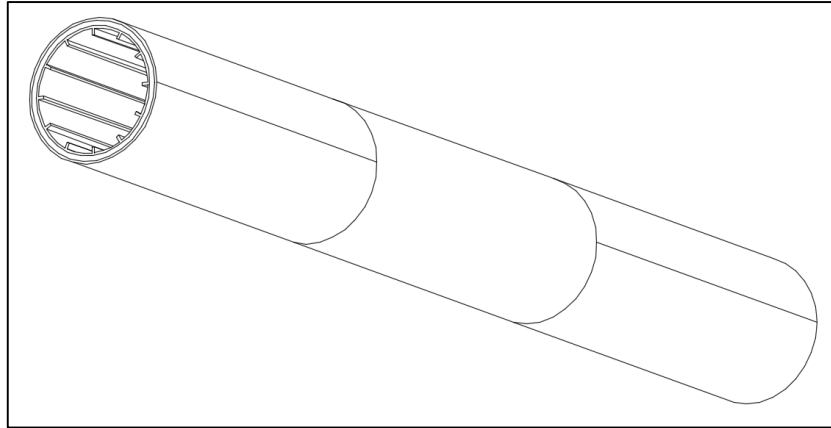


Fig. 9.25: Tambor del secador rotativo terminado.

### 9.3.1.1. Pérdida de carga en el tambor

Debemos verificar la caída de presión del aire dentro del tambor entre sus extremos opuestos (la entrada y la salida del orujo de uva).

1. Partimos de la ecuación de Bernoulli.

$$\bullet \quad (P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$$

Tomando en cuenta que el tambor tiene una inclinación de entre 3 a 7°, consideramos que:

$$\bullet \quad h_1 \approx h_2$$

2. La sección transversal por la que circula el aire es la misma en todo el largo del tambor.

$$\bullet \quad v = \dot{Q}/A$$

Entonces:

$$\bullet \quad A_1 = A_2 \text{ resulta que: } v_1 = v_2$$

Como no existe la aplicación de una fuerza impulsora en el sistema de análisis, la ecuación de Bernoulli queda simplificada como:

$$\bullet \quad (P_1/\gamma) = (P_2/\gamma) + h_f$$

3. Calculamos el coeficiente de pérdida de carga ( $h_f$ ).

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g) + e_v * (v^2/2 * g)$

Al no existir en el tambor pérdidas de carga por accesorios, cambios de sección o dirección, se desestima el segundo término. Por lo que el coeficiente de pérdida de carga se simplifica a:

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g)$

Determinamos el factor de fricción de Fanning ( $f$ ) mediante el diagrama de Moody, para ello determinamos el número de Reynold ( $Re$ ).

- $Re = (D * \rho * v) / \mu$

Considerando las condiciones promedio del aire dentro del tambor, siendo estas una relación agua-aire seco de 0.048 Kg/Kg y una temperatura de 185°C y el balance de energía en esta etapa (sección 8.1.1), calculamos la densidad y viscosidad promedio del aire dentro del tambor.

- $\rho = [\dot{M}_{AS} / (\dot{M}_{AS} + R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \rho_{AS_{185^\circ C}} + [(R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS}) / (\dot{M}_{AS} + R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \rho_{vapor_{185^\circ C}}$

- $\rho = [(8.312 \text{ Kg/hs}) / (8.711 \text{ Kg/hs})] * (0,771 \text{ Kg/m}^3) + [(399 \text{ Kg/hs}) / (8.711 \text{ Kg/hs})] * (0,482 \text{ Kg/m}^3)$

- Obtenemos,  $\rho = 0,758 \text{ Kg/m}^3$

- $\mu = [\dot{M}_{AS} / (\dot{M}_{AS} + R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \mu_{AS_{285^\circ C}} + [(R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS}) / (\dot{M}_{AS} + R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \mu_{vapor_{285^\circ C}}$

- $\mu = [(8.312 \text{ Kg/hs}) / (8.711 \text{ Kg/hs})] * (5,04 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg}) + [(399 \text{ Kg/hs}) / (8.711 \text{ Kg/hs})] * (1,52 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg})$

- Obtenemos,  $\mu = 4,88 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg}$

4. Calculamos la velocidad con la que circula el aire dentro del tambor.

- $v = \dot{Q}/A = [\dot{M}_{AS} + (R_{H_2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * (1/\rho) / (\pi * r^2)$

- $v = (8.711 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/0,758 \text{ Kg}) / [\pi * (0,3 \text{ m})^2] = 11,30 \text{ m/seg}$

Volviendo al cálculo del número de Reynold.

- $Re = [(0,60 \text{ m}) * (0,758 \text{ Kg/m}^3) * (11,30 \text{ m/seg})] / (4,88 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg}) = 1,05 \times 10^5$

Con este valor y teniendo en cuenta que el material de construcción del tambor es acero, estimamos en valor de factor de fricción de Fanning (Figura 9.26).

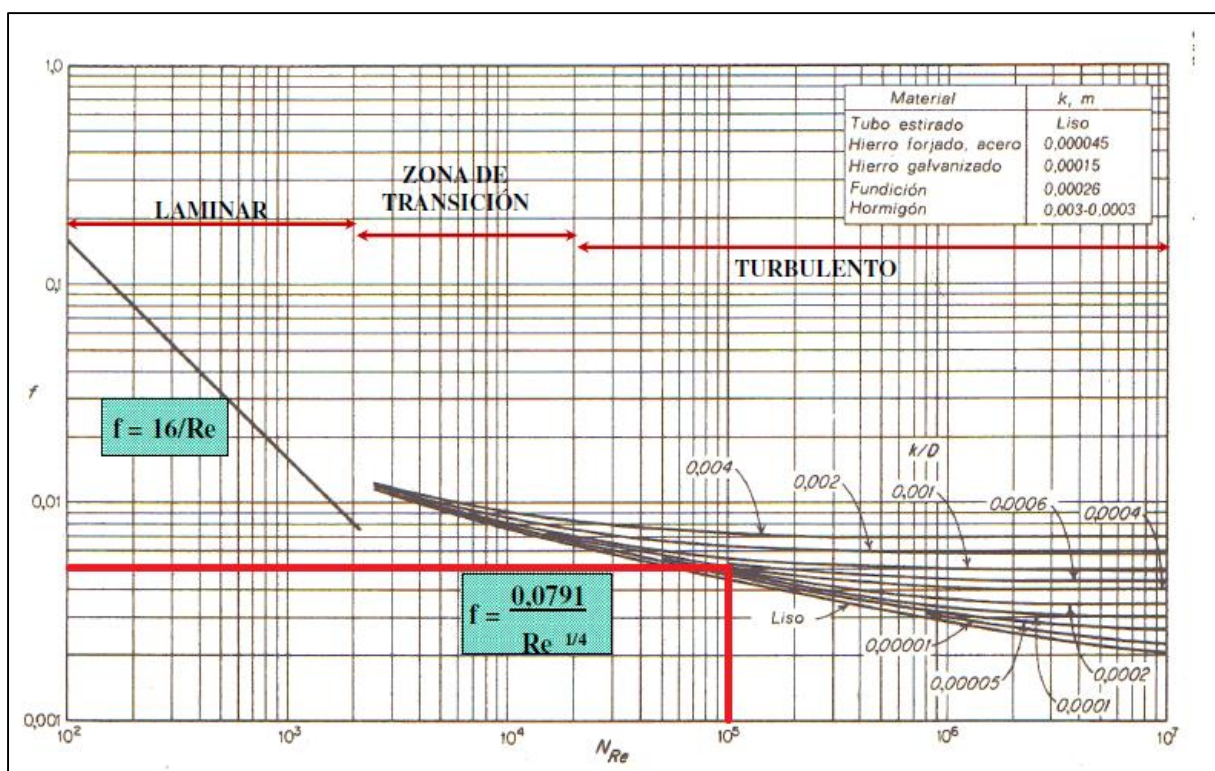


Fig. 9.26: Determinación de factor de fricción de Fanning para el tambor del secador rotativo.

- Estimamos el factor de fricción de Fanning,  $f \approx 0,005$

Entonces, conociendo la longitud, diámetro y velocidad del aire que circula dentro del tambor, podemos calcular la pérdida de carga.

- $h_f = 4 * 0,005 * (6 \text{ m}/0,6 \text{ m}) * [(11,30 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $h_f = 1,30 \text{ m}$

Volviendo a la ecuación de Bernoulli simplificada, tenemos:

- $(P_1/\gamma) = (P_2/\gamma) + h_f$
- $\Delta P = \gamma * h_f = \rho * g * h_f$
- $\Delta P = 1,30 \text{ m} * (0,758 \text{ Kg/m}^3) * (9,80 \text{ m/seg}^2) = 9,66 \text{ Pa}$

NOTA:

Considerando que la presión de entrada ( $P_1$ ) es la atmosférica (101.300 Pascales), la caída de presión de un extremo al otro del tambor es completamente despreciable.

### 9.3.1.2. Inclinación del tambor

En base al libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), utilizamos la siguiente ecuación para determinar la inclinación y velocidad de rotación del tambor rotativo.

- $S = 0,23 * L/N^{0.9} * D * \theta$

Siendo:

- S: Inclinación del tambor (ft/ft).
- $\Theta$ : Tiempo de retención (2,02 minutos).
- N: Velocidad de rotación (rpm).
- D: Diámetro interno del tambor (1,97 ft).
- L: Longitud del tambor (19,68 ft).

Probamos valores de velocidad de rotación para obtener diferentes niveles de inclinación, considerando que los mismos suelen rondar de 0.5 a 20 rpm y de 3 a 7 grados, respectivamente.

Considerando:

- $N_1 = 20 \text{ rpm}$
- $N_2 = 15 \text{ rpm}$
- $N_3 = 10 \text{ rpm}$

Entonces:

- $S_1 = [0,23 * (19,68 \text{ ft})] / [(20 \text{ rpm})^{0,9} * (1,97 \text{ ft}) * (2,02 \text{ min})] = 0,077 \text{ ft/ft}$
- $S_2 = [0,23 * (19,68 \text{ ft})] / [(15 \text{ rpm})^{0,9} * (1,97 \text{ ft}) * (2,02 \text{ min})] = 0,099 \text{ ft/ft}$
- $S_3 = [0,23 * (19,68 \text{ ft})] / [(10 \text{ rpm})^{0,9} * (1,97 \text{ ft}) * (2,02 \text{ min})] = 0,143 \text{ ft/ft}$

Lo que equivale a:

- $\alpha_1 = \sin^{-1}(0,077) = 4^\circ 24'$
- $\alpha_2 = \sin^{-1}(0,099) = 5^\circ 40'$
- $\alpha_3 = \sin^{-1}(0,143) = 8^\circ 13'$

Se opta por una inclinación de tambor de  $5^\circ$  y una velocidad rotacional de 15 rpm para tener mayor margen operacional.

### 9.3.2. Cabezales de entrada y salida

El equipo de secado posee en sus extremos un cabezal de entrada y otro de salida. El cabezal de entrada tiene aperturas para la instalación del quemador, la entrada de la alimentación. El cabezal de salida tiene aperturas para la salida del producto secado y otra para la succión del aire por el extractor centrifugo a través de una tubería.

El cabezal de entrada está constituido por 2 piezas, un disco y un cilindro, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.8.

Material	Acero ASTM-36	Material	Acero ASTM-36
Diámetro	1 m	Diámetro	1 m
Espesor	12,7 mm	Largo	1,5 m
Observación	Se realiza un corte de 600 x 600 mm en el centro	Espesor	12,7 mm
		Observación	Se realiza un corte de 500 mm de diámetro en la parte superior
Piezas de construcción	1 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1/2"	Piezas de construcción	3 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1/2"

Tabla 9.8: Características técnicas de las piezas que forman el cabezal de entrada.

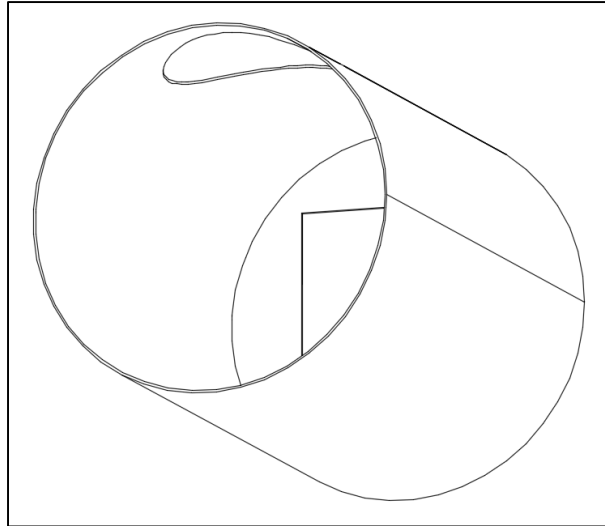


Fig. 9.27: Cabezal de entrada del secador rotativo.

El cabezal de salida está constituido por 2 piezas, un disco y un cilindro, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.9.

Material	Acero ASTM-36	Material	Acero ASTM-36
Diámetro	1 m	Diámetro	1 m
Espesor	6,35 mm	Largo	500 mm
Piezas de construcción	1 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1/2"	Espesor	6,35 mm
		Observación	Se realiza un corte de 273 mm de diámetro en la parte superior y otra rectangular de 700 x 300 mm en la inferior
		Piezas de construcción	2 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1/2"

Tabla 9.9: Características técnicas de las piezas que forman el cabezal de salida.



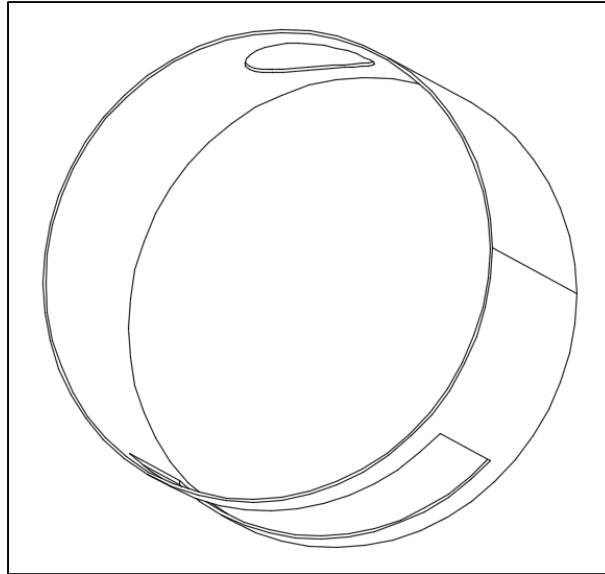


Fig. 9.28: Cabezal de salida del secador rotativo.

La soldadura entre los discos y los cilindros de ambos cabezales se hace con unión en esquina con filete interno único.

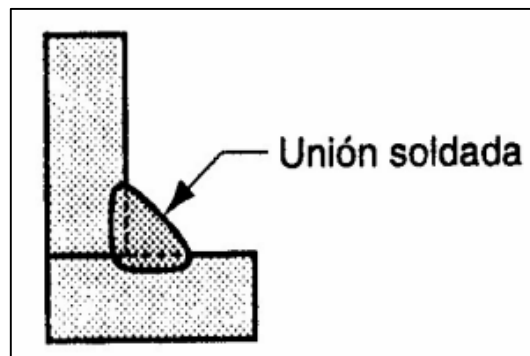


Fig. 9.29: Unión de esquina con filete interno único.

### 9.3.3. Ducto extractor de aire

La parte superior del cabezal de salida posee una abertura circular, la cual está conectada mediante un conducto al equipo extractor de aire. El ducto está constituido por 3 piezas, un tubo sin costura, un cono truncado y codo de 90°, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.10.

Material	Acero ASTM-36	Material	Acero ASTM-36	Material	Acero ASTM-36
Diám. Exterior	273 mm	Diámetro menor	273 mm	Diámetro (ext.)	273 mm
Largo	2 m	Diámetro mayor	696 mm	Espesor	4,19 mm (Sch 10)
Espesor	4,19 mm (Sch 10)	Altura	250 mm	Angulo	90°
Piezas de construcción	1 tubo a de 2,5 m de largo	Espesor	6,35 mm	Radio	250 mm
		Piezas de construcción	1 chapa de 4' x 8' y un espesor de 1/4"	Piezas de construcción	1 pieza

Tabla 9.10: Características técnicas de las piezas que forman el ducto extractor de aire.

Utilizando la soldadura de unión con bisel en V, se conforma el ducto extractor de aire como se muestra en la Figura 9.30.

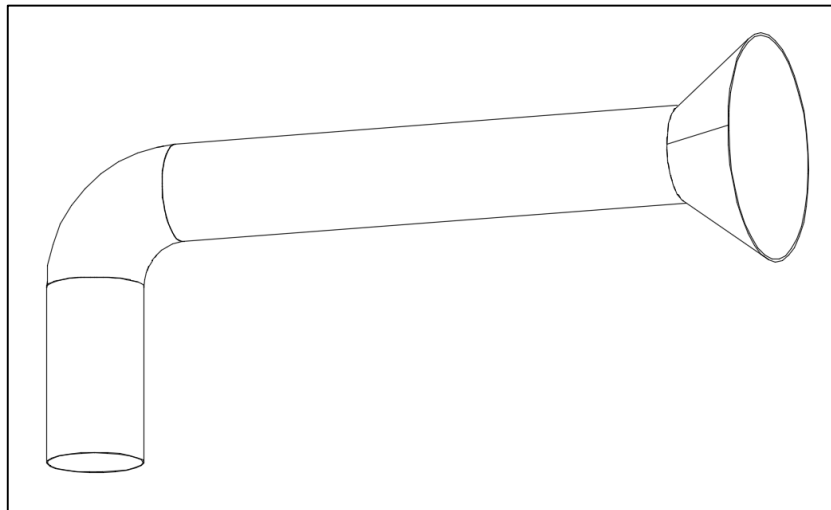


Fig. 9.30: Conformación de todas las piezas del ducto de aire.

### 9.3.3.1. Pérdida de carga en el ducto de aire

Debemos verificar la caída de presión del aire dentro del ducto entre el punto de descarga del tambor rotativo y la boca de salida del extractor centrifugo.

1. Se parte de la ecuación de Bernoulli.

$$\bullet \quad (P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$$

En base a la pérdida de carga en el punto de descarga del tambor rotativo (sección 9.1.1.1) y considerando que a la salida del extractor centrifugo la presión es la atmosférica, tenemos:

- $P_1 \approx P_2 \approx 101,3 \text{ KPa}$

Tomando en cuenta que el tramo vertical del ducto mide 0.5 metros de largo, entonces:

- $h_1 - h_2 = \Delta h = 0,5 \text{ metros}$

2. La sección transversal por la que circula el aire cambia en sus extremos, por lo que debemos calcular la velocidad del aire en cada punto con el caudal volumétrico del aire. Para ello, necesitamos saber las condiciones del aire que circula por el ducto, siendo estas una relación agua-aire seco de 0.087 Kg/Kg y una temperatura de 70°C.

- $\dot{V}_{AH} = \dot{M}_{AS} * [(1/\rho_{AS_{70^\circ C}}) + R_{H_2O/AS} * (1/\rho_{vapor_{70^\circ C}})]$
- $\dot{V}_{AH} = (8.312 \text{ Kg/hs}) * [(m^3 / 1,028 \text{ Kg}) + (0,087 \text{ Kg/Kg}) * (m^3 / 0,1983 \text{ Kg})]$
- $\dot{V}_{AH} = 11.732 \text{ m}^3/\text{hs}$

Calculamos el área transversal a la entrada del ducto.

- $A_1 = \pi * r^2$
- $A_1 = 3,14 * (0,1323 \text{ m})^2 = 0,055 \text{ m}^2$

Con la información técnica del extractor centrifugo seleccionado, modelo SBT69614 de la empresa “Czerweny®”, calculamos el área transversal a la salida de extractor centrifugo.

- $A_2 = (L_1 * L_2)$
- $A_2 = (0,517 \text{ m} * 0,672 \text{ m}) = 0,347 \text{ m}^2$

Calculamos las velocidades del flujo en cada área.

- $v = \dot{Q}/A$
- $v_1 = (11.732 \text{ m}^3/\text{hs})/0,055 \text{ m}^2 = 59,25 \text{ m/seg}$
- $v_2 = (11.732 \text{ m}^3/\text{hs})/0,347 \text{ m}^2 = 9,39 \text{ m/seg}$

3. Calculamos el coeficiente de pérdida de carga.

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g) + e_v * (v^2/2 * g)$

Determinamos el factor de fricción de Fanning mediante el diagrama de Moody, para ello determinamos el número de Reynold.

- $Re = (D * \rho * v) / \mu$

Considerando las condiciones del aire que circula por el ducto, siendo estas una relación agua-aire seco de 0.087 Kg/Kg y una temperatura de 70°C y el balance de energía en esta etapa (sección 8.1.1), calculamos la densidad y viscosidad del aire dentro del ducto.

- $\rho_{AH} = [\dot{M}_{AS} / (\dot{M}_{AS} + R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \rho_{AS70^\circ C} + [(R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS}) / (\dot{M}_{AS} + R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \rho_{vapor70^\circ C}$

- $\rho_{AH} = [(8.312 \text{ Kg/hs}) / (9.035 \text{ Kg/hs})] * (0,996 \text{ Kg/m}^3) + [(723 \text{ Kg/hs}) / (9.035 \text{ Kg/hs})] * (0,191 \text{ Kg/m}^3)$

- Obtenemos,  $\rho_{AH} = 0,931 \text{ Kg/m}^3$

- $\mu_{AH} = [\dot{M}_{AS} / (\dot{M}_{AS} + R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \mu_{AS70^\circ C} + [(R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS}) / (\dot{M}_{AS} + R_{H2O/AS} * \dot{M}_{AS})] * \mu_{vapor70^\circ C}$

- $\mu_{AH} = [(8.312 \text{ Kg/hs}) / (9.035 \text{ Kg/hs})] * (2,03 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg}) + [(723 \text{ Kg/hs}) / (9.035 \text{ Kg/hs})] * (1,13 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg})$

- Obtenemos,  $\mu_{AH} = 1,96 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg}$

Volviendo al cálculo del número de Reynold.

- $Re = [(0,2646 \text{ m}) * (0,931 \text{ Kg/m}^3) * (59,25 \text{ m/seg})] / (1,96 \times 10^{-5} \text{ Kg/m seg})$

- $Re = 7,45 \times 10^5$

Con ese valor y teniendo en cuenta que el material de construcción del ducto es acero, estimamos en valor de factor de fricción de Fanning (Figura 9.31).

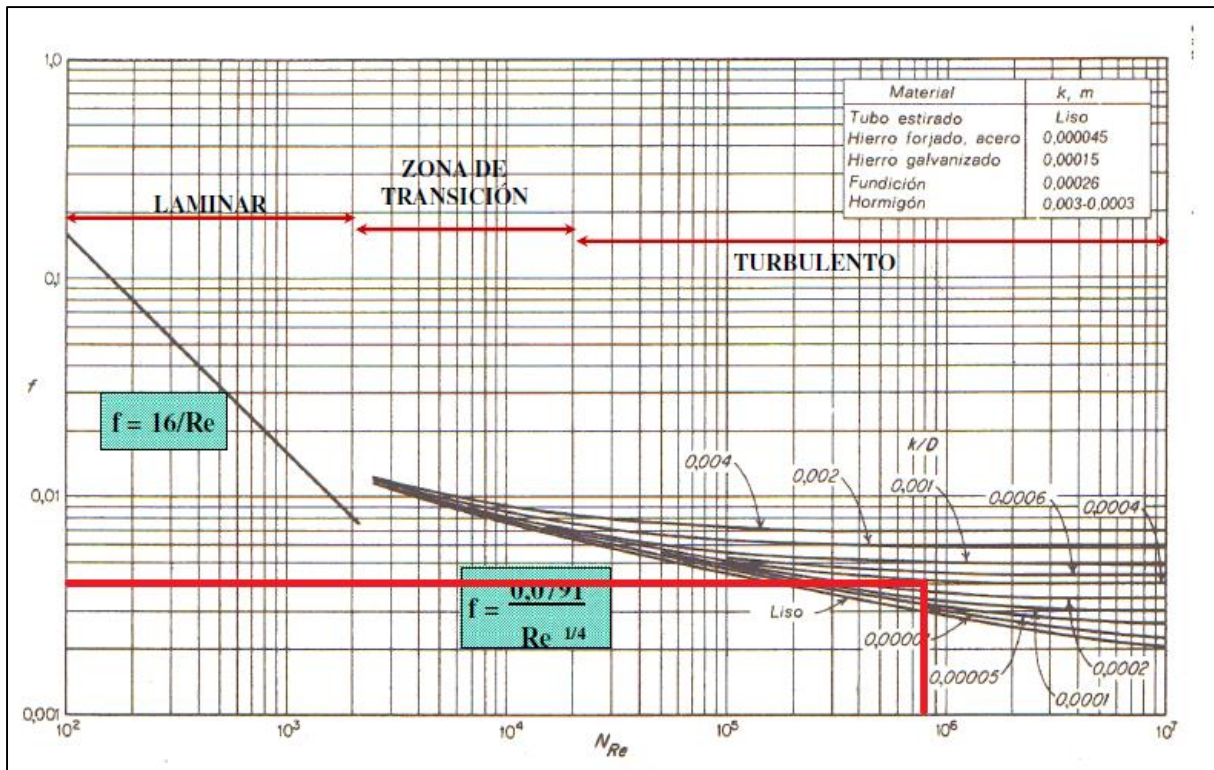


Fig. 9.31: Determinación de factor de fricción de Fanning para el ducto de aire.

- Estimamos el factor de fricción de Fanning,  $f \approx 0,004$

Estimamos la longitud equivalente para un codo suave de 264.62 mm, lo que es igual a 10.42 pulgadas, de diámetro interno y la longitud equivalente para una expansión brusca con una relación de ensanche de 0.42.

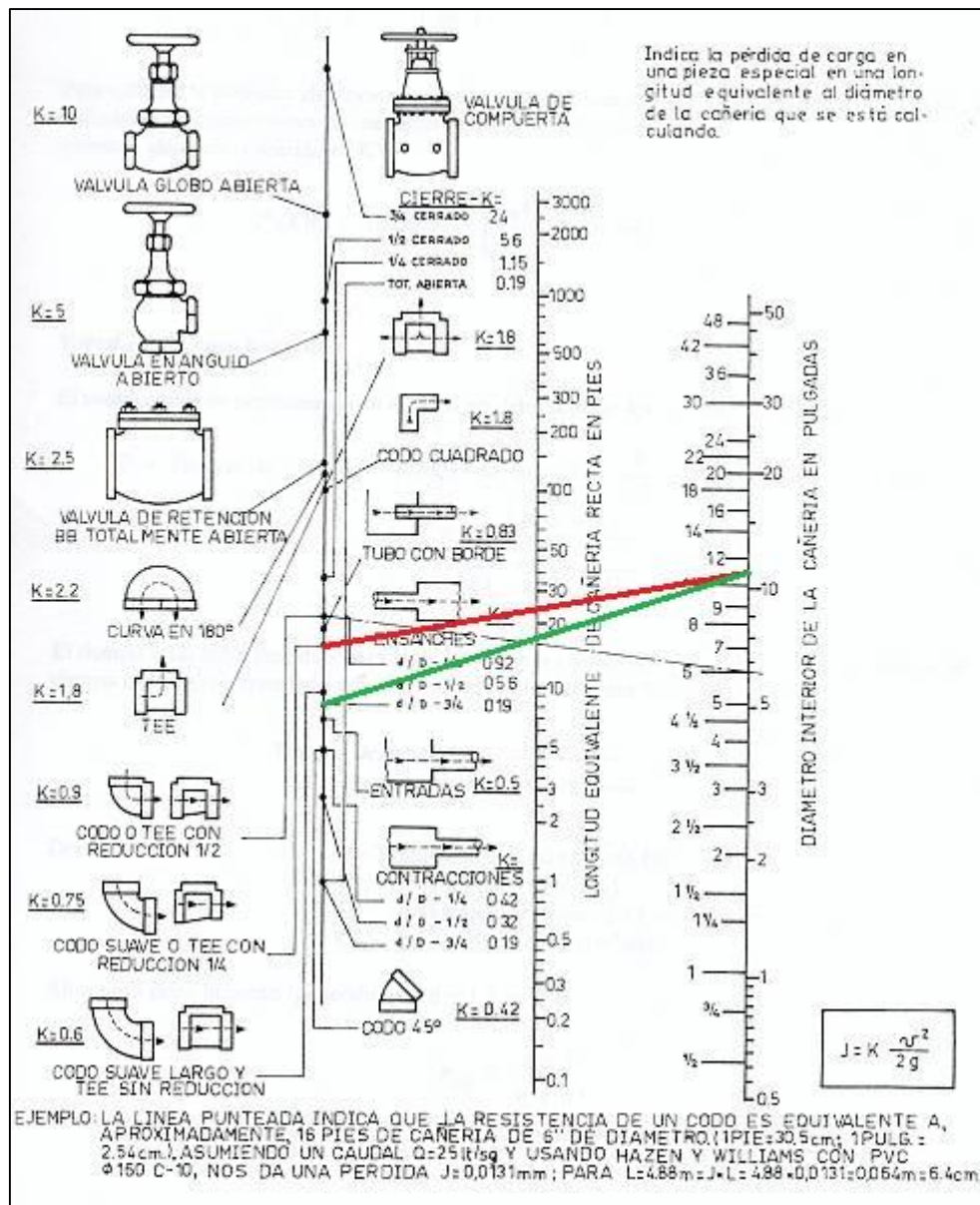


Fig. 9.32: Longitudes equivalentes para artefactos en cañerías.

- Encontramos,  $L_{Eq\ codo} \approx 25\ ft = 7,60\ m$
- Encontramos,  $L_{Eq\ EB} \approx 18\ ft = 5,50\ m$

Por último, estimamos las pérdidas de carga secundarias por cada accesorio instalado.

<i>Cambios bruscos del área de la sección transversal<sup>b</sup> e<sub>v</sub></i>	
Entrada normal de tubería	0,05
Contracción brusca	$0,45(1 - \beta)$
Ensanchamiento brusco <sup>c</sup>	$\left(\frac{1}{\beta} - 1\right)^2$
Orificio (de borde afilado)	$2,7(1 - \beta)(1 - \beta^2) \frac{1}{\beta^2}$
<i>Accesorios y válvulas</i>	
Codos de 90° (curvados)	0,4-0,9
Codos de 90° (en ángulo)	1,3-1,9
Codos de 45°	0,3-0,4
Válvula de asiento (abierta)	6-10
Válvula de compuerta (abierta)	0,2

Fig. 9.33: Coeficientes de pérdidas de carga secundarias por artefactos instalados.

- Encontramos,  $e_v$  codo  $\approx 0,65$

Por otro lado:

- $e_v \text{ exp} = \left[\left(\frac{1}{\beta}\right) - 1\right]^2$

Siendo:

- $\beta = A_{\text{Mayor}}/A_{\text{Menor}}$
- $\beta = 0,3136 \text{ m}^2/0,1323 \text{ m}^2 = 2,37$

Entonces:

- $e_v \text{ exp} = \left[\left(\frac{1}{2,37}\right) - 1\right]^2 = 0,33$

Conociendo las longitudes, diámetro interno y la velocidad del aire que circula por dentro del ducto, podemos calcular la pérdida de carga total.

- $h_f = 4 * 0,004 * [(2 \text{ m} + 7,60 \text{ m} + 5,50 \text{ m}) / 0,2646 \text{ m}] * [(59,25 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)] + (0,65 + 0,33) * [(59,25 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $h_f = 339 \text{ m}$

4. Debemos calcular la potencia necesaria para vencer la pérdida de carga en el ducto. Entonces, volviendo a la ecuación de Bernoulli, nos queda simplificada como:

- $(v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$
- $W = \Delta h + h_f + [(v_2^2 - v_1^2)/2 * g]$
- $W = 0,5 \text{ m} + 339 \text{ m} + [(9,39 \text{ m/seg})^2 - (59,25 \text{ m/seg})^2]/(2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)$
- $W = 165 \text{ m}$

Debemos expresar este valor de altura de fluido en términos de potencia de la siguiente manera:

- $W = h * \rho_{AH} * \dot{V}_{AH}$
- $W = 165 \text{ m} * 0,931 \text{ Kg/m}^3 * 3,26 \text{ m}^3/\text{seg} = 500,8 \text{ Kg m/seg}$
- Considerando: 1 HP = 75 Kg m/seg
- $W = 6,68 \text{ HP} = 4,98 \text{ kW}$

### 9.3.4. Sistema de rotación

El sistema de rotación del secador de tambor rotativo se diseña en base al proyecto de grado “Diseño mecánico de horno rotatorio de funcionamiento horizontal” (S. Orduz Aladino, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, 2012), debido a su semejanza dimensional y mecánica respecto del nuestro.

#### 9.3.4.1. Pistas de rodaduras y rodillos de apoyo

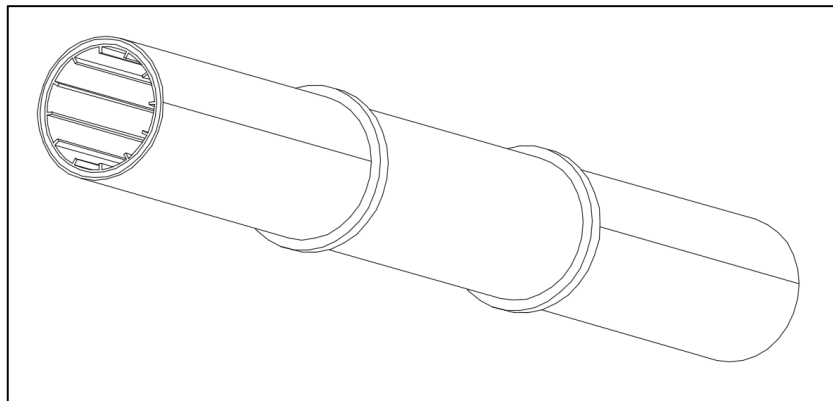
Al tambor se debe soldar una pista externa de rodadura por cada apoyo. Estos están compuestos por dos rodillos ubicados a un ángulo de 30° respecto al eje vertical, buscando reducir la magnitud de las reacciones laterales en la estructura que se generan cuando dicho ángulo se aproxima a 45°. Las características constructivas de las pistas de rodaduras se muestran en la Tabla 9.11.



Material	Acero ASTM-36
Largo	76,2 mm
Espesor	63,5 mm
Cantidad	2 pistas
Disposición	Equidistantes a lo largo del tambor
Piezas de construcción	1 chapa de 4' x 8' y un espesor de 2 1/2"

*Tabla 9.11:* Características técnicas de las pistas de rodadura.

La soldadura de las pistas con el tambor se hace con unión en T de doble filete. La conformación entre las pistas de rodadura y el tambor se muestra en la Figura 9.34.



*Fig. 9.34:* Tambor con pistas de rodaduras instaladas.

Las características constructivas de los rodillos de apoyo se muestran en la Tabla 9.12.

Material	Hierro fundido ASTM-47
Diámetro	254 mm
Longitud	101,6 mm
Cantidad	2 rodillos por cada pista de rodadura
Piezas de construcción	Moldeados con el material especificado y terminados por torneado

*Tabla 9.12:* Características técnicas de los rodillos de apoyo.

Se deja un margen de 25.4 mm en la longitud de los rodillos para tolerar los desplazamientos axiales por dilatación térmica de la estructura cilíndrica.

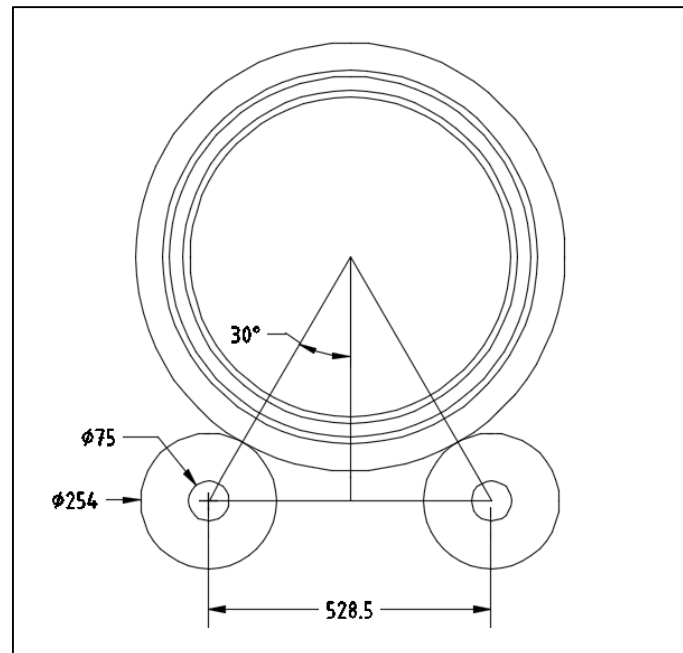


Fig. 9.35: Acoplamiento de los rodillos con las rodaduras del tambor rotatorio.

#### 9.3.4.2. Ejes de rodillos

Cada rodillo está apoyado sobre 2 rodamientos y un eje central. El dimensionamiento de dicho eje se realiza teniendo en cuenta las cargas flectoras fluctuantes que transmite cada rodillo. Las características constructivas de los ejes de los rodillos se muestran en la Tabla 9.13.

Material	Acero SAE 1045
Diámetro	75 mm
Longitud	320 mm
Cantidad	1 eje por cada rodillo de apoyo
Piezas de construcción	1 barra de perfil redondo de 76,2 mm de diámetro y 2 metros de largo

Tabla 9.13: Características técnicas de los ejes de los rodillos.

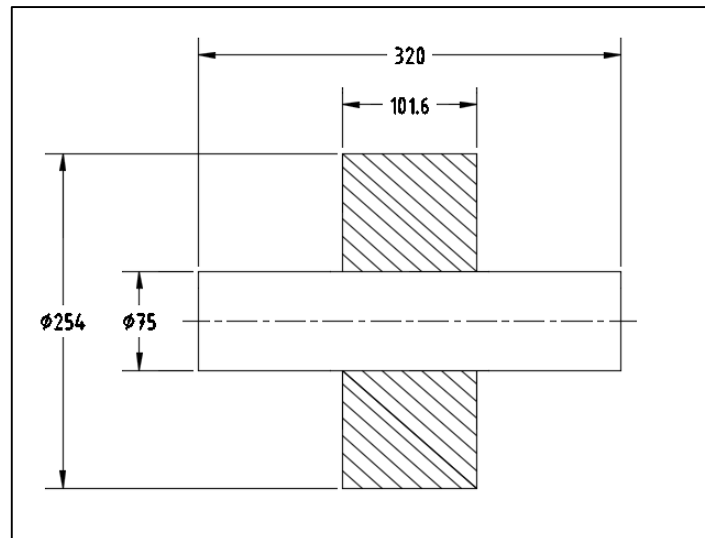


Fig. 9.36: Conformación de los rodillos y el eje de rotación.

### 9.3.4.3. Rodamientos

Para la instalación de cada rodillo se requiere 2 rodamientos de soporte. Se utiliza el catálogo del fabricante de rodamientos “SKF®” para determinar el tipo y modelo de rodamiento adecuado según el diámetro del eje que se busca sostener. Se seleccionaron los rodamientos de rodillos a rótula con manguito de fijación, modelos 22215 EK y H 317 de la empresa “SKF®”.

Los rodamientos de rodillos a rótula tienen dos hileras de rodillos simétricos, un camino de rodadura esférico común en el aro exterior y dos caminos de rodadura en el aro interior inclinados de manera tal que forman un ángulo respecto del eje del rodamiento. El punto central de la esfera del camino de rodadura en el aro exterior se encuentra en el eje del rodamiento.

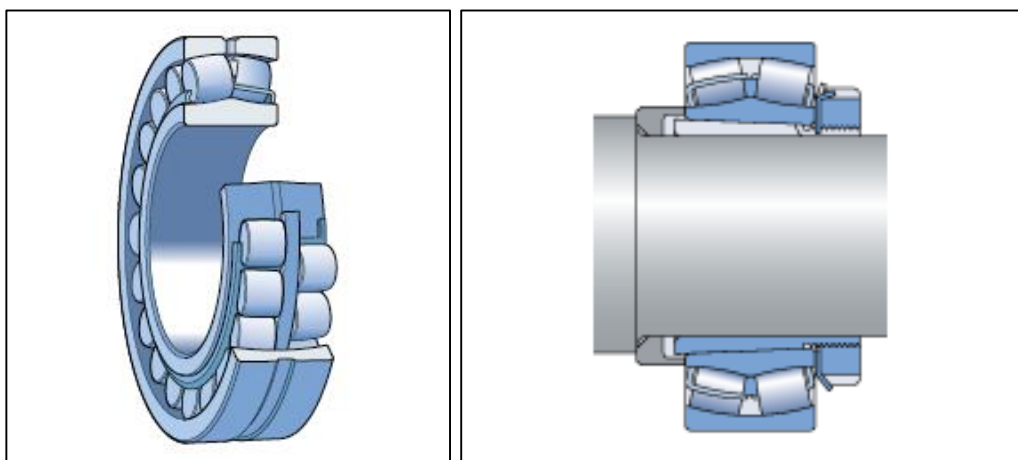


Fig. 9.37: A la izquierda, esquema de un rodamiento de rodillos a rótula. A la derecha, un manguito de fijación instalado en el mismo rodamiento.

Los rodamientos de rodillos a rótula tienen dos hileras de rodillos simétricos, un camino de rodadura esférico común en el aro exterior y dos caminos de rodadura en el aro interior inclinados de manera tal que forman un ángulo respecto del eje del rodamiento. El punto central de la esfera del camino de rodadura en el aro exterior se encuentra en el eje del rodamiento. Los manguitos de fijación son los componentes utilizados para fijar los rodamientos.

Los rodamientos de rodillos se montan en unidades resistentes que son ensambladas, lubricadas y selladas en la fábrica. Se seleccionaron las unidades de rodamiento de rodillos, modelo ConCentra SYNT 75 FW de la empresa “SKF®”.

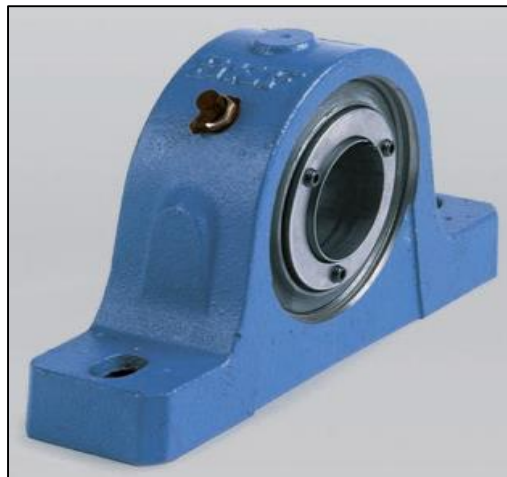


Fig. 9.38: Unidades de rodamientos.

El conjunto de unidades de rodamiento, rodillos de apoyo y ejes se conforman como se muestra en la Figura 9.39.

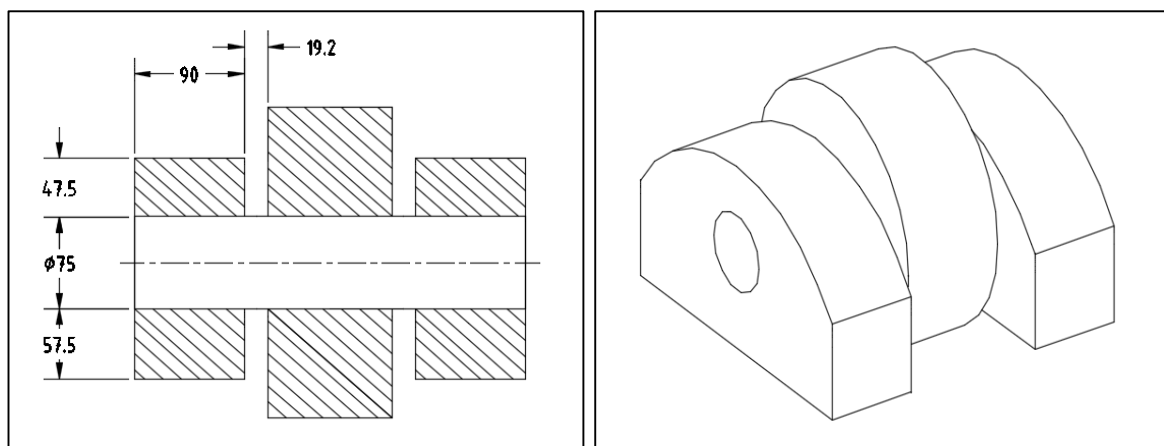


Fig. 9.39: Conformación del conjunto rodillos, ejes y unidades de rodamientos.

El conjunto de rodamiento debe montarse sobre un soporte que proporcione una base estable y permita la libre rotación de los rodillos. Para ello, se construye por moldeo un armazón de hierro fundido ASTM A-47 con las dimensiones detalladas en la Figura 9.40.

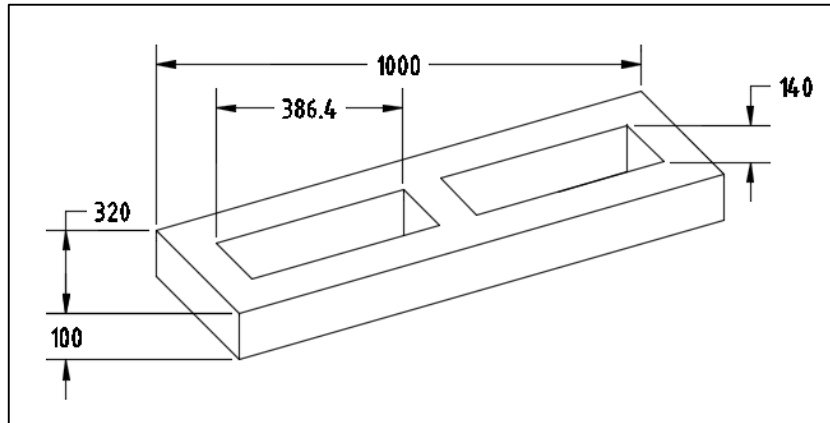


Fig. 9.40: Dimensiones del armazón de soporte para el conjunto de rodamientos.

El conjunto de rodamientos y el armazón de soporte se conforman como se muestra en la Figura 9.41.

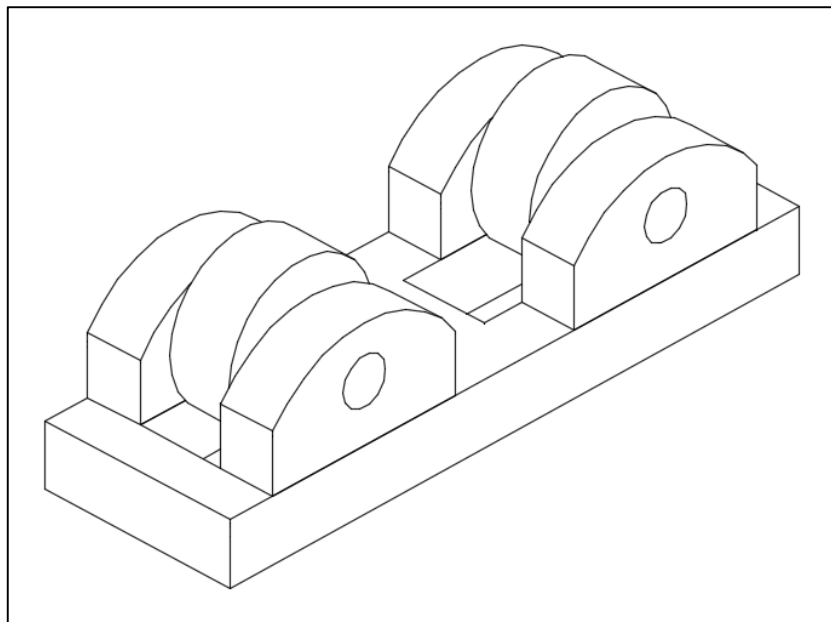


Fig. 9.41: Conformación del conjunto de rodamiento y el armazón de soporte.

#### 9.3.4.4. Conjunto corona-piñón

La transmisión de potencia entre el eje de accionamiento del motor eléctrico y el tambor se hace a través de un par de engranajes rectos, que conforman el conjunto piñón-corona.



Fig. 9.42: Conjunto corona-piñón de un tambor de horno rotativo.

Según el trabajo de grado “Puesta en marcha de un horno rotatorio para altas temperaturas” (A. Montes y A. Perrea, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 1996), se realizan los siguientes cálculos para el dimensionamiento del conjunto corona-piñón:

- $P = 2 * 180^\circ / Z$
- $M = D_e / Z + 2$
- $D_e = D_r + 2 * H$
- $D_p = Z * M$
- $D_r = D_p - (2 * M * 1.25)$
- $S = \pi * M * 19/40$
- $H = 2.25 * M$
- $L = 10 * M$

Donde:

- P: Es el arco de circunferencia, sobre la circunferencia primitiva, entre los centros de los dientes consecutivos.
- Z: Es el número total de dientes de la corona del engranaje en toda su circunferencia.
- M: Módulo. Es la relación que existe entre el diámetro primitivo y el número de dientes. Es una magnitud de longitud, expresada en milímetros, para que dos engranajes puedan engranar tienen que tener el mismo módulo, el módulo podría tomar un valor cualquiera, pero en la práctica está normalizado según el siguiente criterio:

- De 1 a 4 en incrementos de 0,25 mm.
  - De 4 a 7 en incrementos de 0,50 mm.
  - De 7 a 14 en incrementos de 1 mm.
  - De 14 a 20 en incrementos de 2 mm.
- $D_e$ : Diámetro exterior. Es el diámetro de la circunferencia que limita la parte exterior del engranaje.
  - $D_p$ : Diámetro primitivo. Es la circunferencia a lo largo de la cual engranan los dientes.
  - $D_i$ : Diámetro interno. Es el que corresponde a la circunferencia de raíz.
  - $S$ : Espesor de dientes. Es ancho del diente sobre la circunferencia primitiva.
  - $H$ : Altura del diente. Es la distancia entre la circunferencia raíz y la exterior.
  - $L$ : Longitud del diente. Es la anchura de la corona, sobre la que se tallan los dientes.

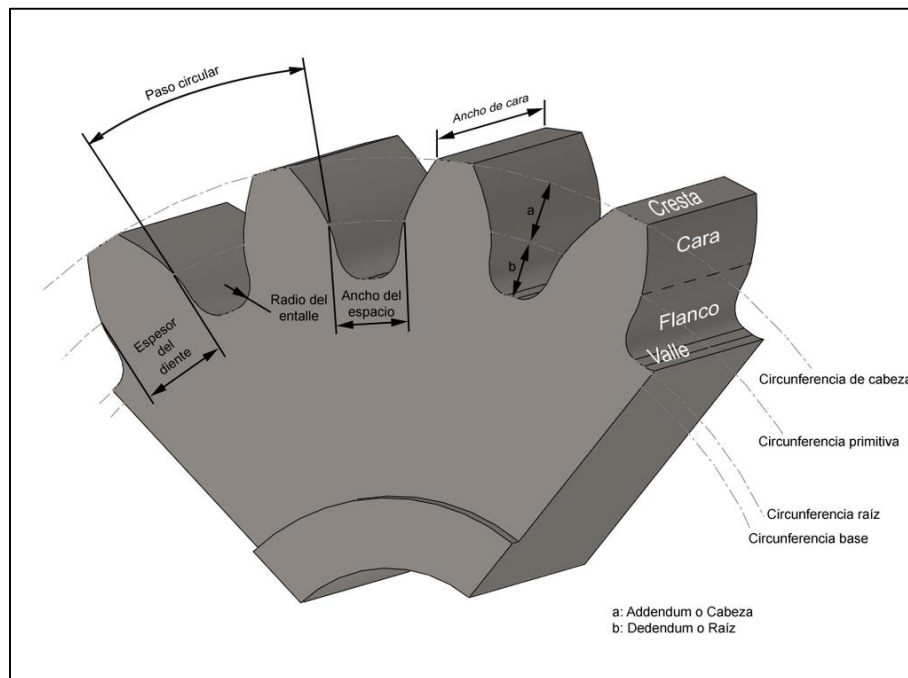


Fig. 9.43: Descripción de las dimensiones características de un engranaje.

En base a recomendaciones del trabajo de grado mencionado previamente, se opta por un módulo de 8, un ángulo de presión de  $14.5^\circ$  y un diámetro de raíz de 0.8031 metros, igual al diámetro exterior de las pistas de rodadura.

Al establecer la relación de diámetro primitivo corona-piñón, debe tenerse presente que los valores pequeños son utilizados para desarrollar altas velocidades de giro y valores grandes para bajas. Según el catálogo de la empresa de agropartes “Catalano®”, se opta por una relación corona-piñón de 5:1.

Relaciones entre coronas y piñones					
Velocidades altas		Velocidades medias		Velocidades bajas	
Relación $D_p$	Relación Z	Relación $D_p$	Relación Z	Relación $D_p$	Relación Z
2.64	14 - 37	3.90	10 - 39	5.29	7 - 37
2.79	14 - 39	3.91	11 - 43	5.86	7 - 41
2.80	15 - 42	4.10	10 - 41	6.14	7 - 43
2.93	14 - 41	4.11	9 - 37	6.43	7 - 45
3.07	14 - 43	4.33	9 - 39	6.83	6 - 41
3.21	14 - 45	4.63	8 - 37	7.17	6 - 43
3.42	12 - 41	4.88	8 - 39		
3.58	12 - 43				
3.73	11 - 41				

*Tabla 8.14:* Relación de diámetro primitivo y número de dientes para el conjunto corona-piñón de acuerdo a su finalidad.

Realizando la secuencia de cálculo con las ecuaciones previamente establecidas, obtenemos las características dimensionales del conjunto corona-piñón que se muestran en la Tabla 9.15.

Parametros	Corona	Piñon
Módulo (M)	8	8
Nro. de dientes (Z)	103	21
Arco de circ. (P)	3.50	17.51
Diám. interior ( $D_i$ )	803.1	144.46
Diám. exterior ( $D_e$ )	838.3	180.46
Diám. primitivo ( $D_p$ )	822.3	164.46
Esp. de dientes (S)	11.93	11.93
Alt. de dientes (H)	18	18
Long. de dientes (L)	80	80

*Tabla 9.15:* Características dimensionales del conjunto corona-piñón.

Como puede observarse, el número de dientes por corona y piñón se corresponden con los establecidos en los catálogos de la empresa autopartista. Finalmente, la conformación del conjunto corona-piñón se



realiza a partir de una pieza de acero SEA 1045 que es cortada, torneada y frezada hasta alcanzar la forma y dimensiones necesarias.

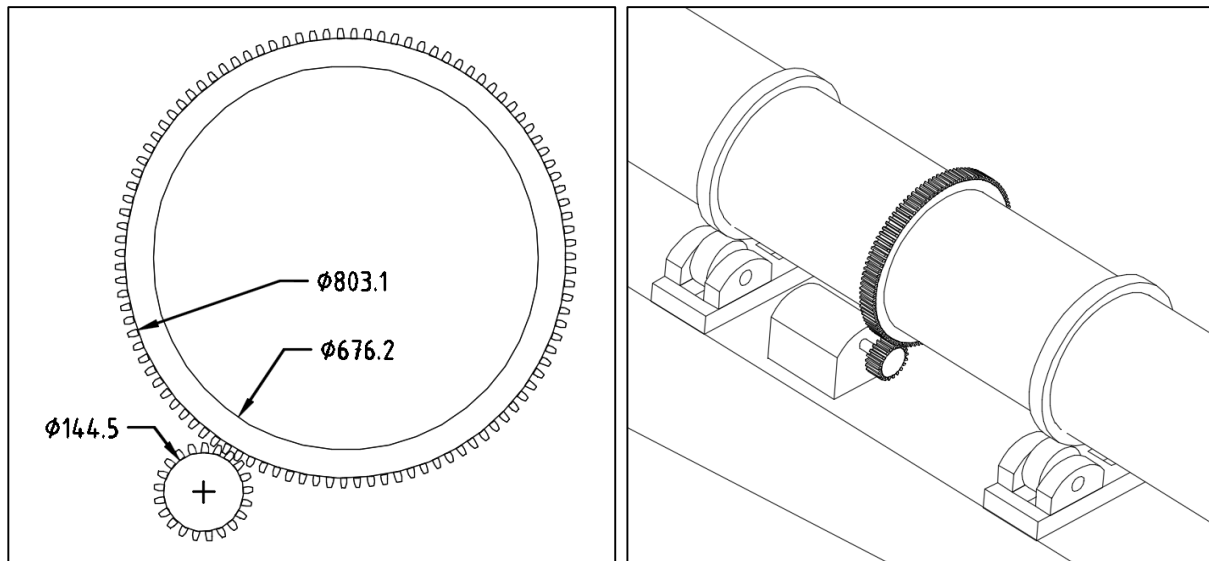


Fig. 9.44: A la izquierda, conjunto corona-piñón. A la derecha, conformación junto al tambor rotatorio.

### 9.3.5. Estructuras de apoyo

El equipo descansa sobre una estructura fija con características dimensionales que aseguren los requisitos operacionales. Para ello, se monta una estructura de hormigón para el apoyo de los rodamientos.

1. Según el programa informático “Autodesk AutoCAD®”, con el cual se ha diseñado la estructura de apoyo, su volumen es de  $3.10 \text{ m}^3$ . Para su construcción en hormigón estructural tipo H30, debemos tener en cuenta los reglamentos CIRSOC 201 (Reglamento Argentino de Estructuras de Hormigón) con las siguientes consideraciones:

- Clasificación: Hormigón estructural, tipo H30.
- Materiales: Cemento portland, agua, arena y piedra granítica.
- Resistencia mínima: 300 MPa.
- Contenido mínimo de cemento:  $440 \text{ Kg/m}^3$ .
- Relación agua-cemento: 0,5 (En peso).
- Relación cemento-arena-piedra: 1:3:3 (En volumen).
- Tamaño máximo de agregado grueso: 32 mm.

Calculamos la cantidad de cemento (CM), agua y áridos (AR) necesarios.

- $CM = V_{\text{Total}} * CM_{\text{mín}}$
- $CM = (3,10 \text{ m}^3/\text{Obra}) * (440 \text{ Kg}/\text{m}^3) = 1.364 \text{ Kg CM}/\text{Obra}$

NOTA:

Para la preparación del hormigón se seleccionó el cemento portland compuesto CPC 40 de la empresa “Cementos Avellaneda®”.

En cuanto al agua, tenemos:

- $H2O = CM * R_{H2O/CM}$
- $H2O = (1.364 \text{ Kg CM}/\text{Obra}) * (0,5 \text{ Kg H2O}/\text{Kg CM})$
- $H2O = 682 \text{ Kg H2O}/\text{Obra}$

Para el cálculo de los áridos debemos considerar las densidades, siendo la del cemento 3.150 Kg/m<sup>3</sup>, y tanto la de la arena como la grava 1.500 Kg/m<sup>3</sup>. Por lo tanto:

- $AR = R_{AR/CM} * \rho_{AR} * CM * (1/\rho_{CM})$
- $AR = (6 \text{ m}^3 \text{ AR}/1 \text{ m}^3 \text{ CM}) * (1.500 \text{ Kg AR}/\text{m}^3) * (1.364 \text{ Kg CM}/\text{Obra}) * (\text{m}^3/3.150 \text{ Kg})$
- $AR = 3.900 \text{ Kg AR}/\text{Obra}$

Para conformar la estructura se usan encofrados de madera, donde se deja madurar el hormigón por un periodo de 7 días. Posterior a ese tiempo, el hormigón prosigue el proceso de madurado hasta los 28 días, pero sin la necesidad del encofrado.

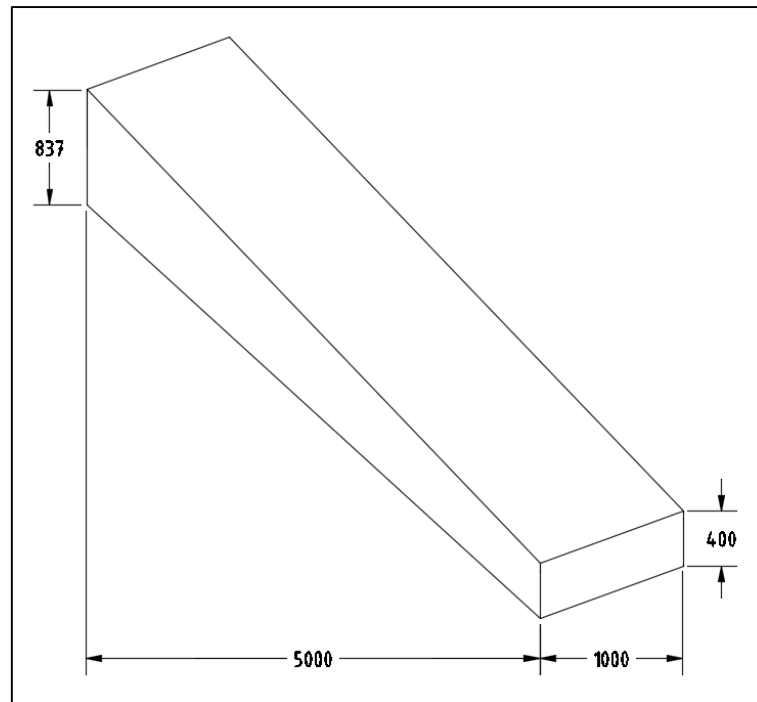


Fig. 9.45: Dimensiones de la base de hormigón del secador.

A su vez, se monta otra estructura de ladrillo refractario para sostener el cabezal de entrada y contener el calor dentro del mismo. Las características de los materiales de la estructura de apoyo del cabezal de entrada se muestran en la Tabla 9.16.

Dimensiones	225 x 112,5 x 62,5 mm	Tipo	Húmedo
Temp. máx. de uso	1700 °C	Temp. máx. de uso	1700 °C
Rotura por compresión	250 Kg/cm <sup>2</sup>	Aplicación	180 Kg cada 1000 ladrillos
Peso específico	2,25 g/cm <sup>3</sup>		

Tabla 9.16: Características técnicas de los materiales del apoyo estructural para el cabezal de entrada.

- Según el programa informático “Autodesk AutoCAD®”, con el cual se ha diseñado la estructura de apoyo del cabezal, su volumen es de 2.84 m<sup>3</sup>.

Calculamos la cantidad de ladrillos refractarios (LR) necesarios.

- $LR = V_T / V_{LR}$
- $LR = (2,84 \text{ m}^3 / \text{Obra}) / [(0,225 \text{ m} * 0,112 \text{ m} * 0,062 \text{ m}) / LR] = 1.818 \text{ LR} / \text{Obra}$

Calculamos la cantidad de mortero refractario (MR) necesario.

- $MR = (1.818 \text{ LR/Obra}) * (180 \text{ Kg MR}/1.000 \text{ LR}) = 328 \text{ Kg MR/Obra}$

Los materiales de construcción utilizados son ladrillos refractarios de alta alúmina (40%), línea SI, y mortero refractario húmedo A1 W, línea CARBOMOR, ambos de la empresa “Suinsa Argentina®”.

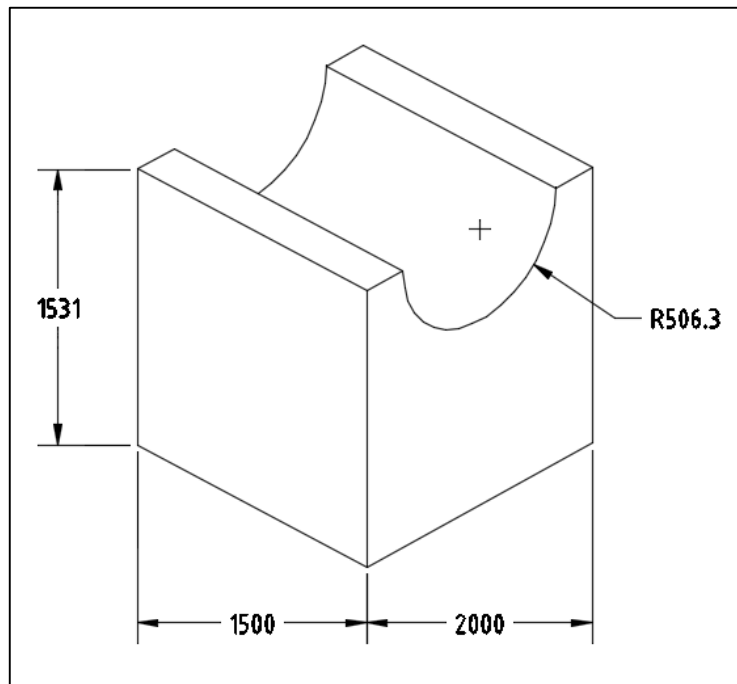


Fig. 9.46: Dimensiones de la estructura de ladrillo refractario para el cabezal de entrada del secador.

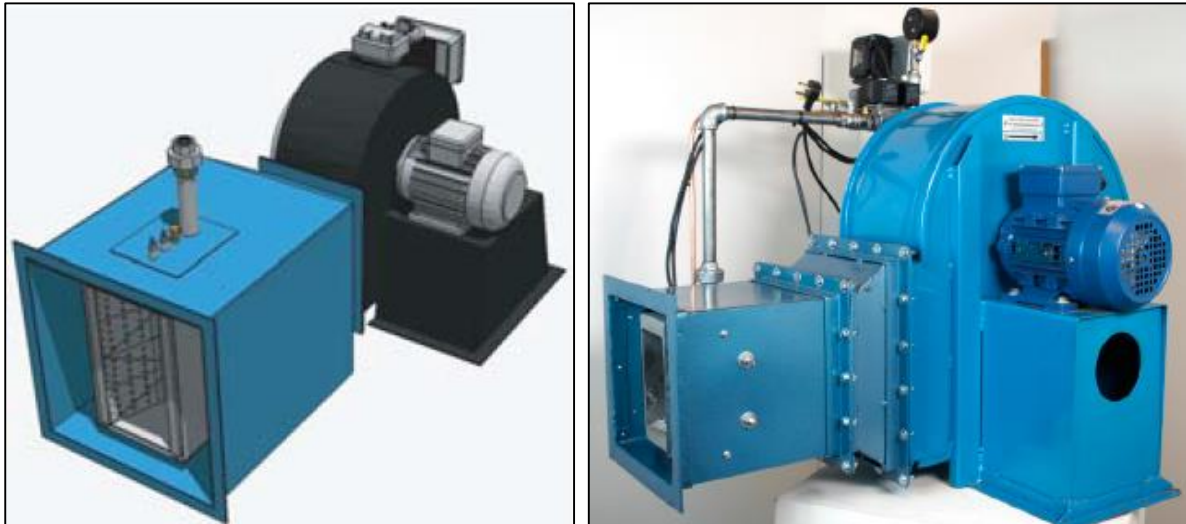
### 9.3.6. Quemador de aire

El quemador se encarga suministrar el calor necesario para calentar el aire que circula dentro del tambor rotativo, y así, extraer el agua del orujo de uva. Según los cálculos del balance de energía (sección 8.1.1), el calor necesario para llevar a cabo la operación de secado es de 512.000 Kcal/hs.

Por lo tanto, se seleccionó un quemador, modelo MJ3 de la empresa “Wayler®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.17.

Capacidad	700.000 a 900.000 Kcal/hs
Tipo	Ducto bridado
Dimensiones	600 x 600 mm
Potencia eléctrica	1 kW

*Tabla 9.17:* Especificaciones técnicas del quemador de aire.



*Fig. 9.47:* Quemador de aire con ducto bridado, modelo MJ3.

### 9.3.7. Extractor centrifugo

El extractor centrifugo se encarga succionar el aire del tambor rotativo e impartir el flujo de aire necesario. Según cálculos del caudal de aire y potencia necesarios (sección 9.3.3.1), se seleccionó un extractor centrifugo, modelo SBT59028 de la empresa “Czerweny®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.18.

Material	Chapa galvanizada
Capacidad	290 m <sup>3</sup> /min
Boca de entrada	696 mm (∅)
Boca de salida	517 x 672 mm
Velocidad de giro	2.800 rpm
Potencia eléctrica	14,9 kW

*Tabla 9.18:* Especificaciones técnicas del extractor centrifugo.



Fig. 9.48: Extractor centrifugo, modelo SBT59028.

### 9.3.8. Motor eléctrico

El motor eléctrico es el encargado de generar la fuerza que se transmite al sistema de rotación y provocar el giro del tambor. Se debe determinar la potencia de accionamiento para hacer rotar el horno a la velocidad de operación requerida. Se lo sobreestima una velocidad de rotación de 20 rpm, el cual es el límite superior de operación de este equipo.

1. En base al libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), se utiliza la siguiente ecuación para determinar la potencia requerida por un horno de tambor rotativo:

- $$P = N * [18,85 * y * (\text{sen } \beta) * \omega + 0,1925 * D * W + 0,33 * W/100.000]$$

Siendo:

- P: Potencia requerida (HP).
- y: Distancia entre el centro del tambor y centro del lecho del material (ft).
- $\beta$ : Angulo de reposo del material (grados).
- N: Velocidad rotacional (rpm).
- $\omega$ : Carga viva del material (lbs).
- W: Carga rotativa total (lbs).
- D: Diámetro del anillo de asiento-pista de rodadura (ft).

2. Para el cálculo de la carga viva del material, se toman en cuenta los datos del balance de materia (sección 7.1.2.2), pero sobreestimaremos el volumen del tambor que ocupa el orujo de uva al valor límite de 15% con el que suelen operar estos equipos.

- $\omega = 0,15 * V_{\text{Tambor}} * \rho_{\text{OU}}$
- $\omega = 0,15 * 1,70 \text{ m}^3 * (372 \text{ Kg/m}^3) = 94,86 \text{ Kg}$
- Expresado en termino de libras, tenemos:  $\omega = 209,13 \text{ Lbs}$

3. Para el cálculo de la carga rotativa total, se considerada una densidad del acero al carbono ASTM A-53 de  $7.850 \text{ Kg/m}^3$  y el volumen de cada una de las piezas de acero que constituyen el tambor rotativo determinadas mediante el programa informático “Autodesk AutoCAD®”

Tenemos:

- Cilindro interno:  $0,1467 \text{ m}^3$ .
- Barras interiores:  $0,0274 \text{ m}^3$ .
- Anillos de refuerzo:  $0,0182 \text{ m}^3$ .
- Cilindro exterior:  $0,1651 \text{ m}^3$ .

Entonces:

- $W = (0,1467 \text{ m}^3 + 0,0274 \text{ m}^3 + 0,0182 \text{ m}^3 + 0,1651 \text{ m}^3) * (7.850 \text{ Kg/ m}^3) + 94,86 \text{ Kg}$
- $W = 2.900 \text{ Kg}$
- Expresado en termino de libras, tenemos:  $W = 6.395 \text{ Lbs}$

4. Con ayuda del programa informático “Autodesk AutoCAD”, averiguamos el ángulo de reposo del material ( $\beta$ ) y la distancia entre en centro del tambor y el centro del lecho del material ( $y$ ), siendo los mismos  $95^\circ$  y  $0.82 \text{ ft}$ , respectivamente.

Por otro lado, el diámetro del anillo de asiento ( $D$ ) coincide con el diámetro exterior del tambor, ya que los rodillos se apoyarán directamente con la superficie externa del tambor. Por lo tanto, el diámetro del anillo de asiento es  $2.218 \text{ ft}$ .

5. Calculamos la potencia necesaria del motor.

- $P = (20 \text{ rpm}) * [18,85 * (0,82 \text{ ft}) * (\text{sen } 95^\circ) * (209.13 \text{ Lbs}) + 0,1925 * (2,218 \text{ ft}) * (6.395 \text{ Lbs}) + 0,33 * (6.395 \text{ Lbs}) / 100.000]$
- Obtenemos:  $P = 1,63 \text{ HP} = 1,22 \text{ kW}$

6. Los motores eléctricos suelen tener rendimientos que van desde el 70 al 90%. Considerando una eficiencia eléctrica ( $\eta_E$ ) del 70%, calculamos la potencia real ( $P_{\text{Real}}$ ) requerida.

- $POT_{\text{Real}} = POT_{\text{Teórica}} / \eta_E$
- $POT_{\text{Real}} = 1,22 \text{ kW} / 0,70 = 1,74 \text{ kW}$

7. Por último, teniendo en cuenta la clasificación del motor según la “National Electrical Manufacturers Association (NEMA)”, se aplicó un factor de arranque de 1.5 al valor obtenido, con lo que se determinó una potencia necesaria de 2.61 kW.

Clase NEMA	Par de arranque Carr/Cn	Corriente de Arranque	Regulación de Velocidad (%)	Nombre de clase del motor
A	1.5-1.75	5-7	2-4	Normal
B	1.4-1.6	4.5-5	3.5	De propósito general
C	2-2.5	3.5-5	4-5	De doble jaula alto par
D	2.5-3.0	3-8	5-8 , 8-13	De alto par alta resistencia
F	1.25	2-4	mayor de 5	De doble jaula, bajo par y baja corriente de arranque.

*Tabla 9.19:* Características de los motores comerciales, de acuerdo con la clasificación de letras NEMA.

Por lo tanto, se seleccionó el motor eléctrico con freno, modelo MSEJ 112M-2 de la empresa “Czerweny®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.20.



Medidas	245 x 285 x 453 mm
Tipo	Asincrónico trifásico
Alimentación	Corriente continua
Tensión	380 V
Velocidad de giro	2.900 rpm
Potencia eléctrica	4 kW
Aplicaciones	Transportador de cangilones, ascensores y elevadores, reductores mecánicos de velocidad

*Tabla 9.20:* Especificaciones técnicas del motor eléctrico.



*Fig. 9.49:* Motor eléctrico MSEJ 112M-2.

## 9.4. Almacenamiento del orujo de uva

Los equipos a analizar pertenecientes a esta etapa son, los silos de almacenamiento, los extractores centrífugos de aire y las roscas extractoras para la descarga del orujo dentro de los silos.

### 9.4.1. Elevador de cangilones

El elevador de cangilones se encarga de transportar el orujo saliente del secador de tambor rotativo, hasta cierta altura, para luego descargarlo por una serie de conductos hasta los silos de almacenamiento a través del techo.

1. En general, la capacidad de transporte de estos equipos supera ampliamente la necesaria para nuestro caso. Recordando según el balance de materia (sección 7.1.1), que el caudal de salida es 2.490 Kg/hs y la densidad el orujo de uva con 12% de humedad es 300 Kg/m<sup>3</sup>.

- $OU_{12\%H} = (2.490 \text{ Kg/hs}) * (m^3/300 \text{ Kg})$
- $OU_{12\%H} = 8,30 \text{ m}^3/\text{hs}$

Calculamos la potencia necesaria para que el motor eléctrico eleve la carga. Considerando la información proveniente de la empresa de consultoría industrial y agroindustrial “Ediagro®”, utilizamos la siguiente ecuación:

- $P = H * \dot{Q}/160$

Siendo:

- P: Potencia (HP).
- H: Altura del elevador (20 m).
- Q: Capacidad (2,49 Tn/hs).

Entonces:

- $P = [20 \text{ m} * (2,49 \text{ Tn/hs})]/160$
- $P = 0,29 \text{ HP}$ , convirtiendo kW tenemos,  $P = 0,31 \text{ kW}$

Se seleccionó un elevador de cangilones, modelo NS 20 de la empresa “Sansoni®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.21.

Material	Chapa de acero galvanizado
Capacidad	Hasta 25 m <sup>3</sup> /hs
Altura	20 m
Potencia eléctrica	2,23 kW

*Tabla 9.21:* Especificaciones técnicas del elevador de cangilones.



Fig. 9.50: Elevador de cangilones con sistema de distribución para silos.

#### 9.4.2. Silos

Los silos deben poseer la capacidad suficiente como para contener el orujo de uva necesario para la producción anual de la planta.

1. Según los cálculos realizados en los balances de materia (sección 7.1.3.1), la cantidad de orujo de uva necesario para un año de producción, con un margen extra del 20%, es de 1.680 toneladas. Recordando que esta cantidad corresponde a un orujo con una humedad de 12% y su densidad es de aproximadamente  $300 \text{ Kg/m}^3$ , calculamos el volumen representativo de esta cantidad.

- $OU_{\text{Año}} = (1.680 \text{ Tn/Año}) * (\text{m}^3/0,30 \text{ Tn}) = 5.600 \text{ m}^3/\text{Año}$

Considerando un margen extra del 20% para el volumen de almacenamiento de los silos, tenemos:

- $V_{\text{Silos}} = 6.720 \text{ m}^3/\text{Silos}$

Según el catálogo de silos de la empresa “Sansoni®”, se decide almacenar el orujo de uva en 3 silos de fondo cónico de la misma empresa, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.23.

DIAMETRO DIAMETER (m) D	5,64	6,58	7,28	8,20	9,10	10,02	10,92	12,74	13,66	14,57	15,47	16,39	18,22	20,03	21,85	22,76	23,67	27,31	30,04	32,39		
CHAPAS POR FILA PLATES PER ROW NA	6	7	8	9	10	11	12	14	15	16	17	18	20	22	24	25	26	30	33	37		
ALTURA TECHO (m) ROOF HEIGHT (m) HT	1,60	1,85	2,08	2,25	2,60	2,80	2,90	3,30	3,55	3,85	4,05	4,35	4,85	5,40	5,70	6,06	6,25	7,30	8,08	9,20		
FILAS ROWS F	ALTURA CILINDRO (m) HEIGHT CYLINDER (m) HC	CAPACIDADES EN TON Peso específico 0,8 ton/m3 sin incluir fondo cónico. CAPACITY IN TONS Specific weight 0.8 tn/m3 excluding conical bottom.																				
2	1,90																					
3	2,85																					
4	3,80	87	121	149	196	243	300	363	514	580	695	796	909	1.160	1.443	1.802	1.979					
5	4,75	106	147	181	236	292	360	434	611	694	822	939	1.070	1.368	1.690	2.095	2.297					
6	5,70	125	172	213	276	342	420	505	708	809	948	1.082	1.230	1.556	1.937	2.388	2.616					
7	6,65	144	198,5	244	316	394	480	577	805	924	1.075	1.225	1.390	1.760	2.185	2.681	2.934					
8	7,60	163	225	276	357	440	540	648	901	1.038	1.202	1.368	1.551	1.964	2.432	2.974	3.316					
9	8,55		252	308	397	490	600	719	998	1.153	1.328	1.511	1.716	2.168	2.679	3.273	3.640					
10	9,50		339	438	540	660	790	1.095	1.268	1.455	1.658	1.881	2.372	2.926	3.572	3.964						
11	10,45			371	478	589	720	861	1.192	1.379	1.582	1.805	2.046	2.576	3.235	3.871	4.290					
12	11,40			403	518	638	780	933	1.287	1.535	1.713	1.952	2.211	2.780	3.486	4.170	4.614	4.982	6.900	8.392		
13	12,35				559	688	840	1.004	1.385	1.649	1.843	2.099	2.376	2.984	3.739	4.469	4.939	5.333	7.366	8.958		
14	13,30				600	737	900	1.075	1.484	1.764	1.974	2.246	2.541	3.250	3.991	4.768	5.263	5.684	7.834	9.525	11.034	
15	14,25				640	790	960	1.146	1.583	1.879	2.184	2.393	2.706	3.458	4.243	5.067	5.588	6.035	8.302	10.089	11.678	
16	15,20				680	835	1.020	1.217	1.683	1.994	2.235	2.540	2.871	3.666	4.496	5.366	5.913	6.386	8.769	10.654	12.323	
17	16,15								1.783	2.018	2.365	2.687	3.036	3.874	4.747	5.665	6.238	6.737	9.237	11.219	12.968	
18	17,10								1.882	2.223	2.496	2.834	3.201	4.082	5.000	5.964	6.562	7.088	9.704	11.784	13.614	
19	18,05																				14.259	
20	19,00																					14.904
Fondo Cónico 35°		13	21	28,2	40	55,2	74	95	155	186	233	279	332	465	618	803	906					
Fondo Cónico 40°		16	25	34	48	66,2	88,5	114,5	182	223	272											

Tabla 9.22: Configuración para construcción de silos de la empresa “Sansoni®”.

Material	Chapa de acero galvanizada
Capacidad	1.758 m <sup>3</sup>
Diámetro de cuerpo	13,66 m
Altura de cuerpo	11,40 m
Altura de techo	3,55 m
Fondo	Cónico (40°)

Tabla 8.23: Especificaciones técnicas de los silos de fondo cónico.

### 9.4.3. Extractores centrífugos

En cada silo se instalarán extractores centrífugos para la circulación aire, a fin de controlar la temperatura y la humedad del orujo en su interior. Según el balance de materia en esta etapa (sección 7.1.3.2), se necesita un caudal de aire de 168 m<sup>3</sup>/min para mantener bajo control las condiciones de almacenamiento de las 1680 toneladas de orujo de uva. Como esta cantidad se divide en 3 silos, por partes iguales, también lo hacen los requerimientos de succión de aire en cada silo, resultando en 56 m<sup>3</sup>/min.

En base a ello, se seleccionaron 3 extractores centrífugos, modelos SBM 42028 de la empresa “Czerweny®” con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.24.

Material	Chapa galvanizada
Capacidad	75 m <sup>3</sup> /min
Boca de entrada	420 mm (Ø)
Boca de salida	268 x 378 mm
Velocidad de giro	2.800 rpm
Potencia eléctrica	1,5 kW

*Tabla 9.24:* Especificaciones técnicas de los extractores centrífugos para silos.

#### 9.4.4. Roscas extractoras

Los silos de gran envergadura se descargan mediante roscas extractoras instaladas en fondos cónicos de los mismos. Estos equipos deben responder a los caudales de entrada necesarios para la etapa de maceración (sección 7.1.4.1), siendo este de 2.062 Kg/hs, la selección de los equipos transportadores se realiza en base a ello. Por lo tanto, se seleccionaron 3 roscas extractoras, modelos RES 20 de la empresa “Sansoni®”, como las detalladas en la sección 9.2.1.2.



*Fig. 9.51:* Roscas extractoras instaladas en silos verticales.

## 9.5. Preparación de la solución de orujo de uva

El partir de del orujo de uva y agua, hasta obtener una solución concentrada en azúcares, contempla el uso de un equipo de mezclado, un tamiz rotativo y un evaporador tubular, además de equipos periféricos como, bombas de impulsión e intercambiadores de calor.

### 9.5.1. Mezclador

El mezclador hace las veces de macerador, permitiendo el contacto íntimo entre el orujo y el agua caliente el tiempo suficiente como para que la difusión de los azúcares al agua sea lo más grande posible.

Como la solución concentrada en azúcares es la materia prima principal de nuestro proceso de fermentación y su demanda es muy grande, se decidió adquirir el equipo mezclador que permita manejar la mayor cantidad de volumen posible. Con ese fin, se seleccionó el mezclador de eje horizontal, modelo WAH15000 de la empresa “MAP®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.25.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Volumen total	15.000 litros
Volumen de operación	50% del total
Tiempo de mezcla	1 a 3 min
Dimensiones	2,11 x 2,46 x 6,01 m
Potencia eléctrica	45 kW

*Tabla 9.25:* Especificaciones técnicas del mezclador de eje horizontal.



Fig. 9.52: Mezclador de eje horizontal, modelo WAH15000.

### 9.5.2. Tamiz de tambor rotativo

A la salida del mezclador tenemos una mezcla de una solución azucarada con restos sólidos del orujo de uva que deben ser removidos, previa a su ingreso en el evaporador tubular. La elección de este equipo se hace en base a dos consideraciones. La primera, es el caudal de entrada, y la segunda, es el tamaño de paso de malla del tamiz.

1. Como en los catálogos los caudales de entrada de estos equipos se presentan en términos volumétricos, realizamos el cálculo del mismo con la información del balance de materia (sección 7.1.4.1).

- $\dot{V}_S = \dot{S} * (1/\rho_S)$

Recordando que la densidad de la solución azucarada con 14° Brix a 50°C es de 1.045 Kg/m<sup>3</sup>, tenemos:

- $\dot{V}_S = (2.522 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/1.045 \text{ Kg}) = 2,42 \text{ m}^3/\text{hs}$

Por otro lado:

- $\dot{V}_{OE} = \dot{S} * (1/\rho_{OE})$

- $\dot{V}_{OE} = (674 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/300 \text{ Kg}) = 2,25 \text{ m}^3/\text{hs}$



Por lo tanto, el caudal volumétrico total resulta:

- $\dot{V}_T = \dot{V}_S + \dot{V}_{OE}$
- $\dot{V}_T = (2,42 \text{ m}^3/\text{hs}) + (2,25 \text{ m}^3/\text{hs}) = 4,67 \text{ m}^3/\text{hs}$

En cuanto al tamaño de paso de malla, este suele rondar entre 1 a 6 milímetros. Considerando que la uva posee un tamaño promedio de 10 a 20 mm, podemos estimar que el orujo tendrá un tamaño similar. Por lo tanto, elegiremos el tamiz de tambor rotativo que nos ofrezca el tamaño de paso de malla más pequeño, a fin de retener las partículas más pequeñas que puedan estar presentes, pero sin comprometer el caudal volumétrico necesario.

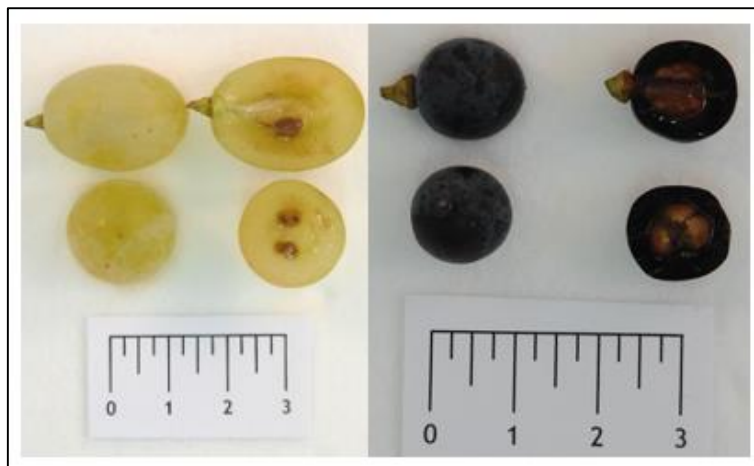


Fig. 9.53: Dimensiones promedio de uvas.

En base a ello, se seleccionó el tamiz de tambor rotativo, modelo RTV 500X1000 de la empresa “SAVECO®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.26.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Caudal	26 m <sup>3</sup> /hs
Paso de malla	1 mm
Inclinación	5°
Boca de entrada	100 mm (∅)
Boca de salida	150 mm (∅)
Dimensiones	900 x 1.500 x 2.000 mm
Potencia eléctrica	0,37 kW

Tabla 9.26: Especificaciones técnicas del tamiz de tambor rotativo.





Fig. 9.54: Tamiz de tambor rotativo, modelo RTV 500X1000.

### 9.5.3. Evaporador de película descendente

El evaporador de película descendente se encarga de remover el exceso de agua de la solución azucarada, concentrándola hasta los 37° Brix con el mínimo tiempo de contacto sobre la superficie caliente, a fin de evitar la degradación térmica de los nutrientes valiosos para el proceso de fermentación.

Se decidió pedir por encargo el diseño del equipo evaporador de película descendente. Para ello, debemos definir el área de transferencia calor y las condiciones operacionales máximas a fin de que la empresa pueda definir variables y condiciones de diseño.

#### 9.5.3.1. Área de intercambio térmico

Se debe conocer el área de intercambio térmico necesaria en cada evaporador para llevar a cabo la operación.

1. Mediante la siguiente ecuación despejamos el área necesaria:

- $\dot{Q} = U * A * \Delta T$

- $A = \dot{Q} / U * \Delta T$

2. Conociendo las temperaturas de entrada y salida de cada fluido, calculamos la diferencia de temperatura logarítmica en cada evaporador.

Primer efecto:

- $T_{VE}$ : Temperatura del vapor entrante (120°C).
- $T_{CS}$ : Temperatura del condensado saliente (120°C).
- $T_{SE}$ : Temperatura solución entrante (50°C).
- $T_{SS}$ : Temperatura solución saliente (110°C).

Siendo:

- $\Delta T_{LMTD1} = [(T_{VE} - T_{SS}) - (T_{CS} - T_{SE})] / \ln[(T_{VE} - T_{SS}) / (T_{CS} - T_{SE})]$

Entonces:

- $\Delta T_{LMTD1} = [(120 - 110)^\circ\text{C} - (120 - 50)^\circ\text{C}] / \ln[(120 - 110)^\circ\text{C} / (120 - 50)^\circ\text{C}]$
- $\Delta T_{LMTD1} = 30,83^\circ\text{C}$

Segundo efecto:

- $T_{VE}$ : Temperatura del vapor entrante (110°C).
- $T_{CS}$ : Temperatura del condensado saliente (110°C).
- $T_{SE}$ : Temperatura solución entrante (50°C).
- $T_{SS}$ : Temperatura solución saliente (100°C).

Siendo:

- $\Delta T_{LMTD2} = [(T_{VE} - T_{SS}) - (T_{CS} - T_{SE})] / \ln[(T_{VE} - T_{SS}) / (T_{CS} - T_{SE})]$

Entonces:

- $\Delta T_{LMTD2} = [(110 - 100)^\circ\text{C} - (110 - 50)^\circ\text{C}] / \ln[(110 - 100)^\circ\text{C} / (110 - 50)^\circ\text{C}]$
- $\Delta T_{LMTD2} = 27,90^\circ\text{C}$

3. Considerando que en los dos evaporadores el fluido calefactor cede calor a la solución azucarada por un cambio de estado sin una variación perceptible de su temperatura, calculamos el calor intercambiado en cada evaporador basándonos el balance de energía en esta etapa (sección 8.1.3.3).

Primer efecto:

- $\dot{Q}_1 = \dot{V} * (H_V - H_C)$

- $\dot{Q}_1 = (1.021 \text{ Kg/hs}) * (646 - 120) \text{ Kcal/Kg} = 5,37 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

Segundo efecto:

- $\dot{Q}_2 = \dot{S}_1 * R_{\text{H}_2\text{O}/\text{S}} * \lambda_e$

- $\dot{Q}_2 = (1.224 \text{ Kg/hs}) * (0,625 \text{ Kcal H}_2\text{O/Kg S}) * (640 \text{ Kcal/Kg}) = 4,90 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

4. Según el libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), podemos estimar el coeficiente global de transferencia térmica en base al tipo de evaporador utilizado y la temperatura de ebullición del líquido en su interior.

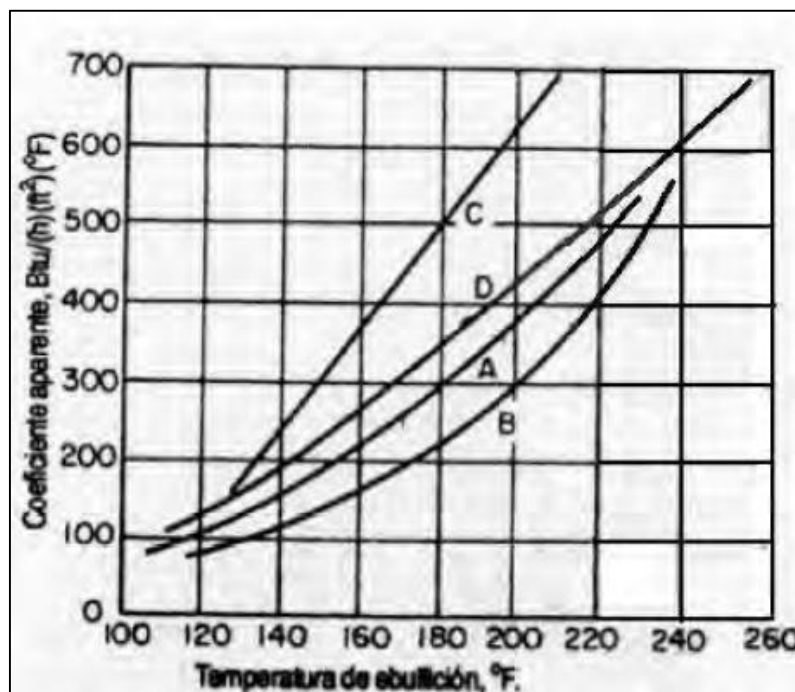


Fig. 9.55: Relación entre la temperatura de ebullición y el coeficiente de transferencia global de calor para distintos evaporadores

Siendo:

- A: Evaporador vertical de tubo corto con bajada central.
- B: Evaporador estándar de tubo horizontal.
- C: Evaporador Lillie.
- D: Evaporador vertical de tubo largo.

En nuestro caso, se trata de un evaporador vertical de tubo largo (Opción D) y las temperaturas de ebullición de la solución azucarada en el primer y segundo efecto, de 110°C y 100°C, respectivamente. Por lo tanto:

- Encontramos,  $U_1 \approx 560 \text{ Btu/hs ft}^2 \text{ }^\circ\text{F}$ , lo que equivale a  $U_1 \approx 2.734 \text{ Kcal/hs m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$
- Encontramos,  $U_2 \approx 470 \text{ Btu/hs ft}^2 \text{ }^\circ\text{F}$ , lo que equivale a  $U_2 \approx 2.295 \text{ Kcal/hs m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$

5. Calculamos las áreas de intercambio térmico para los dos evaporadores con un margen extra del 50%.

- $A_1 = [(5,37 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) * 1,50] / [(2.734 \text{ Kcal/hs m}^2 \text{ }^\circ\text{C}) * (30,83 \text{ }^\circ\text{C})] = 9,56 \text{ m}^2$
- $A_2 = [(4,90 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) * 1,50] / [(2.295 \text{ Kcal/hs m}^2 \text{ }^\circ\text{C}) * (27,90 \text{ }^\circ\text{C})] = 11,48 \text{ m}^2$

De manera de facilitar la construcción y abaratar costos, se decide que ambas unidades de evaporación posean un área de intercambio térmico de 12 m<sup>2</sup>.

### 9.5.3.2. Condiciones operacionales máximas

Los equipos correctamente diseñados deben operar en condiciones tales, que no les sea dificultoso cumplir con su propósito y alejados de condiciones extremas que pongan en juego su eficiencia, o incluso, su integridad estructural. La definición de las condiciones máximas de operación marca un límite hasta el cual puede desviarse el proceso, momentáneamente, sin traer una consecuencia negativa.

1. Considerando que la mayor presión de operación son 2 bares, agregando margen del 50%, tenemos una presión máxima de operación de 3 bares.
2. Considerando la densidad de la solución azucarada a la entrada es de 1.045 Kg/m<sup>3</sup> y un margen extra del 50%, calculamos el caudal volumétrico máximo de alimentación.

- $\dot{V}_S = \dot{S}_1 * (1/\rho_S) * 1,50$
- $\dot{V}_S = (1.244 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/1.045 \text{ Kg}) * 1.50 = 1,78 \text{ m}^3/\text{hs}$

3. Considerando una presión máxima de 3 bares y un margen extra del 50%, calculamos el caudal máximo de vapor a la entrada.

Siendo:

- $\rho_{VS}$ : Densidad del vapor saturado a 3 bares (1,62 Kg/m<sup>3</sup>).

Entonces:

- $V_{VS} = \dot{V} * (1/\rho_{VS}) * 1.50$
- $V_{VS} = (1.021 \text{ Kg/hs}) * (\text{m}^3/1,62 \text{ Kg}) * 1.50 = 945 \text{ m}^3/\text{hs}$

Basándonos en el cálculo del área de intercambio térmico y las condiciones máximas de operación, se le encarga a la empresa “Servinox Ingeniería®” un evaporador de película descendente capaz de cumplir con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.27.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Nro. de efectos	2
Tipo de alimentación	Paralela
Altura máxima	8 m
Área de transferencia	12 m <sup>2</sup> por unidad
Presión máxima	3 bares
Caudal máximo de alimentación	1.800 L/hs por unidad
Caudal máximo de vapor	950 m <sup>3</sup> /hs por unidad

*Tabla 9.27:* Especificaciones técnicas del evaporador de película descendente.



Fig. 9.56: Evaporador tubular de doble efecto fabricado por la empresa “Servinox Ingeniería®”

### 9.5.3.3. Intercambiador de placas

A la salida del evaporador la solución concentrada pasa a través de un intercambiador de placas para reducir rápidamente su temperatura y evitar la degradación térmica de sus nutrientes.

1. Para la selección del equipo necesitamos conocer el área de intercambio térmico mediante la siguiente ecuación:
  - $\dot{Q} = U * A * \Delta T$
  - $A = \dot{Q} / U * \Delta T$
2. Conociendo las temperaturas de entrada y salida de cada fluido, calculamos la diferencia de temperatura logarítmica en el intercambiador de calor.

Recordando que:

- $T_{AE}$ : Temperatura de agua entrante (5°C).

- $T_{AS}$ : Temperatura de agua saliente ( $35^{\circ}\text{C}$ ).
- $T_{SCE}$ : Temperatura solución concentrada entrante ( $100^{\circ}\text{C}$ ).
- $T_{SCS}$ : Temperatura solución concentrada saliente ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Siendo:

- $\Delta T_{LMTD} = [(T_{SCE} - T_{AS}) - (T_{SCS} - T_{AE})] / \ln[(T_{SCE} - T_{AS}) / (T_{SCS} - T_{AE})]$

Entonces:

- $\Delta T_{LMTD} = [(100 - 35)^{\circ}\text{C} - (20 - 5)^{\circ}\text{C}] / \ln[(100 - 35)^{\circ}\text{C} / (20 - 5)^{\circ}\text{C}]$
- $\Delta T_{LMTD} = 34^{\circ}\text{C}$

3. Considerando que la solución concentrada cede calor sensible al agua, calculamos el calor intercambiado basándonos el balance de energía en esta etapa (sección 8.1.3.3).

Siendo:

- $\dot{Q} = \dot{S}C * C_{pSC} * (T_e - T_s)$
- $\dot{Q} = (889 \text{ Kg/hs}) * (0,83 \text{ Kcal/Kg } ^{\circ}\text{C}) * (100 - 20)^{\circ}\text{C} = 5,90 \times 10^4 \text{ Kcal/hs}$

4. Según el libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), el coeficiente global de transferencia térmica en intercambiadores de placas para sistemas agua-agua (muy similar al nuestro) ronda entre los  $5.700$  a  $7.400 \text{ W/m}^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}$ . Tomando un promedio estimamos un coeficiente global de transferencia térmica de  $6.550 \text{ W/m}^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}$ .

5. Volviendo al cálculo del área de intercambio térmico para la selección del intercambiador de placas, con un margen extra del 50%, tenemos:

- $A = [(5,90 \times 10^4 \text{ Kcal/hs}) * 1,50] / [(6.533 \text{ Kcal/hs m}^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}) * (34^{\circ}\text{C})] = 0,46 \text{ m}^2$

6. Según el catalogo del proveedor “Alfa Laval”, el tamaño de las placas del intercambiador de placas tentativo es de  $211 \times 74 \text{ mm}$ . Con ello, calculamos el número de placas (NP) necesarios.

- $NP = 0,46 \text{ m}^2 / (0,211 \text{ m} * 0,074 \text{ m}) = 29,46$

En base a los cálculos realizados, se seleccionó el intercambiador de placas, modelo CBH16 de la empresa “Alfa Laval®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.28.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Alto de placa	211 mm
Ancho de placa	74 mm
Nro. de placas	30
Caudal máximo	3,6 m <sup>3</sup> /hs
Temp. máx./mín.	225°C/-160°C
Presión máxima	32 bares

Tabla 9.28: Especificaciones técnicas del intercambiador de placas.



Fig. 9.57: Intercambiadores de placas de la empresa “Alfa Laval®”

#### 9.5.3.4. Tanque de almacenamiento para solución

Una vez que la solución concentrada es llevada a 20°C se la almacena hasta el momento que se requiera para la operación en cada biorreactor.

1. Considerando el balance de materia en esta etapa (sección 7.1.4.3), sabemos que se elaboran unos 14.731 Kg de solución concentrada en azúcares por lote, sabiendo que su densidad es 1.200 Kg/m<sup>3</sup>, calculamos el volumen de la solución.

- $V_{SC} = SC * (1/\rho_{SC})$



- $V_{SC} = (14.731 \text{ Kg/Lote}) * (m^3/1.200 \text{ Kg}) = 12,28 \text{ m}^3/\text{Lote}$

Considerando los cálculos realizados, se seleccionaron 2 tanques térmicos horizontales, modelos TH150A de la empresa “ETI®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.29.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Capacidad	15.000 L
Diámetro	2,10 m
Largo	4,20 m
Aislante	Poliuretano expandido
Espesor de aislante	50 mm

Tabla 9.29: Especificaciones técnicas de tanque térmico horizontal.



Fig. 9.58: Tanque térmico horizontal.

## 9.6. Biorreactor de 30 m<sup>3</sup>

La estructura del biorreactor consta de 3 partes básicas, el cuerpo, la tapa y el fondo. Además, cuenta con sistemas relacionados al control de las condiciones en su interior, como el de temperatura, aireación y agitación. Estos sistemas integrados, conforman un equipo como el que se muestra en la Figura 9.59.

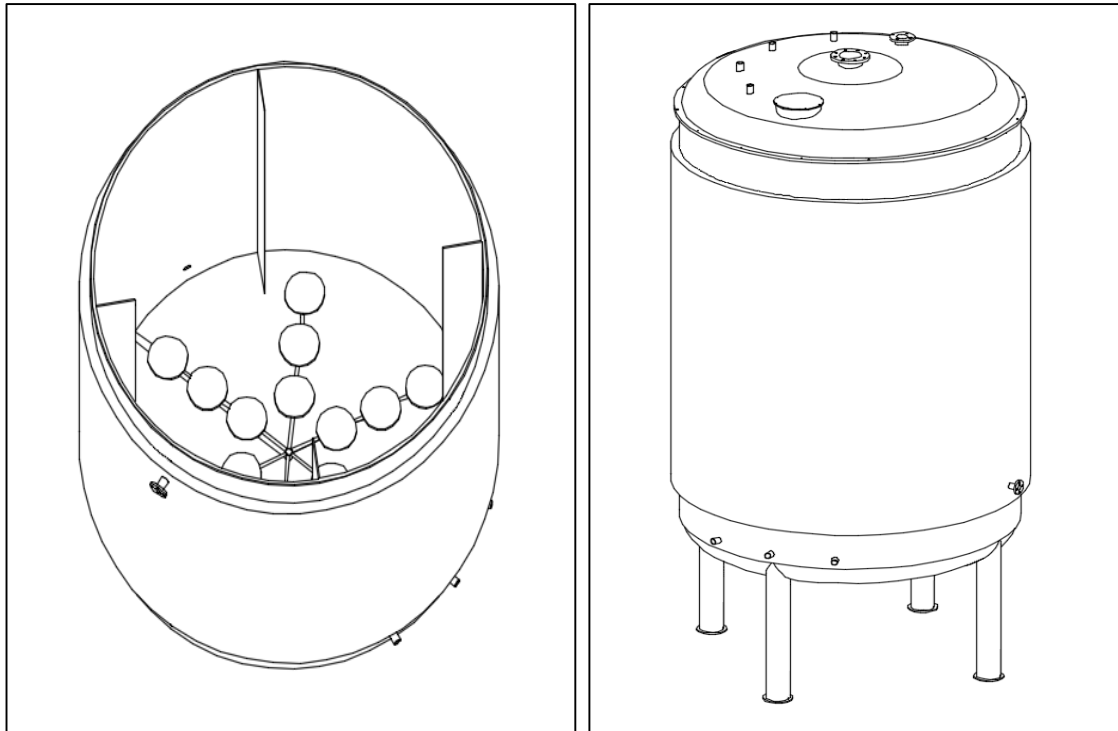


Fig. 9.59: A la izquierda, vista interior del biorreactor. A la derecha, vista exterior del biorreactor.

Para conformar las diferentes piezas del biorreactor se utilizan chapas y tubos sin costuras de acero provenientes de la empresa “Klockmetal®”.

Material	Norma	Calidad	Usos	Análisis Químicos (%)							
				C. Máx.	Mn. Máx.	P. Máx.	S. Máx.	Si. Máx.	Cr. Máx.	Ni. Máx.	Mo. Máx.
Acero inoxidable	AISI-SAE	316 L	Estructural	0.03	2.0	0.045	0.03	0.75	16.0 a 18.0	10.0 a 14.0	2.0 a 3.0
				Propiedades Mecánicas							
				RT Mín. (Mpa)			E Mín. (Mpa)		A % (Lo: 50 mm)		
				460 a 860			190 a 210		<60		

Tabla 9.30: Características del material de construcción del biorreactor.

A fin de mantener una producción constante de un lote por semana, se decide diseñar y construir 2 biorreactores industriales de 30 m<sup>3</sup> exactamente iguales. De esta manera, mientras uno se encuentra en operación, el otro limpia y prepara para el próximo lote.

### 9.6.1. Estructura general

Según el libro “Bioprocess Engineering Principles” (P. Doran, Elsevier Science and Technology Books, 1995), se establece las dimensiones del biorreactor en base al tipo de agitador utilizado siguiendo una serie relaciones entre las diferentes partes del equipo (Figura 9.60).

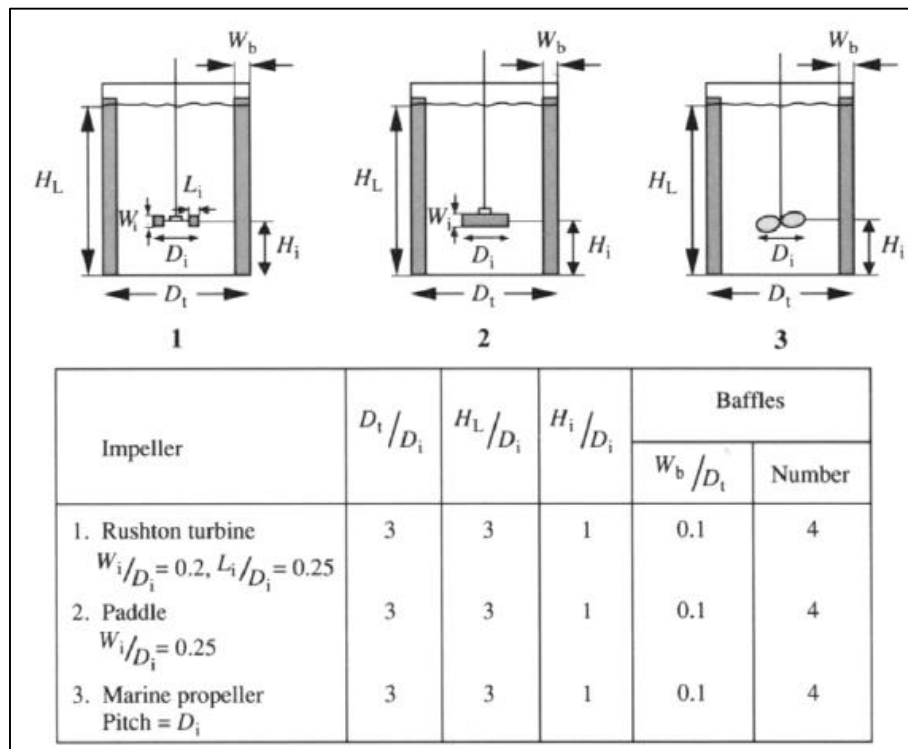


Fig. 9.60: Dimensionamiento de biorreactores agitados según el propulsor elegido.

- Considerando el uso de un agitador de paletas inclinadas y un volumen del caldo de fermentación ( $V_F$ ) de  $20 \text{ m}^3$ , calculamos las dimensiones para el cuerpo del biorreactor.

- $V_F = H_L * (D_t^2/4) * \pi$

Siendo:

- $H_L/D_t = 1$

Entonces:

- $V_F = (\pi * D_t^3)/4$

- $D_t = \sqrt[3]{(4 * V_F)/\pi}$

- $D_t = \sqrt[3]{(4 * 20 \text{ m}^3)/\pi} = 2,94 \text{ m}$

$H_L$  es la altura del caldo de fermentación, pero no la altura final del tanque. Por regla general, en el diseño de biorreactores se establecen que  $2/3$  de la altura total se destina a la altura del caldo de fermentación, y el  $1/3$  restante es un espacio libre destinado a la ocasional formación de espuma.

- $H_L = (2/3) * H_T$

Entonces:

- $H_T = (3/2) * 2,94 \text{ m} = 4,41 \text{ m}$

### 9.6.1.1. Cuerpo del biorreactor

Basándonos en las normas “Standard API 650” para tanques de almacenamiento sometidos a presión atmosférica, se especifica que el espesor del cuerpo requerido en ningún caso es menor a lo que se especifica en la Tabla 9.31.

Diámetro nominal en metros	Espesor mínimo en milímetros
< 15.24	4.76
15.24 < 36.576	6.35
36.576 < 60.96	7.93
> 60.96	9.52

Tabla 9.31: Espesores mínimos de pared para tanques sometidos a presión atmosférica.

Las características constructivas de la estructura cilíndrica interna del biorreactor se muestran en la Tabla 9.32.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	3 m
Largo	4,40 m
Espesor	4,76 mm
Piezas de construcción	6 chapas de 6' x 20' y un espesor de 3/16"

Tabla 9.32: Características técnicas del cilindro interior del biorreactor.

Para la construcción del cilindro interno del biorreactor, se unen por soldadura con bisel en V, 3 cilindros de 1.46 m de alto y 3 m de diámetro interno, teniendo presente que las juntas de unión entre cilindros continuos deben estar orientadas en sentidos opuestos (Figura 9.61).

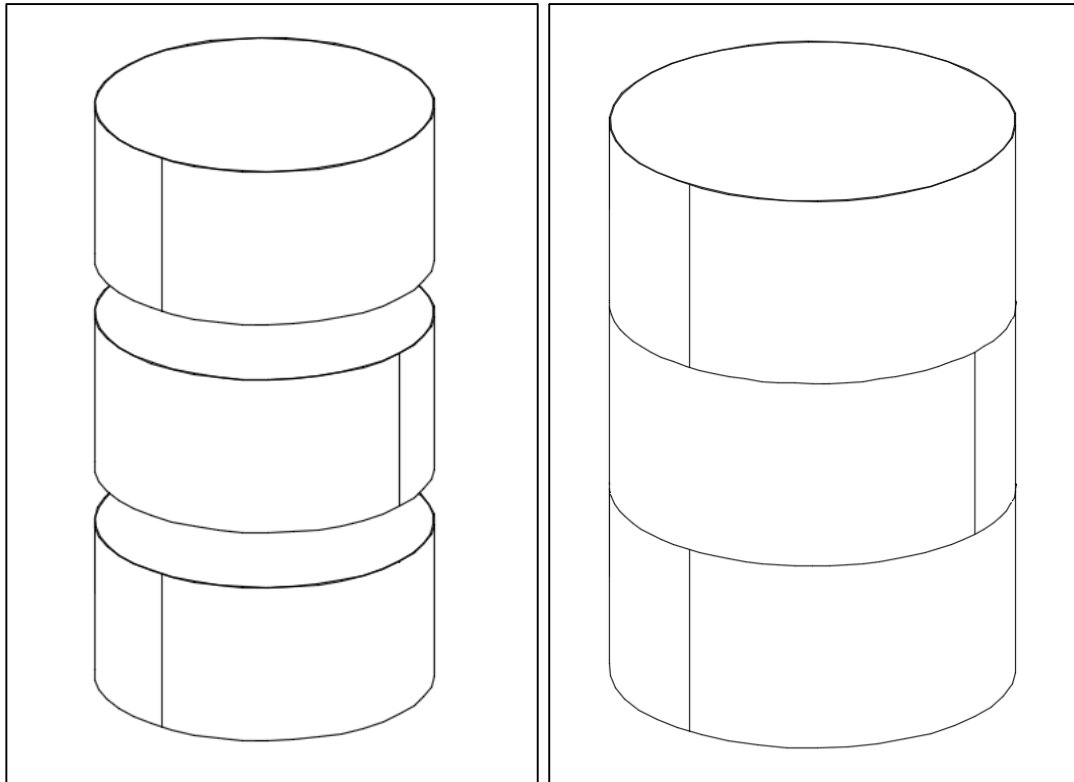


Fig. 9.61: A la izquierda, cilindros que conforman el cilindro interior del biorreactor.

A la derecha, cilindro interno del biorreactor unido por soldadura.

Para dar mayor integridad estructural, se instalan anillos de refuerzo en el exterior del cilindro interno al biorreactor. Las características constructivas de los anillos de refuerzo se muestran en la Tabla 9.33.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	3,0095 m
Largo	200 mm
Espesor	15,87 mm
Cantidad	4 anillos
Disposición	Equidistantes a lo largo del cilindro
Piezas de construcción	4 chapas de 4' x 8' y un espesor de 5/8"

Tabla 9.33: Características técnicas de los anillos de refuerzo del biorreactor.

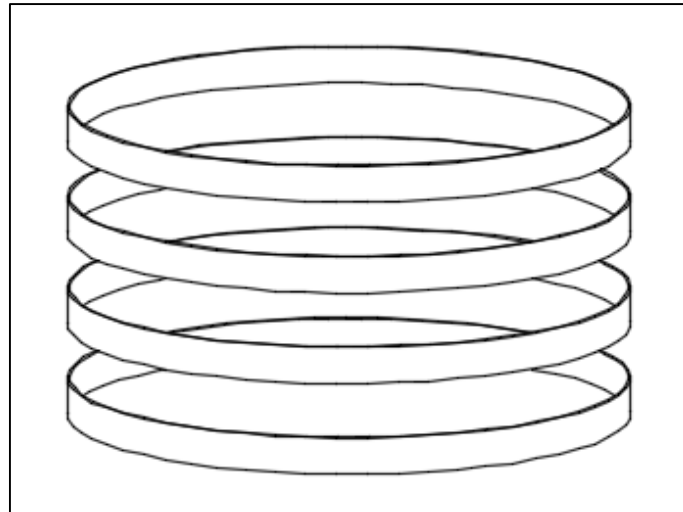


Fig. 9.62: Anillos de refuerzo del biorreactor.

La unión de los anillos con el exterior del cilindro se hace con soldadura a tope con refuerzo. La conformación entre los anillos de refuerzo y el cilindro interno del biorreactor se muestra en la Figura 9.63.

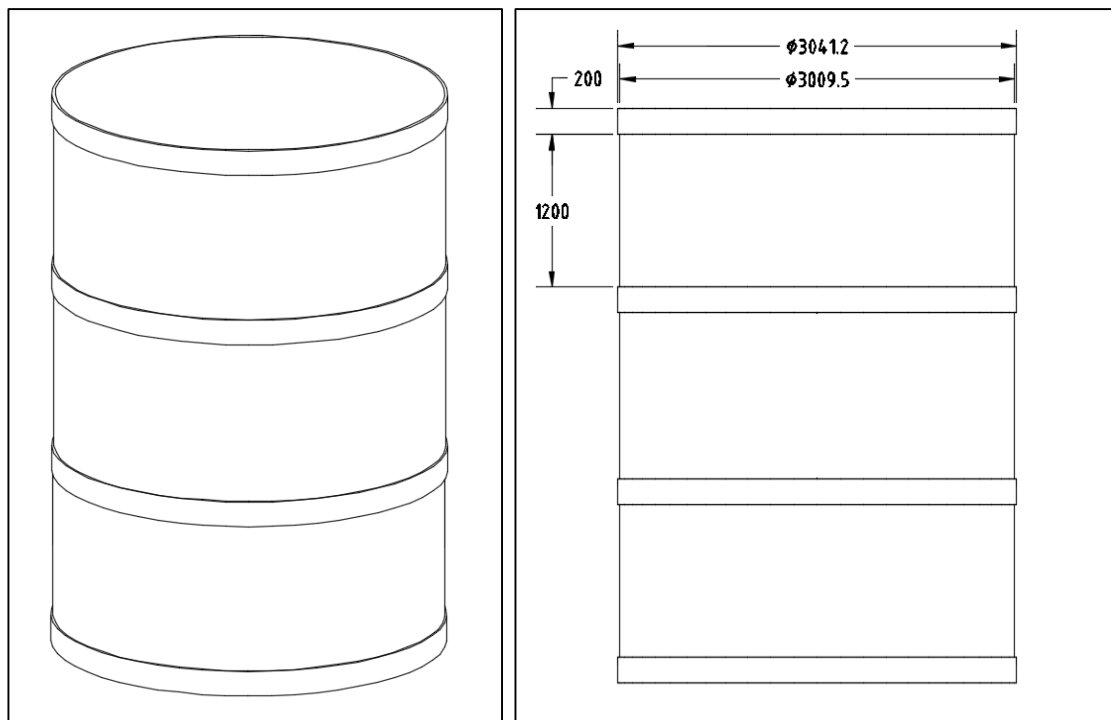


Fig. 9.63: Anillos de refuerzo instalados en el cilindro interno del biorreactor.

El biorreactor utiliza una camisa para el control de la temperatura (los cálculos para su diseño se presentan en la sección 9.6.3.1). Para su construcción, se unen 3 cilindros por soldadura con bisel en V

y 2 anillos por soldadura de esquina con filete interno. Las características constructivas de la estructura de la camisa del biorreactor se muestran en las Tablas 9.34.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	3,2095 m	Diámetro interno	3,0095 m
Largo	1,20 m	Diámetro externo	3,2095 m
Espesor	4,76 mm	Espesor	4,76 mm
Piezas de construcción	6 chapas de 6' x 20' y un espesor de 3/16"	Piezas de construcción	1 chapas de 6' x 20' y un espesor de 3/16"

*Tabla 9.34:* A la izquierda, características técnicas de los cilindros que conforman la camisa.

A la derecha, la de los anillos de la camisa.

A su vez, la camisa posee un conjunto de 4 anillos de refuerzo (similares a los de la Figura 9.62), para conferir mayor integridad estructural. Las características constructivas de los anillos de refuerzo de la camisa se muestran en la Tabla 9.35.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	3,2190 m
Largo	200 mm
Espesor	15,87 mm
Cantidad	4 anillos
Disposición	Equidistantes a lo largo del cilindro
Piezas de construcción	4 chapas de 4' x 8' y un espesor de 5/8"

*Tabla 9.35:* Características técnicas de los anillos de refuerzo a la camisa.

La unión de las distintas partes que conforman la camisa de intercambio térmico del biorreactor se muestra en la Figura 9.64.

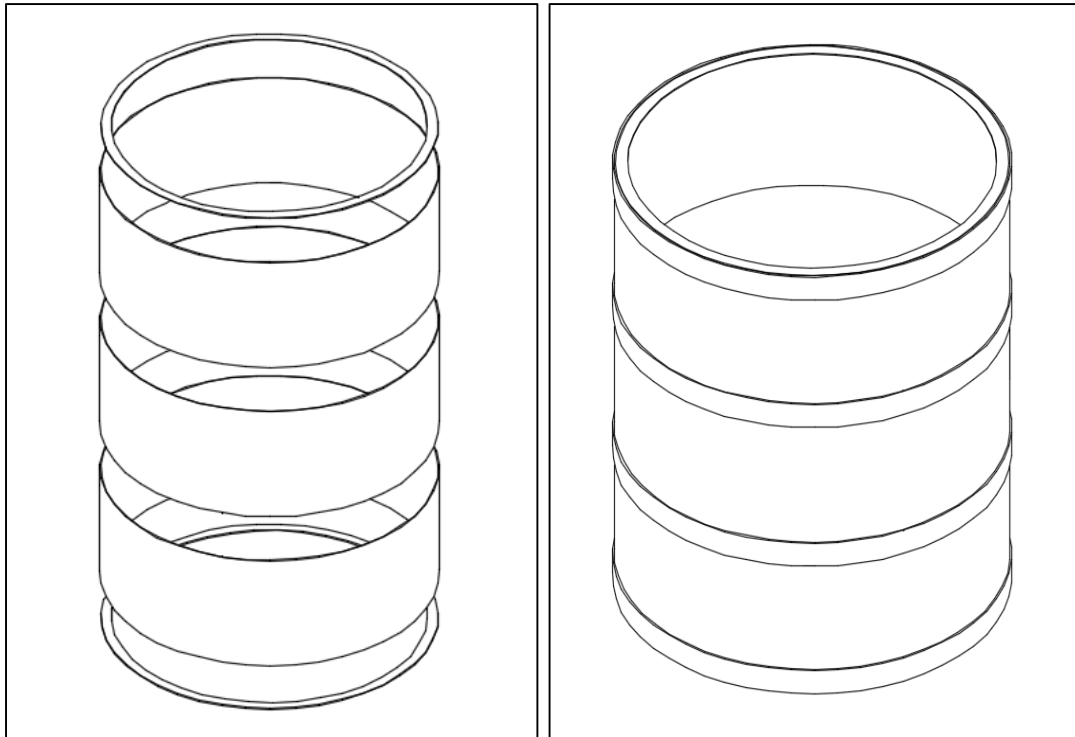


Fig. 9.64: Camisa de intercambio térmico del biorreactor.

La instalación de la camisa de intercambio térmico sobre el cilindro interno del biorreactor se muestra en la Figura 9.65.

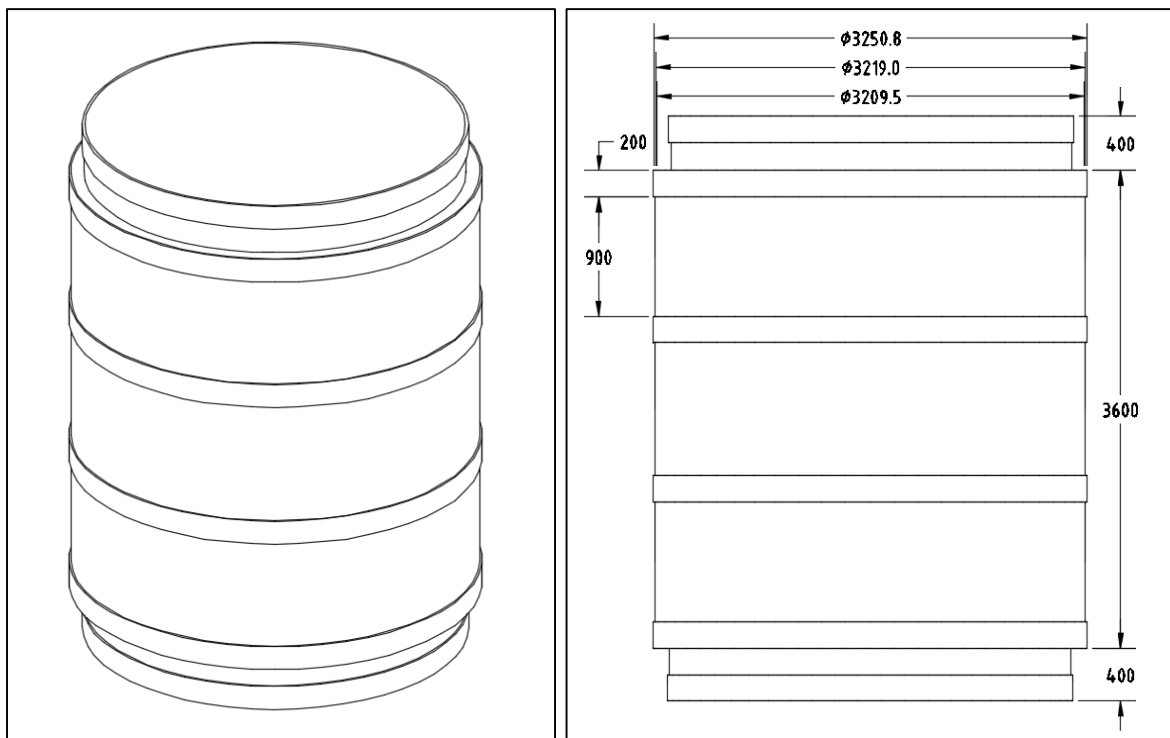


Fig. 9.65: Camisa de intercambio térmico instalada sobre el cuerpo del biorreactor.



En el espacio libre entre los anillos se coloca un revestimiento de poliuretano inyectado, tipo Solterm 2000 de la empresa “Solterm®”, para temperaturas de servicio entre -200 a 80°C.



Fig. 9.66: Aplicación de un revestimiento de poliuretano expandido.

1. Considerando que existen 3 espacios de 0.9 metros con un diámetro de 3.251 metros respecto al eje, y otros 2 de 0.2 metros con un diámetro de 3.010 metros respecto al eje para colocar el aislante, calculamos el volumen de poliuretano expandido (PE) necesario para aislar el biorreactor.

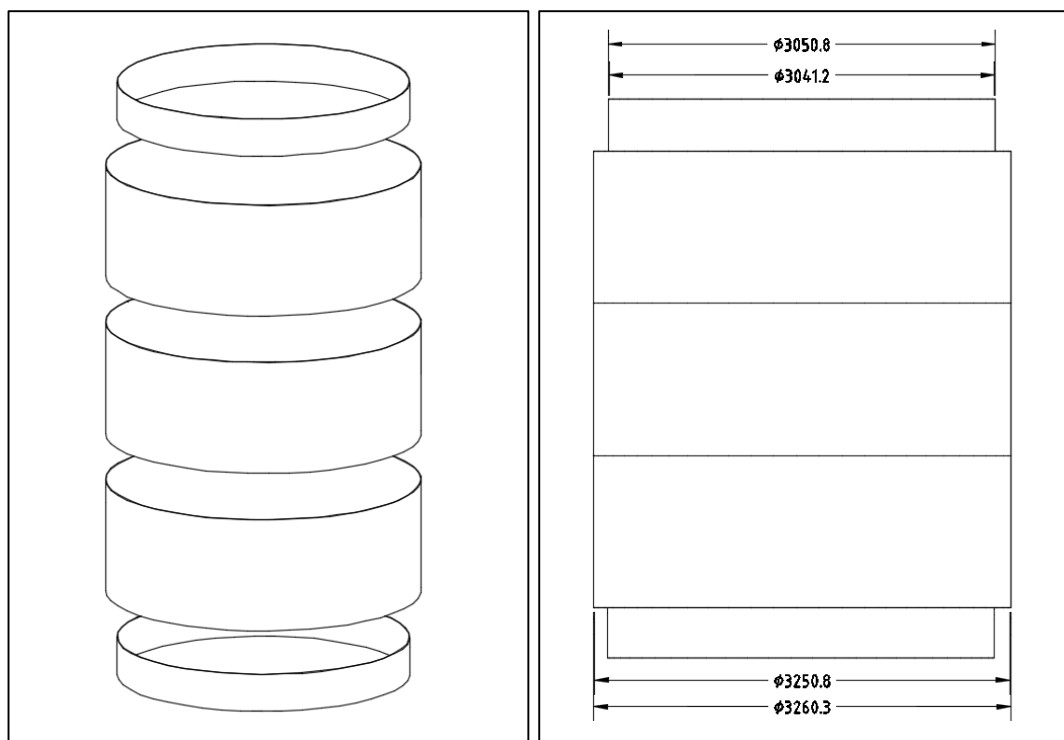
- $V_{PE} = 3 * h_2 * \pi * (r_e^2 - r_i^2) + 2 * h_1 * \pi * (r_e^2 - r_i^2)$
- $V_{PE} = 3 * (0,90 \text{ m}) * \pi * [(1,6427 \text{ m})^2 - (1,6253 \text{ m})^2] + 2 * (0,20 \text{ m}) * \pi * [(1,5206 \text{ m})^2 - (1,5047 \text{ m})^2] = 0,54 \text{ m}^3$

Una vez colocado el aislante térmico, se lo confina con una carcasa cilíndrica exterior al biorreactor. La misma está conformada por 3 cilindros de 3.251 m de diámetro y otros 2 cilindros de 3.041 m de diámetro. Las características constructivas para la estructura cilíndrica exterior del biorreactor se muestran en las Tablas 9.36.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	3,2508 m	Diámetro	3,0412 m
Largo	1,20 m	Largo	400 mm
Espesor	4,76 mm	Espesor	4,76 mm
Piezas de construcción	5 chapas de 6' x 20' y un espesor de 3/16"	Piezas de construcción	1 chapas de 6' x 20' y un espesor de 3/16"

*Tabla 9.36:* Características técnicas de los cilindros que conforman la carcasa exterior del cuerpo del biorreactor.

La unión de la carcasa exterior con el resto del cuerpo del biorreactor se hace con soldadura de bisel en V. La estructura terminada del cuerpo del biorreactor se muestra en la Figura 9.67.



*Fig. 9.67:* Carcasa cilíndrica exterior al cuerpo del biorreactor.

**NOTA:**

Es importante destacar que al interior del biorreactor debe dársele una terminación de pulido tipo espejo. Esto es a fin de evitar la aparición de microporosidades sobre la superficie, las cuales podrían traer problemas de contaminación sobre el caldo de fermentación.

### 9.6.1.2. Baffles

En el interior del biorreactor se instalan una serie de baffles igualmente distribuidos en toda su circunferencia. Los baffles aumentan la turbulencia en la proximidad de las paredes del recipiente mediante la formación de remolinos por el impacto del flujo circulante contra los mismos, lo cual permite un menor consumo de potencia del motor impulsor al sistema de agitación. El aumento de la turbulencia ayuda a la homogeneidad y prevención de grandes gradientes de concentración células, nutrientes y aire en diferentes zonas del biorreactor.

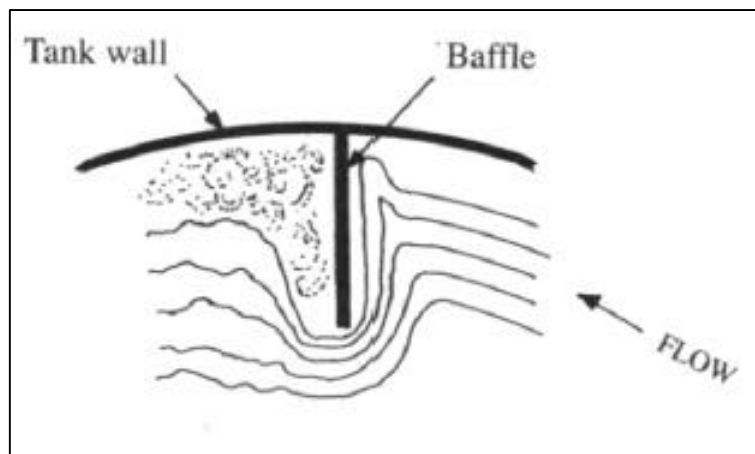


Fig. 9.68: Generación de turbulencia dentro del biorreactor por la acción de los baffles.

1. Utilizando las relaciones de dimensionamiento para biorreactores (sección 9.6.1.1), calculamos las medidas necesarias de los baffles.

- $W_d/D_t = 0,1$

Entonces:

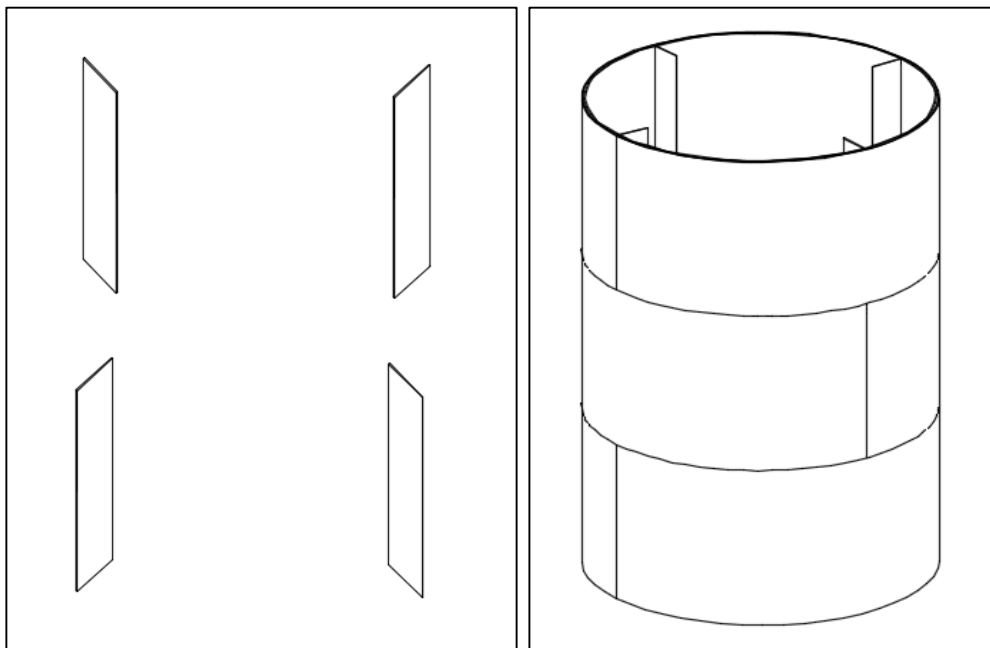
- $W_d = 0,1 * D_t = 0,1 * 2,94 \text{ m} = 0,294 \text{ m}$

Las características constructivas de los baffles dentro del biorreactor se muestran en la Tabla 9.37.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Ancho	300 mm
Largo	4,40 m
Espesor	4,76 mm
Cantidad	4 baffles
Disposición	90° entre cada uno
Piezas de construcción	1 chapas de 5' x 15' y un espesor de 3/16"

*Tabla 9.37:* Características técnicas de los baffles en interior del biorreactor.

La unión de los baffles con el interior del biorreactor se hace con soldadura en T. La conformación de los baffles y el cuerpo del biorreactor se muestra en la Figura 9.69.



*Fig. 9.69:* A la izquierda, conjunto de baffles. A la derecha, el conjunto de baffles instalados en el cuerpo del biorreactor.

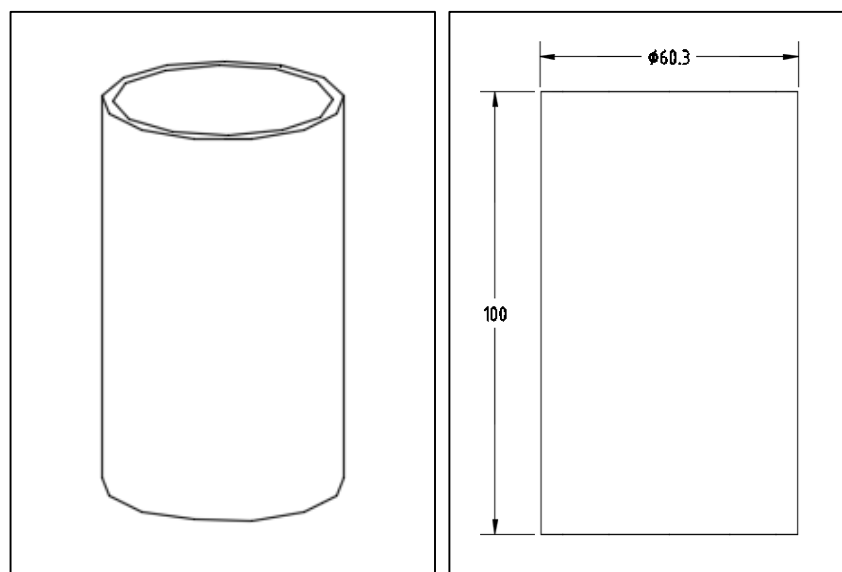
### 9.6.1.3. Puertos de entrada

Se instalan puertos de entrada para la instalación de instrumentos de medición, tomas de muestra y conexiones de los sistemas de aireación y control de temperatura. Las dimensiones de estos puertos

están normalizadas, por lo que son fácilmente adaptables a cualquier tipo de medida necesaria. Las características constructivas para los puertos de entrada se muestran en la Tabla 9.38.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Tipo de conexión	Roscada
Diámetro nominal	2 in
Diámetro exterior	60,3 mm
Largo	100 mm
Espesor	2,77 mm (Sch 10)
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 2' de DN y Sch 10

*Tabla 9.38:* Características técnicas de los puertos de entrada del biorreactor.

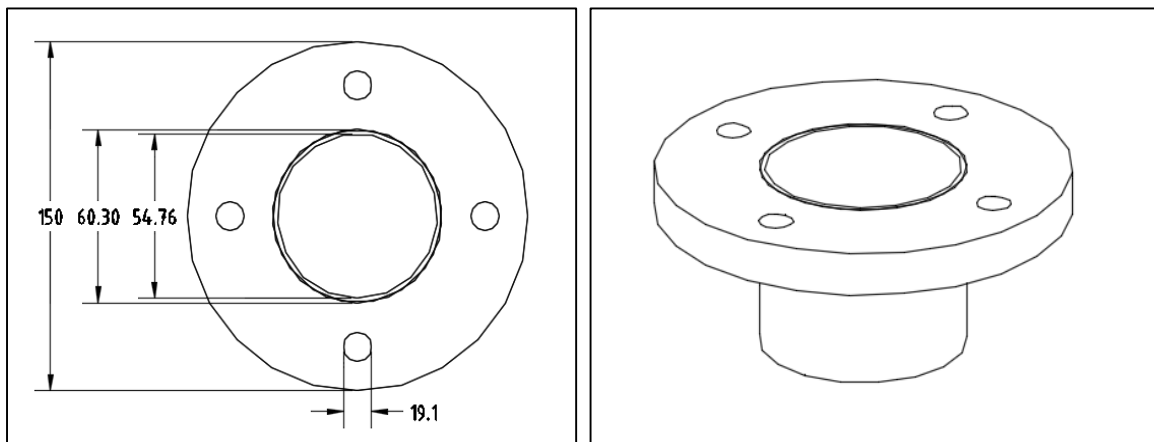


*Fig. 9.70:* Descripción de los puertos de entrada del biorreactor.

Por otro lado, se instalan 2 ductos bridados, para la entrada y salida del agua de refrigeración a la camisa. Los mismos se disponen a distintas alturas, de manera tal que el agua ingrese por la parte inferior de la camisa y se evacue por la parte superior. Los ductos bridados están constituidos de 2 piezas, un ducto y una brida de junta con solapa, modelo Serie 150 de la empresa “Briend®”, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.39.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	2 in	Diámetro nominal	2 in
Diámetro exterior	60,3 mm	Diámetro interior	60,3 mm
Largo	100 mm	Diámetro exterior	150 mm
Espesor	2,77 mm (Sch 10)	Espesor	17,5 mm
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 2' de DN y Sch 10	Nro. de orificios	4 orificios
		Diám. de orificios	19,1 mm

*Tabla 9.39:* A la izquierda, características técnicas del ducto. A la derecha, las de la brida de junta con solapa.



*Fig. 9.71:* Descripción de los ductos bridados de la camisa del biorreactor.

La soldadura de los puertos de entrada con el cuerpo del biorreactor se hace con soldadura con unión de bisel en V. La conformación entre los puertos y la estructura cilíndrica se muestra en las Figuras 9.72 y 9.73.

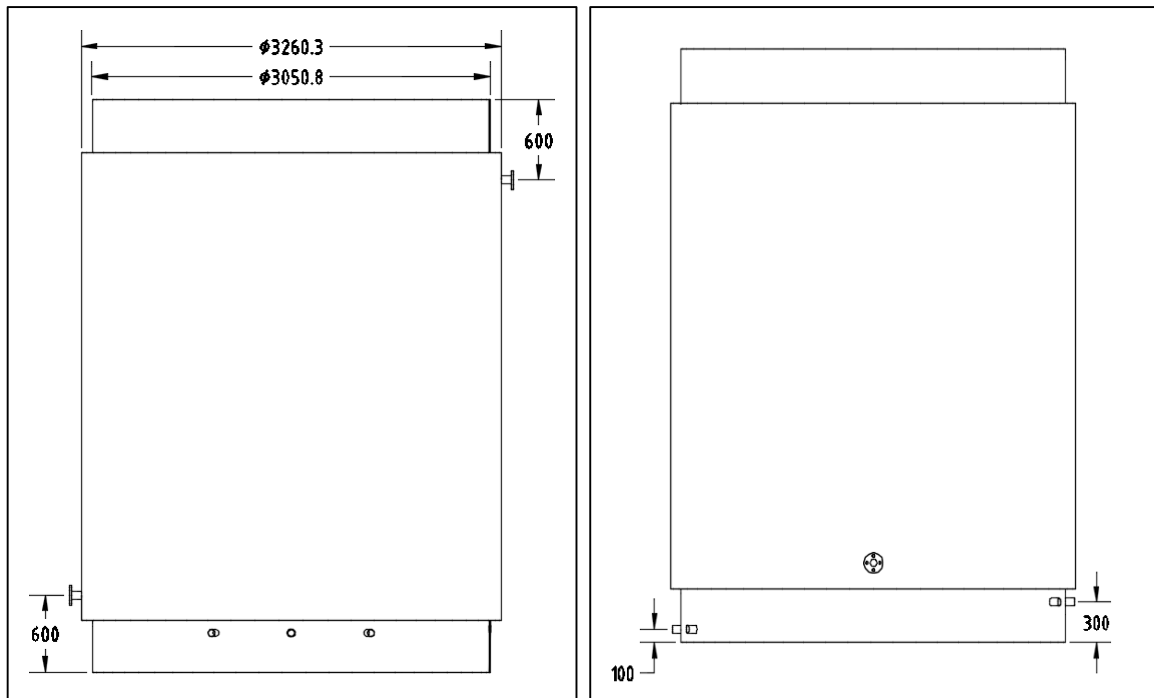


Fig. 9.72: Vista frontal de los puertos de entrada y ductos bridados instalados en el biorreactor.

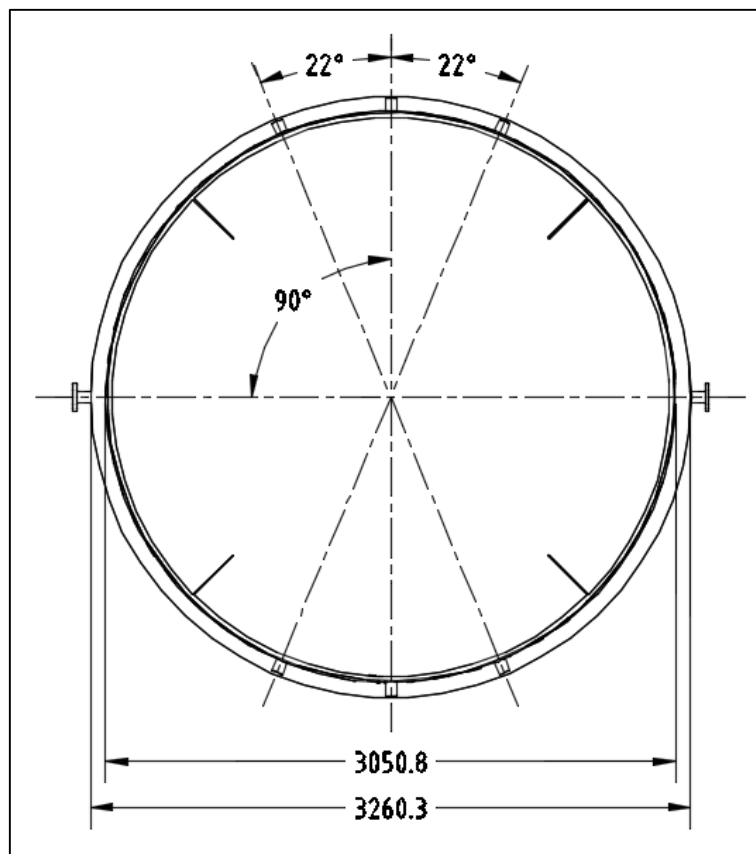


Fig. 9.73: Vista inferior de los puertos de entrada y ductos bridados instalados en el biorreactor.

#### 9.6.1.4. Fondo del biorreactor

En la parte inferior del biorreactor se encuentra el canal de descarga por el que se evacua el contenido dentro del mismo una vez que culmina el proceso de fermentación. El fondo del recipiente presenta una ligera inclinación para facilitar el vaciado, pero no excesiva, ya que podría generar una zona muerta dentro del equipo donde se producen gradientes de células, nutrientes y oxígeno.

Además del fondo del biorreactor, es necesario instalar un conducto de descarga de diámetro lo suficientemente grande para evitar cualquier tipo de obstrucción por la alta densidad celular del cultivo y, además, una válvula que mantenga un cierre hermético y aséptico.

1. Debido a que las normas “Standard API 650” sólo especifican espesores mínimos para fondos planos de tanques apoyados sobre el suelo, y el nuestro se encuentra elevado sobre un soporte, realizamos el cálculo de espesor mínimo para el fondo del biorreactor. Según la misma norma el cálculo es el siguiente:

- $t_F = [(P * L * M) / (2 * S * E - 0,2 * P)] + C_1$

Siendo:

- $t_F$ : Espesor del fondo (in).
- P: presión de diseño (psi).
- M: Factor M.
- L: Radio de la esfera que forma el toriesférico (in).
- S: Límite elástico (psi).
- E: Factor de soldadura.
- $C_1$ : Sobreespesor por corrosión (in).

2. La presión de diseño siempre es mayor a la presión de operación para que el equipo pueda resistir presiones levemente superiores a la de operación. La misma está dada por la siguiente ecuación:

- $P = P_{Op} + \Delta P + (P_{Op} + \Delta P) * 0,15$

Siendo:

- $P_{Op}$ : Presión de operación (psi).



- $\Delta P$ : Presión hidrostática del fluido (psi).

Entonces:

- $P_{Op} = P_{atm} = 1 \text{ atm}$
  - $\Delta P = \rho * g * h$
  - $\Delta P = (1.000 \text{ Kg/m}^3) * (9,80 \text{ m/seg}^2) * 4,40 \text{ m} = 43.120 \text{ Kg/m seg}^2 = 0,43 \text{ atm}$
  - $P = 1 \text{ atm} + 0,43 \text{ atm} + (1 \text{ atm} + 0,43 \text{ atm}) * 0,15 = 1,64 \text{ atm} = 24,10 \text{ psi}$
3. El límite elástico (S) es la tensión máxima a la que puede someterse el material sin que sufra deformaciones permanentes. Para el biorreactor se ha utilizado acero inoxidable AISI 316 debido a la asepsia necesaria para el proceso. El valor del límite elástico de este material es 29.000 psi.
  4. El factor de soldadura (E) permite tener en cuenta el posible error que pueda contener el límite elástico. En nuestro caso, el valor del factor de soldadura es 0.85, ya que se utiliza un radiografiado parcial para la inspección.
  5. El factor (M) es la relación entre los radios del cabezal (L/r), siendo:
    - $L = 0,9 * D$
    - $L = 0,9 * 3 \text{ m} = 2,7 \text{ me}$

Por otro lado:

- $r = 0,085 * L$
- $r = 0,085 * 2,7 \text{ m} = 0,23 \text{ m}$

Entonces:

- $L/r = 2,7 \text{ m}/0,23 \text{ m} = 11,74$

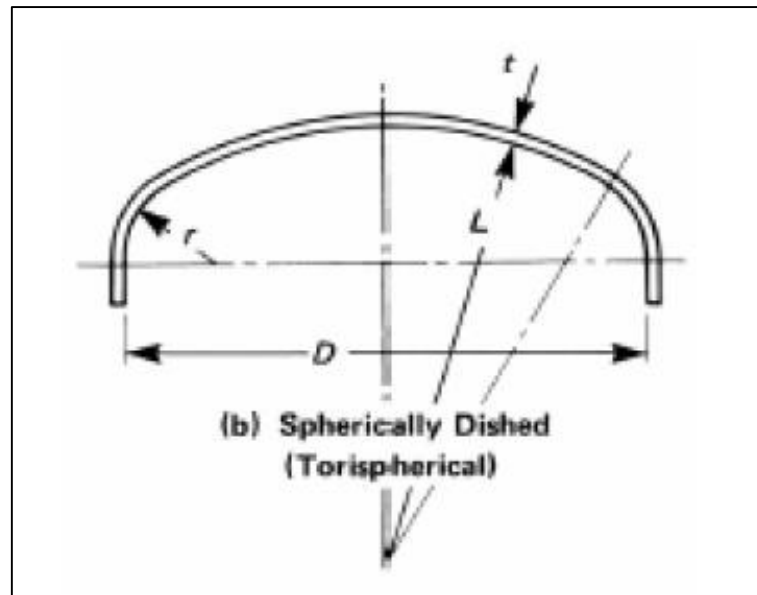


Fig. 9.74: Conformación de cabezales toriesféricos.

Con el valor  $L/r$ , buscamos el valor del factor  $M$  en la Tabla 9.40.

$L/r$	1	1,25	1,5	1,75	2	2,25	2,5	2,75	3	3,25	3,5
$M$	1	1,03	1,06	1,08	1,1	1,13	1,15	1,17	1,18	1,2	1,22
$L/r$	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9
$M$	1,25	1,28	1,31	1,34	1,36	1,39	1,41	1,44	1,46	1,48	1,5
$L/r$	9,5	10	10,5	11	11,5	12	13	14	15	16	$16^{2/3}$
$M$	1,52	1,54	1,56	1,58	1,6	1,62	1,65	1,69	1,72	1,75	1,77

Tabla 9.40: Valor del factor  $M$  en función de la relación  $L/r$ .

6. Por último, se añade un espesor por corrosión ( $C_1$ ). Este espesor compensa la corrosión que sufren los equipos con las sustancias a medida que pasa el tiempo. Este valor habitualmente oscila entre 1 a 6 milímetros durante la vida útil del equipo de aproximadamente 10 años. Este valor de sobreespesor por corrosión es 3 milímetros.

Ahora calculamos el espesor del fondo del biorreactor:

- $t_F = [(24,10 \text{ psi} * 59 \text{ in} * 1,61)/(2 * 29.000 \text{ psi} * 0,85 - 0,2 * 24,10 \text{ psi})] + 0,12 \text{ in}$
- $t_F = 0,17 \text{ in} = 4,32 \text{ mm}$

Por otro lado, según las normas “Standard API 650”, el diámetro del ducto de descarga de líquido es tal que permita una velocidad máxima de 3 ft/seg (1 m/seg).

1. Suponiendo una descarga completa de los 20 m<sup>3</sup> de líquido dentro del biorreactor en una hora, calculamos:

- $A_{\text{conducto}} = \dot{Q}/v_{\text{Descarga}}$

- $A_{\text{conducto}} = [(20 \text{ m}^3/\text{hs}) * (\text{hs}/3.600 \text{ seg})]/(1 \text{ m/seg}) = 0,0056 \text{ m}^2$

Entonces:

- $A_{\text{conducto}} = \pi * r^2$

- $r = \sqrt{0,0056 \text{ m}^2/\pi} = 0,042 \text{ m}$

- Obtenemos,  $D_{\text{mín}} = 0,084 \text{ m}$

Se decide construir el fondo del biorreactor como se muestra en la Figura 9.75.

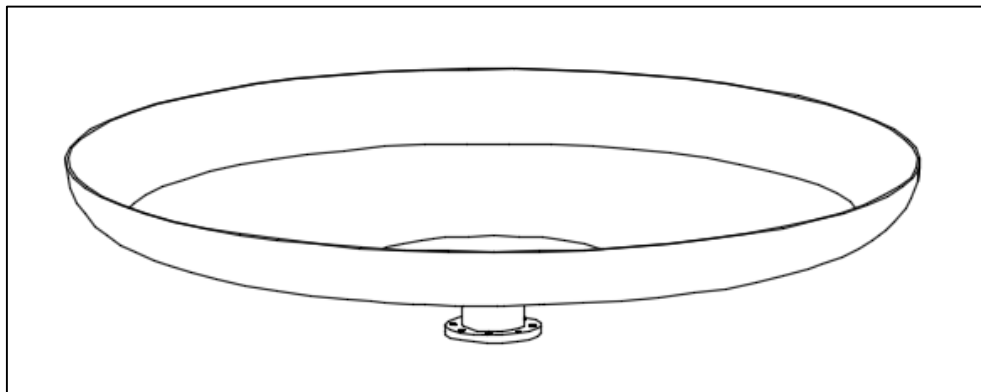


Fig. 9.75: Perspectiva del fondo del biorreactor.

El mismo está constituido un casco toriesférico cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.41.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro interno	3 m
Altura	500 mm
Radio interior	1,5 m
Espesor	9,52 mm
Piezas de construcción	2 chapas de 5' x 10' y un espesor de 3/8"

Tabla 9.41: Características técnicas casco toriesférico del biorreactor.

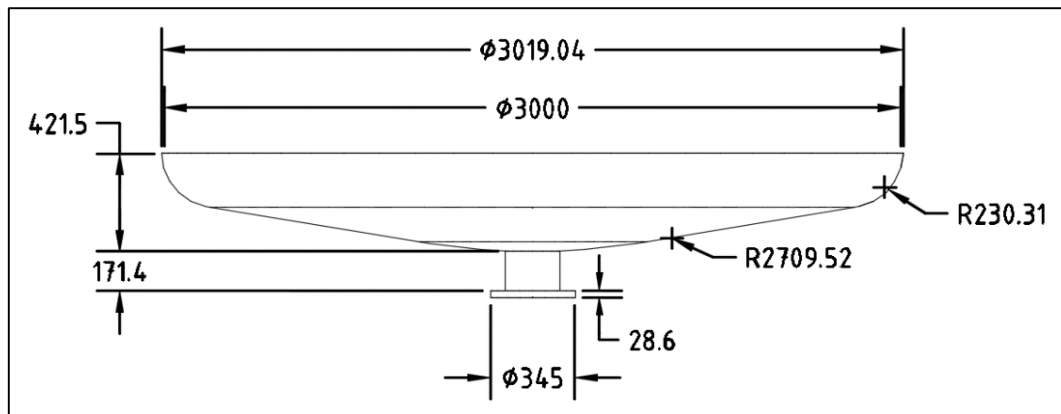


Fig. 9.76: Vista frontal del fondo del biorreactor.

Una boca de descarga constituida de 2 piezas, un ducto y una brida de junta con solapa, modelo Serie 150 de la empresa “Briend®”, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.42.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	8 in	Diámetro nominal	8 in
Diámetro exterior	219,1 mm	Diámetro interior	219,1 mm
Largo	100 mm	Diámetro exterior	345 mm
Espesor	4,78 mm (Sch 10)	Espesor	28,6 mm
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 8' de DN y Sch 10	Nro. de orificios	8 orificios
		Diám. de orificios	22,2 mm

Tabla 9.42: A la izquierda, características técnicas del ducto, y a la derecha, las de la brida.

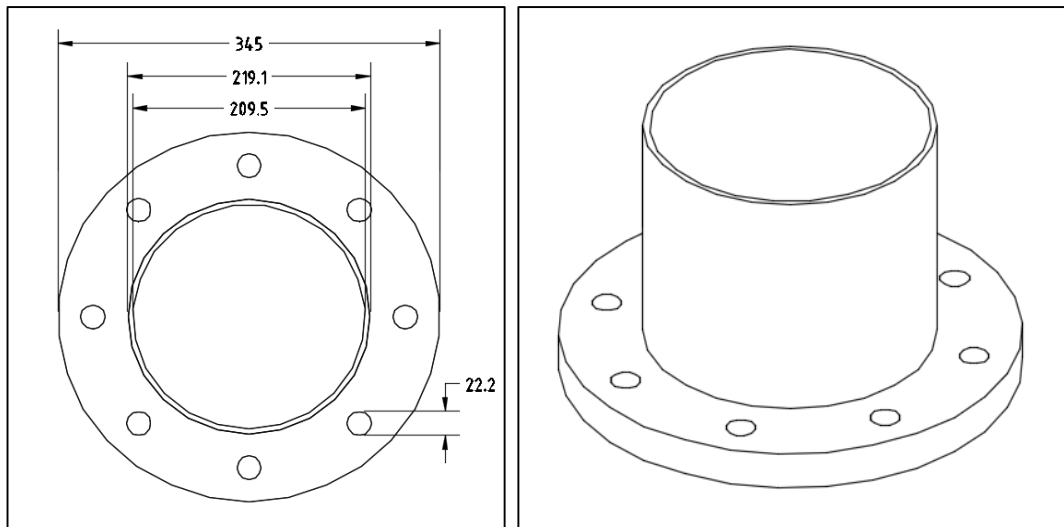


Fig. 9.77: A la izquierda, vista frontal de la boca de descarga. A la derecha, vista perspectiva de la boca de descarga.

Una válvula esférica de conexión bridada, modelo 2528A 16 de la empresa “Briend®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.43.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Accionamiento	Manual con palanca
Diámetro nominal	8 in
Diámetro exterior	343 mm

Tabla 9.43: Características técnicas de válvula esférica.

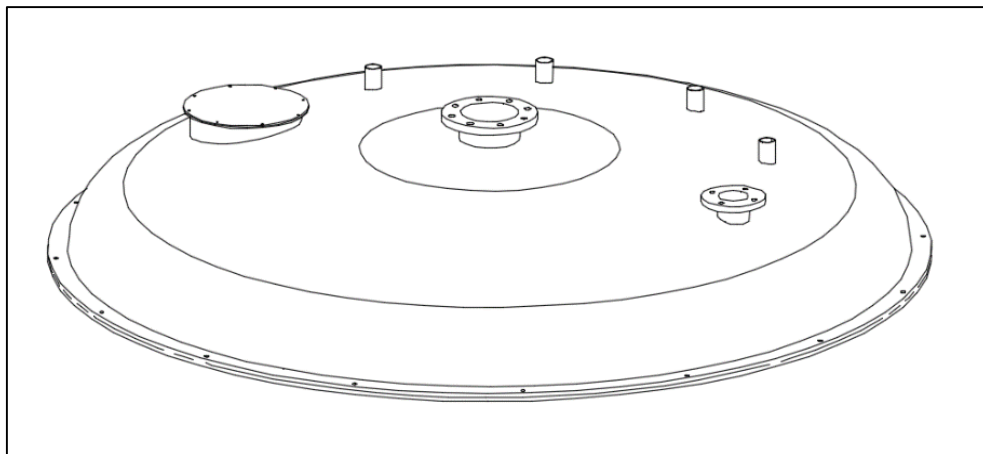


Fig. 9.78: Válvula esférica bridada de doble cuerpo.

### 9.6.1.5. Tapa del biorreactor

En la parte superior del biorreactor se encuentra una boca de entrada con sello aséptico, una apertura bridada para la instalación del agitador en orientación vertical, una apertura bridada para el filtro de venteo y una serie de puertos de entrada para distintas utilidades.

Basándonos en las normas “Standard API 650” para tanques de almacenamiento sometidos a presión atmosférica, se especifica que las placas del techo deben tener un espesor mínimo de 3/16 pulgadas (4.78 milímetros), independientemente de la forma o método de soporte. Además de dicho valor, consideramos un factor de corrosión de 3 milímetros, el cual suele rondar entre 1 a 6 milímetros. Por lo tanto, se decide construir la parte superior del biorreactor como se muestra en la Figura 9.79.



*Fig. 9.79:* Perspectiva de la tapa del biorreactor.

La tapa superior del biorreactor está constituida por 2 piezas, un casco toriesférico y un par de bridas, cuyas características constructivas se muestran en las Tabla 9.44.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro interno	3 m	Diámetro interior	3 m
Altura	500 mm	D. en medio de orif.	3,1135 m
Radio interior	1,5 m	Diámetro exterior	3,1635 m
Espesor	9,52 mm	Espesor	15,88 mm
Piezas de construcción	2 chapas de 5' x 10' y un espesor de 3/8"	Nro. de orificios	16 orificios
		Diám. de orificios	15,88 mm
		Cantidad	2 bridas
		Piezas de construcción	2 chapas de 5' x 10' y un espesor de 5/8"

Tabla 9.44: A la izquierda, características técnicas del casco toriesférico.  
A la derecha, las del par de bridas.

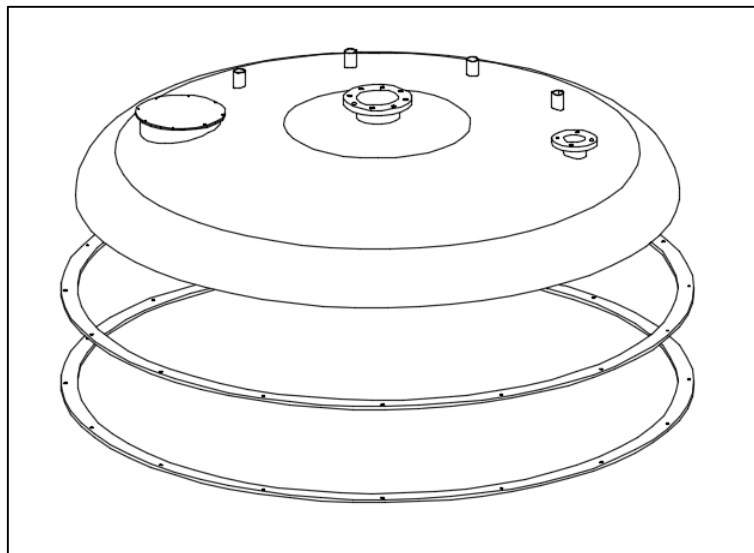


Fig. 9.80: Perspectiva de las piezas que conforman la tapa del biorreactor.

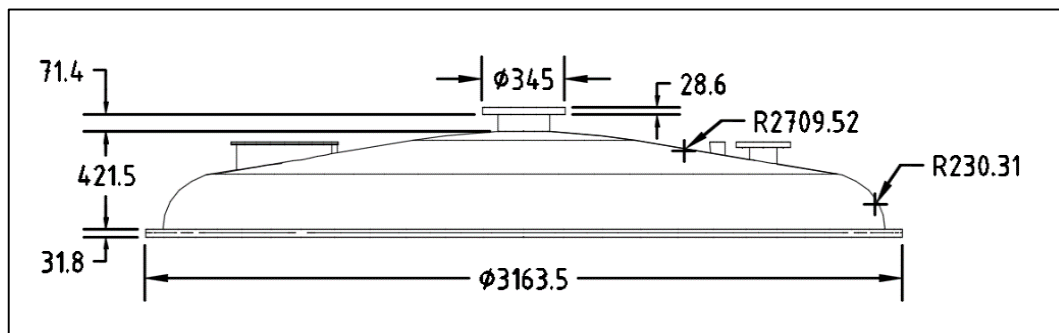


Fig. 9.81: Vista frontal de la tapa del biorreactor.

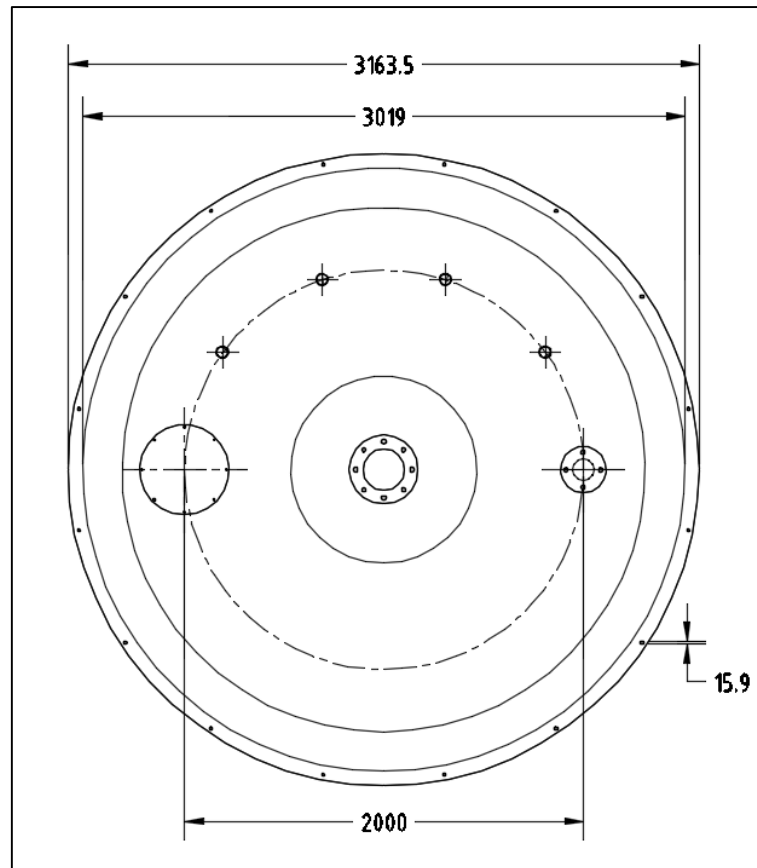


Fig. 9.82: Vista superior de la tapa del biorreactor.

En la tapa del biorreactor se ubica una boca de entrada constituida por 3 piezas, una tapa, una brida, y ducto, cuyas características constructivas se muestran en las Tabla 9.45.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro exterior	450 mm	Diámetro interior	400 mm	Diámetro exterior	400 mm
Diám. en medio de orificios	425 mm	Diám. en medio de orificios	425 mm	Largo	100 mm
Espesor	4,78 mm	Diámetro exterior	450 mm	Espesor	4,78 mm
Nro. de orificios	8 orificios	Espesor	4,78 mm	Piezas de construcción	1 chapa de 3' x 6' y un espesor de 3/16"
Diám. de orificios	7,93 mm	Nro. de orificios	8 orificios		
Piezas de construcción	1 chapa de 3' x 6' y un espesor de 3/16"	Diám. de orificios	7,93 mm		
		Cantidad	1 brida		
		Piezas de construcción	1 chapa de 3' x 6' y un espesor de 3/16"		

Tabla 9.45: A la izquierda, características constructivas de la tapa de la boca de entrada, en medio, las de la brida, y a la derecha, las del ducto.



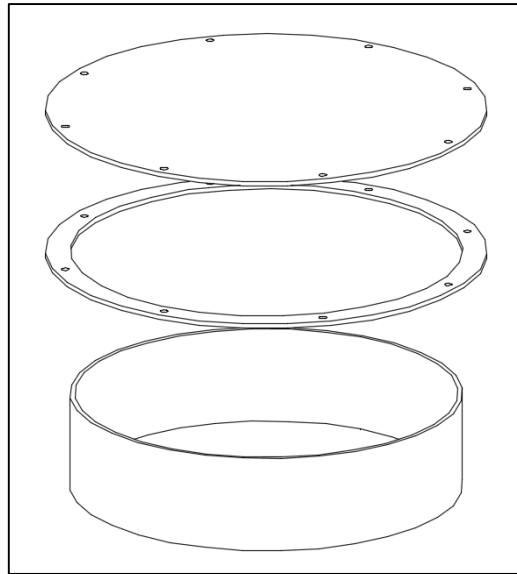


Fig. 9.83: Perspectiva de las piezas que conforman la boca de entrada del biorreactor.

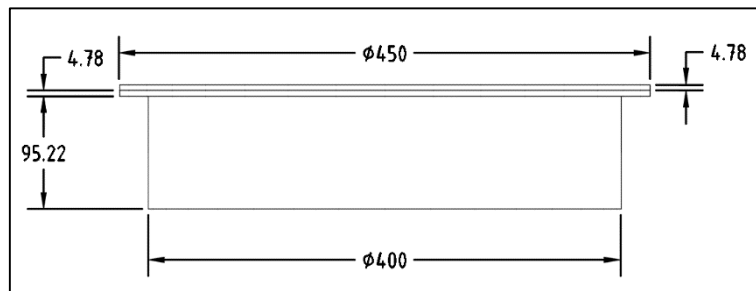


Fig. 9.84: Vista frontal de la boca de entrada del biorreactor.

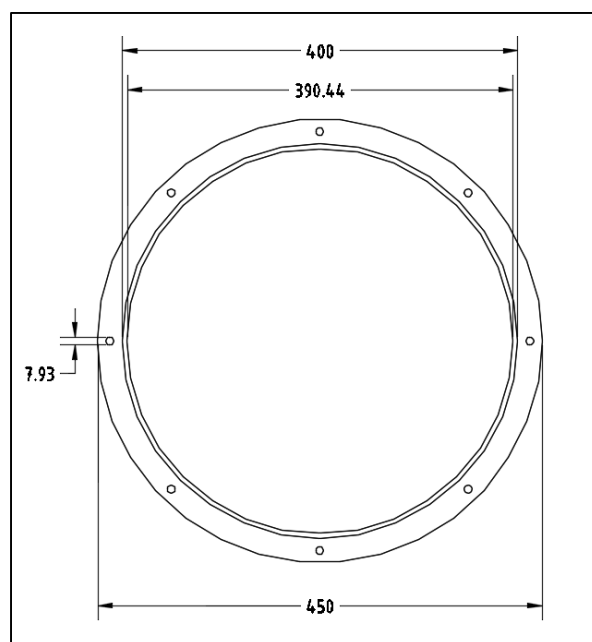


Fig. 9.85: Vista inferior de la boca de entrada del biorreactor.

En la tapa del biorreactor se ubica una apertura para el agitador constituida por 2 piezas, un ducto y una brida de junta con solapa, modelo Serie 150 de la empresa “Briend®”, cuyas características constructivas se muestran en las Tabla 9.46.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	8 in	Diámetro nominal	8 in
Diámetro exterior	219,1 mm	Diámetro interior	219,1 mm
Largo	200 mm	Diámetro exterior	345 mm
Espesor	4,78 mm (Sch 10)	Espesor	28,6 mm
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 8' de DN y Sch 10	Nro. de orificios	8 orificios
		Diám. de orificios	22,2 mm

Tabla 9.46: A la izquierda, características técnicas del ducto, y a la derecha, las de la brida.

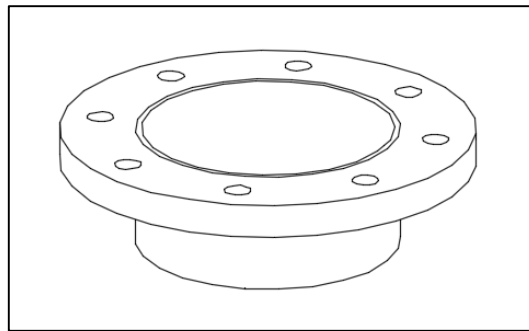


Fig. 9.86: Perspectiva de la apertura para el agitador del biorreactor.

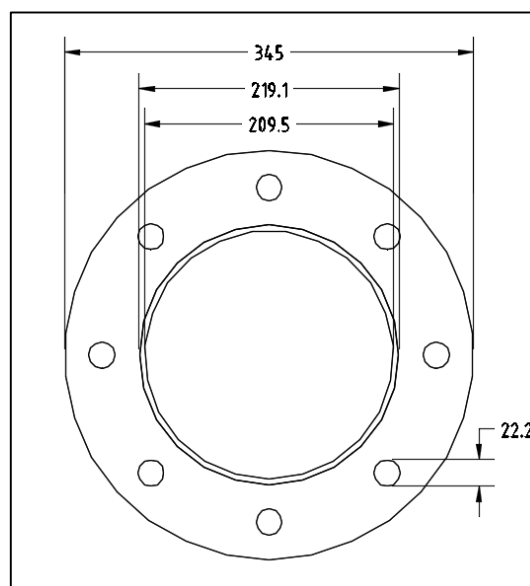


Fig. 9.87: Vista frontal de la apertura para el agitador del biorreactor.

En la tapa del biorreactor se ubica una apertura para el filtro de venteo constituida por 2 piezas, un ducto y una brida de junta con solapa, modelo Serie 150 de la empresa “Briend®”, cuyas características constructivas se muestran en la Tabla 9.47.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	4 in	Diámetro nominal	4 in
Diámetro exterior	114,3 mm	Diámetro interior	114,3 mm
Largo	100 mm	Diámetro exterior	230 mm
Espesor	3,05 mm (Sch 10)	Espesor	23,9 mm
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 4' de DN y Sch 10	Nro. de orificios	4 orificios
		Diám. de orificios	19,1 mm

Tabla 9.47: A la izquierda, características técnicas del ducto, y a la derecha, las de la brida.

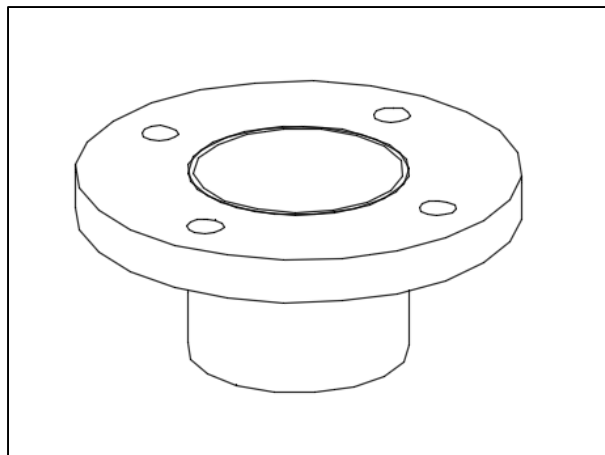


Fig. 9.85: Perspectiva de la boca de venteo del biorreactor.

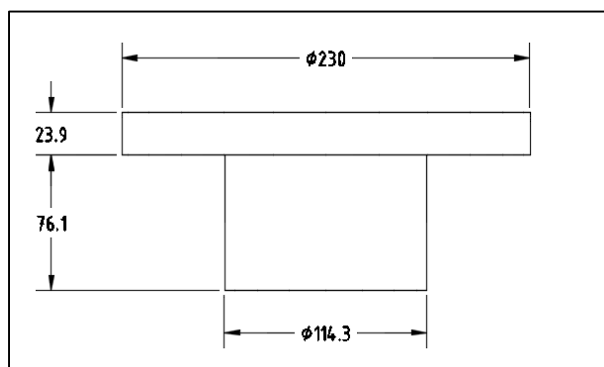


Fig. 9.86: Vista frontal de la boca de venteo del biorreactor.

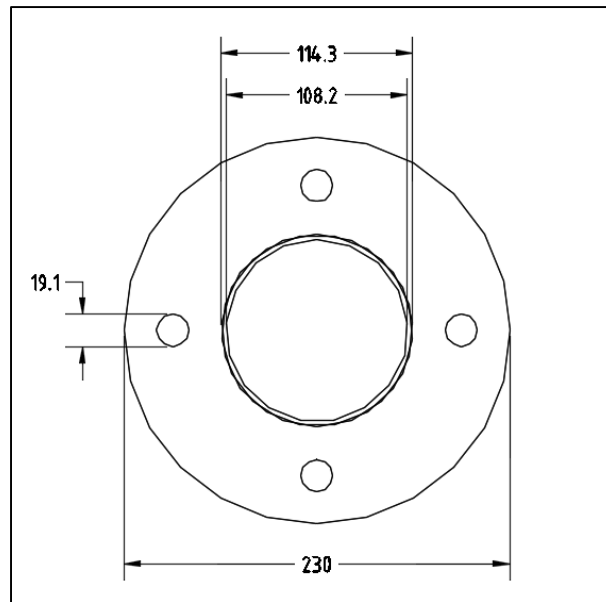


Fig. 9.87: Vista superior de la boca de venteo del biorreactor.

En la tapa del biorreactor se ubican puertos de entrada, constituidos por un ducto cuyas características constructivas son similares a los de la sección 9.6.1.3. Las dimensiones de estos periféricos son muy variables, pero suelen estar normalizadas, por lo que se adoptan medidas estándar fácilmente adaptables para la construcción de los puertos de entrada.

#### 9.6.1.6. Soporte del biorreactor

El biorreactor se encuentra soportado sobre columnas para permitir el acceso a la válvula de descarga en el fondo. Se debe asegurar que dichas columnas soporten el peso del equipo, más el caldo de fermentación dentro del mismo.

1. Calculamos el peso total ( $P_{\text{Total}}$ ) que deben soportar las columnas.

- $P_{\text{Total}} = P_{\text{Caldo}} + P_{\text{Equipo}}$

Siendo:

- $P_{\text{Caldo}} = V_{\text{Caldo}} * \rho_{\text{Caldo}}$

Consideramos una densidad del caldo de fermentación de  $1.100 \text{ Kg/m}^3$ , entonces:

- $P_{\text{Caldo}} = 20 \text{ m}^3 * (1.100 \text{ Kg/m}^3) = 22.000 \text{ Kg}$

Para calcular el peso del equipo se utiliza el programa informático “Autodesk AutoCAD” para obtener el volumen de todas las partes que conforman el equipo, y se las multiplica por la densidad del material de construcción, siendo esta  $7.960 \text{ Kg/m}^3$ , correspondiente al acero inoxidable AISI 316.

- $V_{\text{Equipo}} = V_{\text{Cuerpo}} + V_{\text{Tapa}} + V_{\text{Fondo}}$
- $V_{\text{Equipo}} = 0,829 \text{ m}^3 + 0,108 \text{ m}^3 + 0,082 \text{ m}^3 = 1,02 \text{ m}^3$

Entonces:

- $P_{\text{Equipo}} = V_{\text{Equipo}} * \rho_{\text{AI}}$
- $P_{\text{Equipo}} = 1.02 \text{ m}^3 * (7.960 \text{ Kg/m}^3) = 8.120 \text{ Kg}$

Considerando un factor de seguridad por sobrepeso del 20%, tenemos:

- $P_{\text{Total}} = (P_{\text{Caldo}} + P_{\text{Equipo}}) * 1,20$
- $P_{\text{Total}} = (22.000 \text{ Kg} + 8.120 \text{ Kg}) * 1,20 = 36.144 \text{ Kg}$

Para la construcción de las columnas se propone un diseño con las características técnicas que se muestran en la Tabla 9.48.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	8 in
Diámetro exterior	219,1 mm
Largo	1,5 m
Espesor	12,97 mm (Sch 80)
Cantidad	4 columnas
Disposición	90° una de otra
Piezas de construcción	1 tubo sin costura de 8' de DN y Sch 80

*Tabla 9.48:* Características técnicas de las columnas de soporte.

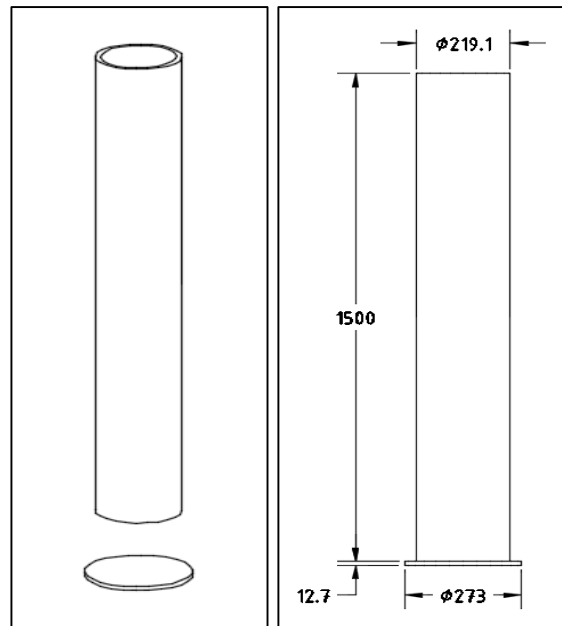


Fig. 9.88: A la izquierda, perspectiva de la columna del soporte.  
A la derecha, vista frontal de las columnas del soporte.

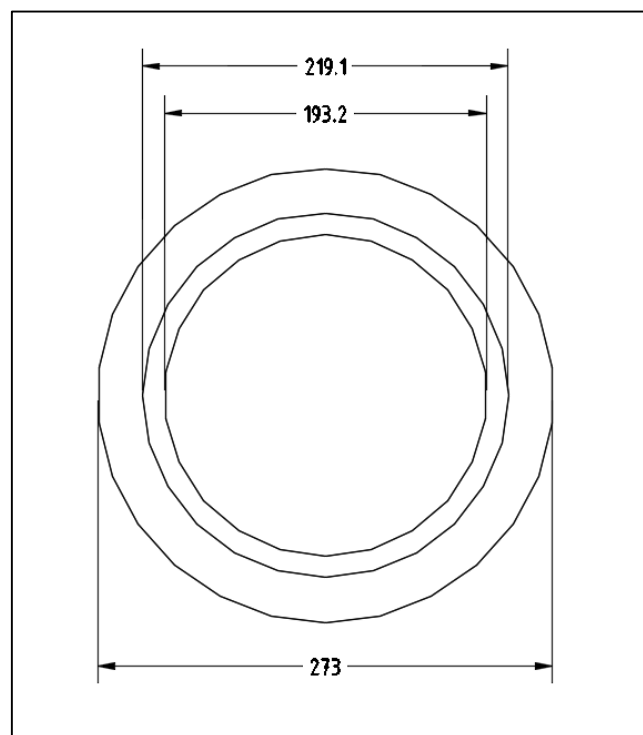


Fig. 9.89: Vista superior de las columnas del soporte.

2. Para comprobar que las columnas de soporte no experimenten pandeos debemos asegurarnos que el esfuerzo axial ( $\sigma_{\text{Real}}$ ), producido por la carga que sostienen, no supere el esfuerzo axial crítico de las columnas ( $\sigma_{\text{Crítico}}$ ).

- $\sigma_{\text{Real}} = (P_{\text{Total}} * g) / A$
- $\sigma_{\text{Real}} = (P_{\text{Total}} * g) / [4 * \pi * (r_e^2 - r_i^2)]$
- $\sigma_{\text{Real}} = [33.744 \text{ Kg} * (9,80 \text{ m/seg}^2)] / 4 * \pi * [(0,1095 \text{ m})^2 - (0,0966 \text{ m})^2] = 9,90 \text{ MPa}$

3. El cálculo para determinar la carga crítica ( $P_{\text{Crítica}}$ ), a partir de la cual la columna es susceptible de sufrir pandeos, se calcula con la siguiente expresión.

- $P_{\text{Crítica}} = \pi^2 * E * I / (\alpha * L)^2$

Siendo:

- E: Modulo de elasticidad del acero inoxidable AISI 316 (200 GPa).
- I: Momento de inercia del área.
- L: Largo de la columna.
- $\alpha$ : Factor de pandeo.

4. El momento de inercia del área está relacionado con las tensiones y deformaciones máximas que aparecen por flexión en un elemento estructural y, por tanto, junto con las propiedades del material determina la resistencia máxima de un elemento estructural bajo flexión. Se calcula mediante la siguiente expresión.

- $I = A * r^2$

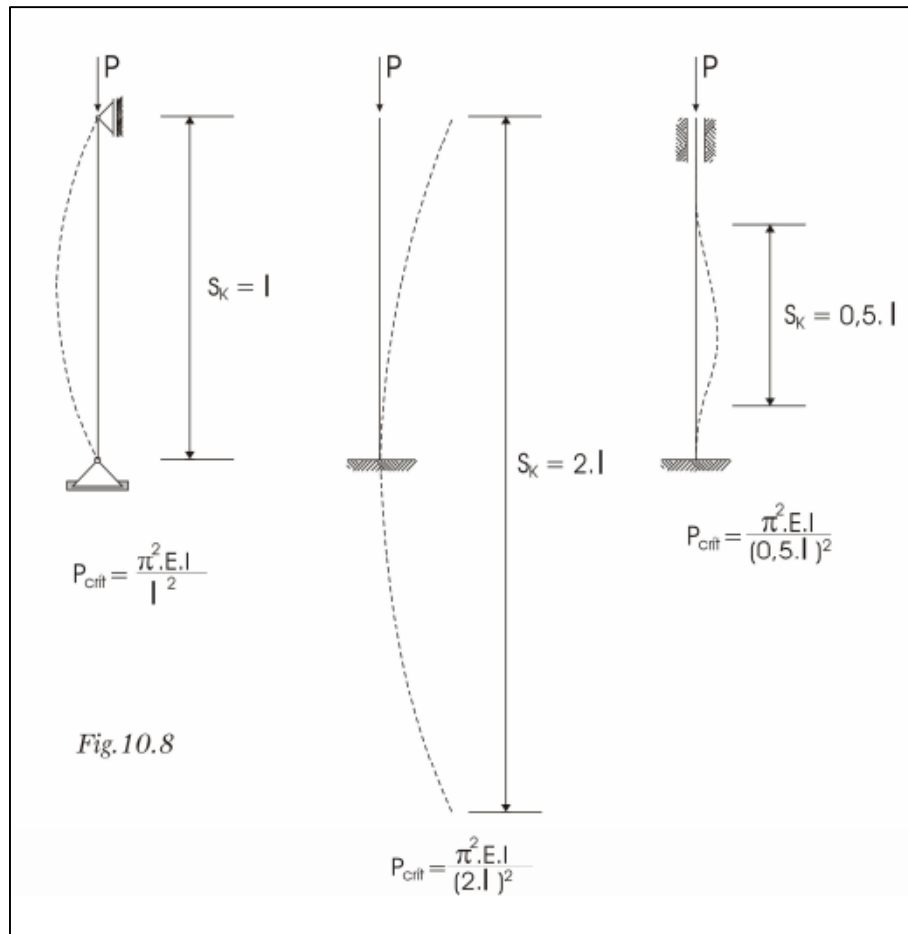
Siendo:

- I: Momento de inercia del área alrededor de un eje.
- A: Área de la sección transversal del elemento estructural.
- r: Distancia mínima del área al eje elegido.

5. El eje elegido es el centro del biorreactor y el momento de inercia del área será el mismo para todas las columnas, ya que cada una se encuentran dispuestas en igual posición respecto de la otra.

- $I = \pi * (r_e^2 - r_i^2) * r^2$
- $I = \pi * [(0,1095 \text{ m})^2 - (0,0966 \text{ m})^2] * (1,2904 \text{ m})^2$
- $I = 0,0139 \text{ m}^4$

6. El factor de pandeo ( $\alpha$ ), depende de las condiciones de vinculación de la columna en sus extremos, pudiendo ser, biarticulada, empotrada-libre, empotrada-empotrada.



*Fig. 9.90:* Factor de pandeo en función de la vinculación de una viga en sus extremos.

En nuestro caso, se trata de una columna soldada al fondo del biorreactor y apoyada sobre el suelo, por lo que la configuración que más se le asemeja es la empotrada-libre. Por lo tanto, el factor de pandeo es igual a 2.

Volviendo al cálculo de la carga crítica, tenemos:

- $P_{\text{Crítica}} = \pi^2 * 2 \times 10^{11} \text{ Pa} * 0,0139 \text{ m}^4 / (2 * 1,5 \text{ m})^2 = 3,05 \times 10^9 \text{ N}$

Por último, calculamos el esfuerzo axial crítico.

- $\sigma_{\text{Crítico}} = (3,05 \times 10^9 \text{ N}) / \pi * [(0,1095 \text{ m})^2 - (0,0966 \text{ m})^2] = 365 \text{ GPa}$



Según los cálculos, el esfuerzo axial crítico del soporte de columnas instalado es muy superior al esfuerzo axial al que se ve sometido por la acción de las cargas reales. Por lo tanto, no existen riesgos de pandeo y se asegura la integridad estructural del soporte propuesto para el biorreactor. Por lo tanto, se decide construir el soporte del biorreactor como se muestra en la Figura 9.91. Las columnas se unen con el fondo del biorreactor con soldadura de bisel en V.

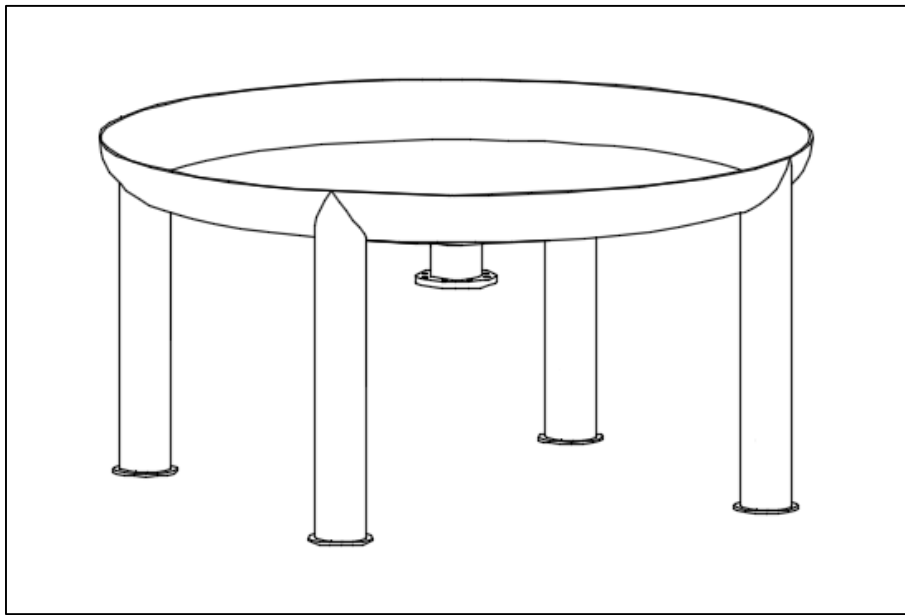


Fig. 9.91: Perspectiva del soporte en el fondo del biorreactor.

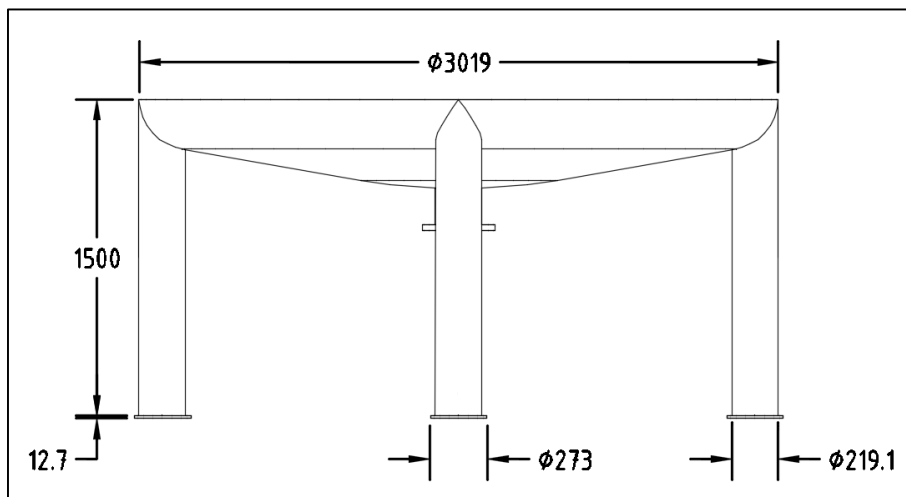


Fig. 9.92: Vista frontal del soporte en el fondo del biorreactor.

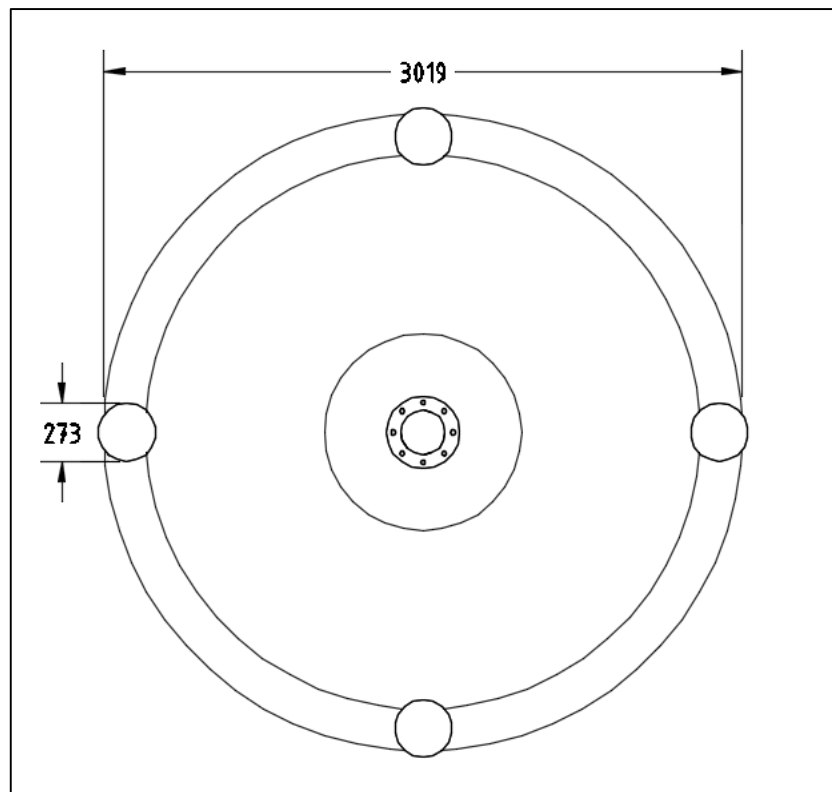


Fig. 9.93: Vista inferior del soporte en el fondo del biorreactor.

### 9.6.2. Sistema de agitación

El sistema de agitación tiene la función de generar la potencia necesaria para producir una mezcla cuasi-perfecta para el sistema de cultivo y producir un régimen de agitación adecuado que maximice la difusión de gases en el líquido y minimice la producción de esfuerzos cortantes, para optimizar los fenómenos de transferencia de calor y masa. Consta de cuatro partes mecánicas:

- **Motor impulsor.** Suministra la potencia al eje de transmisión. Dado a que el biorreactor debe operar de forma continua durante todo el proceso de cultivo, se requiere un motor capaz de resistir largos periodos de operación continua, por eso debe ser de inducción de corriente alterna, preferiblemente de acero inoxidable.
- **Eje transmisor de potencia.** Es una barra cilíndrica de acero inoxidable, cuya longitud depende de la profundidad del biorreactor.
- **Propulsor.** Son los dispositivos que impulsan el fluido y el movimiento, mediante hojas o aspas unidas al eje transmisor de potencia.
- **Acople del eje transmisor.** Ajusta y fija al motor y el eje transmisor de potencia.

1. Basándonos en las relaciones de la sección 9.2.1, se establecen las medidas necesarias del propulsor y ejes de transmisión.

A. Para el propulsor:

- $D_t/D_i = 3$
- $D_i = 2,94 \text{ m}/3 = 0,98 \text{ m}$
- $W_i/D_i = 0,25$
- $W_i = 0,25 * 0,98 \text{ m} = 0,237 \text{ m}$

B. Para el eje transmisor:

- $H_i/D_i = 1$
- $H_i = 1 * 0,98 \text{ m} = 0,98 \text{ m}$

Por lo tanto:

- $L_{Eje} = H_T - H_i$
- $L_{Eje} = 4,40 \text{ m} - 0,98 \text{ m} = 3,42 \text{ m}$

#### 9.6.2.1. Motor impulsor

Según el libro “Bioprocess Engineering Principles” (P. Doran, Elsevier Science and Technology Books, 1995), se establece la potencia del motor impulsor en base al tipo de agitador y el grado de turbulencia en el fluido, cuantificado por el número de Reynold para agitadores ( $R_{ei}$ ), como muestra la Figura 9.94.

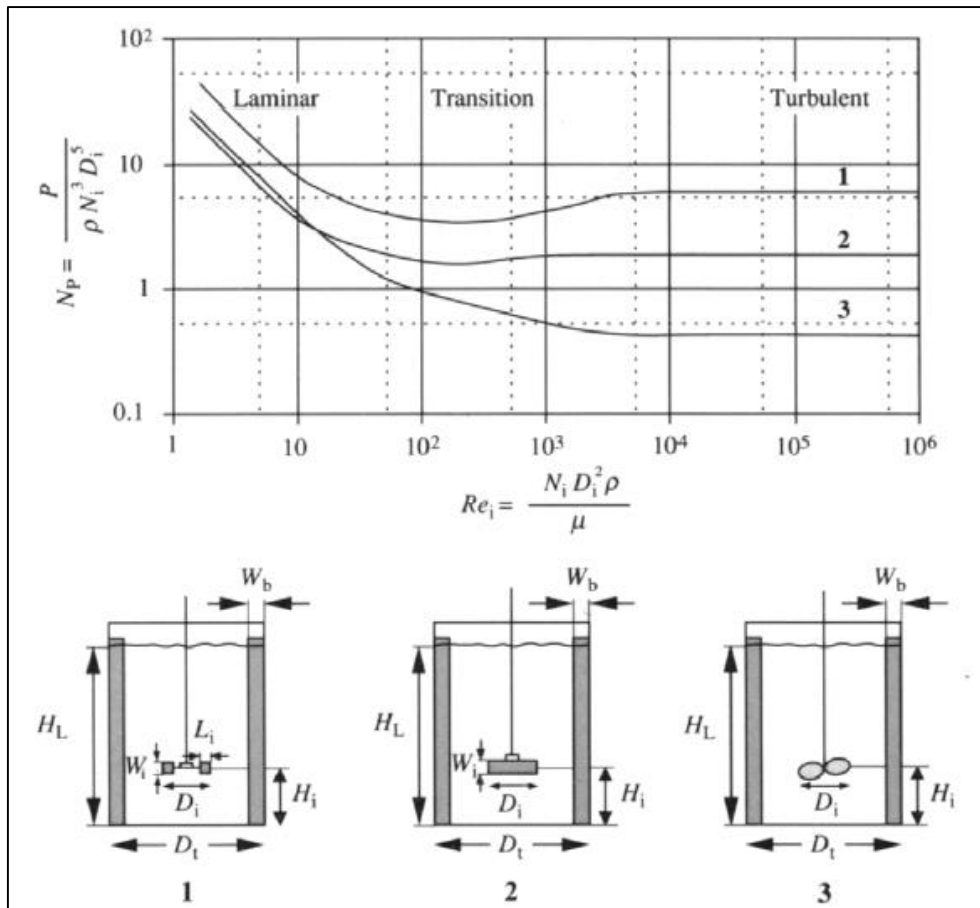


Fig. 9.94: Relación entre el Reynold ( $Re_i$ ) de agitación y en Número de Potencia ( $N_p$ ).

- Teniendo en cuenta que para cualquier tipo de propulsor en un recipiente con sistema de baffles acoplados, se desarrollan regímenes totalmente turbulentos por arriba de  $Re_i > 10^4$ , calculamos la velocidad de agitación ( $N_i$ ) necesaria para ello.

- $Re_i = (N_i * D_i^2 * \rho) / \mu$

Despejando:

- $N_i = (Re_i * \mu) / (D_i^2 * \rho)$
- $N_i = [40.000 * (3,23 \times 10^{-3} \text{ Kg/m seg})] / [(1 \text{ m})^2 * (1.100 \text{ Kg/m}^3)]$
- $N_i = 0,117 \text{ rev/seg} = 7,05 \text{ rev/min}$

Sin embargo, debemos tener en cuenta el tiempo de mezclado ( $t_m$ ), el cual es definido por la siguiente ecuación.

- $N_i * t_m = 1,54 * V_F / D_i^3$
- $t_m = (1,54 * 20 \text{ m}^3) / [(1 \text{ m})^3 * (7,05 \text{ rev/min})] = 4,37 \text{ min}$

Como puede verse, el tiempo de mezclado es demasiado grande. Considerando que en los biorreactores de escala industrial de 1 a 100 m<sup>3</sup>, se encuentra entre los 30 a 120 segundos, recalculamos el Reynold de agitación con una mayor velocidad de agitación.

Consideramos:

- $N_i = 50 \text{ rpm}$

Entonces:

- $R_{ei} = [(0,83 \text{ rev/seg}) * (1 \text{ m})^2 * (1.100 \text{ Kg/m}^3)] / (3,23 * 10^{-3} \text{ Kg/m seg}) = 2,83 * 10^5$
- $t_m = (1,54 * 20 \text{ m}^3) / [(1 \text{ m})^3 * (0,83 \text{ rev/seg})] = 65 \text{ seg}$

En base a los cálculos, una velocidad de agitación de 50 rpm es suficiente para asegurar un tiempo de mezclado dentro de los estándares industriales.

2. Utilizando la correlación de la Figura 9.94, encontramos el número de potencia ( $N_P$ ) para el tipo de propulsor y número de Reynold de agitación propuesto.

- Encontramos,  $N_P \approx 2,5$

Despejamos la potencia del motor impulsor necesaria con la siguiente ecuación.

- $N_P = P / (\rho * N_i^3 * D_i^5)$

Despejando:

- $P = N_P * \rho * N_i^3 * D_i^5$
- $P = 2,5 * (1.100 \text{ Kg/m}^3) * (0,83 \text{ rev/seg})^3 * (1 \text{ m})^5 = 1,57 \text{ kW}$

3. Sin embargo, debemos hacer dos consideraciones. La primera es que en el biorreactor existe un sistema de aireación, que al igual que el sistema de agitación produce un mezclado en el fluido y, en consecuencia, permite reducir la potencia necesaria del motor impulsor.

$$\bullet \quad P_g/P_o = 0,10 * [F_g/(N_i * V)]^{-0.25} * [(N_i^2 * D_i^4)/(g * W_i * V^{2/3})]^{-0.20} = 0,10 * X_1 * X_2$$

Siendo:

- $P_g$ : Potencia con aireación.
- $P_o$ : Potencia sin aireación.
- $F_g$ : Caudal volumétrico de aire (5.000 L/min).

Entonces:

- $X_1 = [(0,083 \text{ m}^3/\text{seg})/(0,83 \text{ rev/seg}) * (20 \text{ m}^3)]^{-0.25} = 3,76$
- $X_2 = [(0,83 \text{ rev/seg})^2 * (1 \text{ m})^4/(9,8 \text{ m/seg}^2) * (0,237 \text{ m}) * (20 \text{ m}^3)^{2/3}]^{-0.20} = 1,93$
- $P_g = 1,57 \text{ kW} * (0,10 * 3,76 * 1,93) = 1,14 \text{ kW}$

4. La segunda es que buscando la mezcla adecuada en todo lo alto del biorreactor se instalan tres propulsores a lo largo del eje de transmisión, separados equidistantemente uno del otro, pero esto demanda un mayor consumo de potencia.

$$\bullet \quad (P)_n = n * (P)_1$$

Siendo:

- $(P)_n$ : Potencia consumida por “n” propulsores.
- $(P)_1$ : Potencia consumida por un propulsor.
- n: Número de propulsores iguales.

Entonces:

$$\bullet \quad (P)_n = 3 * 1,14 \text{ kW} = 3,42 \text{ kW}$$

Se decide pedir por encargo el agitador vertical con reductor mecánico a la empresa “MyV Mixing®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.49.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro	1 m
Inclinación de paletas	45°
Cantidad de paletas	4 por propela
Cantidad de propelas	3 a lo largo del eje
Largo del eje	3,42 m
Velocidad de giro	120 rpm
Potencia eléctrica	4,1 kW

Tabla 9.49: Especificaciones técnicas del agitador encargado.

### 9.6.3. Sistema regulador de temperatura

Su propósito es mantener la temperatura interna del sistema estable y dentro de un rango óptimo requerido por el cultivo para su máximo crecimiento y producción del metabolito de interés.

#### 9.6.3.1. Sistema de intercambio de térmico

Un encamisado es el medio físico por el cual el calor es absorbido o transmitido al fluido. Se utiliza esta configuración debido a que facilita los trabajos de limpieza mucho más que otras configuraciones, como los biorreactores con serpentines internos. Se recomienda que la pared donde se lleva a cabo el intercambio térmico sea delgada para una mejor transferencia de calor.

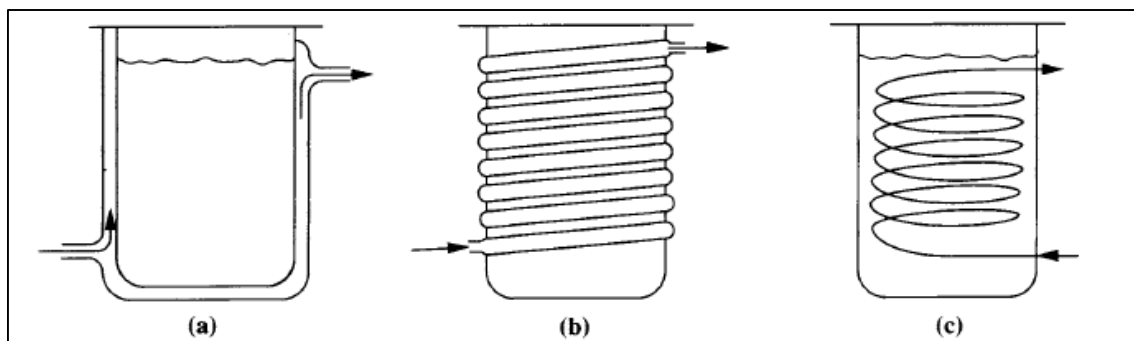


Fig. 9.95: Diferentes sistemas de intercambio térmico para biorreactores: (a) Encamisado, (b) Serpentin externo, (c) Serpentin interno.

1. Debemos obtener parámetros que nos brinden información sobre las características constructivas que la camisa debe reunir a fin de cumplir los requisitos de intercambio térmico. Tomando como base de diseño una chapa de acero inoxidable AISI 316, con un espesor de 3/16 pulgadas (4.76 milímetros de espesor). Debemos despejar el área de la siguiente ecuación.

- $\dot{Q} = U * A * \Delta T_A$

Considerando que la diferencia de temperatura aritmética de refrigeración se calcula como:

- $\Delta T_{AR} = [2 * T_F - (T_S + T_E)]/2$
- $\Delta T_{AR} = [2 * 20^\circ\text{C} - (15^\circ\text{C} + 5^\circ\text{C})]/2$
- $\Delta T_{AR} = 10^\circ\text{C}$

2. Consideramos sólo el calor de fermentación ( $Q_F$ ) calculado en la sección 8.2.1.1, ya que todos los demás intercambios térmicos son despreciables frente a este, y agregamos un factor de seguridad adicional del 20% a fin de tener un mayor margen operativo.

- $\dot{Q}_T = \dot{Q}_F * f_{seg}$
- $\dot{Q}_T = (1,91 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) * 1,20 = 2,29 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}$

3. Ahora necesitamos el coeficiente global de transferencia de calor ( $U$ ), el cual se expresa mediante la siguiente ecuación:

- $1/U = [1/h_o + (e/K_{AI}) + 1/h_i + 1/h_f]$

Siendo:

- $h_o$ : Coeficiente pelicular exterior a la camisa (3.738 W/m<sup>2</sup> °C).
- $e$ : Espesor de la pared de intercambio térmico (4,76 mm).
- $K_{AI}$ : Conductividad térmica del acero inoxidable AISI 316 (16 W/m °C).
- $h_i$ : Coeficiente pelicular interno a la camisa.
- $h_f$ : Coeficiente de ensuciamiento.



Según el libro “Bioprocess Engineering Principles” (P. Doran, Elsevier Science and Technology Books, 1995), para calcular el coeficiente pelicular interno de la camisa ( $h_i$ ), podemos utilizar la siguiente correlación:

- $Nu = 0,36 * Re^{0,67} * Pr^{0,33}$

Considerando que el fluido refrigerante se trata de agua, calculamos el número de Prandtl.

- $Pr = C_p * \mu / k$
- $Pr = [(4,190 \text{ J/Kg } ^\circ\text{C}) * (0,001 \text{ Kg/m seg})] / (0,60 \text{ J/seg m } ^\circ\text{C}) = 6,98$

Calculamos el número de Reynold para el fluido dentro de la camisa ( $Re$ ).

- $Re = D_e * \rho * (\sqrt{v_i * v_A} + v_B) / \mu$

Donde:

- $D_e = 0,816 * (D - d)$
- $v_i = 4 * \dot{V} / \pi * d_i^2$
- $v_B = 0,5 * \sqrt{2 * z * \beta * g * \Delta T_s}$
- $v_A = 4 * \dot{V} / \pi * (D^2 - d^2)$

Siendo:

- D: Diámetro mayor de la camisa (3,2095 m).
- d: Diámetro menor de la camisa (3,0095 m).
- $d_i$ : Diámetro interno de boca de entrada (54,76 mm).
- z: Altura del agua dentro de la camisa (3,40 m).
- $\beta$ : Coeficiente de expansión térmica del fluido ( $2,10 \times 10^{-4} \text{ } 1/^\circ\text{C}$ ).
- $\Delta T_s$ : Aumento de la temperatura del fluido ( $10^\circ\text{C}$ ).
- V: Flujo volumétrico de agua.

Por la camisa debe circular una cantidad de agua de refrigeración que sea capaz de extraer el calor total ( $Q_T$ ) estimado.

- $\dot{Q}_T = \dot{M}_{H_2O} * C_{SH_2O} * (\Delta T_{AR})$
- $(2,29 \times 10^5 \text{ Kcal/hs}) = \dot{M}_{H_2O} * (1 \text{ Kcal/Kg } ^\circ\text{C}) * 10 \text{ } ^\circ\text{C}$
- Obtenemos,  $\dot{M}_{H_2O} = 22.900 \text{ Kg/hs}$

En términos volumétricos, tenemos:

- $\dot{V} = (22.900 \text{ Kg/hs}) * (1 \text{ m}^3/1.000 \text{ Kg}) = 22,90 \text{ m}^3/\text{hs}$

Entonces:

- $D_e = 0,816 * (D - d)$
- $D_e = 0,816 * (3,2095 \text{ m} - 3,0095 \text{ m}) = 0,1632 \text{ m}$
- $v_i = 4 * \dot{V} / \pi * d_i^2$
- $v_i = 4 * (6,36 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}) / \pi * (0,05476 \text{ m})^2 = 2,70 \text{ m/seg}$
- $v_B = 0,5 * \sqrt{2 * z * \beta * g * \Delta T_s}$
- $v_B = 0,5 * \sqrt{2 * (3,40 \text{ m}) * (2,10 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}) * (9,80 \text{ m/seg}^2) * (10 \text{ } ^\circ\text{C})} = 0,187 \text{ m/seg}$
- $v_A = 4 * \dot{V} / \pi * (D^2 - d^2)$
- $v_A = 4 * (6,36 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}) / \pi * [(3,2158 \text{ m})^2 - (3,0158 \text{ m})^2] = 6,51 \times 10^{-3} \text{ m/seg}$

Volviendo al cálculo del número de Reynold.

- $Re = (0,1632 \text{ m}) * (1.000 \text{ Kg} / \text{m}^3) * [\sqrt{(2,70 \text{ m/seg}) * (6,51 \times 10^{-3} \text{ m/seg})} + 0,187 \text{ m/seg}] / (0,001 \text{ Kg/m seg}) = 5,21 \times 10^4$

Ahora podemos despejar el coeficiente pelicular interno a la camisa ( $h_i$ ), a partir de número de Nusselt (Nu), siendo (k) la conductividad térmica del líquido en el interior.

- $Nu = (h_i * D_e) / k$

Entonces:

- $(h_i * D_e)/k = 0,36 * Re^{0,67} * Pr^{0,33}$
- $(h_i * 0,1632 \text{ m}) / (0,60 \text{ J/seg m } ^\circ\text{C}) = 0,36 * (5,21 * 10^4)^{0,67} * (6,98)^{0,33}$
- Obtenemos,  $h_i = 3.635 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$

Para obtener el factor de ensuciamiento ( $h_f$ ) existen tablas que nos permiten estimar un valor en base al tipo de fluido, como se observa en la Tabla 9.50.

*(Data from J.M. Coulson and J.F. Richardson, 1977, Chemical Engineering, vol. 1, 3rd edn, Pergamon Press, Oxford)*

Source of deposit	Fouling factor	
	( $\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$ )	( $\text{Btu ft}^{-2} \text{h}^{-1} \text{ } ^\circ\text{F}^{-1}$ )
<b>Water*</b>		
Distilled	11 000	2 000
Sea	11 000	2 000
Clear river	4 800	800
Untreated cooling tower	1 700	300
Hard well	1 700	300
<b>Steam</b>		
Good quality, oil free	19 000	3 000
<b>Liquids</b>		
Treated brine	3 700	700
Organics	5 600	1 000
Fuel oils	1 000	200
<b>Gases</b>		
Air	2 000–4 000	300–700
Solvent vapour	7 000	1 300

Tabla 9.50: Factores de ensuciamiento estimados para diferente tipo de fluidos.

- Estimamos,  $h_f \approx 4.800 \text{ W/m}^2 \text{ K}$

Volviendo al coeficiente global de transferencia de calor (U).

- $1/U = [1 / (3.738 \text{ W} / \text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}) + (4,76 * 10^{-3} \text{ m}) / (16 \text{ W} / \text{m } ^\circ\text{C}) + 1 / (3.635 \text{ W} / \text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}) + 1 / (4.800 \text{ W} / \text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C})]$
- $U = 955 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$

4. Ahora podemos despejar el área para el intercambio térmico necesaria por la camisa.

- $A = Q/\Delta T * U$
- $A = [(63,6 \text{ Kcal/seg}) * (4.186 \text{ J/ Kcal})]/[10^\circ\text{C} * (955 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C})]$
- $A = 27.88 \text{ m}^2$

5. El área de transferencia de calor de la camisa, se expresa con la siguiente ecuación:

- $A = 2 * \pi * r * H$

Siendo:

- r: Radio del cuerpo interior del biorreactor (1,50 m).
- H: Altura del nivel de agua en la camisa (3,40 m).

Entonces:

- $A = 2 * \pi * (1,50 \text{ m}) * (3,40 \text{ m}) = 32,03 \text{ m}^2$

El área de transferencia térmica disponible para la camisa del biorreactor supera en aproximadamente un 20% al área calculada, por lo tanto, el diseño propuesta en la sección 9.6.1.1 cumple con las exigencias constructivas requeridas para asegurar la adecuada transferencia de calor durante la operación.

#### 9.6.4. Sistema de aireación

Al tratarse de un proceso de fermentación aeróbico, el sistema de aireación es fundamental para asegurar el aporte de oxígeno necesario por la levadura. Un sistema de aireación consta de cuatro partes:

- **Fuente de aire.** Los equipos más utilizados para el suministro de aire en biorreactores a escala industrial son los compresores. Su principal característica es operar con alta presión y bajo caudal de aire, por eso, cuando operan de manera continua o se requiere capacidad, debe haber un tanque de almacenamiento a alta presión como parte del sistema.
- **Inyector de aire.** Los cultivos aeróbicos requieren de aire estéril que se difunda en forma de miles de pequeñas burbujas, desde el inyector de aire, hacia el volumen del líquido. Esto se realiza mediante un anillo de acero inoxidable perforado, llamado corona.

- **Filtros de entrada y de salida.** En filtro entrada consta de una serie etapas con trampas de agua, desecante, filtro de carbón activado y filtro para bacterias, asegurando el ingreso de aire de alta pureza exento de contaminantes, partículas o microorganismos que puedan interferir de manera negativa con el proceso de fermentación. El filtro de salida consta de una membrana de microporos que previene la entrada de aire no tratado.
- **Tubería.** La misma debe ser de acero inoxidable.

#### 9.6.4.1. Fuente de aire

Buscando asegurar el suministro de aire para el biorreactor industrial, se decidió la adquisición una pequeña planta de aire con un sistema compresor libre de aceite de la empresa “Atlas Copco®”.

Recordando que según la patente “Astaxanthin over-producing strains of Phaffia Rhodozyma method for their cultivation and their use in animal feeds” (EE. UU Patente N° 6.015.684, 2000), los requisitos de flujo de aire para nuestro biorreactor fed-batch de 30 m<sup>3</sup> es de 5.000 litros por minuto, se decide que dicha planta de aire este constituida por:

- Un compresor de cuña, modelo ZT 55-VSD.
- Un sistema de filtros multi-etapas de aire, modelo MED 145.
- Un tanque pulmón de 2.000 litros.

Las especificaciones técnicas de los subsistemas que componen la planta de aire se mencionan en las Tablas 9.51 y 9.52.

Tipo	Uña rotativo (Libre de aceite)
Capacidad	2.300 a 8.300 L/min
Presión de trabajo	4 a 8,6 bar (Efectiva: 7 bar)
Dimensiones	2,44 x 1,03 x 1,88 m
Nivel sonoro	72 dB
Potencia eléctrica	15 a 55 kW

*Tabla 9.51:* Especificaciones técnicas del compresor de aire.



Fig. 9.96: Compresor de aire libre de aceite, modelo ZT 55-VSD.

Etapa 1, 2 y 3	Separador de agua y aceite ( $< 0,01 \text{ mg/m}^3$ )
Etapa 4	Desecante
Etapa 5 y 6	Filtros de carbón activado (Para hidrocarburos)
Etapa 7	Filtro bacterial (Para bacterias con eficiencia del 99,99%)
Alimentación máx.	8.700 L/min (7 bar)
Caída de presión	800 mbar
Dimensiones	850 x 1.300 x 2.200 mm

Tabla 9.52: Especificaciones técnicas del filtro de aire.



Fig. 9.97: Filtro de aire, modelo MED 145.

Según el proveedor “Atlas Copro®”, el sistema de filtros con sus siete etapas de limpieza de aire es cumplir con los más altos estándares de aire purificado, como el de la Farmacopea Europea.

	European Pharmacopeia
O <sub>2</sub>	20.4% < x < 21.4%
CO <sub>2</sub>	<500 ppm
CO	<5 ppm
SO <sub>2</sub>	<1 ppm
NO <sub>x</sub>	<2 ppm
Water vapor	ADP -45°C (-49°F) / PDP -31°C (-23°F)
Oil vapor	<0.1 mg/m <sup>3</sup>
Dirt particles	not specified
Taste and odor	taste and odor free

Fig.9.98: Estándares de aire medicinal para la Farmacopea Europea.

#### 9.6.4.2. Difusor de aire

La eficiencia de la transferencia de masa gas-líquido depende en gran medida de las características de las burbujas en el medio. En los sistemas de biorreactores agitados, el oxígeno es suministrado al medio por la inyección de burbujas de aire por debajo del agitador y la acción de este genera la dispersión del gas a través del biorreactor.

Entre los distintos tipos de difusores existentes, se elige el tipo membrana. A escala industrial, son los más ampliamente usados. Consisten en un conducto de circulación de aire que, al momento de liberarlo, atraviesa una membrana con miles de micro-perforaciones, lo que permite obtener valores de transferencia de oxígeno muy altos. Otra ventaja de este tipo de difusores es la posibilidad de conformar módulos con gran cantidad de difusores y diversas geométricas, de acuerdo a las necesidades de cada situación.



Fig. 9.99: Difusor de burbujas finas.

Para conformar el sistema difusor de aire se elige el difusor de burbuja fina, modelo CB-300 de la empresa “Repicky®”, el mismo está constituido de una membrana elastomérica de acrílico nitrilo, la cual impide el ingreso de líquido en las cañerías sumergidas, facilitando el arranque. Las especificaciones técnicas del difusor de burbuja fina se muestran en la Tabla 9.53.

Caudal	3 a 25 m <sup>3</sup> /hs
Diámetro	310 mm
Diám. de rosca	3/4 in
Diám. de tubería	2 a 6 in
Pérdida de carga	20 mbar (3 m <sup>3</sup> /hs)
	40 mbar (10 m <sup>3</sup> /hs)
	70 mbar (25 m <sup>3</sup> /hs)

Tabla 9.53: Especificaciones técnicas del difusor de aire.

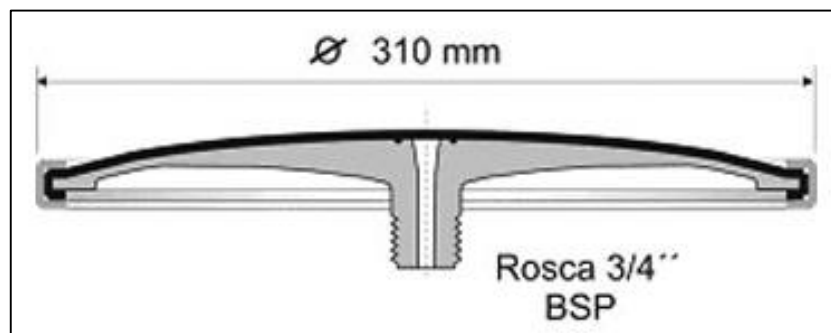


Fig. 9.100: Esquema del difusor de burbujas finas.



1. Para calcular la cantidad de difusores ( $N_{Dif}$ ) necesarios, recordamos que debemos suplir una demanda de 5.000 L/min y tomando un factor de seguridad de 20%, tenemos:

- $Q_{Aire} = (5.000 \text{ L/min}) * 1,20 = 6.000 \text{ L/min}$

Considerando un caudal de aire de 20 m<sup>3</sup>/hs por difusor.

- $N_{Dif} = Q_{Aire}/Q_{Dif}$
- $N_{Dif} = (6.000 \text{ L/min})/[(20 \text{ m}^3/\text{hs}) * (1.000 \text{ L/m}^3) * (1 \text{ hs}/60 \text{ min})] = 18 \text{ Difusores}$

Considerando las dimensiones del cuerpo del biorreactor (sección 9.6.1), se decide construir un sistema de difusores con una geometría hexagonal (Figura 9.101), cuyas características constructivas se mencionan en la Tabla 9.54.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Diámetro nominal	2 in
Diámetro exterior	60,3 mm
Largo	1,125 m
Espesor	2,77 mm (Sch 10)
Bifurcaciones	6 ramas
Nro. de difusores	3 por rama de bifurcación
Piezas de construcción	Tubo sin costura de 10 m, 2' de DN y Sch 10

*Tabla 9.54:* Características técnicas del sistema de difusores.

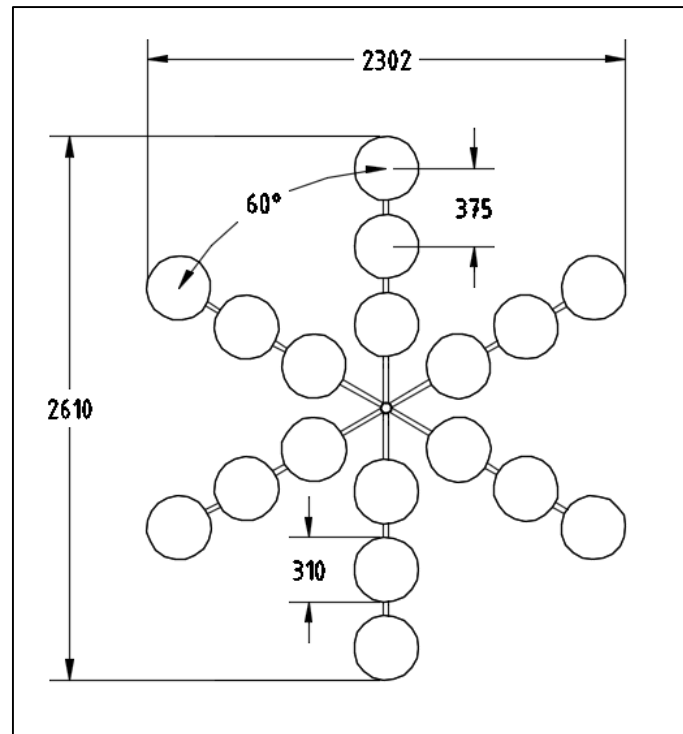


Fig. 9.101: Sistema difusor de aire del biorreactor

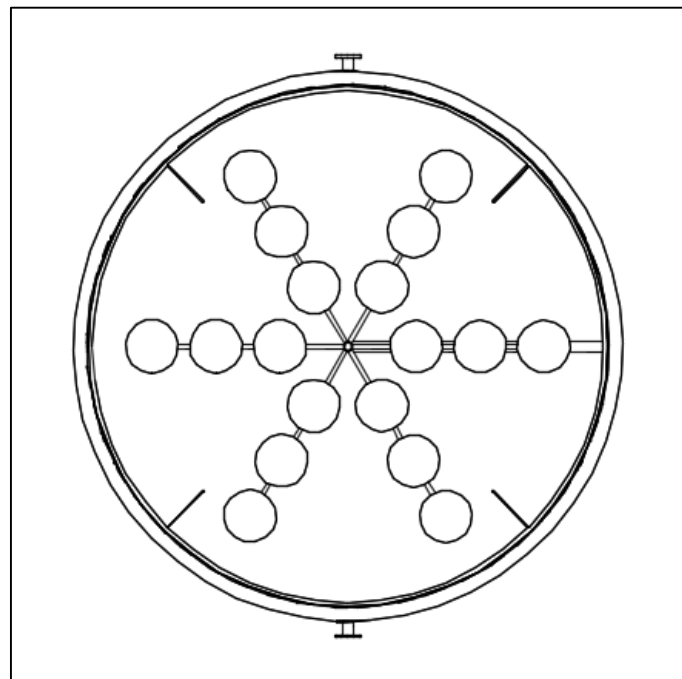


Fig. 9.102: Sistema difusor de aire posicionado dentro del biorreactor.

1. Antes de aceptar el sistema de difusores, debemos verificar que la pérdida de carga desde la línea de aire hasta el biorreactor sea admisible, para ello, partimos de la ecuación de Bernoulli.

- $(P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$

Considerando que la línea de suministro de aire se encuentra aproximadamente a la misma altura que los difusores dentro del biorreactor.

- $h_1 \approx h_2$

Como no existe un trabajo ejercido por una bomba en el camino de circulación de la corriente de aire.

- $W = 0$

La ecuación de Bernoulli queda simplificada a la siguiente expresión:

- $(P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_f$

2. Según las especificaciones técnicas de la planta de aire aportadas por el fabricante, la misma es capaz de suministrar aire a la línea a una presión de 7 bares (700 kPa). Por lo tanto, para asegurar la circulación aire de la línea hasta el biorreactor debemos asegurar que:

- $P_1 < 700 \text{ kPa}$

Para estimar la presión que debe vencer el aire al salir de los difusores debemos considerar dos factores. El primero, es la presión hidrostática ( $P_H$ ) ejercida por la altura de la columna de agua dentro del biorreactor, y el segundo, la pérdida de carga en cada difusor en función del caudal que circula por el mismo.

- $P_H = \rho * g * h$

- $P_H = (1.100 \text{ Kg/m}^3) * (9,80 \text{ m/seg}^2) * 2,83 \text{ m} = 30,51 \text{ kPa}$

Como el caudal de operación de los difusores es 20 m<sup>3</sup>/hs, y según las especificaciones técnicas la caída de presión a 25 m<sup>3</sup>/hs es 70 mbares (7 kPa), tomamos esta para nuestro cálculo.

- $P_{DifTotal} = P_{Dif} * N_{Dif}$
- $P_{DifTotal} = (7 \text{ kPa/Difusor}) * 18 \text{ Difusores} = 126 \text{ kPa}$

Entonces:

- $P_2 = P_H + P_{DifTotal}$
- $P_2 = 30,51 \text{ kPa} + 126 \text{ kPa} = 156,51 \text{ kPa}$

3. Cuando calculamos la velocidad de circulación del aire en cada uno de los puntos a evaluar debemos tener en cuenta una serie de factores. En el primero, el aire circula por una tubería de acero inoxidable con diámetro nominal de 2 pulgadas y Schedule 10 (2.77 milímetros de espesor), entonces:

- $v_1 = \dot{Q}_{Aire} / A_1$
- $v_1 = [(6 \text{ m}^3/\text{min}) * (\text{min}/60 \text{ seg})] / [\pi * (0,02738 \text{ m})^2] = 42,5 \text{ m/seg}$

El segundo, el caudal de aire se bifurca en 6 canales iguales con 3 difusores cada uno, y el ducto que lleva aire hasta la boca de salida del difusor tiene un diámetro de 1/3 de pulgada (8.47 milímetros), entonces:

- $\dot{Q}_{Dif} = \dot{Q}_{Aire} / [6 \text{ Canales} * (3 \text{ Difusores/Canal})]$
- $\dot{Q}_{Dif} = [(6 \text{ m}^3/\text{min}) * (\text{min}/60 \text{ seg})] / [6 \text{ Canales} * (3 \text{ Difusores/Canal})]$
- Obtenemos,  $\dot{Q}_{Dif} = 5,56 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}$

Entonces:

- $v_2 = \dot{Q}_{Dif} / A_2$
- $v_2 = (5,56 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}) / [\pi * (0,00423 \text{ m})^2] = 99 \text{ m/seg}$

4. Por último, nos queda determinar la pérdida de carga por fricción.

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g) + e_v * (v^2/2 * g)$

Determinamos el factor de fricción de Fanning mediante el diagrama de Moody, para ello, determinamos el número de Reynold.

- $Re = (D * \rho * v) / \mu$

El aire que circula por la línea se encuentra 20°C, 7 bares de presión y puede considerársele completamente libre de agua, por lo tanto:

- $\rho_{\text{Aire}}$ : Densidad de aire (9,55 Kg/m<sup>3</sup>).
- $\mu_{\text{Aire}}$ : Viscosidad de aire (18,3 x10<sup>-6</sup> Kg/m seg).

Entonces:

- $Re = [(0,0547 \text{ m}) * (9,55 \text{ Kg/m}^3) * (42,5 \text{ m/seg})] / (18,3 \times 10^{-6} \text{ Kg/m seg}) = 1,21 \times 10^6$

Con ese valor y teniendo en cuenta que el material de construcción de la cañería es acero inoxidable, el cual consideramos liso, estimamos en valor de factor de fricción de Fanning (Figura 9.103).

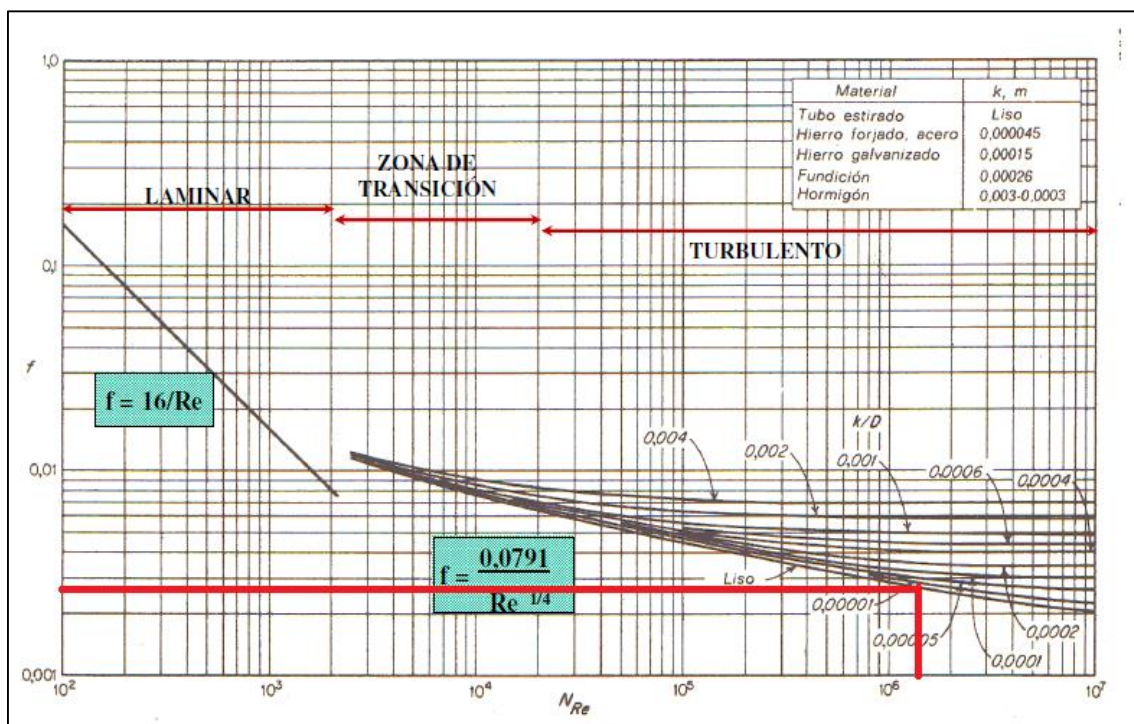


Fig. 9.103: Determinación de factor de fricción de Fanning para la cañería de aire.

- Se estima el factor de fricción de Fanning,  $f \approx 0,00275$

En cuanto a la longitud de tramos de cañería recta, consideramos 10 metros de la línea de aire hasta el biorreactor, y 6 tramos de 1.125 metros por un total de 6.75 metros.

En cuanto a las longitudes equivalentes, consideramos un sistema con una válvula tipo globo abierta y un codo de 90° en una tubería de 2 pulgadas de diámetro nominal y Schedule 10, entonces tenemos:

- $L_{Eq}$  codo  $\approx 1,50$  m
- $L_{Eq}$  válvula  $\approx 20$  m

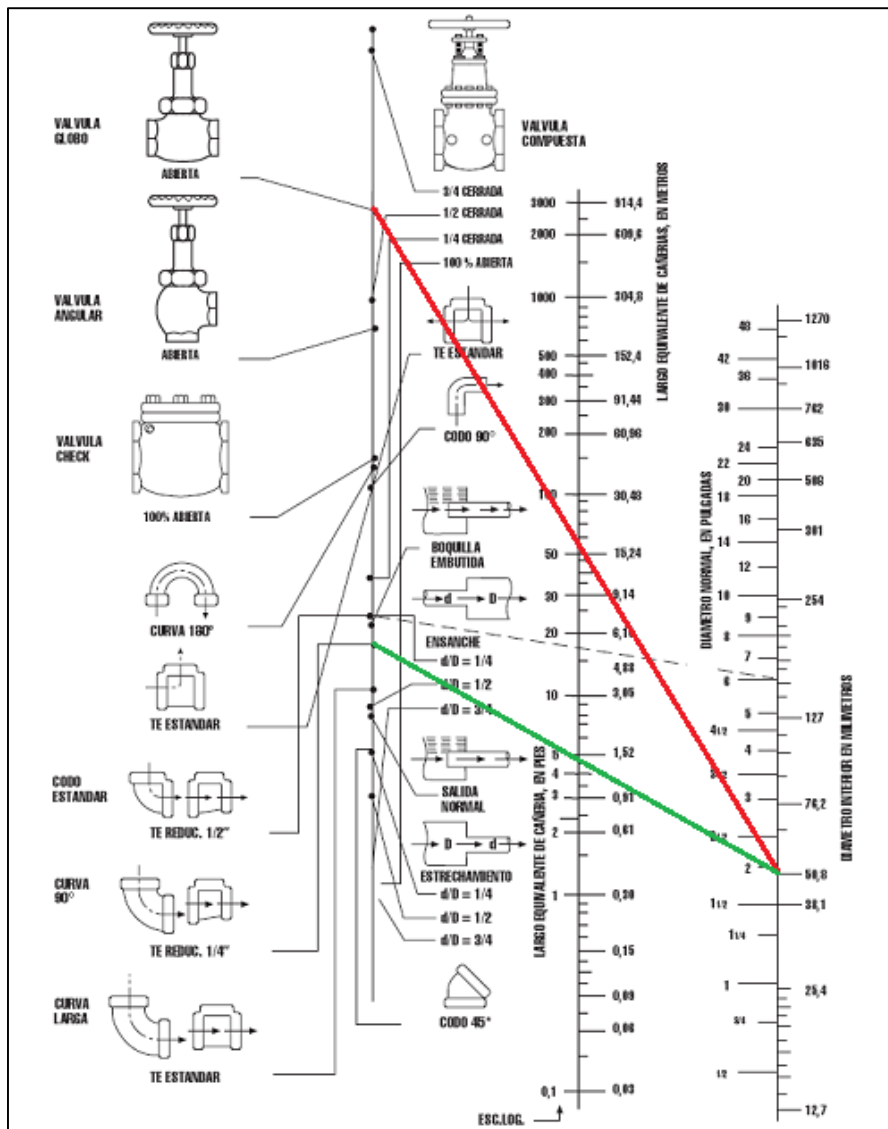


Fig. 9.104: Longitudes equivalentes para artefactos en cañerías.

Por último, estimamos las pérdidas de carga secundarias por cada accesorio instalado en línea de distribución de aire.

<i>Cambios bruscos del área de la sección transversal<sup>b</sup> e<sub>v</sub></i>	
Entrada normal de tubería	0,05
<b>Contracción brusca</b>	$0,45(1 - \beta)$
<b>Ensanchamiento brusco<sup>c</sup></b>	$\left(\frac{1}{\beta} - 1\right)^2$
Orificio (de borde afilado)	$2,7(1 - \beta)(1 - \beta^2)\frac{1}{\beta^2}$
<i>Accesorios y válvulas</i>	
Codos de 90° (curvados)	0,4-0,9
Codos de 90° (en ángulo)	1,3-1,9
Codos de 45°	0,3-0,4
Válvula de asiento (abierta)	6-10
Válvula de compuerta (abierta)	0,2

Fig. 9.105: Coeficientes de pérdidas de carga secundarias por artefactos instalados.

Encontramos:

- e<sub>v</sub> codo ≈ 1,6
- e<sub>v</sub> válvula ≈ 8

Entonces, conociendo las longitudes, diámetro interno y velocidad del aire que circula por dentro de la tubería, podemos calcular la pérdida de carga total.

- $h_f = 4 * 0,00275 * [(10 \text{ m} + 6,75 \text{ m} + 20 \text{ m} + 1,5 \text{ m}) / 0,0547 \text{ m}] * [(42,5 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)] + (8 + 1,6) * [(42,5 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $h_f = 1.594 \text{ m}$

Volviendo a la ecuación de Bernoulli, despejamos la presión de línea (P<sub>1</sub>) necesaria:

- $(P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_f$
- $(P_1/\gamma) = h_f + [(v_2^2 - v_1^2)/2 * g] + (P_2/\gamma)$
- $[P_1 / (9,80 \text{ m / seg}^2) * (9,55 \text{ Kg / m}^3)] = 1.594 \text{ m} + [(99 \text{ m / seg})^2 - (42,5 \text{ m/seg})^2] / (2 * (9,80 \text{ m / seg}^2)) + [156,51 \text{ kPa} / (9,80 \text{ m / seg}^2) * (9,55 \text{ Kg / m}^3)]$
- Obtenemos,  $P_1 = 344 \text{ kPa}$

El compresor de uña seleccionado es capaz de aportar un suministro aire a la línea con una presión de 7 bares (700 kPa), por lo tanto, puede vencer sin inconvenientes las pérdidas de carga desde la línea de suministro hasta el sistema de difusores del biorreactor.

### 9.6.4.3. Filtro de venteo

La reacción de fermentación genera subproductos gaseosos, principalmente dióxido de carbono, que necesitan ser evacuados hacia el exterior a fin de evitar su interferencia en la reacción y subida de presión en el interior del biorreactor. Para ello, se debe instalar un sistema de venteo con filtros que permita la evacuación de gases de manera aséptica. En base a ello, se seleccionaron los siguientes equipos, cuyas especificaciones técnicas se mencionan en la Tabla 9.55.

- Una carcasa de venteo con conexión bridada, modelo 0432 de la empresa “Donaldson®”.
- Un filtro de aire, modelo P-GS VE 20/30 de la empresa “Donaldson®”.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Capacidad máxima	7.000 L/hs	Tipo de conexión	A presión
Tipo de conexión	4" (DN) Bridada	Tamaño de poro	1 micrón
Dimensiones	720 x 219 mm	Dimensiones	524 x 77 mm
Temp. máx. de operación	200 °C	Temp. máx. de operación	150 °C

Tabla 9.55: A la izquierda, especificaciones técnicas de la carcasa de venteo, y a la derecha, las del filtro de aire.



Fig. 9.106: A la izquierda, carcasa de filtro de aire 0432, y a la derecha, filtro de aire P-GS VE 20/30.



### 9.6.5. Accesorios periféricos

Los accesorios periféricos son elementos que no forman parte de estructura del biorreactor, pero juegan un rol a la hora de llevar a cabo las operaciones realizadas en el mismo.

#### 9.6.5.1. Bomba peristáltica

En una bomba peristáltica el fluido es contenido dentro de un tubo empotrado dentro de una cubierta circular de la bomba. Un rotor, con un número determinado de rodillos, comprimen al tubo flexible y mientras este da vueltas el fluido es forzado a moverse a través del tubo. Debido a que es un elemento de impulsión de fluidos que permite mantener un alto grado de asepsia, es el tipo bomba hidráulica elegida para movilizar la solución de reservorio con la que se alimenta al biorreactor.

Considerando que el caudal máximo que se necesita bombear de la solución de reservorio es de 210 L/hs (sección 7.2.3.3). Se seleccionó una bomba peristáltica, modelo BS60 de la empresa “Apema®”, con las especificaciones técnicas mencionadas en la Tabla 9.56.

Caudal máximo	15 L/min
Presión máxima	7 bares
Tubo de bombeo	4 a 12 mm ( $\varnothing$ )
Dimensiones	340 x 180 x 370 mm
Rodillos autoajustables	2 de acero inoxidable
Alimentación	220 VAC, 50/60 Hz
Potencia eléctrica	300 W

Tabla 9.56: Especificaciones técnicas de bomba peristáltica



Fig. 9.107: Bomba peristáltica, modelo BS 60.

### 9.7. Biorreactores de escala piloto y laboratorio

En estos equipos se realiza el escalado del cultivo de levadura hasta llegar al tamaño de inóculo adecuado para el biorreactor industrial. Su elección se basa en la capacidad volumétrica y la posibilidad de cumplir con las condiciones de operación requeridas por la levadura *P. rhodozyma* (secciones 5.4.1 y 5.4.2).

En base a ello, se seleccionaron los biorreactores de laboratorio y planta piloto, modelos DL-02, DG-20, DG-200 y DG-2000 de la empresa “Nova Biotech®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.57.

Escala	Laboratorio	Piloto		
Modelo	DL-02	DG-20	DG-200	DG-2000
Volumen total	3 L	30 L	300 L	3.000 L
Vol. de trabajo máx.	2 L	20 L	200 L	2.000 L
Vol. de trabajo mín.	1 L	7 L	80 L	800 L
Relación Alt./Diám.	3:1	2:1	2:1	2:1
Diámetro	110 mm	260 mm	570 mm	1.240 mm
Flujo de gas	0,5 a 5 L/min	5 a 50 L/min	50 a 500 L/min	500 a 5.000 L/min
Agitación	Hasta 1000 rpm	Hasta 500 rpm		
	3 Propelas Rushton de 6 palas. Sello mecánico doble			
Control de temperatura	Rango de operación de 10 a 80°C. Calentamiento eléctrico y enfriamiento por agua a 10°C menos de la temperatura de operación			
Control de pH	Control PID con bomba de base y ácido			
Control O <sub>2</sub>	De 10 a 100% mediante lazo de control PID de agitación			
Aireador	Tipo herradura			
Salida de gases	Condensador para salida de venteo			
Bomba peristáltica	Controlada por pulso. Ajustable hasta 160 mL/min	Controlada por pulso. Ajustable hasta 160 L/min		
Tensión de alimentación	220 VAC/50Hz	380 VAC/50Hz		
Alimentación de agua de enfriamiento	2 bar regulada			
Alimentación de gases	1,5 bar regulado. Gases secos y libres de partículas de aceite			

Tabla 9.57: Especificaciones técnicas de los biorreactores de laboratorio y planta piloto.



Fig. 9.110: A la izquierda, biorreactor de laboratorio. A la derecha, biorreactor de planta piloto.

## 9.8. Operaciones de downstream

Una vez concluida la fermentación dentro del biorreactor industrial, las operaciones del downstream se encargan de separar las células de levadura del caldo de fermentación y, posteriormente, acondicionarlas hasta el formato final del producto a comercializar. Llevar a cabo esto requiere el uso de una centrifuga de discos, un tanque de mezcla, un secador spray, un mezclador de polvos y una máquina embolsadora.

### 9.8.1. Centrifuga de discos

En la centrifuga se realiza la separación de las fracciones líquidas y sólidas, en búsqueda concentrar esta última lo máximo posible con el mínimo de pérdidas. Si bien existen otros equipos para la separación líquido-sólido, como filtros o centrifugas decantadoras, la combinación de un pequeño tamaño de partícula (entre 5 a 10  $\mu\text{m}$ ) y con una concentración de sólidos entorno al 9% por parte de las células de levadura, hacen que la centrifuga de discos sea la mejor opción para una separación eficiente y sin inconvenientes de obstrucción (Figura 9.111).

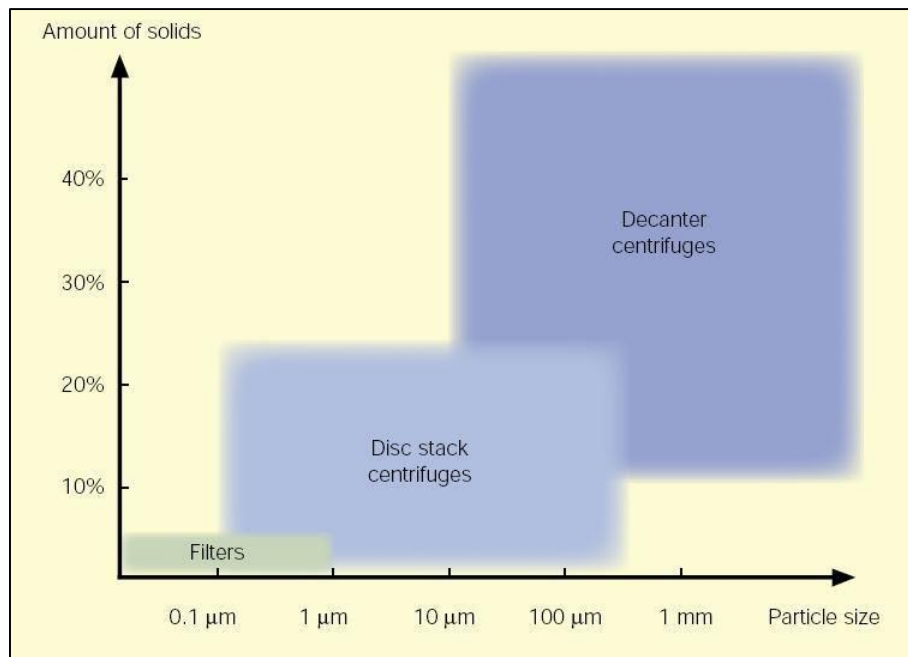


Fig. 9.111: Aplicación de diferentes equipos de separación líquido-sólido.

De acuerdo a estas consideraciones, y los cálculos realizados en el balance de materia en esta etapa (sección 7.3.1), se seleccionó la centrifuga de discos, modelo MBUX 214 de la empresa “Alfa Laval®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.58.

Capacidad	30 m <sup>3</sup> /hs (máx.)
Tamaño de partícula	1 a 5 μm
Conc. de sólidos	2 a 10 %
Temp. de entrada	0 a 100°C
Presión de entrada	15 kPa (máx.)
Presión de salida (clarificado)	100 kPa
Presión de salida (lodos)	550 kPa
Nro. de discos	200
Radio ext. de discos	350 mm
Radio int. de discos	140 mm
Ángulo de discos	50°
Dimensiones	1,26 x 1,93 x 2,19 m
Velocidad de giro	7.500 rpm (máx.)
Potencia eléctrica	55 kW

Tabla 9.58: Especificaciones técnicas de la centrifuga de discos.



Fig. 9.112: Centrifuga de discos, modelo MBUX 214.

### 9.8.2. Tanque de mezcla

En este tanque se realiza la formulación del producto mediante el agregado de aceite de girasol y lecitina de soja, además, hace las veces de recipiente dosificador para la etapa de secado spray.

1. Para la selección del tanque de mezcla adecuado, debemos considerar el volumen ocupado por la crema de levadura a la salida de la centrifuga. Recordando que se separaron 10.000 Kg de crema de levadura con 20% de sólidos y, que para dicha separación se diluyeron los 20 m<sup>3</sup> del caldo de fermentación con 25 m<sup>3</sup> de agua, calculamos la densidad e la crema de levadura.

- $\rho_{CL} = X_{LV} * \rho_{LV} + (1 - X_{LV}) * \rho_{CF+H2O}$
- $\rho_{CL} = [0,20 * (1.100 \text{ Kg/m}^3)] + [0,80 * (1.045 \text{ Kg/m}^3)] = 1.056 \text{ Kg/m}^3$

Calculamos el volumen ocupado por la crema de levadura.

- $V_{CL} = CL * (1/\rho_{CL})$
- $V_{CL} = (10.000 \text{ Kg/Lote}) * (m^3/1.056 \text{ Kg}) = 9,47 \text{ m}^3/\text{Lote}$

Considerando el agregado de aceite de girasol y lecitina de soja de la sección 7.3.2, tenemos:

- $V_{\text{Total}} = V_{\text{CL}} + AG * (1/\rho_{\text{AG}}) + LS * (1/\rho_{\text{LS}})$

Siendo:

- $\rho_{\text{AG}}$ : Densidad del aceite de girasol (920 Kg/m<sup>3</sup>).
- $\rho_{\text{LS}}$ : Densidad de la lecitina de soja (1.030 Kg/m<sup>3</sup>).

Entonces:

- $V_{\text{Total}} = 9,47 \text{ m}^3/\text{Lote} + (90 \text{ Kg AG} / \text{Lote}) * (\text{m}^3 / 920 \text{ Kg}) + (90 \text{ Kg LS} / \text{Lote}) * (\text{m}^3 / 1.030 \text{ Kg})$
- $V_{\text{Total}} = 9,66 \text{ m}^3/\text{Lote}$

2. Debemos estimar la potencia necesaria por el motor del agitador. Considerando que se necesita un tiempo de mezclado de entre 30 a 120 segundos para asegurar que este sea eficiente (Bioprocess Engineering Principles, Pauline Doran), calculamos la velocidad de agitación.

- $N_i * t_m = 1,54 * V_{\text{Total}}/D_i^3$

Proponemos, una velocidad de agitación ( $N_i$ ) de 100 rpm.

- $t_m = (1,54 * 9,66 \text{ m}^3)/[(0,5 \text{ m})^3 * (100 \text{ rev/min})] = 1,19 \text{ min}$

Calculamos el número de Reynold para tanques agitados ( $Re_i$ ).

- $Re_i = (N_i * D_i^2 * \rho)/\mu$
- $Re_i = [(1,67 \text{ rev/seg}) * (0,5 \text{ m})^2 * (1.056 \text{ Kg/m}^3)]/(2,0 \times 10^{-3} \text{ Kg/m seg}) = 2,20 \times 10^5$

Utilizando el gráfico de la Figura 9.94 encontramos el número de potencia ( $N_p$ ), siendo este 2.5, despejamos la potencia necesaria con la siguiente ecuación:

- $P = N_p * \rho * N_i^3 * D_i^5$
- $P = 2,5 * (1.056 \text{ Kg/m}^3) * (1,67 \text{ rev/seg})^3 * (0,5 \text{ m})^5 = 0,39 \text{ kW}$

Por último, considerando el uso de tres propelas a lo largo del eje de agitación, tenemos:

- $(P)_n = n * (P)_1$

- $(P)_n = 3 * 0,39 \text{ kW} = 1,17 \text{ kW}$

En base a los cálculos, se seleccionó un tanque térmico vertical, modelo TV120A de la empresa “ETI®”, y un agitador por encargo a la empresa “MyV Mixing®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.59.

Material	Acero inoxidable AISI 316	Material	Acero inoxidable AISI 316
Capacidad	12.000 L	Diámetro	0,5 m
Diámetro	2 m	Inclinación de paletas	45°
Altura	4 m	Cantidad de paletas	4 por propela
Aislante	Poliuretano expandido	Cantidad de propelas	3 a lo largo del eje
		Largo del eje	3 m
Espesor de aislante	50 mm	Velocidad de giro	160 rpm
		Potencia eléctrica	2,23 kW

*Tabla 9.59:* A la izquierda, especificaciones técnicas del tanque de mezcla.

A la derecha, las del agitador de paletas inclinadas.



*Fig. 9.113:* Tanque térmico vertical.

### 9.8.2.1. Tanques de almacenamiento para aditivos

Tanto el aceite de girasol, como la lecitina de soja necesitan de recipientes para su almacenamiento hasta el momento de la formulación con la crema de levadura.

1. Ambos aditivos se almacenan trimestralmente en tanques de acero inoxidable. Considerando que por lote de producción se usan 90 Kg de cada uno, se elaboran 12 lotes por trimestre y se adiciona un margen extra del 20%, calculamos el volumen necesario de los tanques de almacenamiento.

- $V_{AG} = AG * (1/\rho_{AG}) * (12 \text{ Lotes/Trimestre}) * 1,20$
- $V_{AG} = (90 \text{ Kg AG/Lote}) * (m^3/920 \text{ Kg}) * (12 \text{ Lotes/Trimestre}) * 1,20 = 1,41 \text{ m}^3/\text{Año}$

Por otro lado:

- $V_{LS} = LS * (1/\rho_{LS}) * (12 \text{ Lotes/Trimestre}) * 1,20$
- $V_{LS} = (90 \text{ Kg AG/Lote}) * (m^3/1.030 \text{ Kg}) * (12 \text{ Lotes/Trimestre}) * 1,20 = 1,26 \text{ m}^3/\text{Año}$

En base a los cálculos, se seleccionaron 2 tanques térmicos verticales, modelos TV020A de la empresa “ETI®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.60.

Material	Acero inoxidable AISI 316
Capacidad	2.000 L
Diámetro	1,1 m
Altura	2,2 m
Aislante	Poliuretano expandido
Espesor de aislante	50 mm

Tabla 9.60: Especificaciones técnicas de los tanques de almacenamiento.

### 9.8.3. Secador spray

El secador spray es el equipo encargado de dar al producto su formato de polvo seco sin producir un daño térmico que pueda perjudicar su funcionalidad. Estos equipos pueden operar de forma continua durante 24 horas, sin embargo, se decide seleccionar uno con capacidad de remover el agua de la crema de levadura en menos tiempo para reducir los costos asociados al consumo de energía eléctrica.



Por otro lado, estos equipos suelen precisar una gran disponibilidad de espacio físico para su instalación, sobre todo de altura, por lo que las dimensiones del secador fueron otro factor a tener en cuenta. En base a estas consideraciones, se seleccionó un secador spray, modelo 3530 de la empresa “Galaxie Secado Spray®”, con las especificaciones técnicas que se muestran en la Tabla 9.61.

Aire de secado		Evaporación de agua	Consumo de combustible	Potencia eléctrica	Dimensiones
Entrada	Salida				
°C	°C	L/hs	Kcal/hs	kW	m
180	80	190	240.000	30	6 x 6 x 8,5
220	90	250	300.000		
250	100	290	345.000		
350	100	470	495.000		
450	100	640	645.000		
550	100	800	795.000		

Tabla 9.61: Especificaciones técnicas del secador spray.



Fig. 9.114: Secador spray, modelo 3530.

### 9.8.4. Mezclador de polvos

Una vez que toda la crema de levadura ha sido procesada hasta su formato de levadura en polvo, se la lleva a un mezclador de polvos con doble tornillo helicoidal, donde se la mezcla con levadura comercial para estandarizar el contenido de astaxantina en el producto final.

1. Debemos asegurarnos que el volumen de mezclador sea el adecuado para contener la levadura en polvo y permitir su mezclado. Considerando el balance de materia en esta etapa (sección 7.3.4), sabemos que se obtienen 2.295 Kg de levadura en polvo después del proceso de secado spray y se agregan 207 Kg de levadura comercial. Sabiendo que la densidad de las células de levadura es 1.100 Kg/m<sup>3</sup>, calculamos el volumen representativo de estas cantidades.

- $V_{LP} = (LP + LC) * (1/\rho_{LV})$
- $V_{LP} = (2.295 + 207)Kg/Lote * (m^3/1.100 Kg) = 2,27 m^3/Lote$

En relación a los cálculos realizados, se seleccionó un mezclador de tornillo sin fin, modelo Hit 2 de la empresa “Prillwitz y Cia®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.62.

Volumen total	4.000 litros
Volumen de operación	50% del total
Tiempo de mezcla	3 a 5 min
Dimensiones	1,29 x 1,52 x 2,00 m
Potencia eléctrica	12 kW

*Tabla 9.62:* Especificaciones técnicas del mezclador de tornillo sin fin.



Fig. 9.115: Mezclador de tornillo sin fin, modelo Hit 2.

### 9.8.5. Embolsadora

La embolsadora facilita y agiliza el envasado del producto terminado en las bolsas de polipropileno que lo protegerán lo largo de su vida útil. Considerando que se decidió embolsar el producto en bolsas de 25 Kg, significa que de un lote de producción se obtienen 100 bolsas. Por lo tanto, se buscó una máquina que permita realizar la operación en menos de una hora. En base a ello, se seleccionó una embolsadora, modelo Ebv 200 de la empresa “Prillwitz y Cia®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.63.

Capacidad	50 a 100 bolsas/hs
Tipo de bolsas	10 a 60 Kg
Dimensiones	500 x 1.320 x 1.580 mm
Potencia electrica	2 kW

Tabla 9.63: Especificaciones técnicas de la embolsadora.



Fig. 9.116: Embolsadora, modelo Ebv 200.

## 9.9. Servicios auxiliares

El funcionamiento de algunos equipos en la línea de producción requiere el suministro de vapor, agua refrigerada, agua y aire purificados para llevar a cabo sus operaciones. Los equipos encargados de suplir con estos servicios auxiliares son, una caldera generadora de vapor, un enfriador industrial de agua, una planta compacta de agua purificada y una planta de aire purificado.

### NOTA:

En esta sección se omite la selección de la planta de aire purificado, debido a que ya se ha hecho en el diseño del biorreactor de 30 m<sup>3</sup> (sección 9.6.4.1), contemplando la posibilidad de suplir a todo el conjunto de biorreactores.

### 9.9.1. Caldera generadora de vapor

La principal función de la caldera es producir el vapor necesario para alimentar el primer efecto del evaporador de película descendente. Considerando en balance de energía hecho para el evaporador (sección 8.1.3.3), el caudal de vapor que necesita dicho equipo es de 1.021 Kg/hs. Suponiendo un margen extra del 20%, lo que significa un caudal de 1.225 Kg/hs de vapor, se seleccionó una caldera generadora de vapor, modelo 3 HP de la empresa “Caldimet®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.64.

Tipo	Humotubular
Nro. de pasos	3
Capacidad	Hasta 1.500 Kg/hs
Presión máxima	3 bares
Sup. de calefacción	40 m <sup>2</sup>
Rendimiento	85%
Dimensiones	2,50 x 2,60 x 4,75 m
Combustible	Gas natural, gas oil

*Tabla 9.64:* Especificaciones técnicas de la caldera generadora de vapor.



*Fig. 9.117:* Caldera generadora de vapor, modelo 3 HP.

### 9.9.2. Enfriador industrial de agua

Las principales operaciones en las que se utiliza el enfriador de agua son, el enfriamiento de la solución concentrada en azúcares a la salida del evaporador y el control de temperatura en los biorreactores, especialmente, durante la etapa de crecimiento exponencial de biomasa.

Considerando el balance de energía en el biorreactor industrial de 30 m<sup>3</sup> (sección 8.2.1.1), la mayor demanda del equipo, en términos de calor sustraído, es de 191.000 Kcal/hs. Suponiendo un margen extra del 20%, lo que significa 229.000 Kcal/hs, se seleccionó un enfriador industrial de agua, modelo 150-A de la empresa “Alfaliq®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.65.

Capacidad	248 Mcal/hs
Compresor	1x Tornillo Semihermético
Evaporador	Casco y tubos
Ventilador	Axial
Refrigerante	R-407c
Dimensiones	2,10 x 2,20 x 5,50 m
Alimentación	380 V - 50 Hz
Potencia electrica	144 kW

Tabla 9.65: Especificaciones técnicas del enfriador industrial.



Fig. 9.118: Enfriador de agua industrial de la empresa “Alfaliq®”.

### 9.9.3. Planta compacta de agua purificada

En procesos biotecnológicos, así como para análisis de laboratorio, la calidad del suministro de agua a tales fines es crucial para evitar la introducción de interferencias o contaminantes, tales como, exceso de minerales, metales pesados, sustancias orgánicas u otros microorganismos ajenos al del proceso.

Considerando el balance de materia en este servicio (sección 7.4.1), para asegurar un suministro de agua purificada al proceso productivo (con un margen extra del 20% ya contemplado), se necesita un equipo con una capacidad productiva de 8.404 litros en una jornada de 8 horas diarias de funcionamiento. En base a los cálculos hechos, se seleccionó una planta compacta de agua purificada, modelo IO-501 de la empresa “OsmoVic®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.66.

Capacidad	1.200 L/hs
Etapa 1	Filtro de carbon activado
Etapa 2	Ablandador de agua
Etapa 3	Membrama de ósmosis inversa
Etapa 4	Esterilizador UV
Potencia eléctrica	2,23 kW

*Tabla 9.66:* Especificaciones técnicas de la planta de agua purificada.



*Fig. 9.119:* Planta compacta de agua purificada de la empresa “OsmoVic®”.

### 9.9.3.1. Tanque de almacenamiento de agua purificada

El agua purificada, a diferencia de los otros servicios auxiliares, puede ser almacenada para su uso posterior. Considerando que la máxima demanda de agua purificada tiene lugar en la dilución del caldo de fermentación, previo su ingreso a la centrifuga de discos, con un requerimiento de 25 m<sup>3</sup> de la misma, el tanque de almacenamiento debe ser capaz de contener dicho volumen sin dejar desprovista a la planta. En base a ello, se seleccionó un tanque vertical sobre plano, pedido por encargo a la empresa “Santo Líquido®”, cuyas especificaciones técnicas se muestran en la Tabla 9.67.

Material	Acero inoxidable AISI 304
Capacidad	60.000 L
Diámetro	3,40 m
Alto	6,80 m

*Tabla 9.67:* Especificaciones técnicas de los tanques verticales.





## 10. Control automático del biorreactor

Los elementos de medición y control juegan un papel fundamental para llevar a cabo el proceso de fermentación. Las desviaciones en las variables de control significan pérdidas de rendimiento, productividad y, en consecuencia, dinero.

Existen dos tipos de variables a monitorear, las denominadas de lectura directa y las de lectura indirecta. Dentro de las variables de medición directa más importantes a mantener bajo control encontramos, la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto, el nivel del líquido y la presión. Por otro lado, las de lectura indirecta necesitan de una toma de muestra para su monitoreo, entre ellas encontramos, la concentración de azúcares, la concentración de biomasa y la concentración de astaxantina.

El sistema de biorreactores necesitará, al menos, de los siguientes elementos de medición y control:

- Un sensor de conductividad y temperatura, modelo ProDSS 626902 de la empresa “YSI®”.
- Un sensor de oxígeno disuelto, modelo ProDSS 626900 de la empresa “YSI®”.
- Un sensor de pH, modelo ProDSS 626903 de la empresa “YSI®”.
- 2 sensores de nivel de líquido, modelo EW-32772-00 de la empresa “ColeParmer®”.
- Un controlador de temperatura, modelo DC 1010 de la empresa “Honeywell®”.
- Un controlador de oxígeno disuelto, modelo OD 7685 de la empresa “B&C Electronics®”.
- Un controlador de pH, modelo pH/ORP 350 de la empresa “Cole-Parmer®”.
- Un controlador de nivel de líquido, modelo LI55-1001 de la empresa “Flowline®”.
- Un manómetro de conexión sanitaria, modelo 72SL de la empresa “JMH®”.

El objetivo de este capítulo será diseñar el sistema de control de la temperatura del biorreactor R-001, modificando para ello el caudal de refrigerante en el encamisado del sistema.

### 10.1. Sistema de control de la temperatura

El biorreactor R-001 cuenta con un encamisado que permitirá regular la temperatura de la biorreacción, necesaria para que el microorganismo (*P. Rhodozyma*) crezca en sus condiciones óptimas. Si bien el microorganismo puede generar el producto de interés en un rango de temperatura, este lo hará de manera mucho más eficiente si fijamos la temperatura en 22 °C, como ya se ha analizado en capítulos anteriores.

Recordamos también que, al ser la biorreacción una fermentación, esta será exotérmica, por lo cual es necesario enfriar al reactor a medida que el proceso va avanzando. Al mismo tiempo, la corriente de alimentación (solución azucarada), se encontrará a una temperatura de 35 °C, sin embargo, este efecto podemos despreciarlo, el agregado de esta solución es lento, para asegurar que el microorganismo produzca la máxima astaxantina por gramo seco posible, con lo cual se diluye su efecto en la gran cantidad de masa presente en el medio de cultivo. Por lo tanto, asumiremos que el intercambio de calor se da mayoritariamente de forma tal que se extraiga del medio, el calor generado por la fermentación.

El fluido refrigerante que pasará por este encamisado será agua líquida fría, proveniente del sistema cerrado de agua, conformado por el tanque de agua (TK-001) y el chiller (IP-001). Estos equipos están acompañados de una bomba (BC-001) que permitirá el flujo del fluido en la dirección de la válvula (VC-001), que será el elemento final de control que permitirá regular el caudal de agua refrigerante. Cabe destacar que, en base a las condiciones ambientales del área donde la planta industrial está ubicada (Mendoza, Argentina), el sistema cerrado de agua es sumamente necesario para reducir al máximo el uso del agua externa. Al mismo tiempo, se incorpora una bomba secundaria (BC-002), la cual permite el reciclo de una porción de agua enfriada hacia el tanque (TK-001). De esta manera, se reduce el salto térmico que debe realizarse en el chiller (IP-001), optimizando los tiempos de enfriamiento de la corriente de agua.

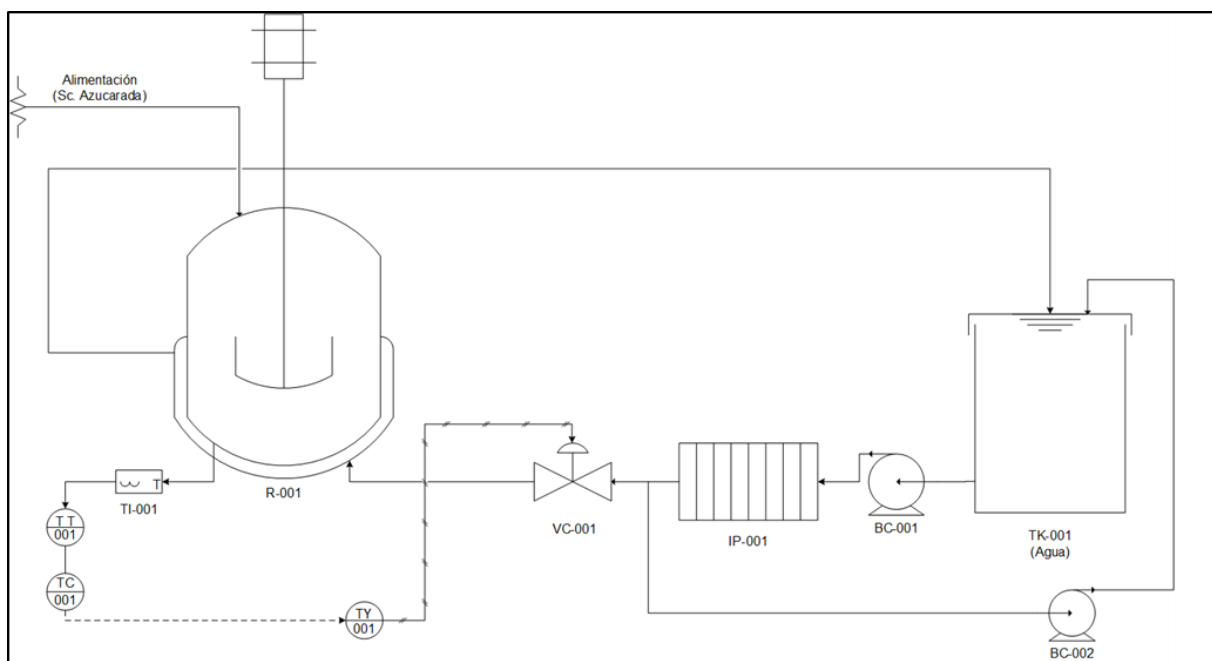


Fig. 10.1: Esquema de control para la regulación de la temperatura.

El objetivo de este sistema de control se llevará a cabo con un sistema de lazo de control cerrado. Un sistema de lazo control cerrado son aquellos en los que se produce un proceso de realimentación, es decir, que es capaz de modificar la señal de entrada en función de la señal de salida.

Este sistema medirá la temperatura del biorreactor, la comparará con el valor deseado y corregirá la diferencia en función del aumento o reducción del caudal del agua refrigerante. Si la temperatura es menor a la deseada, el sistema tenderá a cerrar el flujo mediante la acción de cerrar la válvula, mientras que, si la temperatura es mayor que la deseada, el sistema abrirá la válvula para aumentar el caudal de refrigerante.

Para esto, el sistema de control contará con varios instrumentos:

- Un sensor de temperatura, con el cual podamos medir la temperatura a controlar.
- Un transmisor, el cual recibirá la señal de salida del sensor, convirtiéndola en una señal más fuerte y enviándola hacia el controlador.
- Un controlador, que recibe esta señal, comparándola con el valor deseado y decidiendo la acción sobre el elemento final de control.
- Una válvula, que será el elemento final de control, regulando el flujo de agua refrigerante.

### **10.1.1. Elementos del sistema de control**

#### **10.1.1.1. Sensor**

El sensor realizará operaciones de medición en el sistema de control. Para este caso, se ha elegido a los termómetros de dispositivos resistivos (TDR). Los termómetros de dispositivos resistivos son elementos que se basan en el principio de que la resistencia eléctrica de los metales puros se incrementa con la temperatura y, ya que la resistencia eléctrica se puede medir con bastante precisión, esto proporciona un medio para medir la temperatura con mucha exactitud.

Las termoresistencias de uso más común se fabrican de alambres finos (normalmente 0.5 mm) soportados por un material aislante y luego encapsulados. El elemento encapsulado se inserta luego dentro de una vaina o tubo metálico cerrado en un extremo que se llena con un polvo aislante y se sella con cemento para impedir que absorba humedad.

Los requisitos que debe cumplir un material empleado para RTD son:

- Coeficiente térmico de resistividad elevado.
- Resistividad alta.
- Estabilidad.
- Linealidad en la relación resistencia-temperatura.
- Características mecánicas adecuadas.

Los puentes de Wheatstone se utilizan generalmente para medir la resistencia y, por lo tanto, también la temperatura. Puede ser de conexión bifilar o trifilar. Se utilizará una conexión trifilar debido a que este circuito provee suficiente exactitud.

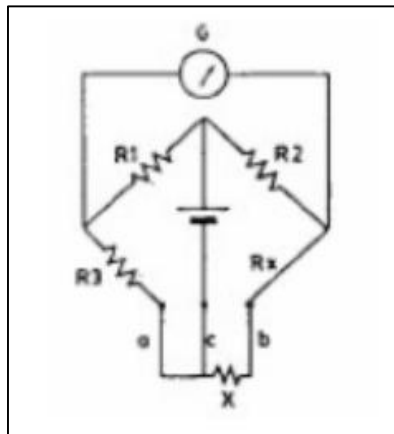


Fig. 10.2: Puente de Wheatstone.

La mayoría de los metales puros experimentan un cambio de resistencia que es directamente proporcional al cambio de temperatura. El metal que utilizaremos será platino, debido a que es el material más lineal, preciso, exacto y estable. Se adopta para el diseño en cuestión un detector de temperatura tipo RTD Platinum (Pt -100), de dos elementos y 3 cables (trifilar), modelo 1067 de la empresa “Rosemount®”.



Fig. 10.3: Sensor de Temperatura (RTD), modelo 1067.

<b>SENSOR DE TEMPERATURA ROSEMOUNT 1067 (Platinum RTD)</b>	
<b>Característica</b>	<b>Descripción</b>
Rango de Temperaturas [°C]	-196 a 300
Precisión	Clase A o Clase B
Resistividad Térmica	100 $\Omega$ RTD a 0°C, con un $\alpha = 0.00385 \Omega/\Omega \times ^\circ\text{C}$
Hilos conductores	Diametro de 6 mm. Aislación de PTFE, 24 AWG. Hilos de cobre recubiertos de plata.
Constante tiempo/respuesta	De acuerdo a IEC 751, se requiere un máximo de 7,7 segundos para alcanzar una respuesta del sensor del 50% en una prueba con agua fluyendo a 0.4 m/s.

Tabla 10.1: Especificaciones técnicas del sensor de temperatura (RTD), modelo 1067.

#### 10.1.1.2. Transmisor

El propósito del transmisor es convertir la salida de un sensor en una señal lo suficientemente intensa como para que se pueda transmitir a un controlador o cualquier otro dispositivo receptor.

Se adopta para el diseño en cuestión un transmisor analógico de temperatura, modelo T91.30, versión de carril de la empresa “WIKA®”.



Fig. 10.4: Transmisor de temperatura analógico, modelo T91.30.

El resultado es una señal de salida que puede mostrarse tanto en el rango de 4-20 mA como en el de 0-10 V. Con esta señal estandarizada, las lecturas de temperatura pueden transmitirse de forma fácil y segura. Se ofrecen versiones para Pt 100/Pt 1000 o termopares, tiene alta exactitud y, además, es compacto y económico.

<b>TRANSMISOR DE TEMPERATURA ANALÓGICO. MODELO T91.30 - WIKA</b>	
<b>Característica</b>	<b>Descripción</b>
Error de medición	< 0,1 % FS
Exactitud	Alta
Entrada	Pt100/Pt1000 IEC 60751 2 / 3 y 4 hilos
Señal de salida	0 - 10 V, a prueba de cortocircuitos, 3 hilos
Bornes de conexión	Bornes roscados
Material del envoltente	Policarbonato

Tabla 10.2: Especificaciones técnicas del transmisor de temperatura, modelo T91.30.

### 10.1.1.3. Controlador

El controlador es el dispositivo que toma la decisión en el sistema de control. Recibe la señal del proceso que llega del transmisor de la variable que se controla, y se compara con el punto de control. Luego, envía la señal apropiada a la válvula de control, o cualquier otro elemento final de control, para mantener la variable que se controla en el punto set point.

En el presente caso la variable a controlar es la temperatura del reactor cuyo set point es el valor deseado, es decir 22°C, ya que en este punto es donde la fermentación alcanza su punto óptimo. En función de las variaciones del proceso, el controlador deberá mantener constante la temperatura a través de la válvula de control del flujo refrigerante.

Tomando como ejemplo el circuito de control de temperatura que se muestra a continuación, si la temperatura sobrepasa el punto de control preestablecido, el controlador debe abrir la válvula que controla el flujo del refrigerante para que la temperatura regrese al punto de control. Por lo tanto, el controlador a elegir debe ser de acción directa.

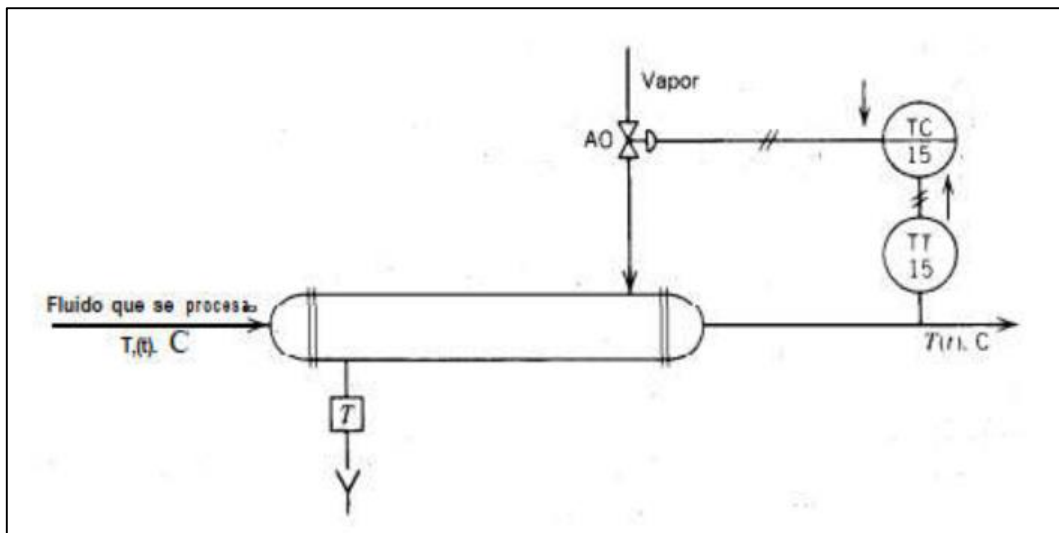


Fig. 10.5: Circuito de control de temperatura (Fuente: Smith Corripio, 1991).

Para la elección del tipo de controlador a utilizar, se escoge, según tabla, un controlador PID.

Tipo de controlador	Proceso por controlar
P	Control de nivel
PID	Control de temperatura
PI	Control de flujo
PI	Control de presión de líquidos

Tabla 10.3: Controladores a utilizar en procesos industriales

(Fuente: Pearson, 2010).

Los procesos donde la constante de tiempo es larga (es el caso del control de temperatura) son generalmente amortiguados y, en consecuencia, menos susceptibles al ruido. Es por esto que, dentro de las acciones posibles de los controladores, nuestro controlador debería ser PID (Proporcional - Integral - Derivativo).

A continuación, se describe cada acción:

- **Proporcional.** La salida es proporcional al error entre el punto de control y la variable que se controla, es decir, opera con una desviación o error de estado estacionario.
- **Integral.** Añade inteligencia al controlador proporcional mediante la acción integral o de reajuste.
- **Derivativo.** Anticipa hacia dónde va el proceso mediante la observación de la rapidez en el cambio del error (derivada).

El controlador elegido es el modelo DC 1010 de la empresa “Honeywell®”. El mismo puede conectarse a cualquier válvula reguladora y puede trabajar con señales de entre 0 y 20 mA, además está diseñado con acción PID lo cual se ajusta perfectamente a los requerimientos de nuestro proceso.



Fig. 10.6: Controlador, modelo DC 1010.



<b>CONTROLADOR DC 1010 - HONEYWELL</b>	
<b>Característica</b>	<b>Descripción</b>
Exactitud	$\pm 0.5\%$ FS
Señal de entrada	Eléctrica (4 – 20mA)
Acción de control	PID
Señal de salida	4~20mA, 0~5V, 0~10V, 1~5V, 2~10V

Tabla 10.4: Especificaciones técnicas del controlador, modelo DC 1010.

#### 10.1.1.4. Válvula de control (Elemento final de control)

La válvula de control será el elemento final. La misma modificará el flujo de agua para mantener a la variable en el punto de control. Consideraremos el caso de una válvula tipo “abierta en falla” (AF). Esto indica que si, el servicio de energía deja de estar disponible, la válvula se mantendrá abierta al paso de fluido.

El dimensionamiento de la válvula de control es el procedimiento mediante el cual se calcula el coeficiente de flujo de la válvula,  $C_V$ . El coeficiente  $C_V$  se define como, la cantidad de agua en galones US que fluye por minuto a través de una válvula completamente abierta, con una caída de presión de 1 psi en la sección transversal de la válvula.

Cuando ya se calculó el  $C_V$  requerido y se conoce el tipo de válvula que se va a utilizar, se puede obtener el tamaño de la válvula con base en el catálogo del fabricante.

$$C_{V(\text{operativo})} = q * \sqrt{G_F/P}$$

En donde:

- $q$ : Flujo de líquido (gpm US).
- $P$ : Caída de presión ( $P_1 - P_2$ ) en la sección de la válvula (psi).
- $P_1$ : Presión de entrada a la válvula, corriente arriba (psi).
- $P_2$ : Presión de salida de la válvula, corriente abajo (psi).
- $G_F$ : Gravedad específica del líquido a la temperatura en que fluye.

$$G_F = \rho_P / \rho_0$$

En donde:

- $\rho_p$ : Densidad del agua en las condiciones del proceso.
- $\rho_0$ : Densidad del agua a 4°C y 1 atm.

Por lo general, los valores experimentales de las pérdidas de energía en válvulas se reportan en términos de un coeficiente de resistencia K como sigue:

$$h_f = K * [v^2 / (2 * g)]$$

Siendo:

- $h_f$ : La pérdida de energía.
- K: El coeficiente de resistencia.
- v: La velocidad promedio del flujo en el tubo en la vecindad donde ocurre la pérdida.

El coeficiente de resistencia es adimensional debido a que representa una constante de proporcionalidad entre la pérdida de energía y la carga de velocidad.

$$K = (L_e/D) * f_T$$

El valor  $L_e/D$ , llamado relación de longitud equivalente se considera constante para un tipo dado de válvula o acoplamiento.

El valor de  $L_e$  se denomina longitud equivalente y es la longitud de una tubería recta del mismo diámetro nominal que el de la válvula, la cual tendría la misma resistencia que esta.

El término D es el diámetro interior real de la tubería. Y, por último,  $f_T$  es el factor de fricción en la tubería a la que está conectada la válvula o acoplamiento, que se da por hecho está en la zona de turbulencia completa.

Parámetro	Valor
$G_f$	1
$\Delta P$ [psi]	0.067
$\rho_p$ [kg/m <sup>3</sup> ] @ 5°C, 1 atm (Cond. Proc.)	1000
$\rho_0$ [kg/m <sup>3</sup> ] @ 4°C, 1 atm	1000
Q [m <sup>3</sup> /h]	1.46
Q [GPM]	6.428
Di [mm]	57.53
v [m/s]	0.156
Le [m]	20
f	1.094
CV (Operativo) - 50% apertura	24.93

Tabla 10.5: Parámetros para el cálculo del Cv de la válvula.

#### 10.1.1.5. Selección de la válvula de control

Para este sistema de control, adoptamos una válvula globo, de uso general, serie Masonelian 21000, de la empresa “Baker & Hughes®”.

VÁLVULA GLOBO – SERIE MASONELIAN 21000 (BAKER & HUGHES)	
Característica	Descripción
Aplicación	Control de temperatura
Fluido	Agua de enfriamiento
Diámetro [inches]	1.5
Temperatura de operación	5 °C
Material de cuerpo	Acero al carbono
Material de asiento	Metal
Característica de flujo	Lineal
Clase de cierre	Clase IV
Presión nominal de diseño de válvula	ASME Class 150 to 2500 and equivalent PN

Tabla 10.6: Especificaciones técnicas de la válvula seleccionada, modelo Masonelian 21000.

Double Stage Lo-dB\* Trim

Direction: FLOW-TO-OPEN (FTO)  
Flow Characteristic: LINEAR

Percent of Travel							10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
$F_L$							0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Valve Size		ASME Rating	Orifice Diameter		Travel		Rated $C_v$										
inch	mm		inch	mm	inch	mm											
0.75	20	150-2500	0.812	20.6	0.8	20.3	0.21	0.49	0.84	1.26	1.8	2.4	2.8	3.1	3.4	3.5	
							0.34	0.8	1.37	2.1	3	3.8	4.6	5.1	5.5	5.7	
1	25	150-2500	0.812	20.6	0.8	20.3	0.21	0.49	0.84	1.26	1.8	2.4	2.8	3.1	3.4	3.5	
							0.34	0.8	1.37	2.1	3	3.8	4.6	5.1	5.5	5.7	
1.5	40	150-2500	1.25	31.8	0.8	20.3	0.42	0.98	1.68	2.5	3.6	4.7	5.6	6.2	6.7	7	
							0.8	1.8	3.1	4.7	6.8	8.7	10.4	11.6	12.5	13	
2	50	150-2500	1.25	31.8	0.8	20.3	0.8	1.8	3.1	4.7	6.8	8.7	10.4	11.6	12.5	13	
			1.625	41.3	0.8	20.3	1.3	2.9	5	7.6	10.9	14.1	16.8	18.7	20.2	21	
3	80	150-1500	2.625	66.7	1.5	38.1	2.4	5.6	9.6	14.4	20.8	26.8	32	35.6	38.4	40	
			3.5	88.9	1.5	38.1	3.8	8.8	15.1	22.7	32.8	42.2	50.4	56.1	60.5	63	
4	100	150-1500	2.625	66.7	1.5	38.1	3.2	7.4	12.7	19.1	27.6	35.5	42.4	47.2	50.9	53	
			3.5	88.9	1.5	38.1	4.9	11.6	19.9	29.9	43.2	55.6	66.4	73.9	79.7	83	
6	150	150-600	3.5	88.9	1.5	38.1	7.5	17.5	30	45	65	84	100	111	120	125	

Fig. 10.7: Selección de la válvula a partir del Cv.

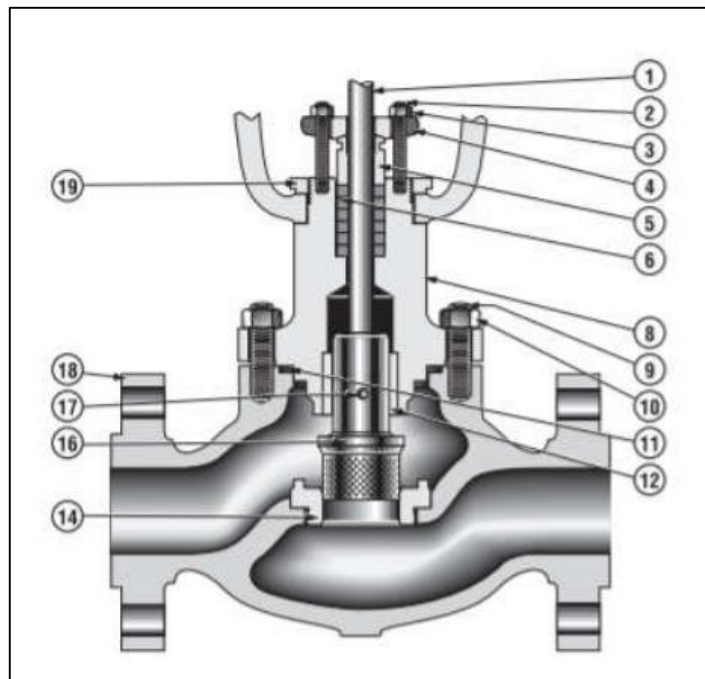


Fig. 10.8: Elementos de la válvula seleccionada.



*Fig. 10.9:* Válvula seleccionada, modelo Masonelian 21000.

NOTA:

1. La válvula está compuesta por: 1. Vástago del obturador. 2. Eje del cuello de la empaquetadura. 3. Tuerca del eje del cuello de la empaquetadura. 4. Cuello de la empaquetadura. 5. Prensa estopa. 6. Empaquetadura. 7. Anillo de linterna (opcional). 8. Bonete. 9. Eje del cuerpo. 10. Tuerca del eje del cuerpo. 11. Junta del cuerpo. 12. Buje guía. 13. Jaula. 14. Anillo de asiento. 15. Junta del anillo de asiento. 16. Obturador. 17. Perno del obturador. 18. Cuerpo de la válvula. 19. Tuerca de ajuste.

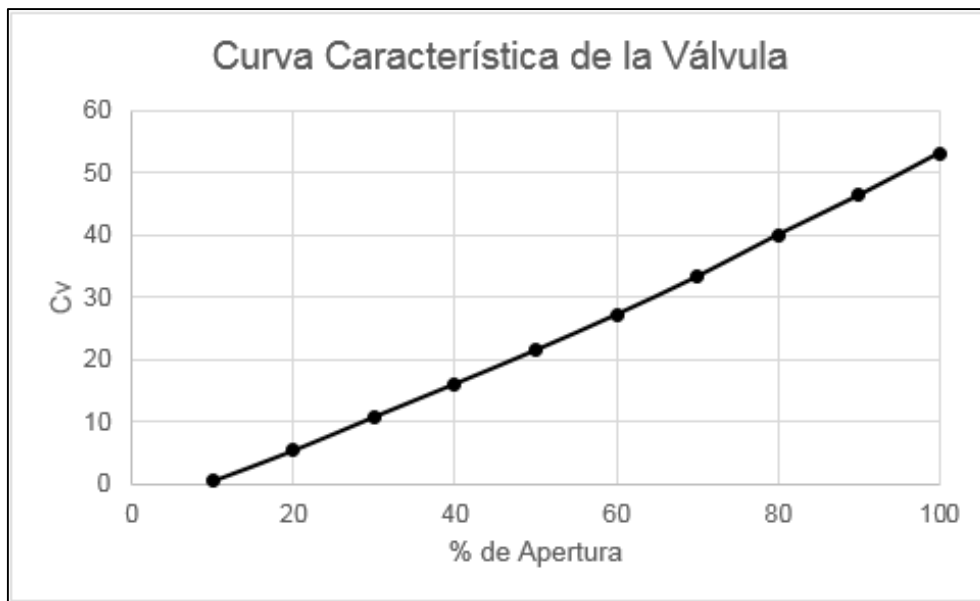


Fig. 10.10: Curva característica de la válvula.

Para la interpretación de la señal eléctrica emitida por el transmisor hacia la válvula, es necesario utilizar un posicionador. Un posicionador es un dispositivo cuya acción es muy semejante a la de un controlador; su función es comparar la señal del controlador con la posición del vástago de la válvula. Si el vástago no está en la posición que indica el controlador, con el posicionador se añade o elimina aire de la válvula hasta que se logra la posición correcta.

El mismo puede ser neumático o electroneumático. En nuestro caso utilizaremos uno electroneumático, ya que se recibe una señal eléctrica, y la señal de salida debe ser neumática, ya que utilizaremos una válvula de control neumática. El mismo consiste en una combinación de un conversor de corriente a presión (I/P) también denominado transductor y un posicionador. Dicho conversor es un medio fiable, repetible y preciso de conversión de una señal eléctrica en una presión neumática. Está disponible en acción directa e inversa.



## 11. Lay-out de planta

En el siguiente capítulo se expone el diseño completo de la planta productiva describiendo, áreas, medidas, flujo de proceso y comentarios adicionales que hagan a la comprensión del modelo adoptado.

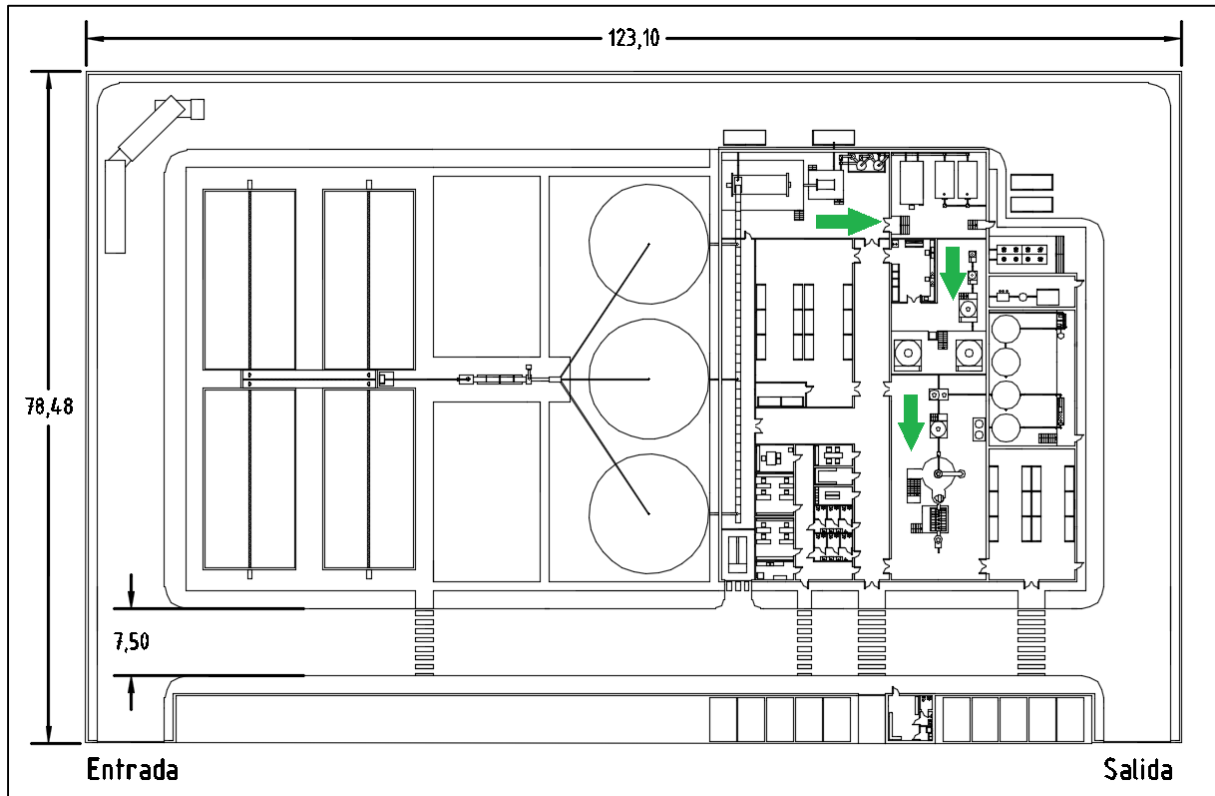


Fig. 11.1: Predio completo de la planta (9.661 m<sup>2</sup>).

### NOTA:

No se describirá las medidas de la instalación de secado a la intemperie ya que se ha detallado previamente en la sección 9.2.

### 11.1. Planta productiva

El funcionamiento de la planta productiva se basa en la correcta articulación de 7 áreas fundamentales, las cuales son:

1. **Garaje.** En el mismo se encuentra una grúa pequeña con brazo telescópico para las tareas que requieran elevar cargas por encima de una determinada altura. También podemos encontrar las



---

lonas protectoras para cubrir los silos celdas (en caso fenómenos meteorológicos adversos), herramientas y otros elementos para el mantenimiento de las instalaciones.

2. **Área administrativa.** En este sector se encuentran las oficinas técnicas, comerciales y gerencial, además de una cocina, un baño para hombres y otro para mujeres, un vestuario, un depósito de mantenimiento y una sala de descanso para operarios.
3. **Área de downstream.** Se encuentran los equipos necesarios para procesar el caldo de fermentación, hasta el alimento funcional para los salmónidos. Dentro de los equipos encontramos, la centrifuga de discos, el tanque de mezcla y dosificación, los tanques de aditivos, el secador spray, el mezclador de polvos y la embolsadora.
4. **Depósito de producto terminado.** Se encuentran los racks donde se disponen las bolsas del producto terminado necesarias para asegurar un stock trimestral.
5. **Depósito de materia primas (exceptuando el orujo de uva).** Se encuentran los racks donde se disponen las materias primas y drogas del laboratorio necesarias para asegurar un stock trimestral. A su vez podemos diferenciar dos depósitos, uno principal de uso común, y otro secundario más pequeño para las materias primas con algún riesgo de seguridad.
6. **Sala de biorreactores.** Dentro de ella se encuentra el laboratorio. Para asegurar una mayor asepsia, se asegura el paso obligatorio por el mismo previo el ingreso a la sala de biorreactores propiamente dicha.
7. **Área de servicios auxiliares.** En ella encontramos una sala con la planta compacta de agua purificada y la bomba de incendio con los tanques de almacenamiento correspondientes. En una sala adyacente encontramos la planta de aire purificado, con su compresor, tanque pulmón y sistema de filtros correspondientes. Y, por último, el enfriador de agua industrial o “chiller” dispuesto a la intemperie para la evacuación del flujo térmico.
8. **Área de procesado.** Se conforma de un corredor para la cinta transportadora que lleva el orujo de uva desde los silos hasta una sala donde se encuentran el mezclador horizontal, el tamiz de tambor rotativo y el evaporador de película descendente de doble efecto acoplado con un intercambiador de placas. Adyacente a esta sala, están la caldera generadora de vapor y dos tanques horizontales para el almacenamiento de la solución concentrada en azúcares que alimentará a los biorreactores.

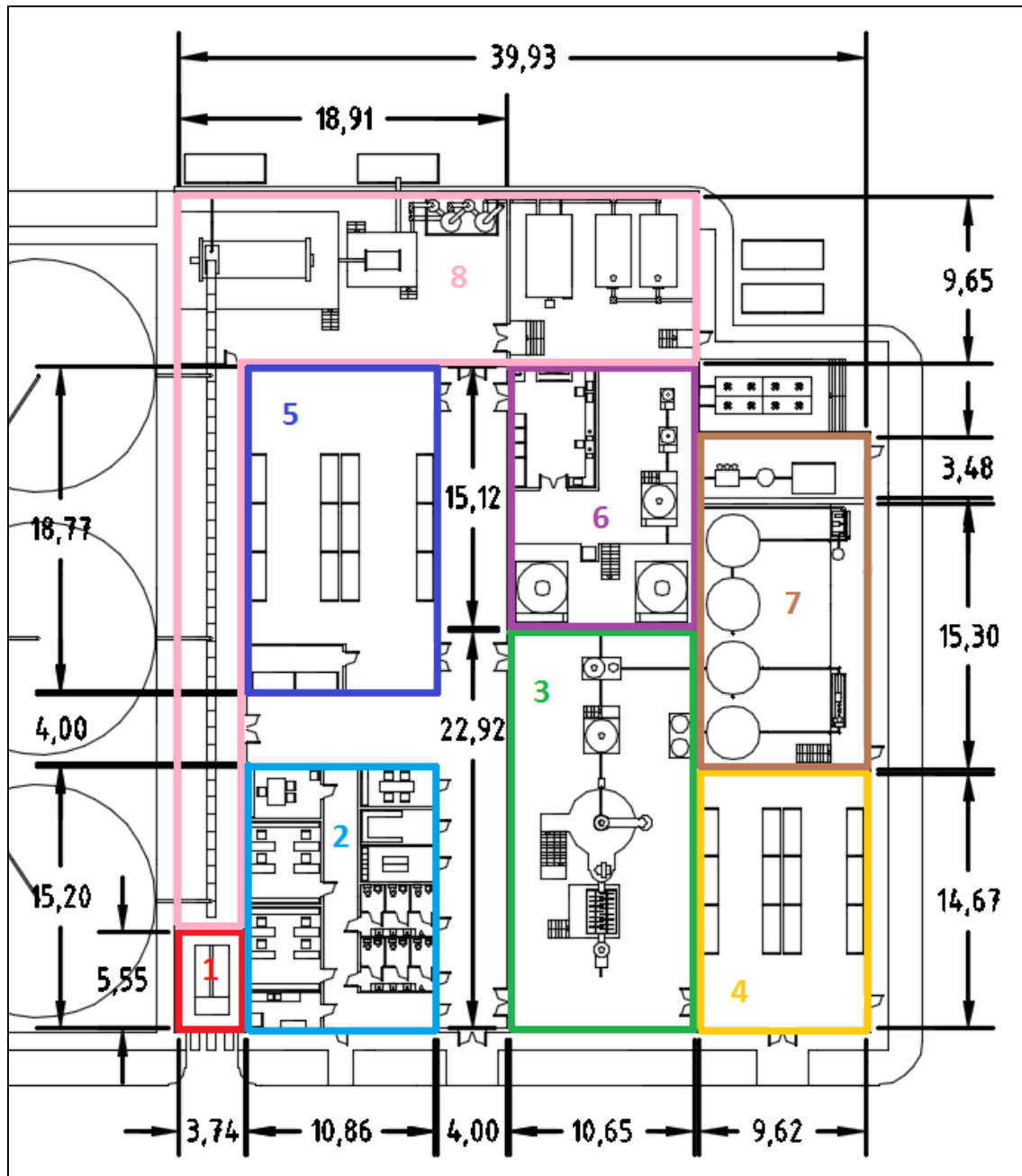


Fig. 11.2: División de las diferentes áreas de la planta productiva (1.815 m<sup>2</sup>).

NOTA:

En los sectores de servicios auxiliares (7) y procesamiento (8), existen cuartos donde se instalaron tanques de almacenamiento de agua y la solución concentrada en azúcares. Dichos cuartos se encuentran por debajo del nivel promedio del suelo y cuentan con un sistema de desagote. Esto es para contener el vertido de los líquidos almacenados en los tanques, en caso de que ocurriera cualquier contingencia con ellos.

### 11.1.1. Flujo de proceso

El flujo del proceso inicia en el área del procesado (8), el orujo se transporta por cinta transportadora hasta el mezclador horizontal donde, junto con el condensado del primer efecto del evaporador, se realiza la maceración hasta obtener una solución de 14° Brix.

Posterior a la maceración, la solución y el orujo se llevan al tamiz de tambor rotativo donde se separa. El orujo exhausto sale de la planta por un ducto hasta un volquete de 14 m<sup>3</sup>, por otro lado, la solución es llevada hasta el evaporador de doble efecto donde se evacuan dos corrientes.

Una es la solución concentrada a 37° Brix que, luego de ser enfriada por un intercambiador de placas, se almacena en tanques horizontales para su posterior uso. Y la otra, es vapor de agua que se evacua por una chimenea.

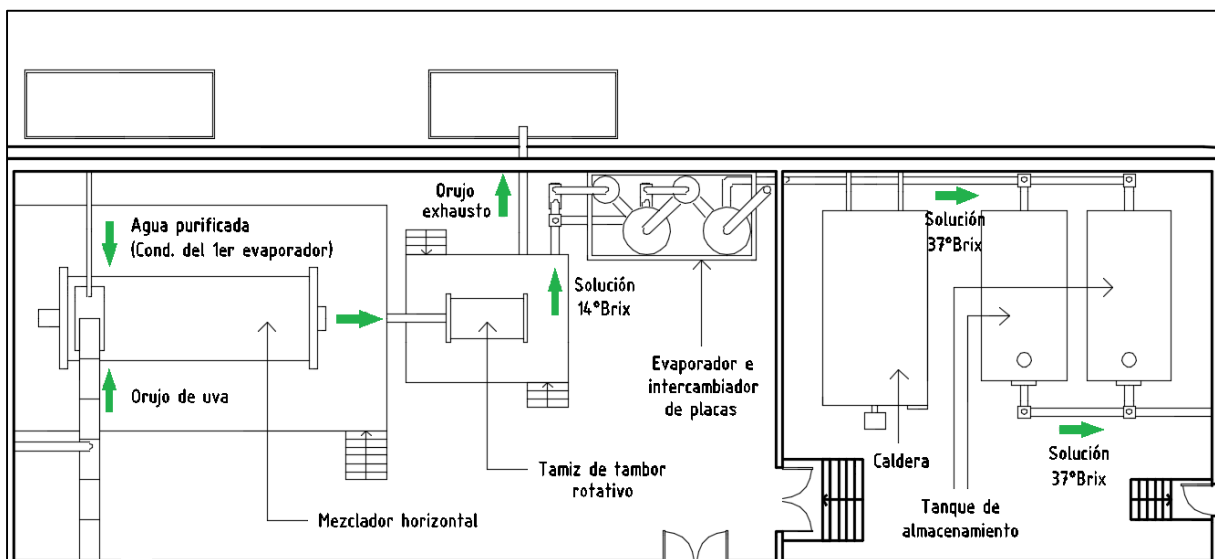


Fig. 11.3: Flujo del proceso en el área de procesado del orujo de uva.

El flujo de proceso continua en la sala biorreactores (6), donde se realiza el escalado del cultivo de la levadura *P. rhodozyma* hasta llegar a al biorreactor industrial de 30 m<sup>3</sup>.

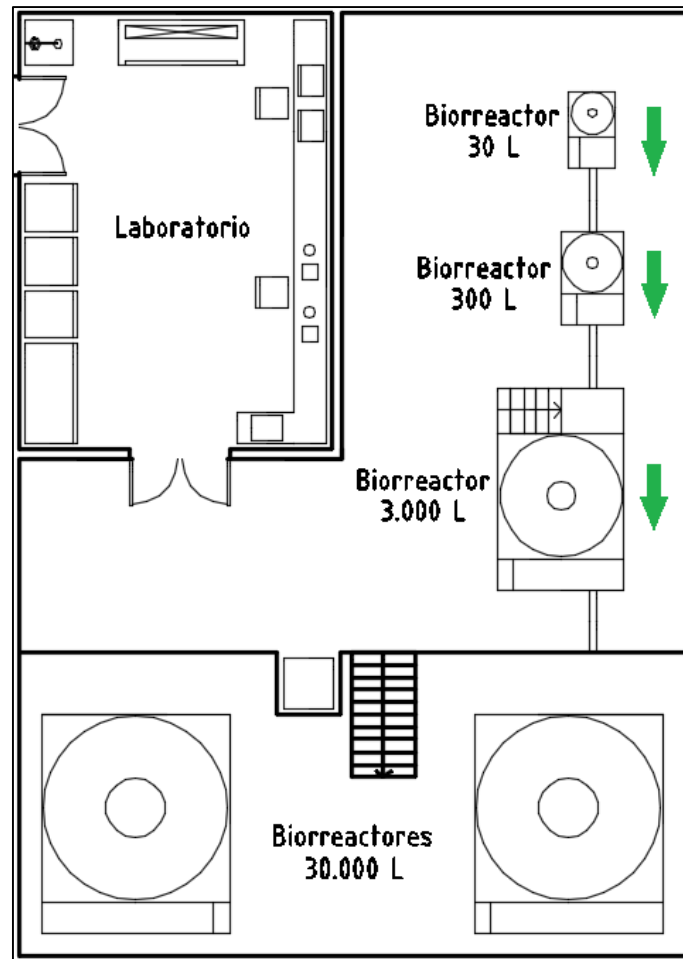


Fig. 11.4: Flujo del proceso en la sala de biorreactores.

La última etapa en el flujo del proceso se desarrolla en el área de downstream (3). El caldo de fermentación proveniente del biorreactor industrial pasa por un centrifuga de discos, los lodos o “slurry” se dirige a un tanque de mezclado y el clarificado a un tanque almacenamiento donde se lo mezcla con agua y, en virtud del uso eficiente de este recurso, se lo trata en la planta compacta de agua purificada para su nuevo uso.

El tanque de mezcla contiene la llamada “crema de levadura” a la cual se adicionan los aditivos, se homogeneiza y se dosifica el caudal de alimentación al secador spray del cual se obtiene la levadura en polvo. Una vez que se procesa toda la crema de levadura del lote, a la levadura en polvo que contiene astaxantina se adiciona levadura comercial y homogeneizan e un mezclador de polvos para estandarizar el contenido del pigmento.

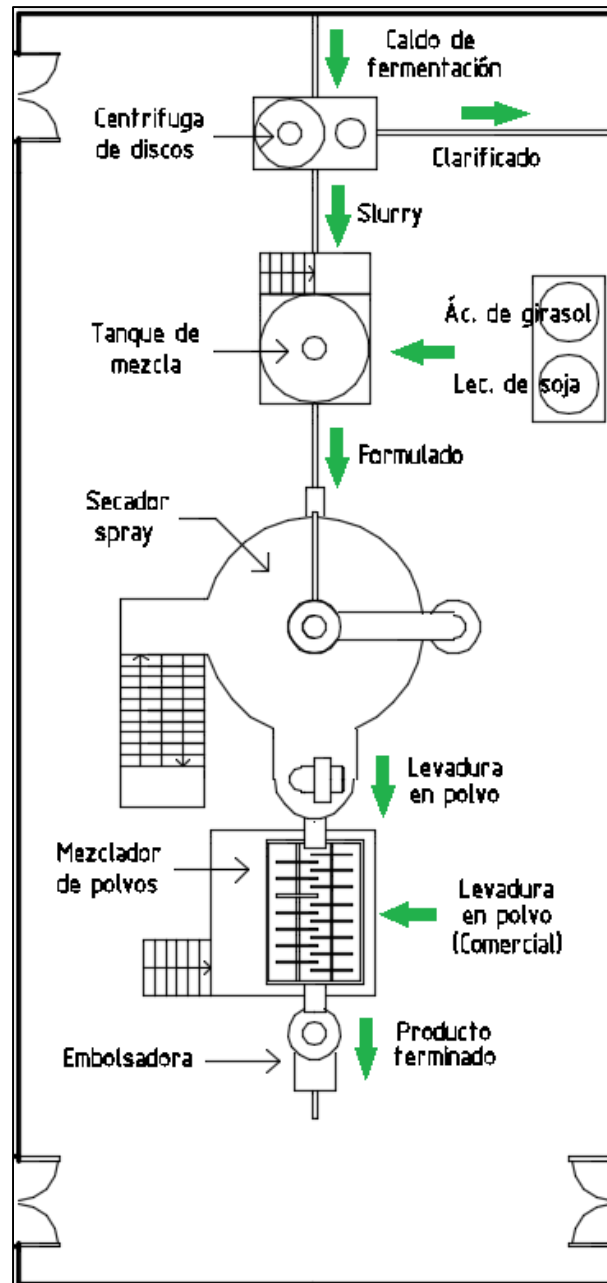


Fig. 11.5: Flujo del proceso en el área de downstream.

Por último, la embolsadora envasa el producto final en su packaging correspondiente, para luego ser llevadas al depósito de producto terminado (4), donde aguardan a ser despachadas ante la orden de los compradores.



## 12. Higiene y seguridad industrial

Se analizarán el sistema integral de protección contra incendio de la planta, el plan de evacuación contra contingencias, los elementos de seguridad personal de uso obligatorio y las consideraciones constructivas del establecimiento para ser edificado sobre una zona sísmica.

### 12.1. Sistema de protección contra incendios

El predio de la planta cuenta con dos elementos de lucha contra incendios, los matafuegos y las bocas de incendio conectadas al sistema hidrante. El sistema debe dimensionarse de acuerdo a las normativas nacionales y puntos potenciales de incendio.

#### 12.1.1. Instalación de matafuegos

Basándonos en el cálculo de la “carga de fuego” descrito en la Ley Nacional 19.587, Decreto 351/79 Anexo VII, y la norma IRAM 3517-1 “Matafuegos manuales y sobre ruedas. Elección, instalación y uso”, analizaremos la instalación de extintores fuego necesaria en la planta.

La carga de fuego se define como el peso en madera por unidad de superficie ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ) capaz de desarrollar una cantidad equivalente a la de los materiales contenidos en el sector en cuestión. Se calcula multiplicando el poder calorífico de cada producto por el peso de ese producto. La suma de todas estas multiplicaciones nos da el calor total. Después, procedemos a dividir el calor total por la superficie del sector y posteriormente dividir este resultado por el poder calorífico de la madera ( $4.4 \text{ Mcal}/\text{Kg}$ ). Cabe destacar que el método es de aproximación, por lo tanto, en la determinación de la cantidad de combustibles, cuando no se pueda calcular de manera exacta, se puede hacer una estimación por exceso de estos.

En nuestro caso, tomaremos las siguientes consideraciones para el cálculo de la carga de fuego dentro de la planta de producción:

1. En el garaje (1) se encuentra una pequeña grúa con un tanque de combustible (gasolina) con capacidad de 150 litros, sabiendo que la densidad de la misma es de  $0.68 \text{ Kg}/\text{L}$ , tenemos:
  - Gasolina =  $(150 \text{ L}/\text{Tanque}) * (0,68 \text{ Kg}/\text{L}) = 102 \text{ Kg}/\text{Tanque}$

Además, en el mismo sitio se guardan las lonas protectoras para los silos celdas. Sabiendo que su área es un 50% mayor a la de cada silo celda, el número de silos celda es 4 y que su peso es de 250 g/m<sup>2</sup>, calculamos:

- $Lona = (0,25 \text{ Kg/m}^2) * (200 \text{ m}^2/\text{Celda}) * 4 \text{ Celdas} * 1,50 = 300 \text{ Kg}$

2. En el sector de servicios auxiliares (7), más específicamente en la sala donde se encuentra la bomba de incendio, tenemos un tanque de combustible (diésel) con capacidad de 300 litros, sabiendo que la densidad del mismo es de 832 Kg/m<sup>3</sup>, tenemos:

- $\text{Diésel} = (300 \text{ L/Tanque}) * (0,83 \text{ Kg/L}) = 250 \text{ Kg/Tanque}$

3. La cantidad de materia prima se calcula para asegurar un stock durante 3 meses. Según los cálculos realizados en la sección 7.2.4.1, calculamos la cantidad de materia prima (MP) necesaria para la formulación de los medios de cultivo almacenada por trimestre.

- $MP = (4.620 \text{ Kg/Año}) * (1 \text{ Año}/4 \text{ Trimestres}) = 1.155 \text{ Kg/Trimestre}$

Considerando un margen extra del 20%, tenemos:

- $MP = (1.155 \text{ Kg/Trimestre}) * 1,20 = 1.386 \text{ Kg/Trimestre}$

4. La cadena de distribución a los compradores se organiza de forma tal que, el alimento para salmónidos sólo permanezca en el depósito de producto terminado (4) por un período de 3 meses. Según los cálculos de la sección 7.3.4, calculamos la cantidad del producto terminado (PT) almacenado por trimestre.

- $PT = (2.500 \text{ Kg/Lote}) * (12 \text{ Lotes/Trimestres}) = 30.000 \text{ Kg/Trimestre}$

5. Entre el depósito de materias primas (5) y el sector de downstream (3) se almacenan, por partes iguales, las cantidades trimestrales necesarias de aceite girasol (AG), lecitina de soja (LS) y levadura comercial (LC). Por lo tanto, con los cálculos realizados en las secciones 7.3.2 y 7.3.4, estimamos dichas cantidades.

- $AG = (90 \text{ Kg/Lote}) * (12 \text{ Lotes/Trimestres}) = 1.080 \text{ Kg/Trimestre}$

- $LS = (90 \text{ Kg/Lote}) * (12 \text{ Lotes/Trimestres}) = 1.080 \text{ Kg/Trimestre}$



- $LC = (207 \text{ Kg/Lote}) * (12 \text{ Lotes/Trimestres}) = 2.484 \text{ Kg/Trimestre}$

Considerando un margen extra del 20%, tenemos:

- $AG = (1.080 \text{ Kg/Trimestre}) * 1,20 = 1.296 \text{ Kg/Trimestre}$
  - $LS = (1.080 \text{ Kg/Trimestre}) * 1,20 = 1.296 \text{ Kg/Trimestre}$
  - $LC = (2.484 \text{ Kg/Trimestre}) * 1,20 = 2.981 \text{ Kg/Trimestre}$
6. Según el libro “Fundamentos de Protección Estructural Contra Incendios” (Ing. Mario E. Rosato, Editorial Centro de Estudios para el Control del Fuego, Instituto Argentino de Seguridad), tomamos el valor de poder calorífico más alto para los reactivos de laboratorio, siendo este 12 Mcal/Kg.
  7. Para estimar el poder calorífico de la levadura en polvo, tomamos el valor de un alimento (cacao en polvo) con la característica de poseer un contenido acuoso similar al nuestro. Según el libro “Fundamentos de Protección Estructural Contra Incendios” (Ing. Mario E. Rosato, Editorial Centro de Estudios para el Control del Fuego, Instituto Argentino de Seguridad), su valor es de 4 Mcal/Kg.
  8. El poder calorífico de los aceites, en general, ronda los 10 Mcal/Kg (Fundamentos de protección Contra Incendios, Ing. Mario E. Rosato), debido a que la lecitina de soja en prácticamente toda su composición es materia grasa, adoptaremos este valor tanto para ella como para el aceite de girasol.
  9. La Ley Nacional 19.587, Decreto 351/79, nos ofrece una serie de valores pre establecidos de densidad de carga de fuego media en diversos sectores industriales. Entre ellos tenemos calderas, oficinas y laboratorio químico, cuyos valores son 96 y 120 Mcal/m<sup>2</sup>, respectivamente.
  10. El cálculo de carga de fuego se aplica a sitios donde se realiza el almacenamiento de potenciales combustibles líquidos y sólidos. En el sector de procesamiento (8) esto no ocurre, por lo que se los excluye del cálculo de la carga de fuego. Sin embargo, al momento de la instalación de los extintores se consideró el potencial de incendio por riesgo eléctrico.

Nro.	Sector	Área	Riesgo	Cantidad de material	Poder calorífico	Carga de calor	Carga de fuego
1	Garage	21 m <sup>2</sup>	2 (Líqu.) 3 (Sól.)	105 Kg Gasolina	11 Mcal/Kg	1.155 Mcal	32.0 Kg/m <sup>2</sup>
				300 Kg PVC y Poliester	6 Mcal/Kg	1.800 Mcal	
2	Administrativo	165 m <sup>2</sup>	3 (Sól.)	96 Mcal/m <sup>2</sup>		15.827 Mcal	21.8 Kg/m <sup>2</sup>
3	Downstream	244 m <sup>2</sup>	2 (Líqu.) 3 (Sól.)	648 Kg Ác. de girasol	10 Mcal/Kg	6.480 Mcal	17.6 Kg/m <sup>2</sup>
				648 Kg Lecitina de soja	10 Mcal/Kg	6.480 Mcal	
				1.491 Kg Levadura seca	4 Mcal/Kg	5964 Mcal	
4	Depósito de producto terminado	141 m <sup>2</sup>	3 (Sól.)	30.000 Kg Levadura seca	4 Mcal/Kg	120.000 Mcal	193.4 Kg/m <sup>2</sup>
5	Depósito de materias primas	204 m <sup>2</sup>	2 (Líqu.) 3 (Sól.)	1.386 Kg Reactivos de lab.	12 Mcal/Kg	16.632 Mcal	39.6 Kg/m <sup>2</sup>
				648 Kg Ác. de girasol	10 Mcal/Kg	6.480 Mcal	
				648 Kg Lecitina de soja	10 Mcal/Kg	6.480 Mcal	
				1.491 Kg Levadura seca	4 Mcal/Kg	5.964 Mcal	
6	Biorreactores	161 m <sup>2</sup>	2 (Líqu.) 3 (Sól.)	120 Mcal/m <sup>2</sup>		19.320 Mcal	27.3 Kg/m <sup>2</sup>
7	Servicios auxiliares	181 m <sup>2</sup>	2 (Líqu.)	250 Kg Diésel	10 Mcal/Kg	2.500 Mcal	3.2 Kg/m <sup>2</sup>
8	Procesado	411 m <sup>2</sup>	No aplica				

Tabla 12.1: Carga de fuego por cada sector de la planta.

Con el valor de la carga de fuego y la estimación del riesgo aparejado al elemento combustible en cada sector utilizamos las Tablas 12.2 y 12.3, extraídas de Ley Nacional 19.587 (Decreto 351/79 Anexo VII), para estimar el potencial extintor mínimo al que deben responder los matafuegos en cada sector. En los casos que la carga de fuego superó los 100 Kg/m<sup>2</sup> se utilizó regla de tres para una estimación de los requisitos mínimos que deben cumplirse.

Carga de Fuego	Riesgos				
	1	2	3	4	5
Hasta 15 kg/m <sup>2</sup>	--	--	1A	1A	1A
Desde 16 a 30 kg/m <sup>2</sup>	--	--	2A	1A	1A
Desde 31 a 60 kg/m <sup>2</sup>	--	--	3A	2A	1A
Desde 61 a 100 kg/m <sup>2</sup>	--	--	6A	4A	3 <sup>a</sup>
Más de 100 kg/m <sup>2</sup>	A determinar en cada caso				

Tabla 12.2: Poder extintor mínimo para fuegos tipo A.

Carga de Fuego	Riesgos				
	1	2	3	4	5
Hasta 15 kg/m <sup>2</sup>	--	6B	4B	--	--
Desde 16 a 30 kg/m <sup>2</sup>	--	8B	6B	--	--
Desde 31 a 60 kg/m <sup>2</sup>	--	10B	8B	--	--
Desde 61 a 100 kg/m <sup>2</sup>	--	20B	10B	--	--
Más de 100 kg/m <sup>2</sup>	A determinar en cada caso				

Tabla 12.3: Poder extintor mínimo para fuegos tipo B.

Nro.	Sector	Carga de fuego	Riesgo					
			1	2	3	4	5	
1	Garage	31 a 60 Kg/m <sup>2</sup>		10 B	3 A			
2	Administrativo	16 a 30 Kg/m <sup>2</sup>	--	--	2 A	--	--	
3	Downstream	16 a 30 Kg/m <sup>2</sup>	--	8 B	2 A	--	--	
4	Depósito de producto terminado	200 Kg/m <sup>2</sup>	--	--	12 A	--	--	
5	Depósito de materias primas	31 a 60 Kg/m <sup>2</sup>	--	10 B	3 A	--	--	
6	Biorreactores	16 a 30 Kg/m <sup>2</sup>	--	8 B	2 A	--	--	
7	Servicios auxiliares	Hasta 15 Kg/m <sup>2</sup>	--	6 B	--	--	--	
8	Procesado	No aplica						

Tabla 12.4: Poder extintor mínimo requerido en cada sector.

Por otro lado, también tendremos en consideración la norma IRAM 3517-1, para la elección del tipo, cantidad y disposición de los matafuegos en la planta.

Según norma IRAM 3517		
Sector	Dotación mínima	Extintores (Tipo y capacidad)
Áreas generales por piso	Uno cada no más de 15 m de recorrido horizontal, en cualquier dirección de acceso libre	ABC de 5 Kg
Administración, oficinas, etc.	Dos hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	ABC de 5 Kg
Cocina	Uno en el acceso al local	ABC de 5 Kg
Vestuarios	Dos hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	ABC de 5 Kg
Cuarto de basura	Uno hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	ABC de 5 Kg
Cocheras o estacionamientos	Uno por cada 5 cocheras o fracción	ABC de 5 Kg
Sectores con riesgo eléctrico, salas de máquinas, etc.	Uno en el acceso al local	CO <sub>2</sub> de 5 Kg
Talleres y laboratorios	Dos hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	50 % de ABC x 5 Kg y 50% de CO <sub>2</sub> x 5 Kg
Depósitos de provisiones que puedan contener aceites o alcoholes	Dos hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	50 % de ABC x 5 Kg y 50% de espuma mecánica x 10 L
Depósitos de alimentos y generales	Dos hasta 200 m <sup>2</sup> y uno más cada 200 m <sup>2</sup> adicionales o fracción	50 % de ABC x 5 Kg y 50% de CO <sub>2</sub> x 5 Kg

*Tabla 12.5: Recomendaciones mínimas en la instalación de matafuegos.*

En base a estas consideraciones, se decidió la instalación de los siguientes tipos de extintores dentro de la planta de producción (Fig. 12.1).

- **Tipo ABC.** Un total de 14 extintores de 5 Kg. Se trata de un polvo químico seco, apto para fuegos originados en combustibles sólidos, líquidos inflamables y equipos eléctricos. Se recomienda su aplicación en vehículos livianos y pesados, bares, escuelas, hospitales, locales de reunión, oficinas y viviendas.
- **Tipo CO<sub>2</sub>.** Un total de 2 extintores de 5 Kg. Se trata de dióxido de carbono sometido a presión y estado líquido dentro del recipiente que, una vez liberado, cambia al estado gaseoso y desplaza el oxígeno que alimenta al fuego. Se lo considera un agente limpio no contaminante,

recomendado para fuegos originados por combustibles líquidos inflamables y equipos eléctricos. Su aplicación abarca depósitos de combustibles, laboratorios, salas de máquinas y tableros eléctricos.

- **Tipo H<sub>2</sub>O-AFFF.** Un total de 3 extintores de 10 L. Se trata de una solución acuosa con una dosificación al 6% de una espuma sintética de baja expansión biodegradable y no tóxica. Se lo recomienda para fuegos originados por combustibles sólidos y líquidos inflamables (especialmente hidrocarburos, alcoholes y solventes polares). Su aplicación abarca buques, estaciones de servicio, industrias químicas, plantas petroleras y transporte.
- **Tipo HCFC-123.** Un total de 3 extintores de 5 Kg en la sala de biorreactores. Se trata de un hidroclorofluorocarbono reemplazante ecológico del halon 1211, considerado un agente limpio de evaporación rápida que no deja residuos. Se lo recomienda para fuegos originados por combustibles sólidos, líquidos inflamables y equipos eléctricos. Su aplicación abarca áreas asépticas, centros de telecomunicaciones y equipos eléctricos críticos.

Como podemos ver en la Tabla 12.6, el potencial extintor de los matafuegos instalados supera ampliamente los requisitos mínimos.

Nro.	Sector	P. extintor necesario	Extintor ABC (5 Kg)		Extintor CO <sub>2</sub> (5Kg)		Extintor H <sub>2</sub> O-AFFF (10 L)		Extintor HCFC-123 (5 Kg)		P. extintor instalado
			P. extintor	Cant.	P. extintor	Cant.	P. extintor	Cant.	P. extintor	Cant.	
1	Garage	3A-10B-C	6A-40B-C	1	5B-C	3A-10B	1A-5B-C	0	0	0	6A-40B-C
2	Administrativo	2A-C		2				0	0	0	12A-80B-C
3	Downstream	2A-8B-C		2				0	1	0	15A-90B-C
4	Depósito de producto terminado	12A-C		3				0	0	0	18A-120B-C
5	Depósito de materias primas	3A-10B-C		2				0	1	0	15A-90B-C
6	Biorreactores	2A-8B-C		0				0	0	3	3A-15B-C
7	Servicios auxiliares	6B-C		0				2	1	0	3A-20B-C
8	Procesado	C		4				0	0	0	24A-160B-C

Tabla 12.6: Potencial extintor de los matafuegos instalados en la planta.

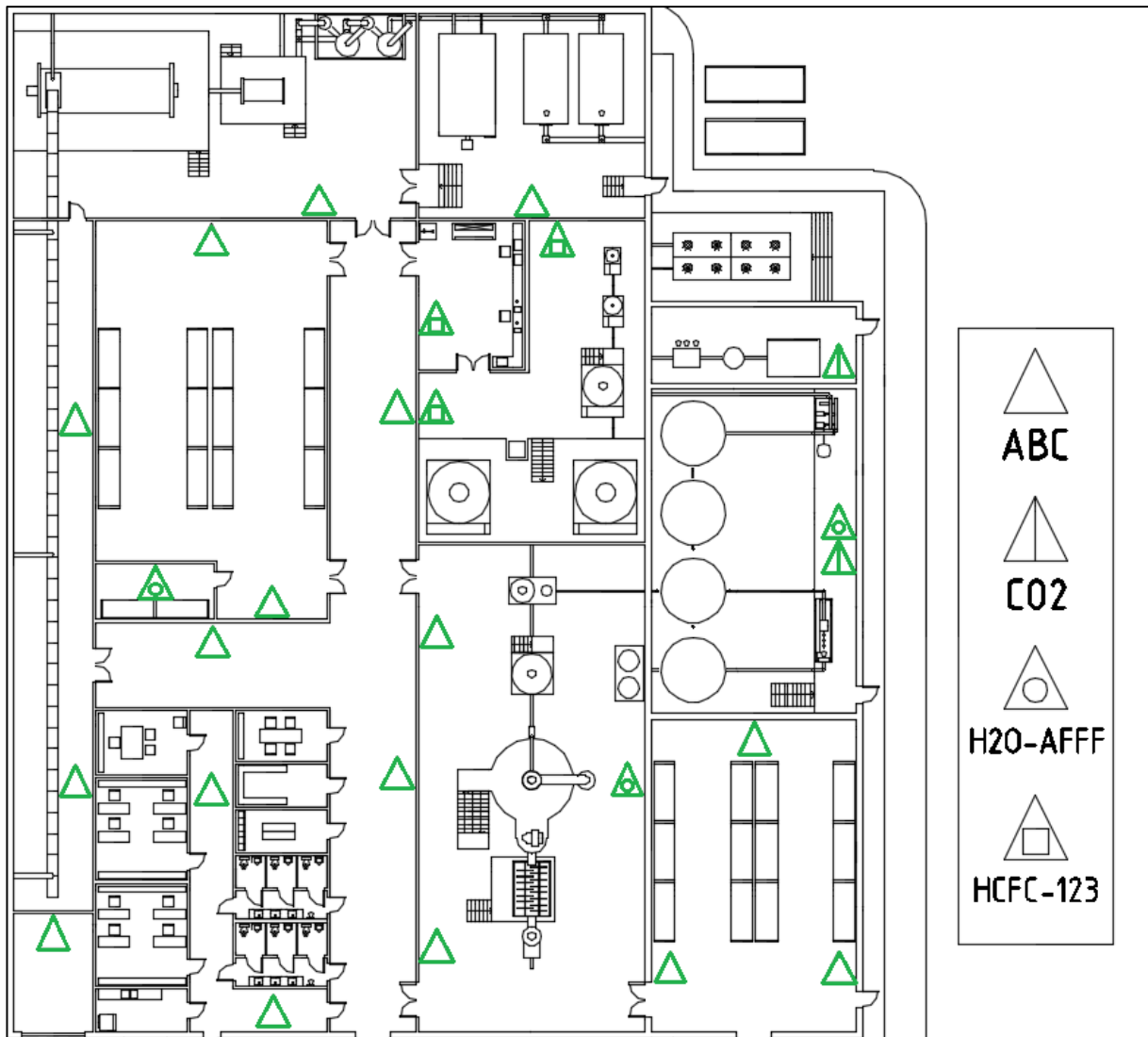


Fig. 12.1: Distribución de matafuegos por la planta de producción.

### 12.1.2. Sistemas hidrantes y bocas de incendio

Basándonos en la norma IRAM 3597 “Instalaciones fijas contra incendios. Sistemas de hidrantes y bocas de incendio”, se dimensionó el sistema de bocas de incendio para el predio completo de la planta.

1. Primero se debe identificar a que actividad de riesgo pertenece nuestra planta productiva. Según la Tabla 12.7, encuadra dentro de “actividades de riesgo moderado, grupo II”.

Riesgo	Activades
Leve	Viviendas, hoteles, clubes deportivos, establecimientos de enseñanza, museos, etc.
Moderado, grupo I	Bebidas no alcohólicas, productos alimenticios (sin hornos), lácteos, frigoríficos, jabones y detergentes, etc.
Moderado, grupo II	Bebidas alcohólicas, alimentos para animales, aserraderos, carpinterías, almacenamiento de archivos, café y hierbas aromáticas, pinturas, papel, plásticos, vidrio, extracción de aceites, etc.
Alto	Destilerías, industrias químicas, centrales termoeléctricas y todo lo que involucre manipulación o almacenamiento de productos inflamables.

Tabla 12.7: Riesgo de las industrias o establecimientos según su actividad.

2. Luego, debemos contemplar la superficie (expresada en m<sup>2</sup>) que ocupa la superficie cubierta total y la superficie descubierta de la planta de proceso. En nuestro caso, la superficie cubierta, incluyendo los silos verticales y la garita de seguridad, es de aproximadamente 2.279 m<sup>2</sup> y los silos celda contemplan unos 1.044 m<sup>2</sup> adicionales, resultando un total de 3.323 m<sup>2</sup>.

Con las consideraciones hechas, encontramos en las Tablas 12.8, 12.9 y 12.10 los requisitos mínimos que deben cumplir las instalaciones fijas contra incendios de nuestra planta.

Riesgo	Superficie (m <sup>2</sup> )			Tiempo
	S < 2.500	2.500 < S < 10.000	10.000 < S < 20.000	
Leve	750 Lpm	1.000 Lpm	1.500 Lpm	30 min
Moderado, grupo I	1.000 Lpm	1.000 Lpm	1.500 Lpm	45 min
Moderado, grupo II	1.000 Lpm	1.500 Lpm	2.000 Lpm	60 min
Alto	1.500 Lpm	2.000 Lpm	3.000 Lpm	60 min

Tabla 12.8: Caudal mínimo del sistema hidrante.

Riesgo	Superficie (m <sup>2</sup> )			Presión en bocas
	S < 2.500	2.500 < S < 10.000	10.000 < S < 20.000	
Leve	2 bocas x 375 Lpm	2 bocas x 500 Lpm	3 bocas x 500 Lpm	5 Kgf/cm <sup>2</sup>
Moderado, grupo I	2 bocas x 500 Lpm	2 bocas x 500 Lpm	3 bocas x 500 Lpm	
Moderado, grupo II	2 bocas x 500 Lpm	3 bocas x 500 Lpm	4 bocas x 500 Lpm	
Alto	3 bocas x 500 Lpm	4 bocas x 500 Lpm	6 bocas x 500 Lpm	

Tabla 12.9: Caudal y presión mínimos por boca de incendio.

Riesgo	Superficie (m <sup>2</sup> )		
	S < 2.500	2.500 < S < 10.000	10.000 < S < 20.000
Leve	22.500 L	30.000 L	45.000 L
Moderado, grupo I	45.000 L	45.000 L	68.000 L
Moderado, grupo II	60.000 L	90.000 L	120.000 L
Alto	90.000 L	120.000 L	180.000 L

Tabla 12.10: Reserva de agua exclusiva para incendio.

En base a los requisitos mínimos establecidos por la norma, se seleccionó:

- Una bomba de incendio, modelo HSEF 4-12 de la empresa “Grundfos®”, con dos bombas principales y una bomba jockey, cuyas prestaciones para un caudal nominal de 500 a 750 gpm (110 a 170 m<sup>3</sup>/hs) es una presión de 95 a 128 psi (655 a 883 kPa) y una potencia nominal de 55 kW.



Fig. 12.2: Bomba de incendio, modelo HSEF 4-12.



- Dos tanques verticales de acero conectados en serie de 80 m<sup>3</sup> cada uno, para la reserva de agua contra incendio que alimentará a la bomba, un sistema de cañería de 4 pulgadas de diámetro nominal y 6 nichos hidrantes para su instalación en las bocas de incendio. El diseño e instalación de los elementos previamente mencionados se los encargó a la empresa “Minimax®”, especializada en proyectos de seguridad contra incendios.



Fig. 12.3: A la izquierda, tanque de reserva contra incendio. A la derecha, nicho hidrante.

Para la localización de los 6 nichos hidrantes se consideró los focos potenciales de incendio dentro del predio. Ellos son, todos los equipos que utilicen quemadores de aire y los grandes depósitos de hollejo de uva. Por lo tanto, se eligió la disposición de los nichos que se muestra en la Figura 12.4.

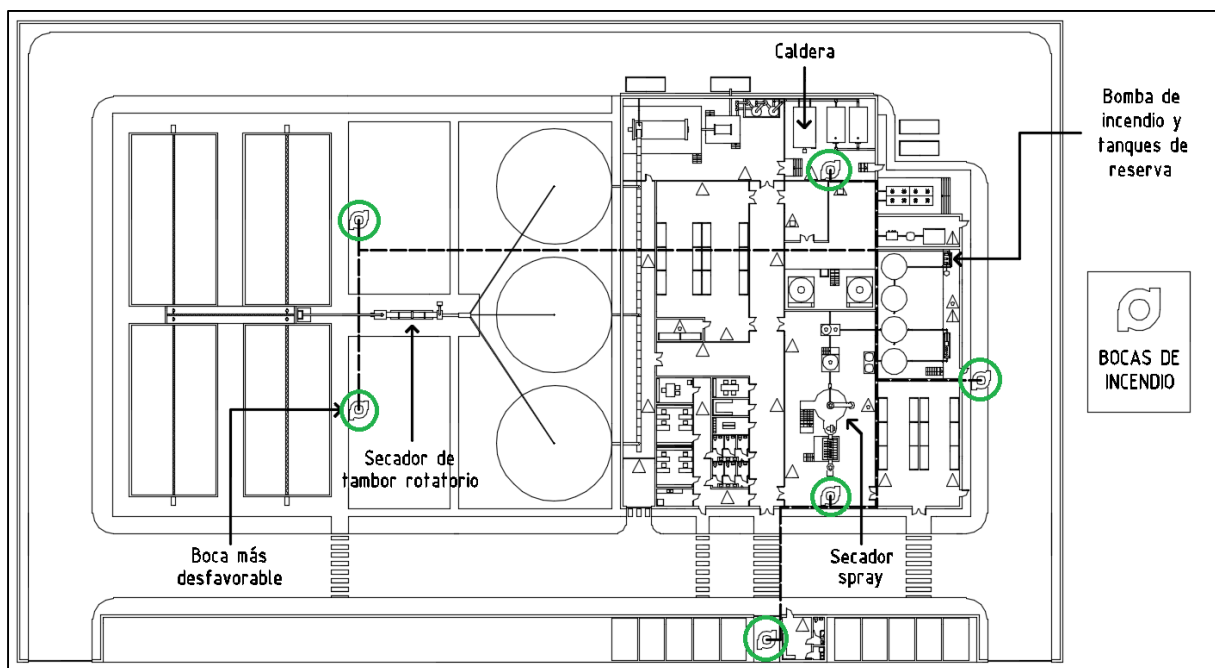


Fig. 12.4: Distribución de las bocas de incendio en el predio de la planta.

### 12.1.2.1. Perdida de carga en boca de incendio

Según en la norma IRAM 3597 “Instalaciones fijas contra incendios. Sistemas de hidrantes y bocas de incendio”, debemos asegurarnos que la bomba de incendio pueda ofrecer, en la boca de incendio más desfavorable, una presión de al menos 5 Kgf/cm<sup>2</sup> (500 kPa).

1. Para ello partimos de la ecuación de Bernoulli.

- $(P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$

Consideraremos que la línea de suministro de agua debe elevarse 5 metros por encima de las instalaciones de la planta.

- $h_2 - h_1 = 5 \text{ m}$

Como no existe un trabajo ejercido por una bomba en el camino de circulación del agua hasta la boca de incendio.

- $W = 0$

Por último, como el caudal y el diámetro nominal de la cañería por donde circula el agua de red son los mismos, desde la salida de la bomba de incendio hasta la boca de incendio, entonces:

- $v_1 = v_2$

La ecuación de Bernoulli queda simplificada a la siguiente expresión:

- $(P_1/\gamma) + h_1 = (P_2/\gamma) + h_2 + h_f$

2. Según las especificaciones técnicas de la bomba de incendio seleccionada (Fig. 12.5), la misma es capaz de suministrar a la red un caudal de agua de 500 gpm (110 m<sup>3</sup>/hs) con una presión de 115 psi (793 kPa).

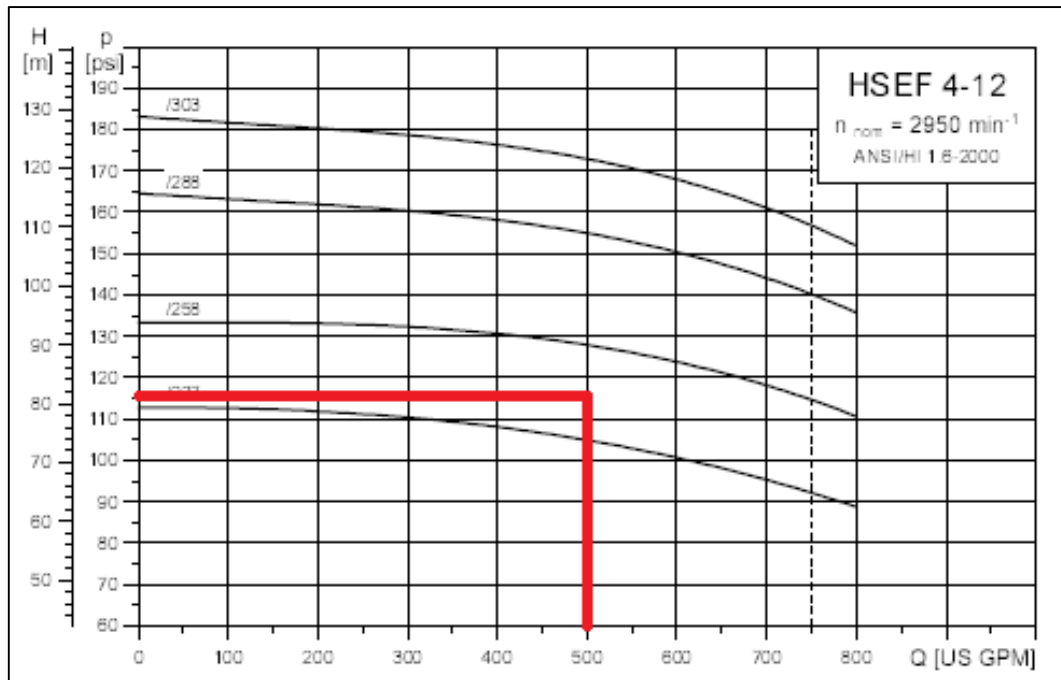


Fig. 12.5: Curva de trabajo de la bomba de incendio HSEF 4-12.

3. Por último, nos queda determinar la pérdida de carga por fricción.

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g)$

Determinamos el factor de fricción de Fanning mediante el diagrama de Moody, para ello, determinamos el número de Reynold.

- $Re = (D * \rho * v)/\mu$

Calculamos la velocidad con la que el agua circula por la cañería de incendio:

- $v = \dot{Q}/A$
- $v = (0,0306 \text{ m}^3/\text{seg})/[\pi * (0,0508 \text{ m})^2] = 3,77 \text{ m/seg}$

Volviendo al número de Reynolds, tenemos:

- $Re = [(0,1016 \text{ m}) * (1.000 \text{ Kg/m}^3) * (3,77 \text{ m/seg})]/(0,001 \text{ Kg/m seg}) = 3,83 * 10^5$

Con el valor del número de Reynolds y teniendo en cuenta que el material de construcción de la cañería es acero, estimamos en valor de factor de fricción de Fanning.

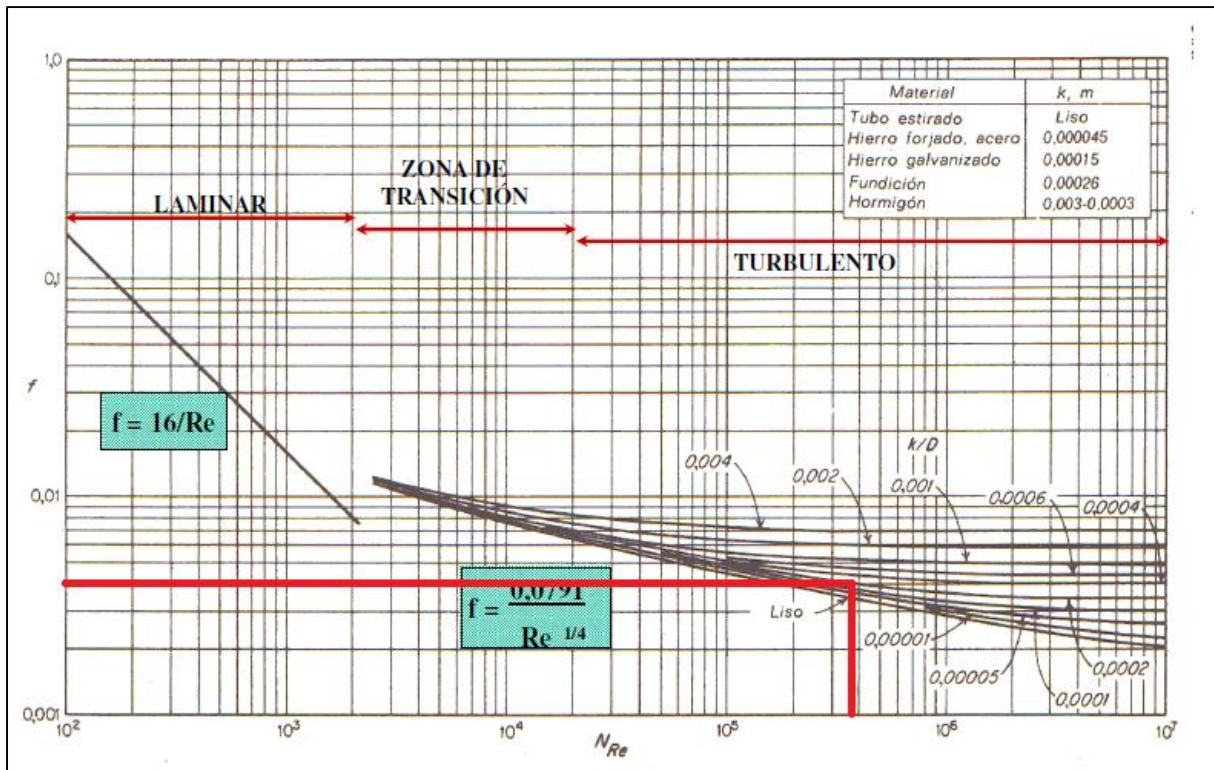


Fig. 12.6: Determinación de factor de fricción de Fanning para la cañería de agua contra incendio.

- Se estima el factor de fricción de Fanning,  $f \approx 0,004$

En longitud de tramos de cañería recta ( $L_R$ ) desde la salida de la bomba hasta la boca de incendio más desfavorable, tenemos:

- $L_R \approx 80$  m

En cuanto a la longitud cañería recta equivalente, consideramos 3 bifurcaciones en T (BT), 3 codos de  $90^\circ$  y una válvula globo abierta (VG) en una cañería de 4 pulgadas de diámetro, según la Figura 11.7, tenemos:

- $L_{Eq} \text{ BT} \approx 21$  m
- $L_{Eq} \text{ VG} \approx 33$  m
- $L_{Eq} \text{ codo} \approx 9$  m

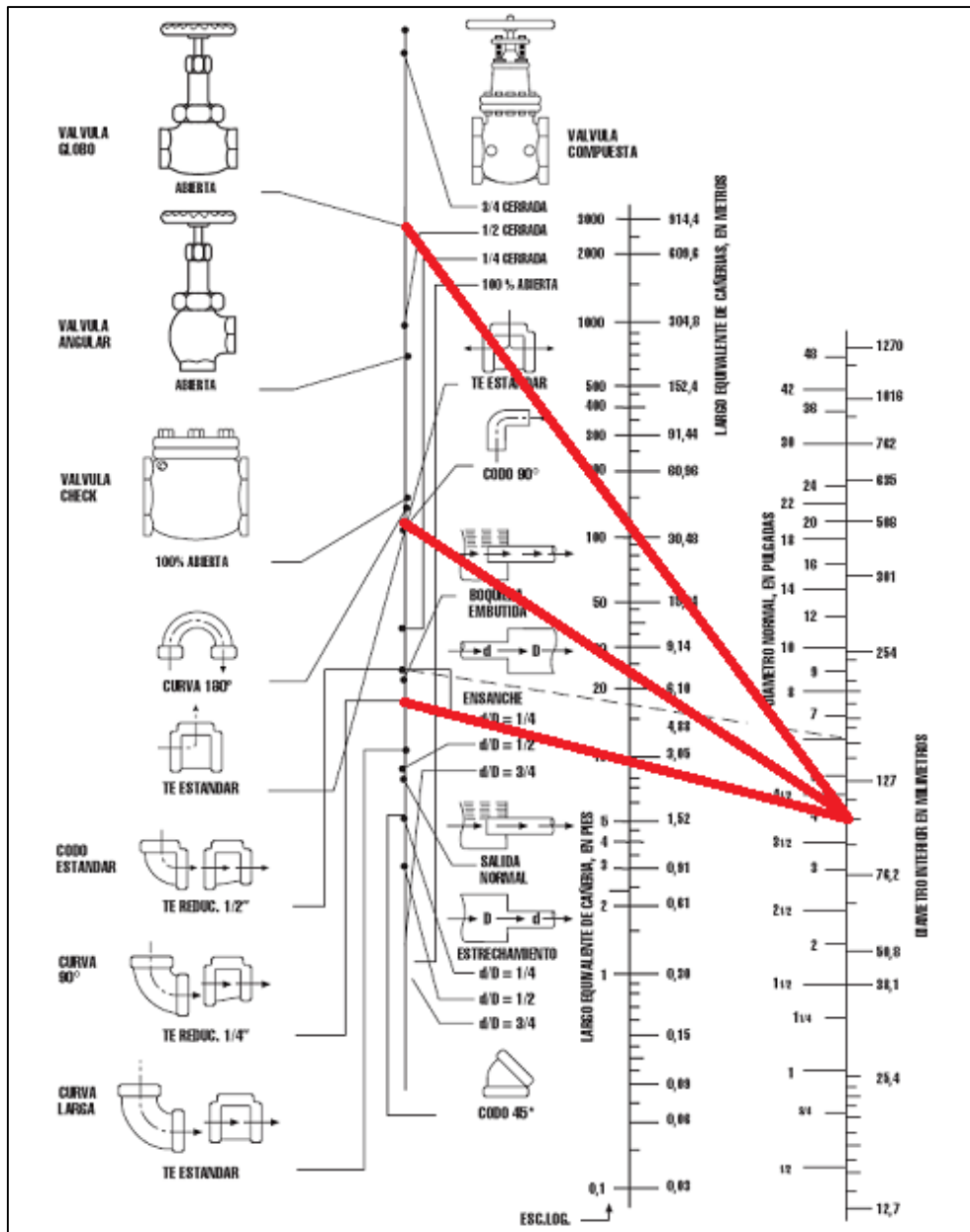


Fig. 12.7: Longitudes equivalentes para artefactos en cañerías.

Entonces, conociendo las longitudes, diámetro interno y velocidad del agua que circula por la cañería, podemos calcular la pérdida de carga total.

- $h_f = 4 * 0,004 * [(80 \text{ m} + 63 \text{ m}) / 0,1016 \text{ m}] * [(3,77 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $h_f = 16,33 \text{ m}$

Volviendo a la ecuación de Bernoulli, despejamos la presión en la boca de incendio más desfavorable ( $P_2$ ):

- $(P_1/\gamma) + h_1 = (P_2/\gamma) + h_2 + h_f$
- $P_2 = P_1 + [(h_1 - h_2) - h_f] * \gamma$
- $P_2 = 793 \text{ kPa} + [(-5 \text{ m} - 16,33 \text{ m}) * (1.000 \text{ Kg/m}^3) * (9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $P_2 = 584 \text{ kPa}$

Por lo tanto, la bomba seleccionada es capaz de cumplir con los requisitos de presión detallados en la norma IRAM 3597, para la boca de incendio más desfavorable instalada en la planta.

### 12.1.3. Sistema de rociadores

Los rociadores automáticos o “sprinklers” son unos de los sistemas más antiguos para la protección contra incendios en todo tipo de edificios. Están concebidos para detectar un incendio y apagarlo con agua o controlarlo para que pueda ser apagado por otros medios. Al momento de diseñar la protección con rociadores automáticos para la planta, se debe identificar su riesgo potencial. Esta definición viene definida por el tipo de inmueble a proteger, los productos combustibles que en él se encuentran, y por la distribución de dichos materiales. Según la norma NFPA-13 podemos dividir los riesgos en 5 segmentos.

Riesgo	Descripción
Leve	Ocupaciones donde la cantidad y combustibilidad de los contenidos es baja y la tasa de liberación de calor también. (Ej. Oficinas)
Ordinario I	Ocupaciones donde la combustibilidad es baja, la cantidad de combustible moderada y el apilado no excede a 2,4 metros.
Ordinario II	Ocupaciones donde la cantidad y la combustibilidad de los contenidos es moderada a alta, y el apilado no excede los 3,7 metros.
Peligroso I	Ocupaciones donde la cantidad y la combustibilidad de los contenidos es muy alta, en forma de polvo, fibras u otro material con gran potencial de desarrollo de fuego, pero con poco o nada de líquidos combustibles o inflamables.
Peligroso II	Ocupaciones con moderada a importante cantidad de líquidos combustibles o inflamables, donde la protección de los combustibles sea extensa.

Tabla 12.11: Tipo de riesgos según la norma NFPA-13.

Luego, determinamos de densidad de aplicación de agua y la superficie de diseño donde se descarga la densidad de agua determinada. Para ello, utilizamos el gráfico de la Figura 12.7, el cual indica de la densidad de agua recomendada en base a la superficie del sector analizado y el riesgo que el mismo acarrea para un sistema de rociadores estándar, conexión de ½ pulgada y orificio de 12 milímetros.

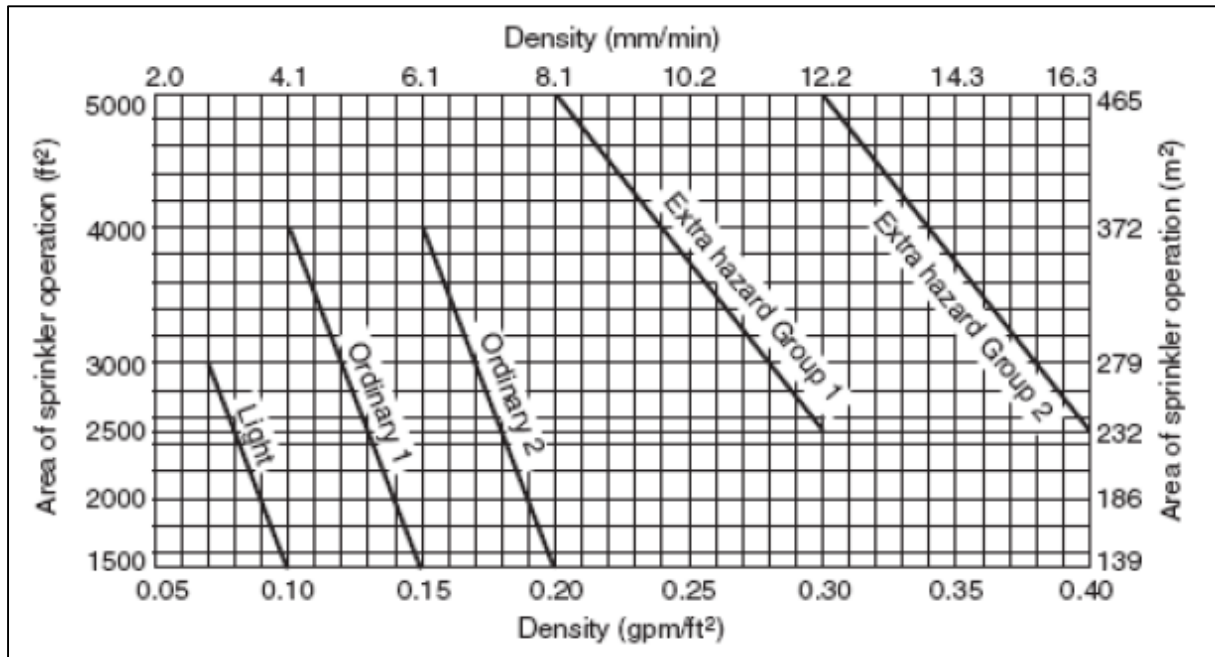


Fig. 12.8: Densidad de agua según la norma NFPA-13.

En base a ello, determinamos la densidad de agua a ser suministrada por el sistema de rociadores instalado en cada sector de la planta, y el reservorio de agua necesario en cada caso.

Nro.	Sector	Área	Riesgo	Densidad de agua	Caudal de agua
1	Garage	21 m <sup>2</sup>	Ordinario I	0,17 Gpm/ft <sup>2</sup>	39 Gpm
2	Administrativo	165 m <sup>2</sup>	Leve	0,10 Gpm/ft <sup>2</sup>	177 Gpm
3	Downstream	244 m <sup>2</sup>	Ordinario II	0,18 Gpm/ft <sup>2</sup>	473 Gpm
4	Depósito de producto terminado	141 m <sup>2</sup>	Ordinario II	0,20 Gpm/ft <sup>2</sup>	304 Gpm
5	Depósito de materias primas	204 m <sup>2</sup>	Ordinario II	0,18 Gpm/ft <sup>2</sup>	395 Gpm
6	Biorreactores	161 m <sup>2</sup>	Ordinario I	0,15 Gpm/ft <sup>2</sup>	260 Gpm
7	Servicios auxiliares	181 m <sup>2</sup>	Ordinario I	0,14 Gpm/ft <sup>2</sup>	273 Gpm
8	Procesado	411 m <sup>2</sup>	Ordinario I	0,10 Gpm/ft <sup>2</sup>	440 Gpm

Tabla 12.12: Densidad y reserva de agua necesarios por el sistema de rociadores.

1. Considerando la ocurrencia de un incendio en el sector más crítico de la planta, el área de downstream (riesgo ordinario 2), la norma NFPA-13 establece que el tiempo de acción del sistema de rociadores debe ser, de al menos, 60 minutos. Calculamos el agua de reserva necesaria ( $H_2O_R$ ).

- $H_2O_R = 473 \text{ Gpm} * (3,78 \text{ L}/1 \text{ Galón}) * (\text{m}^3/1.000 \text{ L}) * 60 \text{ min} = 107 \text{ m}^3$

En nuestro caso, los dos tanques con agua de reserva contra incendio suman un total de 160  $\text{m}^3$ , lo cual excede en un poco más del 40% las exigencias de norma.

Por otro lado, debemos estimar la cantidad de rociadores a instalar en cada sector. Considerando la peor condición de trabajo posible determinamos que, para un rociador estándar a 10 psi tenemos un caudal de agua de 18 gpm por unidad (Figura 12.9).

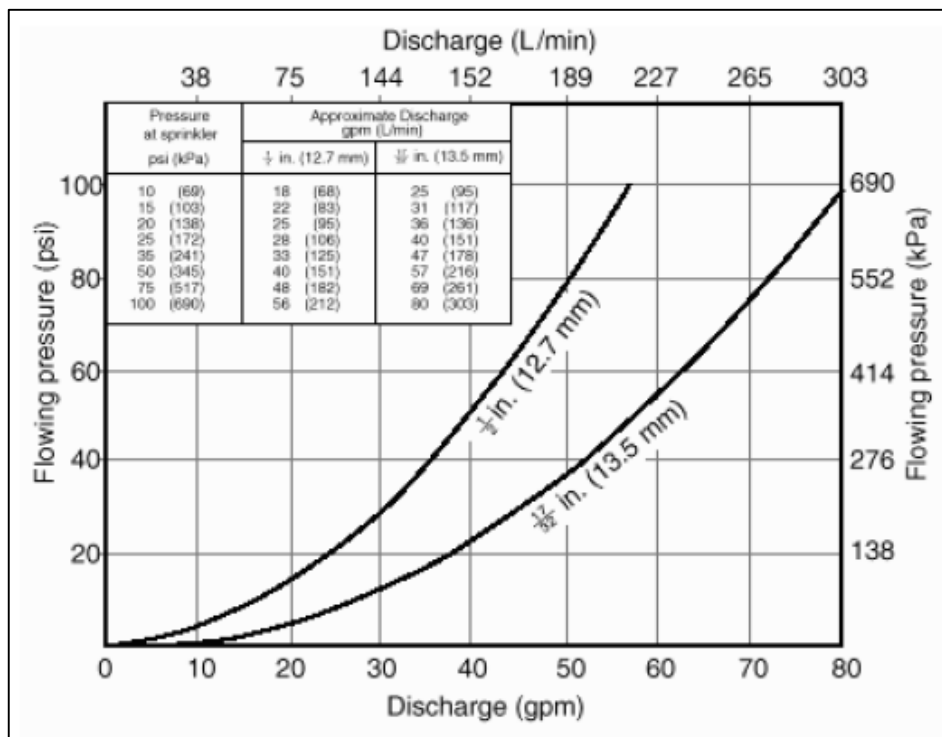


Fig. 12.9: Caudal de descarga de rociadores estándar según su presión de trabajo.



Nro.	Sector	Caudal de agua	Cantidad de rociadores
1	Garage	39 Gpm	2
2	Administrativo	177 Gpm	10
3	Downstream	473 Gpm	27
4	Depósito de producto terminado	304 Gpm	17
5	Depósito de materias primas	395 Gpm	22
6	Biorreactores	260 Gpm	15
7	Servicios auxiliares	273 Gpm	15
8	Procesado	440 Gpm	25

*Tabla 12.13:* Cantidad de rociadores por sector, según el caudal unitario por unidad de rocío.

Otra consideración al momento de estimar la cantidad de rociadores a instalar es el área de cobertura por el riesgo en cada sector. Siendo para rociadores estándar de 12 m<sup>2</sup> para riesgo leve, y 9 m<sup>2</sup> para los otros tipos de riesgo, con una distancia entre rociadores mínima y máxima de 1.80 y 4.60 metros, respectivamente.

Nro.	Sector	Área	Riesgo	Cantidad de rociadores
1	Garage	21 m <sup>2</sup>	Ordinario I	3
2	Administrativo	165 m <sup>2</sup>	Leve	14
3	Downstream	244 m <sup>2</sup>	Ordinario II	27
4	Depósito de producto terminado	141 m <sup>2</sup>	Ordinario II	16
5	Depósito de materias primas	204 m <sup>2</sup>	Ordinario II	23
6	Biorreactores	161 m <sup>2</sup>	Ordinario I	18
7	Servicios auxiliares	181 m <sup>2</sup>	Ordinario I	20
8	Procesado	411 m <sup>2</sup>	Ordinario I	46

*Tabla 12.14:* Cantidad de rociadores por sector, según el área de cobertura de cada unidad de rocío.

En base a estas consideraciones, se decidió instalar la cantidad de rociadores por sector que se muestra en la Tabla 12.15, con su respectiva distribución que se muestra en la Figura 12.10.

Nro.	Sector	Área	Riesgo	Caudal de agua	Rociadores instalados
1	Garage	21 m <sup>2</sup>	Ordinario I	39 Gpm	3
2	Administrativo	165 m <sup>2</sup>	Leve	177 Gpm	17
3	Downstream	244 m <sup>2</sup>	Ordinario II	473 Gpm	32
4	Depósito de producto terminado	141 m <sup>2</sup>	Ordinario II	304 Gpm	20
5	Depósito de materias primas	204 m <sup>2</sup>	Ordinario II	395 Gpm	28
6	Biorreactores	161 m <sup>2</sup>	Ordinario I	260 Gpm	20
7	Servicios auxiliares	181 m <sup>2</sup>	Ordinario I	273 Gpm	24
8	Procesado	411 m <sup>2</sup>	Ordinario I	440 Gpm	52

Tabla 12.15: Cantidad de rociadores instalados por sector de la planta.

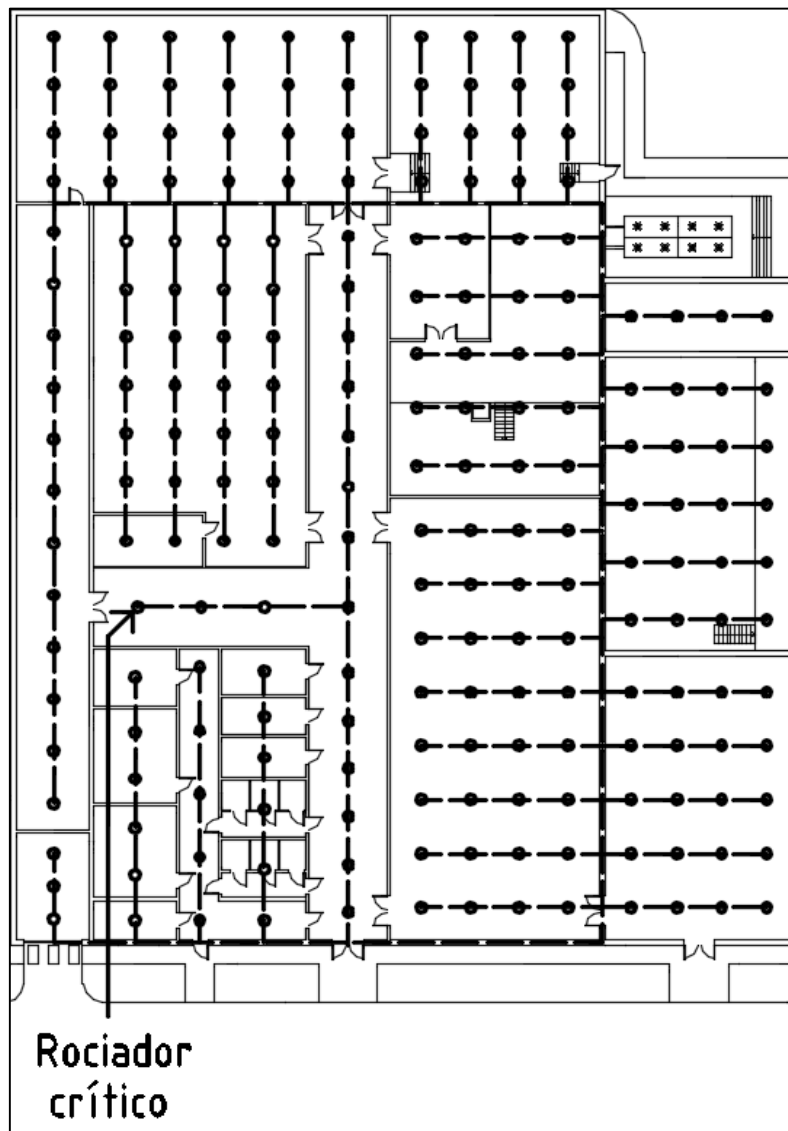


Fig. 12.10: Disposición de la red de rociadores en la planta de proceso.

**12.1.3.1. Pérdida de carga en rociador crítico**

Se selecciona el rociador que proporcione mayor pérdida de carga en la instalación contra incendio. Según las normas NFPA-13, los rociadores deben operar con una presión mínima de 10 psi (69 kPa). Por lo tanto, debemos asegurarnos que la presión no sea menor a dicho valor.

1. Para ello partimos de la ecuación de Bernoulli.

$$\bullet \quad (P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 + W = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$$

Considerando que la línea de suministro de agua y los rociadores en el depósito de materia prima, se encuentran a aproximadamente 5 metros de altura.

$$\bullet \quad h_2 - h_1 = 5 \text{ m}$$

Como no existe un trabajo ejercido por una bomba desde la entrada de agua a la red de incendio hasta el rociador crítico en el depósito de materia prima, entonces:

$$\bullet \quad W = 0$$

Calculamos la velocidad de agua a la entrada de la red de incendio (4 pulgadas de diámetro) y a la salida del orificio del rociador (1/2 de pulgada de diámetro). Considerando la presurización de la red a 50 psi (345 kPa), lo que resultará en un caudal de 40 gpm (9.10 m<sup>3</sup>/hs) por unidad de roció, tenemos:

$$\bullet \quad v_1 = \dot{Q}/A_1$$

$$\bullet \quad v_1 = (0,0025 \text{ m}^3/\text{seg})/[\pi * (0,0508 \text{ m})^2] = 0,31 \text{ m/seg}$$

$$\bullet \quad v_2 = \dot{Q}/A_2$$

$$\bullet \quad v_2 = (0,0025 \text{ m}^3/\text{seg})/[\pi * (0,0063 \text{ m})^2] = 20,30 \text{ m/seg}$$

La ecuación de Bernoulli queda simplificada a la siguiente expresión:

$$\bullet \quad (P_1/\gamma) + (v_1^2/2 * g) + h_1 = (P_2/\gamma) + (v_2^2/2 * g) + h_2 + h_f$$

2. Por último, nos queda determinar la pérdida de carga por fricción.

- $h_f = 4 * f * (L_T/D) * (v^2/2 * g)$

Determinamos el factor de fricción de Fanning mediante el diagrama de Moody, para ello, determinamos el número de Reynold.

- $Re = (D * \rho * v)/\mu$

- $Re = [(0,1016 \text{ m}) * (1.000 \text{ Kg/m}^3) * (0,31 \text{ m/seg})]/(0,001 \text{ Kg/m seg}) = 3,15 \times 10^4$

Con ese valor y teniendo en cuenta que el material de construcción de la cañería es acero, estimamos en valor de factor de fricción de Fanning (Figura 12.11).

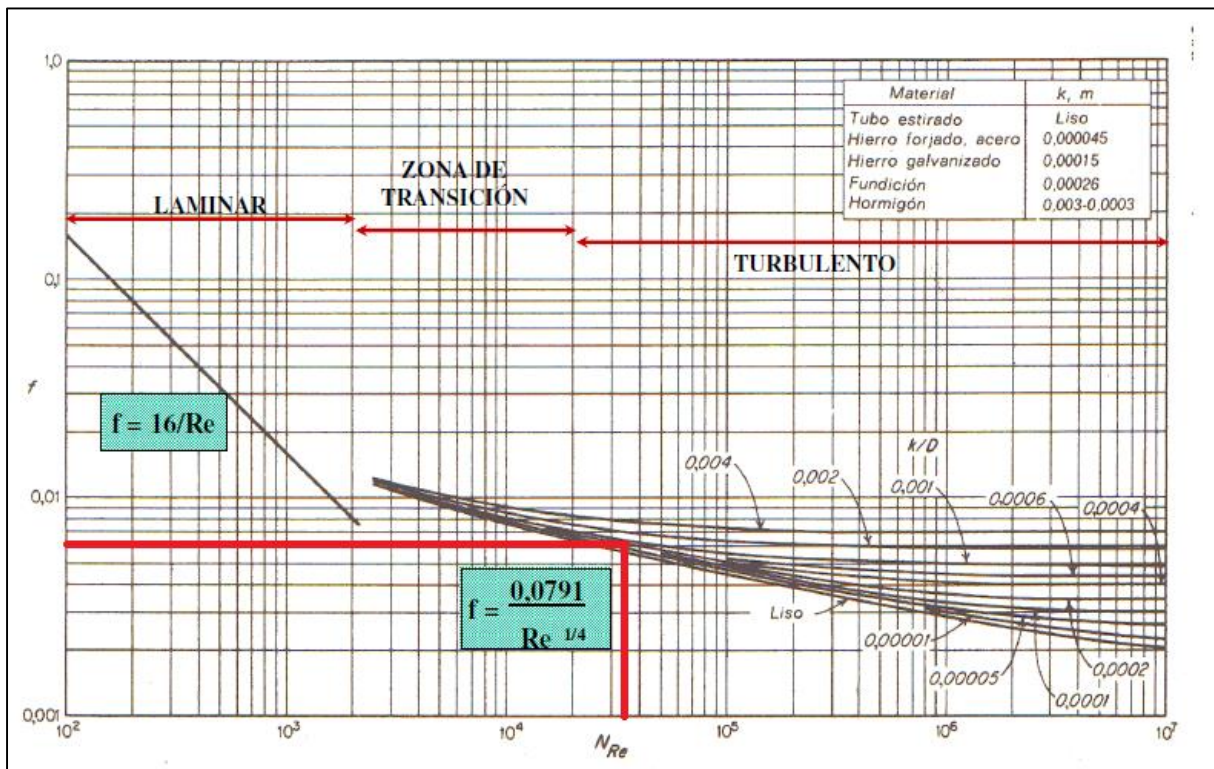


Fig. 12.11: Determinación de factor de fricción de Fanning para la cañería de agua contra incendio.

- Se estima el factor de fricción de Fanning,  $f \approx 0,006$

En longitud de tramos de cañería recta ( $L_R$ ) desde la salida de la bomba hasta la boca de incendio más desfavorable, tenemos:

- $L_R \approx 70 \text{ m}$

En cuanto a la longitud cañería recta equivalente, consideramos 3 bifurcaciones en T (BT) y 2 codos de 90° en una cañería de 4 pulgadas de diámetro, según la Figura 12.12, tenemos:

- $L_{Eq} \text{ BT} \approx 21 \text{ m}$
- $L_{Eq} \text{ codo} \approx 6 \text{ m}$

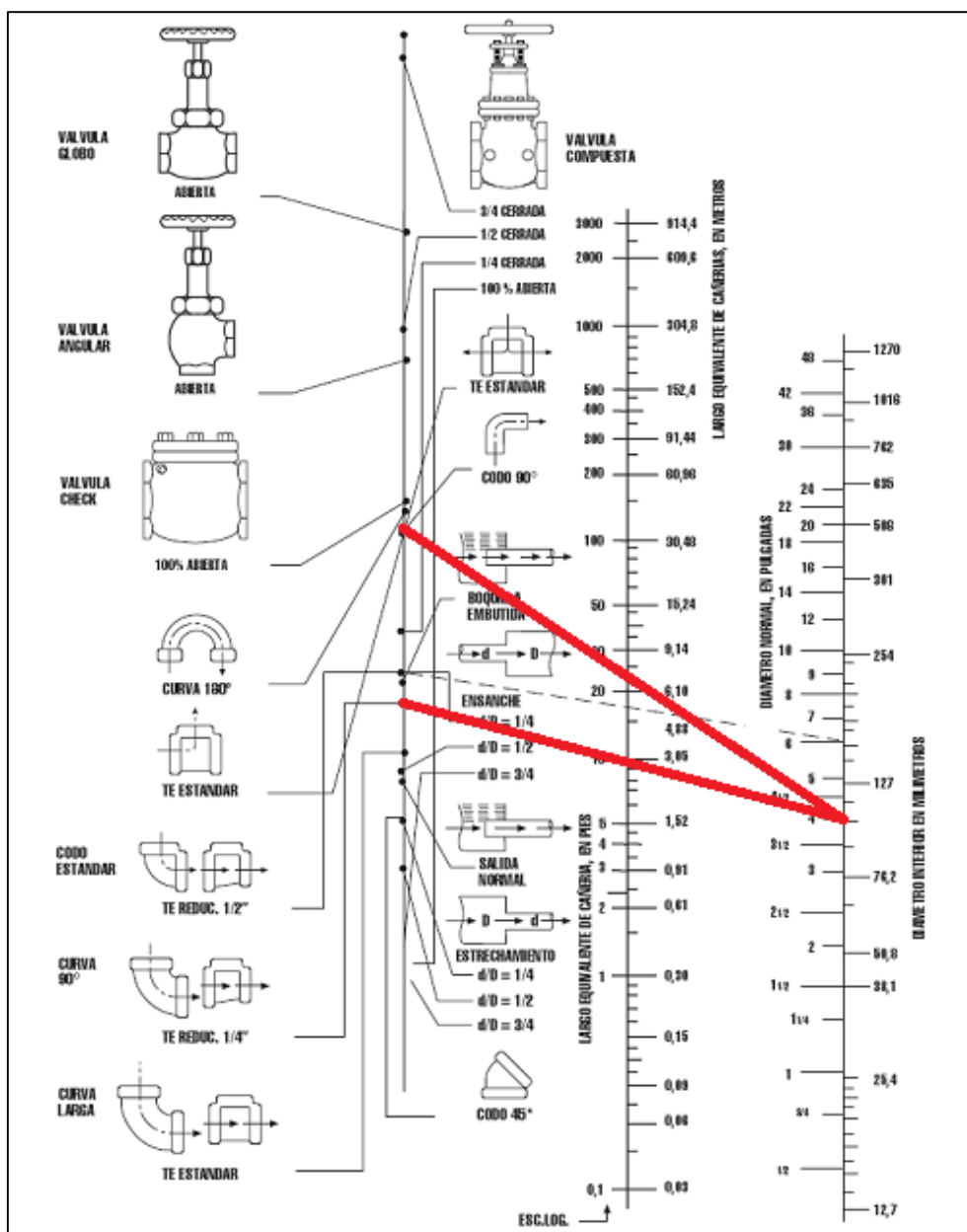


Fig. 12.12: Longitudes equivalentes para artefactos en cañerías.

Entonces, conociendo las longitudes, diámetro interno y velocidad del agua que circula por la cañería, podemos calcular la pérdida de carga total.

- $h_f = 4 * 0,006 * [(70 \text{ m} + 27 \text{ m}) / 0,1016 \text{ m}] * [(0,31 \text{ m/seg})^2 / (2 * 9,80 \text{ m/seg}^2)]$
- Obtenemos,  $h_f = 0,112 \text{ m}$

3. Volviendo a la ecuación de Bernoulli, despejamos la presión en el rociador más desfavorable ( $P_2$ ), recordando que la presión de la red de incendio son 50 psi (345 kPa), entonces:

- $P_2 = 345 \text{ kPa} + [(9,80 \text{ m/seg}^2) * (1.000 \text{ Kg/m}^3)] * [-5 \text{ m} - 0,112 \text{ m} + [(0,31 \text{ m/seg})^2 - (20,30 \text{ m/seg})^2] / (2 * (9,80 \text{ m/seg}^2))]$
- Obtenemos,  $P_2 = 89 \text{ kPa}$

Por lo tanto, la presión de presurización del sistema de rociadores es más que suficiente (un 30% extra), para asegurar la presión de trabajo mínima en el rociador crítico del sistema.

#### 12.1.3.2. Tipo de rociador y montaje

Los rociadores se activan al detectar los efectos de un incendio, como el aumento de la temperatura asociado al fuego o el humo que funden una aleación metálica con un punto de fusión determinado.

También se los puede clasificar según su forma de montaje, los cuatro más comunes son:

- **Montante.** Se los monta sobre la tubería, de manera que el agua sale hacia arriba, golpea el deflector y se desvía hacia abajo en forma de paraguas.
- **Colgante.** Para ser montado bajo la tubería, de manera que el agua fluya hacia abajo y golpee el deflector y distribuyéndose en forma de paraguas.
- **Emergente.** Son decorativos para ser usados con falsos techos, donde la tubería queda oculta. Se monta al ras del techo con el fusible a la vista. Cuando se activa, el deflector sale y permite la distribución uniforme del agua.

- **De pared (vertical u horizontal).** Están pensados para ser instalados en la pared o en el techo y proporcionar una distribución semiesférica en una dirección concreta.

Máxima temperatura en el techo		Temperatura de activación		Clasificación de la temperatura	Código de Colores	Color de la ampolla de vidrio
°F	°C	°F	°C			
100	38	135-170	59-77	Ordinaria	Sin color	Naranja o rojo
150	66	175-225	79-107	Intermedia	Blanco	Amarillo o verde
225	107	250-300	121-149	Alta	Azul	Azul
300	149	325-375	163-191	Muy alta	Rojo	Morado
375	191	400-475	204-246	Extra alta	Verde	Negro
475	246	500-575	260-302	Ultra alta	Naranja	Negro
625	329	650	343	Ultra alta	Naranja	Negro

Tabla 12.16: Temperaturas de activación y color de rociadores.



Fig. 12.13: Rociador colgante sobre cañería de servicio.

En nuestro caso, se opta por la selección de rociadores y montaje en cada sector de la planta que se especifican en la Tabla 12.17.

Nro.	Sector	Riesgo	Color (Bulbo)	Montaje
1	Depósito de materias primas	Ordinario II	Rojo	Colgante
2	Downstream	Ordinario II	Verde	Colgante
3	Depósito de producto terminado	Ordinario II	Rojo	Colgante
4	Administrativo	Leve	Rojo	Emergente
5	Biorreactores	No aplica	No aplica	No aplica
6	Servicios auxiliares	Leve	Rojo	Colgante
7	Procesado	Ordinario I	Verde	Colgante

*Tabla 12.17: Selección y montaje de rociadores en la planta.*

**NOTA:**

En el caso de la existencia de un cielorraso, la distancia del deflector respecto del mismo debe tener 0.025 y 0.30 metros de mínimo y máximo, respectivamente, y sin obstrucciones.

## **12.2. Plan de evacuación**

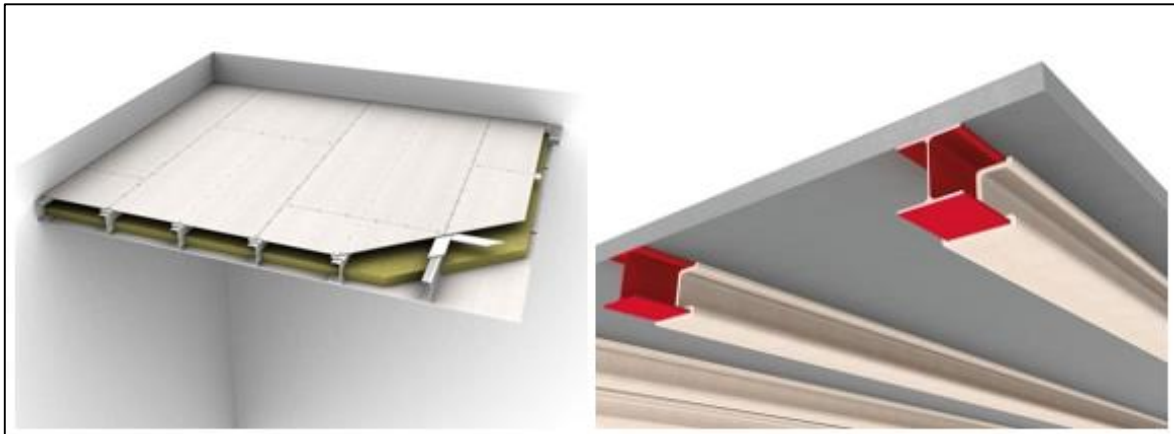
Según la Ley Nacional 19.587, Decreto 351/79, un medio de escape contempla 2 elementos, un camino y una salida. Se debe establecer un camino de escape que conduzca a una salida, el sector de escape debe proteger a sus ocupantes de los incendios externos o dejar confinado un incendio dentro de un sector de incendio y dar el tiempo suficiente para la evacuación. Este sector debe estar complementado con un adecuado sistema de evacuación de humos, tanto para evacuarlos como para evitar el ingreso del mismo desde otro sector. Para nuestra planta de proceso, los requisitos que debe cumplir el sector de escape son:

- Control de propagación horizontal mediante la división del sector de escape, en las que cada parte deberá estar aislada de las restantes mediante muros cortafuegos cuyas aberturas de paso se cerrarán con puertas de seguridad contra incendio y cierre automático.
- Todo sector de escape deberá comunicarse en forma directa con un medio de escape, quedando prohibida la evacuación de un sector de escape a través de otro sector.



- Los sectores de escape se separan entre sí por pisos, techos y paredes resistentes al fuego.

En base a estas consideraciones, establecemos un plan de evacuación, cuyos caminos de escape, salidas y puntos de encuentro se detallan en la Figura 12.17. El sector de incendio señalado, es construido con un sistema de protección de entrepisos, cielorraso y ductos de ventilación basado en placas de silicato cálcico y mortero ignífugo con base de vermiculita.



*Fig. 12.14:* A la izquierda, instalación de placas de silicato cálcico. A la derecha, aplicación de mortero para el refuerzo de estructuras de acero.

A su vez, todas las puertas de las áreas adyacentes al sector de incendio serán del tipo cortafuegos para evitar la propagación de las llamas y permitir la evacuación segura del personal.



*Fig. 12.15:* Distintos tipos de puertas cortafuego.

El plan de evacuación en caso de incendios busca dirigir al personal distribuido en las diferentes áreas de la planta lo más directamente posible al sector de incendio, a fin de brindar un camino seguro y directo hasta la salida del edificio. La única excepción a este procedimiento, es que el personal se encuentre en un sector de la planta donde exista una salida directa hacia el exterior, en búsqueda de minimizar el tiempo de exposición a una situación potencialmente peligrosa.

La evacuación comienza al sonar las sirenas de seguridad, dispuestas tanto interior como exteriormente, ante el accionamiento manual de un miembro del personal. Simultáneamente a la evacuación, el personal de seguridad da aviso a la brigada de bomberos y servicio de emergencias más próximos a la planta.



*Fig. 12.16:* A la izquierda, botón accionador de sirena. A la derecha, sirena de incendio.

Una vez que el personal sale del edificio, se dirige hacia el punto de encuentro en común, a la izquierda de la garita de seguridad y del lado exterior de los muros que delimitan el predio de la planta. Por último, se realiza un conteo para asegurar que todo el personal ha logrado salir del edificio y se encuentre a salvo.

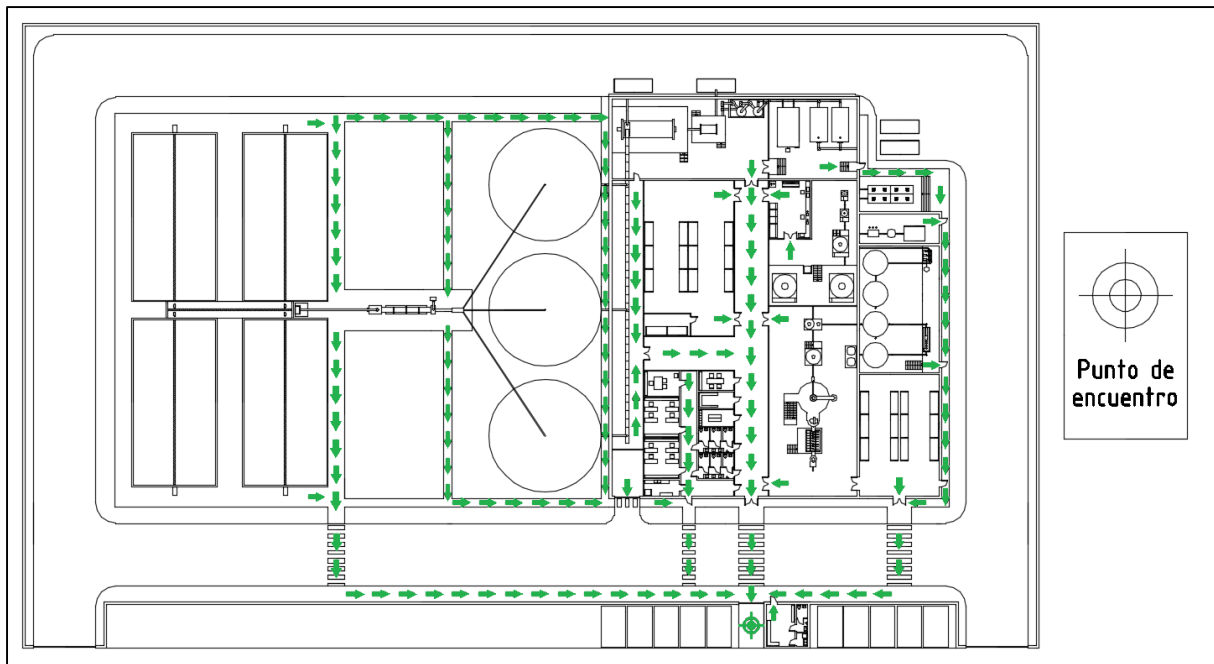


Fig. 12.17: Plan de evacuación del predio de la planta.

### 12.3. Elementos de protección personal

En base a la ley de seguridad e higiene en el trabajo, N° 19.587, Decreto 351/79, Anexo I, se establecen los elementos de protección personal a ser entregados. La necesidad de protección personal implica que los riesgos no han sido eliminados, ni controlados. Cuando es posible, es preferible el control de ingeniería de los riesgos, en lugar del equipo de protección personal. Siempre quedarán algunos riesgos, pero nuestro objetivo es eliminar los que sean irrazonables, no todos. El trabajo de aumentar la seguridad y mejorar la salud en el trabajo nunca estará terminado, así que debemos ocuparnos de la necesidad de proveer protección personal contra riesgos que no hayan sido eliminados por completo, así como los primeros auxilios cuando ocurre un accidente.

#### 12.3.1. Protección auditiva

El factor más importante en la selección del protector de oídos es su capacidad de reducir el nivel de decibeles de exposición. Sin embargo, no es el único factor importante, y la selección puede ser complicada. La comodidad del empleado, así como el grado de protección recibido son factores de tanta importancia como la economía. Entre las distintas clases de protección auditivas, encontramos:

- **Tapones endoauriculares.** Entre los más económicos encontramos los tapones de silicona, plástico o espuma. Son prácticos en el sentido de que son de fácil limpieza y reutilizables. La

atenuación del ruido con tapones bien ajustados es muy buena, y se ubican entre las más eficaces orejeras auditivas.

- **Orejeras acústicas.** Las orejeras son más grandes, más costosas y notorias que los tapones, pero tienen propiedades de atenuación considerablemente mejores. La capacidad de atenuación depende del diseño, que en las orejeras es más variable.

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe el ingreso de todo personal por fuera del sector administrativo de la planta, o que desempeñen tareas que involucren permanecer en las proximidades de un equipo industrial sin el uso del adecuado equipo de protección auditivo



Fig. 12.18: A la izquierda, tapones endoauriculares. A la derecha, orejeras acústicas.

#### **12.3.2. Protección de ojos y rostros**

Puede ser un error muy grave exigir lentes de seguridad en aquellas áreas de la planta donde no hay riesgo para los ojos, como sería no pedirlos en las áreas donde son necesarios. El peligro es que los trabajadores no respeten la política de los lentes de seguridad y su uso no será uniforme. En consecuencia, puede haber lesiones oculares además de infracciones a las normas de seguridad de la empresa. Se conceden casi universalmente que operar maquinas que producen partículas y chispas necesitan protección ocular. Los líquidos corrosivos y otros productos químicos peligrosos también representan riesgos si se vierte o manipula. Además de la protección ocular, es importante educar a los trabajadores para que estén alertas a los riesgos oculares y a las consecuencias a largo plazo de las lesiones en los ojos. Entre las distintas clases de protectores oculares, encontramos:

- **Gafas.** Son el elemento de protección ocular más utilizado ante salpicaduras y partículas. Existen una gran variedad de policarbonatos que brindan protección ante los distintos riesgos en la industria (luz solar, UV, soldadura, etc.). Aseguran un campo visual de 180° y una cobertura total sobre los ojos.
- **Antiparras.** Poseen un diseño envolvente que impiden el ingreso de aire. Se las utiliza cuando un agente químico con peligro ocular potencial se encuentra disperso en el aire (vapores, nieblas o partículas muy finas).

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe el ingreso de todo personal por fuera del sector administrativo de la planta, que desempeñen tareas que involucren permanecer en las proximidades de un equipo industrial, o la manipulación de sustancias peligrosas sin el uso del adecuado equipo de protección ocular.



*Fig. 12.19: A la izquierda, gafas protectoras. A la derecha, antiparras protectoras.*

#### **12.3.3. Protección respiratoria**

La principal protección respiratorio son los dispositivos purificadores de aire. Los mismos, tienen la ventaja de ser baratos, poco complicados de usar y la mejor alternativa, si son capaces de manejar el agente contaminante al que el usuario estará expuesto. Entre las distintas clases de purificadores de aire, encontramos:

- **Máscara para polvo.** Es el respirador más popular de todos. Se destina solo a las partículas (sólidos suspendidos), la máscara de polvo no está aprobada para la mayor parte de los riesgos de pintura y soldadura. Algunas máscaras de polvo están aprobadas para venenos sistémicos

leves, pero por lo general están limitadas a polvos irritantes. Existen en formatos de cuarto, media y máscara completa.

- **Máscara para gas.** La máscara para gas está diseñada para cartuchos de filtro. El cartucho esta conectados directamente a la máscara para impedir la entrada de agente tóxicos específicos en el aire.

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe el ingreso de todo personal al sector de downstream, la sala de biorreactores y la realización de toda tarea con riesgo potencial respiratorio sin el uso del equipo de protección respiratoria adecuado.



*Fig. 12.20:* A la izquierda, máscara para polvo. A la derecha, máscara para gases tóxicos.

#### **12.3.4. Protección de la cabeza**

El principal objetivo del casco de seguridad es proteger la cabeza de quien lo usa de peligros y golpes mecánicos. Las lesiones en la cabeza son bastante comunes en la industria y suponen entre el 3 al 6% de todas las lesiones laborales en los países industrializados, suelen ser graves y causan por término medio la pérdida de unas tres semanas de trabajo. Para reducir las consecuencias destructivas de los golpes en la cabeza, el casco debe:

- Limitar la presión aplicada al cráneo distribuyendo la carga sobre la mayor superficie posible. Esto se logra dotándolos de un arnés lo suficientemente grande para que pueda adaptarse bien

a las distintas formas del cráneo, combinando un armazón duro de resistencia suficiente para evitar que la cabeza entre en contacto directo con objetos que caigan accidentalmente o contra los que golpee el usuario. Por lo tanto, el armazón debe resistir la deformación y la perforación.

- Desviar los objetos que caigan por medio de una forma adecuadamente lisa y redondeada. Los cascos con rebordes salientes tienden a atraer los objetos que caen en lugar de desviarlos y, por lo tanto, absorben algo más de energía cinética que los totalmente lisos.
- Disipar y dispersar la posible energía que se les transmita de modo que ni pase en su totalidad a la cabeza y el cuello. Esto se logra por medio de un arnés, que debe estar bien sujeto al armazón duro y absorber los golpes sin desprenderse de él. También debe ser lo suficientemente flexible para deformarse por efecto del impacto sin tocar la superficie interior del armazón.

Es aconsejable que se utilicen cascos que cumplan con las recomendaciones de la norma ISO 3873 (o equivalente). En cualquier caso, los cascos deben cumplir los siguientes requisitos:

- Un buen casco de seguridad para uso general debe tener un armazón exterior fuerte, resistente a la deformación y la perforación (si es de plástico, debe tener al menos 2 mm de grosor), un arnés sujeto de manera que deje una separación de 40 a 50 mm entre su parte superior y el armazón, y una banda de cabeza ajustable sujeta al revestimiento interior que garantice una adaptación firme y estable.
- La mejor protección frente a la perforación la proporcionan los cascos de materiales termoplásticos (policarbonatos, ABS, polietileno y policarbonato con fibra de vidrio), provistos de buen arnés. Los cascos de aleaciones metálicas ligeras no resisten bien la perforación por objetos agudos o de bordes afilados.
- No deben utilizarse cascos con salientes interiores, ya que pueden provocar lesiones graves en caso de golpe lateral. Deben estar provistos de un relleno protector lateral que no sea inflamable ni se funda por calor. Para este fin, sirve un acolchado de espuma rígida y resistente a la llama de 10 a 15 mm de espesor y al menos 4 cm de anchura.

- Los cascos fabricados con polietileno, polipropileno o ABS tienden a perder resistencia mecánica por efecto del calor, el frío y la exposición al sol fuerte o a fuentes intensas de radiación UV. Si este tipo de cascos se utilizan con regularidad al aire libre o cerca de fuentes UV, como las estaciones de soldadura, deben sustituirse al menos una vez cada 3 años. En estas condiciones conviene utilizar cascos de policarbonato, poliéster o policarbonato con fibra de vidrio, ya que resisten mejor el paso del tiempo.
- Deben desecharse el casco si ha sufrido un golpe fuerte, aunque no presente signos visibles de haber sufrido daños.

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe el ingreso de todo personal a los sectores de procesamiento, downstream, almacenamiento, o que desempeñen tareas donde existan cargas por encima de la altura personal sin el uso del adecuado equipo de protección para la cabeza.



*Fig. 12.21: Cascos protectores con arnés sujetador.*

#### **12.3.5. Calzado de seguridad**

Las lesiones de pies y piernas son comunes en muchas industrias. La caída de un objeto pesado puede lesionar el pie, en particular los dedos. Las quemaduras de las extremidades inferiores por metal fundido, chispas o compuestos químicos corrosivos son frecuentes. Los compuestos ácidos o alcalinos y muchos otros agentes pueden causar dermatitis o eccema. Además, los pies pueden lesionarse al golpear contra algún objeto o al pisar en salientes afilados. En ocasiones bastan con unos zapatos protectores o unos zuecos, y en otros casos hay que usar botas o polainas. La altura del calzado, hasta el tobillo, la rodilla o el muslo, depende del peligro, pero también debe tenerse en cuenta la comodidad y la movilidad.



Los zapatos y las botas de protección pueden ser de cuero, caucho, caucho sintético o plástico y pueden estar cosidos, vulcanizados o moldeados. Como los dedos de los pies son las partes más expuestas a las lesiones por impacto, una puntera metálica es un elemento esencial en todo calzado de seguridad cuando haya tal peligro. Para mejorar la comodidad, la puntera puede ser razonablemente delgada y ligera, y por ello suele fabricarse en acero rápido al carbono. Para evitar riesgos de resbalamiento se usan suelas externas de caucho o sintéticas en diversos dibujos, esta medida es particularmente importante cuando se trabaja en pisos que pueden mojarse o volverse resbaladizos. Cuando hay un peligro de descargas eléctricas, el calzado debe estar íntegramente cosido o pegado o bien vulcanizado directamente y sin ninguna clase de clavos ni elementos de unión conductores de la electricidad.

Las botas de caucho sintético protegen bien frente a las lesiones de origen químico. El material no debe sufrir una reducción superior al 10% en la resistencia a la tensión o el alargamiento después de estar sumergido durante 48 horas a temperatura ambiente en una solución de ácido clorhídrico al 20%. En medios donde las quemaduras causadas por metales fundidos o productos químicos constituyan un peligro destacado, es importante que los zapatos o botas no tengan lengüeta y que los cordones salgan por la parte superior y no se enganchen por dentro.

Las polainas y espinilleras de caucho o metálicas sirven para proteger la pierna por encima de la línea del calzado, en especial frente al riesgo de quemaduras. A veces hay que utilizar rodilleras, sobre todo cuando el trabajo obliga a arrodillarse. Cerca de fuentes de calor intenso hay que utilizar zapatos, botas o polainas protectoras aluminizadas.

Todo calzado protector debe mantenerse limpio y seco cuando no se usa y debe sustituirse tan pronto como sea necesario. Cuando varias personas comparten las mismas botas de caucho hay que organizar la desinfección sistemática entre usos para evitar la transmisión de infecciones en los pies. El uso de botas o zapatos excesivamente apretados o pesados favorece la aparición de micosis en los pies. La comodidad es una cualidad irrenunciable, y el calzado debe ser todo lo ligero que permita su utilidad. Deben evitarse los zapatos que pesen más de 2 kilogramos el par.

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe el ingreso de todo personal por fuera del sector administrativo de la planta sin el uso de zapatos de seguridad. En el caso que el personal que desempeñe tareas dentro de laboratorio, se exigirá el uso obligatorio de botas de caucho sintético.



Fig. 12.22: A la izquierda, zapatos de seguridad. A la derecha, botas de seguridad.

### 12.3.6. Ropa protectora y riesgos cutáneos

Las enfermedades cutáneas, especialmente la dermatitis por contacto con irritantes, representan un porcentaje considerable de todas las enfermedades laborales registradas. Entre las fuentes de riesgos cutáneos encontramos, la soldadura, los productos químicos especiales, los depósitos de superficie abierta, los lubricantes para corte y los solventes.

#### 12.3.6.1. Guantes

Los accidentes en las manos son frecuentes. Sobre el total de accidentes que ocurren en las obras, el 25% sucede en las manos. Hay dos clases de peligros para las manos, los peligros mecánicos y los peligros de contacto.

- **Peligro mecánico.** Es el que puede herir las manos por causa de movimiento. Máquinas, herramientas, aparatos, transportadores, como también objetos afilados o pesados, suelen constituir peligros mecánicos.
- **Peligros de contacto.** Con frecuencia los peligros de contacto no aparecen a simple vista. Esto son contactos de tipo térmico, eléctrico, biológicos y químicos.

Los guantes son la protección usual contra peligros de contacto. Existen una gran variedad de tipos y estilos. La protección depende de que el trabajador utilice los guantes apropiados en cada trabajo.

- Los guantes de goma, neopreno o vinilo protegen de los agentes químicos, aunque para manipular ciertas sustancias se requieren materiales distintos. No hay un tipo de guante que lo proteja de todos los elementos químicos.
- Los guantes para electricistas deben estar calibrados para la tensión con la que se trabaja y no deben tener pinchaduras ni rasgaduras.
- Los guantes resistentes al calor deben ser de materiales sin asbesto.
- No todos los guantes de goma lo protegen de la electricidad. Usar guantes no apropiados o dañados puede ser peor que no usarlos.
- Los guantes tienen que proteger manos y brazos expuestos al peligro, quedar a medida y estar en buen estado, sin agujeros, roturas o grietas.

POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se prohíbe al personal la realización de cualquier labor, por fuera de las administrativas, sin el uso de guantes apropiados y en buen estado para la tarea en cuestión.



*Fig. 12.23: Distintos tipos de guantes de protección industrial.*

**12.3.6.2. Ropa protectora**

La ropa de protección puede ser de materiales naturales (algodón, lana y cuero), sintéticos (nylon) o distintos polímeros (plásticos y cauchos, como el butilo, el cloruro de polivinilo o el polietileno de cloro). Los materiales tejidos, cosidos o con poros no deben utilizarse en situaciones que exigen

protección frente a líquidos o gases. Los tejidos y materiales porosos tratados o incombustibles por su naturaleza se utilizan habitualmente en la protección frente a llamaradas y arco eléctrico, aunque no protegen frente a las temperaturas elevadas.

La configuración de la ropa protectora varía mucho en función del uso que vaya destinada. No obstante, los elementos normales son casi siempre similares a las prendas de uso común (pantalones, chaqueta, capucha, batas). Hay prendas de protección química de una sola pieza totalmente cerrada (a prueba de gases) con guantes y botas incorporados o formada por varias piezas. Entre los tejidos utilizados habitualmente como soporte están el nylon, el poliéster y la fibra de vidrio. Estos sustratos se recubren o laminan con polímeros, como el cloruro de polivinilo (PVC), el teflón, el poliuretano y el polietileno.

#### POLITICA DE SEGURIDAD E HIGIENE:

Se exige a los operarios la utilización de mameluco para la realización de sus tareas. Se dispondrán de mamelucos de algodón y mamelucos térmicos de nylon con aislación de poliéster para la temporada invernal. Por otro lado, los analistas deberán usar guardapolvo para llevar a cabo las tareas de laboratorio y overol con capucha y material de polietileno de alta densidad previo el ingreso a la sala de biorreactores.



*Fig. 12.24:* A la izquierda, mameluco de algodón. A la derecha, mameluco de polietileno con capucha.

## 12.4. Sistemas de extracción localizada

Estos sistemas cumplen la función de asegurar las condiciones de habitabilidad de los ambientes de trabajo, de manera de reducir los riesgos aparejados a un agente tóxico o perjudicial, en mayor o menor medida, sobre las personas en dicho sector. Entre las partes más importantes que lo componen encontramos:

- **Campanas.** Estructuras metálicas diseñadas para encerrar total o parcialmente una operación generadora de un contaminante. Su instalación no es adecuada si el contaminante no puede ser captado y arrastrado dentro de la campana.
- **Conductos.** Medios en que se traslada el aire contaminado desde la campana al punto en que se encuentra el separador y la descarga.
- **Separador.** Dispositivos donde se separa el aire del contaminante, para que el aire purificado pueda ser devuelto a la atmosfera.
- **Ventilador.** Dispositivo que suministra la energía al sistema para el movimiento del aire en el interior del mismo. Siempre que sea posible, debe ir instalado después del separador. Puede ser de 2 tipos, centrífugos o axiales.

Entre los tipos de campana seleccionados, según su aplicación, encontramos:

- **Campanas de techo.** Es el más popular, está situada por encima del lugar de trabajo, nos e utiliza cuando el contaminante es tóxico. Se los dispone en los sectores de procesamiento, downstream y almacenamiento de la planta.
- **Campanas extractoras alargadas.** Es una campana de rendija lateral, en la cual el aire que penetra en la misma circula por encima de donde se está trabajando de forma horizontal. Se las dispone en oficinas, baños, pasillos de circulación y otros recintos cerrados de uso común.
- **Cabinas.** La operación se realiza dentro de la campana. El aire circula en forma horizontal en lugar de vertical. Se dispone de una en el laboratorio para los ensayos con reactivos volátiles.



Fig. 12.25: A la izquierda, campanas extractoras para techos. A la derecha, cabina de laboratorio.

Según la tarea desarrollar o las características de dispersión del contaminante, se deberá tener la adecuada velocidad de captura, como se muestra en la Tabla 12.18.

Condiciones de dispersión del contaminante	Ejemplos	Velocidad de captura (m/seg)
Liberación con velocidad prácticamente nula en aire quieto	Evaporación, desengrase	0,25 a 0,50
Liberación a baja velocidad en aire en movimiento moderado	Soldadura, baños electrolíticos	0,50 a 1,00
Generación activa en una zona de rápido movimiento de aire	Aplicación de pinturas	1,00 a 2,50
Liberación con alta velocidad inicial en una zona de movimiento de aire muy rápido	Pulido, operaciones de abrasión	2,50 a 10,00

Tabla 12.18: Velocidad de captura de aire, según la dispersión del contaminante.

### 12.5. Construcción sismoresistente

Según el Instituto Nacional de Prevención Sísmica (INPRES), nuestra empresa, localizada en el departamento de San Martín de la provincia de Mendoza, pertenece a una zona de peligrosidad sísmica elevada (nivel 3).

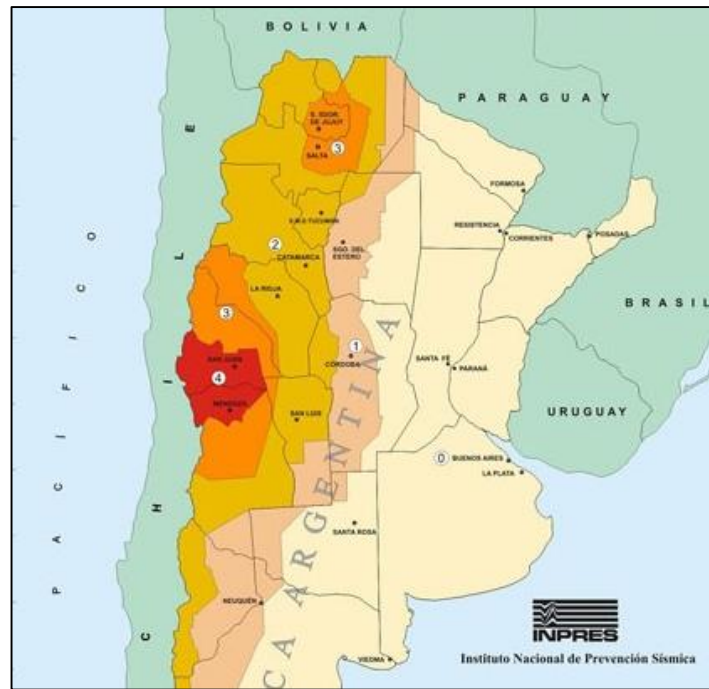


Fig. 12.26: Zonificación sísmica de la Argentina.

Por lo tanto, se deberán tomar medidas especiales para la construcción de las estructuras de hormigón, los materiales de construcción y las fundaciones necesarias para el emplazamiento de la planta productiva, con el propósito de evitar el colapso total o parcial de la edificación o la pérdida de vidas.

Dichas medidas constructivas, junto con la metodología de cálculo correspondiente se especifican en el “Reglamento Argentino para Construcciones Sismoresistentes”, Reglamento INPRES-CIRSOC 103 del Ministerio de Planificación Federal, Inversión Pública y Servicios. Se deberá cumplir con los requisitos de:

- Materiales (Hormigón y acero).
- Diseño de vigas.
- Diseño de columnas.
- Diseño de nudos vigas-columnas.
- Diseño de tabiques.
- Diseño de pórticos.
- Fundaciones (Pilotes y cabezales).





## **13. Evaluación de impacto ambiental**

La evaluación de impacto ambiental tiene como objetivo conocer las condiciones ambientales que interactúan con nuestro asentamiento, a fin de proteger los recursos naturales, la salud humana y la ecología. Para ello, se deben considerar las actividades desarrolladas por la planta de proceso que manifiestan mayor relevancia en forma de impactos ambientales. Los objetivos específicos son:

- Identificar, prevenir y valorar los impactos ambientales durante la construcción y período de funcionamiento de la planta.
- Identificar las medidas en relación a los impactos detectados, luego mitigar aquellos negativos y resaltar los positivos.
- Proponer alternativas al proyecto que permitan revertir y/o corregir posibles procesos de deterioro ambiental.

### **13.1. Etapas del proyecto**

Los impactos ambientales se pueden generar en cualquier fase del ciclo de vida del proyecto, por lo tanto, la caracterización del mismo dentro de la evaluación de impacto ambiental debe cubrir cada una de las etapas. El estudio de impacto ambiental debe ser dividido en 3 etapas principales:

1. Etapa de construcción.
2. Etapa de operación.
3. Etapa de cierre.

#### **13.1.1. Etapa de construcción**

Es la primera etapa del proyecto. La misma hace referencia a la construcción edilicia de la planta, silos de almacenaje, caminos internos y vías de acceso al predio. Durante la etapa de construcción se generan residuos sólidos similares a los domiciliarios, efluentes líquidos debido a la normal actividad humana, y gaseosos compuestos por material particulado. También se producen residuos de materiales de construcción, ya que sea de forma sólida o líquida que contengan restos de esos materiales.




Principales Residuos de la Construcción		
Inertes- Pétreos	No peligrosos	Peligrosos
		
<b>Escombros limpio</b> - Ladrillos - Azulejos - Hormigón endurecido	<b>Metal</b> - Armaduras de acero y restos de estructuras metálicas - Perfiles para montar cartón y yeso <b>Madera</b> - Restos de corte - Pallets <b>Papel y cartón</b> - Sacos de cemento, arena, yeso y cal - Cajas de cartón <b>Plástico</b> - Lonas y cintas de protección - Conductos y canalizaciones <b>Vidrio</b>	<b>Envases y restos de:</b> - Aceites, lubricantes, líquidos de freno, combustibles - Adhesivos - Aerosoles y agentes espumantes - Disolventes y detergentes - Pintura y barnices - Silicona y otros productos de sellado - Tubos fluorescentes - Pilas y baterías - Materiales de aislamiento - Trapos, brochas y otros utensillos contaminados con productos peligrosos

Fig. 13.1: Principales residuos producidos durante la construcción de la planta.

Dentro de esta etapa, las acciones susceptibles de producir impacto que se consideran son:

- Condicionamiento del terreno (nivelación, relleno, cercado).
- Excavaciones y movimiento de tierras.
- Fundaciones.
- Levantamiento de estructuras y vías de acceso.
- Mantenimiento de maquinaria.
- Movimiento vehicular y de la maquinaria.
- Contratación de personal.

### 13.1.2. Etapa de operación

Es la etapa siguiente a la etapa anterior. La misma considera el momento en que la planta está en pleno funcionamiento. Las acciones susceptibles de producir impacto que consideraremos serán tomadas teniendo en cuenta el proceso principal y las actividades complementarias al mismo.

#### 13.1.2.1. Proceso principal

El proceso que la planta lleva a cabo para la elaboración del producto se divide en 3 partes, con sus respectivas subetapas.

Upstream	Biorreactor	Downstream
Secado a la intemperie	Incubación	Centrifugado
Secado forzado	Escalado	Formulación
Almacenamiento	Fermentación industrial	Secado spray
Maceración		Estandarización
Tamizado		Embolsado
Evaporación		

*Tabla 13.1:* Etapas y subetapas del proceso de producción.

Los residuos sólidos generados durante el proceso productivo se dividen en:

- **Residuos sólidos asimilables a urbanos no recuperables (RSAU no recuperables).** Estos residuos corresponden básicamente a los restos de materia orgánica. En nuestro proceso corresponde principalmente al orujo exhausto saliente del proceso de maceración.
- **Residuos sólidos asimilables a urbanos recuperables (RSAU recuperables).** Estos residuos corresponden a los restos de papel, cartón y vidrio.

En cuanto a los efluentes líquidos, el proceso sólo genera un clarificado, producto de la centrifuga de discos al momento de la separación sólido-líquido del caldo de fermentación saliente del biorreactor industrial. Pero el proyecto, al buscar el uso responsable del recurso hídrico debido a su escases en la zona de emplazamiento (Mendoza), tratara esta corriente saliente en una planta compacta purificadora de agua para su reaprovechamiento, y así evitar o minimizar la generación de efluentes líquidos.

Por último, consideraremos las emisiones gaseosas. Las posibles emisiones gaseosas debido al funcionamiento normal de la planta, serán aquellas producidas por los equipos con quemadores de gas natural, tales como, el secador de tambor rotatorio, el secador spray y la caldera de vapor.

En consecuencia, teniendo en cuenta las consideraciones mencionadas previamente, las actividades susceptibles de producir un impacto son:

- Secado forzado.
- Maceración.
- Evaporación.
- Secado spray.

### 13.1.2.2. Actividades complementarias

Con actividades complementarias nos referimos a aquellas que se realizan antes del proceso, paralelamente y luego de él, tales como:

- Recepción y transporte de materia prima e insumos.
- Almacenamiento de materia prima e insumos.
- Limpieza y mantenimiento de la planta, tanques de almacenamiento y biorreactores.
- Transporte de producto terminado.
- Mantenimiento de equipos auxiliares (bombas, compresores, caldera, etc.).
- Tratamiento de efluentes.
- Actividades de laboratorio.

Los residuos sólidos generados por las actividades complementarias son:

- **Residuos sólidos asimilables a urbanos recuperables (RSAU recuperables).** Compuestos principalmente por restos de papel, cartón y vidrio.
- **Residuos sólidos asimilables a urbanos no recuperables (RSAU no recuperables).** Sólo se contemplan restos de comida producidos por el personal de la planta.
- **Residuos peligrosos.** Trapos impregnados de solventes, pinturas, tintas y aceites lubricantes, entre otros.

En cuanto a los efluentes líquidos, encontramos:

- **Descartes de productos químicos.** Provenientes de las actividades de laboratorio.
- **Aceites lubricantes.** Para el mantenimiento de maquinaria y equipos.
- **Agua de lavado.** Para la limpieza de planta, tanques de almacenamiento y biorreactores.
- **Efluentes sanitarios.** Producto de la actividad humana del personal.

Por último, en lo que respecta a emisiones gaseosas sobre las actividades complementarias, tenemos los gases de combustión producto de los vehículos utilizados en el transporte de materias primas, insumos y producto terminado.

En consecuencia, teniendo en cuenta las consideraciones mencionadas previamente, las actividades susceptibles de producir un impacto son:

- Transporte de materia prima e insumos.
- Transporte de productos terminados.
- Almacenamiento de los insumos, aceites lubricantes, etc.
- Mantenimiento de maquinaria y equipos.
- Limpieza de tanques y biorreactores.
- Mantenimiento de planta.
- Actividades de laboratorio.

### **13.1.3. Etapa de cierre**

Será la última etapa a llevarse a cabo por el proyecto en caso de que por algún motivo no pueda seguir con el funcionamiento del mismo. Si bien es claro que no está proyectado el cierre, es necesario considerarlo en caso de que se produzca. Durante la etapa de cierre de la planta se generarán residuos sólidos asimilables a domiciliarios, efluentes líquidos debido a la actividad humana normal y gaseosos, compuestos por material particulado. También se podrán producir residuos de materiales de construcción, ya sea en forma sólida como líquidos que contengan restos de estos materiales.

Las actividades susceptibles de producir un impacto en este caso son:

- Desmantelamiento de las instalaciones.
- Maquinaria y servicios utilizados.

## **13.2. Entorno medio ambiental**

Las características del ambiente son fundamental para el análisis de los impactos ambientales resultantes del proyecto. Recordando que la planta será emplazada en el parque industrial de servicios e industria de Palmira (PASIP), departamento de San Martín al noreste de la provincia de Mendoza, haremos una breve descripción del entorno ambiental del lugar en cuestión, basándonos en el proyecto “Inventario de recursos para la planificación y gestión de la región andina Argentina” (E. Abraham y F. Martínez, Universidades y centros de investigación de la región andina de Argentina en colaboración con la universidad de Granada, Argentina, 2000).

### **13.2.1. Geomorfología**

El departamento de San Martín se encuentra en una llanura con suave pendiente hacia el este. La llanura está conformada por una cuenca sedimentaria rellena con mantos acarreados por el viento y el agua durante el período terciario y el cuaternario. De los 150.830 km<sup>2</sup> que ocupa la provincia de Mendoza, el 50% corresponden a llanuras donde se desarrollan los grandes reservorios de agua subterránea. Todos los ríos y arroyos, al salir de la zona montañosa ingresan a las zonas de llanuras e infiltran de agua el subsuelo, constituyendo la principal vía de recarga de los reservorios subterráneos.

### **13.2.2. Clima**

Los aspectos climáticos se encuentran bien diferenciados en las zonas llanas del este, las altas cumbres de sus cordones montañosos del oeste, las zonas desérticas y medanosas del noreste. El ambiente es árido y semiárido, con las características de un bolsón desarrollado, cuyas temperaturas van desde los 41°C en verano hasta los -7°C en invierno.

Las precipitaciones son escasas en la provincia. Alcanzan valores de 192 milímetros anuales en el este y de 343 milímetros en el sur. La zona de máxima aridez se registra en el noreste, con valores inferiores a los 100 milímetros de precipitación anual. El régimen de lluvias es estival, lo que significa que las mayores precipitaciones se registran en el período noviembre a marzo, con mayor intensidad en la época diciembre a febrero.

El áspero relieve del oeste mendocino, en los cordones montañosos de la cordillera, determina la poca humedad del ambiente. Los vientos del Pacífico, se elevan y pasan los Andes, donde pierden la humedad y atraviesan la cordillera vientos fríos y secos. Sin embargo, en ocasiones se trata de un viento fuerte, cálido y seco, llamado viento zonda, propio de los sitios ubicados a sotavento de las altas montañas. Debido al mismo, en invierno llegan a registrarse temperaturas de hasta 30°C, cuando normalmente la media invernal es de 10°C. Por otro lado, la humedad relativa baja a valores de inusitados, desde 70% a 7%, en tres cuartos de hora. Si el viento zonda logra desalojar el frío irrumpe violentamente, provocando torbellinos a cualquier hora del día.

### **13.2.3. Hidrografía**

Los dos ríos que surcan la zona (el río Mendoza y el Tunuyán) tienen grandes fluctuaciones en su caudal, debido a que corresponden a cauces irregulares. El río Mendoza, que corre de oeste a este, cambia de dirección en esta localidad, de sur a norte, para desembocar en la laguna de Guanacache. Los caudales de los principales ríos se incrementan de norte a sur, debido a las precipitaciones y la

existencia de cuerpos de nieve en la alta cordillera, con valores de 29 m<sup>3</sup>/s para el río Tunuyán y 50 m<sup>3</sup>/s para el río Mendoza.

Las aguas de todos los ríos son aprovechadas con el mayor grado de efectividad posible para la provisión de agua potable, uso industrial, producción de energía eléctrica y para el riego de las áreas de cultivo, debido a que sus caudales disminuyen considerablemente. La evolución de la red de drenaje, con predominio de la actividad fluvial, lacustre y eólica posglacial, han dado lugar a una planicie aluvial con alta modificaciones antrópicas (también conocidas como “oasis”), como el del Mendoza-Tunuyán.

#### 13.2.4. Suelos

Con casi ninguna pendiente, la región de llanura se encuentra entre 400 a 600 metros por sobre el nivel del mar, rellena con capas de sedimentos arenosos, limosos y arcillosos de origen continental correspondientes a al periodo terciario y cuaternario. La misma se constituyó con los productos de degradación y el desagüe natural de los elevados cordones de los Andes y los relieves que la circulan.

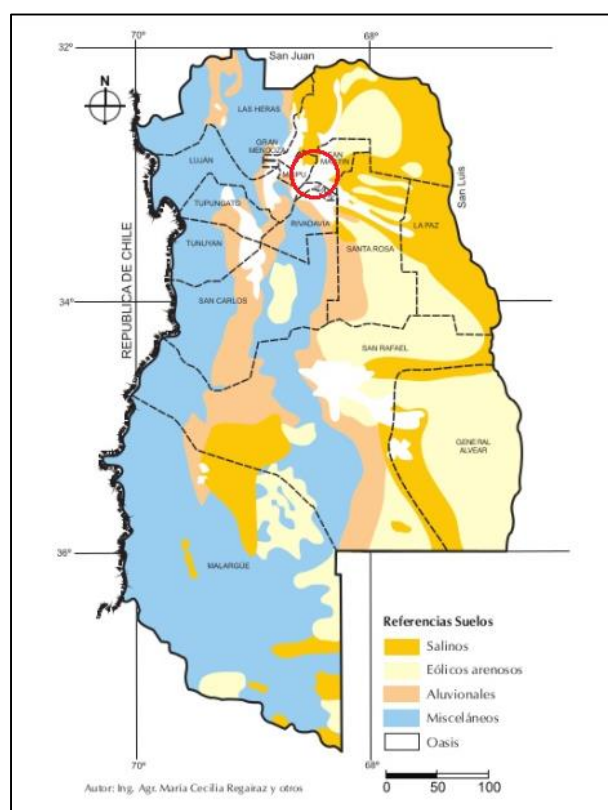


Fig. 13.2: Tipo de suelos en la provincia de Mendoza.

En la región de Cuyo y todo el oeste argentino las ondas sísmicas o sismos, son un fenómeno de recurrencia común. Provocan no sólo un impacto sobre las obras de infraestructura y vivienda sino también la pérdida de vidas humanas. Los eventos de mayor significancia registrados hasta la fecha fueron:

- Mendoza (Argentina, 1861) con una magnitud de 7.
- San Juan (Argentina, 1944) con una magnitud de 7.4.
- Valdivia (Chile, 1960) con una magnitud de 9.5.
- Concepción (Chile, 2010) con una magnitud 8.8.

Sin embargo, los sismos de magnitud 5 son más frecuentes en la región andina argentina, y si bien son percibidos por la población, no suelen causar daños significativos ni pérdidas de vidas.

### **13.2.5. Flora y fauna**

La ubicación geográfica de Mendoza y los marcados contrastes topográficos entre las altas montañas al oeste y las extensas llanuras al este, determinan la existencia de una gran diversidad de ambientes que explica también la diversidad florística que se refleja en la convergencia de los grandes biomas que caracterizan al extremo sur de Sudamérica.

En la zona de llanuras se destacan las estepas arbustivas, representadas fundamentalmente por dos especies, *Larrea divaricata* y *Larrea cuneifolia*. Los bosques, conformados por árboles cuyas copas normalmente no se tocan, están constituidos principalmente por *Prosopis flexuosa*, una leguminosa que puede alcanzar los 8 a 10 metros de alto y sus raíces de fuerte desarrollo vertical alcanzan la capa freática hasta los 20 metros de profundidad. Estos bosques abiertos se extienden ocupando más de 2.000.000 de hectáreas.

El tipo de fauna está muy diversificada según el bioma de la región, pero se reconoce la existencia de diversos tipos de reptiles (como la rana de monte, el sapo andino, la culebra ratonera, la yarará y distintos tipos de lagartos), más de 50 especies de aves (como el cóndor, el halcón colorado, el águila mora, el choique, la lechuzas vizcachera, la martineta y el chimango, entre otros.), y gran variedad de mamíferos (como el puma, el zorro colorado y gris, el guanaco, la comadreja overa y el cuis, entre otros).

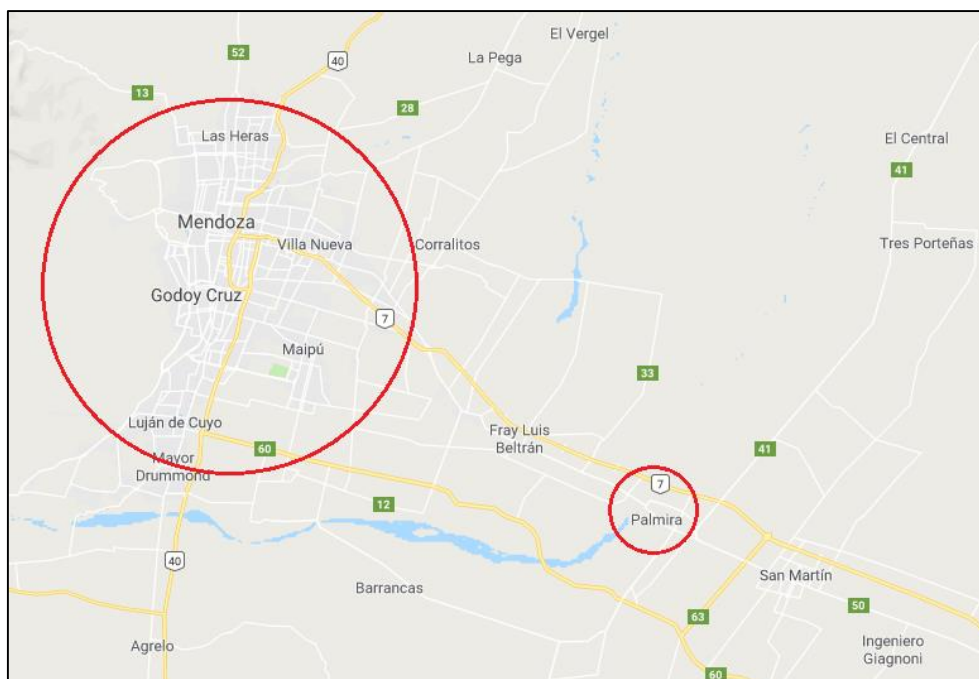


### **13.2.6. Calidad del aire**

Según estudios ambientales realizados sobre el aglomerado urbano del Gran Mendoza por la Dirección de Protección Ambiental de Mendoza, al año 2019, la situación del aire en el área es la siguiente:

- La calidad del aire no ha variado en los últimos 4 años, pese al crecimiento del parque automotor. Según información provenientes de la entidad provincial, esto se debe a que los motores han mejorado la combustión de la nafta.
- La cantidad de ozono perjudicial para la salud presente en la atmosfera se encuentra por debajo de la mitad del límite admisible por la Organización Mundial de la Salud (OMS).
- El material particulado que se encuentra en el ambiente, es menor a  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en directrices de los estipulado por la OMS, y que representa uno de los principales factores de contaminación del aire porque son los que provocan molestias en el ser humano.
- En general la calidad del aire de Mendoza es buena, a pesar de estar en una zona donde la probabilidad de la inversión térmica es alta, es decir, que no deja que desprenda los gases hacia la atmósfera.
- La ocurrencia del viento Zonda, principalmente en los meses de agosto y septiembre, puede desencadenar en la región un viento cálido, seco y sofocante con temperaturas que pueden superar los  $40^\circ\text{C}$ .

Cabe destacar que nuestra planta al encontrarse en el departamento de San Martín (más específicamente a 1 Km de la localidad de Palmira), al estar alejada del aglomerado urbano del Gran Mendoza, la calidad del aire se ve mejorada considerablemente por la baja emisión de gases nocivos provenientes de los vehículos.



*Fig. 13.3:* Localización del aglomerado urbano del Gran Mendoza respecto de la localidad de Palmira.

### 13.2.7. Características socio-económicas

Según los datos estadísticos del Ministerio de Economía, Infraestructura y Economía del Gobierno de Mendoza, al año 2018, haremos un análisis de la situación laboral y salud del departamento de San Martín.

#### 13.2.7.1. Condiciones laborales

En el departamento de San Martín tiene una población de 128.691 habitantes, de los cuales 57.911 son personas mayores de 14 años en una situación económicamente activa, es decir, personas en condiciones de trabajar y que desean hacerlo. De estas, 3.861 son personas desempleadas mayores de 14 años, es decir, población económicamente activa que busca trabajo.

#### 13.2.7.2. Condiciones de salud

En el departamento de San Martín el 63.5% de la población posee cobertura médica, considerándose como cobertura a aquellas personas que poseen PAMI, OSEP, u otra obra social o plan de salud privado. El resto de la población depende del acceso al sistema de salud público. Según el Ministerio de Salud, Desarrollo Social y deportes del Gobierno de Mendoza, funcionan 26 instituciones de salud, entre ellas encontramos:

- 1 Hospital.
- 1 Centro de salud de cabecera.
- 20 Centros de salud.
- 2 Postas sanitarias.
- 2 Centros integradores comunitarios.

### 13.2.8. Factores ambientales importantes

Según el relevamiento hecho, definimos los factores ambientales a analizar en la Tabla 13.2.

Medio físico	Aire	Calidad
		Nivel de ruido
		Vibraciones
	Suelo	Estabilidad
		Erosión
		Compactación
		Propiedades físico-químicas
	Agua	Calidad de agua superficial
Calidad de agua subterránea		
Medio biótico	Flora	Cobertura vegetal y arbolado público
	Fauna	Especies terrestres autóctonas
		Aves
Paisaje		Visual
Medio antrópico	Aspecto laboral	Capacitación y especialización
		Generación de empleo
	Servicios e infraestructura	Vías de transporte y comunicaciones
		Servicios auxiliares del parque industrial
	Aspecto económico	Desarrollo industrial
		Revalorización de al zona
Ingresos en economía local		

*Tabla 13.2:* Principales factores ambientales a tener en cuenta por el proyecto.

### 13.3. Marco legal

La empresa debe ajustarse a los marcos legales nacionales (Argentina) y provincial (Mendoza), en lo que a medio ambiente se refiere.

## 13.3.1. Marco legal nacional

Medio Ambiente				
Marco legal de la República Argentina				
Concepto	Ente	Norma	Título	Contenido
Protección Ambiental	PLN	Ley N° 25.675/02	Ley General del Ambiente	Establece los presupuestos mínimos para el logro de una gestión sustentable y adecuada del ambiente, la preservación y protección de la diversidad biológica y la implementación del desarrollo sustentable.
	PEN	Dec. 2413/02		Da observaciones y promulga la Ley General de Medio Ambiente.
Residuos Sólidos Urbanos	PLN	Ley N° 25.612/02	Gestión Integral de los residuos industriales y de actividades de servicio	Establece los presupuestos mínimos de protección ambiental sobre la gestión integral de residuos de origen industrial y de actividades de servicio.
	PLN	Ley N° 25.916	Gestión Integral de Residuos Domiciliarios	Establece presupuestos mínimos de protección ambiental para la gestión integral de residuos domiciliarios, disposiciones generales, autoridades competentes, generación y disposición inicial, recolección y transporte, tratamiento, transferencia y disposición final, coordinación interjurisdiccional, autoridad de alicación, infracciones y sanciones, disposiciones complementarias.
Efluentes Líquidos	PLN	Ley N° 25.688	Régimen de Gestión Ambiental de Aguas	Esta ley establece los presupuestos mínimos ambientales, para la preservación de las aguas, su aprovechamiento y uso racional.
	PEN	Dec. 674/89	Recursos Hídricos	Régimen al que se ajustarán los establecimientos industriales y/o especiales que produzcan en forma continua o discontinua vertidos industriales o barros originados por la depuración de aquéllos a conductos cloacales, pluviales o a un curso de agua.
Efluentes Gaseosos	PLN	Ley N° 20.284/73	Plan de Prevención de Condiciones Críticas de Contaminación Atmosférica	Establece las normas para la preservación de los recursos del aire, fija parámetros de calidad del aire, crea el registro catastral de fuentes contaminantes.
Residuos Peligrosos	PLN	Ley N° 24.051	Ley de Generación de Residuos Peligrosos	Generación, manipulación, transporte, tratamiento y disposición final. Fija límites máximos de emisión vertido de contaminantes.
Suelos	PEN	Ley N° 22.428	Fomento de la Conservación de Suelos	Régimen legal para el fomento de la acción privada y pública de la conservación de los suelos.
Higiene y Seguridad	PLN	Código Civil - Art. 2618		Modificado por la Ley N° 17.711, dispone que las molestias que ocasionen el humo, calor, olores, luminosidad, ruido, vibraciones y daños similares por ejercicio de actividades en inmuebles vecinos no deben exceder la tolerancia normal teniendo en cuenta las condiciones del lugar y aunque medien autorizaciones para aquellas.
	PLN	Ley N° 19.587/72	Ley de Higiene y Seguridad del Trabajo	Esta ley determina las condiciones de Higiene y Seguridad en el Trabajo que debe cumplir cualquier actividad laboral que se desarrolle en el territorio de la República Argentina. Entre ellas, provisión de agua potable, control de carga térmica, contaminantes químicos en ambiente de trabajo, y características constructivas del establecimiento.
	PLN	Dec. 351/79 y 1338/96		Reglamentación de la Ley de Higiene y Seguridad del Trabajo.
Flora y Fauna	PLN	Ley N° 26.331	Ley de Bosques Nativos	Establece los presupuestos mínimos de protección ambiental para el enriquecimiento, la restauración, conservación, aprovechamiento y manejo sostenible de los bosques nativos.

Tabla 13.3: Leyes y decretos ambientales de alcance nacional.

### 13.3.2. Marco legal provincial

Medio Ambiente				
Marco legal de la provincia de Mendoza				
Concepto	Ente	Norma	Título	Contenido
Residuos Sólidos Urbanos	PLN	Ley N° 5970	Ley de Residuos Urbanos	Dispone la erradicación por parte de los municipios de todos los basurales a cielo abierto y los microbasurales en terrenos baldíos que se encuentren dentro de sus límites.
	PLN	Dec. 1692/13	Ley de Gestión y Tratamiento de Residuos Sólidos Urbanos	Se aplica a la generación, transporte, tratamiento, eliminación y disposición transitoria o final de residuos sólidos domiciliarios.
Residuos y Sustancias Peligrosos	PLN	Ley N° 5917 - Dec. 2625/99	Adhesión a la Ley Nacional N° 24.051 y sus Anexos	Establece su adhesión a la Ley Nacional N° 24.051 de Residuos Peligrosos.
Efluentes Líquidos	PLN	Ley General de Aguas		Ley General de Aguas del año 1884, que establece los principales aspectos de la gestión de los recursos hídricos de Mendoza.
	PLN	Dec. 778/96	Reglamento General para la Contaminación Hídrica	Establece normas para vertidos de líquidos a cuerpos receptores, actividades potencialmente contaminadoras, tramite de otorgamiento de permiso, procedimiento de fiscalización y sanciones.
	PLN	Dec. 19/90	Registro Único de establecimientos que Vuelcan Efluentes a Colectoras	Condiciones de admisibilidad de los efluentes industriales.
	PLN	Ley N° 4035 - Dec. 1839/74	Ley de Aguas Subterráneas	Establece el régimen de aguas subterráneas en el ámbito provincial.
Efluentes Gaseosos	PLN	Ley N° 5100 - Dec. 2404/90	Preservación de los Recursos del Aire	Establece su adhesión a la Ley Nacional N° 20.284 de Plan de Prevención de Condiciones Críticas de Contaminación Atmosférica.
	PLN	Ley N° 6082 - Dec. 687/94	Ley de Reglamento del Transito y Transporte	Regula las emisiones contaminantes de fuentes móviles.
Suelos	PLN	Ley N° 8051/09	Ley de Ordenamiento Territorial y Usos del Suelo	Establece el ordenamiento territorial como procedimiento político-administrativo, utilizando la planificación como instrumento básico para conciliar el proceso de desarrollo económico, social y ambiental en formas equilibradas y eficientes de ocupación territorial.
	PLN	Ley N° 4597 - Dec. 155/82	Adhesión a la Ley Nacional de Conservación de Suelos	Establece su adhesión a la Ley Nacional N° 22.428 de Fomento de la Conservación de Suelos.
Higiene y Seguridad	PLN		Adhesión a la Ley Nacional N° 19.587	Establece su adhesión a la Ley Nacional N° 19.587 de Ley de Higiene y Seguridad en el Trabajo.
Flora y Fauna	PLN	Ley N° 8195	Adhesión a la Ley de Bosques Nativos	Establece su adhesión a la Ley Nacional N° 26.331 de Ley de Bosques Nativos.
Impacto Ambiental	PLN	Ley N° 5961 - Dec. 2109/94	Preservación, conservación, defensa y mejoramiento del ambiente	Todos los proyectos de obras o actividades comprendidas en el Anexo I quedan sometidas al proceso de Evaluación de Impacto Ambiental por la autoridad provincial, debiendo adecuarse a los requisitos de manifestaciones de impacto ambiental, procedimientos, vigilancia y evaluaciones permanentes.
	PLN	Dec. 809/13		Sustituye el texto del Art. 5 de la Ley 5961, "Identificación y Valoración de los Efectos".

Tabla 13.4: Leyes y decretos de alcance provincial.

### 13.4. Identificación de impactos ambientales

A continuación, analizaremos las acciones susceptibles de producir un impacto (ASPI), los aspectos e impactos ambientales, en las etapas de construcción, operación y cierre del proyecto. Definiendo como:

- **Acciones susceptibles de producir un impacto.** Identificación de aquellas acciones o actividades que de alguna manera interactúan con el ambiente.
- **Aspecto ambiental.** Elementos producto de las actividades del proyecto que puede interactuar con el medio ambiente.
- **Impacto ambiental.** Efecto producido sobre un factor ambiental que vaya a ser afectado por el proyecto.

#### 13.4.1. Impactos en la etapa de construcción

Etapa	ASPI	Aspecto Ambiental	Impacto Ambiental
Construcción	Acondicionamiento del terreno	Se generan sedimentos, polvo y ruido	Posible contaminación acústica (según niveles) y disminución de la calidad del aire. Partículas sólidas en el aire.
	Movimiento vehicular y de la maquinaria	Incrementa el tráfico vehicular en la zona	Deterioro de las calles y carreteras. Molestia de los residentes.
		Generación de gases de escape	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
		Generación de ruido	Molestia de los residentes.
	Excavaciones y movimientos de tierras	Generación de polvo y ruido	Molestia de los residentes. Partículas sólidas en el aire.
		Generación de zonas inestables	Desmoronamiento del suelo. Afecta a infraestructuras próximas.
		Generación de gases de escape	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo.
		Generación de vibraciones	Inestabilidad de los suelos aledaños. Posibles daños estructurales en infraestructuras próximas.
	Levantamiento de estructuras y vías de acceso	Se generan elementos artificiales que modifican el aspecto del paisaje	Contaminación visual.
		Se generan residuos sólidos inertes, no peligrosos y peligrosos	Contaminación del suelo.
	Mantenimiento de maquinaria	Se generan residuos sólidos peligrosos (restos de combustible, aceites y lubricantes)	Contaminación del suelo.
	Contratación de personal	Generación de puestos de trabajo	Disminución de la tasa de desempleo local. Mejoramiento de la calidad de vida.
		Incremento de la población en zonas próximas a la construcción	Sobrepoblación.

Tabla 13.5: Aspectos e impactos ambientales contemplados en la etapa de construcción del proyecto.

### 13.4.2. Impactos en la etapa de operación

Etapa	ASPI	Aspecto Ambiental	Impacto Ambiental
Operación	Secado forzado	Gran consumo de gas natural	Reducción del recurso natural en la zona.
		Generación de gases de combustión	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
	Maceración	Generación de residuos de materia orgánica	Contaminación del suelo.
		Consumo abundante de agua	Reducción del recurso natural en la zona.
	Evaporación	Gran consumo de gas natural (indirecto por la caldera generadora de vapor)	Reducción del recurso natural en la zona.
		Generación de gases de combustión	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
	Secado spray	Gran consumo de gas natural	Reducción del recurso natural en la zona.
		Generación de gases de combustión	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
		Generación de material particulado en el aire	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
	Transporte de materia prima e insumos	Incrementa el tráfico vehicular en la zona	Molestia de los residentes.
	Transporte de productos terminadas	Incrementa el tráfico vehicular en la zona	Molestia de los residentes.
	Almacenamiento de insumos, aceites lubricantes, etc	Posible generación de residuos peligrosos, derrame, explosión o incendio	Contaminación de los suelos y disminución de la cantidad del aire por generación de gases tóxicos.
	Mantenimiento de maquinaria y equipos	Generación de residuos peligrosos	Contaminación de los suelos.
	Limpieza de tanques y biorreactores	Consumo abundante de agua	Reducción del recurso natural en la zona.
Generación de efluentes peligrosos		Contaminación del agua.	
Mantenimiento de planta	Generación de residuos sólidos no peligrosos y peligrosos	Contaminación del suelo.	
Tratamiento de efluentes	Reutilización de aguas tratadas	Preservación del agua.	

Tabla 13.6: Aspectos e impactos ambientales contemplados en la etapa de operación del proyecto.

### 13.4.3. Impacto en la etapa de cierre

Etapa	ASPI	Aspecto Ambiental	Impacto Ambiental
Cierre	Desmantelamiento de las instalaciones	Generación de ruido y vibraciones	Molestia a los residentes. Posibles daños estructurales en infraestructuras próximas.
		Generación de efluentes peligrosos	Contaminación del agua.
		Generación de residuos inertes, no peligrosos y peligrosos	Contaminación del suelo.
		Pérdida de fuentes de trabajo	Aumento de la tasa de desempleo. Deterioro de la calidad de vida en el lugar.
	Transporte de materiales y maquinaria	Incrementa el tráfico vehicular en la zona	Molestia de los residentes.
		Generación de gases de escape	Contaminación del aire, disminución de la calidad del mismo. Molestia de los residentes.
		Generación de residuos peligrosos	Contaminación de los suelos.

Tabla 13.7: Aspectos e impactos ambientales contemplados en la etapa de cierre del proyecto.

### 13.5. Matriz de Leopold

Se construyó una matriz de impacto ambiental con intersecciones entre las acciones y los medios considerados. Cada casilla en la matriz, ofrece una idea del efecto de cada acción sobre cada factor ambiental. Su magnitud (baja, medio o alta), se realizó considerando los efectos que eventualmente produciría una acción determinada, sobre los factores ambientales. Una vez identificadas las acciones y los factores del medio que podrían verse afectados por las mismas, la matriz permite obtener una valoración cualitativa del asunto.

Por un lado, debemos definir los signos de los impactos en el medio, que pueden ser:

- **Positivos.** Beneficioso, ya que su presencia mejora la calidad del medio (paisaje, empleo, educación, sanidad, etc).
- **Negativo.** Perjudiciales o indeseables, ya que su presencia disminuye la calidad del medio ambiente (nivel de ruido, emisiones contaminantes, efluentes contaminados, residuos sólidos, etc).

Por otro lado, el nivel de incidencia del impacto en el medio, que pueden ser:

- **Bajo.** No tiene incidencia importante para el medio ambiente y el entorno social. Son aquellos impactos admisibles y compatibles con el ambiente que pueden ser minimizados o eliminados con cierta facilidad o no requieren tratamiento específico.
- **Medio.** Tiene incidencia para el medio ambiente y el entorno social. Pueden ser minimizados y eliminados finalmente con el tratamiento adecuado.
- **Alto.** Tiene incidencia importante para el medio ambiente y el entorno social. Son aquellos impactos que requieren medidas extraordinarias para mitigarlos o pueden no ser mitigables y su efecto perdurar durante años.





## 13.6. Medidas de mitigación

Las medidas para neutralizar, mitigar o acotar un impacto negativo pueden ser correctoras o preventivas, según si el impacto se está produciendo o queremos prevenir que suceda. Las medidas preventivas son, en todos los casos, las más convenientes y están aplicadas a neutralizar impactos de tipo contingente. Sin embargo, hay impactos no contingentes derivados de los propios procesos productivos y que no pueden evitarse. En ese caso, cabe lugar a la mitigación mediante acciones directas o indirectas que disminuyan o neutralicen el impacto negativo provocado. Finalmente, en caso de no poder impedir la incidencia del impacto, la forma de mitigación usada es el acotamiento, es decir, no permitir su extensión en el espacio o en el tiempo.

- **Aire.** Las emisiones atmosféricas serán llevadas a la mínima cantidad posible. Se llevará a cabo un modelo de difusión. La altura de las chimeneas serán las adecuadas.
- **Suelo.** Todo el predio donde se considere necesario contará con pisos impermeables para evitar eventuales derrames que puedan afectarlo. Además, barreras o sitios de contención y rejillas perimetrales.
- **Agua.** Se tomarán en cuenta las medidas expresadas en el ítem suelo. Se tomarán todas las medidas operativas para minimizar los efluentes, como su reutilización mediante el tratamiento adecuado previo.
- **Flora.** Contempla su remediación con un plan de forestación y parquización.
- **Fauna.** El proyecto al estar emplazado en un parque industrial, los efectos no son significativos. Se deberán minimizar los ruidos generados durante la etapa de construcción a fin de no provocar excesivas perturbaciones.
- **Paisaje.** Se tomarán todas las medidas para mantener la armonía visual del emplazamiento con el paisaje circundante.

### 13.6.1. Residuos sólidos y efluentes

Una vez producido el desecho y no sea posible su reutilización o reciclaje, el próximo método de preferencia será el proceso de tratamiento conforme la naturaleza del residuo. La única opción a considerar será la disposición responsable de los residuos. Cuando esta sea la única opción

técnicamente factible, los residuos se dispondrán utilizando los métodos adecuados y aprobados, bajo un criterio ambiental.

Todos los residuos de la construcción y residuos generales se removerán diariamente y su disposición final se realizará en instalaciones habilitadas por los organismos de control y de acuerdo a la legislación vigente.

Los residuos generados serán separados según su categoría, a fin de seleccionar la técnica de manejo adecuada para cada tipo. Los generadores de residuos serán responsables de la clasificación de los mismos. Periódicamente, los generadores de residuos revisarán el proceso de clasificación para actualizar cualquier cambio en el proceso o en las características de los residuos.



Fig. 13.4: Contenedores clasificados para distintos tipos de residuos.

Todos los residuos, deberán ser dispuestos en recipientes metálicos o plásticos identificados por colores y leyendas, pudiendo utilizar de mínima la leyenda de residuos peligrosos y no peligrosos, como una manera de establecer los que podrán ser gestionados como residuos sólidos urbanos o asimilables a sólidos urbanos y los que deberán ser gestionados como residuos peligrosos, de acuerdo a la Ley Nacional N° 24.051 y las Leyes Provinciales N° 5917 y 5970.

El transporte será realizado por vehículos especialmente diseñados o adaptados para tal uso. El transporte dentro de las instalaciones puede ser realizado por camiones de las empresas adaptados al tipo específico de desechos.

La disposición final se llevará a cabo en el o los sitios autorizados. Queda prohibido abandonar los residuos en áreas no habilitadas.

### 13.7. Plan de monitoreo

En la evaluación de impacto ambiental no basta sólo con proponer una serie de medidas de manejo para minimizar las consecuencias ambientales del proyecto, sino que debe asegurarse si implementación y el cumplimiento de los resultados esperados. Por eso, es necesaria la implementación de un sistema de vigilancia que permita verificar o demostrar que se está implementando de manera adecuada.

Si bien no desarrollaremos un plan de monitoreo, en la Tabla 13.9 expondremos el contenido que el mismo debe comprender para los impactos ambientales principales.

Impacto Ambiental	Indicador	Inicio	Periodicidad	Duración
Contaminación acústica	Medición del nivel de presión sonora	Desde la construcción de la planta	4 veces al año	Vida útil del proyecto
	Nivel de exposición de sonido			
	Medición del nivel de presión sonora continua equivalente			
Contaminación del aire	Partículas en suspensión	Desde la construcción de la planta	4 veces al año	Vida útil del proyecto
	Monitoreo de la calidad de aire			
	Registro de enfermedades respiratorias en trabajadores			
Contaminación del suelo	Análisis en laboratorio del suelo de zonas consideradas como críticas	Desde la construcción de la planta	1 o 2 veces al año	Construcción
Contaminación del agua	Características físico-químicas	Desde la puesta en marcha del proyecto	4 veces al año	Vida útil del proyecto
	Características microbiológicas			

Tabla 13.9: Principales aspectos ambientales a considerar en un plan de monitoreo.

### 13.8. Plan de emergencias

Una emergencia es un accidente con posibilidad de causar efectos adversos serios. Se confeccionarán planos escritos que proporcionen un entendimiento adecuado de las situaciones de emergencia y peligros, con información para todos los empleados, órganos externos de atención médica y la comunidad en general.

Otras medidas que se tomarán son:

- Entrenamiento teórico y práctico que incluyan simulacros y prácticas periódicas para todos los empleados y, sobre todo, para aquellos que tengan responsabilidades en la comunicación, rescate o acción directa en casos de emergencia.
- Planos y procedimientos escritos que incluyan identificación y acciones a ser tomadas en emergencias previsibles, con instrucciones para todos los niveles sobre responsabilidades, sistemas de alarma, comunicación interna y externa, uso de las instalaciones y equipamientos de emergencia y medidas para minimizar daños a la salud.
- Los tópicos del plan de emergencia incluirán, ocurrencia de sismos, presencia de viento zonda, incendio o explosión, pérdida de servicios importantes (electricidad, gas, entre otros), atentados o artefactos explosivos, rescate, situaciones extraordinarias causadas por incidentes próximos al establecimiento, equipamiento de seguridad y listado de llamadas de emergencia.



## 14. Sistema de gestión integrado

En búsqueda de un desarrollo empresarial sostenible, un Sistema de Gestión Integrado (SGI) brinda el aprendizaje continuo para alcanzar dicho objetivo.

La dirección general de Axtafish S.A, consciente del compromiso que contrae con sus clientes, el medio ambiente y la seguridad de los trabajadores, establece el objetivo general de implementar y mantener un sistema de gestión integrado.

La empresa Axtafish S.A, ubicada en el Parque de Servicios e Industrias de Palmira (PASIP) del departamento de San Martín, provincia de Mendoza, que produce alimento pigmentante para salmónidos a partir de orujo de uva, vía proceso de fermentación por la levadura *Phaffia rhodozyma*, se compromete a:

- Utilizar todos los recursos necesarios para garantizar que el producto que ofrecemos cumple estrictamente todas las especificaciones requeridas en materia de calidad, para así satisfacer a los clientes.
- Prevenir la contaminación que pueda ser causada por todas nuestras actividades y procesos, identificado, revisando y controlando todos los aspectos ambientales asociados.
- Cumplir con la legislación ambiental vigente.
- Implementar la mejora continua en nuestro comportamiento medioambiental, y también en la eficacia y eficiencia de nuestros procesos para el aseguramiento de la calidad de nuestros productos.
- Establecer programas de capacitación dirigidos a todo el personal de la empresa.
- La minimización de riesgos de la salud e higiene de los empleados.

Los objetivos específicos a alcanzar con el Sistema de Gestión Integrado (ISO 9001, ISO 14001 e ISO 45001), son:

- Identificar, manejar y reducir los efectos ambientales y los peligros o riesgos de todas las actividades desarrolladas por la empresa.
- A través de la capacitación, asegurar la participación del personal para una mejora continua del desempeño ambiental y de seguridad.
- Llevar adelante las actividades en forma consistente con la política MACS (Medio Ambiente, Calidad y Seguridad) corporativa, así como con los objetivos y metas relacionados.

Las ISO 9001 son normas internacionales que se centran en todos los elementos de administración de calidad, para generar un sistema efectivo que permita administrar y mejorar la calidad de los productos. Las ISO 14001 tienen el propósito de apoyar la aplicación de un plan de manejo ambiental en la empresa. Por último, las OHSAS 45001 tienen por objetivo controlar los riesgos en el lugar de trabajo, basándose en una identificación y evaluación adecuada de los peligros que podrían dañar a los trabajadores.

### 14.1. Implementación conjunta

La implementación de varios sistemas de gestión en forma conjunta genera importantes ahorros y sinergias, entre los podemos mencionar:

- Aprovechamiento de conductas y procesos ya internalizados en forma previa por la empresa.
- Unificación de controles y operaciones que incumben a distintas unidades.
- Reafirmación de una concepción sistémica de las operaciones de la organización.
- Reducción importante de estructura y costos.



Fig. 14.1: Las tres partes fundamentales que conforman el SGI.

#### 14.1.1. Implementación del sistema integrado

La adopción y puesta en marcha de un Sistema de Gestión involucra lograr superar una serie de etapas secuenciales hasta llegar a su estado de plena operatividad. Es importante tener en cuenta que aun



cuando se siga una norma en particular, la misma no está escrita para establecer cómo debe funcionar el Sistema, sino más bien qué debe contemplar sus elementos en los términos más generales posibles.

La primera parte requiere de adaptaciones, sobre todo en la documentación relativa al control de gestión y operativo. Esto es lo que se conoce como fase de diseño y desarrollo del sistema en donde se parte de cero, teniendo que concebir la forma en que el sistema puede manejar los aspectos gerenciales como también los operativos, o bien partiendo de un sistema existente el cual es modificado de acuerdo a las necesidades.

Una vez que las partes del sistema están adecuadamente desarrolladas, se entra en la fase de implantación, la cual consiste en divulgar el funcionamiento del sistema a todos los niveles de la empresa, sus diversos sectores, gerencias, contratistas, personal de apoyo y cualquier otro componente organizativo que esté involucrado con la operación. No todas las personas deben tener un conocimiento profundo y total del sistema de gestión, pero si deben conocer adecuadamente todo aquello perteneciente al Sistema que incida sobre sus labores dentro la empresa.

Cuando el sistema es bien comprendido y manejado con soltura y como una labor cotidiana a todos los niveles de la organización, se entra en la fase de operatividad del sistema. A medida que esta fase operativa madura, el sistema mismo comienza a nutrirse de la vivencia de una organización que lo utiliza plenamente y a su beneficio, pudiendo surgir y detectar innumerables oportunidades de mejora continua.

## **14.2. Factores de éxito**

El éxito en la progresión de las fases previamente descritas dependerá de muchos factores de tipo conductual, entre los cuales se encuentran:

- Cambiar la mentalidad es difícil y requiere tiempo, pero es la base sin la cual no es posible desarrollar y llevar adelante un sistema donde todos se sientan partícipes de los logros y las mejoras ambientales y de seguridad.
- Necesidad de establecer mecanismos para consolidar el programa de concientización del personal y promover una actitud que asegurase que el proceso fuera auto-sostenible en el

futuro. La capacitación de la gente juega un papel primordial a todo lo largo de la maduración del proceso y es una de las garantías de la continuidad del sistema de gestión.

- Compromiso por parte de la dirección y las gerencias, convencidas de los cambios que se deberán implementar.
- Todas las partes del sistema están interconectadas y por lo tanto no puede concebirse la existencia de algún elemento aislado.
- El sistema debe reflejar las actividades de la operación y, por lo tanto, no puede construirse en base a supuestos utópicos, difíciles de cumplir. De hecho, la verificación de que el sistema funciona de acuerdo a lo establecido, se hace mediante auditorías e inspecciones, las cuales revisan el cumplimiento de todo lo que está escrito y documentado. Por lo tanto, si algo no puede cumplirse no debe formar parte del sistema.
- Cualquier novedad que signifique cambios en algún aspecto operativo, debe ser analizado con respecto a los potenciales nuevos impactos ambientales y riesgos a la salud y seguridad, lo cual, a su vez, debería conducir a establecer los factores mitigantes de tales efectos potenciales.

### **14.3. Principales elementos del sistema requeridos por la norma**

El Sistema de Gestión Integrado se apoya en la documentación escrita, cuya función es guiar y controlar todas las acciones para el logro de los objetivos y, su propósito principal, es asegurar que todo el personal, tanto de Axtafish S.A como de los contratistas, están utilizando los mismos procedimientos e instrucciones de trabajo en una misma forma consistente. Los principales documentos son:

- El manual de gestión integrado, que describe en forma genérica la estructura del sistema de gestión ambiental y de seguridad y hace referencia a los documentos del mismo.
- Los manuales de procedimientos especifican la forma de realizar las actividades vinculadas al sistema, las distintas responsabilidades, los mecanismos de control y los registros obtenidos.

- Los procedimientos de gestión son los que regulan el funcionamiento y estructura del sistema, los operativos controlan las actividades y procesos propios del área y se vinculan con los efectos ambientales significativos.
- El plan de contingencia estipula todos los mecanismos a seguir ante situaciones de emergencias.
- Los registros fundamentales para el sistema son, el registro de normas aplicables, el registro de aspectos o impactos y el registro de peligros o riesgos.

El sistema de Axtafish S.A comprende todas las actividades desarrolladas dentro de la empresa, desde la compra de insumos hasta el procesamiento y entrega de los productos finales, incluyendo:

- Transporte de fluidos.
- Almacenamiento de líquidos.
- Tratamiento de efluentes.
- Suministro eléctrico.
- Adquisición de materiales y equipos.
- Almacenamiento de materiales.
- Mantenimiento.
- Ingeniería y construcción.
- Actividades del proceso.

### **14.3.1. Política corporativa**

La política corporativa, es un documento refrendado por los más altos niveles de la corporación en la que se establecen los lineamientos de conducta que garanticen que la conducirán todos sus negocios y operaciones evitando ocasionar daños innecesarios o significativos la ambiente y, en general, el respeto a la vida de todos sus trabajadores (propios o contratados) y demás personas que pudiesen ser afectadas directa o indirectamente por la operación.

Las normas son bastante explícitas en lo que concierne al contenido de la política, aun cuando no obliga a ningún texto en particular. Por ejemplo, la política debe contener algún enunciado sobre el compromiso de la corporación hacia el cumplimiento de todas las leyes y normas aplicables a la operación, como también debe contemplar una firme resolución en la preservación del ambiente, la salud, y el trabajo seguro para sus empleados y terceras partes. Se trata de una especie de manifiesto o

declaración institucional de suprema valía para la empresa y cuya violación de principios pondría a toda la operación en condición de incumplimiento a sus valores. Por lo tanto, es el documento demostrativo más importante del compromiso gerencial a todos los niveles de la organización.

### **14.3.2. Planificación**

El cumplimiento de la política es algo que solo se puede garantizar, mediante programas bien estructurados basados en planes de factible cumplimiento, y que demuestren claramente su conexión de adherencia a los fines que persigue cada uno de los principios estipulados en la política misma. Los programas antes citados son denominados programas de gestión integrados, los cuales se fundamentan en tres actividades necesarias para lograr su confección final.

#### **14.3.2.1. Registros de aspectos o impactos y peligros o riesgos**

El registro de aspectos o impactos exigido por la norma contiene la identificación y evaluación de todos los elementos que están relacionados a la operación y que pudiesen ocasionar un impacto ambiental significativo. Por su parte, el registro de peligros o riesgos es el equivalente al anterior, pero para la norma ISO 45001, es decir, se realiza la identificación y evaluación de los factores o peligros que pudiesen constituir riesgos para las personas o la operación. Estos registros deben ser construidos por cada sector involucrado en la operación. Estos pueden ser directos y/o indirectos y pueden surgir de condiciones de operación normales, anormales y de emergencia.

Además, los efectos y peligros pueden corresponder a actividades presentes, ser consecuencia de actividades pasadas o de actividades planificadas. Los efectos y peligros indirectos de las operaciones pueden provenir de los proveedores de productos y servicios y de la venta de los productos de la compañía a sus clientes. Igualmente se consideran los efectos y peligros que potencialmente pueden ocasionar molestias las personas y la flora y fauna (ruidos, vibraciones, polvo, olor e impacto visual). La identificación y evaluación de efectos y peligros es un proceso continuo, que implica una revisión permanente de todas las acciones.

Por supuesto que para que el personal operativo logre este objetivo, se debe impartir el adiestramiento adecuado, cuya concientización para la protección del medio ambiente y de la seguridad ha sido ampliada como resultado de las actividades de capacitación.

#### 14.3.2.2. Requerimientos legales

El compromiso asumido en la política corporativa de cumplir con la legislación aplicable es un objetivo central del sistema. Para garantizarlo debe crearse un registro de legislación, lo cual debe hacerlo un equipo de abogados calificados, pero en interacción con los responsables de la operación. Se debe estar al tanto de las normas vigentes y su relevancia en las áreas de la empresa. Existiendo una correspondencia entre la norma, ley o regulación en cuestión y la operación misma.

Debe enfatizarse que, a la hora de una auditoría de certificación, la sanción más grave y que determinaría la negación a entregar el certificado, sería el descubrir algún incumplimiento de las leyes, regulaciones y normas establecidas en el país. Los requerimientos operativos los contempla, de forma tal que su adhesión asegura el cumplimiento de las obligaciones legales.

#### 14.3.2.3. Objetivos y metas

Producto de las evaluaciones de aspectos o impactos, peligros o riesgos y los requerimientos legales, se genera información sobre la potencial repercusión de las operaciones sobre el ambiente, la salud de las personas y seguridad industrial, se logra, entre otras cosas, asociar un cierto grado de significancia a cada uno de los impactos y riesgos identificados. El objetivo final de dicha evaluación es el también identificar factores mitigantes de dichos impactos o riesgos asociados. Existen tres posibles acciones que un sistema de gestión puede activar para efectuar dicha mitigación y las mismas evaluaciones de aspectos o impactos y peligros o riesgos deben llegar a definir la acción a tomar. Estas tres posibles acciones son:

1. **Control.** Si es que el potencial impacto o riesgo puede mitigarse mediante un procedimiento operativo que al seguirlo rigurosamente permita su adecuado manejo, esto significa que estaríamos aplicando una medida de control.
2. **Mejora.** Si el potencial impacto o riesgo, puede corregirse mediante la construcción o reemplazo de algún elemento que logre elevar los estándares de operación, eliminando o reduciendo el aspecto ambiental o el peligro.
3. **Investigación.** Si el asunto no puede ser solucionado mediante una mejora o mediante algún mecanismo de control, entonces puede ser objeto de una investigación que permita encontrar la medida de mitigación apropiada.

Los ítems 2 y 3, se incluyen en un documento que se conoce con el nombre de “Programa de gestión”, el cual, conceptualmente, contiene todos los elementos que conducen a la mitigación de impactos y riesgos asociados a la mejora continua o cosas por hacer a corto o mediano plazo. El programa de gestión integrado se organiza especificando objetivos a cumplir, en un contexto general y, en forma matricial las metas correspondientes a dichos objetivos, en donde se fijan con mayor precisión las cosas que se harán para lograr el objetivo propuesto.

En el programa de gestión se indica, para cada objetivo anual aprobado las metas con su prioridad, las actividades involucradas, el responsable de su cumplimiento, la fecha de finalización y los efectos ambientales cubiertos por cada una de las metas. Para cada meta se deberá identificar a un responsable y fecha de cumplimiento. Se debe tener mucho cuidado en establecer objetivos y metas de factible cumplimiento por parte del responsable y en la fecha indicada. El seguimiento y control del programa se realiza a través de los reportes de avance por parte de los responsables de las metas y actividades, como también mediante las auditorías internas y las revisiones del sistema.

### **14.3.3. Implementación y operación**

Finalizada la fase de diseño, se requiere poner en práctica una serie de elementos exigidos por las normas.

#### **14.3.3.1. Estructura y responsabilidad**

El sistema no podrá entrar en funcionamiento a menos que se establezca una estructura organizativa que permita la adecuada movilidad requerida. La gerencia de MACS (Medio Ambiente, Calidad y Seguridad) efectúa el seguimiento de la gestión integrada que realiza el área. Las gerencias operativas proveen a todo el personal de los medios que garanticen la formación y el adiestramiento adecuado para las tareas que cada uno desempeña.

### **14.3.3.2. Capacitación, concientización y comunicación**

Los puntos más importantes a tener en cuenta son:

- La capacitación debe hacer énfasis en los elementos constituyentes del sistema.

#### NOTA:

No se trata solamente en capacitar sobre destrezas operativas requeridas para minimización de impactos y riesgos, sino principalmente adiestrar sobre aspectos que fortalezcan a la organización en el conocimiento del sistema de gestión en sí mismo. También habrá que adiestrar al personal sobre las normas y leyes aplicables más relevantes para las operaciones, así mismo, la capacitación sobre planes de contingencia, procedimientos operativos, entendimiento sobre las normas a certificar (ISO 14001 e ISO 45001), entendimiento sobre la esencia de cada elemento del Sistema y su conexión.

- La capacitación debe ser organizada y planificada.
- La capacitación debe planificarse teniendo cuidado de no llegar a la saturación de los participantes.
- Mediante una adecuada capacitación y comunicación continua se logra avanzar en las diversas etapas conducentes a alcanzar un avanzado nivel de conciencia sobre sus responsabilidades y papel a desempeñar para lograr la búsqueda minimización de impactos y riesgos.

### **14.3.3.3. Documentación y su control**

Llegado el momento de la auditoría de certificación, el grupo auditor tendrá la responsabilidad de llevar sus hallazgos de manera bien sustentada. Ello solo se logra mediante la persistente insistencia de que cualquier demostración relativa a los elementos del sistema tienen que estar bien documentados. Buena parte del éxito en obtener la certificación dependerá de esto y por ello deben llegar a diseñarse controles de documentación que sean lo suficientemente robustos y organizados.

### **14.3.3.4. Control operativo**

La empresa diseña sus métodos de control operativo dependiendo de la naturaleza de las operaciones de manera que se adecuen a los operarios para mantener el mejor seguimiento posible de lo que hacen. Se aplican los procedimientos operativos, diseñados para cubrir de manera global las actividades por separado. La redacción de cada uno de estos procedimientos sigue rigurosamente los formatos ISO y siendo detallados en la ejecución de las actividades, enfatizando medidas de mitigación de impactos y riesgos.

#### **14.3.3.5. Planes de contingencia y respuesta ante emergencias**

El objetivo de los planes es actuar organizadamente y con rapidez ante cualquier eventualidad de accidentes bien sean de repercusión ambiental, sobre los bienes materiales de la empresa, su personal o terceros. Los elementos antes descritos relativos a la implantación y operatividad del Sistema de gestión tienen un papel fundamentalmente preventivo y crean barreras para evitar la ocurrencia del evento indeseado. Sin embargo, dichas barreras pueden fallar o pueden no ser del todo efectivas produciéndose lo indeseado e inesperado.

Una vez ocurrido el evento, entran en acción todas las medidas contempladas en los planes de contingencia y respuestas ante emergencias pertenecientes al sistema de gestión. Su papel fundamental está en detener la propagación y magnificación del evento, hasta llevarlo a una condición de control total.

#### **14.3.4. Verificación y acciones correctivas**

Una vez que el sistema de gestión integrado esté en plena operación, se requiere ejecutar acciones conducentes para verificar el cumplimiento de los acuerdos, pautas y elementos pertenecientes al sistema. Aquí se involucran tres aspectos fundamentados en las normas que permitirían dicho objetivo, ellos son:

- Mediciones y seguimiento.
- Reportes y registros de accidentes o incidentes y, de no conformidades o acciones correctivas.
- Auditorías.

##### **14.3.4.1. Mediciones y seguimientos**

Se refiere a todas aquellas cosas que se hace en la operación, que permita cubrir los requisitos legales en cuanto a medición de parámetros exigidos por las normas y regulaciones o bien, garantizar que los equipos y procesos asociados a la operación se encuentren a niveles de óptimo desempeño. El grupo auditor suele insistir mucho en este aspecto de la norma, conscientes que el mismo está íntimamente ligado a la integridad de la operación misma y, por lo tanto, posee un fuerte impacto en la verificación del buen funcionamiento del sistema de gestión.

##### **14.3.4.2. Registros de accidentes, no conformidades y acciones correctivas**

En los sistemas de gestión, el término accidente se reserva a cualquier evento no deseado que como consecuencia de la operación ocasione lesiones a las personas o daños a los bienes de la empresa o terceros. Cada empresa posee su propia manera de gestionar el reporte de accidentes y ni la norma ISO



14001, ni tampoco la ISO 45001, proporcionan lineamientos específicos sobre la forma de hacerlo. Lo que sí exigen estas normas es que exista un método o procedimiento que garantice el registro, análisis y propuesta de acciones correctivas para todos los accidentes, tanto ambientales, como a las personas, indistintamente de la gravedad de los mismos. Lo importante es que el registro exista y que se demuestre que las acciones correctivas son llevadas hasta la resolución del caso en el sentido de evitar la recurrencia de lo acontecido.

El otro concepto de importancia en lo que refiere a estos registros, son las llamadas no conformidades. Este término es usado para describir cualquier desvío con respecto a los acuerdos, leyes, regulaciones y procedimientos contemplados en el Sistema de Gestión Integrado. Todas estas desviaciones deben ser registradas y solucionadas mediante el análisis de las mismas, junto con la propuesta de las acciones correctivas pertinentes.

#### **14.3.4.3. Auditorías**

Aún cuando el sistema logra la certificación de las normas mediante una muy completa auditoría por parte de un ente certificador, es imprescindible ejecutar auditorías internas del mismo. Resulta indispensable, puesto que las mismas normas así lo exigen. Estas auditorías internas están dirigidas a auditar al sistema y no necesariamente a los estándares operativos. Estas auditorías son el motor que mueve al sistema en el sentido de su continua revisión y constante registro de no conformidades que habrán de resultar en acciones de mejora continua.

#### **14.3.5. Revisión gerencial del sistema de gestión integral**

La revisión gerencial del Sistema de Gestión Integrado evalúa la continuidad del mismo, en cuanto a la conveniencia de su actual estructura, adecuación y eficacia, frente a los factores de cambio internos y externos. Esta revisión está en manos de los más altos niveles jerárquicos y decisorios de la organización y del propio sistema, los aspectos objeto de su revisión pueden llegar a resultar en profundas modificaciones de los elementos del sistema. Tanto así, que puede llegar a considerarse la posible necesidad de cambiar la política, objetivos o cualquier otro elemento del sistema de gestión, cuyas evidencias indiquen los beneficios de tales cambios. Para efectos de las normas, no existe un formato particular para efectuar dicha revisión gerencial, pero sí se requiere armar un cronograma para su ejecución que obligue a efectuar al menos una revisión al año.

#### **14.4. Certificación del sistema de gestión integral**

Una vez definido el organismo acreditador, el auditor de dicho organismo se reunirá con la alta dirección, será informado de los procesos de la organización y efectuará la auditoria de revisión de documentos, evaluando el manual de Calidad, Medio Ambiente y SySO.

- El auditor transmitirá toda no conformidad que encuentre en los documentos para emprender las acciones necesarias. Pudiendo exigir la modificación de la documentación.
- En fecha y lugar acordados, el auditor realizará una evaluación de las instalaciones. Mediante la evaluación de actividades, procedimientos, entrevistas con personal y otros medios los auditores analizarán la conformidad o no conformidad con las normas.
- En base a las recomendaciones del auditor y, si éste considera que las brechas entre la documentación y los procedimientos es nula o no grave, éste expedirá un certificado a la organización.
- El certificado se expide por tres años, durante los cuales, se realiza un número básico de auditorías externas para el seguimiento del sistema de gestión. En caso de que el período expire, la empresa deberá lograr la recertificación, mediante una auditoría semejante a la descrita en los pasos anteriores.



## 15. Organización técnico-administrativa

La correcta organización empresarial debe establecer los roles y responsabilidades específicos de cada miembro que la componen. Mediante el organigrama, se busca mostrar de manera gráfica la información y la estructura de la empresa, de una manera que resulte claramente entendible por cualquier individuo. También sirve para representar los niveles de jerarquía, relaciones entre los empleados y la estructura de la organización, desde los niveles más altos como el gerente, pasando luego por los jefes de cada área, y por último los empleados base.

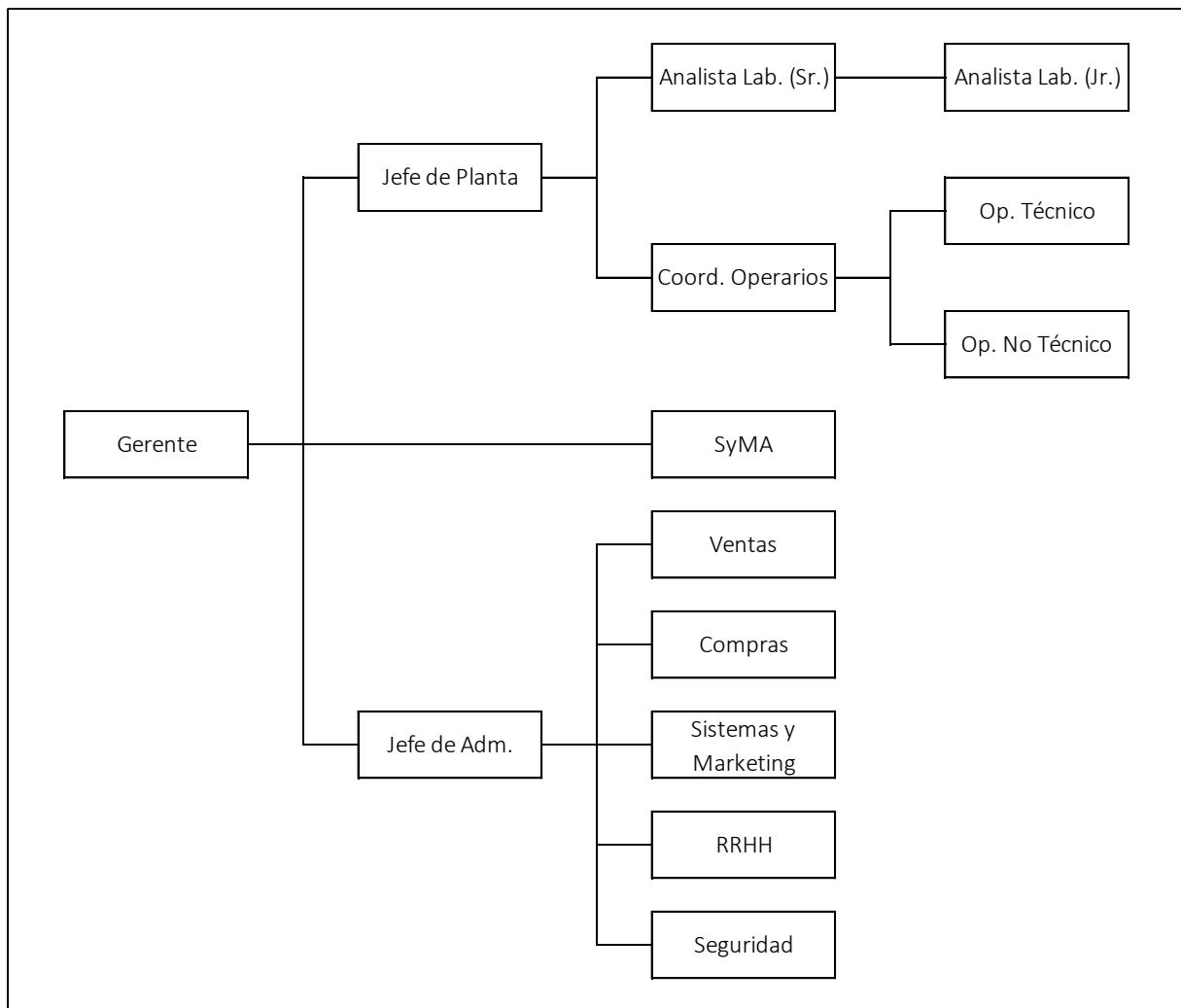


Fig. 15.1: Organigrama tipo horizontal de la empresa.

Las tareas y responsabilidades que conciernen a cada individuo del personal y permiten el debido funcionamiento de la empresa, son:

- **Gerente.** Coordina todas las actividades de la empresa, es decir, supervisa el desempeño de los empleados, controla el presupuesto, establece los objetivos generales y, además, asegura que todas estas actividades se realicen de manera eficiente, organizada, segura y rentable.
- **Jefe de planta.** Programa y ejecuta el plan de producción de la empresa, de manera tal que las actividades se ejecuten de forma eficiente, respetando los plazos establecidos y asegurando la seguridad del personal.
- **Jefe de administración.** Organiza las actividades administrativas relacionadas con el manejo del presupuesto de la empresa y el cumplimiento con los acuerdos y contratos establecidos entre clientes, proveedores y los propios empleados de la empresa.
- **Analista de laboratorio (Sr.).** En base al plan de producción establecido, organiza las actividades de laboratorio y supervisa la puesta en marcha de los biorreactores.
- **Analista de laboratorio (Jr.).** Es el encargado de realizar los ensayos de laboratorio y el seguimiento del proceso de fermentación en los biorreactores.
- **Coordinador de operarios.** En base al plan de producción establecido, organiza las actividades de los operarios técnicos, según su expertis (mecánica, eléctrico o electrónico).
- **Operarios técnicos.** Es el encargado de las tareas relacionadas con la manipulación, supervisión y mantenimiento de los equipos en línea de producción y auxiliares de la planta de proceso.
- **Operarios no técnicos.** Es el encargado de las tareas relacionadas con la mantenimiento, orden y limpieza de las instalaciones y sectores de la planta de proceso.
- **Asistente de seguridad y medio ambiente.** Se encarga del cumplimiento de las normas vigentes por parte de la empresa, en lo que, a higiene, seguridad laboral y medio ambiente se refiere.

- **Asistente de ventas.** Establece acuerdos de pago, asesora sobre los usos del producto a comercializar, y organiza los envíos con la cartera de clientes.
- **Asistente de compras.** Establece acuerdos de pago, suministro y recepción de materias primas con la cartera proveedores y gastos excepcionales, con acuerdo de otras áreas de la empresa (por ejemplo, la adquisición o reparación de equipos).
- **Asistente de sistemas y marketing.** Establece, actualiza y mantiene el sistema de interconexión informático de la empresa, así como salvaguardar toda documentación y registro digital de la misma. Además, realizara tareas relacionadas con la publicidad de la empresa vía sitio web, redes sociales o elaboración de material propagandístico.
- **Asistente de RRHH.** Asegura el cumplimiento de los contratos laborales establecidos con los empleados de la empresa, según lo acordado por ambas partes y las leyes laborales correspondientes. Además, realiza búsquedas activas de empleados potenciales en caso de que existiera vacantes disponibles.
- **Encargado de seguridad.** Asegura el bienestar del personal y el patrimonio de la empresa. Registra la entrada y salida de personas del establecimiento, realiza rondas de vigilancia en el perímetro del establecimiento y da alerta al personal y las autoridades municipales correspondientes (policía, bomberos, médicos, etc.) sobre un siniestro o situación de riesgo (fuego, humo, personas sospechosas, etc.).

### 15.1. Staff empresarial

Para estimar el número adecuado de personas necesarias para el funcionamiento de la empresa debemos contemplar la necesidad de su presencia en distintos tipos de turno, fijo o rotativo, según la tarea que desempeñen.

Por un lado, el proceso de fermentación una vez iniciado no puede detenerse, por lo que la presencia de analistas de laboratorio, tanto Senior como Junior, es necesaria en todo momento para el seguimiento y control de la biorreacción. Por otro lado, para obtener los mayores niveles de productividad y deben minimizarse la existencia de tiempos muertos, por lo que es fundamental la disponibilidad de operarios en todo momento. Por último, la seguridad del personal y el edificio son cuestiones que deben atenderse las 24 horas del día, por lo que siempre existir la presencia de los encargados de seguridad.

Las tareas administrativas son labores que no requieren la presencia de los empleados correspondientes en todo momento, ya que su corte no supone una merma en la eficiencia productiva de la empresa. Además de que hoy en día, en caso de ser necesario, las redes de informáticas permiten la continuación de la actividad de forma remota.

En base a estas consideraciones, y el tamaño relativamente pequeño que supone nuestra industria, se decidió contar un número de personal como el detallado en la Tabla 15.1.

Cargos	Turnos rotativos		
	Mañana 6:00 a 14:00 hs	Tarde 14:00 a 22:00 hs	Noche 22:00 a 6:00 hs
Analista de laboratorio (Sr.)	1	1	1
Analista de laboratorio (Jr.)	3	3	3
Coord. de operarios	1	1	1
Operarios técnicos	6	6	6
Operarios no técnicos	6	6	6
Seguridad	3	3	3
Cargos	Turnos fijos		
	8:00 a 16:00 hs		
Gerente	1		
Jefe de planta	1		
Jefe de administración	1		
SyMA	2		
Ventas	2		
Compras	2		
RRHH	2		
Sistemas/Marketing	2		

Tabla 15.1: Staff de la planta productiva.





## 16. Evaluación económica

La evaluación económica del proyecto nos ayuda a determinar si el proyecto es viable o no, en términos económicos. Para ello, requeriremos del cálculo de ciertos índices económicos. Supondremos que la planta estará operativa por un período de 10 años, y que su producción será de 120 Tn/año, y que calcularemos la rentabilidad, considerando que toda lo producido es efectivamente vendido.

Para la evaluación económica del proyecto, contemplaremos los siguientes ítems:

- Cálculo de la inversión inicial requerida.
- Costos de fabricación y gerencia.
- Financiación.
- Cálculo de la rentabilidad.

### 16.1. Inversión inicial

El capital de inversión es la cantidad de dinero requerida para la construcción de la planta y es el producto de la suma del capital fijo de inversión y el capital de trabajo. El primero se refiere al costo asociado con la construcción de la planta con todos sus componentes necesarios para su operación (equipos, tuberías, instrumental, sistemas eléctricos, etc.). El segundo involucra los costos requeridos para iniciar la operación de la planta y funcionar los primeros meses antes de que las ganancias por las ventas de la producción ingresen. Por lo tanto, para el cálculo de la inversión inicial tendremos:

- Capital inmovilizado (capital fijo de inversión).
- Capital circulante (capital de trabajo).

La estimación del capital a invertir tendrá un error asociado. Esto se hará mediante factores basados en los costos de los equipos más importantes. Según el libro “Plant design and economics for chemical engineers” (Max H. Peters y Klaus D. Timmerhaus, Fourth Edition, McGraw-Hill, 1991), este método elegido tiene una exactitud estimada del 30%.

### 16.1.1. Capital fijo de inversión

Podemos subdividirlo en costos directos e indirectos.

- **Costo directo.** Incluye todos los gastos que están relacionados con la instalación de la planta.
  - **Equipos adquiridos.** Es el costo de los equipos más relevantes en el proceso.
  - **Instalación de los equipos adquiridos.** Incluye los costos de mano de obra, soportes y otros factores relacionados a que el equipo esté listo para su operación.
  - **Instrumentación y controles.** Son todos los equipos auxiliares e instrumentos para el control y registro de las distintas variables del proceso en cada una de sus etapas.
  - **Cañerías y tuberías.** Contempla las cañerías y tuberías para el proceso, mano de obra, soportes, accesorios, válvulas y aislaciones de cañerías.
  - **Sistemas eléctricos.** Su costo consiste en mano de obra y materiales necesarios para suministrar potencia e iluminación al proceso. También en abraza los paneles de control y conductores para la puesta a tierra.
  - **Obras civiles.** Oficinas, edificio para el proceso productivo, laboratorio, almacenes, etc. Incluye la mano de obra, materiales, plomería, iluminación, calefacción, ventilación, etc.
  - **Mejoras del sitio.** Son los costos relacionados con cercas perimetrales, caminos, banqueras, estacionamientos, jardines, etc.
  - **Servicios auxiliares.** Son todas las instalaciones que proveen de servicios auxiliares de la planta (agua, energía, combustible, etc.). Instalaciones de seguridad, protección contra incendio, tratamiento de efluentes, laboratorio, oficina, grupo electrógeno y almacenes están incluidas en este rubro.
  - **Terreno.** Es el costo de la parcela donde se levantará el proyecto.

- **Costo indirecto.** Se refiere al costo de los factores que no están directamente relacionados con la instalación de la planta.
  - **Ingeniería y supervisión.** Corresponden al pago de los servicios técnicos y administrativos necesarios para dirigir y administrar el proyecto durante la construcción. También incluye todo el trabajo de ingeniería y proyectistas necesarios para preparar los planos de la construcción y especificaciones para licitar o contratar diversas tareas o equipos.
  - **Gastos de construcción.** Son aquellos costos necesarios para que la construcción de la planta. Incluye ingeniería de campo (inspección, ubicación de equipos, etc.), abastecimientos, equipos de construcción, servicios temporarios (mano de obra), impuestos, seguros y otros gastos relacionados con la construcción.
  - **Honorarios de los contratistas.** Contempla los sueldos de la mano de obra que levantara la planta.
  - **Contingencias.** Incluye daños ocasionados por sismos, tormentas, inundaciones, accidentes de transporte, aumento súbito de precios, huelgas, cambios de diseño, errores de estimación y otros eventos inesperados que hacen necesario tener un gasto para dichas ocasiones.

#### 16.1.1.1. Determinación del capital fijo

El cálculo de los componentes del gasto directo e indirecto se basa en el uso de porcentajes respecto al costo de los equipos adquiridos. Según el libro “Plant design and economics for chemical engineers” (Max H. Peters y Klaus D. Timmerhaus, Fourth Edition, McGraw-Hill, 1991) se ofrecen en la Tabla 16.1, valores estimativos de cada factor que compone el capital fijo respecto del costo de los equipos, para una planta de procesamiento sólido-líquido.

Costos Directo	Índice
Equipos entregados	1.00
Instalación de los equipos adquiridos	0.39
Instrumentación y controles	0.13
Cañerías y tuberías	0.31
Sistemas eléctricos	0.10
Obras civiles	0.29
Mejoras del sitio	0.10
Servicios auxiliares	0.55
Costos Indirectos	Índice
Ingeniería y supervisión	0.32
Gastos de construcción	0.34
Honorarios de los contratistas	0.18
Contingencias	0.36
Total	4.07

*Tabla 16.1:* Influencia de los principales factores en el costo del capital fijo.

A nuestro criterio, algunos de estos índices presentan sobreestimaciones respecto a su participación en el total del capital fijo de inversión de nuestro proyecto. Por lo tanto, se decidió hacer una reevaluación de los mismos, como se muestra en la Tabla 16.2.

Costos Directo	Índice
Equipos entregados	1.00
Instalación de los equipos adquiridos	0.20
Instrumentación y controles	0.13
Cañerías y tuberías	0.31
Sistemas eléctricos	0.10
Obras civiles	0.29
Mejoras del sitio	0.10
Servicios auxiliares	0.25
Costos Indirectos	Índice
Ingeniería y supervisión	0.06
Gastos de construcción	0.20
Honorarios de los contratistas	0.18
Contingencias	0.12
Total	2.94

*Tabla 16.2:* Factores en el costo del capital fijo corregidos.

En cuanto al costo de la adquisición del terreno para el emplazamiento de la planta. Según datos de diversos portales inmobiliarios de la provincia de Mendoza, al año 2019, el costo del terreno de un parque industrial, con la infraestructura y ubicación como las que se posee el Parque de servicios e industria de Palmira (para más detalles, ver sección 3.2), se muestra en la Tabla 16.3.

Terreno (m <sup>2</sup> )	Precio (U\$/m <sup>2</sup> )	Costo (U\$)
10 000	60	600 000

Tabla 16.3: Costo del terreno de la planta.

Por lo tanto, el capital fijo de inversión será 2.94 veces el costo de los equipos adquiridos más el costo del terreno donde se levantará el proyecto.

#### 16.1.1.2. Precio de equipos

Se usarán los métodos de actualización de precios y factor costo-capacidad para estimar el valor de los principales equipos en el proceso de producción.

Equipos	Características	Método de presupuesto	Precio (U\$)
Silos verticales (3)	Capacidad: 560 Tn c/u, Material: Chapa galvanizada, Accesorios: Ventilación y roscas extractoras	T, A [2015]	250 000
Secador de tambor rotativo	Largo: 6 m, Diámetro: 0.6 m, Capacidad: 640 Kg H <sub>2</sub> O/hs	T, C, A [1996]	456 000
Macerador	Volumen: 7.500 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	120 000
Filtro de tambor rotativo	Área de filtrado: 4.5 m <sup>2</sup> , Material: Inox. 316	T, A [2014]	190 000
Evaporador	Tipo: Película desc. (2 efectos), Área de inter.: 12 m <sup>2</sup> c/u, Material: Inox. 316, Presión int.: 150 psi	T, A [2014]	420 000
Tanque horizontal (2)	Volumen: 15.000 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	95 000
Biorreactor 30 L	Tipo: Encamisado y agitado, Volumen: 20 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	9 500
Biorreactor 300 L	Tipo: Encamisado y agitado, Volumen: 200 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	33 000
Biorreactor 3.000 L	Tipo: Encamisado y agitado, Volumen: 2.000 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	110 000
Biorreactor 30.000 L (2)	Tipo: Encamisado y agitado, Volumen: 20.000 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	750 000
Centrífuga de discos	Tipo: Boquilla de descarga, Bowl diámetro: 700 mm, Material: Inox. 316	T, A [1996]	190 000
Tanque vertical	Volumen: 12.000 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	85 000
Agitador de tanque vertical	Tipo: Paletas, Material: Inox. 316, Presión int.: Atmosférica, Pot.: 3 HP	T, A [2014]	6 500
Secador spray	Altura: 8.5 m, Capacidad: 800 L H <sub>2</sub> O/hs	T, A [1996]	438 000
Mezclador de polvo	Volumen: 2.000 L, Material: Inox. 316	T, A [2014]	54 000
Embolsadora	Tipo: Semiautomática	T, A [2015]	10 000
Total			3 217 000
Costo con el transporte y entrega de los equipos (-/+ 10% extra)			3 538 700

Tabla 16.4: Costos estimativos de los equipos del proceso productivo.

A	Actualización de precio
C	Método costo-capacidad
T	Tablas

*Tabla 16.5:* Métodos para la estimación del costo de los equipos.

Equipos	Fuente de información
Silos verticales	Empresa: Kondinin Group, cooperativas de agricultura.
Secador de tambor rotativo	Libro: Chemical Engineers Handbook, Robert H. Perry, 7th edition.
Macerador	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Filtro de tambor rotativo	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Evaporador	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Tanque horizontal	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Biorreactor 30 L	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Biorreactor 300 L	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Biorreactor 3.000 L	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Biorreactor 30.000 L	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Centrifuga de discos	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Tanque vertical	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Agitador de tanque vertical	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Secador spray	Libro: Chemical Engineers Handbook, Robert H. Perry, 7th edition.
Mezclador de polvo	Empresa: Matches, estudio de ingeniería.
Embolsadora	Empresa: Spiroflow, especializada en el manejo y procesamiento de sólidos secos.

*Tabla 16.6:* Fuentes para la estimación de costos en los equipos del proceso.

### 16.1.1.3. Actualización de precio

El precio de un equipo se modifica a través del tiempo debido al cambio de las condiciones económicas. Conociendo el precio del equipo en tiempos pasados puede hacerse el ajuste a tiempo presente usando el índice de costos, que es un número que muestra la relación entre el precio de un equipo en un tiempo determinado y el precio del mismo en un tiempo base. Si se conoce el costo en una fecha determinada, el costo presente puede determinarse por la siguiente fórmula:

$$\text{Costo presente} = \text{Costo pasado} * \left( \frac{\text{Valor presente del índice de costos}}{\text{Valor del índice cuando el costo es conocido}} \right)$$

En la Tabla 16.7, se muestran los Chemical Engineering Plant Cost Index (CEPCI) desde el año 1995 al 2015.

Año	CEPCI	Año	CEPCI	Año	CEPCI	Año	CEPCI
1995	381.1	2001	394.3	2007	525.4	2013	567.3
1996	381.7	2002	395.6	2008	575.4	2014	576.1
1997	386.5	2003	402.0	2009	521.9	2015	556.8
1998	389.5	2004	444.2	2010	550.8		
1999	390.6	2005	468.2	2011	585.7		
2000	394.1	2006	499.6	2012	584.6		

Tabla 16.7: Chemical Engineering Plant Cost Index, de 1995 al 2015.

Como queremos estimar el valor del índice al año 2019, realizamos una línea de tendencia desde año 2000 al 2015. Según la Figura 16.1, el valor del índice al año 2019 es aproximadamente 557.

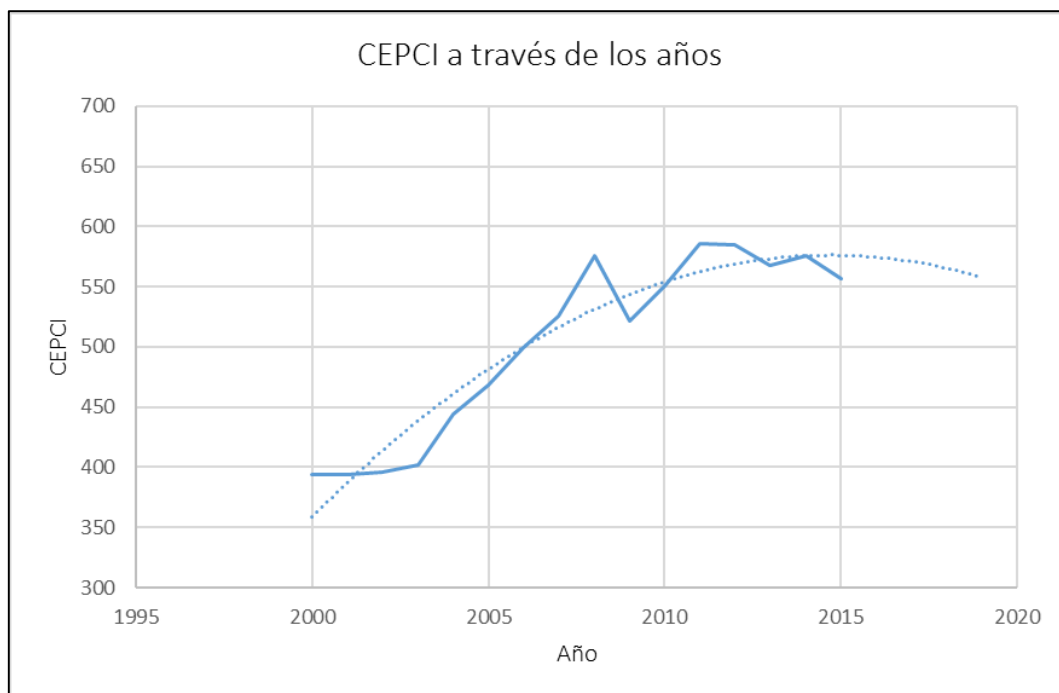


Fig. 16.1: Proyección en el valor del CEPCI, al año 2019.

### EJEMPLO:

Según tablas de costos estimativos del libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), un secador spray con una capacidad de evaporación de agua de 909 Kg/hs y una altura de 8.5 metros, al año 1996, tiene un costo de U\$ 300.000. Si buscamos estimar

el costo de un equipo con una capacidad similar, al año 2019, realizamos la siguiente secuencia de cálculo:

- Costo presente = U\$ 300.000 \* (557/381.7)
- Costo presente = U\$ 438.000

#### 16.1.1.4. Factor costo-capacidad

Cuando se tiene el costo de un equipo similar al de interés, pero con otra capacidad (volumen, diámetro, potencia, área, etc.), se hace el ajuste del precio usando una relación conocida como factor costo-capacidad.

$$\frac{C_a}{C_b} = \left(\frac{A_a}{A_b}\right)^n$$

Donde A es el parámetro a comparar, C el costo del equipo, n el exponente del costo y los subíndices a y b son el equipo con el precio a calcular y el conocido respectivamente. Cuando no se tiene el valor de n para el equipo en cuestión, se puede usar la regla heurística, que consiste en asignar un valor de 0.6 al exponente ya que el valor de éste se encuentra por lo regular cerca de 0.6 para diferentes equipos.

#### EJEMPLO:

Según tablas de costos estimativos del libro “Chemical Engineers Handbook” (Robert H. Perry, Seventh Edition, McGraw-Hill, 1999), un secador de tambor rotatorio con una capacidad de evaporación de agua de 136 Kg/hs, al año 1996, tiene un costo de U\$ 158.000. Si buscamos estimar el costo de un equipo similar con una capacidad de 640 Kg/hs al año 2019 y, sabiendo que el valor del exponente de costo n es 0.44, realizamos los siguientes cálculos:

- $C_a / \text{U\$ } 158.000 = [(640 \text{ Kg/hs}) / (136 \text{ Kg/hs})]^{0.44}$
- Obtenemos,  $C_a = \text{U\$ } 312.000$



Ahora actualizamos el costo al valor presente:

- Costo presente = U\$ 312.000 \* (557/381.7)
- Costo presente = U\$ 456.000

### 16.1.2. Capital de trabajo

El capital de trabajo comprende la disponibilidad del capital necesario para que una vez que la planta se encuentre instalada y en régimen normal de operación. Su valor se calcula utilizando factores de Lang. Esta técnica es usada en estimación de inversiones y establece que el costo de una planta industrial puede obtenerse multiplicando el costo de los equipos adquiridos por un factor. Dicho factor que usaremos será para estimar el capital de trabajo, es una aproximación con una exactitud de 30%, valor que concuerda con el método usado para calcular el capital fijo.

Tipo de planta	Factor para el capital de trabajo
De proceso sólido	0.7
De proceso sólido-líquido	0.8
De proceso líquido	0.9

*Tabla 16.8:* Factores de Lang para estimar el capital de trabajo en distintos tipos de plantas químicas.

Si bien nuestro tipo de planta corresponde a un proceso sólido-líquido, creemos que un factor de 0.8 en el capital de trabajo está sobreestimado para los costos de fabricación que tenemos en nuestro proyecto. Por lo tanto, decidimos tomar un capital de trabajo 0.5 veces el costo de los equipos entregados, lo cual representará un total de U\$ 1.769.350.

## 16.2. Costo de fabricación

Para la estimación de los costos de producción utilizaremos el método Vian, el cual separa los costos en diferentes ítems, tales como:

- Materias primas.
- Mano de obra.
- Servicios generales.
- Mantenimiento.
- Gastos generales.

### 16.2.1. Materia prima

Se realizó una estimación del costo anual de las materias primas necesarias para el proceso de producción, esto se hizo mediante catálogos de las empresas “Sigma Aldrich®”, “Thermo Fisher®”, y “IndexMundi®” al año 2019.

Materia prima	Necesidades (kg/año)	Precio unitario (U\$/Kg)	Costo (U\$/año)
Extracto de levadura	538	135	72 630
MgSO4	2 136	105	224 280
KH2PO4	1 603	115	184 345
NaH2PO4	320	100	32 000
FeSO4	5.34	90	481
ZnSO4	13.40	145	1 943
MnSO4	1.07	130	139
Tiamina (B1)	0.04	1 550	62
Pentatonato de calcio (B5)	0.54	20 300	10 962
Biotina (B8)	0.11	155 000	17 050
Ác. bórico	0.11	305	34
Ácido cítrico	1.60	225	360
Aceite de girasol	4 320	0.725	3 132
Lecitina de soja	4 320	0.743	3 210
Levadura de comercial	9 936	3.920	38 949
Total			589 576
Costo con el transporte de la materia prima (-/+ 10% extra)			648 534

Tabla 16.9: Costos anuales estimativos de materias primas.

El orujo de uva es el desecho de las industrias vitivinícolas de los alrededores, por lo tanto, para estimar su costo calcularemos el valor de su transporte en camiones bitrenes.

Según el informe “El transporte automotor de cargas en la Argentina”, elaborado con fuentes provenientes de la Federación Argentina de Entidades Empresarias del Autotransporte de Cargas (FADEAC) y la Cámara Empresaria de Operadores Logísticos (CEDOL), el costo del transporte depende, principalmente, de la distancia recorrida y la carga transportada, como se muestra en la Figura 16.2.

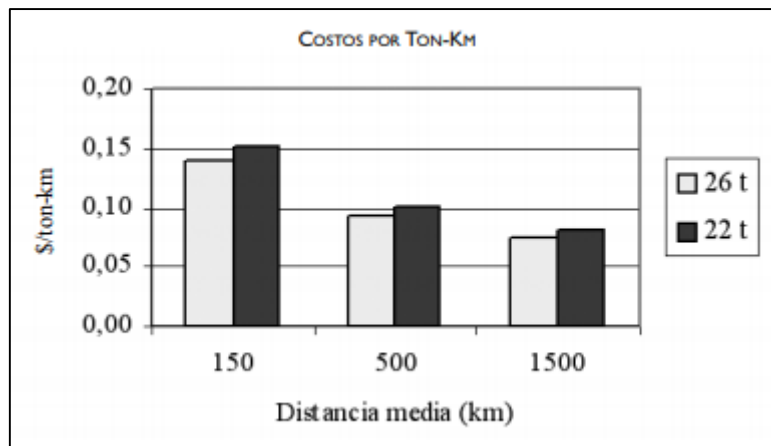


Fig. 16.2: Índice de costo en el transporte de carga en la Argentina, al año 2006.

Según la sección 7.1.1, será necesario realizar 85 viajes en camiones bitrenes por año, con una carga de 60 toneladas de orujo de uva cada uno. Considerando una distancia recorrida promedio de 150 Km en cada viaje realizado, calculamos:

- Costo =  $(\$ 0,15/\text{Tn} * \text{Km}) * (60 \text{ Tn}/\text{Camión}) * (150 \text{ Km}/\text{Viaje}) * (85 \text{ Viajes}/\text{Año})$
- Costo = \$ 115.000/Año

Como los índices del informe fueron elaborados en el año 2006, debemos actualizarlo por la inflación Argentina al año 2019, resultando en aproximadamente \$ 2.205.000/año (pesos argentinos). Por último, realizando la conversión en dólares norteamericanos a la misma fecha, obtenemos un total de U\$ 49.000/año en el transporte del orujo de uva hasta nuestra planta de proceso.

### 16.2.2. Mano de obra

Analizaremos los costos asociados con la mano de obra vinculada directamente a la producción y la asociada a las tareas de administración, como gerencia, compras, marketing y ventas. Consideraremos un total de 13 sueldos anuales, 12 mensuales más uno de aguinaldo, y una carga social total del 35% por jubilaciones y obra social médica.

Mano de obra productiva				
Carga	Total de personal	Sueldo neto (pesos/mes)	Sueldo bruto (pesos/mes)	Costo total (dolares/año)
Jefe de planta	1	150 000	202 500	58 500
Analista de laboratorio (Sr.)	4	70 000	94 500	109 200
Coord. de operarios	4	70 000	94 500	109 200
Analista de laboratorio (Jr.)	9	50 000	67 500	175 500
Operarios técnicos	18	50 000	67 500	351 000
Operarios no técnicos	18	35 000	47 250	245 700
Mano de obra administrativa				
Carga	Total de personal	Sueldo neto (pesos/mes)	Sueldo bruto (pesos/mes)	Costo total (dolares/año)
Gerente	1	250 000	337 500	97 500
Jefe de administración	1	150 000	202 500	58 500
SyMA	2	50 000	67 500	39 000
Ventas	2	50 000	67 500	39 000
Compras	2	50 000	67 500	39 000
RRHH	2	50 000	67 500	39 000
Sistemas/Marketing	2	50 000	67 500	39 000
Seguridad	9	35 000	47 250	122 850
Total				1 522 950

Tabla 16.10: Costos anuales del personal de planta.

### 16.2.3. Servicios generales

Considerando los cálculos realizados en el balance energético (sección 8), el costo generado por los consumos de servicios, suministros energéticos o de otros productos, por distribuidores externos a la planta, son los siguientes:

Servicio	Precio unitario	Consumo	Costo (U\$/año)
Electricidad	U\$ 0.085/kW	783 000 kW/año	66 500
Gas natural	U\$ 0.20/m <sup>3</sup>	200 000 m <sup>3</sup> /año	42 000
Agua de red	U\$ 0.40/m <sup>3</sup>	1 825 m <sup>3</sup> /año	730
Total			109 230

Tabla 16.11: Estimación de los costos anuales de los servicios auxiliares.

Para la estimación de costos se tuvieron en cuenta los cuadros tarifarios de las empresas “EDEMISA®”, “Distribuidora de Gas Cuyana®” y “Aguas Mendocinas®”. Por otro lado, para la estimación de los consumos de agua se consideró que, del total de agua purificada para el proceso (sección 7.4.1), el 50% es proveniente de la red y el porcentaje restante es reciclada.

**NOTA:**

Todos los consumos de servicios auxiliares poseen un margen extra del 20%.

**16.2.4. Mantenimiento**

El costo de fabricación derivado del mantenimiento involucra la revisión, sustitución de piezas o reparaciones por posibles problemas. Este factor representa un 5% anual del capital fijo, por lo que representará un total de U\$ 626.350/año.

**16.2.5. Gastos generales**

Estos costos incluyen:

- **Laboratorio.** Representan controles de calidad tanto del producto, como de las materias primas y seguimiento de la biorreacción.
- **Suministros.** Representa la adquisición de forma regular de materiales que no son materias primas, como lubricantes, herramientas, ropa de trabajo, material de oficina, etc.
- **Aseguradoras.** Aseguramiento tanto de las instalaciones, como equipos de la planta.
- **Envasado.** Bolsas para el producto terminado.
- **Expedición.** Costos relacionados al transporte y venta del producto.
- **Iluminación.** Luces de uso general dentro de la planta.

La sumatoria de estos factores representan el 50% de la mano de obra, más el 1% del capital fijo, resultando un total de U\$ 886.745/año.

**16.2.6. Estado de resultados**

Costos de fabricación	
Materia prima (Costo variable)	648 534
Mano de obra (Costo fijo)	1 522 950
Servicios generales (Costo variable)	109 230
Mantenimiento (Costo fijo)	626 350
Gastos generales (Costo fijo)	886 745
<b>Total (U\$/año)</b>	<b>3 793 809</b>
Costo unitario de producción (U\$/Kg)	31.62

*Tabla 16.12:* Costo total de fabricación.

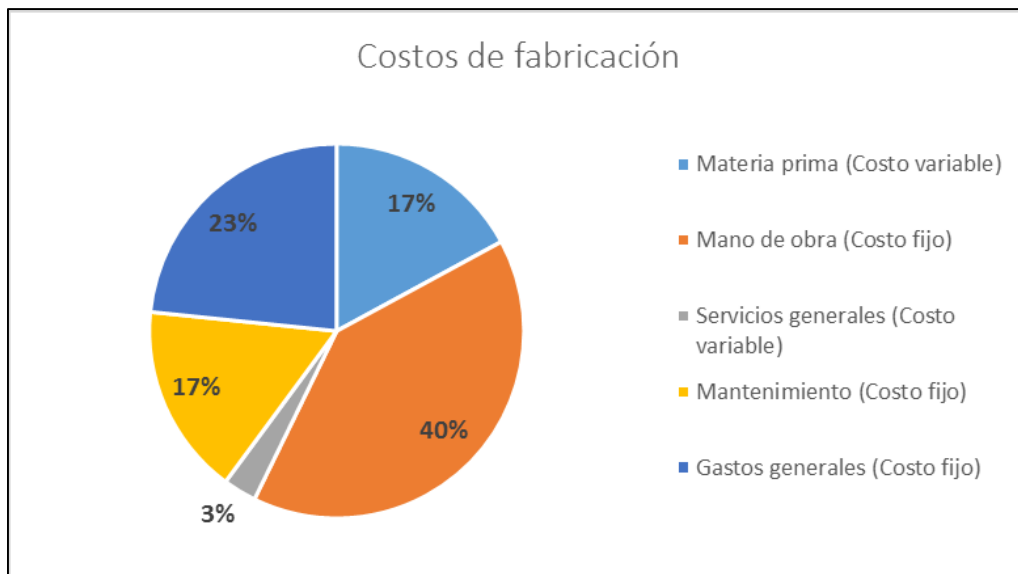


Fig. 16.3: Factores de mayor preponderancia en los costos de fabricación.

### 16.3. Análisis de inversión

Determinaremos el capital total de inversión necesario para llevar a cabo el proyecto y el mejor método de financiación del mismo.

#### 16.3.1. Capital de inversión

Con la cotización de los equipos entregados se calculan los costos fijos y el capital de trabajo, para así obtener el capital total de inversión necesario para el proyecto.

Costo total de los equipos entregados (U\$)	3 538 700
Costo fijo de inversión (U\$)	11 003 778
Capital de trabajo (U\$)	1 769 350
Capital total de inversión (U\$)	12 773 128

Tabla 16.13: Calculo del capital total de inversión del proyecto.

Costos Directo	Costo (U\$)
Equipos entregados	3 538 700
Instalación de los equipos adquiridos	707 740
Instrumentación y controles	460 031
Cañerías y tuberías	1 096 997
Sistemas eléctricos	353 870
Obras civiles	1 026 223
Mejoras del sitio	353 870
Servicios auxiliares	884 675
Terreno	600 000
Costos Indirectos	Costo (U\$)
Ingeniería y supervisión	212 322
Gastos de construcción	707 740
Honorarios de los contratistas	636 966
Contingencias	424 644
Total	11 003 778

Tabla 16.14: Desglose de los costos fijos del proyecto.

### 16.3.2. Financiación

Para la financiación del proyecto suponemos disponer el 30% del capital total de inversión, y el 70% restante se lo obtiene mediante crédito bancario. Para el mismo, se opta por un sistema de amortización francés, el cual se caracteriza por ser un sistema de amortización de cuotas constantes. Cada mes el banco recibe intereses en función del capital pendiente de amortizar. Por ello, durante los primeros años se paga una cantidad mayor de intereses que de capital y en cambio, durante el período final del préstamo, más capital y menos intereses.

En base a la información tomada por los boletines estadísticos del Banco Internacional de Desarrollo (BID), al año 2019, tomamos un crédito con las siguientes características:

Monto del crédito (U\$)	9 000 000
Forma de pago	Anual
Número de cuotas	10
Tasa de interés	5.00%

Tabla 16.15: Características del crédito solicitado.

Años	Interes (U\$)	Reducción del capital (U\$)	Cuota (U\$)	Saldo pendiente (U\$)
0				9 000 000
1	450 000	715 541	1 165 541	8 284 459
2	414 223	751 318	1 165 541	7 533 141
3	376 657	788 884	1 165 541	6 744 256
4	337 213	828 328	1 165 541	5 915 928
5	295 796	869 745	1 165 541	5 046 183
6	252 309	913 232	1 165 541	4 132 951
7	206 648	958 894	1 165 541	3 174 058
8	158 703	1 006 838	1 165 541	2 167 219
9	108 361	1 057 180	1 165 541	1 110 039
10	55 502	1 110 039	1 165 541	0

Tabla 16.16: Evolución del crédito a lo largo de su vigencia.

### 16.3.3. Depreciaciones

Con depreciación nos referimos a la disminución periódica del valor de los bienes materiales, principalmente los equipos de proceso y las obras civiles. Esta se deriva de tres razones, el desgaste debido al uso, el paso del tiempo y la vejez. Estimaremos la depreciación dividiendo capital fijo por el periodo de vida útil que corresponda.

Bienes materiales	Vida útil (años)	Monto de inversión (U\$)	Valor (U\$/año)
Equipos de proceso	10	3 217 000	321 700
Obra civil	20	1 026 223	51 311
Total			373 011

Tabla 16.17: Depreciación de los principales bienes materiales.

### 16.3.4. Estado de resultado

En la Tabla 16.17, se ofrece el resultado de los balances económicos del proyecto a lo largo de su vida útil, habiendo considerado:

- Un precio inicial de U\$ 36/Kg (sección 2.4), que se incrementará un 5% anualmente hasta el quinto año del proyecto.
- Una capacidad de producción del 70% de su máximo el primer año, del 90% el segundo año y del 100% a partir del tercer año del proyecto, lo cual afecta directamente los ingresos por ventas y los costos variables de fabricación (materias primas y servicios generales).



- Un aumento de precios y costos generalizado por la inflación estadounidense del 2% (índice IPC USA, Global Rates).

	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Precio (U\$/Kg)	36.00	38.56	41.29	44.23	47.37	48.31	49.28	50.26	51.27	52.30
Ingreso por ventas (U\$)	3 024 000	4 164 048	4 955 217	5 307 038	5 683 837	5 797 514	5 913 464	6 031 734	6 152 368	6 275 416
C. variable (U\$)	530 435	695 627	788 075	803 836	819 913	836 311	853 037	870 098	887 500	905 250
C. fijo (U\$)	3 036 045	3 096 766	3 158 701	3 221 875	3 286 313	3 352 039	3 419 080	3 487 461	3 557 211	3 628 355
Costo de fabricación (U\$)	3 566 480	3 792 393	3 946 776	4 025 711	4 106 226	4 188 350	4 272 117	4 357 559	4 444 711	4 533 605
Cuota de crédito (U\$)	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541	1 165 541
Depreciaciones (U\$)	373 011	380 471	388 081	395 842	403 759	411 834	420 071	428 472	437 042	445 783
Utilidades (U\$)	-2 081 032	-1 174 357	-545 180	-280 057	8 312	31 789	55 735	80 161	105 075	130 487

Tabla 16.18: Resultado económico del proyecto.

Para analizar la viabilidad económica del proyecto utilizaremos los parámetros del valor actual neto (VAN) y la tasa interna de retorno (TIR). Ambos conceptos se basan en la estimación de los flujos de monetarios del proyecto.

Que el valor actual neto sea superior a cero significaría la rentabilidad del proyecto, la recuperación de la inversión inicial y la ganancia de capital. La tasa interna de retorno sería el interés con el que el VAN se hace cero. Si es alto, mayor que la tasa de interés, se trata de un proyecto rentable con un retorno de inversión.

$$VAN = -I + \frac{Q_1}{(1+k)^1} + \frac{Q_2}{(1+k)^2} + \dots + \frac{Q_n}{(1+k)^n}$$

$$VAN = \sum_{n=1}^n \frac{Q_n}{(1+TIR)^n} - I = 0$$

Siendo:

- $Q_1$ ,  $Q_2$  y  $Q_n$ : Los flujos de caja (cobros menos pagos).
- $k$ : Tasa de interés.
- $I$ : Inversión inicial.

Se obtuvo el siguiente resultado del valor actual neto del proyecto.

VAN (U\$)	-12 476 522
-----------	-------------

NOTA:

No tiene sentido analizar la TIR si de antemano el VAN ofrece un resultado negativo.

## 16.4. Conclusión

Del apartado anterior podemos observar la no viabilidad del proyecto. Las utilidades producidas por las ventas a lo largo de los años nunca llegan a ser positivas, por lo cual, no se logra recuperar la inversión inicial realizada.

La explicación es debido al proceso en sí mismo. Para que sea económicamente viable, el ingreso por ventas debe ser mayor a todos los costos y tener un buen rendimiento frente al valor actual neto (VAN) y la tasa interna de retorno (TIR). Siendo las principales causas de fracaso:

- Los insuficientes niveles de biomasa generados por el microorganismo, aún con el mejor método productivo reportado en las patentes investigadas.
- Los insuficientes niveles de astaxantina producidos por la levadura *Phaffia rhodozyma*, aún con las cepas mutantes superproductoras reportadas en las patentes investigadas.
- Los bajos precios de este tipo de alimentos pigmentantes para salmónidos con bajas concentraciones de astaxantina.
- Los altos costos de inversión necesarios para la puesta en marcha del proyecto.

Estas son las principales razones por la cual, la mayor parte de las empresas que comercializan productos basados en astaxantina de origen natural, son provenientes del microalga *Haematococcus pluvialis*. La misma es capaz de generar mayores niveles de astaxantina que la *Phaffia rhodozyma* y los métodos necesarios para su producción (tales como, piletas circulación forzada o fotobiorreactores de bolsa estéril) son mucho más económicos. Esto se debe al propio metabolismo de las algas, ya que diferencia de los hongos (incluidas las levaduras), son microorganismos fotosintéticos. Lo cual significa que son capaces de producir su propio alimento a partir de la luz solar.



*Fig. 16.4:* Piletas de circulación forzadas para el crecimiento del microalga *H. pluvialis*.

Por otro lado, las empresas buscan focalizar su producción hacia suplementos dietarios con alto poder antioxidante (otra de las características funcionales de la astaxantina) y productos cosméticos, ya que, si bien requieren procesos de purificación más complejos y costosos, se obtienen productos de mayor valor agregado con menor cantidad de astaxantina.



## 17. Anexos

### 17.1. Oportunidad de proyecto

TRANSFERENCIA
PLATAFORMA DE DEMANDAS Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA
PDTT

# Desarrollo de Astaxantina para acuicultura a partir de levaduras

Sector Productivo Demandante  
Acuicultura - Salmónidos

}


Posible Sector Oferente  
Biotecnología

**TIPO DE SOLUCIÓN TECNOLÓGICA**

- Procesos y metodologías
- Desarrollo de Producto


**BREVE DESCRIPCIÓN DEL SECTOR DEMANDANTE**

La acuicultura conforma el sector productor de alimentos de más veloz crecimiento a nivel mundial. Ha experimentado un crecimiento promedio anual del 5,8% en la década 2005-2014 según la FAO (2016). Este crecimiento notable ha llegado a superar por primera vez en el 2014 al pescado capturado con destino a consumo humano (FAO 2016). El papel de la Argentina en este mercado es muy bajo a pesar de contar con condiciones adecuadas de producción. Desde el Estado nacional se vienen tomando medidas para promover esta actividad y es importante generar insumos de producción nacional, sustituyendo importaciones, en lo posible de origen natural y que propicien cultivos de mayor valor agregado como puede ser los considerados "orgánicos".




Presidencia  
de la Nación

Ministerio de  
Ciencia, Tecnología  
e Innovación Productiva



Secretaría de  
Planeamiento y Políticas



INNOVACIÓN  
ARGENTINA

## CARACTERIZACIÓN DE LA PROBLEMÁTICA QUE DA ORIGEN A LA OPORTUNIDAD DE MEJORA IDENTIFICADA

El cultivo de salmónidos en Argentina se basa exclusivamente en el cultivo de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*), que representa aproximadamente el 40 % del total de la producción acuícola del país. El valor de mercado de los salmónidos está estrechamente ligado al color rosado de su carne y a ser el mismo entendido por el consumidor como señal de calidad del producto. A su vez, es un carácter distintivo de los salmónidos que le confiere un sello de exclusividad. Este color se debe al depósito de carotenoides, principalmente la astaxantina, que los salmónidos no pueden sintetizar de novo y que deben ser incorporados con la dieta para obtener un producto atractivo para el mercado.

Los salmónidos no tienen la capacidad de sintetizar carotenoides por sí mismos y por lo tanto son absolutamente dependientes de la dieta para lograr la pigmentación normal que le conocemos, el característico color rosado-naranja. La ausencia de pigmento en la dieta de salmones y truchas en cautiverio da como resultado un músculo pálido, sin color y por lo tanto poco atractivo para el consumidor, razón por la cual deben ser agregados al alimento que se les proporciona.

## BIENES O TECNOLOGÍAS INNOVADORAS QUE SON REQUERIDAS PARA DAR SOLUCIÓN A ESTA PROBLEMÁTICA

*Phaffia rhodozyma* es una levadura basidiomicética fermentadora, conocida por su capacidad exclusiva de producir el pigmento carotenoide astaxantina. Poblaciones nativas de esta levadura han sido encontradas en los bosques autóctonos de la Patagonia Andina Argentina. A través del mejoramiento de las levaduras productoras, la optimización de las condiciones de cultivo y tratamiento de la biomasa para disponibilizar el pigmento, así como el aprovechamiento de residuos agroindustriales para su cultivo es posible generar mediante procesos biotecnológicos una fuente rentable, ambientalmente inocua y natural de este pigmento para su aprovechamiento en acuicultura, que reemplace a las astaxantinas sintéticas que se utilizan actualmente.

## ANTECEDENTES DE LA OPORTUNIDAD DE INNOVACIÓN Y LÍNEAS DE TRABAJO EXISTENTES

En condiciones de cultivo, se ha probado la efectividad de varios carotenoides y sustancias que los contienen como agentes pigmentantes, con énfasis en astaxantina y cantaxantina sintética y es común que se usen ambas, en diferentes proporciones, aunque con predominio de astaxantinas de origen sintético.

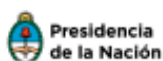
Cabe resaltar que existen alimentos para salmónidos de "terminación", producidos en nuestro país, que poseen agregados de astaxantina, aunque de origen sintético, para dotar de la pigmentación buscada por los consumidores durante las fases de crecimiento previas al procesamiento de los salmónidos.

En nuestro país, Colabella y Libkind (2016) han desarrollado un método que tiene la sensibilidad y la especificidad requerida para la detección precisa de nuevos aislamientos de *Phaffia rhodozyma*, y, por lo tanto, representa una importante herramienta para la búsqueda ambiental de nuevas levaduras productoras de astaxantina. En dicho trabajo los autores describen el desarrollo exitoso de un cebador especie-específico, capaz de detectar rápidamente y con precisión cepas representativas de todos los linajes del género *Phaffia* previamente reportados (incluyendo nuevas especies del género) y excluir especies estrechamente relacionadas.

Para más detalle véase Colabella, F., & Libkind, D. (2016). Un método basado en la PCR para la identificación rápida de levaduras acumuladoras de astaxantina (*Phaffia* spp.). *Revista argentina de microbiología*, 48(1), 15-20.

## DEMANDA LOCAL POTENCIAL DE ESOS BIENES O TECNOLOGÍAS INNOVADORAS

En la Argentina se produjeron alrededor de 1500 toneladas de trucha arco iris durante el año 2015, siendo la segunda especie en importancia luego del pacú. La mayor parte de la producción se lleva a cabo en la Patagonia



Ministerio de  
Ciencia, Tecnología  
e Innovación Productiva



(ARG)<sup>i</sup> INNOVACIÓN  
ARGENTINA

Argentina. Sin embargo en el 2013 se importaron de Chile 6600 toneladas de salmón lo que marca el mercado potencial para la producción en el país de este tipo de producto. Cabe destacar que el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa) mediante Resolución 375/2013 declaró zona libre de enfermedades de los salmónidos a la zona comprendida por la cuenca alta del río Limay, incluyendo al Embalse Alicurá hasta la presa hidroeléctrica del mismo nombre. En contrapartida la producción chilena de salmónidos ha experimentado en los últimos años serias críticas por el gran uso de antibióticos que lleva a cabo en relación con las enfermedades de cultivo, lo cual impacta positivamente en el potencial de producción de salmónidos en nuestro país en general, y en la cuenca del río Limay en particular. Asimismo, considerando la potencial exportación del producto, el producto podría venderse en otros países como Chile que por su cercanía geográfica y su rol de líder en la materia, (produce aproximadamente 70.000 toneladas anuales de salmón rosado) podría ser un potencial comprador.

## IMPACTO

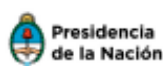
La inclusión de Astaxatina representa un agregado de valor en la producción de alimento para truchas de entre un 10 y un 25%. La producción de estos carotenoides sintéticos tiene un potencial muy alto en la salmonicultura, del orden de los 120 millones de dólares.

La disponibilidad de Astaxantina de origen natural para su uso en acuicultura redundará en una mejora de la calidad final de la producción de Trucha Arcoiris, al impactar positivamente en la percepción que en el mercado consumidor tiene la coloración de la carne. De esta forma cabe preverse una mayor aceptación tanto en el mercado interno (donde puede ser un sustituto del salmón rosado, utilizado muy frecuentemente en la producción de sushi y otras comidas de la llamado etilo "gourmet"), así como también en los mercados internacionales.

En forma conjunta con el carácter de zona libre de enfermedades de los salmónidos referida previamente, de la cuenca alta del Río Limay, cabe esperarse además de la mencionada mayor aceptación nacional como internacional del producto, lograr un mayor valor agregado si lograra dotar de un carácter de productos orgánicos a las truchas de dicha cuenca. En este sentido, la Astaxantina producida a partir de levaduras, no iría contra dicha condición.

Adicionalmente, cabe destacarse el hecho de que debido a su excelente poder antioxidante, la astaxantina también se emplea en las industrias cosmética y nutracéutica. Actualmente, el mercado se vuelca cada vez más a productos que no contengan pigmentos o aditivos químicos, favoreciéndose así las fuentes naturales.

En resumen, puede plantearse que el impacto de proyecto derivado de esta demanda de innovación abarcará el fomento de la biotecnología nacional en beneficio de la producción de salmónidos, la sustitución de importaciones, y el desarrollo de nuevos puestos de trabajo.



Presidencia  
de la Nación

Ministerio de  
Ciencia, Tecnología  
e Innovación Productiva

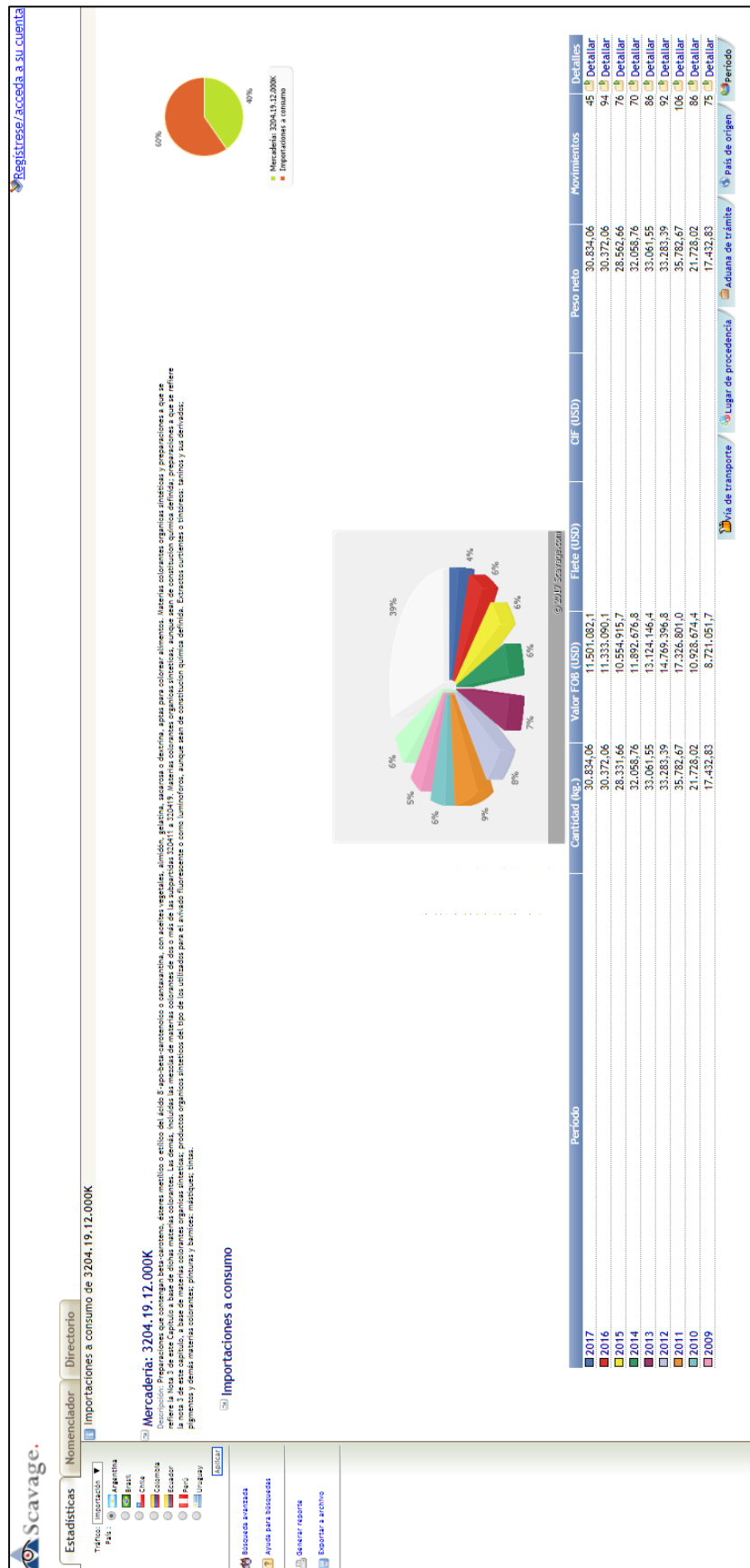


Secretaría de  
Planeamiento y Políticas

(ARG)<sup>i</sup> | INNOVACIÓN  
ARGENTINA



## 17.2. Importaciones de mercaderías con astaxantina en Argentina





## 17.3. Patente de referencia



US006015684A

**United States Patent** [19]**Jacobson et al.**[11] **Patent Number:** **6,015,684**[45] **Date of Patent:** **Jan. 18, 2000**

[54] **ASTAXANTHIN OVER-PRODUCING STRAINS OF PHAFFIA RHODOZYMA METHOD FOR THEIR CULTIVATION AND THEIR USE IN ANIMAL FEEDS**

[75] Inventors: **Gunnard Kenneth Jacobson**, Brown Deer; **Setsuko Omata Jolly**, Glendale; **Joseph James Sedmak**, Brookfield; **Thomas Joseph Skatrud**, Menomonee Falls; **John Marion Wasileski**, Brown Deer, all of Wis.

[73] Assignee: **Archer-Daniels-Midland Company**, Decatur, Ill.

[21] Appl. No.: **08/967,034**

[22] Filed: **Nov. 10, 1997**

**Related U.S. Application Data**

[62] Division of application No. 08/557,714, Nov. 13, 1995, Pat. No. 5,922,560, which is a continuation of application No. 08/049,825, Apr. 19, 1993, Pat. No. 5,466,599.

[51] **Int. Cl.**<sup>7</sup> ..... **C12P 23/00**; C12N 1/16

[52] **U.S. Cl.** ..... **435/67**; 435/255.1

[58] **Field of Search** ..... 435/67, 255.1

[56] **References Cited****U.S. PATENT DOCUMENTS**

5,182,208	1/1993	Johnson et al.	435/254
5,356,809	10/1994	Johnson et al.	435/255.1
5,356,810	10/1994	Fleno et al.	435/225.1
5,599,711	2/1997	Fleno et al.	435/255.1

**FOREIGN PATENT DOCUMENTS**

0 438 182 A1	7/1991	European Pat. Off.	.
0 454 024 A2	10/1991	European Pat. Off.	.
57-206342	12/1982	Japan	.
2-238855	9/1990	Japan	.
WO 88/08025	10/1988	WIPO	.

**OTHER PUBLICATIONS**

English Language Abstract of Japanese Patent No. 57-206342 (Dec. 17, 1982) WPI Accession No. 83-10788K/198305.

English Language Abstract of Japanese Appl. No. 2-238855 (Sep. 21, 1990) WPI Accession No. 90-331782/199044.

English Language Abstract of Japanese Patent No. 4158749 (Jun. 1, 1992) WPI Accession No. 92-231737/199228.

An, G.W. and Johnson, E.A., "Influence of light on growth and pigmentation of the yeast *Phaffia rhodozyma*," *Antonie van Leeuwenhoek* 57:191-203 (1990).

Andrewes, A.G. et al., "Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a Red-Pigmented Fermenting Yeast," *Phytochemistry* 15:1003-1007 (1976).

Binkowski, F.P. et al., "An Evaluation Of *Phaffia* Yeast As A Pigment Source For Salmonids," *Aquaculture Magazine*, pp. 1-4, Mar./Apr. 1993.

Gentles, A. and Haard, N.F., "Pigmentation of Rainbow Trout with Enzyme-Treated and Spray-Dried *Phaffia rhodozyma*," *The Progressive Fish-Culturist* 53:1-6 (1991).

Johnson, E.A. et al., "The Yeast *Phaffia rhodozyma* as a Dietary Pigment Source for Salmonids and Crustaceans," *J. Fish. Res. Board Can.* 34:2417-2421 (1977).

Johnson, E.A., "Astaxanthin Production by the yeast *Phaffia rhodozyma* and its use as a Pigment Source in Animal Feeding," Master's Thesis, U.C. Davis (1978).

Johnson, E.A. et al., "Simple Method for the Isolation of Astaxanthin from the Basidiomycetous Yeast *Phaffia rhodozyma*," *Appl. Environ. Microbiol.* 35:1155-1159 (1978).

Johnson, E.A. and Lewis, M.J., "Astaxanthin Formation by the Yeast *Phaffia rhodozyma*," *J. Gen. Microbiol.* 115:173-183 (1979).

Johnson, E. A. et al., "*Phaffia rhodozyma* as an Astaxanthin Source in Salmonid Diets," *Aquaculture* 20:123-134 (1980).

Johnson, E.A. and An, G.H., "Astaxanthin from Microbial Sources," *Crit. Rev. Biotech.* 11:297-326 (1991).

Meyers, S.P. and Chen, H.M., "Astaxanthin and its Role in Fish Culture," *World Aquaculture Society*. Special publication No. 3, pp. 153-165 (1982).

Miller, M.W. et al., "*Phaffia*, a New Yeast Genus in the *Deuteromycotina* (*Blastomycetes*)," *Int. J. Syst. Bacteriol.* 26:286-291 (1976).

Official Methods of Analysis, A.O.A.C. 14<sup>th</sup> Edition, Sections 10.215-10.225 (1984).

Sedmak, J.J. et al., "Extraction and Quantitation of Astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*," *Biotech. Tech.* 4:107-112 (1990).

Torrissen, O.J. et al., "Pigmentation of Salmonids—Carotenoid Deposition and Metabolism," *CRC Crit. Rev. Aquatic Sci.* 1:209-225 (1989).

Torrissen, O.J., "Biological Activities of Carotenoids in Fishes," Proc. Third. Int. Symp. on *Feeding and Nutr. in Fish*, Toba Aug. 28-Sep. 1, 1989, Japan, pp. 387-399.

Affidavit of Ramin Abrishamian from Civil Action No. MJ697-2493 (Aug. 8, 1997).

Answer and Counterclaims of Igene Biotechnology, Inc. from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 25, 1997).

(List continued on next page.)

*Primary Examiner*—Herbert J. Lilling*Attorney, Agent, or Firm*—Sterne, Kessler, Goldstein & Fox PLLC[57] **ABSTRACT**

*Phaffia rhodozyma* strains are described which produce greater than 3,000 ppm astaxanthin based on dry yeast solids when cultivated in a volume of nutrient medium of at least about 1,500 liters and containing in excess of 4 percent, preferably in excess of 6 percent, dry yeast solids. These and other strains are cultivated by an improved fermentation method comprising extending the maturation phase of the fermentation by one or more various techniques including exposing the yeast cells to a low-intensity light, slow feeding the cells with a rapidly metabolized energy source, e.g. glucose, and replacing the rapidly metabolized energy source with a slowly metabolized energy source, e.g. glycerol. The cells of these strains are incorporated into animal feeds, particularly feeds for salmonid fishes, to impart or enhance the red pigmentation of these animals and products made from these animals.

**19 Claims, 5 Drawing Sheets**

**6,015,684**

Page 2

**OTHER PUBLICATIONS**

Declaration of Arnold Lester Demain from Appeal Case No. T737/96-334 filed against the Decision of the Opposition Division dated Jun. 27, 1996 (Oct. 31, 1996).

Declaration of John Louis Harris from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 11, 1997).

Declaration of Stephen Hiu, Ph.D. with Attached Exhibits SH1-SH17 from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 11, 1997).

Declaration No. 1 of Gunnard K. Jacobson, Ph.D. from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 27, 1997).

Declaration of Robert Todd Lorenz from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 11, 1997).

Declaration of Patrick Monahan from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 11, 1997).

Declaration of Gary W. Sanderson from Appeal Case No. T737/96-334 filed against the Decision of the Opposition Division dated Jun. 27, 1996 (Nov. 6, 1996).

Declaration No. 4 of Thomas J. Skatrud, Ph.D. from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 27, 1997).

Defendant's (Igene's) Opposition to Plaintiff's (Archer-Daniels-Midland Company's) Motion for Preliminary Injunction from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 12, 1997).

Interlocutory Decision in Opposition Proceedings (Article 106(3) EPC), Issued in European Application No. 88903778.4-2105/0367765, Jun. 27, 1996.

Plaintiff's (Archer-Daniels-Midland Company's) Reply to Defendant's (Igene Biotechnology, Inc.'s) Opposition to Plaintiff's (Archer-Daniels-Midland Company's) Motion for Preliminary Injunction from Civil Action No. S97-2358 (Aug. 29, 1997).

Statement of Grounds of Appeal on Behalf of Universal Foods Corporation from Appeal Case No. T737/96-334 filed against the Decision of the Opposition Division dated Jun. 27, 1996 (Nov. 7, 1996).

6,015,684

**1**  
**ASTAXANTHIN OVER-PRODUCING  
 STRAINS OF PHAFFIA RHODOZYMA  
 METHOD FOR THEIR CULTIVATION AND  
 THEIR USE IN ANIMAL FEEDS**

This is a division of U.S. Application No. 08/557,714, filed Nov. 13, 1995, allowed, which is a continuation of U.S. Application No. 08/049,825, filed Apr. 19, 1993; U.S. Pat. No. 5,466,599, all of which are incorporated herein by reference.

**BACKGROUND OF THE INVENTION**

This invention relates to astaxanthin. In one aspect, the invention relates to astaxanthin produced by yeast cells while in another aspect, the invention relates to methods of producing and cultivating mutant strains of *Phaffia rhodozyma* yeast cells that produce astaxanthin in excess of the typical *Phaffia rhodozyma* yeast cell found in nature. In yet another aspect, the invention relates to using products made from these yeast cells as a dietary supplement in various animal feeds.

A distinct red color is of prime importance to customer acceptance of certain food products, particularly aquatic food animals such as salmon, sea bream, trout, shrimp, lobster and many other marine animals. The oxygenated carotenoid astaxanthin (3,3'-dihydroxy- $\beta$ ,  $\beta$ -carotene-4,4'-dione) is responsible for the red color of these aquatic animals. In addition to being responsible for the characteristic color of these animals, astaxanthin plays a critical nutritional role in the life of these marine animals (Torrissen, 1989. Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutr. in Fish, Toba Aug. 28-Sept. 1, Japan, pp. 387-399, Meyers and Chen, 1982. World Aquaculture Society, Special Publication No. 3, pp. 153-165). These references are incorporated herein by reference. This carotenoid is also useful for adding pigmentation to the flesh and products of other animals, and to other foodstuffs, e.g. poultry and eggs, various dairy products, snack foods, and the like.

Astaxanthin is the most abundant carotenoid present in the aquatic world. Aquatic animals, like terrestrial animals, generally cannot synthesize astaxanthin or any other carotenoid, although many of these animals accumulate carotenoid compounds that are present in their diets. Some of these animals, such as crustaceans, can interconvert some carotenes to oxygenated forms of carotenoids (called xanthophylls) of which astaxanthin is the predominant compound formed. However, salmonid fishes and red sea bream accumulate dietary astaxanthin even though these fish cannot convert any other carotenoid compound to astaxanthin. Therefore, the astaxanthin present in salmonid and sea bream fish, and in products produced from these fish, must be derived directly from dietary sources.

Plants, including marine microalgae and special yeasts such as *Phaffia rhodozyma*, are the primary source of carotenoid compounds in the world. As noted above, carotenoids are not biosynthesized de novo by animals. However, animals in general require certain carotenoids from which they benefit directly or indirectly, and these carotenoids are obtained from dietary sources. Examples of substances essential to most animals that are derived from certain carotenoids are vitamin A and rhodopsin. In the marine world, animals that are low on the food chain, such as crustaceans, eat microalgae and other carotenoid containing organisms from the plant world, and convert the carotenoid compounds present in large part to astaxanthin by natural metabolic processes. The astaxanthin is then stored in the body of these astaxanthin producing animals.

**2**

Wild grown salmonid fishes and red sea bream obtain their astaxanthin from the crustaceans and other astaxanthin containing organisms that make up an important part of their diet. In the case of pen-grown salmonids and red sea bream, the feeds used to produce these fish must be supplemented with astaxanthin in order to provide a dietary source of this important natural constituent of these fishes. Currently, synthetic astaxanthin is added to feeds prepared for production of salmonids and red sea bream in aquaculture to provide a source of this carotenoid compound. In some cases, synthetic canthaxanthin (an oxygenated carotenoid compound that is very closely related to astaxanthin) is used in place of astaxanthin in feeds for salmonids and red sea bream, but this compound does not function as well in these fishes as the naturally predominant astaxanthin.

Natural sources of dietary astaxanthin are in great demand by the aquacultural industries. Natural sources of dietary carotenoids that have been investigated for farmed fish include krill, crawfish, crustacean processing by-products, algae and higher plants. However, these natural sources tend to be too expensive and of limited availability and reliability to be commercially viable.

The red yeast, *Phaffia rhodozyma*, has received great attention from industry as a natural source of astaxanthin since it was isolated from tree sap, and the red color identified as astaxanthin (Miller, Yoneyama and Soneda, 1976. Int. J. Syst. Bacteriol. 26:286-291, Andrewes, Phaff and Starr, 1976. Phytochem. 15:1003-1007) *Phaffia rhodozyma* was first demonstrated to pigment salmonid fishes in 1977 (Johnson, Conklin and Lewis, 1977. J. Fish. Res. Board. Can. 34:2417-2421, Johnson, Villa and Lewis, 1980. Aquaculture. 20:123-134). The potential advantages of *Phaffia rhodozyma* as a source of carotenoid pigments for aquaculture are that it is a natural product rich in essential nutrients (e.g. protein, lipids and B-vitamins) and that it contains astaxanthin (Johnson, Villa and Lewis, 1980. Aquaculture. 20:123-134). However, natural isolates of *Phaffia rhodozyma* produce so little astaxanthin (typically 100 to 300 parts per million (ppm)) that they are not practical or economical pigment sources for aquaculture (Torrissen, Hardy and Shearer, 1989. Reviews in Aquatic Science 1:209-225, Johnson and An, 1991. CRC Crit. Rev. Biotech. 11:297-326). If *Phaffia* strains are to be an economically feasible feed additive for coloring aquatic animals, or any other potential foodstuff (animal or otherwise), then astaxanthin over-producing strains must be developed. Each of the references cited in this paragraph are incorporated herein by reference.

Mutants of naturally occurring "wild-type" *Phaffia* have been described in the literature, allegedly capable of generating higher levels of astaxanthin than the wild-type yeasts (International Publication No. WO 88/08025 International Application No. PCT/DK88/00068); EPO Publication No. 0 438 182 A1 (EPO Application No. 91900682.3); EPO Publication No. 0 454 024 A2 (EPO Application No. 91106436.8); International Publication No. WO 91/02060 (International Application No. PCT/US90/00558); EPO Publication No. 0 474 347 A1 (EPO Application No. 91306489.5); and EPO Publication No. 0 427 405 A1 (EPO Application No. 90311254.8), all of which are incorporated herein by reference). These strains reportedly produce higher levels of astaxanthin than the wild-type isolates under specific conditions. However, these mutant strains produce higher levels of astaxanthin only at relatively low biomass concentrations. At relatively high biomass concentrations, these mutant strains produce only low levels of astaxanthin which are not high enough to be practical.

6,015,684

3

Thus far, none of the reported *Phaffia* strains are capable of producing astaxanthin efficiently enough to compete economically with synthetic astaxanthin. Commercially viable strains have to produce astaxanthin at substantially higher levels than strains reported in the literature. To develop an economically viable astaxanthin production process, a strain should produce in excess of 3,000 ppm, preferably in excess of 4,000 ppm, astaxanthin based on dry yeast solids at more than 4 wt %, preferably more than 6 wt %, dry yeast solids (dys) in a large volume of nutrient medium, e.g. 1,500 liters (1) or more. As here used, "wt % dry yeast solids" or simply "dry yeast solids" are washed solids determined by the method described in Official Method of Analysis, A.O.A.C. 14th Edition (1984) Sections 10.215-10.225, which is incorporated herein by reference.

Besides the need to develop a suitable strain of *Phaffia rhodozyma* for commercial astaxanthin production, methods for cultivating *Phaffia rhodozyma* also need to be developed which maximize astaxanthin production in large fermentors. Only limited literature sources are available dealing with the growth of *Phaffia* and production processes of astaxanthin in large fermentors (International Publication No. WO 88/08025 (International Application No. PCT/DK88/00068), and EPO Publication No. 0 454 024 A2 (EPO Application No. 91106436.8) both of which are incorporated herein by reference). These reported fermentation processes give significantly lower yeast solids and astaxanthin levels than that required for an economically viable commercial scale fermentation process.

Not only do the various elements of producing astaxanthin from yeast cells require improvement, but so do the elements of astaxanthin absorption and deposition in animal flesh and animal products. Carotenoid absorption and deposition in fish are affected by various factors: genetics, size, age, sex, duration of pigment feeding, environmental factors, and diet composition (Torrissen, Hardy and Shearer: 1989: Reviews in Aquatic Science, 1:209-225, which is incorporated herein by reference).

Various reports are available concerning the formulation of *Phaffia* or carotenoid products (International Publication No. WO 88/08025 (International Application No. PCT/DK88/00068), EPO Publication No. 0 474 347 A1 (EPO Application No. 91306489.5), EPO Publication No. 0 454 024 A2 (EPO Application No. 91106436.8), and Japanese Patent Applications 57-206342, 2238855 and 90 JP-285090 are exemplary, all of which are incorporated herein by reference). In these reports, *Phaffia* products were formulated in order to protect the pigments during drying as well as during subsequent processing into fish feed. Various antioxidants and stabilizers were added to *Phaffia* preparations for those purposes.

The body temperature of salmonid fishes is equal to the temperature of the water in which they inhabit, e.g. generally 0 to 14 degrees Centigrade (C). This means that the body temperature of these fishes can be, and occasionally is, lower than 10 C. Astaxanthin in *Phaffia* is concentrated in oil droplets. *Phaffia* oil contains about 13% palmitic acid (16:00) with a melting point of 64 C., and about 32% oleic acid (18:1n9) with a melting point of 16 C. Because of these high melting point fatty acids, *Phaffia* oil solidifies near 10 C. This makes it difficult for fishes to incorporate *Phaffia* astaxanthin at water temperatures below 10 C. at which *Phaffia* oil is solidified.

#### SUMMARY OF THE INVENTION

In one embodiment of the present invention, we have developed and isolated novel strains of *Phaffia rhodozyma*

4

which produce greater than 3,000 ppm, often more than 4,000 ppm, astaxanthin based on dry yeast solids at more than 4 wt %, often more than 6 wt %, dry yeast solids when grown under suitable conditions and in a working volume of nutrient media of at least about 1,500 l. These *Phaffia* strains can produce astaxanthin economically on a commercial production scale for the aquacultural and food industries. Certain of these *Phaffia* strains were deposited with the American Type Culture Collection of Rockville, Md., on Apr. 6, 1993 under numbers ATCC-74218 (UBV-AX1), ATCC-74219 (UBV-AX2), ATCC-74220 (UBV-AX3), and ATCC-74221 (UBV-AX4).

In another embodiment of this invention, we have discovered methods for the cultivation of *Phaffia rhodozyma* cells which produce high yeast solids and high levels of astaxanthin. Generally, these methods include providing special fermentation conditions that promote the growth of the organism in terms of an increase in cell numbers during a growth phase, and in terms of an enhanced and steady accumulation of astaxanthin in the cells during a maturation phase. More specifically, these methods include exposing the yeast cells during the growth and maturation phases of fermentation to a source of light, and/or extending and stimulating the astaxanthin formation during the maturation phase by controlling the feed rate of fermentable sugar, e.g. glucose, or by providing the yeast cells with energy sources that are slowly metabolized, e.g. glycerol.

In another embodiment of this invention, we have discovered that the *Phaffia* strains of this invention need not be disrupted to make astaxanthin available to salmonids, sea bream, crustaceans, and other animals. Astaxanthin in undisrupted cells is more stable during drying, storage and feed preparation processes.

In yet another embodiment of this invention, we have discovered that a novel formulation of *Phaffia* product increases the astaxanthin deposition in fishes. This formulation is a blend of undisrupted *Phaffia* cells, vegetable oil or a blend of vegetable oils with a low solidification point, an emulsifier, and an antioxidant.

#### BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The file of this patent contains at least one drawing executed in color. Copies of this patent with color drawing (s) will be provided by the Patent and Trademark Office upon request and payment of the necessary fee.

FIGS. 1-8 are photomicrographs showing the appearance of various mutant strains.

FIG. 9 describes the weight gain of rainbow trout over the course of a feeding trial.

FIG. 10 describes the pigmentation of rainbow trout over the course of the same feeding trial as that of FIG. 9.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

##### Mutagenesis

Astaxanthin over-producing yeast strains can be obtained by consecutive mutagenesis followed by suitable selection of mutant strains which demonstrate superior astaxanthin production. Preferably, the yeast cells are of the genus *Phaffia*, and more preferably of the species *Phaffia rhodozyma*. Starting wild type yeast cell strains include those on deposit with the various culture collections throughout the world, e.g. the ATCC and the Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS). Typically it is necessary to perform two or more consecutive rounds of mutagenesis to obtain desirable mutant strains.

6,015,684

5

Any chemical or nonchemical (e.g. ultraviolet (UV) radiation) agent capable of inducing genetic change to the yeast cell can be used as the mutagen. These agents can be used alone or in combination with one another, and the chemical agents can be used neat or with a solvent.

In those mutagenesis protocols employing a chemical mutagen, typically the mutagen is introduced into a buffered volume of cells, thoroughly mixed, and then the tubes are incubated at room temperature for 1 to 12 hours (hr) with continuous gentle agitation. After the incubation, the reaction mixture is plated directly onto agar medium plates. The composition of the agar can vary, but typically the composition includes glucose (or other carbon source), yeast extracts (such as those available from Universal Foods Corporation), agar, and a screening agent that inhibits pigment formation and/or cell growth. The cells are distributed evenly across the agar surface, usually by shaking with sterile 5 millimeter (mm) glass beads. The plates are then inverted and incubated at about 21 C. for 6-10 days under illumination which is preferably a continuous low-intensity light. Similar growing techniques are employed for those mutagenesis protocols in which the mutagen is a nonchemical.

#### Screening for High Astaxanthin-Producing Mutants

##### Initial Screening on Plates and in Shake Flasks

After the incubation period, those yeast colonies that appear better pigmented to the human eye than the mutagenized parent strain are collected and subcultured onto new agar plates (often of the same composition as those used to grow the mutagenized parent strain). After an additional incubation period of 6-10 days under like conditions, the new isolates that continue to be heavily pigmented are inoculated into flasks, e.g. 50 ml flasks containing 10 ml of a blend of glucose and yeast extract. The isolates are then typically incubated for another 6-10 days under similar conditions to the previous incubations but this time on a shaker operating at about 200 revolutions per minute (rpm). After this incubation period, an aliquot (e.g. 0.2 ml) is taken and the total carotenoid content and astaxanthin content determined. Those strains exhibiting enhanced astaxanthin producing capabilities are candidates for additional screening in a small batch fermentation, and are typically stored by freezing in an appropriate medium, e.g. 15 vol % glycerol at minus 80 C., until required for the next mutagenesis or screening. This storage technique can be used after any of the screening steps or for simply maintaining production strains.

##### Screening in a Small Batch Fermentation

Following selection of appropriate astaxanthin producing mutants at the 50 ml flask level, mutants are then usually screened for performance in 2 l fermentors (e.g. Omni-Culture Fermentors, Virtis Corp., Gardiner, N.Y.) containing approximately 1.5 l of nutrient medium. In a typical screening procedure at this level, 250 ml flasks containing 30 ml of a blend of glucose and yeast extract are each inoculated with 100-250  $\mu$ l of mutant yeast cells taken from a frozen stock of the strain of yeast cells that is to be tested. These flasks are then shaken at 200 rpm at 20-22 C. under continuous light for 3 days. Aliquots of these cell cultures (15-20 ml) are then used to inoculate into the fermentors.

The working volume in these 2 l fermentors is usually 1.5 l of an enriched glucose yeast extract medium supplemented with various vitamins and minerals in assimilable form. Typical of these vitamins and minerals are ammonium sulfate, potassium phosphate, magnesium sulfate, zinc sulfate, ferric ammonium sulfate, copper sulfate, inositol, pyridoxine hydrochloride, thiamine, calcium pantothenate,

6

biotin, and the like. The combinations and concentrations of these materials, including the glucose and yeast extracts, can vary to convenience. If desired, an antifoam agent and/or other additives can also be incorporated into or used with the medium.

The fermentor with its medium is sterilized by autoclaving. The pH of the media is usually maintained between 4.5 and 7, and the temperature between 15-24 C. The medium is usually sparged with filter sterilized air (e.g. 2 liters per minute (l/min)), and it is continuously agitated (e.g. 700 rpm). Fermentations typically last 4-6 days, and they are sampled periodically for cell growth and astaxanthin production. Strains showing appropriate levels of growth and astaxanthin production are candidates for screening at the fed-batch fermentation level.

##### Screening in a Fed-Batch Fermentation

Following identification of astaxanthin over-producing mutants in small batch fermentations, mutants are further screened for fast growth rate, high solids production and high astaxanthin production levels in 14 l, 20 l, 250 l and 2,000 l fermentors. Typically, strains are propagated in fermentors over a pH range of about 4.5 to 7 controlled with aqueous ammonia, sodium hydroxide or both at a temperature range of 15 to 24 C. Agitation and aeration are adjusted as necessary to maintain desired growth rates. The media with which the fermentors are charged are compositionally similar to those used in the small fermentors, i.e. they contain glucose (or other suitable carbon source), yeast extracts, vitamins, minerals and other additives, all in assimilable form, although the exact recipe may and probably will vary from that used for the small fermentors. Antifoam agents and other processing aids can be used as desired.

The culture can be conducted as a batch fermentation until a desired cell density is obtained, or the glucose (or other suitable carbon source) supply can be started immediately. This supply is adjusted as necessary to obtain the best yeast growth rate and astaxanthin production. Additional nitrogen can be supplied to the fermentation in the form of ammonia or urea.

##### Cultivation of *Phaffia rhodozyma*

The *Phaffia* strains of this invention initially show rapid growth which gradually slows as they approach a high cell concentration, e.g. greater than 6 wt % biomass solids. In a typical fermentation, the rate of astaxanthin formation is initially slower than the growth rate of the *Phaffia* cells, but ultimately (during the later phase of the fermentation) the rate of astaxanthin formation exceeds the cell growth rate. We have termed this later phase the "maturation phase". We have found that the rate of astaxanthin production is highest during the early stages of the maturation phase.

In order to obtain better astaxanthin-producing fermentations, we have developed three approaches to sustain or enhance the high rate of astaxanthin production that occurs during the early stages of the maturation phase. During this enhanced maturation phase, the astaxanthin concentration is increased over the standard maturation phase by at least 2-fold, often 3-fold or more. The first technique is to expose the yeast cells to a light source, preferably a continuous, low-intensity light, during the maturation phase, particularly from its inception to that point in the phase at which the rate of astaxanthin production begins to significantly decline.

An and Johnson (Antonie van Leeuwenhoek. 1991. 57: 191-203, which is incorporated herein by reference) indicated that high intensity light inhibits the growth and carotenoid production by *Phaffia*. Evans, et al. (EPO Publication

6,015,684

7

No. 0 427 405 A1, EPO Application No. 90311254.8) indicate that *Phaffia* strains do better in daylight than in darkness. Both studies used *Phaffia* grown on agar plates. Like An and Johnson, we found that continuous fluorescent light (regular lab lighting) reduced pigment yields of *Phaffia* in shake flasks, and like Evans we found darkness to be inhibitory of carotenoid development in some *Phaffia* strains. However, we also found that a low-intensity, preferably continuous, fluorescent light, i.e. less than about 100, preferably less than about 25 watts per kiloliter fermentation broth, actually promotes carotenoid production in some *Phaffia* strains grown in liquid media. These strains include those on deposit with the American Type Culture Collection bearing numbers ATCC-74218, ATCC-74219, ATCC-74220 and ATCC-74221. We have also found that better astaxanthin production is obtained when these strains are provided with such a source of light during fed-batch fermentation. The light is not limited to any particular wavelength, but light of 250 to 700 nm, particularly visible light, is preferred. In those circumstances in which the fermentor is constructed of metal or another opaque material, the light can be made available through one or more glass (or similarly translucent material) ports while the nutrient medium containing the yeast cells is continually circulated past the port(s). Fermentation broth can also be pumped in a return circuit through a light transparent tube and returned to the fermentor. In both these cases a high-intensity light, e.g. a light that delivers more than 15 w/kl can be used since only a relatively small surface area is exposed to the light.

Second, the yeast cells are provided with a controlled amount of a rapidly, relative to a polysaccharide, metabolized energy source, e.g. glucose or sucrose. During the growth phase, the yeast cells are fed this energy source, typically glucose, as rapidly as possible with the proviso that it does not accumulate in the nutrient medium to any substantial extent. This rate will vary with the yeast cell strain, the composition of the nutrient medium, the fermentation protocol, and similar factors. The accumulation of the energy source in the medium is generally a signal that the growth phase is ending and the maturation phase is beginning.

After the desired yeast solids is achieved and prior to the accumulation of the energy source, the feed rate of the energy source is reduced to at least about 50%, preferably at least about 40%, more preferably at least about 30%, of the maximum feed rate during the growth phase. During this period of reduced energy source feed, the yeast cells continue to produce astaxanthin, but the growth in the number of yeast cells, i.e. the growth in the cell density, is restricted. This period is allowed to continue until the cells no longer produce astaxanthin at an economically desirable rate.

To maximize the accumulation of astaxanthin during the maturation phase, the energy source feed rate can be reduced in a step-wise or continuous manner. For example, with the onset of the maturation phase, the energy source feed rate can be reduced by 50% and after a certain period of time, typically 12 to 24 hours, it can be reduced another 50%.

The third technique is to feed the yeast cells a slowly, relative to glucose, metabolized energy source during the growth and/or maturation phases. These energy sources or maturation extenders include most materials that can be slowly metabolized by a yeast cell. Glycerol; polymerized forms of glucose, sucrose, and other polysaccharides typically found in molasses and certain corn syrups; various alcohols such as methanol, ethanol, etc.; and various organic acids such as succinic, glutamic, maleic, etc., are exemplary of these extenders.

8

In one embodiment of this technique (and like the reduced energy source feeding technique), these extenders are fed to the yeast cells at the time energy source (e.g. glucose) accumulation is detected in the nutrient medium, and they are fed in an amount and in a manner such that the astaxanthin production of the cells continues at a desirable rate. As this astaxanthin production rate slows, the amount of extender fed to the cells is reduced accordingly. The exact amounts and the rate of extender fed will vary with the strain, fermentation protocol, and like considerations.

In another embodiment of this technique, these slowly metabolized extenders can be fed to the yeast cells during the growth phase as part of or in addition to the energy source feed. In this circumstance, the yeast cells will first deplete the rapidly metabolized energy source, e.g. glucose, and as their rate of consumption of this energy source slows, this signals that the growth phase is ending and the maturation phase is beginning. At this time, the addition of the energy source to the nutrient medium is stopped and as the remaining rapidly metabolized energy source in the medium is exhausted, the yeast cells will begin to metabolize the remaining slowly metabolized energy sources. These remaining slowly metabolized energy sources can be supplemented, as desired, with additional materials as described above.

The use of maturation extenders, in either format, will extend this period in a manner similar to the other two extension techniques. In addition, these techniques can be used in any combination with one another, and typically the continuous light technique is used in combination with one of the feed techniques.

The early stages of the maturation phase continues until the astaxanthin production rate slows (as measured in the production of astaxanthin per unit volume per unit time, e.g. mg/l/hr). This usually occurs 2 to 4 days after the end of the growth phase. The rate is, of course, a continuum and at some point after it begins to decrease from the maximum, the early stages of this phase are over and continuation of the maturation phase becomes economically undesirable and it is terminated.

#### Yeast Cell Recovery and Product Preparation

*Phaffia* yeast is manufactured as a pure culture fermentation product. Fermentation raw materials are selected from a number of vendors based on availability and suitability for the process. The major components for the growth of *Phaffia rhodozyma* include high dextrose equivalent (DE) corn syrup (or equivalent source of fermentable sugars), yeast extract, ammonia, inorganic phosphates, and magnesium sulfate. In addition to these major components, a number of micronutrients, such as trace metals and vitamins, are required. All of these nutrients are commonly used in commercial fermentation processes, including the manufacture of yeast for feed and food. Each component is optimized to generate the maximum yield of *Phaffia* yeast astaxanthin. Foaming during the fermentation is controlled through the addition of food approved defoaming agents.

The fermentation is conducted in pure culture fermentors which have been cleaned and sterilized prior to use. All nutrients added to the fermentors during the fermentation process are sterilized before use.

The production of *Phaffia* yeast described in this invention consists of a fed-batch fermentation. Other fermentation techniques can be used if desired. The addition of nutrients during the fermentation is optimized to achieve rapid production of both the *Phaffia* yeast biomass and astaxanthin.

During the fermentation a number of conditions are controlled and maintained. These include the acidity of the medium, the fermentation temperature, and the degree of aeration.

6,015,684

9

The fermentation is usually terminated when the astaxanthin production falls below a commercially desirable level, and it is terminated typically by transferring the culture (i.e. fermentation broth) from the fermentor by any conventional means to a refrigerated storage vessel to await concentration by centrifugation or filtration. Continuous centrifuges or filtration units are used for the preliminary concentration of the fermentation broth. The fermentation broth is passed through these units, and the yeast concentrate (i.e. yeast cream) is transferred to a refrigerated yeast cream storage tank.

An edible antioxidant, such as ethoxyquin, vitamin E, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), or ascorbyl palmitate; an edible oil such as a vegetable oil, e.g. corn oil, safflower oil, sunflower oil, soybean oil, etc.; and an edible emulsifier, such as soy bean lecithin or sorbitan esters, can be added to the yeast cream at this stage. As here used, "edible" means a material that is approved for human or animal consumption. This serves to protect the astaxanthin during processing and shipment and also improves the pigment deposition in fish flesh.

The oil, emulsifier and antioxidant can be added at any convenient time during *Phaffia* yeast processing. In one embodiment, the oil, or blend of oils, emulsifier(s), and one or more antioxidants, are blended with one another, and then the blend is mixed with the broth concentrate (yeast cream), dried, and packaged for shipping. In another embodiment, the oil, emulsifier and antioxidant are added to the yeast cream after it has been dried. In yet another embodiment, one or two of the additives are blended with the yeast cream prior to drying, while the remaining additive(s) are blended with the yeast cream after it has been dried. The oil or blend of oils comprises between about 0.1 and 10 wt %, the emulsifier(s) between about 0.1 and 10 wt %, and the antioxidant between about 0.02 and 2 wt % based on the total weight of the final dry product.

Prior to drying, the cream is standardized to a suitable astaxanthin content usually 3,000, 4,000 or 5,000 milligrams per kilogram of the product (mg/kg) through the addition of feed yeast (Yeaco™-20 produced by Universal Foods Corporation or equivalent).

The standardized product is then dried by any suitable means, e.g. spray drying, drum drying, etc., and eventually packaged, typically in either 20 or 25 kg, heat-sealed, polylined boxes. The packaging is designed to protect the product from light, oxygen, and moisture.

In one embodiment of this invention, the yeast cream is dried using conventional equipment and techniques, such that a substantial number, preferably a substantial majority, of the cells are not disrupted by the process, i.e. such that the cells retain the bulk of their spherical shape. We have found that unbroken yeast cells provide astaxanthin to consuming animals as, or nearly as, efficiently as broken cells.

In another embodiment of this invention, the yeast cream is dried in a manner that promotes disruption of the cells such that most of the cells in the dried product are broken or fragmented, i.e. the cells no longer retain their substantially spherical shape. If such broken cells are desired and not provided by the drying process, then the cells can be subjected to a milling step or enzymatic treatment in which the cells are broken.

The following examples are illustrative of certain specific embodiments of this invention. Unless indicated to the contrary, all parts and percentages are by weight.

#### SPECIFIC EMBODIMENTS

##### Pigment Extraction and Astaxanthin Analysis

Astaxanthin content is determined as reported by Sedmak, Weerasinghe and Jolly in Jolly, 1990. Biotechnol. Techniques 4:107-112, which is incorporated herein by reference.

10

Yeast cells are washed twice in 12x100 mm test tubes with 4 ml of deionized water. After washing and decanting the water, the test tubes containing the washed cell pellets are inverted to drain the water. The insides of the tubes are then wiped with tissue paper to remove most of the water from the tube. To each tube is then added 0.5 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) preheated to 55 C. The tubes are vortex agitated for 20-30 seconds (sec) and 0.1 ml of 0.02 M sodium phosphate (pH 7.0) then is added to partition the carotenoids into 1 ml of subsequently added organic solvent. For compatibility with high performance liquid chromatography (HPLC) analysis of astaxanthin, 1 ml of hexanes:ethyl acetate (50:50 volume basis, HPLC grade) is used. The tubes are then vortex agitated for 30-40 sec to mix the aqueous and organic phases. The phases are then separated by centrifugation for 3 min in a desk-top clinical centrifuge. The organic phase is removed and the pigmented carotenoid content of the organic phase determined from the absorbency at 480 nm ( $A_{480}$ ). The total carotenoids are calculated using the extinction coefficient

$$\frac{E}{cm}^{1\%} = 2,150$$

(based on determinations using authentic synthetic astaxanthin).

The astaxanthin content is then determined by HPLC. Samples for HPLC analysis are diluted in hexanes:ethyl acetate (50:50 volume basis), and then made to 0.1% acetic acid with glacial acetic acid and filtered prior to injection. The column is an Alltech (Deerfield, Ill.) Nucleosil 100 silica 5 micron, 250x4.6 mm stainless steel column with an Alltech guard column. The eluting solvent is hexanes:ethyl acetate (50:50 volume basis) without glacial acetic acid. The eluant is monitored at 476 nm. The percent astaxanthin is then calculated from the area under the curve at the position of a synthetic astaxanthin standard.

Astaxanthin concentration is then calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{Total carotenoid in } \mu\text{g/ml of fermentation broth} &= \\ (A_{480}/2,150) \times 10^7 \times \text{dilution factor} & \\ \text{Astaxanthin in } \mu\text{g/ml of fermentation broth} &= \\ (\text{Total carotenoid in } \mu\text{g/ml of fermentation broth} \times \\ \% \text{ Astaxanthin determined by HPLC}) + 100 & \\ \text{Astaxanthin in } \mu\text{g/ml of yeast} &= \\ \text{Astaxanthin in } \mu\text{g/ml of fermentation broth} + & \\ \text{g Dry yeast solids/ml} & \end{aligned}$$

#### EXAMPLE 1

##### Development of Mutant Strains

*Phaffia rhodozyma* mutants ATCC-74218 (UBV-AX1), ATCC-74219 (UBV-AX2), ATCC-74220 (UBV-AX3) and ATCC-74221 (UBV-AX4) were developed from wild type strains by repeated mutagenesis as described in the section entitled Mutagenesis.

#### EXAMPLE 2

##### Cultivation of Novel Strains

The data in Tables 1, 2 and 3 demonstrate that the *Phaffia* strains of this invention grow to high levels of cell solids and produce high levels of astaxanthin in working volumes of various sizes. In some of the literature, astaxanthin is not distinguished from total carotenoids, and thus the actual

6,015,684

## 11

level of astaxanthin is considerably lower than that reported. The astaxanthin values in the Tables below are based on HPLC quantifications of astaxanthin.

## 14 l Fermentation

About 30 g (dys basis) of actively growing culture in 1.5 l of appropriate growth medium are inoculated into a 14 l Virticulture fermentor (Virtis Corporation, Gardiner, N.Y.). A typical formulation for the set broth is:

INGREDIENT	AMOUNT (g)
YEAST EXTRACT	75
AMMONIUM SULFATE	25
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	15
MAGNESIUM SULFATE	5
INOSITOL	0.65
PYRIDOXINE	0.35
ZINC SULFATE	0.15
THIAMINE HYDROCHLORIDE	0.1
CALCIUM PANTOTHENATE	0.08
FERRIC AMMONIUM SULFATE	0.05
CUPRIC SULFATE	0.01
BIOTIN	0.0005
TAP WATER	5 l
ANTIFOAM	5 ml
pH	5.5

Start-up conditions are 8 standard liters per minute (SLPM) aeration and 500 rpm agitation. The pH is controlled at 5.5 with 750 ml 1:3 dilution of reagent grade ammonium hydroxide, NH<sub>4</sub>OH. Food grade antifoam is added as required. The culture is fed 1750 g glucose (Cerelease™, CPC International, Summit-Argo, Ill.) as a 50% by weight solution at a rate such that the glucose concentration is less than 5 grams per liter (g/l), preferably between 0.1 and 2.5 g/l throughout the fermentation. Dissolved oxygen is controlled by agitation and airflow to between 20% and 90% saturation. Results of such fermentations with UBV-AX3 and 4 are presented in Table 1:

TABLE 1

Astaxanthin Production in 14 l Fermentor			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin (µg/g dys*)
UBV-AX3	115	8.6	6660
UBV-AX4	115	7.7	4670

\*dys: Dry Yeast Solids

## 2000 l Fermentation

About 3.6 kg (dys basis) of actively growing culture in 120 l of appropriate growth media are inoculated into a 2000 l IF2000 New Brunswick Scientific fermentor (New Brunswick Scientific Corporation, Edison, N.J.) containing about 700 l of the broth described below:

INGREDIENT	AMOUNT
YEAST EXTRACT	6 kg
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	4 kg
MAGNESIUM SULFATE	4 kg
DEXTROSE	3 kg
SODIUM CHLORIDE	700 g
FERROUS SULFATE	55 g
CALCIUM PANTOTHENATE	25 g
ZINC SULFATE	15 g
CITRIC ACID	5 g
MANGANOUS SULFATE	3 g
COPPER SULFATE	1 g

## 12

-continued

INGREDIENT	AMOUNT
BIOTIN	400 mg
COBALT SULFATE	300 mg
THIAMINE HYDROCHLORIDE	200 mg
BORIC ACID	80 mg
TAP WATER	700 l
ANTIFOAM	200 ml
pH	5.5

Start-up conditions are 700 SLPM aeration and 100 rpm agitation. The pH is controlled at 5.5 with anhydrous ammonia. Food grade antifoam is added as required. The culture is fed 800 kg of a 45% by weight solution of unrefined high dextrose corn syrup (Cargill Incorporated, Eddyville, Iowa) at a rate such that glucose does not accumulate in the fermentation broth to more than 5 g/l, preferably to 0.1–2.5 g/l. Dissolved oxygen is controlled by agitation and airflow to between 20% and 70% saturation. The volume of the broth upon termination of the fermentation is approximately 1,500 l. The results of such a fermentation with UBV-AX2 are presented in Table 2.

TABLE 2

Astaxanthin Production in 2,000 l Fermentor			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin (µg/g dys*)
UBV-AX2	136	10.9	5321

\*Dry Yeast Solids

## 40,000 l Fermentation

About 160 kg (dys basis) of actively growing culture in 4,000 l of appropriate growth media are inoculated into a 40,000 l fermentor. A typical formulation for the set broth is:

INGREDIENT	AMOUNT (kg)
YEAST EXTRACT	81
MONOBASIC POTASSIUM PHOSPHATE	68
MONOBASIC SODIUM PHOSPHATE	14
MAGNESIUM SULFATE	80
DEXTROSE	50
FERROUS SULFATE	0.650
CALCIUM PANTOTHENATE	0.470
ZINC SULFATE	0.150
CITRIC ACID	0.060
MANGANOUS SULFATE	0.035
COPPER SULFATE	0.035
SODIUM MOLYBDATE	0.020
BIOTIN	0.0035
COBALT SULFATE	0.0035
THIAMINE HYDROCHLORIDE	0.0018
BORIC ACID	0.0023
TAP WATER	13,500
ANTIFOAM	5 l
pH	5.5

Start-up conditions are 8,000 SLPM aeration and 40 rpm agitation. The pH is controlled at 5.5 with anhydrous ammonia. Food grade antifoam is added as required. The culture is fed 17,000 kg of a 42% by weight solution of unrefined high dextrose corn syrup (Cargill Incorporated, Eddyville, Iowa) at a rate such that glucose does not accumulate in the fermentation broth to more than 5 g/l, preferably to 0.1–2.5 g/l. Dissolved oxygen is controlled by agitation and airflow between 20% and 70% saturation. Results of such a fermentation with UBV-AX1 are presented in Table 3:



6,015,684

13

TABLE 3

<u>Astaxanthin Production in 40,000 l Fermentor</u>			
Strain	Time (hrs)	Solids (%)	Astaxanthin ( $\mu\text{g/g dry}^*$ )
UBV-AX1	157	7.8	5060

\*Dry Yeast Solids

## EXAMPLE 3.

## Strain Descriptions: Colony Morphology

Colony morphology of the novel strains were observed on 2-4 week old streak plates which contained 2% glucose, 0.5% Tastone™-154 (Universal Foods Co. Yeast Extract) and 1.5% agar.

UBV-AX1: Well isolated colonies are 4-5 mm in diameter. Some colony size heterogeneity exists within the culture. Smaller colonies range in size from 1-3 mm. Some of these smaller colonies can be darker in color than the rest of the colony population. Colonies edges are entire; but some colonies will show irregular edges. This becomes typical after 3-4 weeks. Colonies are convex to slightly umbonate. Color is red orange, darker at the raised center. Colony finish is matt. Where crowded some colonies appear wrinkled, especially on older plates. After 3-4 weeks colony color is dark red. Lighter colonies, yellow to orange, can be occasionally seen in lawns of cells. These lawns can have a grainy appearance.

UBV-AX2: Well isolated colonies are 4-5 mm in diameter. Some colony size heterogeneity is present, with smaller colonies occasionally seen. Colony edges are entire. Colonies are convex to slightly umbonate and glossy in appearance. Color is red-orange, darker at the raised centers, especially where crowded. Occasional irregularities can be seen at some colony edges. After 3-4 weeks colonies are still glossy and dark red. Lawns of cells remain smooth and glossy. The lack of lighter colored colonies indicates that the genes for pigmentation in this strain are very stable.

UBV-AX3: Colony morphology can be heterogeneous, especially after 6 days growth in glucose/yeast extract broth. After 10 days on glucose/yeast extract plates, the colonies range in size from 1.5 to 3 mm in diameter. Color ranges from red to orange. Smaller colonies are typically darker red than the larger colonies.

UBV-AX4: After two weeks on glucose/yeast extract plates, colonies are 2-3 mm in diameter. The colony edges are entire, although a small number of colonies may show scalloped edges. Colony color is a dark red-orange. The colonies are glossy, and have a conical profile, especially where crowded. After 3 weeks, the colony profile shows flattening at the base. The color of the colony center is darker red than the perimeter. Colony edges remain entire.

## EXAMPLE 4

## Strain Description: Microscopic Appearance

Microscopic appearance of cells were observed on the novel strains grown in 2% glucose, 0.5% Tastone™-154 for 6 days.

UBV-AX1 (FIGS. 1 and 2): Cells are single or in pairs with occasional short chains. Cells are ellipsoid to oviform. Cells are reddish-tan. Some cells are devoid of cytoplasm with lipid droplets. Cells with granular, slightly pigmented

14

forms are seen. Some pleomorphic shapes are also seen. Occasional apiculate shaped cells are present.

UBV-AX2 (FIGS. 3 and 4): Cells are single or in pairs. Cells with two buds at the same end of a mother cell are common. Cells are oblate ellipsoidal to globose. Many cells are obviously pigmented reddish brown. Cells with granular appearing, pigmented cytoplasm are fairly common. Occasional enlarged, deeply pigmented, rounded "chlamyospore-like" structures are seen. The structures lack the thickened cell walls of chlamyospores.

UBV-AX3 (FIGS. 5 and 6): Cells are single, in pairs, short chains or small clumps of 3 to 6 cells. Pleomorphic forms are seen. Many cells are obviously pigmented. The cytoplasm in these cells appear granular.

UBV-AX4 (FIGS. 7 and 8): Cells are single or in pairs or short chains. Pleomorphic forms are seen. Some cells have reddish-brown granular cytoplasm. Some cells appear to have red-crystalline structures present. Lipid droplets are very obvious in some cells.

## EXAMPLE 5

## Strain Description: Cell Sizes

Table 4 shows cell sizes of the novel strains which were grown in 2% glucose and 0.5% Tastone™-154 for 6 days.

TABLE 4

<u>Cell Sizes of Certain Phaffia Strains</u>	
Strain	Cell Size Range ( $\mu\text{m}$ )
UBV-AX1	4.2 x 6.3 to 8.4 x 12.6
UBV-AX2	4.2 x 5.3 to 9.5 x 10.5
UBV-AX3	4.2 x 6.3 to 9.4 x 11.5
UBV-AX4	4.2 x 5.2 to 9.4 x 10.4

## EXAMPLE 6

## Enhancement of Astaxanthin Production by Exposure to Low Intensity Light

Table 5 reports that darkness is inhibitory to pigment production in shake flasks. Phaffia was grown in shake flasks with 2% glucose and 0.5% yeast extract at 200 rpm at 21 C. for six days.

TABLE 5

<u>Enhancement of Astaxanthin Production by Exposure to Low Intensity Light</u>		
Strain	<u>Astaxanthin (<math>\mu\text{g/ml culture broth}</math>)</u>	
	Continuous 10 ft-C Light	Dark
UBV-AX1	30.1	19.2
UBV-AX2	43.6	17.3
UBV-AX3	41.6	16.1

## EXAMPLE 7

## Hydrolyzed Corn Syrup

Hydrolysed corn syrup (DE=95) and a partly hydrolysed corn syrup (DE=63) are mixed to produce a feed material which contains glucose and significant levels of various higher sugars such as maltose, maltotriose and higher polymerized sugars. These sugars or polysaccharides are not

6,015,684

## 15

metabolized until the glucose is depleted. A 75:25 mixture of these two corn syrups produces a feed of about 78% glucose and 10% maltose (about DE=87).

The data in Table 6 shows that UBV-AX1 produces significantly higher levels of astaxanthin in a 20 l fermentor with a 75:25 mixture of a hydrolysed corn syrup (DE=95) and a partly hydrolysed corn syrup (DE=63) than with a hydrolyzed corn syrup (DE=95) alone.

TABLE 6

Astaxanthin Production Levels with DE = 87 and DE = 95 Corn Syrup		
Feed Corn Syrup	Yeast Solids %	Astaxanthin ( $\mu\text{g/g dry}^*$ )
DE = 87	5.9	6,712
DE = 95	5.9	5,892

\*Dry Yeast Solids

## EXAMPLE 8

## Glycerol Effect on Astaxanthin Production during Maturation

For most *Phaffia* strains astaxanthin synthesis continues after growth has stopped. Astaxanthin is therefore considered by some to be a secondary metabolite in *Phaffia*. We have found that the addition of glycerol to *Phaffia* stimulates carotenoid synthesis during the non-growth phase after the primary carbon source (glucose) has been utilized. HPLC analysis indicates that if glucose and glycerol are present together, the glucose is preferentially utilized and the glycerol is used only after glucose depletion. As seen in the following tables, inclusion of glycerol along with glucose greatly enhances the astaxanthin yield of our *Phaffia* strains. These strains grow very poorly if glycerol is the only carbon source.

Table 7 shows that the astaxanthin production level of *Phaffia rhodozyma* is greatly increased by glycerol in shake flasks with 2% glucose and 0.5% yeast extract in continuous low intensity light for six days.

TABLE 7

Glycerol Effect on Astaxanthin Production in Shake Flasks		
Strain	Astaxanthin ( $\mu\text{g/ml culture broth}$ )	
	Without Glycerol	With 1% Glycerol
UBV-AX1	30.0	37.6
UBV-AX2	42.8	40.2
UBV-AX3	54.2	71.3
UBV-AX4	42.0	56.7

## EXAMPLE 9

## Slow Feeding during Maturation

The data of Table 8 shows the effect on maturation with and without a continued feed of the energy source. Fermentations were conducted in 20 l Chemap fermentors with UBV-AX1 and the standard fermentation format substantially as described above. In Case 1, the fermentation was ended as the growth rate of cells declined. In Case 2, feeding of the energy source was terminated as cell growth rate declined and the cells were allowed to mature for 72 hours.

## 16

In Case 3, the feed rate of the energy source was reduced to 25% of the maximum feed rate as the yeast growth rate declined and the cells were allowed to mature for 72 hours with slow feeding.

TABLE 8

The Effect of Slow Feed During Maturation Phase on Astaxanthin Production Levels			
Case	Feed during Maturation	Yeast Solids %	Astaxanthin ( $\mu\text{g/ml}$ fermentation broth)
1	No maturation	7.0	175
2	Maturation without feed	5.9	362
3	Maturation with slow feed	7.9	561

## EXAMPLE 10

## Evaluation of the Novel Strains as a Source of Pigment for Salmonids

This example demonstrates that the novel strains of *Phaffia rhodozyma* pigment salmonids flesh effectively when supplied in feed as an additive. This example also shows that the strains of this invention do not require disruption to make astaxanthin available to salmonids (Binkowsky, Sedmak and Jolly, 1993, *Aquaculture Magazine*, March/April:54-59, which is incorporated herein by reference).

The *Phaffia* strain was grown in a 2,000 l fermentor in a manner substantially described as above. Cells were concentrated to 15-22% solids by centrifugation and dried. The feed was processed by Zeigler Bros. Inc., Gardners, Pa. The novel *Phaffia rhodozyma* or synthetic astaxanthin (5% Carophyll Pink, Hoffmann-LaRoche) were incorporated into their #1 Trout Grower pelleted food.

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Shasta strain) were obtained from a local commercial trout grower. After acclimation to laboratory conditions and an experimental control diet, the trout were moved into separate experimental tanks (28 fish per tank). The experimental tanks held approximately 250 liters of water (76 centimeter (cm) diameter; 56 cm standpipe) and had an average flow rate of 6.5 liters of water per minute.

Collectively, the procedures and diets employed in the experiments were designed to result in near-optimal growth of trout at 10 C., the approximate temperature at which most commercially-produced trout are raised. By the end of the experiment, the remaining trout were approximately market size.

At 4, 8 and 12 weeks, 6 fish per tank were randomly removed to determine growth rates and pigment levels. The fish were stunned by a blow to the head; total length measured; weight after blotting dry determined; and then each fish was cut across the isthmus severing the ventral aorta. The fish were allowed to bleed out in cool water and then two skin-on fillets were taken from each fish. With the information acquired from each sampling, tank biomass was recalculated and food rations adjusted so that each tank received 1.5% of its estimated biomass in food per day.

The fillets were processed to determine carotenoid content per wet weight of flesh. About 15 g of flesh pooled from various portions of a fillet were homogenized and 0.2 g samples of homogenized flesh extracted with 1 ml of acetone for 30 minutes at room temperature to release the flesh carotenoids. The carotenoids were then partitioned into hexanes:ethyl acetate (1:1 by volume) and the total caro-

6,015,684

17

tenoid and astaxanthin content were determined as described above in the section entitled *PIGMENT EXTRACTION AND ASTAXANTHIN ANALYSIS*.

Pellets of food were crushed with a mortar and pestle. An accurately weighed portion (0.05 g) of the crushed pellets were treated with dimethylsulfoxide (DMSO) for 30 minutes at room temperature to extract the carotenoids. The DMSO extracted carotenoids were then quantified as described above in the section entitled *PIGMENT EXTRACTION AND ASTAXANTHIN ANALYSIS*. This procedure was used for feed analysis throughout the experimental trials.

The growth and pigmentation of rainbow trout that were fed diets containing our novel *Phaffia* yeast (one whole cells, the other milled or disrupted cells) were compared both to rainbow trout fed an unpigmented diet and to rainbow trout fed a diet containing synthetic astaxanthin.

As seen in FIG. 9, the weight gain of all four groups of fish was comparable with fish growing from approximately 240 g to 380 g during the 84 day trial period. This study indicates that whole or disrupted *Phaffia* yeast added to the diet at the above level gives the same or better palatability and digestibility as the control fish food. Gross anatomical examination of fish at 84 days indicated that there were no differences between the four treatment groups.

The flesh carotenoid content of rainbow trout fed the diet devoid of astaxanthin (Diet D) was the same low level at 0 and 84 days of feeding indicating that the base diet for these studies was indeed devoid of any carotenoid that might be deposited in the fish flesh. After 84 days of feeding, the flesh carotenoid content of the *Phaffia* and synthetic astaxanthin fed fish were the same (FIG. 10). All four groups of fish colored at comparable rates during the 84 day trial period.

#### EXAMPLE 11

##### Evaluation of a Novel Formulation of *Phaffia* Product for Pigmenting Salmonids

This example demonstrates that a formulation of *Phaffia* cells blended with ethoxyquin, lecithin and safflower oil increases astaxanthin deposition in salmonid fish flesh.

*Phaffia* was grown in a 2,000 l fermentor in a manner as substantially described above. Cells were concentrated to 15–22% solids by centrifugation and dried. Ethoxyquin, lecithin and safflower oil were added to the yeast cream prior to drying. The feed was processed by Zeigler Bros. Inc., Gardners, Pa. The treated and untreated *Phaffia* were incorporated into their #1/2 Trout Grower pelleted food.

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Shasta strain) were obtained from a local commercial trout grower. After acclimation to laboratory conditions and an experimental control diet, the trout were moved into separate experimental tanks (14 fish per tank). The experimental tanks held approximately 650 l of water (120 cm diameter; 56 cm standpipe) and had an average flow rate of 11 liters of water per minute.

Collectively, the procedures and diets employed in the experiments were designed to result in near-optimal growth of trout at 10 to 12 C., the approximate temperature at which most commercially-produced trout are raised. By the end of the experiment, the trout had grown from an average 300 g to an average 650 g. Fifteen fish were randomly sampled to determine base line weight, length and flesh color data before separating fish into experimental tanks. At 63 days 10 fish per tank and at 93 days 14 fish per tank were randomly removed to determine growth rates and pigment levels in the same manner as that described in Example 10. Similarly, the

18

procedures of Example 10 were used to process the filets (to determine carotenoid content per wet weight of flesh), and the pellets of food.

The growth and pigmentation of rainbow trout fed diets containing *Phaffia* yeast with and without lecithin and safflower oil were compared. Diet A contained *Phaffia* treated with 2,000 ppm ethoxyquin. Diet B contained *Phaffia* treated with 2,000 ppm ethoxyquin and 2.5% soy lecithin. Diet C contained *Phaffia* treated with 2,000 ppm ethoxyquin, 2.5% soy lecithin and 2.5% safflower oil.

TABLE 9

Pigmentation of Fish Flesh at 93 Days		
Diet	Astaxanthin in Feed (ppm)	in Flesh (ppm/wet wt)
A	49	2.01 ± 1.32
B	49	3.03 ± 1.87
C	48	4.50 ± 1.40

As seen from the data in Table 9, after 93 days of feeding, fish fed the diet containing *Phaffia* treated with ethoxyquin, soy lecithin and safflower oil were pigmented best.

Although the invention has been described in considerable detail through the preceding examples, such detail is for the purpose of illustration. Many variations and modifications can be made by one skilled in the art without departing from the spirit and scope of the invention as described in the appended claims.

What is claimed is:

1. A fermentation method for the production of astaxanthin from a strain of *Phaffia rhodozyma*, the method comprising cultivating cells of the strain under suitable conditions in a nutrient medium containing a rapidly metabolized energy source that is maintained over at least part of the cultivation at a level such that the strain experiences (i) a growth phase during which its cells increase rapidly in number and produce astaxanthin, and during which the energy source is fed to the strain at a rate such that it does not accumulate in the medium in excess of a predetermined level, followed by (ii) a maturation phase, during which the increase in cell number slows but the astaxanthin production continues at a rate at least as great as the rate during the growth phase, in which the maturation phase is extended by the following:

- reducing and maintaining the external feed rate of the rapidly metabolized energy source at a level that is no more than about 50% of the rate at which said energy source was fed to the strain at the close of the growth phase; or
- stopping the external feed of the rapidly metabolized energy source and replacing it, at the start of the maturation phase, with an external source of a slowly metabolized energy source.

2. The method of claim 1 in which the maturation phase is extended by reducing and maintaining the external feed rate of the rapidly metabolized energy source at a level that is no more than about 50% of the rate at which said energy source was fed to the strain at the close of the growth phase.

3. The method of claim 1 in which the maturation phase is extended by stopping the external feed of the rapidly metabolized energy source and replacing it, at the start of the maturation phase, with an external source of a slowly metabolized energy source.

4. The method of claim 1 in which the rapidly metabolized energy source is glucose.

6,015,684

**19**

5. The method of claim 1 in which the slowly metabolized energy source is selected from a group consisting of glycerol; polymerized forms of glucose, sucrose and other polysaccharides found in molasses and corn syrup; monohydric alcohols; and carboxylic acids.

6. The method of claim 1 in which the slowly metabolized energy source is polymerized forms of glucose, sucrose and other polysaccharides found in molasses and corn syrup.

7. The method of claim 1 in which the slowly metabolized energy source is monohydric alcohols.

8. The method of claim 1 in which the slowly metabolized energy source is carboxylic acids.

9. The method of claim 1 in which the slowly metabolized energy source is glycerol.

10. The method of claim 2 in which said strain is selected from the group consisting of *Phaffia rhodozyma* ATCC-74218, ATCC-74219, ATCC-74220, ATCC-74221 and mutants thereof that retain astaxanthin-producing capability.

11. The method of claim 10 in which the strain is ATCC-74218.

**20**

12. The method of claim 10 in which the strain is ATCC-74219.

13. The method of claim 10 in which the strain is ATCC-74220.

14. The method of claim 10 in which the strain is ATCC-74221.

15. The method of claim 3 in which said strain is selected from the group consisting of *Phaffia rhodozyma* ATCC-74218, ATCC-74219, ATCC-74220, ATCC-74221 and mutants thereof that retain astaxanthin-producing capability.

16. The method of claim 15 in which the strain is ATCC-74218.

17. The method of claim 15 in which the strain is ATCC-74219.

18. The method of claim 15 in which the strain is ATCC-74220.

19. The method of claim 15 in which the strain is ATCC-74221.

\* \* \* \* \*

## 17.4. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#1)

*Journal of General Microbiology* (1979), **115**, 173–183. Printed in Great Britain

173

### Astaxanthin Formation by the Yeast *Phaffia rhodozyma*

By ERIC A. JOHNSON\* AND MICHAEL J. LEWIS†

Department of Food Science and Technology, University of California, Davis, California  
95616, U.S.A.

(Received 5 January 1979)

The production of carotenoid pigments by the yeast *Phaffia rhodozyma* depended on the culture conditions. Astaxanthin, the primary carotenoid in this yeast, was produced mainly during the exponential phase of growth. The concentration of carotenes in *P. rhodozyma* remained relatively constant [about 5 µg (g yeast)<sup>-1</sup>] throughout growth in a 1.5% (w/v) glucose medium, but the xanthophyll concentration increased from 90 to 406 µg (g yeast)<sup>-1</sup> during fermentation. Active xanthophyll synthesis occurred during the period of accelerating growth and after exhaustion of glucose from the growth medium. In media containing more than 1.5% (w/v) glucose, however, yeast and carotenoid yields were considerably reduced. The pH of the medium affected yeast yields and carotenoid production; the optimum pH was 5.0. At pH 3.5, β-zeacarotene accumulated in *P. rhodozyma*. β-Carotene was the primary carotene in the yeast under all other conditions tested. The optimum temperature for yeast growth and pigment formation was 20 to 22 °C and the best carbon source was D-cellobiose. Oxygen was an important substrate for optimum yields of yeast and astaxanthin; under microaerophilic growth conditions, astaxanthin production was drastically decreased and *P. rhodozyma* accumulated β-carotene and the monoketone echinenone.

#### INTRODUCTION

The red yeasts of the genera *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporidiobolus* and *Sporobolomyces* are very similar in their carotenoid composition. They contain β-carotene (β,β-carotene), γ-carotene (β,γ-carotene), torulene (3',4'-didehydro-β,ψ-carotene) and torularhodin (3',4'-didehydro-β,ψ-carotene-16'-oic acid) as their major pigments (Simpson *et al.*, 1971). Recently, plectanixanthin (3',4'-didehydro-1',2'-dihydro-β,ψ-carotene-1',2'-diol) has been found in *Cryptococcus laurentii* (Bae *et al.*, 1971) and 2-hydroxy-plectanixanthin in *Rhodotorula aurantiaca* (Liu *et al.*, 1973) which has added some structural diversity to the carotenoids found in this group of fungi. *Phaffia rhodozyma* is a recently discovered yeast (Miller *et al.*, 1976) that is strikingly different from the other pigmented yeasts in producing the carotenoid pigment astaxanthin (3,3'-dihydroxy-β,β-carotene-4,4'-dione) (Andrewes *et al.*, 1976).

Though astaxanthin is rarely found in the fungi [it has occasionally been isolated from the basidiomycetes *Pentophora aurantica* and *Pe. quercina* of the Aphyllophorales (Goodwin, 1972)], it is common in the animal kingdom. It is conspicuously displayed in the plumage of many birds including flamingoes and the scarlet ibis, in marine invertebrates such as lobsters, crabs and shrimps, and in fishes such as trout and salmon, where astaxanthin is responsible for flesh colour. These fish, when raised in pens, often lack desirable red flesh colour. In an earlier study (Johnson *et al.*, 1977) we found that a preparation of *P. rhodozyma* is a potentially important source of astaxanthin for pen-reared salmonids, as the yeast pigment is rapidly accumulated from the feed and deposited in the flesh of rainbow trout.

\* Present address: Department of Nutrition & Food Science, Massachusetts Institute of Technology Cambridge, Massachusetts 01239, U.S.A.

† To whom requests for reprints should be sent.

Though some metabolic characteristics of this yeast have been reported (Phaff *et al.*, 1972; Miller *et al.*, 1976), these were not studied in relation to astaxanthin formation. The purpose of this study was to investigate the effect of culture conditions on astaxanthin formation in *P. rhodozyma* with a view to optimizing pigment production.

#### METHODS

*Yeast and culture conditions.* The type strain of *Phaffia rhodozyma* (UCD 67-210) was obtained from the yeast culture collection of this department. The yeast was maintained on slants of yeast extract/malt extract agar (YM agar, Difco) at 4 °C.

Flask cultures were grown on an orbital shaker (Environ-Shaker 3597, Lab Line Instruments) at 22 °C in 500 ml baffled side-arm flasks. All shake flask experiments were performed in triplicate. Yeast extract/malt extract broth (YM broth) supplemented with antifoam (FG-10, Dow Corning) at 0.1 ml l<sup>-1</sup> was the usual growth medium. A medium of yeast nitrogen base (YNB) broth lacking amino acids and ammonium sulphate (Difco) was used in carbon and nitrogen assimilation experiments; carbon and nitrogen sources were added as required. Shake flasks contained 50 ml medium unless otherwise stated. Media were buffered at pH 5.0 with 0.1 M-potassium hydrogen phthalate buffer.

Fermenter cultures were grown in a Virtis 201 fermenter (model 43-100, Virtis Co., Gardener, N.Y., U.S.A.) at 20 °C using a 14 l working volume, an air flow rate of 8 l min<sup>-1</sup> and a stirring rate of 400 rev. min<sup>-1</sup>. The standard medium contained (per litre): Cerelese (CPC International, Englewood Cliffs, N.J., U.S.A.) 20 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.1 g; yeast extract (Difco), 2 g; antifoam, 0.1 ml. pH was monitored with a sterilizable pH probe and controlled at pH 4.8 by automatic titration with 4 M-KOH.

Shake flasks were inoculated with 1% (v/v) and fermenters with 2% (v/v) of a 20 h washed cell suspension containing about 1.5 mg yeast dry wt ml<sup>-1</sup>. An additional volume (0.02%, v/v) of sterile antifoam was added near the middle of the exponential phase of growth to prevent foaming. Yeast growth rate is expressed as the specific growth rate  $\mu$  (h<sup>-1</sup>), and in flask culture was estimated during the exponential phase of growth by measuring the increase in absorbance of the culture broth at 600 nm in a Klett photometer (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, Pa., U.S.A.). Growth rate in the fermenter was estimated by measuring the increase in cell dry weight as described by Johnson *et al.* (1978). Cultures were harvested by centrifuging after reaching a constant absorbance or dry weight, washed with water, and frozen at -20 °C to await analysis. The yeast yield (*Y*) is defined as  $Y = X_t - X_0$ , where  $X_t$  and  $X_0$  are the final and initial yeast dry weights (mg ml<sup>-1</sup>), respectively.

For light induction experiments, *P. rhodozyma* was grown in an orbital shaker incubator equipped with two fluorescent tube lamps which provided 2700 lx at the culture surface. Control flasks were covered with aluminium foil.

*Analyses of culture media.* Reducing sugar concentration (mg ml<sup>-1</sup>) in the culture medium was determined with the 3,5-dinitrosalicylic acid reagent (Sumner & Somers, 1949). The rate of dissolution of oxygen into culture media was estimated by the sulphite oxidation method (Cooper *et al.*, 1944). The results are expressed as mmol O<sub>2</sub> dissolved l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

*Carotenoid extraction and analysis.* For routine analyses of astaxanthin, *P. rhodozyma* cell suspensions were mixed with 0.5 mm glass beads, and then vibrated for 3 min in a Braun homogenizer (Bronwill Scientific, Rochester, N.Y., U.S.A.). The broken cells were thoroughly stirred in about 20 vol. acetone, centrifuged, and the pigments in the supernatant were transferred to petroleum ether with the addition of dilute NaCl solution. Astaxanthin concentration in the petroleum ether extract was estimated by measuring the absorbance at  $\lambda_{max}$  (474 nm). The specific absorption coefficient  $A_{474}^{1\%} = 1600$  (Andrews *et al.*, 1976) and the formula provided by Davies (1976) allowed the calculation of astaxanthin concentration.

Petroleum ether extracts of carotenoid mixtures to be chromatographed were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated by rotary evaporation at 30 °C in subdued light. The carotenes were separated from the xanthophylls on a MN Kieselgel (Brinkmann Instruments) column by elution with 3% (v/v) diethyl ether in petroleum ether. Xanthophylls were eluted with acetone. The total concentration of xanthophylls and carotenes in the eluates was estimated by measuring  $A_{475}$  for xanthophylls and  $A_{445}$  for the carotenes (but  $A_{425}$  in cells grown at pH 3.5, see text) using the absorption coefficients  $A_{475}^{1\%} = 1600$  and 2600, respectively. The individual eluates were sometimes further chromatographed by thin-layer chromatography on aluminium oxide (Alox 25 UV<sub>254</sub>; Brinkmann Instruments) and silica gel (Silica Gel 60; EM Laboratories) using various combinations of acetone, ethyl ether and petroleum ether as developing solvent mixtures.

*Identification of carotenoids.* Carotenoids which had been purified to chromatographic homogeneity were characterized by their electronic absorption spectrum, by co-chromatography with identical or related pure carotenoids in two solvent systems and by their mass spectrum (if sufficient material was available).

Astaxanthin formation by *Phaffia rhodozyma*

175

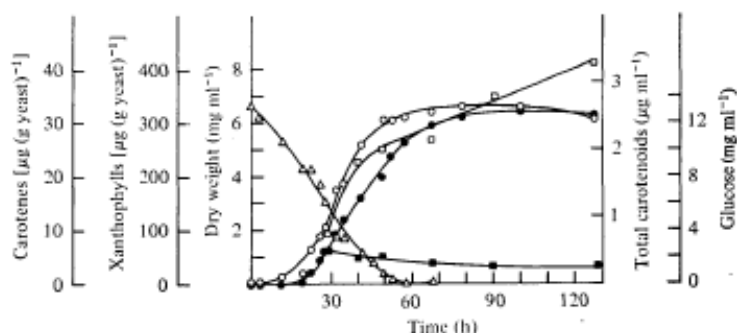


Fig. 1. Production of carotenoids by *P. rhodozyma* in fermenter batch culture. Yeast growth (○), total carotenoid formation (●), xanthophyll (astaxanthin) formation (□), carotene synthesis (■) and glucose utilization (△). The growth medium initially contained 1.5% (w/v) D glucose.

Visible absorption spectra were recorded in acetone, and concentrations of carotenoids were calculated using the specific absorption coefficients provided by Davies (1976). The mass spectra were determined on a Finnegan 3200 instrument at 220 °C with an ionization voltage of 70 eV.

**Chemicals.** All chemicals were, where possible, of analytical grade. D-Mannitol, L-arabinose and D-xylose were obtained from ICN Pharmaceuticals, Cleveland, Ohio, U.S.A.; cellobiose was from Sigma, glucono- $\delta$ -lactone from Merck; maltose from Calbiochem; sucrose, succinic acid, D-glucose, potassium hydrogen phthalate, phosphate salts and all solvents from Mallinckrodt, St. Louis, Mo., U.S.A.; and 3,5-dinitrosalicylic acid from Eastman Kodak Co.

## RESULTS

*Growth and astaxanthin production*

In fermenter batch culture, growth of *P. rhodozyma* began after a 10 h lag and a constant dry weight of yeast was reached after about 80 h (Fig. 1). Termination of growth coincided with the exhaustion of glucose from the medium. Astaxanthin was found to be the major xanthophyll in all samples of yeast taken during the fermentation and was produced mainly during the exponential growth period. Its production slowed soon after cessation of growth. The concentration of xanthophylls in the cells increased from 92 to 225  $\mu\text{g g}^{-1}$  during the period of exponential growth (30 to 40 h) and then increased only slightly to about 260  $\mu\text{g g}^{-1}$  in the next 20 to 30 h. On exhaustion of glucose, the concentration of xanthophylls increased steadily until 128 h when a final concentration of 406  $\mu\text{g g}^{-1}$  was obtained. In contrast, the concentration of carotenes in *P. rhodozyma* during the lag and exponential phase was fairly constant at 6  $\mu\text{g g}^{-1}$  and decreased to 3  $\mu\text{g g}^{-1}$  in the stationary phase. The primary carotene identified in all samples during growth was  $\beta$ -carotene.

*Effect of pH on growth and pigment formation*

In a preliminary screening of buffers, it was found that 0.1 M-potassium hydrogen phthalate and 0.1 M-sodium phosphate buffered well over the necessary range of pH values and allowed good growth and pigmentation of *P. rhodozyma*. Citrate buffer was unsatisfactory because it inhibited growth. Lactate buffer was also unsuitable because a rise in pH of the culture broth occurred late in the exponential phase of growth, probably due to the utilization of lactate by *P. rhodozyma* (Miller *et al.*, 1976).

In phthalate or phosphate buffer, the final yield of yeast was only slightly affected by pH in the range 3.8 to 7.5 (Fig. 2) in shake flasks. The growth rate of *P. rhodozyma* was much more affected by pH and was highest at pH 5.8. The yield of astaxanthin was also affected by medium pH; a maximum yield of 2.0  $\mu\text{g ml}^{-1}$  was obtained at pH 5.0 and at this pH the concentration of astaxanthin in *P. rhodozyma* was also highest [510  $\mu\text{g (g yeast)}^{-1}$ ]. Gener-

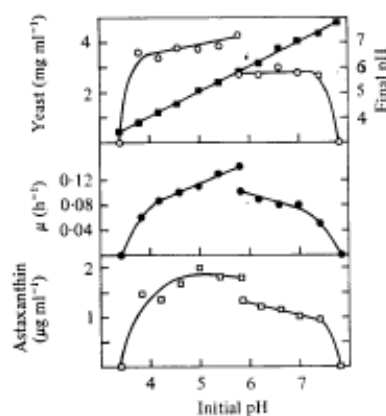


Fig. 2. Effect of pH on carotenoid formation and growth of *P. rhodozyma* in shake flasks buffered with 0.1 M-potassium hydrogen phthalate or 0.1 M-sodium phosphate (pH 5.8 to 7.8). Final yeast yield (○), yeast growth rate (●), astaxanthin yield (□) and final pH (■).

Table 1. Effect of pH on growth and astaxanthin formation of *P. rhodozyma* in fermenter culture

pH of medium	Yeast yield (mg ml <sup>-1</sup> )	Growth rate, μ (h <sup>-1</sup> )	Astaxanthin [μg (g yeast) <sup>-1</sup> ]	Total xanthophylls [μg (g yeast) <sup>-1</sup> ]	Total carotenes [μg (g yeast) <sup>-1</sup> ]
6.5	6.03	0.14	325	332	11.0
5.5	9.68	0.12	336	339	15.0
4.5	11.79	0.16	387	385	6.5
3.5	5.96	0.09	212	219	15.0

ally within the pH range 4.0 to 7.0 the choice of buffer (potassium hydrogen phthalate or sodium phosphate) had a greater effect on the parameters tested than did pH. Sodium phosphate buffer was slightly inhibitory and the yield of yeast, yeast growth rate and astaxanthin formation were all lower in phosphate buffer than in phthalate buffer at the same pH (5.8).

The influence of pH on carotenoid production was also studied in fermenters since the pH could be controlled by automatic titration so that the effects of buffers were eliminated. Of the four pH values studied (Table 1), the optimum was found to be pH 4.5 where the maximum yield of cells, the highest growth rate and the maximum production of astaxanthin were obtained. Analysis of the pigments showed that astaxanthin was the dominant xanthophyll present at each pH value. However, the absorption spectrum of the carotene fraction from yeast grown at pH 3.5 was strikingly different from that obtained at other pH values (Fig. 3). The primary carotene present at pH 3.5 was  $\beta$ -zeacarotene whereas  $\beta$ -carotene dominated in yeast grown at the other pH values (see Table 2). After purification, these pigments were conclusively identified by their absorption spectra, chromatographic characteristics and mass spectra.  $\beta$ -Zearotene could not be found in cells grown at pH 4.5.

#### *Influence of temperature on growth and pigmentation of P. rhodozyma cultured in shake flasks*

The final yield of yeast was relatively constant at growth temperatures of 22 °C and below, but the yield decreased considerably at temperatures above 22 °C, the optimum for growth rate (Fig. 4). The highest temperature at which growth was observed was 27.5 °C; at this temperature *P. rhodozyma* increased its mass about twofold after inoculation and



Astaxanthin formation by *Phaffia rhodozyma*

177

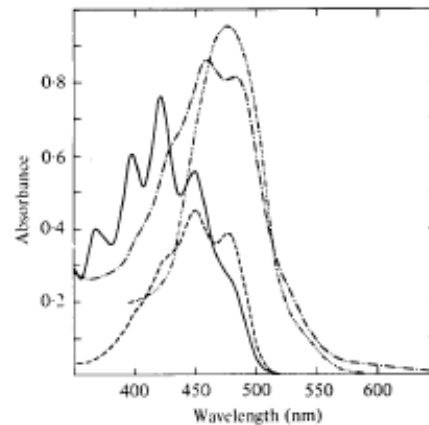


Fig. 3. Visible absorption spectra (in acetone) of the carotenoids isolated from *P. rhodozyma* grown at pH 3.5 (—) and pH 4.5 (---) and of the total carotenoid extract of cells grown under aerobic (·····) or microaerophilic (— · —) conditions.

Table 2. Analysis of carotenoids isolated from *P. rhodozyma* grown in a fermenter at pH 3.5 or 4.5

Carotene	Structure	pH 4.5		pH 3.5	
		µg isolated	% of total*	µg isolated	% of total*
β-Carotene	β,β-Carotene	27	77.0	trace	~1
β-Zeacarotene	7,8'-Dihydro-β,ψ-carotene	0	0	40	90
γ-Carotene	β,γ-Carotene	2.7	7.7	1.5	3.0
Neurosporene	7,8-Dihydro-γ,γ-carotene	1.7	5.0	2.5	5.0
Lycopene	γ,γ-Carotene	3.5	10.0	trace	~1

\* Total yield of carotenoids: pH 3.5, 15 µg (g yeast)<sup>-1</sup>; pH 4.5, 7 µg (g yeast)<sup>-1</sup>. The concentrations of xanthophylls were 219 and 385 µg (g yeast)<sup>-1</sup>, respectively.

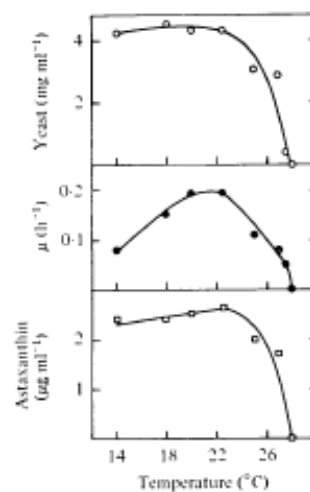


Fig. 4. Effect of temperature on growth and pigmentation of *P. rhodozyma* grown in shake flasks. Symbols as in Fig. 2.

12-2

Table 3. *Effect of carbon source on growth and pigmentation of P. rhodozyma in shake flask culture*

The growth medium was 50 ml 0.1 M-phthalate-buffered yeast nitrogen base medium (see Methods), containing 0.6% (w/v) Bacto-peptone and 200 mg carbon (supplied as the various sugars). The values represent the mean of two determinations. Carbon sources were sterilized separately from the basal medium. No growth occurred in the basal medium without the addition of a carbon source.

Carbon source	Growth rate, $\mu$ ( $\text{h}^{-1}$ )	Yeast yield ( $\text{mg ml}^{-1}$ )	Yeast yield [ $\text{mg (mg carbon)}^{-1}$ ]*	Astaxanthin yield ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Astaxanthin yield [ $\mu\text{g (g yeast)}^{-1}$ ]
D-Maltose	0.14	3.63	0.91	1.86	512
D-Cellobiose	0.10	3.48	0.87	2.27	652
Sucrose	0.19	3.72	0.93	1.89	508
Succinate	0.09	2.66	0.67	1.33	500
D-Mannitol	0.16	3.68	0.92	1.80	489
D-Xylose	0.04	1.21	0.30	0.58	479
L-Arabinose	0.06	3.30	0.83	1.25	379
Glucono- $\delta$ -lactone	0.10	1.48	0.37	0.80	541
D-Glucose	0.20	3.85	0.96	1.62	421
D-Glucose†	0.21	6.46	0.81	1.11	171

\* Assuming all carbon utilized. † 800 mg carbon [4% (w/v) glucose].

then stopped growing. The astaxanthin concentration in yeast grown at all the temperatures tested was constant (about  $480 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Insufficient yeast was obtained at  $27.5^\circ\text{C}$  to estimate the concentration of astaxanthin, but the cells were very pale. All the acetone extracts gave visible absorption spectra typical of astaxanthin. The concentrations of carotenes in the yeast also remained constant at about  $7 \mu\text{g g}^{-1}$ .

#### *Growth and pigmentation of P. rhodozyma grown on various carbon sources*

Cellobiose supported more pigmentation of *P. rhodozyma* [ $652 \mu\text{g (g yeast)}^{-1}$ ] than any of the other carbon sources tested (Table 3). The other disaccharides, maltose and sucrose, also promoted high pigmentation. Sucrose and glucose promoted more rapid growth of *P. rhodozyma* ( $\mu 0.19 \text{ h}^{-1}$ ) than the other carbon sources. Although succinate and glucono- $\delta$ -lactone supported slow growth and rather sparse yields of yeast, these compounds promoted high concentrations of astaxanthin in *P. rhodozyma*. The sugar alcohol D-mannitol supported good yeast growth and pigmentation. The pentoses L-arabinose and D-xylose were utilized but resulted in slow growth and carotenoid production. D-Glucose supported a high rate of growth but only a moderate yield of astaxanthin, especially when present at a higher concentration (4%, w/v).

#### *Influence of glucose concentration and shaking on growth and pigmentation of P. rhodozyma*

As *P. rhodozyma* is a fermentative yeast, growth and pigment production were studied in a wide range of glucose concentrations in YM medium in shake flasks. The final yield of yeast per g glucose utilized decreased significantly with increasing glucose concentrations in shake flasks. The yield of astaxanthin per g yeast followed a remarkably similar pattern (Fig. 5). However, because the total yield of yeast increased substantially in the high glucose media, more astaxanthin ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) was produced. At concentrations of glucose above  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ , the efficiency of biomass and astaxanthin production decreased steadily. Above about  $40 \text{ mg glucose ml}^{-1}$ , the yeast yield per g glucose and astaxanthin yield per g yeast were less affected by increasing glucose concentrations than below  $40 \text{ mg ml}^{-1}$  (Fig. 5).

The production of carotenoids was also studied in a fermenter in medium containing 5% glucose (Fig. 6). Glucose was not completely utilized after 126 h in this medium; yeast yields were reduced to about half those obtained in the 1.5% glucose fermentation and the concentration of astaxanthin in *P. rhodozyma* decreased to  $350 \mu\text{g (g yeast)}^{-1}$  (compare

Astaxanthin formation by *Phaffia rhodozyma*

179

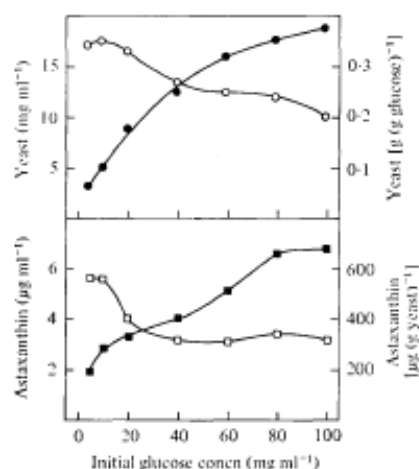


Fig. 5. Effect of glucose concentration on growth and pigmentation of *P. rhodozyma*. Final yeast yield (●), yeast yield per g glucose (○), astaxanthin yield (■) and astaxanthin yield per g yeast (□). Calculations corrected for residual glucose. The growth medium contained (per litre in 0.1 M-phthalate buffer, pH 5.0): 3 g yeast extract, 3 g malt extract, 6 g peptone (YM basal broth) and various concentrations of D-glucose.

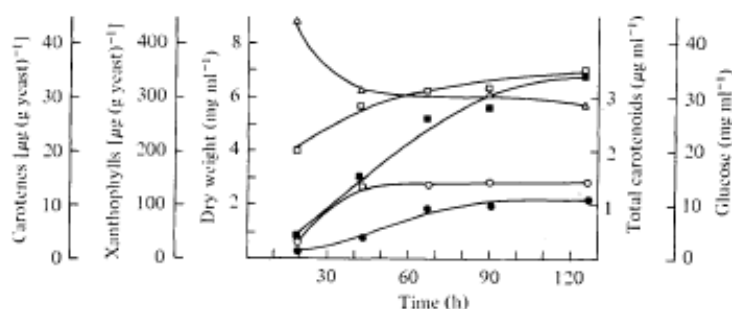


Fig. 6. Effect of 5% glucose on carotenoid formation and growth of *P. rhodozyma* in fermenter batch culture. Yeast growth (○), total carotenoid formation (●), xanthophyll (astaxanthin) formation (□), carotene synthesis (■) and glucose utilization (△).

Fig. 1). However, the concentrations of total carotenoid pigment in the cells grown at the two glucose concentrations were almost the same (about  $400 \mu\text{g g}^{-1}$ ); this was because the concentration of carotenes was 12-fold higher in the cells grown in the high-glucose medium. The primary carotene present in yeast grown in the 5% glucose medium, from all fermenter samples, was  $\beta$ -carotene. In addition, approximately 2.5% of the total carotenes in the cells was found to be  $\beta$ -zeacarotene. The absorption spectrum of the xanthophyll fraction, in all samples, was identical to that of astaxanthin and therefore we did not analyse this group of pigments for concentrations of individual carotenoids.

#### Effects of relative aeration on growth and pigmentation

To study the effects of aeration on growth and carotenoid production in *P. rhodozyma*, we varied the volume of medium in the shake flasks between 25 and 200 ml and their shaking rates from 50 to 200 rev.  $\text{min}^{-1}$  to produce a range of aeration rates. The dissolution rates of oxygen into a sulphite-containing solution indicated that a wide range of aeration rates was achieved (from 3.6 to 108  $\text{mmol O}_2$  dissolved  $\text{l}^{-1} \text{h}^{-1}$ ).

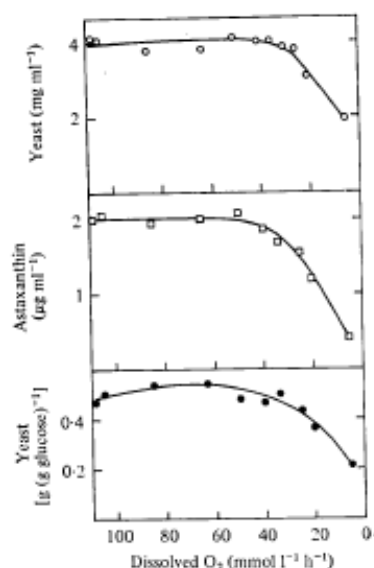


Fig. 7. Effect of aeration on carotenoid formation and growth of *P. rhodozyma*. Final yeast yield ( $\circ$ ), yeast yield per g glucose ( $\bullet$ ) and astaxanthin production ( $\square$ ). The abscissa represents the air supply as  $\text{mmol O}_2$  supplied  $\text{l}^{-1} \text{h}^{-1}$ , obtained in 0.5 l baffled shake flasks by using different medium volumes (25, 50, 100 and 200 ml) and shaking speeds (50, 100, 150, 200  $\text{rev. min}^{-1}$ ).

Table 4. Carotenoids of *P. rhodozyma* grown under microaerophilic or aerobic conditions

Carotenoid	Structure	Individual carotenoids isolated from cells (% of total carotenoid present)*	
		Microaerophilic	Aerobic
Astaxanthin	3,3'-Dihydroxy- $\beta,\beta$ -carotene-4,4'-dione	26	87
Phoenicoxanthin	3-Hydroxy- $\beta,\beta$ -carotene-4,4'-dione	4	6
3-Hydroxy-3',4'-didehydro- $\beta,\psi$ -caroten-7-one	—	9	<1
3-Hydroxyechinenone	3-Hydroxy- $\beta,\beta$ -carotene-4-one	<1	2
Echinenone	$\beta,\beta$ -Carotene-4-one	27	3
$\beta$ -Carotene	$\beta,\beta$ -Carotene	33	2
Other carotenes	—	<1	<1

\* Total carotenoid yield: aerobic,  $509 \mu\text{g (g yeast)}^{-1}$ ; microaerophilic,  $244 \mu\text{g (g yeast)}^{-1}$ .

The yields of cell mass and astaxanthin were fairly independent of oxygen dissolution rates except at the lowest aeration values, i.e. less than  $30 \text{ mmol O}_2 \text{ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Fig. 7). Below this level, the yields of yeast and astaxanthin were significantly reduced; at the lowest oxygen dissolution rate ( $3.6 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) the yield of yeast decreased from the usual value of about  $4.0 \text{ mg ml}^{-1}$  to  $2.0 \text{ mg ml}^{-1}$  and the yield of astaxanthin decreased from approximately  $2.0$  to  $0.3 \mu\text{g ml}^{-1}$ .

Because low aeration drastically influenced the concentration of carotenoids in *P. rhodozyma*, we incubated *P. rhodozyma* without an air supply in the fermenter. Under these conditions, the yeast tripled its biomass but then grew no more. Addition of ergosterol and Tween 80 to the medium did not promote growth. The harvested yeast was low in total

*Astaxanthin formation by Phaffia rhodozyma*

181

carotenoids ( $244 \mu\text{g g}^{-1}$ ) and the visible absorption spectrum of the total carotenoid extract was not typical of astaxanthin (see Fig. 3). The concentration of xanthophylls was  $163 \mu\text{g g}^{-1}$  and of carotenes  $81 \mu\text{g g}^{-1}$ . The concentrations of individual carotenoids are given in Table 4. Under these microaerophilic conditions, comparatively little astaxanthin was produced; it made up only 26% of the carotenoid mixture compared with nearly 90% under aerobic growth conditions. The primary carotenoid synthesized under anaerobic conditions was  $\beta$ -carotene. Echinenone was also produced in much higher amounts anaerobically than in aerobically grown yeast.

Because low aeration and high glucose in the growth medium caused significant reductions in the efficiency of astaxanthin production, we decided to combine these effects. In a medium containing 4% (w/v) glucose and with  $\text{O}_2$  supplied at  $5.0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , the specific growth rate of *P. rhodozyma* was  $0.1 \text{ h}^{-1}$  and the yield of yeast was only  $0.05 \text{ mg (g glucose)}^{-1}$ . The cells were tan rather than pink and contained only  $30 \mu\text{g}$  total carotenoid  $\text{g}^{-1}$ . On analysis the total pigment extract showed a visible absorption spectrum similar to  $\beta$ -zeaxanthin. Chromatography showed that the yeast contained little astaxanthin but proportionately higher concentrations of less polar pigments (probably carotenes) including  $\beta$ -zeaxanthin.

*Light and carotenoid production*

*Phaffia rhodozyma* was grown in triplicate shake flasks in YM medium in the dark or with high light intensity (2700 lx). The yield of yeast in the dark- and light-grown cultures was 3.7 and  $3.5 \text{ mg ml}^{-1}$ , respectively. Observation of the shake flasks after growth suggested that the light-grown cultures synthesized more astaxanthin, because the cells had a redder hue. This may have been due to different relative concentrations of the carotenoids present, since the assay of astaxanthin gave only a slightly increased mean,  $538 \mu\text{g g}^{-1}$  compared to  $510 \mu\text{g g}^{-1}$  for the dark-grown culture.

*Effect of nitrogen source and complex media on pigmentation in P. rhodozyma*

The concentration of ammonium sulphate in the range  $0.25$  to  $5 \text{ mg ml}^{-1}$  had little effect on the yeast growth rate, final yeast biomass or on carotenoid production in YNB medium supplemented with 1% D-glucose. The substitution of  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  or peptone for  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  at various concentrations also did not affect these values. However, when increasing concentrations of yeast extract ( $0.1$  to  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ ) were added to a vitamin-free medium (vitamin-free yeast base, Difco), there was an increase in pigmentation from  $156$  to  $524 \mu\text{g g}^{-1}$ . Similarly, when *P. rhodozyma* was grown in fermenter culture on complex media – (i) brewer's malt wort diluted to a specific gravity of 1.020 or (ii) addition of 1.0 l of colourless tomato pressings to 2.0 l of the standard medium – the carotenoid yields were 712 and  $814 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectively, after 60 h growth.

## DISCUSSION

Astaxanthin formation in *P. rhodozyma* is clearly growth-associated, although its production does not exactly coincide with increase in biomass. The growth-associated production of astaxanthin contrasts with results found with *Sporobolomyces roseus* (Bobkova, 1965) and *Rhodotorula glutinis* (Večer & Kulikova, 1968), where carotenoid production occurred only after yeast growth had stopped; it is also common in the Phycomyces (e.g. *Phycomyces blakesleeanus*) for the primary period of carotenoid synthesis to follow cessation of growth.

*Phaffia rhodozyma* is the only carotenogenic yeast that ferments glucose (Miller *et al.*, 1976). It would be expected that growth at low dissolved oxygen concentrations and/or high glucose levels would promote fermentative metabolism and possibly affect carotenoid production. When the supply of oxygen to *P. rhodozyma* was reduced to low levels there

was a decrease in the yield of yeast per g glucose utilized, which suggested that *P. rhodozyma* was fermenting. This was accompanied by a decrease in astaxanthin concentration and an accumulation of  $\beta$ -carotene. Similarly, when *P. rhodozyma* was cultured with increasing concentrations of glucose, fermentative growth was indicated by decreased yields of yeast per g carbon utilized and this was accompanied by decreases in astaxanthin concentration. These results show that astaxanthin production is inhibited under fermentative conditions. This is supported by the fact that glucose, which is readily fermented by *P. rhodozyma*, promoted relatively low levels of astaxanthin production. Cellobiose, however, which can only be used aerobically by *P. rhodozyma* (Phaff *et al.*, 1972), stimulated relatively high astaxanthin production as did succinate, which may be directly utilized aerobically by the tricarboxylic acid cycle.

Changes in the lipid content of aerobically and anaerobically grown *Saccharomyces cerevisiae* have been interpreted as a reflection of the state of mitochondrial development (Jakovicic *et al.*, 1971). The inability to form ergosterol in mutants of *S. cerevisiae* (Bard *et al.*, 1974) is due to lesions in the biosynthesis of porphyrins rather than direct lesions in the synthesis of sterols, which implies the requirement of an active respiratory chain for the synthesis of ergosterol. It is possible that an active respiratory chain is also needed in the biosynthesis of carotenoids, since these share many enzymic steps with sterols in their formation from acetyl-CoA. Exposure of anaerobically grown cells to oxygen causes a rapid induction of the sterol-synthesizing enzyme, 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA reductase (Berndt *et al.*, 1973). Further, since carotenoids have been reported to be located primarily in the mitochondria in certain fungi (Heim, 1946), this location may also indicate their site of synthesis.

Very little is known about the formation of xanthophylls in micro-organisms. It is generally assumed that hydroxyl functions at C-3 and C-3' of the carotenoid skeleton arise from the incorporation of molecular oxygen by carotene hydrocarbons. The evidence for this hypothesis is indirect (see Britton, 1976). Nothing is known about the introduction of oxygen functions at C-4 and C-4' except that it is likely that oxo groups are formed through the hydroxy intermediates (Britton, 1976). When *P. rhodozyma* was cultured with minimal oxygen supply, the astaxanthin yields were greatly reduced, and the yeast tended to accumulate  $\beta$ -carotene as well as the monoketone echinenone. These results suggest that the hydroxyl functions in astaxanthin are formed only in the presence of oxygen and that carotenes and echinenone are formed under conditions of low aeration. When we aerated anaerobically grown stationary phase cells, there was no detectable change in their astaxanthin content.

$\beta$ -Zeacarotene accumulated in cells of *P. rhodozyma* grown under adverse environmental conditions. This pigment was not originally detected in the analysis of the pigments of *P. rhodozyma* by Andrewes *et al.* (1976). Its isolation suggests that the well known alternative route for  $\beta$ -carotene synthesis is operative in *P. rhodozyma* thus:



$\beta$ -Zeacarotene accumulates in cells of *Rhodotorula* (Simpson *et al.*, 1964) and *Phycomyces blakesleeianus* in the presence of inhibitors. Because  $\beta$ -zeacarotene usually accumulates in cells only under adverse conditions, e.g. in the presence of inhibitors such as diphenylamine or in stressful environments, it may be regarded as an indicator of inefficient carotenoid biosynthesis. Its formation can perhaps be rationalized by a hypothesis of Goodwin and his coworkers, (McDermott *et al.*, 1974) who postulate that the synthesis of zeaxanthin by *Flavobacterium* spp. involves an enzyme complex with two active sites, each of which acts on a carotenoid 'half molecule' in synchrony and with equal efficiency, i.e.

desaturation or cyclization of each half molecule proceeds at the same rate. Under abnormal conditions, however, the individual sites may not act in synchrony and asymmetrical products such as  $\beta$ -zeacarotene may result. Further, genetic evidence has shown that there is an enzyme complex with two cyclases for the formation of  $\beta$ -carotene in *Phycomyces* (De la Guardia *et al.*, 1971).

In contrast to many other micro-organisms, light does not stimulate carotenogenesis in *P. rhodozyma*. The biosynthesis of astaxanthin was, however, greatly enhanced by growth in the presence of tomato wastes. The high yield of carotenoid obtained with the tomato supplement suggests that carotenoid precursors may enter the cell and enhance carotenoid production. These results indicate the possibility of commercial production of astaxanthin by *P. rhodozyma* using citrus or vegetable wastes as adjuncts in the fermentation.

This research was financially supported by Sea Grant no. NOAA-04-6-158 R/R-11. A traineeship was provided by Sea Grant for E. A. Johnson.

## REFERENCES

- ANDREWES, A. G., PHAFF, H. J. & STARR, M. P. (1976). Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a red pigmented fermenting yeast. *Phytochemistry* **15**, 1003-1007.
- BAE, M., LEE, T. H., YOKOYAMA, H., EOETZER, H. G. & CHICHESTER, C. O. (1971). The occurrence of plectanixanthin in *Cryptococcus laurentii*. *Phytochemistry* **10**, 625-629.
- BARD, M., WOODS, R. A. & HASLAM, J. M. (1974). Porphyrin mutants of *Saccharomyces cerevisiae*: correlated lesions in sterol and fatty acid biosynthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **56**, 324-330.
- BERNDT, J., BOLL, M., LOWEL, M. & GAUMERT, R. (1973). Regulation of sterol biosynthesis in yeast-induction of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA reductase by glucose. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **51**, 843-848.
- BOBKOVA, T. S. (1965). Carotenoid pigments of mycobacteria and yeasts. *Mikrobiologiya* (English translation) **34**, 229-233.
- BRITTON, G. (1976). Biosynthesis of carotenoids. In *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, vol. 1, pp. 262-327. Edited by T. W. Goodwin. New York: Academic Press.
- COOPER, C. M., FERNSTROM, G. A. & MILLER, S. A. (1944). Performance of agitated gas-liquid contractors. *Industrial and Engineering Chemistry* **36**, 504-509.
- DAVIES, B. H. (1976). Carotenoids. In *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, p. 116. Edited by T. W. Goodwin. New York: Academic Press.
- DE LA GUARDIA, M. D., ARAGON, C. M. G., MURILLO, F. & CERDA-OLMEDO, E. (1971). A carotenogenic enzyme aggregate in *Phycomyces*: evidence from quantitative complementation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **68**, 2051-2058.
- GOODWIN, T. W. (1972). Carotenoids in fungi and nonphotosynthetic bacteria. *Progress in Industrial Microbiology*, vol. 11, pp. 29-89. Edited by D. J. D. Hockenull. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- HEIM, P. (1946). Sur les pigments carotiniques des champignons. *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences* **223**, 1170-1172.
- JAKOVICIC, S., GETZ, S., RABINOWITZ, M., JAKOB, H. & SWIFT, H. (1971). Cardiolipid content of wild type and mutant yeasts in relation to mitochondrial function and development. *Journal of Cell Biology* **48**, 490-502.
- JOHNSON, E. A., CONKLIN, D. E. & LEWIS, M. J. (1977). The yeast *Phaffia rhodozyma* as a dietary pigment source for salmonids and crustaceans. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **34**, 2417-2421.
- JOHNSON, E. A., VILLA, T. G., LEWIS, M. J. & PHAFF, H. J. (1978). Simple method for the isolation of astaxanthin from the basidiomycetous yeast *Phaffia rhodozyma*. *Applied and Environmental Microbiology* **35**, 1155-1159.
- LIU, I. S., LEE, T. H., YOKOYAMA, H., SIMPSON, K. L. & CHICHESTER, C. O. (1973). Isolation and identification of 2-hydroxyplectanixanthin from *Rhodotorula aurantiaca*. *Phytochemistry* **12**, 2953-2957.
- MCDERMOTT, J. C. B., BROWN, D. J., BRITTON, G. & GOODWIN, T. W. (1974). Alternative pathways of zeaxanthin synthesis in a Flavobacterium species. *Biochemical Journal* **144**, 231-243.
- MILLER, M. W., YONEYAMA, M. & SONEDA M. (1976). *Phaffia*, a new yeast genus in the Deuteromycotina (*Blastomycetes*). *International Journal of Systematic Bacteriology* **26**, 286-291.
- PHAFF, H. J., MILLER, M. W., YONEYAMA, M. & SONEDA, M. (1972). A comparative study of the yeast flora associated with trees on the Japanese Islands and on the west coast of North America. In *Fermentation Technology Today*, pp. 759-774. Edited by G. Terui. Osaka, Japan: Society of Fermentation Technology.
- SIMPSON, K. L., NAKAYAMA, T. O. M. & CHICHESTER, C. O. (1964). Biosynthesis of yeast carotenoids. *Journal of Bacteriology* **88**, 1688-1694.
- SIMPSON, K. L., CHICHESTER, C. O. & PHAFF, H. J. (1971). Carotenoid pigments of yeast. In *The Yeasts*, vol. 2, pp. 493-515. Edited by A. H. Rose & J. S. Harrison. New York: Academic Press.
- SUMNER, J. B. & SOMERS, F. (1949). *Laboratory experiments in Biological Chemistry*. New York: Academic Press.
- VECHER, A. S. & KULIKOVA, A. (1968). Changes in polyene compounds at various stages of carotenoid development of *Rhodotorula gracilis*. *Mikrobiologiya* (English translation) **37**, 558-560.

## 17.5. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#2)

Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas  
Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences  
vol. 40, n. 3, jul./set., 2004

# RBCF

### Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma*

Danilo Gomes Moriel<sup>1</sup>, Iara Maria Pereira Machado<sup>1</sup>, José Domingos Fontana<sup>2</sup>,  
Tania Maria Bordin Bonfim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações, <sup>2</sup> Biomass Chemo/Biotechnology Laboratory,  
Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná

\*Correspondência:

T.M.B. Bonfim

Laboratório de Enzimologia e Tecnologia  
das Fermentações,

Departamento de Farmácia,

Universidade Federal do Paraná

Rua Lotário Melani, 2400

80210-170, Curitiba, Paraná, Brasil

e-mail: moriel@bol.com.br

*The combination of fed-batch processes and low cost substrates (sugar cane juice and urea) was studied in view of the optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202. In the optimized process, a biomass and astaxanthin productivity of 0.327 g/l/h and 0.124 mg/l/h was achieved, respectively. Compared to the batch process studied, an increase of approximately 4.55-fold in the biomass productivity and 4.73-fold in the astaxanthin productivity was found.*

#### Unilems

- Astaxanthin
- Biomass
- Fed-batch processes
- Low cost substrates
- *Phaffia rhodozyma*

#### INTRODUCTION

Astaxanthin (3,3'-dihydroxy- $\beta,\beta'$ -carotene-4,4'-dione, Figure 1) is a carotenoid widely distributed in nature, being found as the main pigment in some crustaceans (shrimp and lobster), fish (trout and salmon), birds (flamingo and scarlet ibis) and microorganisms (the yeast *Phaffia rhodozyma* and the algae *Haematococcus pluvialis*) (Johnson, An, 1991).

Astaxanthin is mainly used in the trout and salmon farming. Since these animals can not synthesize carotenoids, pigments must be supplemented to their feeds, allowing their assimilation and providing the characteristic pigmentation of these fish, increasing the quality and consumer acceptance in the marketplace (Johnson, An, 1991).

Because of the increasing worldwide market, the high cost of synthetic astaxanthin and the need of astaxanthin obtained from natural sources, in scaled-up

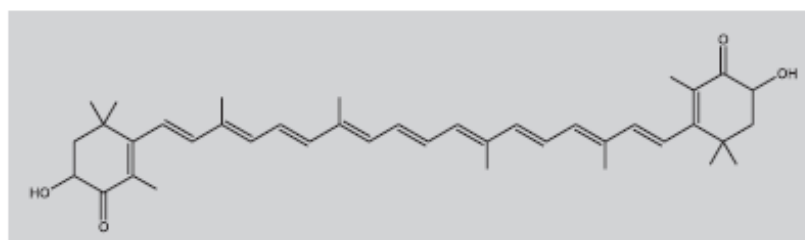


FIGURE 1 – Astaxanthin



processes, at low cost and high productivity, several low cost substrates have been used as substrate for the cultivation of the yeast *P. rhodozyma*, like peat hydrolysate (Acheampong, Martin, 1995), wood hydrolysates (Cruz, Parajó, 1998; Parajó *et al.*, 1997; Parajo, Santos, Vazquez, 1998; Vazquez, Santos, Parajo, 1998), corn wet-milling co-products (Hayman, Mannarelli, Leathers, 1995) and even sugar cane juice (Chociai *et al.*, 2002). In this way, the aim of this work is to optimize the biomass and astaxanthin production by the yeast *P. rhodozyma*, using fed-batch fermentation processes and low cost substrates (sugar cane juice and urea) as substrates.

## MATERIAL AND METHODS

### Microorganism

The microorganism used was the wild strain *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202.

### Inoculum

The inoculum was grown on a medium consisting of 20 g sucrose/L, 1 g yeast extract/L and 5 g peptone/L. The inoculum was cultivated in 250 mL erlenmeyer flasks in a rotatory shaker at 150 rpm, 24 °C for 48 h. This culture was used to inoculate the batch and fed-batch processes in order to produce an initial absorbance in the fermentation medium of about 0.200 (650 nm).

### Bioreactor set-up

Batch and fed-batch cultures were grown in a 2 l B.

Braun Biotech B bioreactor. The initial composition of the fermentation medium was sugar cane juice (20 g total carbohydrates/L) and urea (1 g/L). The pH was controlled at  $\text{pH } 6.0 \pm 0.2$  by the automatic addition of 1 M NaOH and 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . The aeration was maintained in 1 vvm and the agitation was manually controlled in order to maintain the dissolved oxygen concentration above 40%. The temperature was controlled at  $24 \pm 0.5$  °C. In the fed-batch process, feeding was done continuously between 24 and 72 h of the process, with sugar cane juice (250 g total carbohydrates/L), in order to keep the concentration of total carbohydrates in the fermentation medium of about 20 g/L during the feeding. All experiments were done in duplicate and the average values of the results are shown.

### Analytical methods

Total carbohydrates were measured by the phenol-sulfuric method (Dubois *et al.*, 1956). The biomass concentration was measured as optical density (OD) using spectrophotometry at 650 nm in all fermentation samples. At the end of the processes, biomass was determined by freeze-drying the sample until constant weight. The astaxanthin content was determined by the method described by Bonfim (1999).

## RESULTS AND DISCUSSION

In order to increase the astaxanthin and biomass productivities, the yeast *P. rhodozyma* was cultivated in fed-batch process. Figures 2 and 3 show the substrate variation and biomass formation in the batch and fed-batch cultivation of the yeast *P. rhodozyma*, respectively.

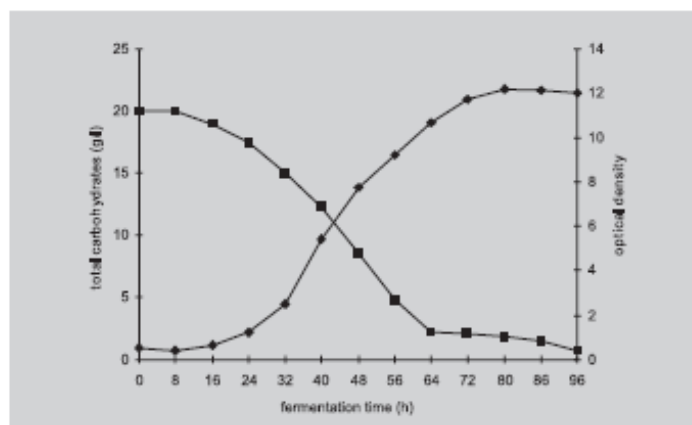


FIGURE 2 - Substrate consumption and biomass formation in the batch process. (■) total carbohydrates; (◆) optical density

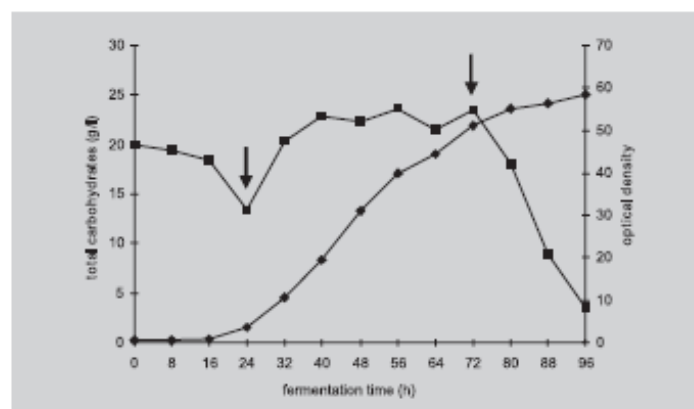


FIGURE 3 - Substrate variation and biomass formation in the fed-batch process. (■) total carbohydrates; (◆) optical density; the arrows indicate the start and the end of the feeding.

TABLE I - Batch and fed-batch process results

PROCESS	X	P	$P_{ph}$	$P_x$	$P_p$	$Y_{sh}$	$Y_{ph}$
Batch	6.9	2.52	364.59	0.072	0.026	0.36	$1.31 \times 10^{-4}$
Fed-batch	31.4	11.91	379.18	0.327	0.124	0.39	$1.46 \times 10^{-4}$

X: biomass yield (g/L); P: astaxanthin yield (mg/L);  $P_{ph}$ : cellular concentration of astaxanthin ( $\mu\text{g}$  astaxanthin/g biomass);  $P_x$ : biomass productivity (g/L/h);  $P_p$ : astaxanthin productivity (mg/L/h);  $Y_{sh}$ : biomass yield from total carbohydrates consumed (g biomass/g sugar consumed);  $Y_{ph}$ : astaxanthin yield from total carbohydrates consumed (g astaxanthin/g sugar consumed).

Table I shows the results obtained in these two cultures. Comparing the fed-batch process to the batch process studied, the biomass ( $P_x$ ) and astaxanthin productivity ( $P_p$ ) increased approximately 4.55 and 4.73-fold, respectively, without losses in  $Y_{sh}$  and  $Y_{ph}$  (biomass and astaxanthin yield from total carbohydrates consumed, respectively), indicating that the substrate consumed by the yeast was not being used for ethanol production.

## CONCLUSIONS

The use of a fed-batch fermentation is an important tool in process optimization and allows the establishment of high biomass and astaxanthin productivity processes. In this work, we optimized the production of biomass and astaxanthin productivities by fed-batch fermentation. Once this process is associated to low cost substrates, it could arouse interest to the industrial production, leading to a cost of about \$0.53/g astaxanthin based on the carbon source price.

## RESUMO

### Otimização da produção de biomassa e astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma*

A combinação de processos descontínuo alimentado e matérias-primas de baixo custo (caldo de cana-de-açúcar e uréia) foi estudada a fim de otimizar a produção de biomassa e astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202. No processo otimizado, produtividades em biomassa e astaxantina de 0,327 g/L/h e 0,124 mg/L/h foram obtidas, respectivamente. Comparadas com o processo descontínuo estudado, verificou-se aumento de 4,55 vezes na produtividade em biomassa e 4,73 vezes na produtividade em astaxantina.

UNITERMOS: Astaxantina. Biomassa. Matérias-primas de baixo custo. Processo descontínuo alimentado. *Phaffia rhodozyma*.

## REFERENCES

- ACHEAMPONG E. A., MARTIN, A. M. Kinetic studies on the yeast *Phaffia rhodozyma*. *J. Basic Microbiol.*, v. 35, p. 147-155, 1995.
- BONFIM, T. M. B. *Produção de astaxantina pela levedura Phaffia rhodozyma (Xanthophyllomyces dendrorhous) a partir de meios de cultura de baixo custo*. Curitiba, 1999. 159 p. [Tese de doutorado: Universidade Federal do Paraná].
- CHOCIAI, M. B.; MACHADO, I. M. P.; FONTANA, J. D.; CHOCIAI, J. G.; BUSATO, S. B.; BONFIM, T. M. B. Cultivo da levedura *Phaffia rhodozyma (Xanthophyllomyces dendrorhous)* em processo descontínuo alimentado para produção de astaxantina. *Rev. Bras. Cien. Farm.*, v. 38, p. 457-462, 2002.
- CRUZ, J. M.; PARAJO, J. C. Improved astaxanthin production by *Xanthophyllomyces dendrorhous* growing on enzymatic wood hydrolysates containing glucose and cellobiose. *Food Chem.*, v. 63, p. 479-484, 1998.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, v. 28, p. 350-356, 1956.
- HAYMAN, G. T.; MANNARELLI, B. M.; LEATHERS, T. D. Production of carotenoids by *Phaffia rhodozyma* grown on media composed of corn wet-milling coproducts. *J. Ind. Microbiol.*, v. 14, p. 389-395, 1995.
- JOHNSON, E. A.; AN, G. H. Astaxanthin from microbial sources. *Critical Rev. Biotechnol.*, v. 11, p. 297-326, 1991.
- PARAJO, J. C.; SANTOS, V.; VÁZQUEZ, M.; CRUZ, J. M. Production of carotenoids by *Xanthophyllomyces dendrorhous* growing on enzymatic hydrolysates of prehydrolysed wood. *Food Chem.*, v. 60, p. 347-355, 1997.
- PARAJO, J. C.; SANTOS, V.; VAZQUEZ, M. Production of carotenoids by *Phaffia rhodozyma* growing on media made from hemicellulosic hydrolysates of *Eucalyptus globulus* wood. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 59, p. 501-506, 1998.
- VAZQUEZ, M.; SANTOS, V.; PARAJO, J. C. Fed-batch cultures of *Phaffia rhodozyma* in xylose-containing media made from wood hydrolysates. *Food Biotechnol.*, v. 12, p. 43-55, 1998.

Recebido para publicação em 27 de fevereiro de 2004.  
Aceito para publicação em 18 de outubro de 2004.

## 17.6. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#3)

397

Vol.48, n. 3 : pp. 397-401, May 2005  
 ISSN 1516-8913 Printed in Brazil

**BRAZILIAN ARCHIVES OF  
 BIOLOGY AND TECHNOLOGY**  
 AN INTERNATIONAL JOURNAL

### Effect of Feeding Methods on the Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* in fed-batch Process

Danilo Gomes Moriel<sup>1</sup>, Miriam Blumel Chociai<sup>1</sup>, Iara Maria Pereira Machado<sup>1</sup>, José Domingos Fontana<sup>2</sup> and Tania Maria Bordin Bonfim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações; <sup>2</sup>Biomass Chemo/Biotechnology Laboratory; Departamento de Farmácia; Universidade Federal do Paraná; Rua Lothário Meissner, 3400; 80210-170; Curitiba - PR - Brazil

#### ABSTRACT

The effect of feeding methods on the production of astaxanthin by the yeast *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202 was studied, using continuous and pulsed fed-batch processes and low cost materials as substrates (sugar cane juice and urea). In continuous fed-batch processes, a cellular astaxanthin concentration of 383.73 µg/g biomass was obtained. But in pulsed fed-batch processes a reduction in the cellular astaxanthin concentration (303.34 µg/g biomass) was observed. Thus the continuous fed-batch processes could be an alternative to industrial production of astaxanthin, allowing an increase in the biomass productivity without losses on astaxanthin production by the yeast.

**Key words:** Astaxanthin; fed-batch process; *Phaffia rhodozyma*

#### INTRODUCTION

Astaxanthin (3,3'-dihydroxy-β,β'-carotene-4,4'-dione) is a carotenoid widely distributed in nature, found as the main pigment in some crustaceans (shrimp and lobster), fish (trout and salmon), birds (flamingo and scarlet ibis) and microorganisms (the yeast *Phaffia rhodozyma* and the algae *Haematococcus pluvialis*) (Johnson and An, 1991). It is mainly used in the trout and salmon farming. Since these animals can not synthesize carotenoids, pigments must be supplemented to their feeds, allowing the assimilation and providing the characteristic pigmentation of these fish, increasing the quality and consumer acceptance in the market-place (Johnson and An, 1991).

Because of the increasing worldwide market, the high cost of synthetic astaxanthin and the need of

astaxanthin obtained from natural sources at a low cost and high productivity, the yeast *Phaffia rhodozyma* has been widely used for astaxanthin production in fed-batch fermentation processes using low cost materials as substrates (An et al., 2001; Chociai et al., 2002; Vazquez et al., 1998). We studied the influence of the feeding method on the astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma* in continuous and pulsed fed-batch process, using low cost materials (sugar cane juice and urea) as substrates.

#### MATERIALS AND METHODS

##### Microorganism

The microorganism used was the wild strain *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202.

\* Author for correspondence



#### Inoculum

The inoculum was grown on a medium consisting of (g/l) 20 sucrose, 1 yeast extract and 5 peptone. The inoculum was cultivated in 250 ml Erlenmeyer flasks on a rotatory shaker at 150 rpm, 24 °C for 48 h. This culture was used to inoculate the continuous and pulsed fed-batch processes in order to produce an initial absorbance in the fermentation medium around 0.200 (650 nm). It corresponded to an inoculum of 3 to 4%.

#### Bioreactor set-up

Fed-batch cultures were grown in a 2 l B. Braun Biotech B bioreactor. The initial volume of fermentation medium was 0.8 l and the total volume of medium in the bioreactor was between 1.2 and 1.3 l after feeding. The composition of the initial fermentation medium was diluted sugar cane juice (20 g total carbohydrates/l) and urea (1 g/l). The feeding solution was only composed of diluted sugar cane juice, in a total carbohydrate concentration of 100 g/l. The pH was controlled at  $6.0 \pm 0.2$  by the automatic addition of 1 M NaOH and 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The aeration was maintained at 1 vvm and the agitation was manually controlled in order to maintain the dissolved oxygen concentration above 40% of air saturation. The temperature was controlled at  $24 \pm 0.5$  °C. In the pulsed fed-batch process, were added 23, 150 and 214 ml of feeding solution respectively at 24, 48 and 72 h of the fermentation time in order to reestablish the total carbohydrate concentration in the fermentation medium to approximately 20 g/l. Thus, 387 ml of feeding solution was added in the pulsed fed-batch process. In the continuous fed-batch process, the feed was performed between 16 and 72 h of fermentation time, using the following flow rates: 16 to 24 h: 3 ml/h; 24 to 32 h: 3.75 ml/h; 32 to 40 h: 6.125 ml/h; 40 to 48 h: 7.5 ml/h; 48 to 56 h: 9.5 ml/h; 56 to 64 h: 11.5 ml/h; and 64 to 72 h: 14.125 ml/h. The flow rates were based on the consumption rates obtained in the pulsed fed-batch process studied. Thus, the total amount of feeding solution added in the continuous fed-batch process was 444 ml. All the experiments were done in duplicate and the average of the results are shown.

#### Analytical methods

Total carbohydrates were measured by the phenol-sulfuric method (Dubois et al., 1956). The biomass concentration was measured by optical density

(OD) using spectrophotometer at 650 nm during all the fermentation time. At the end of the processes, biomass was determined by freeze-drying the sample until constant weight. The astaxanthin content was determined by the method described by Bonfim (1999). In this method, the freeze-dried cells were ruptured with 2 ml of DMSO for 30 minutes. Then, 6 ml of acetone was added and agitated vigorously, in order to extract the astaxanthin. The sample was centrifuged and the solvent phase was separated. This process was repeated with the precipitate in order to ensure the extraction of all the astaxanthin content. The two solvent phases obtained were joined and 10 ml of 200 g NaCl/l and 10 ml of petroleum ether were added. After the agitation and separation of the phases, the solvent phase was separated. More 5 ml of petroleum ether were added to ensure the extraction. The solvent phase was filtrated through Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to eliminate the moisture. The absorbance was measured at 480 nm and the astaxanthin concentration was calculated using the specific absorption coefficient  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1600$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1 shows the variation of total carbohydrate concentration in the fermentation medium during the pulsed fed-batch processes. As observed, the feed was able to reestablish the total carbohydrate concentration to approximately 20 g/l, avoiding high concentrations in the medium. Bonfim (1999), studying the effect of initial substrate concentration on the production of biomass and astaxanthin by the yeast *Phaffia rhodozyma*, found that total carbohydrate concentrations above 20 g/l led to a reduction on biomass and astaxanthin formation. Johnson and Lewis (1979) and Santopietro et al. (1998) also discovered that the increase on the carbohydrate concentration promoted a reduction on biomass and astaxanthin formation. Reynders et al. (1997) found that it occurred because of the Crabtree effect (which occurs in the presence of fully aerobic conditions and high levels of readily metabolizable sugars, resulting in a reduced biomass yield and formation of ethanol).

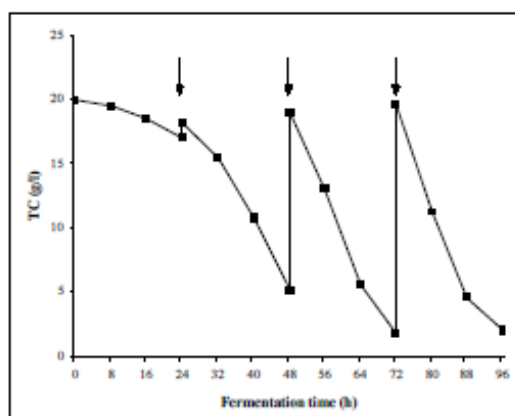


Figure 1 - Variation of total carbohydrate concentration (TC) on pulsed fed-batch process. The arrows indicate the feeding times.

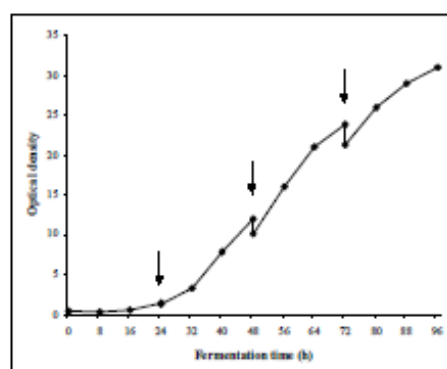


Figure 2 - Biomass formation on pulsed fed-batch process. The arrows indicate the feeding times.

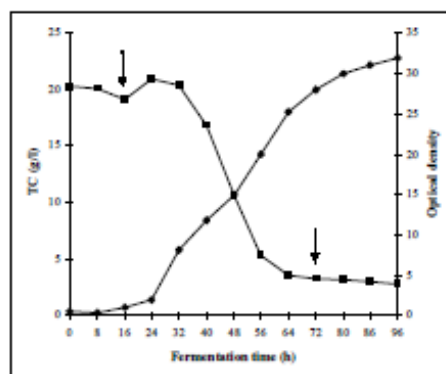
Fig. 2 shows that the addition of feeding solution promoted a dilution on the fermentation medium and, consequently, on the OD. At the 24<sup>th</sup> hour, dilution could not be observed because of the low amount of feeding solution added. Johnson and Lewis (1979) and Meyer and Du Preez (1993) found that astaxanthin was mainly produced during the exponential phase and the production was also observed in the stationary phase, but at a slow rate. They recommended that the process should be kept in the stationary phase for a while

(in order to obtain the maximum astaxanthin productivity). In batch experiments using the same substrates and fermentation conditions, Moriel (2004) found that the cellular astaxanthin concentration did not change after the end of exponential phase and that the stationary phase was not necessary to obtain the maximum cellular astaxanthin concentration.

In the pulsed fed-batch processes, a cellular astaxanthin concentration of 303.34  $\mu\text{g/g}$  biomass, an astaxanthin concentration of 5.69  $\text{mg/l}$ , a

biomass concentration of 18.75 g/l and a biomass yield of 0.39 g biomass/g substrate were obtained. The biomass and astaxanthin productivities were 0.195 g/l/h and 0.059 mg/l/h, respectively. Comparing to batch processes, using the same fermentation conditions (Moriel, 2004), a reduction in the cellular astaxanthin concentration (364.59 to 303.34  $\mu\text{g/g}$  biomass) was observed, besides the increasing in the biomass (0.072 to

0.195 g/l/h) and astaxanthin productivities (0.026 to 0.059 mg/l/h). Chociai et al. (2002) also observed the same reduction in the cellular astaxanthin concentration, using pulsed fed-batch processes and the same substrates. It showed that great variations in the carbohydrate concentration of the fermentation medium during the process could interfere on the astaxanthin production.



**Figure 3** - Biomass formation and variation of total carbohydrate concentration in continuous fed-batch process. (■) total carbohydrates concentration (TC) (g/l); (◆) optical density. The arrows indicate the start and the end of the feed.

Fig. 3 shows the biomass formation and variation of total carbohydrate concentration in the fermentation medium during continuous fed-batch processes giving a cellular astaxanthin concentration of 383.73  $\mu\text{g/g}$  biomass, astaxanthin concentration of 7.44 mg/l, biomass concentration of 19.35 g/l and biomass yield of 0.41 g biomass/g substrate. The biomass and astaxanthin productivities were 0.202 g/l/h and 0.078 mg/l/h, respectively. Comparing to the pulsed fed-batch processes, the biomass yields and concentrations were very close but a reduction on the cellular astaxanthin concentration was not observed in the continuous fed-batch process, leading to higher astaxanthin concentration and productivity.

## CONCLUSIONS

The utilization of fed-batch processes for the production of astaxanthin by the yeast *Phaffia rhodozyma* could be an important tool to increase

the biomass productivity and, consequently, the astaxanthin productivity as no losses in the cellular astaxanthin concentration were observed. The utilization of continuous feeding showed to be the most efficient feeding method in fed-batch processes, as it did not lead to a reduction in the cellular astaxanthin concentration, as observed in the pulsed feeding. Thus, the utilization of continuous feeding methods for the production of biomass and astaxanthin by the yeast *Phaffia rhodozyma* could be an important alternative to increase the biomass productivity without losses in the cellular astaxanthin concentration.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The financial support of CAPES is gratefully acknowledged.

## RESUMO

O efeito da alimentação na produção de astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* ATCC 24202 foi estudado, utilizando processos descontínuo alimentado com alimentação contínua e intermitente, e matérias-primas de baixo custo como substratos (caldo de cana de açúcar e uréia). Em processos descontínuo alimentado com alimentação contínua, uma concentração celular de astaxantina de 383,73 µg/g biomassa foi obtida. Entretanto, em processos descontínuo alimentado com alimentação intermitente, uma redução na concentração celular de astaxantina (303,34 µg/g biomassa) foi observada. Desta forma, processos descontínuo alimentado com alimentação contínua poderiam ser uma alternativa na produção industrial de astaxantina, permitindo um aumento na produtividade de biomassa sem perdas na produção de astaxantina pela levedura.

## REFERENCES

- An, G. H.; Jang, B. G. and Cho, M. H. (2001), Cultivation of the carotenoid-hyperproducing mutant 2A2N of the red yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) with molasses. *J. Biosci. Bioeng.*, **92**, 121-125.
- Boufim, T. M. B. (1999), Produção de astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) a partir de meios de cultura de baixo custo. PhD Thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil.
- Chociai, M. B.; Machado, I. M. P.; Fontana, J. D.; Chociai, J. G.; Busato, S. B. and Boufim, T. M. B. (2002), Cultivo da levedura *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) em processo descontínuo alimentado para produção de astaxantina. *Brazilian J. Pharm. Sci.*, **38**, 457-462.
- Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. and Smith, F. (1956), Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356.
- Johnson, E. A. and An, G. H. (1991), Astaxanthin from microbial sources. *Crit. Rev. Biotechnol.* **11**, 297-326.
- Johnson, E. A. and Lewis, M. J. (1979), Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*. *J. Gen. Microbiol.*, **115**, 173-183.
- Meyer, P. S. and Du Preez, J. C. (1993), Effect of acetic acid on astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnol. Lett.*, **15**, 919-924.
- Morial, D. G. (2004), Otimização da produção de biomassa e astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* utilizando processo descontínuo alimentado. *Master Thesis*, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil.
- Reynders, M. B.; Rawlings, D. E. and Harrison, S. T. L. (1997), Demonstration of the Crabtree effect in *Phaffia rhodozyma* during continuous and fed-batch cultivation. *Biotechnol. Lett.*, **19**, 549-552.
- Santopietro, L. M. D.; Spencer, J. F. T. and Sineriz, F. (1998), Fed-batch and continuous culture of *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*). *Folia Microbiol.*, **43**, 169-172.
- Vazquez, M.; Santos, V. and Parajo, J. C. (1998), Fed-batch cultures of *Phaffia rhodozyma* in xylose-containing media made from wood hydrolysates. *Food Biotechnol.*, **12**, 43-55.

Received: December 18, 2003;  
Revised: June 28, 2004;  
Accepted: March 03, 2005.



## 17.7. Artículos para la determinación de parámetros cinéticos (#4)

Z.-C. HU *et al.*: Production of Astaxanthin by *X. dendrorhous*, *Food Technol. Biotechnol.* 45 (2) 209–212 (2007)

209

ISSN 1330-9862  
(FTB-1521)

scientific note

### Production of Astaxanthin by *Xanthophyllomyces dendrorhous* ZJUT46 with Fed-Batch Fermentation in 2.0 M<sup>3</sup> Fermentor

Zhong-Ce Hu, Yu-Guo Zheng\*, Zhao Wang and Yin-Chu Shen

Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, PR China

Received: June 23, 2005

Accepted: April 26, 2006

#### Summary

Astaxanthin is a main carotenoid pigment. Fed-batch fermentation bioprocesses of astaxanthin in 2.0 M<sup>3</sup> fermentor have been investigated. Moreover, pH shift control was employed in fed-batch fermentation at 2.0 M<sup>3</sup> scale. The results of astaxanthin fermentation showed that the fed-batch fermentation with pH shift strategy was the best among all the experiments, and the maximum astaxanthin concentration of 39.47 mg/L was achieved at 132 h.

*Key words:* astaxanthin, fed-batch fermentation, carotenoid, *Xanthophyllomyces dendrorhous*

#### Introduction

Astaxanthin is an orange-pink carotenoid pigment commonly found in marine animals (1,2). It has a strong antioxidant activity (3) and some essential biological functions, including protection against UV-light effects (4) and enhancing immune response (5).

Astaxanthin is important for animal feeding (especially in the aquaculture industry), pharmaceuticals, cosmetics and the food industry (6). The red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous* (formerly *Phaffia rhodozyma*) (7), has been considered as a good source of astaxanthin (8), and is being considered for industrial production of astaxanthin (9).

Many recently published works report astaxanthin fermentation by *X. dendrorhous* at lab scale (10–13). Some of them have studied the optimization of astaxanthin production, either analyzing the influence of the operational conditions or investigating carbon sources and other components. Moreover, sugar-feeding strategy and pH control strategy on astaxanthin production by *X. dendrorhous* at lab scale were investigated in our previous works (14,15). Present study reports the production of astaxanthin by *X. dendrorhous* in 2.0 M<sup>3</sup> fermentor.

#### Materials and Methods

##### Microorganism

The microorganism *X. dendrorhous* ZJUT46, employed in this study, was maintained at 4 °C on YM agar slants with composition (in g/L) of glucose 10, malt extract 3, yeast extract 3, peptone 5, agar 20 and 1 L of water, and transferred monthly (14,15).

##### Seed preparation

The seed culture was prepared in the mechanically stirred fermentor that had a total volume of 200 L and a ratio of height-to-diameter of 3.0, and had three impellers on the vertical shaft. The type of impeller was the disc turbine with six flat blades. Temperature was controlled by water pumped through jackets on the vessels.

The inoculum was first grown in 500-mL flasks each containing 50 mL of sterile inoculum medium, which was composed of 20 g of glucose, 8 g of yeast extract and 2 g of peptone per litre. Then the flasks were kept on rotary shakers with 200 rpm for 48 h at 20 °C. This culture was transferred to 200-litre fermentor containing 130 L of inoculum medium, to which 15 mL of polyethylene glycol were added as antifoam agent.

\*Corresponding author; Phone/Fax: ++86 571 88 320 630; E-mail: zhengyg@zjut.edu.cn

Temperature, pH, dissolved oxygen and agitation speed were measured online. The main operation conditions of seed culture were as follows: temperature was 20 °C, pH profile was maintained at 5.0 with 2.0 M NaOH and 2.0 M HCl, and the aeration ratio and agitation speed were controlled as follows: the aeration ratio and agitation speed were 0.5 and 1.0 (by volume per volume per minute) and 300 and 350 rpm for 0–24 and 24–48 h, respectively. The course of seed culture was constantly monitored by off-line sampling and determined at 12-hour intervals. Each sample was subjected to the test for sterility, reducing sugars, total sugars and biomass content.

After 48 h, the seed culture was transferred to the 2.0-M<sup>3</sup> fermentor with working volume of 1.5 M<sup>3</sup>. An inoculum ratio of 5% (by volume) was used during the process.

#### Batch fermentation procedure

All fermentation experiments were carried out in the mechanically stirred fermentor. It had a total volume of 2.0 M<sup>3</sup> and was of the same structure as the 200-litre fermentor that was used in seed culture.

The medium for batch fermentation contained 40 g of glucose, 8 g of yeast extract, 8 g of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g of MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.3 g of KNO<sub>3</sub>, 0.5 g of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 0.1 mL of polyethylene glycol per litre, and polyethylene glycol was added as antifoam agent.

Temperature, pH, dissolved oxygen and agitation speed were measured online. The main operating conditions were as follows: temperature 20 °C, pH profiles maintained at 5.0 with 2.0 M NaOH and 2.0 M HCl, and the aeration ratio and agitation speed controlled with the following method: the aeration ratio and agitation speed were 0.3, 0.4 and 0.5 (by volume per volume per minute) and 100, 140 and 180 rpm for 0–48, 48–96 and from 96 h until the end of fermentation, respectively. The course of fermentation was constantly monitored by off-line sampling at 12-hour intervals, each sample was subjected to the test for sterility, reducing sugars, biomass content and astaxanthin concentration.

Three batches were repeated in each experiment.

#### Fed-batch fermentation procedure

The basal medium for fed-batch fermentation was composed of 40 g of glucose, 8 g of yeast extract, 8 g of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g of MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.3 g of KNO<sub>3</sub>, 0.5 g of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 0.1 mL of polyethylene glycol per litre.

Glucose and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> were sterilized separately. The fermentation media were autoclaved for 30 min at 121 °C.

The stock solution of glucose (50%) was used as the feeding substrate in the fed-batch process.

The fed-batch fermentation was first carried out in the batch model with initial glucose until the glucose concentration dropped to around 5 g/L. Glucose was then added in three feedings of 22.5, 22.5 and 15 kg of sugar during the experiments. The final total glucose, including initial glucose in the basal medium and the glucose added in three feeding processes, made total concentration in all experiments of 80 g/L. Moreover, the main

operating conditions of fed-batch fermentation were the same as those of the batch fermentation procedure.

#### Fed-batch fermentation procedure with pH-shift control

In this experiment, the conditions of temperature, dissolved oxygen and agitation speed were the same as those of fed-batch fermentation. However, the pH-shift control strategy was as follows: first, the culture pH was maintained at pH=6.0 around 80 h with 2.0 M NaOH and 2.0 M HCl, then it was shifted slowly to pH=4.0 with 2.0 M HCl.

#### Analytical methods

Samples were withdrawn from the fermentor every 12 h, and each sample was split in two aliquots. One of them was centrifuged (5000 × g, 15 min) and the pellet was collected, washed twice with distilled water, and dried at 105 °C until constant mass, which was taken as the biomass content of the culture. On the other hand, the supernatant was used to determine the reducing sugars. 3,5-Dinitrosalicylate method was used for quantitative analysis of reducing sugars (16). The other aliquot was used for quantification of astaxanthin according to *Calo et al.* (17).

The cell yield ( $Y_{x/s}$ ), the production yield ( $Y_{p/s}$ ) and the production formation rate ( $Q_p$ ) were calculated as follows:

$$Y_{x/s} = (X_f - X_i) / (S_i - S_f) \quad /1/$$

$$Y_{p/s} = (P_f - P_i) / (S_i - S_f) \quad /2/$$

$$Q_p = (P_f - P_i) / T \quad /3/$$

where  $X_i$ ,  $S_i$  and  $P_i$  are the initial cell, substrate (glucose), and astaxanthin concentration, respectively;  $X_f$ ,  $S_f$  and  $P_f$  are the final cell, substrate (glucose), and astaxanthin concentration, respectively; and  $T$  is the fermentation time (18).

## Results and Discussion

### Batch and fed-batch fermentation at 2.0 M<sup>3</sup> scale

To establish the optimal conditions for the production of astaxanthin at 2.0 M<sup>3</sup> scale, the batch and fed-batch fermentation experiments were carried out in 30-litre fermentor scale. Moreover, the sugar-feeding strategies were performed (14). According to our previous experimental results, the optimal sugar-feeding strategy for astaxanthin fermentation at 30-litre scale was as follows: the initial sugar was 40 g/L with the total sugar of 80 g/L, and 300, 300 and 200 g of glucose were fed at discrete pulse. The same sugar feeding strategy was employed at 2.0 M<sup>3</sup> scale fermentation process.

The time-courses of the batch and fed-batch fermentations are shown in Figs. 1 and 2. In fed-batch fermentation process, with the consumption of sugar, the astaxanthin formation was observed after the beginning of cell growth and continued for about 24 h after the cessation of the cell growth. The maximum biomass ( $X_{max}$ ) of 17.78 g dry cell/L was achieved at 108 h. It was higher by 5.9% than that of batch fermentation, and the cell

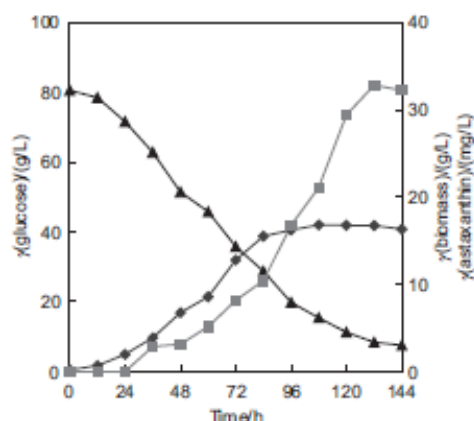


Fig. 1. The time-course of 2.0 M<sup>3</sup> scale batch fermentation of astaxanthin at 20 °C with constant pH=5.0: astaxanthin (■), glucose (▲), biomass (◆)

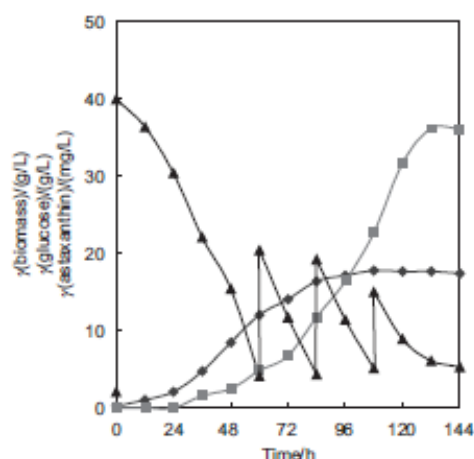


Fig. 2. The time-course of 2.0 M<sup>3</sup> scale fed-batch fermentation of astaxanthin at 20 °C with constant pH=5.0: astaxanthin (■), glucose (▲), biomass (◆)

yield ( $Y_{x/s}$ ) of 0.24 and 0.23 g/g in fed-batch and batch fermentation were obtained, respectively, with only a small discrepancy of 4.3 %. Moreover, the astaxanthin concentration reached the maximum ( $P_{max}$ ) of 36.21 mg/L, which was higher by 10.3 % than that of batch fermentation, and the overall astaxanthin formation rate ( $Q_p$ ) of 0.27 mg/(L·h) and the production (astaxanthin) yield ( $Y_{p/s}$ ) of 0.49 mg/g at fed-batch fermentation were obtained, which were higher by 8.0 and 6.5 %, respectively, than that of batch fermentation.

#### Fed-batch fermentation at 2.0 M<sup>3</sup> scale with pH-shift control strategy

In our previous work, investigation about the effects of pH on astaxanthin production and cell growth in batch fermentation at the lab scale showed that the opti-

mal pH for cell growth and for astaxanthin formation was around 6.0 and 4.0, respectively (15). Furthermore, the optimal pH-shift control strategy in batch fermentation process was developed as follows: in the first stage, the culture pH was maintained at pH=6.0 around 80 h for cell growth, it was then shifted to pH=4.0 for astaxanthin production in the secondary stage. In this work, the same pH-shift control strategy was carried out in fed-batch fermentation of astaxanthin at 2.0 M<sup>3</sup> scale, and the results of the experiment are shown in Fig. 3.

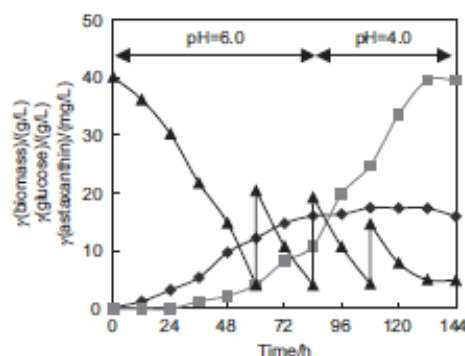


Fig. 3. The time-course of 2.0 M<sup>3</sup> scale fed-batch fermentation of astaxanthin at 20 °C with pH-shift control strategy: astaxanthin (■), glucose (▲), biomass (◆)

The maximum astaxanthin concentration ( $P_{max}$ ) at fed-batch fermentation with pH-shift control strategy reached 39.47 mg/L at 132 h, and was higher by 20.2 and 9.0 % than that of the batch and fed-batch fermentation, respectively, with constant pH=5.0. Moreover, the overall astaxanthin formation rate ( $Q_p$ ) of 0.30 mg/(L·h) and  $Y_{p/s}$  of 0.53 mg/g were achieved, which were higher by 11.1 and 8.2 %, respectively, than those of fed-batch fermentation with constant pH=5.0. However, the maximal cell density ( $X_{max}$ ) at fed-batch fermentation with pH-shift control was 17.42 g dry cell/L, and was lower by 2.0 % than that of fed-batch fermentation with constant pH=5.0.

#### Conclusion

The above results showed that fed-batch fermentation with the pH-shift control strategy is the best among all the experiments in this work. A significant increase (9.0 %) in production of astaxanthin was achieved in 132 h in fed-batch process with pH-shift control strategy, as compared with fed-batch process with constant pH=5.0. By fine tuning of operation conditions, there may be a scope for further enhancement of astaxanthin concentration.

#### Acknowledgements

This research was financially supported by the Key Technologies R&D Program (No 2004BA713B05-03) granted by the Ministry of Science and Technology of PR China.



## References

1. E.A. Johnson, T.G. Villa, M.J. Lewis, *Phaffia rhodozyma* as an astaxanthin source in salmonid diets, *Aquaculture*, 20 (1980) 123–134.
2. B. Bjerkeng, T. Storebakken, S. Lissae-Jensen, Response to carotenoids by rainbow trout in the sea: Resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin, *Aquaculture*, 91 (1990) 153–162.
3. J. Terao, Antioxidant activity of beta-carotene-related carotenoids in solution, *Lipids*, 24 (1989) 659–661.
4. I. O'Connor, N. O'Brien, Modulation of UVA light-induced oxidative stress by  $\beta$ -carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts, *J. Dermatol. Sci.* 16 (1998) 226–230.
5. H. Jyonouchi, L. Zhang, Y. Tomita, Studies of immunomodulating actions of carotenoids. II. Astaxanthin enhances *in vitro* antibody production to T-dependent antigens without facilitating polyclonal B-cell activation, *Nutr. Cancer*, 19 (1993) 269–280.
6. Z. Pálgyi, L. Ferenczy, C. Vágvölgyi, Carbon-source assimilation pattern of the astaxanthin-producing yeast *Phaffia rhodozyma*, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17 (2001) 95–97.
7. W.I. Golubev, Perfect state of *Rhodomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*), *Yeast*, 11 (1995) 101–110.
8. E.A. Johnson, M.J. Lewis, Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*, *J. Gen. Microbiol.* 115 (1979) 173–183.
9. P. Calo, T. Gonzalez, The yeast *Phaffia rhodozyma* as an industrial source of astaxanthin, *Microbiologia*, 11 (1995) 386–388.
10. Y. Yamane, K. Higashida, Y. Nakashimada, Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* enhanced in fed-batch culture with glucose and ethanol feeding, *Biotechnol. Lett.* 19 (1997) 1109–1111.
11. Y. Yamane, K. Higashida, Y. Nakashimada, T. Kakizono, N. Nishio, Influence of oxygen and glucose on primary metabolism and astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in batch and fed-batch cultures: Kinetic and stoichiometric analysis, *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (1997) 4471–4478.
12. L.B. Flores-Cotera, R. Martin, S. Sanchez, Citrate, a possible precursor of astaxanthin in *Phaffia rhodozyma*: Influence of varying levels of ammonium, phosphate and citrate in a chemically defined medium, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55 (2001) 341–347.
13. M. Vázquez, A.M. Martín, Optimization of *Phaffia rhodozyma* continuous culture through response surface methodology, *Biotechnol. Bioeng.* 57 (1998) 314–320.
14. Z.C. Hu, Y.G. Zheng, Z. Wang, Y.C. Shen, Effect of sugar-feeding strategies on astaxanthin production by *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21 (2005) 771–775.
15. Z.C. Hu, Y.G. Zheng, Z. Wang, Y.C. Shen, pH control strategy in astaxanthin fermentation bioprocess by *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Enzyme Microb. Technol.* 39 (2006) 586–590.
16. G.L. Miller, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.* 31 (1959) 426–428.
17. P. Calo, J.B. Velazquez, C. Sieiro, P. Blanco, E. Longo, T.G. Villa, Analysis of astaxanthin and other carotenoids from several *Phaffia rhodozyma* mutants, *J. Agric. Food Chem.* 34 (1995) 1396–1399.
18. T.J. Fang, Y.S. Cheng, Improvement of astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through mutation and optimization of culture conditions, *J. Ferment. Bioproc. Eng.* 75 (1993) 466–469.

## 17.8. Composición del orujo de uva

*Proc. Fla. State Hort. Soc.* 95:107-109. 1982.

### COMPOSITION AND UTILIZATION OF FLORIDA GRAPE POMACE

M. STARNES SAUNDERS AND F. TAKEDA<sup>1</sup>  
Center for Viticultural Science and  
Small Farm Development,  
Division of Agricultural Science,  
Florida A&M University,  
Tallahassee, FL 32307

R. P. BATES  
Food Science & Human Nutrition Dept., IFAS,  
University of Florida,  
Gainesville, FL 32611

F. REGULSKI  
University of Florida IFAS-ARC,  
Rt. 4, Box 57, Monticello, FL 32344

**Abstract.** With 3 wineries operating in the state of Florida and several more planned, the pomace generated from wine processing presents a disposal problem unless this by-product can be utilized in some manner, such as animal feed or even returned to the vineyard as mulch. Pomace was analyzed for its organic and mineral composition. Pomace composition was similar for all types analyzed although it varied in moisture content with pressing regime. All samples were high in tannins (5 to 8%) which can be detrimental in animal feeding regimes. The comparatively small quantity (less than 400 tons annually) and separation of wineries preclude fractionation and recovery of valuable pomace constituents. We propose a simple soil amendment scheme, a practical alternative for utilizing grape pomace generated at small wineries.

Pomace generated at the new wineries in Florida has increased since 1980 from negligible amounts to almost 300 tons. Disposal of this solid waste will become more difficult as the growth of the wine industry in Florida continues. If pomace is allowed to accumulate near the wineries or if it is dumped near the vineyard, potential hazards can develop such as vinegar fly infestations or other pathogens which may later affect the vines. Because of this, it is essential to determine an easy way to dispose of or use pomace so that it will not become an industrial pollutant. Using pomace as a feed supplement for cattle rations has been suggested by many workers (3, 5, 6, 7) although its digestibility is inhibited by the high amounts of tannins present in the seeds.

Modest amounts of pomace (less than 25%) can be fed to cattle without adverse effects. Pomace cannot be added directly back to the vineyards because of potential pathogens and also because it cannot be plowed into the soil without damaging the shallow rooted muscadine vines. It is possible that pomace could be easily composted to eliminate potential pathogen problems and then used as a soil amendment, perhaps in a potting soil mix in nursery operations. This study was initiated to determine the composition and potential use of commercially produced pomace.

#### Materials and Methods

Pomace samples were collected from the three commercial wineries in Florida and stored at 20°C until analyzed. The wineries are located at Niceville (Alaqua Vineyards Winery), Anthony (Florida Heritage Winery), and

Tampa (Fruit Wines of Florida). Pomace was dried in a forced air oven at 60°C for 48 hr. Pomace was then separated into seeds and skins and analyzed separately. The samples were ground using a Wiley mill with a 40-mesh screen and the following constituents were determined: Total nitrogen, total lipids, moisture, ash, total phenol, total carbohydrates, calcium, magnesium, potassium, sodium, zinc and phosphorus. AOAC methods were used unless noted otherwise (1). Nitrogen was determined by micro-Kjeldahl, total lipids by ether extraction, moisture by drying in a forced air oven, ash by muffle furnace at 550°C for 2 hr, phenols by the method of Singleton and Rossi (8) and carbohydrates by the anthrone method. The inorganic constituents were determined using atomic absorption except phosphorus which was determined colorimetrically.

Approximately 1/2 yd<sup>3</sup> of fresh pomace was collected from a commercial winery and used for composting studies. The pomace was placed on a plastic sheet and allowed to decompose and dry. Pomace was mixed every two weeks to encourage complete decomposition. The decomposed pomace was analyzed for its chemical properties using the methods outlined for fresh pomace. The physical and water release characteristics of one year old pomace were determined using the method described by de Booldt and Verdonck (4).

#### Results and Discussion

The chemical composition of pomace samples from the three commercial wineries in Florida were found to differ in moisture content and carbohydrate content (Table 1). Moisture content of pomace from winery 1 was only 43.7%. Winery 3 averaged 65% moisture for pomace samples while winery 2 had moisture contents above 70%. This a reflection of the type of press that was used. Both winery 1 and 3 have screw type presses while winery 2 uses a large basket press. With the large basket press, less compaction is obtained and, therefore, more moisture left behind in the pomace. The great differences in carbohydrate content of the pomace minus seeds is also a reflection of the moisture left in the pomace. The juice that is left in the pomace contains sugars which will adhere to the skins when they are dried and thus increase the carbohydrate content. Pomace minus seeds from muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.) cv. 'Dixie' was found to contain 48% carbohydrates. This pomace also had the highest moisture content of 78.9% which leaves only 21.1% dry solids. A must containing only 10% sugar could account for 48% carbohydrates in the resulting pomace sample.

The phenol content of pomace minus seeds averaged 7.6% while seed phenol content was 8.4%. This high phenol content greatly reduces the digestibility of pomace and thus limits its use as a feed supplement (5). Phenol content was measured as the gallic acid equivalent (8), since the level of polymerization of the tannins present in pomace is not known (5).

The lipid content of the seeds was found to average 15.35%. This reflects the amount of oil present in the seeds. Because of the limited tonnage of pomace available and of problems involved in separating the seeds from the skins in pomace, recovery of this oil is not feasible at this time.

There were no differences between the nitrogen concentrations among the pomace samples tested. The nitrogen concentration of pomace minus seeds and of seeds alone

<sup>1</sup>Present Address: Appalachian Fruit Research Station, Rt. 2, Box 45, Kearneysville, WV 25430.

Table 1. Components of pomace.

Variety	Moisture	Dry solids	Seeds	Dry Pomace minus seeds <sup>a</sup>				Seeds <sup>a</sup>			
				Carbo- hydrates	Phenols	Lipids	N	Carbo- hydrates	Phenols	Lipids	N
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Stover (1) <sup>v</sup>	43.7	56.3	52.2	12.5	7.8	4.97	1.75	11.8	6.9	16.40	1.73
Stover (3)	59.4	40.6	53.8	25.4	7.9	4.99	1.76	8.9	8.0	15.90	1.69
Dixie (2)	78.9	21.1	53.2	48.8	6.6	4.86	1.88	8.9	6.6	14.52	1.80
Carlos (3)	71.5	28.5	38.5	39.7	7.6	4.76	1.81	9.0	7.7	15.47	1.79
Noble (2)	73.4	26.6	44.6	18.1	7.2	5.19	1.74	9.2	9.9	15.23	1.72
Noble (3)	70.9	29.1	40.9	31.7	7.6	4.75	1.83	9.6	9.3	14.97	1.80
Noble (3)	70.6	29.4	44.4	27.9	8.2	4.47	1.78	8.8	10.3	14.93	1.70
Compost (2)	58.2	41.8	60.4	8.0	3.9	0.96	0.83	7.2	4.0	10.22	0.85
$\bar{x}$	66.9	33.1	46.8	29.2	7.6	4.86	1.79	9.5	8.4	15.35	1.74
$S_x$	11.8	11.8	6.2	12.4	0.5	0.23	0.05	1.1	1.5	0.64	0.05

<sup>a</sup>Calculated on a % dry weight basis.

<sup>v</sup>Number in parenthesis represents winery site.

<sup>x</sup>Excluding compost.

averaged 1.79% and 1.74%, respectively. If the nitrogen concentration is converted into values for crude protein, the pomace minus seeds would contain 11.2% crude protein and the seeds would contain 10.9% crude protein. These values are within the range for an acceptable feed supplement.

The mineral components of all pomace analyzed were found to be similar (Table 2). Ash content of pomace minus seeds was higher than the ash content of seeds alone. The average for pomace minus seeds was 6.32% while the average for seeds was 2.40% ash. Potassium was the major mineral component in the pomace minus seeds with an average value of 1.85%. The seeds on an average contained 0.40% potassium. Phosphorus was found to be higher in the seeds (avg 0.38%) than in the pomace minus seeds (avg 0.15%).

In comparing the components of fresh pomace with composted pomace (Table 1 and 2), it was observed that composted pomace contain lower levels of carbohydrates, phenols, lipids and nitrogen and higher levels of seeds (by volume and weight), ash, calcium and magnesium. This is to be expected because during composting the organic constituents of pomace decompose which in turn increase the ratio of inorganic components. Although the seeds in the composted pomace remained relatively intact, they were not viable as no germination occurred upon stratification. Dissection of the seeds revealed discolored or completely disintegrated cotyledons. Out of 100 seeds, 58 seeds were found to be empty, 42 seeds discolored and 0 seeds normal in appearance.

Approximately 30,000 gal of wine were produced com-

mercially in Florida in 1982. It is expected that this production will double in 1983 producing approximately 400 tons of wet pomace. Presently pomace is disposed of by dumping in unused portions of land on vineyard sites. The accumulation of 400 tons of pomace annually and more as the industry expands has the potential of creating an industrial waste problem.

When the cost of sphagnum peatmoss increased, the nursery industry turned to wood by-products such as bark to replace peatmoss (2). Recently, these wood by-products have been used for fuel in direct competition with nursery needs. Data on the physical and water release characteristics indicate that the composted pomace has low water holding capacity at tensions plants are readily able to use (Table 3).

Table 3. Physical properties of composted pomace.

Medium	Air Space (% vol.)	Easily Available Water (% vol.)	Water Buffering Capacity (% vol.)
Pomace	99.9	2.4	0.3
Peatmoss	98.8	15.0	3.7
Pine Bark	48.2	7.8	1.4
Sand	33.1	5.7	0.1
Proposed acceptable ranges <sup>a</sup>	20-30	20-30	4-10

<sup>a</sup>From de Boodt and Verdonck (4).

Table 2. Mineral components of pomace.

Variety	Pomace minus seeds <sup>a</sup>							Seeds <sup>a</sup>						
	Ash	P	K	Na	Ca	Mg	Zn	Ash	P	K	Na	Ca	Mg	Zn
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Stover (1) <sup>v</sup>	7.57	0.18	1.99	0.13	0.36	0.14	0.0015	2.59	0.35	0.36	0.08	0.57	0.18	0.0021
Stover (3)	7.76	0.19	2.41	0.05	0.38	0.12	0.0011	2.66	0.36	0.36	0.08	0.67	0.16	0.0014
Dixie (2)	5.52	0.16	1.56	0.09	0.45	0.08	0.0009	2.91	0.39	0.57	0.13	0.52	0.18	0.0015
Carlos (3)	6.61	0.15	2.00	0.13	0.26	0.08	0.0022	2.99	0.32	0.49	0.06	0.55	0.19	0.0018
Noble (2)	5.56	0.13	2.11	0.05	0.30	0.11	0.0025	2.13	0.42	0.33	0.09	0.51	0.15	0.0018
Noble (3)	6.10	0.12	1.48	0.10	0.34	0.08	0.0009	2.52	0.41	0.30	0.08	0.53	0.18	0.0017
Noble (3)	5.13	0.14	1.42	0.11	0.35	0.09	0.0011	2.99	0.43	0.37	0.08	0.62	0.16	0.0018
Compost (2)	8.65	0.18	1.19	0.07	0.87	1.58	0.0015	3.15	0.31	0.40	0.09	0.78	0.14	0.0013
$\bar{x}$	6.32	0.15	1.85	0.09	0.35	0.10	0.0015	2.40	0.38	0.40	0.09	0.57	0.17	0.0017
$S_x$	1.03	0.03	0.37	0.03	0.06	0.02	0.0006	0.88	0.04	0.10	0.02	0.06	0.01	0.0002

<sup>a</sup>Calculated on a % dry weight basis.

<sup>v</sup>Number in parenthesis represents winery site.

<sup>x</sup>Excluding compost.

## 17.9. Compostaje de desechos de orujo de uva

Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia. Vol. 16, No. 3, 191-198, 1993

### Producción de un compostaje a partir de desechos de uva

*José Ferrer, Douglas Mujica, Gisela Páez*

*Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia,  
Maracaibo - Venezuela*

#### Resumen

Se realizó la producción de un abono orgánico, a partir de desecho generado en el procesamiento de la uva, en la producción de vino (escobajo de uva). Para tal efecto se implementó un proceso de biodegradación aeróbica (compostaje) del escobajo de la uva recién prensada, sola y con adición de gallinaza como activadora de la biotransformación. La modificación del material original se siguió con la medición de los parámetros indicadores de un proceso eficiente: temperatura, pH, porcentaje de humedad, densidad y relación carbono-nitrógeno. Los resultados mostraron que la gallinaza no es indispensable para lograr un compostaje eficiente con este tipo de desecho. Además las características físicas y organolépticas del producto obtenido aireado con y sin gallinaza, evidencian un compostaje óptimo. Por otro lado el pH alcanzado cercano a la neutralidad le confiere características adecuadas para ser usado como acondicionador de suelos para cultivos.

**Palabras claves:** Uva, desecho, compostaje, fertilizante.

### Composting from grape pomace

#### Abstract

An Organic fertilizer was obtained from wastes generated in the wine production process. An aerobic biodegradation process (composting) of recently pressed grape's waste, with or without an activating biotransformation hen dropping was implemented to that effect. The modification of the original material was followed by the parameter's measurement indicating an efficient process: temperature, pH, moisture content, density, and carbon/nitrogen ratio.

The results showed that the hen dropping is not an essential additive to get an efficient compost with this type of waste. On the one hand, the physical and organoleptic characteristics of the product obtained with or without the hen dropping demonstrate an optimum compost. On the other hand, the obtained pH, almost neutral, characterizes it as a soil fertilizer.

**Key words:** Grape, waste, composting, fertilizer, compost.

#### Introducción

Exhaustivas investigaciones han demostrado que muchos desechos orgánicos biodegradables pueden ser compostados, ofreciendo un método conveniente y económico.

El compostaje se puede considerar como un recurso de tratamiento de desechos orgánicos,

que presentan riesgo de emisión al medio ambiente.

Entre los desechos que se consideran con potencialidad de ser sometidos a este proceso se encuentran: desechos de tomate, residuos de corcho, desperdicios de tenería de lodos vegetales, cáscara de olivo, bagazo de caña de azúcar, pulpa de café, pulpa de uva, etc. El tomate es una

Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia, Vol. 16, No. 3, 1993

de las cosechas más importantes de la horticultura en Italia, representando una generación de 180.000 Tm de desechos al año<sup>[1]</sup>. Los experimentos en compostaje se llevaron a cabo con mezclas de paja de trigo y agua de desecho de plantas de tomate concentrado. La mezcla (6:4) fue arreglada en camellones de 2.5 Tm con una altura de 1.5 m. La aireación se realizó por volteo cada tres días durante las primeras dos semanas y a partir de la semana once por el resto del tiempo hasta la estabilización. Los resultados obtenidos muestran un producto final adecuado como fertilizante.

Con respecto al residuo de corcho, los experimentos involucran un sistema de compostaje en hileras con aireación forzada usando una mezcla de polvo de corcho con lodo residual. El producto resultó no tóxico y con buenos resultados cuando se aplicó a maíz, lográndose incremento en peso en proporción a la dosis de material compostado mezclado con el suelo<sup>[1]</sup>.

Otro residuo de la transformación industrial de productos de la agricultura es la cáscara de olivo. En casi todas las plantas que existen en Italia, el compostaje se lleva a cabo por el método de pilas aireadas por volteo. Sin embargo, existe otro método utilizando la inoculación masiva con microorganismos altamente celulolíticos y formadores de compuestos húmicos. El material fresco se inocula con cultivos puros de bacterias, actinomicetos y hongos en fermentadores grandes<sup>[1]</sup>.

Para la región toscana en Italia, representa un problema de colocación los lodos de tenerías vegetales. Este lodo es de una naturaleza altamente contaminante y por lo tanto requiere un tratamiento seguro para convertirlo en un material inocuo antes de su emisión al ambiente. El lodo de tenería contiene sulfuros, compuestos crómicos, diferentes tipos de ácidos, polifenoles y detergentes, nocivos al medio ambiente. En un estudio de investigación biológica dirigida a la estabilización del lodo de tenería, recuperándolo como fertilizante, realizado en un centro de investigación en Leathercountey de la región toscana, indicó un contenido de nitrógeno adecuado para usar en la agricultura, después de la estabilización y deshumidificación parcial<sup>[1]</sup>.

En Brasil se han realizado estudios de conversión de bagazo de caña de azúcar en abono orgánico<sup>[2]</sup>. Los aditivos aceleradores del proceso que se usaron fueron: estiércol de ave (gallinaza), harina de soya desgrasada y úrea.

La estabilización fue establecida a los noventa días. La pila que contenía gallinaza descompuso adecuadamente la hemicelulosa y celulosa, incrementándose el nitrógeno y las cenizas, al compararlo con la pila que contenía úrea y harina de soya desgrasada. Las concentraciones de lignina no se alteraron significativamente, pero sin embargo, se reportan incrementos en las cosechas de caña de azúcar al usar este abono.

En Venezuela, la pulpa de café ha sido sometida a métodos de compostaje aeróbico natural y forzada, sin aditivos<sup>[3]</sup>. Los resultados demuestran que el producto presenta características físico-químicas adecuadas, para su uso como abono orgánico.

La pulpa de uva ha sido motivo del desarrollo de investigaciones en compostaje en diferentes países: Francia<sup>[4,5,6]</sup>, Alemania<sup>[7]</sup>, España<sup>[8,9,10]</sup>, Yugoslavia<sup>[11]</sup>, Argentina<sup>[12]</sup> e Israel<sup>[13,14]</sup>.

Los aspectos principales de las investigaciones tienen relación con la caracterización físico-química y microbiológica durante el compostaje<sup>[4,5,6,14]</sup>, su influencia sobre organismos patógenos<sup>[7,14,15]</sup>, así como la extractabilidad de metales pesados de desechos de uva<sup>[9,8]</sup>. Por otro lado se ha estudiado su uso como abono en la producción de aceitunas<sup>[16]</sup> y en alimentación animal<sup>[17]</sup>.

Shuval y otros<sup>[15]</sup> reportan un estudio, a escala de campo, del control de microorganismos entéricos mediante compostaje termofílico aeróbico de lodo de aguas residuales y desechos agroindustriales (desechos de uva en la producción de vinos y corteza de álamo). Las pilas alcanzaron una temperatura de 55°C y las concentraciones de los organismos indicadores bacterianos, coliformes fecales, *Streptococcus fecales* y *Salmonellas*, fueron reducidas a niveles aceptables. La relación carbono-nitrógeno (C/N) promedio de la mezcla fue reducida desde 25 a 17. El producto final resultó ser efectivo como fertilizante de



suelos en experimentos de crecimiento de plantas.

A nivel de laboratorio se ha simulado el compostaje industrial de desecho de uva, usando un reactor sin control de temperatura y con aireación discontinua<sup>[5]</sup>. Durante los primeros 12 días, la temperatura interior del reactor alcanzó los 60°C y el pH aumentó de 6.8 a 9.0 y la relación C/N decreció en un 10.5%.

La inoculación bacteriana celulolítica y lignolítica en la iniciación del compostaje de pulpa de uva, resulta ser innecesaria ya que dicha pulpa contiene suficiente mezcla heterogénea de microorganismos para realizar un compostaje adecuado<sup>[6]</sup>.

El objetivo del trabajo es estudiar el efecto de la gallinaza (estiércol de pollo) como activador del proceso de bioconversión aeróbica del desecho de uva, generado en la producción de vino, para la producción de abono orgánico.

## Metodología

El desecho de uva, correspondiente a la variedad Colombar, fue tomada del Centro Vitícola del Estado Zulia.

Las pilas formadas con 400 kg de desecho, aproximadamente, se diseñaron de base circular con un diámetro de 1,30 m y una altura de 0,8 m. La identificación de las pilas se estableció de la siguiente manera:

- No. 1: Sin ningún tipo de aditivo y renovada durante el proceso de compostaje, sirviendo como control para el ensayo con aireación.
- No. 2: Contiene un 10% de gallinaza y aireación.
- No. 3: Sin ningún tipo de aditivo y sin aireación, sirviendo como control para el ensayo sin aireación.
- No. 4: Contiene un 10% de gallinaza y sin aireación.

Se siguió la variación de la temperatura a lo largo del proceso, midiéndose en cada una de las pilas a diferentes profundidades y en diferentes puntos con un termómetro de campo, tipo reloj alrededor de las 7 am diariamente.

carbono Heresus<sup>[30]</sup>, al comienzo y al final del proceso.

El porcentaje de nitrógeno se determinó utilizando el método micro-Kjeldahl recomendado por la A.O.A.C.<sup>[31]</sup>, al comienzo y al final del proceso.

El potencial de hidrógeno (pH) se determinó de la siguiente manera: triturar 5 g. de desecho de uva y diluir en 50 ml de agua destilada, introduciendo luego el electrodo para realizar la medida.

Este se determinó los días: 1, 3, 7, 9, 14, 22, 24 y 25.

Se utilizó la técnica del peso constante para determinar el porcentaje de humedad a una temperatura de 100°C y 4 horas de secado. Las medidas se realizaron los días: 1, 3, 10 y 25.

Se determinó la densidad usando la técnica del volumen desplazado por una masa determinada de material.<sup>[35]</sup>

## Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra los valores correspondientes a la composición química de la uva recién prensada. En dicha tabla se puede observar un contenido alto de humedad (73.56%), pero adecuado para garantizar un proceso eficiente en el consumo de oxígeno<sup>[32]</sup>. Sin embargo, este contenido de humedad representa un costo alto de transporte, al considerar las alternativas económicas del proceso en estudio. Trabajos realizados en diferentes tipos de desechos y materiales or-

Tabla 1  
Caracterización química del desecho de uva recién prensada

Densidad (gr/cc)	1.25
pH	3.56
% Humedad	73.56
% Carbono	46.60
% Nitrógeno	1.73

gánicos dan valores de humedad que varían entre 46.7 y 99.4%, para desechos urbanos y lodos de tenería vegetal<sup>[1]</sup>, estiércol de vaca y orujo de uva<sup>[18]</sup>, lodo activado<sup>[19]</sup> y pulpa de café<sup>[2]</sup>. En la tabla 2 se reportan valores de porcentaje de humedad durante el proceso de compostaje para las pilas de desecho de uva.

La densidad de este material es 1.25 g/cc, lo que conlleva a establecer una planta de 4.8m<sup>3</sup> de capacidad para procesar 6 Tn métricas de desecho de uva anual. Por otro lado, las diferentes densidades determinadas a lo largo del proceso de compostaje para cada ensayo (ver tabla 3), llevan a estimar el porcentaje de pérdida de peso por cc (ver tabla 4), esto se debe a evaporación de agua, pérdida de carbono como CO<sub>2</sub> y nitrógeno como amoníaco, debido a las condiciones ambientales.

El pH del desecho es de 3.56, siendo este valor adecuado para el desarrollo de hongos en ambiente aeróbico en un compostaje eficiente. A lo largo del proceso se observó un incremento del mismo hasta alcanzar un pH alcalino de 7.8 (ver tabla 5), lo cual demuestra que hubo pérdida de ácidos orgánicos y liberación de amoníaco por efecto de la descomposición microbiana<sup>[5]</sup>. Para este tipo de material se observó un incremento brusco en las pilas que se le adicionó gallinaza, ya que ésta permite una mayor acción microbiana en la masa de compostaje. Gudrum Bagstam<sup>[10]</sup> reporta valores de pH para un material compostado de corteza de árbol alrededor de 4.5 al inicio y 6.7 al final del proceso.

De Bertoldi M., y otros<sup>[11]</sup> reportan valores de pH cercanos a la neutralidad para diferentes

Tabla 2  
Variación del porcentaje de humedad durante el Proceso de Compostaje

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
1	73.56	73.56	73.52	71.66
3	69.15	64.83	66.30	65.20
10	50.08	32.73	32.93	34.91
25	22.52	18.84	29.63	18.08

Tabla 3  
Variación de la densidad (g/cc) durante el Proceso de Compostaje

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
1	1.25	1.25	1.22	1.22
7	1.00	1.00	0.83	0.83
10	0.80	0.79	0.80	0.80
20	0.74	0.77	0.77	0.76
25	0.71	0.77	0.76	0.76

Tabla 4  
Porcentaje de pérdida de peso durante el proceso de Compostaje

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
1	---	---	2.4	2.4
7	25.0	25.0	33.6	33.6
10	36.0	36.8	36.0	36.0
20	40.8	38.4	38.4	39.2
25	43.2	38.4	39.2	39.2

Tabla 5  
Potencial de hidrógeno (pH) durante el Proceso de Compostaje

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
1	3.56	3.56	3.18	3.18
3	4.19	7.07	3.19	4.30
9	4.73	8.80	4.84	7.42
22	8.20	8.54	4.29	8.05
24	7.68	8.56	4.43	7.55
25	7.94	8.42	5.23	7.98

Tabla 6  
Porcentaje de Carbono, nitrógeno y relación Carbono/nitrógeno para todos los ensayos, al final del proceso

Pilas	% Nitrógeno	% Carbono	C/N
1	2.14	37.72	17.62
2	2.17	29.45	13.57
3	2.47	33.29	13.47
4	2.42	33.80	13.96

tipos de materiales orgánicos compostados los cuales oscilan entre 5.0 y 7.7 aproximadamente.

El porcentaje de carbono observado para el desecho de uva recién prensada fue de 46.60 (ver tabla 1). En la tabla 6 se reporta el valor correspondiente al porcentaje de carbono al final del proceso de compostaje, para cada ensayo, indicando una disminución a valores hasta de 29.45%, para la pila 2. Esta disminución se debe a que las dos terceras partes del carbono consumidos por el microorganismo son transformados a anhídrido carbónico ( $\text{CO}_2$ ), el cual se desprende, mientras que la otra tercera parte se combina con el hidrógeno en el sistema vital de la célula [20]. De Bertoldi y otros [11] muestran valores de porcentaje de carbono para un compost de tenería de lodos vegetales al inicio de 43.7 y 40.2 al final. Sin embargo, Shuval y colaboradores [12] para el caso de lodos de aguas residuales y desechos agroindustriales, reportan una reducción en la relación C/N promedio de 25 al comienzo del proceso hasta 17 al final del proceso.

De la tabla 1 se observa que el porcentaje de nitrógeno al inicio del compostaje es de 1.73

y que este aumento para todos las pilas al final del proceso en 24, 43 y 43% respectivamente. (Ver tabla 6). Este aumento se debe a que los microorganismos necesitan de nitrógeno para sintetizar el protoplasma celular y al morir incrementa la concentración de nitrógeno reciclable durante el proceso [21]. De Bertoldi y otros [11] reportan valores de nitrógeno para diferentes tipos de materiales orgánicos entre 1.5 al inicio y 2.5 al final del proceso.

Con respecto a la relación (C/N) se ve que la muestra original tiene una relación de 26.99:1 (ver tabla 1), lo que indica que está en el rango óptimo para un compostaje eficiente.

Esta relación disminuyó apreciablemente al final del proceso en 35.50, 50 y 48% respectivamente (ver tabla 6), esto se debe al descenso en el porcentaje de carbono y al incremento del porcentaje de nitrógeno a lo largo del proceso.

Breidenback, A.W. [20] deduce que la relación (C/N) cercana a 25:1 y 35:1 es la relación óptima inicial de un compostaje y una relación final óptima de 10:1 a 15:1.

En la tabla 7 se observan las características físicas y organolépticas del producto obtenido

Tabla 7  
Características físicas y organolépticas del producto obtenido

Pilas	Forma	Color	Olor
1	Amorfa	NEGRO con Manchas Blancas	Tierra Húmeda
2	Amorfa	NEGRO con Manchas Blancas	Tierra Húmeda
3	Original	NEGRO	Desagradable
4	Original	NEGRO	Desagradable

Tabla 8  
Variación de la Temperatura (°C) durante el proceso de compostaje

Días	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Pila 4
2	32.47	33.70	33.70	32.22
5	37.28	35.84	38.20	36.91
7	42.73	41.05	38.72	39.00
9	46.98	52.34	42.22	42.47
11	47.78	54.07	43.00	45.86
13	40.00	46.00	44.00	45.00
15	38.64	45.24	45.00	46.00
16	41.66	49.62	45.00	46.11
18	35.06	41.79	44.44	45.33
20	32.00	38.00	44.75	45.00
22	27.77	39.11	44.75	45.55
23	28.33	26.48	44.13	34.30
24	22.00	21.85	43.15	45.62
25	22.00	21.54	44.19	45.62

en cada uno de los ensayos, los resultados obtenidos de las pilas 1 y 2, mostrando forma amorfa, color negro con manchas blancas y olor a tierra húmeda evidencian un compostaje óptimo. Las manchas blancas se deben al desarrollo del micelio de hongos termófilos, los cuales son característicos de este tipo de proceso de biodegradación aeróbica<sup>[20]</sup>.

Con respecto a la temperatura se puede observar que fue mayor en las pilas que fueron volteadas o removidas, lo que indica que la fermentación es más eficaz mientras más se airea; también se puede ver que en las pilas donde se le adicionó gallinaza se obtuvo las mayores temperaturas, 54.07°C para la pila 2 y

46.00°C para la pila 4, durante los días intermedios del proceso (ver tabla 8). Breindenback, A.W.<sup>[20]</sup> objeto que la temperatura es uno de los parámetros más importantes en el proceso de compostaje, ya que se correlaciona directamente con la actividad bioquímica en el material compostado, debido a que el calor de reacción involucrado en los procesos de anabolismo y catabolismo celular redundan en un incremento de la temperatura del material compostado.

Las altas temperaturas alcanzadas durante los procesos de compostaje, representan una garantía en el control de microorganismos patógenos<sup>[13,5,7,12,14,15]</sup>.



### Conclusiones

I.- Los parámetros indicadores de un compostaje eficiente, pH, temperatura, relación carbono-nitrógeno y humedad, para el desecho de uva recién prensada, se localizan dentro de límites adecuados.

II.- La gallinaza (activador del proceso de compostaje) no es indispensable para lograr un compostaje eficiente en este tipo de material orgánico.

III.- Las características físicas y organolépticas del producto obtenido, material amorfo, color negro con manchas blancas y olor de tierra húmeda, evidencian un compostaje óptimo.

IV.- El alto contenido de humedad conlleva a la ubicación de la planta de procesamiento en los alrededores del centro de producción del desecho, de igual manera que la reducción del peso del material al final del proceso, no provoca dificultades en su distribución.

V.- El pH alcanzado por el abono orgánico producido, cercano a la neutralidad, le confiere características adecuadas para ser usado como acondicionador de suelos para cultivos.

VI.- La disminución de la relación C/N indica que se realizó una biodegradación aeróbica del desecho de uva original.

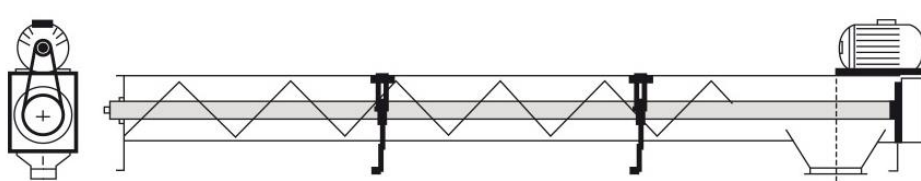
### Referencias Bibliográficas

- De Bertoldi M., Vallini G., Pera A., and Zucconi F. Comparison of three winery compost systems. *Biocycle* 23 (2) 45-50, 1982
- Raul J.H., Castro Gómez and K. Park. Conversion of cane Bagasse to compost and its chemical characteristics. *Biotechnol & Bioeng. Sump. N. 8*: 24 - 26, 1989.
- CORRI P., LUIS, Escalera B., Antonio, Fernández H. Mervin. Composting de la pulpa de café venezolano. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería, Maracaibo, 1980.
- Faure, D., Deschamps, A. Physico-Chemical and microbiological aspects in composting of grape pulps. *Biological Wastes*. 34(3), 251 - 258, 1990.
- Faure, D. and Deschamps, Am. Evaluation of the suitability of grape skins for composting. *J. Int. des Sciences de la Vigne et du Vin*, 24(1), 1 - 12, 1990.
- Faure, D. The effect of bacterial inoculation on the initiation of composting of grape pulps. *Bioresource Technology*. 37(3), 235 - 238, 1991.
- Dittmer, U.; Budde, K.; Stindt, A. and Weltzien, Hc. The influence of the compost extracts on different plant pathogens gesunde - pflanzen. 42(7), 219 - 235, 1990.
- Costa, F.; Moreno, J.L.; Hernández; Lax, A.; Cegarra, J. and Roig, A., Mineralization of organic materials in a calcareous soil. *Biological Wastes*. 28(3), 189-201, 1989.
- García, C.; Hernández T. and Costa, F. The influence of composting and maturation processes on the heavy-metal extractability from some organic wastes. *Biological waste*, 31(4), 291 - 301, 1990.
- García, C. Hernández, T. and Costa, F. Characterization of humic acids from uncomposted sewage sludge by degradative and non-degradative techniques. *Bioresource Technology*. 41(1) 53 - 57, 1992.
- Stojanovic, S.; Stojavljevic, T.; Vucurevic, N.; Vukicvranjes, M. and Mandic, A. Nutritive and feeding value of dried grape pomace in feeding fattening cattle. *Stankovstvo*. 40(7) 313-319, 1989.
- Del Toro, Utilización del orujo de uva para el control de nemátodos en ajo. *Rev. de la Fac. de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*. 24(2), 25-34, 1988.
- Inbar, Y.; Chen, Y.; Hadar, Y. and Verdonik, Ö. Composting of Agricultural waste for their use as container media: simulation of the composting process. *Biological Waste* 26(4), 247-259, 1988.
- Mandelbaum, R., Hadar, Y. and Usher, Y. Compostig of Agricultural waste for their use as container media: effect of heat treatments on suppression of *Pythium Aphanidermatum* and microbial Activities in substrates

## 17.10. Catálogos de equipos seleccionados

### 17.10.1. Rosca extractora tipo batea

**SANSONI**® Inicio Angel Sansoni S.A. Productos Certificación Contacto



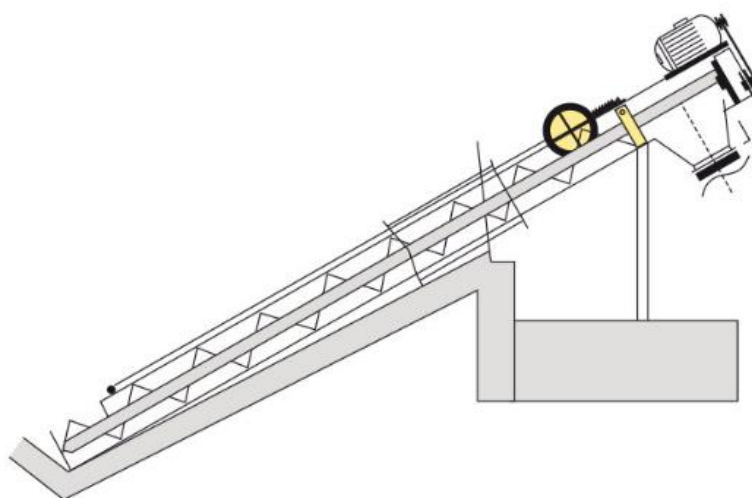
**TRANSPORTADOR A CADENA**  
**CHAIN CONVEYORS**

MODELO MODEL	Volumen M3/hs Volume M3/hs	CaP (Trigo) Tn/hs CaP (Wheat) Tn/hs	A mm	B mm	C mm	D mm	E mm	F mm	G mm	H max mm	I min mm	Velocidad Mts/seg Speed Mts/seg
TCS 20	25	20	200	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 40	50	40	200	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 60	75	60	250	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 80	100	80	250	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 100	125	100	300	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 120	150	120	300	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 150	188	150	400	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 200	250	200	400	430	460	1.000	250	650	740	225	560	0,65
TCS 250	312	250	400	520	520	1.000	300	800	740	225	600	0,72
TCS 300	375	300	450	520	550	1.000	300	800	740	225	600	0,72
TCS 400	500	400	500	520	550	1.000	300	800	740	225	600	0,72

### 17.10.2. Rosca extractora inclinadas




Inicio Angel Sansoní S.A. Productos Certificación Contacto

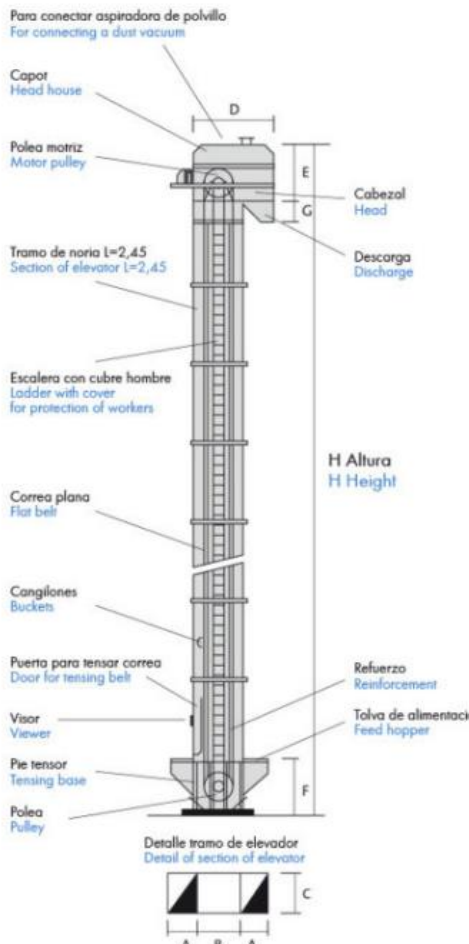


#### ROSCA EXTRACTORA PARA SILOS Y TOLVA EXTRACTION SCREWS FOR SILOS AND HOPPERS

MODELO MODEL	Volumen M <sup>3</sup> /hs Volume M <sup>3</sup> /hs	CaP (Trigo) Tn/hs CaP (Wheat) Tn/hs	Diam. Espira mm Spiral Diam. mm	Diam Cario mm Pipe Diam. mm	Velocidad RPM Speed RPM
RES 60	75	60	250	273	210
RES 80	100	80	250	273	210
RES 100	125	100	299	323	210
RES 120	150	120	299	323	210
RES 150	188	150	319	357	210
RES 200	250	200	319	357	210

### 17.10.3. Elevador de cangilones


Inicio   Angel Sansoni S.A.   Productos   Certificación   Contacto



Para conectar aspiradora de polvo  
For connecting a dust vacuum

Capot  
Head house

Polea motriz  
Motor pulley

Cabezal  
Head

Descarga  
Discharge

Tramo de noria L=2,45  
Section of elevator L=2,45

Escalera con cubre hombre  
Ladder with cover  
for protection of workers

Correa plana  
Flat belt

Cangilones  
Buckets

Puerta para tensar correa  
Door for tensing belt

Visor  
Viewer

Pie tensor  
Tensing base

Polea  
Pulley

Refuerzo  
Reinforcement

Tolva de alimentación  
Feed hopper

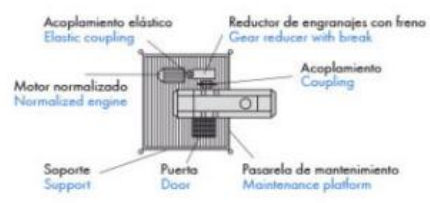
H Altura  
H Height

Detalle tramo de elevador  
Detail of section of elevator

MODELO MODEL	Cap. T/H Q, B	A	B	C	D	E	F	G
NS 40	40	240	410	250	1340	1190	1100	330
NS 60	60	244	460	300	1667	1380	1150	330
NS 80	80	244	560	330	1930	1470	1468	330
NS 100	100	300	560	330	2040	1786	1580	330
NS 120	120	300	560	380	2040	1786	1580	330
NS 150	150	300	660	440	2140	1850	1680	330
NS 200	200	300	660	500	2140	1870	1780	500
NS 250	250	333	760	600	2574	1990	1780	500
NS 300	300	333	760	600	2574	1990	1780	500
NS 400	400	352	948	667	3200	2485	1967	720

PARA SEMILLAS FOR SEEDS								
NSS 40	40	244	370	486	1470	1130	1190	370
NSS 60	60	244	370	486	1470	1130	1190	370
NSS 80	80	244	280	580	1480	1130	1200	370



17.10.4. Mezclador de eje horizontal

# Pasta Processing Plant

Continuous Single Shaft Mixers WAH



10



### Description ▼

Continuous type WAH mixers consist of a horizontal, single shaft, equipped with ploughshare or shovel tools, housed in a tubular mixing drum. The machines come with one or more inlets, an outlet, a venting spout, two drum closing end plates that carry flanged end bearing assemblies complete with integrated, adjustable, shaft sealing units, and a drive unit complete with power transmission.

WAH-type horizontal single shaft mixers work on the principle of mechanical fluidisation of the product. The particular shape, position and rotation speed of the mixing tools, create a centrifugal vortex motion, which allows the ingredients to be projected in a three-dimensional way and to merge with each other. This ensures that ingredients with different particle size and bulk density are perfectly blended and mixed with high precision within the shortest possible time. The quality of the mixture is achieved before the product reaches the mixer outlet.



### Application ▼

WAH mixer installed in the flour mixing section of a pasta making plant in Italy.

### Benefits ▼

- ✓ Maximum mixing homogeneity;
- ✓ High speed mixing;
- ✓ Low material residue;
- ✓ Minimum wear - low maintenance;
- ✓ Easy access to all internal parts of the mixer;
- ✓ High quality mixing;
- ✓ High productivity;
- ✓ ATEX-certified;
- ✓ Attractive price.



[www.wamgroup.com](http://www.wamgroup.com)

DIPLOMA IN FOOD PROCESSING TECHNOLOGY

# Pasta Processing Plant

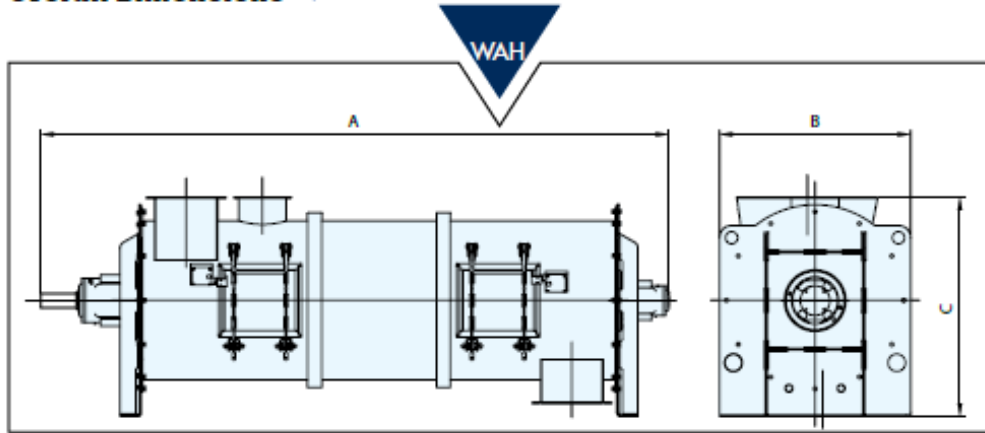
## Continuous Single Shaft Mixers WAH



### Technical Features / Performance ▼

- ▶ Sizes: 75 to 25,000 litres
- ▶ Drive units: 4.0 kW to 300 kW
- ▶ Mixing capacity: from 2 to 1,000 m<sup>3</sup>/h (depending on recipe and unit configuration)
- ▶ End bearing assemblies with various types of shaft seals and option of air or nitrogen purging
- ▶ Flush discharge valve
- ▶ Heavy-duty mixing chamber manufactured in carbon steel, or 304L, or 316L stainless steel
- ▶ Jacketed mixing chamber
- ▶ Chopper bearing assemblies with rotary air-purged shaft seals
- ▶ Liquid injection devices
- ▶ Decompression control panel
- ▶ Pneumatic sampling device
- ▶ PT 100 temperature probe on jacketed mixing chamber
- ▶ Wide range of mixing tools
- ▶ Automatic cleaning system

### Overall Dimensions ▼



	A	B	C	50% $\varnothing$ dm <sup>3</sup> /h Residence Time		Empty Weight (kg)
				60 s	180 s	
WAH 00075	1,690	485	556	2,022	674	210
WAH 00150	1,960	570	634	4,031	1,344	350
WAH 00300	2,220	670	801	7,892	2,631	580
WAH 00500	2,550	770	920	13,716	4,572	840
WAH 01000	3,140	930	1,118	27,993	9,331	1,390
WAH 01800	3,670	1,100	1,265	50,170	16,723	2,100
WAH 03000	3,920	1,340	1,472	82,577	27,526	2,800
WAH 04800	4,510	1,500	1,800	134,281	44,760	3,800
WAH 06000	4,816	1,600	1,860	165,708	55,236	4,500
WAH 08800	5,325	1,810	2,133	245,796	81,932	5,840
WAH 10500	5,580	1,910	2,237	295,322	98,441	6,600
WAH 15000	6,090	2,110	2,465	411,885	137,295	8,200

Dimensions in mm

*This datasheet might not show the complete range but only the models specialised for the application.*



[www.wamgroup.com](http://www.wamgroup.com)

17.10.5. Tamiz de tambor rotatorio

**Waste Water Treatment**  
Internally-fed Rotating Drum Screens RTV



17



**Description** ▼

RTV Internally-fed Rotating Drum Screens are suitable for pre-treatment of both municipal and industrial waste water, as well as MBR plants.

RTV Drum Screens are made up of a tank and a spiral applied to the drum for conveying of screenings. The drum is manufactured from a perforated stainless steel sheet. The filter is fed through a nozzle placed on the machine inlet. It is cleaned by means of a washing system made up of a tube equipped with pressurised water spray nozzles. During operation, water is conveyed towards the outlet placed in front of the machine, while screenings are conveyed by the spiral to the outlet at the back of the screen. A special 5-degree incline angle towards the outlet contributes to dewatering the screenings while they are conveyed. The screen is equipped with by-pass nozzles which protect the filter from overflow.

**Application** ▼



M.0303/rev.04 16/12/09 - 04/06/2010

**Benefits** ▼

- ✓ High solids capture efficiency;
- ✓ Appropriately placed flight segments constantly conveying solids towards discharge point;
- ✓ External spray bar and brush preventing solids accumulation on external screen surface;
- ✓ Pivots fully adjustable and replaceable without removing screen cylinder;
- ✓ Screen design without running seals;
- ✓ Low energy consumption and reduced maintenance;



[www.savi-water.com](http://www.savi-water.com)  
[www.wamgroup.com](http://www.wamgroup.com)

# Waste Water Treatment

## Internally-fed Rotating Drum Screens RTV



### Technical Features / Performance

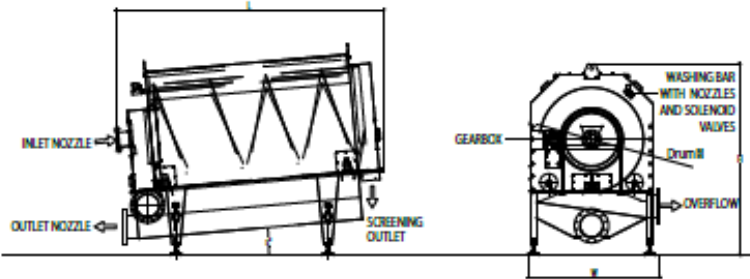
- ▶ 6 different sizes available
- ▶ Standard perforated media spacing: 1 – 6mm
- ▶ Recommended spacing for MBR application: 1 – 3mm
- ▶ Full covering ensuring safe, dry, odour-free operation
- ▶ Screen manufactured from 304 L / 316 L SS
- ▶ Control panel (optional)

RTV - INTERNALLY FED ROTATING DRUM SCREEN - FLOW RATES						
MODEL   FLOW RATE (*) m <sup>3</sup> /h	1 mm	1.5 mm	2 mm	3 mm	5 mm	6 mm
RTV 500 x 1000	26	29	33	42	52	60
RTV 900 x 1000	40	55	75	105	150	170
RTV 900 x 2000	90	120	160	220	325	360
RTV 1200 x 2000	120	180	280	360		
RTV 1500 x 3000	390	430	485	600		
RTV 1500 x 4000	840	950	1,590	1,300		

(\*) up to 500 mg/TSS

### Overall Dimensions

SAVI Water 2017/2018. All rights reserved. No part of this document may be reproduced without written permission from SAVI Water.



RTV - INTERNALLY FED ROTATING DRUM SCREEN							
MODEL	TOTAL WIDTH W mm	TOTAL LENGTH L mm	TOTAL HEIGHT H mm	INLET DN - PN 10	OUTLET DN - PN 10	OVERFLOW DN - PN 10	MOTOR POWER kW
RTV 500 x 1000	900	2,000	1,500	100	150	125	0.37
RTV 900 x 1000	1,200	2,100	2,000	100	200	150	0.37
RTV 900 x 2000	1,200	3,100	2,100	150	250	200	0.37
RTV 1200 x 2000	1,500	3,100	2,200	150	250	250	0.37
RTV 1500 x 3000	1,800	4,000	3,300	500	600	500	0.75
RTV 1500 x 4000	1,800	5,000	3,300	500	600	500	0.75



www.savi-water.com  
www.wamgroup.com



### 17.10.6. Intercambiador de placas



## Technical specifications

### Brazed plate heat exchanger (BHE) data and dimensions

	CBH16	CBH18	CB20	CB30
Channel type	H, A	H, A	H	H, M, L
Max./min. design temperature (°C)	225/-160	150/-50	225/-196	225/-196
Max. design pressure at 150° C (S3-S4/S1-S2) (bar) *	32/32	32/32	16/16	36/36
Volume/channel (S3-S4/S1-S2) (litres)	0.027 (H) <sup>1)</sup>	0.038 (H) <sup>2)</sup>	0.028	0.054
Max. flowrate (S3-S4/S1-S2) (m <sup>3</sup> /h) **	3.6	3.6	8.9	14.5
Height, a (mm)	211	316	324	313
Width, b (mm)	74	74	94	113
Vertical connection distance, c (mm)	172	278	270	250
Horizontal connection distance, d (mm)	40	40	46	50
Plate pack length, A (mm)	(n x 2.16) + 8	(n x 2.16) + 8	(n x 1.5) + 8	(n x 2.31) + 13
Weight empty (kg) ***	(n x 0.04) + 0.27	(n x 0.07) + 0.4	(n x 0.08) + 0.6	(n x 0.1) + 1.2
Standard connection, external thread (in)	3/4"	3/4"	1"	1 1/4" / 1"
Plate material	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316
Connection material	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316
Brazing material	Copper	Copper	Copper	Copper
Max. number of plates	60	60	110	150

<sup>1)</sup> According to PED

<sup>2)</sup> Water at 5 m/s (connection velocity)

<sup>3)</sup> excluding connections n = number of plates

1) A channel (0.030/0.024)

2) A channel (0.042/0.035)

3) L and M channels 0.13

4) AH and AM channels 0.20/0.16

#### An identical message, globally

By intense listening to market demands, Alfa Laval has reached a position of global leadership within the segment brazed plate heat exchangers (BHEs). Our experience is longstanding and worldwide, and it is reflected in the function of our products. Alfa Laval technology brings customers all over the world an identical message: second best should never be an alternative!

#### A wide range of applications

BHEs offer multiple benefits. The brazing technology eliminates the need for seals and thick frame plates. A copper film covering

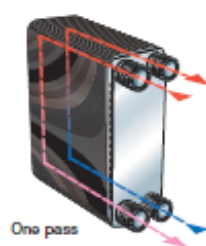
the contact surface melts and connects the stainless steel plates while the heat will be transferred via the melting points. The basic BHE design – refined over the years by Alfa Laval – offers excellent resistance to pressure and thermal fatigue in a wide range of heating and cooling applications. For reasons of reliability and cost-efficiency, BHEs from Alfa Laval are frequently a natural first alternative all over the world.

#### A variety of design options

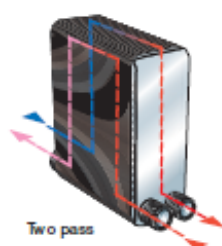
For every application there is an optimal solution. This brochure shows heat ex-

changers suitable for HVAC applications. The design options are multiple. A number of plate patterns for each plate size means optimal function for any application. The brazed plate heat exchangers can be configured as one-, two- or multi-pass versions with a wide range of connection designs and locations.

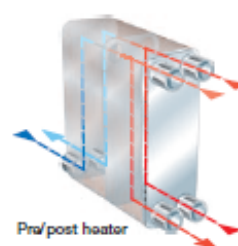
The products are offered pre-configured available from stock for swift delivery. If these units do not meet the demand specification, you have the option to have a heat exchanger designed to meet your exact requirement.



One pass



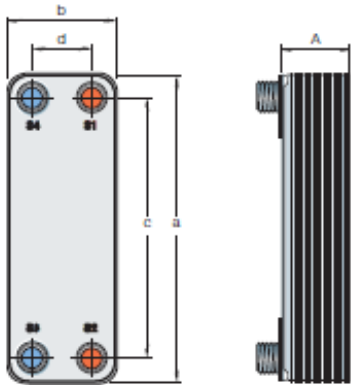
Two pass



Pre/post heater

BHE's can be designed in many different ways to optimize our customers needs.

CB60	CB110	CB112	CB200 (CBH200)	CB300	CB400
H, M, L	H, M, L	H, M, L, AM, AH	H, M, L	H, M, L	H, L
175/-196	225/-196	225/-196	225/-196	225/-196	225/-196
36/36	27/27	32/32	26/26	27/16	32/27
0.103 (H) <sup>3</sup>	0.21	0.18 <sup>4</sup>	0.51	0.58/0.69	0.74
14.5	51	34/63	128	200	200
527	616	618	740	990	990
113	191	191	323	365	390
466	378	519	622	816/861	825
50	138	92	205	213.5	225
(n x 2.35) + 13	(n x 2.2) + 12	(n x 2.06) + 15	(n x 2.7) + 11 / (n x 2.7) + 14	(n x 2.62) + 11	(n x 2.56) + 14
(n x 0.18) + 2.1	(n x 0.38) + 13	(n x 0.35) + 4.8	(n x 0.6) + 12 / (n x 0.6) + 14	(n x 1.26) + 21	(n x 1.35) + 24
1 1/4" / 1"	2" / 2 1/2"	2" / 2 1/2"	3 1/2"	3" / 4 1/2"	4 1/2"
AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316
AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316	AISI 316
Copper	Copper	Copper	Copper	Copper	Copper
150	300	300	230	250	270



The BHEs are individually leak and pressure tested to ensure first-class quality, and Alfa Laval has approvals from all major certification bodies.

- Approvals**
- PED
  - KHK
  - UL
  - KIWA
  - ASME



Insulation



Foot and mounting brackets

### 17.10.7. Biorreactores de laboratorio

 **Bioreactores línea DL**



Bioreactores de 2l a 10l destinados a desarrollo, inoculación o producciones de pequeños volúmenes para cultivos de bacterias, hongos y levaduras. Accesorios para cultivos celulares animales e insectos.  
Apto para fermentaciones en batch o perfusión.  
Modelos para ser esterilizados in-situ o en autoclave.



[www.novabiotech.com.ar](http://www.novabiotech.com.ar)



### Características técnicas

Modelo	DL-02	DL-05	DL-10
Volumen Total	3l	7.5l	15l
Volumen de trabajo máximo	2l	5l	10l
Volumen de trabajo mínimo	1l	3l	5l
Relación Altura/diámetro	3:1	2:1	2:1
Diámetro interno de vaso	110mm	162mm	210 mm
Puertos en tapa			
6mm	6	3	3
PG 13.5	2	3	3
19mm	6	8	8
Flujo de gases (1)	0,5-5l/m	1-10l/m	2-20l/m
Puerto de cosecha	Por tubo pescante		
Toma muestra	Por succión con jeringa.		
Agitación	De 0 a 1000 RMP. 3 propelas Rushton de 6 palas. Sello mecánico simple. Acople de motor superior		
Control de temperatura (2)	Opción -C: de 10°C a 80°C Opción -M: de 10°C a 60°C		
Control de pH	De 2 a 12 mediante loop de control PID con bomba de base y ácido Opción -GMP y -GMM adicionalmente mediante loop PID con ingreso de CO2		
Control de pO2	De 0% a 100% mediante lazos de control PID de agitación. Opción -VP y -MF: control adicional PID en cascada del caudal de gas ingresado. Opción -GMP y -GMM: control adicional PID en cascada de mezcla de gases (aire, O2 y N2) Opción con bomba/s auxiliar/es, control adicional PID en cascada de bomba para el ingreso de sustrato.		
Control de espuma	Disponibles en los modelos con bomba de anti-espuma		
Control de flujo de gases	Opción -MA: Por ajuste manual y rotámetro. Opción -VP: control sobre Válvula proporcional y rotámetro. Opción -GMP: control de mezcla de gases (aire, O2, N2 y CO2) por válvulas de pulso (ON/OFF) Opción -GMM sistema de mezcla de gases (Aire, O2, N2 y CO2) por massflow (control y medición de caudal individual de cada gas).		
Aireador (sparger)	Tipo herradura (ring)		
Salida de gases	Condensador para salida de venteo		
Bombas peristálticas	Controladas por pulsos (On/Off). Velocidad de giro ajustable manualmente hasta 160ml/min.		
Display	Touch screen de 10" color. Funciones amigables al operador		
Conectividad	Salida RS-232 y USB para registro de parámetros.		

Suministros	DL-02	DL-05	DL-10
Consumo eléctrico	250W	500W	1000W
Consumo de Vapor (3)	1kg/h	1,5 kg/h	3 kg/h
Tensión de alimentación	220 VAC/50Hz		
Alimentación de agua de enfriamiento	2 bar regulada. Conector de ¼"		
Alimentación de gases	1,5 bar regulado. Gases secos y libres de partículas de aceite. Conector de ¼"		
Drenaje	Por gravedad libre de contra-presión. Conector de ¼"		

(1) Pueden ser requeridos otros rangos de flujo de aire.

(2) La temperatura del agua de enfriamiento debe ser menor o igual a 10°C por debajo de la temperatura mínima a controlar.

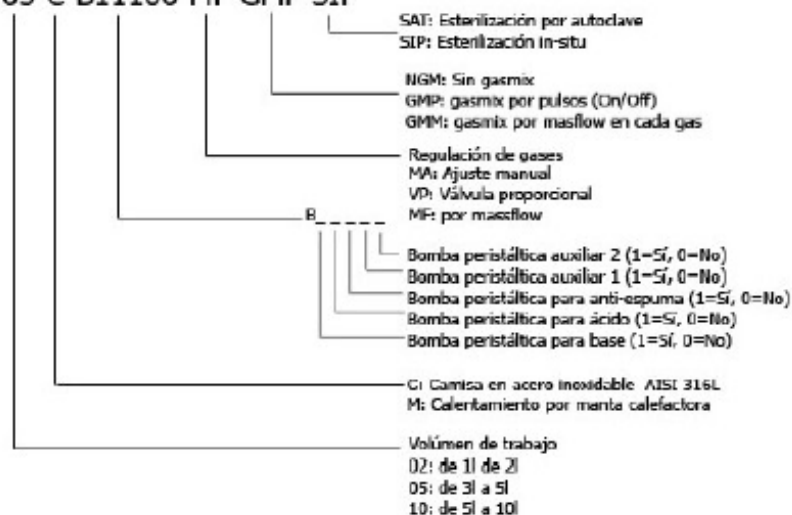
(3) Solo es necesario vapor en los modelos SIP (esterilización in-situ)

#### Accesorios:

- Spin filter desde 2µm (nominal)
- Draft tube
- Canasta de aireación por manguera de silicona
- Propelas tipo hélice marina u otras.
- Micro sparger
- Otros sensores como turbidez, CO<sub>2</sub>, conductividad, etc.
- Sensor de nivel conductivo para control de perfusión
- Celdas de carga para control de perfusión
- Control incorporado de bomba de alimentación a  $\mu$  constante (K.e<sup>µ.t</sup>)
- Generador de vapor integrado para los modelos SIP
- Frascos y tapas con 3, 3 y 4 puertos.

### Códigos de producto

#### DL-05-C-B11100-MF-GMF-SIP



### 17.10.8. Biorreactores de planta piloto



#### Bioreactores línea DG



Bioreactores de 20l a 1000l destinados a plantas pilotos o de producción para cultivos de bacterias, hongos y levaduras. Accesorios para cultivos celulares animales e insectos.  
Apto para fermentaciones en batch o perfusión.  
Esterilizables in-situ



[www.novabiotech.com.ar](http://www.novabiotech.com.ar)

### Características técnicas

Modelo	DG-10	DG-20	DG-50	DG-100	DG-200	DG-500	DG-1000
Volumen Total	15l	30l	75l	150l	300l	750l	1500l
Volumen de trabajo máximo	10l	20l	50l	100l	200l	500l	1000l
Volumen de trabajo mínimo	3l	7l	20l	40l	80l	200l	400l
Rel. Altura/diámetro	2.5:1	2:1	2:1	2:1	2:1	2:1	2:1
Diámetro de vaso	197 mm	260 mm	360 mm	460 mm	570 mm	870 mm	1000 mm
Puertos en tapa 19mm	4	4	4	4	6	6	6
Clamp 1.5"	4	4	4	4	3	3	3
Clamp 2.5"	0	0	0	0	3	3	3
Puertos lateral superior Clamp 1/2"	1	1	1	1	1	1	1
Clamp 1.5"	3	3	3	3	2	1	1
Clamp 2"	0	0	0	0	1	2	2
Puertos lateral inferior Clamp 1.5" Z0 25mm	1 4	1 4	1 4	1 4	2 6	2 6	2 6
Flujo de gases l/m (1)	2-20	5-50	10-100	20-200	50-500	100-1000	200-2000
Válvula de cosecha (2)	3/4" de diámetro		1" de diámetro			2" de diámetro	
Válvula Toma Muestra	1/2" de diámetro esterilizable con vapor. Libre de zonas muertas						
Agitación	De 0 a 500 RMP. 3 propelas Rushton de 6 palas. Sello mecánico doble. Montaje de motor inferior						
Control de temperatura (3)	Rango de operación de 10°C a 80°C. Calentamiento eléctrico						
Control de pH	De 2 a 12 mediante loop de control PID con bomba de base y ácido Opción -GMP y -GMM adicionalmente mediante loop PID con ingreso de CO2						
Control de pO2	De 10% a 100% mediante lazos de control PID de agitación. Opción -VP y -MF: control adicional PID en cascada del caudal de gas ingresado. Opción -GMP y -GMM: control adicional PID en cascada de mezcla de gases (aire, O2 y N2) Opción con bomba/s auxiliar/es, control adicional PID en cascada de bomba para el ingreso de sustrato.						
Control de espuma	Disponibles en los modelos con bomba de anti-espuma						
Control de flujo de gases	Opción -MA: Por ajuste manual y rotámetro. Opción -VP: control sobre Válvula proporcional y rotámetro. Opción -GMP: control de mezcla de gases (aire, O2, N2 y CO2) por válvulas de pulso (ON/OFF) Opción -GMM sistema de mezcla de gases (Aire, O2, N2 y CO2) por massflow (control y medición de caudal individual de cada gas).						
Aireador (sparger)	Tipo herradura (ring)						
Salida de gases	Condensador para salida de venteo						
Bombas peristálticas	Controladas por pulsos (On/Off). Velocidad de giro ajustable manualmente hasta 160l/min.						
Display	Touch screen de 10" color. Funciones amigables al operador						
Conectividad	Salida RS-232 y USB para registro de parámetros.						

(1) Pueden ser requeridos otros rangos de flujo de aire.

(2) Válvula esterilizable con vapor. Libre de zonas muertas.

(3) La temperatura del agua de enfriamiento debe ser menor o igual a 10°C por debajo de la temperatura mínima a controlar.

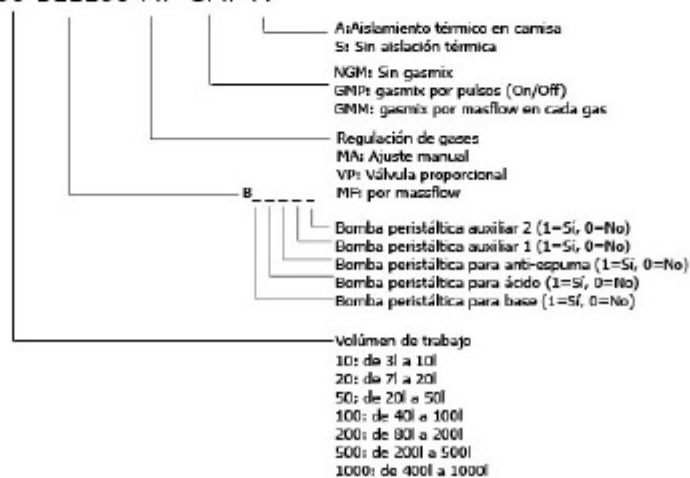
Suministros	DG-10	DG-20	DG-50	DG-100	DG-200	DG-500	DG-1000
Consumo eléctrico	1KW	2KW	5KW	10KW	20KW	50KW	100KW
Consumo de Vapor	5 kg/h	10 kg/h	25 kg/h	50 kg/h	100 kg/h	250 kg/h	500 kg/h
Tensión de alimentación	3x380 VAC/50Hz						
Alimentación de agua de enfriamiento	2 bar regulada.						
Alimentación de gases	1,5 bar regulado. Gases secos y libres de partículas de aceite.						
Drenaje	Por gravedad libre de contra-presión.						

#### Accesorios:

- Spin filter desde 2µm (nominal)
- Draft tube
- Canasta de aireación por manguera de silicona
- Propelas tipo hélice marina u otras.
- Micro sparger
- Otros sensores como turbidez, CO2, conductividad, etc.
- Sensor de nivel conductivo para control de perfusión
- Celdas de carga para control de perfusión
- Control incorporado de bomba de alimentación a  $\mu$  constante ( $K e^{-\mu t}$ )
- Frascos y tapas con 3, 3 y 4 puertos.

### Códigos de producto

DG-200-B11100-MF-GMF-A





## 17.10.9. Centrifuga de discos



### Alfa Laval MBUX 214

#### Solids discharging nozzle centrifuge

Alfa Laval MBUX 214 centrifuge is used for recovery of microorganisms and cell debris in high density fermentations.

#### Application

The solids discharging nozzle centrifuge type MBUX 214 is designed specially for separation of microorganisms from high density fermentation broths.

The centrifuge is used to separate, wash and concentrate microorganisms with normal particle size in the range 1 - 6  $\mu\text{m}$ . The content of the suspended solids in the feed is normally in the range 2 - 7,6% DS.

#### Design features

With the patented Alfa Laval self regulating vortex nozzles the concentration of discharged solids phase can be kept at a high and even level irrespective of fluctuations in the feed flow or feed concentration. The centrifuge can thus be operated closer to the clogging point without increasing the risk of clogging.

The disc inlet ensures a lenient acceleration of shear sensitive microorganisms.

The light and heavy phases are both discharged under pressure which prevents foaming and simplifies installation by eliminating pump systems and improves hygiene.

Solids pockets in the bowl guide the solids to the concentrate tubes, preventing accumulation of firmly packed solids and making separation and CIP easier and more effective.

Frame hood and solids receptacles are jacketed for circulation of cooling water, which also reduce the noise level. Frame hood and solids receptacles are fitted with spray nozzles for washing the outside of the bowl.

The Control Panel (optional) handles the control and supervision of the MBUX 214 centrifuge including a cleaning-in-place (CIP) mode.



Alfa Laval MBUX 214

#### Standard design

All liquid-wetted parts are made in high-grade stainless steel except the rubber gaskets (EPDM). The bearings are lubricated by an external lubrication circuit. The vertical driving device and bowl spindle is designed as an easily serviced unit. The entire assembly lifts out in one piece. The centrifuge is equipped with sensors for monitoring of bowl speed and vibration level.

Standard motor 65/75/90 kW for frequency converter drive, or control torque motor 75/90 kW.

### Operating principle

The feed containing the liquid and the solids is introduced to the rotating centrifuge bowl (fig 1) from the top via a stationary inlet pipe (1), and is accelerated in a distributor (2) with disc inlet before entering the disc stack (3). It is between the discs that the separation takes place.

The liquid phase moves through the disc stack towards the centre of the bowl, from where it is pumped out under pressure by means of a built-in paring disc (4). The heavy solids phase is moved outwards by centrifugal force to the solids pockets at the bowl periphery and from there through concentrate tubes (5) and internal vortex nozzles (6) into the paring tube chamber, where the concentrate is skimmed off by the paring tube (7) and discharged under pressure.

The bowl can be opened intermittently during production and/or the cleaning cycle for ejections of solids while the machine continues to run at full speed. The pneumatically (8) controlled valve slide (9) under the bowl bottom opens the discharge valves (10) momentarily, permitting the ejections of solids.

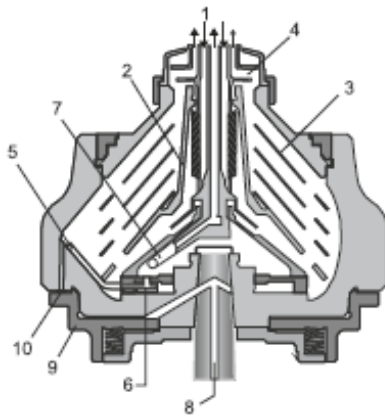


Fig. 1 Typical bowl drawing for a vortex nozzle centrifuge. Drawing details do not necessarily correspond to the centrifuge described.

### Shipping data (approximate)

Centrifuge weight, without motor	2786 kg (6140 lbs)
Motor weight	420-726 kg (926-1638 lbs)
Gross weight, max	3800 kg (8378 lbs)
Volume	8.0 m <sup>3</sup>

Alfa Laval reserves the right to change specifications without prior notification.

How to contact Alfa Laval  
Up-to-date Alfa Laval contact  
details for all countries are  
always available on our website  
at [www.alfalaval.com](http://www.alfalaval.com)

### Technical data

#### Utilities consumption

Electric power	Max 90 kW <sup>1)</sup>
Operating air	26 NI /discharge <sup>2)</sup>
Safety water	10 - 30 m <sup>3</sup> /h <sup>3)</sup>
Flushing liquid	0 - 16 l/discharge <sup>4)</sup>
Cooling liquid	600 l/h <sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Actual consumption depends on exact throughput capacity, centrifugate & concentrate flow rate and applied back pressure.

<sup>2)</sup> Instrument quality, 500-600 kPa. Actual consumption depends on CIP-discharge frequency.

<sup>3)</sup> The bowl should be filled with liquid at start, stop and normal operation. In case process liquid is not available, safety water should be used. Minimum flow shall be 10% above nozzle flow.

<sup>4)</sup> 100 - 600 kPa, 300 kPa suggested. Momentary flow rate at suggested pressure up to 800 l/h. Used only during CIP.

<sup>5)</sup> Data valid for 50 kPa. Max. pressure 100 kPa.

#### Technical specification

Max. throughput capacity	30 m <sup>3</sup> /h <sup>1)</sup>
Max. nozzle flow	22 m <sup>3</sup> /h <sup>2)</sup>
Feed temperature range	0 - 100 °C
Feed inlet pressure required	Max. 15 kPa <sup>3)</sup>
Centrifugate outlet pressure available	100 kPa <sup>4)</sup>

Concentrate outlet pressure available 660 kPa

Installed motor power 66/76/90 kW

Noise level 78,6 dB(A)

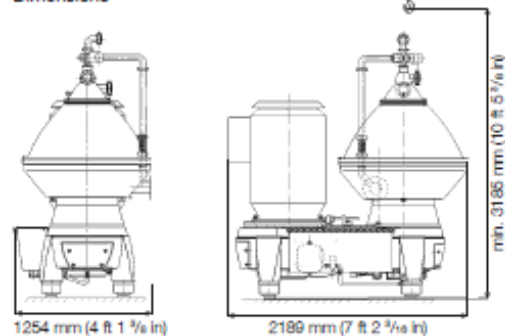
<sup>1)</sup> Actual consumption depends on exact throughput capacity, centrifugate & concentrate flowrate and applied back pressure.

<sup>2)</sup> Wet solids.

<sup>3)</sup> Data valid for water at feed flowrates up to 30 m<sup>3</sup>/h and outlet pressure 400 kPa.

<sup>4)</sup> Data valid for a centrifugate flowrate flow of 26 m<sup>3</sup>/h.

### Dimensions




## 17.10.10. Secador spray

### Una tecnología ecológicamente amigable.








### Nuestra Empresa

GALAXIE trabaja principalmente fabricando secadores spray estándar, para laboratorios, línea ECO para eliminación de efluentes, spray cooler y equipos especiales con materiales y accesorios de primera calidad. También ayuda a sus clientes con asesoramiento, reforma, modernización y traslado de equipos existentes, brindando facilidades para el ensayo de productos y secado por terceros, alquiler de equipos, adiestramiento de personal y proveyendo equipos auxiliares de acuerdo a cada necesidad.

### Proceso de Secado Spray

El secado por atomización (Secado Spray) es el proceso de pulverizar una solución o suspensión en una corriente de aire caliente que los dehidrata en forma casi instantánea. Lo cual presenta grandes ventajas en relación a otro tipo de secados.

### Ventajas del Secado Spray

- Alto Rendimiento (proceso rápido, pocos segundos).
- La evaporación de agua contenida refrigera la partícula, permitiendo usar altas temperaturas en el aire de secado sin afectar al producto.
- Proceso continuo y constantemente controlado.
- Homogeneidad de la producción.
- Inmejorable presentación del producto.
- Un solo operario maneja la instalación.
- Fácil Automatización.
- Puede trabajar continuo de 24 horas.

### Especificaciones Técnicas

Aire de Secado Temperatura en °C		Evaporación de Agua Lts/h	Consumo de Combustible KCal/h	Consumo Eléctrico Kwh/h	Espacio Requerido Mtrs
Entrada	Salida				
<b>Modelo 1612</b>					
180	80	19	24.000	4	3 x 3.50 Alt. 4.80
220	90	25	30.000		
250	100	29	34.000		
350	100	47	49.000		
450	100	64	64.000		
<b>Modelo 2520</b>					
180	80	63	80.000	9	4 x 4.50 Alt. 6.50
220	90	83	100.000		
250	100	97	115.000		
350	100	156	165.000		
450	100	213	215.000		
<b>Modelo 3530</b>					
180	80	190	240.000	30	6 x 6 Alt. 8.50
220	90	250	300.000		
250	100	290	345.000		
350	100	470	495.000		
450	100	640	645.000		
550	100	800	795.000		
<b>Modelo 4440</b>					
180	80	380	480.000	40	6.50 x 7.50 Alt. 11
220	90	500	600.000		
250	100	580	690.000		
350	100	940	990.000		
450	100	1280	1.290.000		
550	100	1600	1.590.000		
<b>Modelo 5240</b>					
180	80	570	720.000	47	7.50 x 9 Alt. 12
220	90	750	900.000		
250	100	870	1.035.000		
350	100	1410	1.485.000		
450	100	1920	1.935.000		
520	100	2400	2.385.000		

### Principales Productos para Secado Spray

**SUBPRODUCTOS DE MATADERO:** Sangre, plasma, hemoglobina, gelatina, extracto de carne.

**HUEVO:** Entero, yema y clara de huevo.

**ELIMINACION DE EFLUENTES:** Aguas de lavado, líquidos con altos DBO y DQO.

**SABORES Y AROMAS:** Naturales y sintéticos.

**CURTIENTES:** Tanino vegetal y sintético, compuestos crómicos.

**LEVADURA:** Levaduras, hidrolizado de proteínas.

**MARINOS:** Agua de cola de pescado, pulpa.


**CATALIZADORES Y COLORANTES:** Pigmentos y anilinas orgánicas e inorgánicas.

### Equipos Especiales

Además de los equipos estándar, GALAXIE construye Secadores Spray de acuerdo a las necesidades puntuales de cada cliente.



### 17.10.11. Mezclador de polvo



The image shows a Hit High speed mixer, a large industrial machine with a white body and a red top. It features a blue and red motor on the left side and a discharge chute on the right. The machine is set against a grey background.

**Hit**  
ACCESORIO ACCESORIO

## Mezclador Rápido

High speed mixer

*Resaltando*

El mezclador Hit ha sido especialmente diseñado para lograr mezclar grandes volúmenes de producto muy rápidamente. Su sistema a doble sinfín helicoidal asegura una alta homogeneidad en la mezcla.  
This component is designed to mix and blend a large mass of product within a short period of time. The unique double spiral worm incorporated into the design assures high degrees of homogeneity during the mixing and blending process.

The technical drawing consists of two views: a side view (top) and a top view (bottom). The side view shows the motor, drive shaft, and the mixing chamber with dimensions A (total width), D (width to the center of the motor), and C (height to the top of the chamber). The top view shows the circular mixing chamber with dimensions B (total diameter), E (diameter to the center of the motor), and G (height to the top of the chamber). A label 'Capacidad Util (Lts.) / Useful capacity' is positioned next to dimension E.

**Descripción**

La máquina posee un rotor con dos tornillos sin fin de doble filete, que giran transportando el producto en sentido contrario, mezclando los componentes entre sí. La precisión de su construcción asegura una mezcla homogénea en 3 a 5 minutos de operación y un vaciado muy rápido de aproximadamente 20 segundos.

Es posible también añadir ciertas cantidades de líquido, debiendo aumentar la potencia del motor.

La descarga puede ser realizada por una boca de salida pequeña o bien mediante válvula de descarga en toda su longitud; a su vez estas pueden ser de comando manual o electropneumático.

El mezclador puede ser suministrado sobre balanza o sistema de pesaje al que optativamente se le puede adosar un sistema con control de recetas y producción.

Su construcción puede ser tanto en hierro como en acero inoxidable. Se suministra con tapa abisagrada para su alimentación.

The technical drawing consists of two views: a side view (top) and a top view (bottom). The side view shows the motor, drive shaft, and the mixing chamber with dimensions A (total width), D (width to the center of the motor), and C (height to the top of the chamber). The top view shows the circular mixing chamber with dimensions B (total diameter), E (diameter to the center of the motor), and G (height to the top of the chamber). A label 'Capacidad Util (Lts.) / Useful capacity' is positioned next to dimension E.

**Description**

The machine has a rotor with two double thread spiral worms that convey the product by reverse spinning to mix and blend the different components into a real homogeneous mixture within a period of 3 to 5 minutes.

The resulting mixture empties quickly in approximately 20 seconds.

It is possible to add quantities of liquid during the mixing stage, however, it is recommended to increase the horsepower of the motor.

The discharge can be done either through a small outlet or through a discharge valve, either of which can be manually operated or controlled by means of a pneumatic cylinder and electrical valve.

The mixer can be ordered with a weighing device as well as with options to add other control systems so as to vary blending formulae.

This high speed mixer is offered in carbon or stainless steel and features a hinged cover to facilitate feeding during operation.


MODELO	Capacidad Util (Lts.)	A	B	C	D	E	F	G
Hit 0,1	100	1220	470	660	900	470	300	300
Hit 0,2	200	1590	586	760	1200	586	350	350
Hit 0,5	500	1670	1240	1110	1200	886	525	525
Hit 1	1000	2050	1500	1260	1500	1036	600	600
Hit 2	2000	2610	1730	1520	2000	1286	710	750
Hit 4	4000	4620	1760	1520	4010	1286	710	750

Cifras en milímetros / Numbers in millimeters

**17.10.12. Embolsadora**

## Embolsadora Valvulada a Tornillo

Auger Valve Packer



*Peñón*


Máquina ensacadora de bolsas valvuladas que combina la dosificación, el llenado y el pesado simultáneo, de bolsas de 10 a 60 kg. Para productos secos; granulados o en polvo.  
The bagging machine for valvulated bags allows to simultaneously dose, fill and weigh 10-60 kgs bags. For dry, granular and floury products.


	<p><b>Descripción</b></p> <p>El producto ingresa a la tolva superior donde un removedor asegura que el flujo no se interrumpa. Debajo de él, un tornillo sinfín, dosifica el ingreso del producto a la bolsa.</p> <p><b>Optativos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Vibrador de bolsa para su completo llenado.</li> <li>● Sujeción y expulsión de bolsa neumático.</li> <li>● Guiador de bolsa a cinta transportadora.</li> <li>● Kit para adaptación a bolsas de boca abierta.</li> </ul> <p>Con sujeción y expulsión de bolsa neumático la operación es como sigue: el operador sólo coloca la bolsa en el pico y presiona el pedal de inicio. Automáticamente la bolsa es sujeta y comienza a llenarse. La balanza es electrónica y posee 2 cortes. Al alcanzar el primer corte, se reduce la velocidad de alimentación para lograr mayor precisión. Una vez alcanzado el peso final, la pieza sujeta-bolsa se libera y el pie hace girar la bolsa alejándola del pico y haciéndola caer.</p>
	<p><b>Description</b></p> <p>Product enters the upper hopper where an agitator prevents it from bridging. Below it, an auger screw doses the product into the bag.</p> <p><b>Optional features:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Bag shaker (recommended for a complete bag filling).</li> <li>● Pneumatic bag clamp and discharge saddle.</li> <li>● Removal of full bags with a belt conveyor.</li> <li>● Open-mouth bag attachment.</li> </ul> <p>When the packer is equipped with pneumatic bag clamp and discharge saddle, the bagging process is as follows: the operator manually places the bag below the filling spout and pushes the start button. The bag is then automatically grasped by the clamp and begins to be filled.</p> <p>The electronic scale has a two-stage weighing. When the weight of the product within the bag reaches the first stage, the speed automatically lowers in order to achieve greater precision. Once the desired weight is reached, product flow stops. The clamp then releases the bag and the discharge saddle rotate it away, making it drop.</p>

Capacidad: 150 bolsas de 50kg/h dependiendo del producto, etc.  
Capacity: 150 50kg-bags/h depending on the type of product, etc.

### 17.10.13. Tanque de almacenamiento vertical

**TANQUE TERMICO  
TIPO HORIZONTAL**





**Productos** **Principal**

Escalera de acceso a boca de inspección.  
 Control de nivel para detectar nivel mínimo medio para arranque de los removedores y máximo de seguridad. Se provee además con conector para transductor de presión hidrostática para indicación de nivel.  
 Agitador con paletas conformadas en chapa de acero inoxidable accionados por motoresreductores eléctricos.  
 Boca de inspección superior con tapa rebatible.

**Descripción general**

Tanque térmico horizontal para almacenamiento de leche, suero u otros productos alimenticios.  
 Forrado exterior totalmente estanco en chapa de acero inoxidable AISI 304, pulida 2B de origen.  
 Aislamiento de poliuretano inyectado in-situ, que provee mínimas pérdidas de temperatura. Espesor 50 mm.  
 Tanque interior con costuras y cantos de construcción sanitaria.


Modelo	Capacidad [lit]
TH010A	1000
TH020A	2000
TH030A	3000
TH040A	4000
TH050A	5000
TH060A	6000
TH070A	7000
TH080A	8000
TH090A	9000
TH100A	10000
TH120A	12000
TH150A	15000
TH200A	20000
TH250A	25000
TH300A	30000

**LOS DATOS TECNICOS SON SOLAMENTE INDICATIVOS**

**ESTUDIO TECNICO INDUSTRIAL S.R.L.**  
 Ruta N° 9 - Km 555 - (5900) Villa María - Córdoba - ARGENTINA  
 T.E.Y FAX +54 333 4533425 / 4530953  
 email: [info@etisrl.com.ar](mailto:info@etisrl.com.ar)

## 17.10.14. Tanque de almacenamiento vertical

**TANQUE TERMICO  
TIPO VERTICAL**



**Descripción general**  
 Tanque térmico vertical para almacenamiento de leche, agua u otros productos alimenticios.  
 Forrado exterior totalmente estanco en chapa de acero inoxidable AISI 304 pulido 2B de origen.  
 Aislamiento de poliuretano inyectado in-situ, que provee mínimas pérdidas de temperatura. Espesor 50 mm.  
 Tanque interior con costuras y cantos de construcción sanitaria.  
 Fondo plano inclinado de gran pendiente para facilitar vaciado.

**ETI**

**Productos**    **Principal**

Escalera de acceso a parte superior con protección de seguridad y pasarela superior en chapa antideslizante, con barandas de caño.  
 Cúpulas para detectores de nivel, permiten detectar nivel mínimo medio para arranque de los removedores y máximo de caño.  
 Motor para limpieza de pasarelas superior y inferior para inspección de nivel.  
 Acoplador para inspección de pasarelas superior e inferior en chapa de acero inoxidable.  
 Boca de inspección inferior con tapa rebatible.  
 Posee cuatro patas de altura regulable.


Modelo	Capacidad (lit.)
TV010A	1000
TV020A	2000
TV030A	3000
TV040A	4000
TV050A	5000
TV060A	6000
TV070A	7000
TV080A	8000
TV090A	9000
TV100A	10000
TV120A	12000
TV150A	15000
TV200A	20000
TV250A	25000
TV300A	30000

**LOS DATOS TECNICOS SON SOLAMENTE INDICATIVOS**


**ESTUDIO TECNICO INDUSTRIAL S.R.L.**  
 Ruta N° 9 - Km 555 - (S900) Villa María - Córdoba - ARGENTINA  
 TE y FAX: +54-353-4533425 / 4530933  
 email: [info@etiinf.com.ar](mailto:info@etiinf.com.ar)



## 17.10.15. Caldera de vapor



**CALDIMET**  
S.R.L.  
calderas industriales



**CALDIMET**

Inicio [Calderas](#) ▾ + Productos ▾ Servicios Fotos

---

## 3PH-CODIGO 3 pasajes de humos convencionales hasta 1500 kg/v/h

Modelo 3PH (desde código VA005M hasta VA020M)

Caldera humotubular, horizontal de 3 pasajes de humos con fondo húmedo. Funcionamiento automático.

Capacidad de producción: a partir de 2.000 kg/v/h - hasta 12.000 kg/v/h.

Diseño de hogar central, unidades autoportantes (tipo paquete). Rendimiento superior al 85%.

Vapor saturado de alto título.

Fácil limpieza, mínimo mantenimiento.

Versiones: gas, gas oil, fuel oil, o dual (gas – gas oil)

Construido de acuerdo a la más alta tecnología en nuestras instalaciones.

**Rápida puesta en régimen - Servicio post venta - Optima relación costo / beneficio**  
**Puesta en marcha con análisis de combustión - Garantía**

17.10.16. Enfriador de agua

Nueva línea **Alfaliq HS**  
**INDUSTRIAL** DE AGUA

**2018**  
**Bienvenido**

## Alfaliq HTS 50-300 HP

**MANTENIMIENTO**  
 Todos los repuestos disponibles, con la mejor y mas rápida respuesta de servicio del mercado argentino

**R407-C**  
 Refrigerante ECO, en línea con el avance mundial del cuidado del medio.



**EVAPORADOR**  
 Tipo Casco & Tubo para la mayor tolerancia contra accidentes hidráulicos

**CONSTRUCCION INDUSTRIAL**  
 Simple  
 Robusto  
 Duradero

**SIEMENS**  
 PLC Siemens como controlador de funciones y temperatura

**Schneider Electric**  
 Los mejores componentes eléctricos

**HANBELL**  
 Made in Taiwan



**GERMAN SCREW COMPRESSORS**  
  
 La mejor selección de compresores de tornillo: Bitzer alemanes o Hanbell de Taiwan

**TODOCHILLER**  
*Desde 1958, la solución en frío.*

**MANTENIMIENTO**  
 Las mejores partes del mundo de nada sirven si ante una simple salida de servicio no hay respuesta. Nos jactamos de un excelente servicio técnico. Reparamos nuestros equipos, importados y locales

**GARANTÍA REAL**  
 Si. No hay nada mas costoso que comprar un chiller que no tiene un servicio técnico que resuelva las paradas que inexorablemente ocurrirán.  
  
 Nos precliamos de tener un excelente Servicio Técnico rápido y efectivo.

**60 AÑOS EN EL MERCADO ARGENTINO**  
 Desde 1958, nos hemos desarrollado ininterrumpidamente para que su dinero pague el mejor producto y servicio del mercado.  
  
 Mas de 2,700 chillers producidos y 160,000 reparaciones efectuadas le garantizan operar con Alfaliq sin problemas y por muchos años.





50-300 HP		Aifaliq HTS (compresores Semiherméticos Tornillo)															
		1x Tornillo, 1x circuito de refrigeración					2x Tornillo, 2x circuitos de refrigeración										
SPECS		Modelo @ xx°C	50-A	60-A	75-A	85-A	100-A	120-A	150-A	80-AD	100-AD	120-AD	150-AD	170-AD	200-AD	240-AD	300-AD
			Q [Mca/h] @ xx°C														
Energía		-10	39.3	42.8	57.3	67.3	78.0	93.3	116.7	60.0	78.0	93.3	116.7	135.0	156.7	186.7	233.3
		-5	46.2	49.3	65.9	77.4	89.7	107.3	134.2	69.0	89.7	107.3	134.2	155.3	180.2	214.7	263.3
		0	54.1	58.9	78.8	92.6	107.3	128.3	160.4	82.5	107.3	128.3	160.4	185.6	215.4	256.7	320.8
		5	83.6	91.0	121.8	143.1	165.8	198.3	247.9	127.5	165.8	198.3	247.9	286.9	332.9	396.7	496.8
		10	98.3	107.1	143.3	168.3	195.0	233.3	291.7	150.0	195.0	233.3	291.7	337.5	391.7	466.7	583.3
	12	118.0	128.5	172.0	202.0	234.0	280.0	350.0	180.0	234.0	280.0	350.0	405.0	470.0	560.0	700.0	
	15	127.8	139.2	186.3	218.8	253.3	303.3	375.2	195.0	253.3	303.3	375.2	438.8	509.2	606.7	758.3	
	20	157.3	171.3	229.3	269.3	312.0	373.3	466.7	240.0	312.0	373.3	466.7	540.0	626.7	746.7	933.3	
	HP	33.7	36.9	48.9	55.1	63.8	77.4	94.9	53.7	67.4	73.9	97.9	110.3	127.6	154.9	189.9	
	Input tot. (1)	MW	50.2	56.2	75.3	84.5	96.3	117.2	144.0	81.8	100.4	110.6	140.0	164.8	191.4	233.2	288.4
	COP Compresor @12°C		3.0	3.0	3.0	3.1	3.1	3.1	3.2	2.9	3.0	3.0	3.1	3.1	3.2	3.1	3.2
	Alimentación		3x380V/50HZ														
Refrigerante	Tipo		R-407c														
	Carga Control	kg	35	42	52	60	70	84	105	2x28	2x35	2x42	2x52	2x60	2x70	2x84	2x105
Compresor	Tipo		TXV - Válvula de Expansión Termostática														
	Potencia	MW	45.8	50.2	66.5	74.9	86.7	105.2	129	2x66.5	2x45.8	2x50.2	2x66.5	2x74.9	2x86.7	2x105.2	2x129
	Potencia	MW	45.8	50.2	66.5	74.9	86.7	105.2	129	73	91.6	100.4	133	149.8	173.4	210.4	258
	Arranque		Estrella - Triángulo														
Controlador	Ctrl. Capacidad	%	0-25-50-75-100														
	Tipo		Control PLC Siemens integrado con touch screen Webview (Taiwan)														
Evaporador	Tipo		Casco y Tubo, Gran resistencia a accidentes hidráulicos														
	M. neoplástico	m3/h	36	39	52	61	71	85	106	55	71	85	106	123	142	170	212
	DP nominal	kPa	35	38	42	46	48	43	41	45	43	43	41	42	45	42	46
Condensador	Conexiones	puñg	3	3	4	4	4	4	4	5	4	4	5	5	6	8	8
	Tipo		Aire. Alta eficiencia tubos de cobre y alambres de aluminio (Aerofin)														
Ventilador	Tipo		Axial. Gran caudal de aire y bajo ruido														
	Potencia	MW	4x1.1	6x1.0	8x1.1	8x1.2	8x1.2	10x1.2	10x1.5	8x1.1	8x1.1	8x1.2	10x1.1	10x1.5	12x1.5	12x1.9	16x1.9
	Caudal aire	x1,000 m3/h	4.4	6	8.8	9.6	9.6	12	15	8.8	8.8	9.6	11	15	18	22.8	30.4
Bomba	Potencia	MW	50	60	80	90	100	116	135	80	100	116	135	165	200	236	276
	H máx	mca	Solo incluido en Aifaliq AD														
Protecciones			Solo incluido en Aifaliq AD														
			Temostato inmerso calentamiento compresor, Relé térmico, Alta y Baja Presión refrigerante, Temostato anticongelamiento, Falta de fase, contra fase, Temostato vapor de carga, Sensor de flujo														
Dimas	Largo	m	2.3	2.7	3.0	3.5	4.0	4.8	5.5	3.6	4.0	4.8	5.5	6.8	7.8	8.5	11.0
	Ancho	m	1.8	1.8	2.0	2.0	2.0	2.1	1.8	1.8	1.8	2.1	2.1	2.1	2.1	2.2	2.2
Peso Neto	Alto	m	1.9	1.9	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.0	2.0	2.0	2.2	2.2	2.3	2.4	2.2
	Peso Neto	kg	1.6	1.9	2.4	2.6	2.8	3.0	3.2	2.5	3.0	3.4	4.1	4.4	4.8	5.2	6.4
Tanque	Peso Neto	Ton	1.6	1.9	2.4	2.6	2.8	3.0	3.2	2.5	3.0	3.4	4.1	4.4	4.8	5.2	6.4
	Volumen		Solo incluido en Aifaliq AD														

**DETERMINE:**  
 1) El caudal de calor en Mca/h que debe transferir y la temperatura de agua saliente en °C.  
 Con esos datos ingrese en la tabla y determine el modelo de chiller que necesita en la línea de arriba.  
 Si, como es probable, desconoce alguno de los datos, LLÁMENOS. Le indicaremos sobre el teléfono:  
 1) Si necesita un chiller  
 2) Cual  
 3) El precio

**SOBRECÁLCULO:**  
 Los procesos y condiciones ambientales tienen siempre un grado de incertidumbre tal que deberá considerarse el resultado con un margen de seguridad.  
 Los valores de las tablas son muy conservadores, queriendo decir que las eficiencias de planta tienen un rendimiento superior al indicado. De cualquier forma, entendemos razonable, acortamiento adicional con más de un 20%.  
 No se debe tener los parámetros de selección. Pequeñas variaciones de temperatura arrojarán resultados muy distintos.  
 El caudal NO es la potencia. Característica de un arreglo de enfriamiento (chiller). Si lo es su capacidad de transferencia.

**ANTICONGELANTE**  
 Si debe generar agua a temperatura por debajo de los 5°C, DEBE USAR **ANTICONGELANTE EN EL AGUA.**  
 Si no lo hace, con seguridad dañará el evaporador y probablemente al compresor de la unidad. La reparación tiene un costo aproximado de la mitad del valor total del equipo.  
 El Propileno glicol es menos tóxico que el Etileno glicol. Los glicoles producen ácidos en presencia de aire que corrompe la instalación. Míbase el PH del agua agregando inhibidores de corrosión. Verifique que siempre PH >=7. El Glicol dura hasta 12 años

### 17.10.17. Planta compacta de agua purificada



#### Ósmosis inversa OI-501

La Ósmosis Inversa Modelo OI- 501 es un equipo de gran desarrollo y de bajo ruido, con la mejor tecnología y todos los sistemas de protección mediante alarmas audiovisuales e indicadores de estado.

Todo este Equipo de Ósmosis Inversa está fabricado en acero inoxidable y manejado por **PLC marca Siemens**.

Tiene todas las protecciones de motores, válvulas, etc. Además, en el panel de control se encuentran señalizados todos los elementos que van actuando en forma automática sin necesidad de intervención humana, como también va midiendo en tiempo real la calidad del agua de entrada y el agua de salida.

En caso de necesitar agua de inferior calidad a la que el equipo produce, el mismo viene con sistema de regulación de salinidad a la salida.

**Equipos estándar:** Producción de 600 litros/hora, 900 litros/hora, 1200 litros/hora y 1500 litros/hora.

**Equipos Fabricados a medida:** Producción desde 2.000 litros/hora a 20.000 litros/ hora según necesidad.

### 17.10.18. Sistema de aire purificado



A photograph of a surgical team in an operating room. The surgeons are wearing blue scrubs, masks, and hairnets. They are focused on a patient lying on the operating table. Two large, circular surgical lights are visible above them, casting a bright light on the surgical site.

**MEDICAL AIR PLANT**  
uAIR Series (7-145 l/s / 15-307 cfm)



A technical diagram showing the components of the Atlas Copco uAIR Series medical air plant. It includes several grey rectangular units with a yellow 'Z' logo, connected by a network of pipes and hoses. The units are arranged in a line, with some smaller components and a control panel also shown.

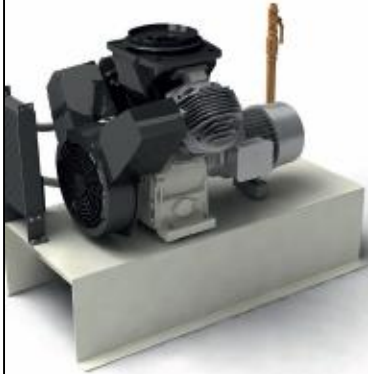


*Atlas Copco*



## OIL-FREE COMPRESSORS FOR MEDICAL USE

Choose from premium oil-free compressor series to find the compressed air solution that perfectly matches your specific requirements. With products that are built to perform according to the latest medical standards ISO 7396-1 and HTM, Atlas Copco commits to keeping your healthcare environment running in the most efficient and safe way.



### Oil-free piston compressors\*

#### LF-MED

Working pressure: 4-10 bar

Capacity: 8-15 l/s

Installed power: 4-7.5 kW

\* Oil-less compressors with pressures up to 13 bar and up to 20 kW are also available.

### Oil-free scroll compressors

#### SF-MED

Working pressure: 4-10 bar

Capacity: 3-30 l/s

Installed power: 2-22 kW



### Oil-free water lubricated compressors

#### AQ-MED\*

Working pressure: 4-13 bar

Capacity: 22-115 l/s

Installed power: 15-55 kW (= < 30kW only VSD)

\* Only for ISO 7396-1.

### Oil-free tooth compressors

#### ZT/ZR-MED\*

Aircooled/Watercooled: ZT/ZR

Working pressure: 4-10 bar ( >22 kW – 8.6 bar)

Capacity: 30-138 l/s

Installed power: 15-55 kW

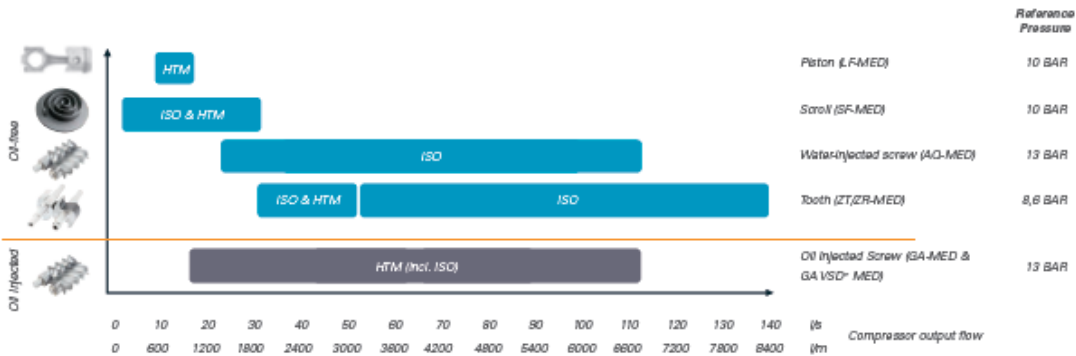
\* For HTM: Only ZT with pressures up to 10 bar, a capacity of 30-45 l/s and power up to 22kW are available, also as VSD.



### Medical Air Plant selection

Choose from premium compressor technologies to find the compressed air solution that perfectly matches your specific requirements. With products that are built to perform according

to the latest medical standards ISO 7396-1 and HTM, Atlas Copco commits to keeping your healthcare environment running in the most efficient and safe way.



### Modular building blocks

Open architecture gives you the possibility to create any type of Medical and Surgical Air Plant according to your requirements.



Each and every hospital is different and has its own requirements and limitations. Atlas Copco introduces a new level of flexibility. No more fixed combinations of equipment, oversized compressors, dryers or complexity with air plant upgrade.

We provide you the power to set up a plant according to your needs. With our new concept of building blocks you can combine a setup which will match your requirements.

# TECHNICAL SPECIFICATIONS

TYPE	Plant output pressure	Flow at 50 Hz		Compressor		Dryer		Vessel	
	bar	l/s	lpm	Type	Q-ty	Type	Q-ty	Type	Q-ty
Medical Air Plant based on oil-free piston compressors									
uAIR-LF	8	6.9	414	LF 5-MED	3	MED 7°	2	250	2
	8	8.2	494	LF 7-MED	3	MED 15°	2	250	2
	8	12.7	764	LF 10-MED	3	MED 15°	2	250	2
	8	16.7	1000	LF 7-MED	4	MED 25°	2	250	2
	8	25.4	1523	LF 10-MED	4	MED 25°	2	500	2
	8	38.2	2291	LF 10-MED	5	MED 45°	2	1000	2
	8	50.0	2999	LF 10-MED	6	MED 65°	2	1000	2
Medical Air Plant based on oil-free scroll compressors									
uAIR-SF	8	2.1	126	SF 2-MED	3	MED 7°	2	250	2
	8	4.6	276	SF 4-MED	3	MED 7°	2	250	2
	8	5.7	342	SF 6-MED	3	MED 7°	2	250	2
	8	8.5	512	SF 8-MED	3	MED 15°	2	250	2
	8	12.2	734	SF 11-MED	3	MED 15°	2	250	2
	8	18.0	1079	SF 15-MED	3	MED 25°	2	500	2
	8	25.1	1505	SF 22-MED	3	MED 25°	2	500	2
	8	36.9	2213	SF 15-MED	4	MED 45°	2	1000	2
	8	47.74	2843	SF 22-MED	4	MED 65°	2	1000	2
	8	55.8	3347	SF 15-MED	5	MED 65°	2	1000	2
	8	74.3	4459	SF 22-MED	5	MED 80°	2	1500	2
	8	100.3	6019	SF 22-MED	6	MED 100°	2	2000	2
Medical Air Plant based on oil-free tooth compressors									
uAIR-ZF	8	25.4	1523	ZT 15-MED	3	MED 25°	2	500	2
	8	29.9	1795	ZT 18-MED	3	MED 35°	2	500	2
	8	37.0	2219	ZT 22-MED	3	MED 45°	2	1000	2
	8	48.2	2891	ZT 15-MED	4	MED 65°	2	1000	2
	8	60.8	3647	ZT 18-MED	4	MED 65°	2	1000	2
	8	75.8	4549	ZT 22-MED	4	MED 80°	2	1500	2
	8	90.7	5443	ZT 18-MED	5	MED 100°	2	1500	2
	8	108.1	6546	ZT 22-MED	5	MED 145°	2	2000	2
	8	118.8	7128	ZT 18-MED	6	MED 145°	2	2000	2
	8	133.3	8000	ZT 22-MED	6	MED 145°	2	2000	2

TYPE	Plant output pressure	Flow at 50 Hz		Compressor		Dryer		Vessel	
	bar	l/s	lpm	Type	Q-ty	Type	Q-ty	Type	Q-ty
Medical Air Plant based on oil-free water-injected screw compressors									
uAIR-AV	8	31.6	1898	AQ 15 VSD MED	3	MED 35°	2	500	2
	8	36.4	2183	AQ 18 VSD MED	3	MED 45°	2	1000	2
	8	43.9	2631	AQ 22 VSD MED	3	MED 65°	2	1000	2
	8	64.2	3851	AQ 15 VSD MED	4	MED 65°	2	1000	2
	8	74.6	4477	AQ 18 VSD MED	4	MED 80°	2	1500	2
	8	93.3	5585	AQ 22 VSD MED	4	MED 80°	2	1500	2
	8	107.3	6438	AQ 18 VSD MED	5	MED 100°	2	2000	2
	8	140.8	8448	AQ 22 VSD MED	5	MED 145°	2	3000	2
	11	24.7	1485	AQ 15 VSD MED	3	MED 25°	2	500	2
	11	29.2	1751	AQ 18 VSD MED	3	MED 35°	2	500	2
	11	39.3	2357	AQ 22 VSD MED	3	MED 35°	2	1000	2
	11	50.4	3025	AQ 15 VSD MED	4	MED 45°	2	1000	2
	11	59.3	3557	AQ 18 VSD MED	4	MED 65°	2	1000	2
	11	76.7	4602	AQ 22 VSD MED	4	MED 80°	2	1500	2
	11	92.2	5532	AQ 18 VSD MED	5	MED 80°	2	1500	2
	11	110.4	6623	AQ 22 VSD MED	5	MED 145°	2	2000	2
	11	156.2	9371	AQ 22 VSD MED	6	MED 145°	2	3000	2

## MED+ ADVANCED MEDICAL PURIFIER

Atlas Copco's Medical Air Plant with MED+ air purifiers provides the ultra-clean air you require. The MED+'s innovative filtration system is the most advanced medical air solution, while a small footprint allows you to make the most of the space available. The MED+ offers unparalleled air purity through 7 stages of active purification. Challenge tests conducted by an external company ensure the MED series meets international regulations. Excelling in these 'worst case scenarios' of ambient air quality, the MED+ gives you peace of mind in real life conditions.



	European Pharmacopoeia
O <sub>2</sub>	20.4% < x < 21.4%
CO <sub>2</sub>	<500 ppm
CO	<5 ppm
SO <sub>2</sub>	<1 ppm
NO <sub>x</sub>	<2 ppm
Water vapor	ADP -45°C (-49°F) / PDP -31°C (-23°F)
Oil vapor	<0.1 mg/m <sup>3</sup>
Dust particles	Not specified
Taste and odor	Taste and odor free

### Simple and user-friendly management

Our advanced Mk5 controller on the ES-Medical Central Controller with its large, 5.7-inch color display gives you a powerful and simple tool for managing your complete installation. Several access levels enable you to set the required security level.

17.10.19. Bomba de incendio

CATÁLOGO GRUNDFOS

**Fire DNF, Fire HSEF**  
Sistemas contra incendios Grundfos

Sistemas contra incendios con bombas eléctricas (50 Hz)  
certificados por FM según NFPA 20



BE > THINK > INNOVATE >

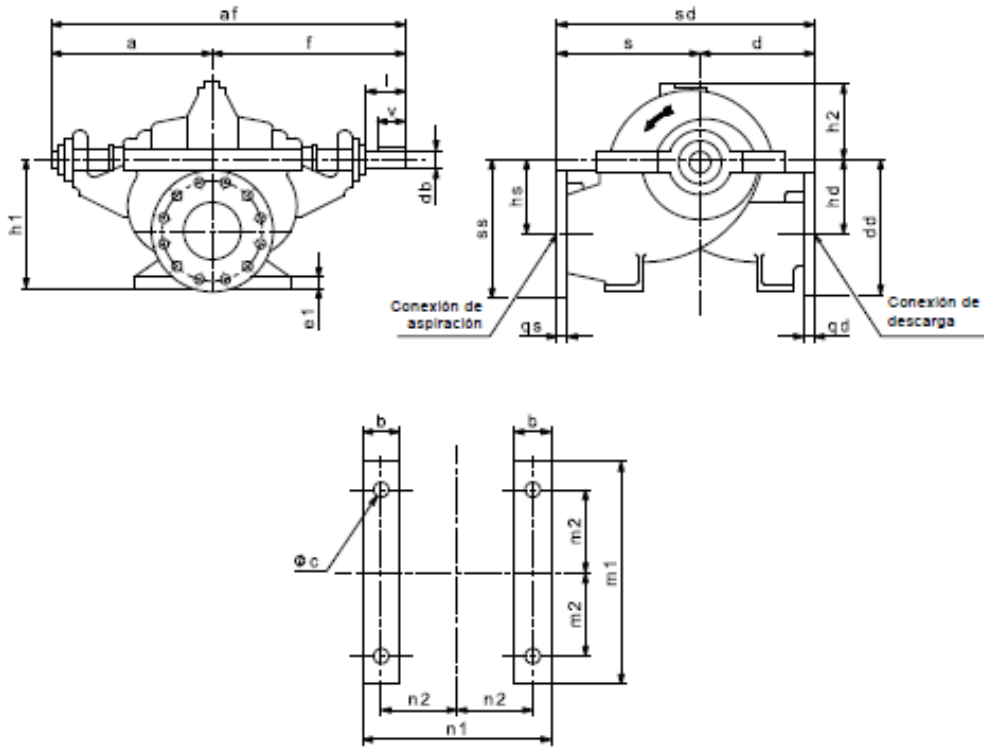
GRUNDFOS 



# Bombas a eje libre

Fire DNF, Fire HSEF

## HSEF



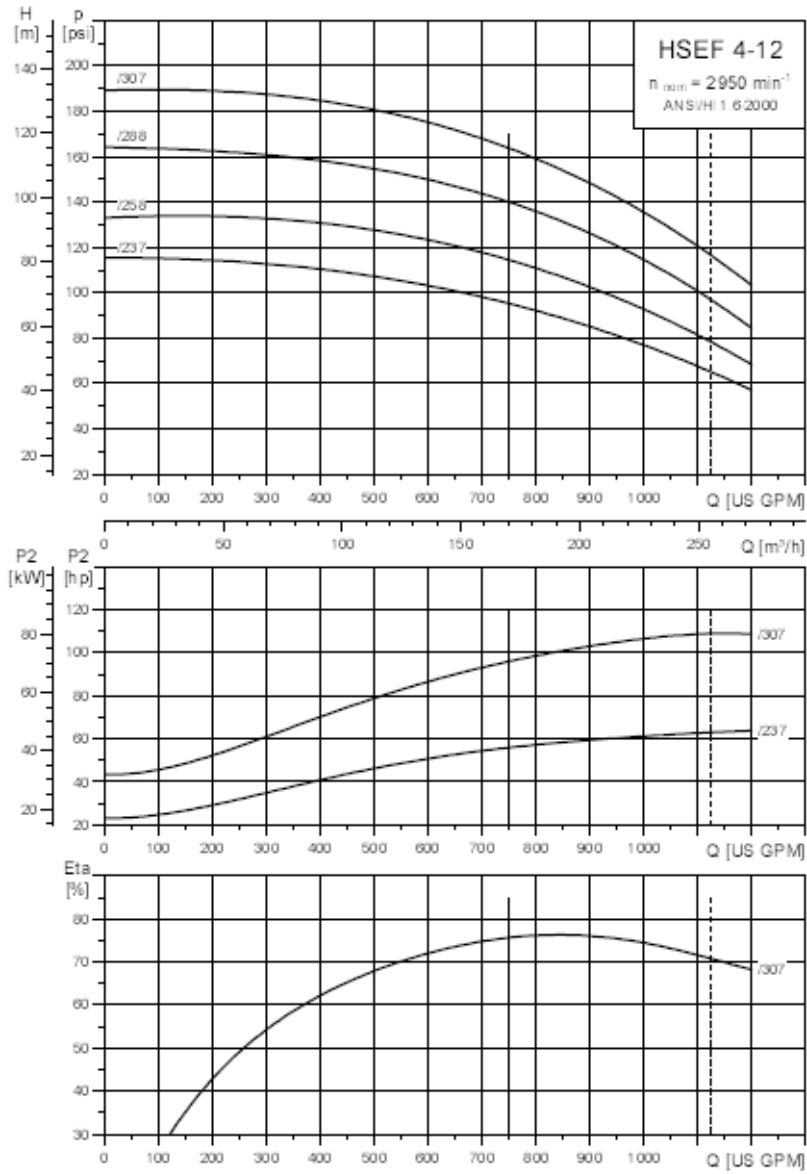
TMO4 4447 1309

Fig. 30 Bomba HSEF a eje libre

Tipo de bomba	DNc DNd		Bomba [mm]														Patas soporte [mm]						
	[Inch]		a	f	af	e	d	cd	h1	h2	hc	hd	ss	dd	qs	qd	n1	n2	m1	m2	e1	b	eo
HSEF 4-10	5	4	305	406	711	279	279	559	279	200	165	165	311	298	35	32	368	152	330	140	25	86	19
HSEF 4-10G	5	4	305	406	711	279	279	559	279	200	165	165	311	298	35	32	368	152	330	140	25	86	19
HSEF 4-12	5	4	305	406	711	318	260	578	330	219	165	197	311	330	35	32	368	152	330	140	25	86	19
HSEF 5-8	6	5	327	416	743	305	305	610	279	188	146	146	292	286	25	24	368	152	330	140	25	86	19
HSEF 5-11	6	5	330	406	737	330	305	635	305	203	171	171	337	318	37	35	406	175	305	127	25	89	19
HSEF 5-12	6	5	330	406	737	356	330	686	356	246	203	216	368	362	37	35	400	175	305	127	25	86	19
HSEF 5-14	6	5	343	438	781	330	356	686	330	244	178	216	324	362	25	35	476	210	381	165	25	86	19
HSEF 5-10	8	6	330	406	718	330	260	591	356	206	191	171	368	337	28	37	368	152	330	140	25	86	19
HSEF 6-12	8	6	375	483	857	419	305	724	381	254	194	210	391	375	41	37	368	152	457	197	28	86	22
HSEF 6-16	8	6	381	476	857	406	457	864	381	289	232	273	409	438	28	37	476	203	432	191	25	86	19
HSEF 8-15G	10	8	375	483	857	449	406	856	406	305	229	254	457	451	48	41	457	191	483	210	28	86	22
HSEF 8-17A	10	8	394	502	895	483	381	864	457	353	254	305	483	502	48	41	559	241	483	210	28	102	25
HSEF 8-17Q	10	8	394	502	895	483	381	864	457	353	254	305	483	502	48	41	559	241	483	210	28	102	25
HSEF 8-20	10	8	476	610	1086	508	533	1041	457	378	279	330	489	527	30	41	559	241	483	210	28	102	25
HSEF 8-20G	10	8	476	610	1086	508	533	1041	457	378	279	330	489	527	30	41	559	241	483	210	28	102	25
HSEF 10-20	12	10	521	660	1181	559	584	1143	495	403	279	356	527	584	32	48	558	216	660	292	32	102	25
HSEF 12-19G	14	12	765	914	1679	610	711	1321	533	371	305	343	546	610	35	32	813	330	813	368	51	152	32

750 gpm, 95-164 psi

Rango presión [psi]	Potencia nominal [kW]
95-114	55
115-140	75
141-164	90

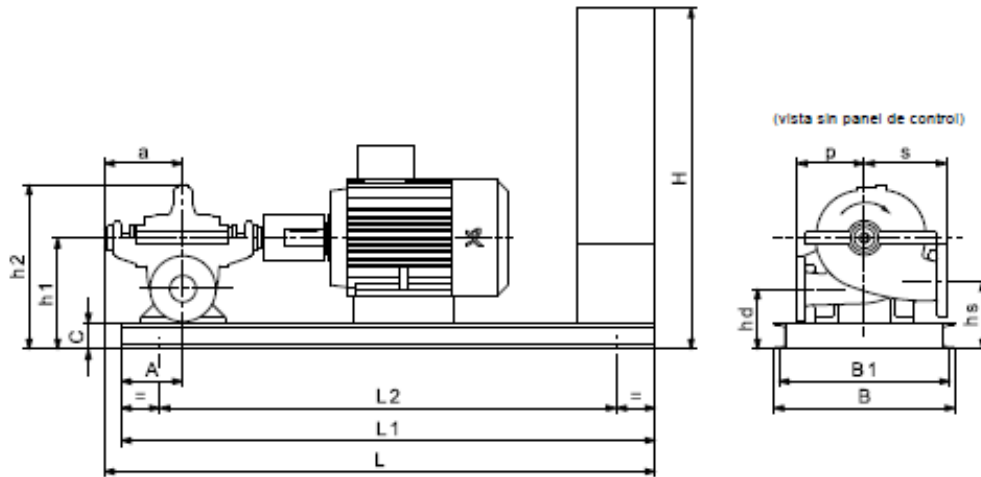


TM044205-0010

# Dimensiones de instalación

Fire HSEF  
2 polos, 50 Hz

## Unidad Compact, 2 polos, 50 Hz



TMO4 4444 1309

Nota: El dibujo de dimensiones muestra la bomba con sentido de giro contrario a las agujas del reloj. Rotación en el sentido de las agujas del reloj disponible bajo pedido

## Unidad Compact, 2 polos, 50 Hz

Tipo de bomba	Potencia nominal P <sub>2</sub> [kW]	DNc	DNd	Dimensiones [mm]														Peso [kg]	
				h1	h2	H	hg	hd	C	A	a	L	L1	L2	B	B1	c		q
Fire HSEF 4-10G	15	5	4	430	633	1320	264	264	100	240	305	1830	1765	1465	701	661	279	279	568
	18,5											1870	1805	1505					576
	22											1910	1845	1545					600
Fire HSEF 4-10	30	5	4	430	633	1320	264	264	100	240	305	1980	1915	1615	701	661	279	279	723
	37											1980	1915	1615					723
	45											2030	1965	1665					792
Fire HSEF 4-12	55	5	4	430	637	1320	265	233	100	240	305	2130	2065	1765	701	661	318	263	896
	55											2130	2065	1765					945
	75											2220	2155	1855					1050
Fire HSEF 5-8	90	6	5	429	588	1320	283	283	100	240	327	2271	2205	1905	701	661	305	305	1096
	30											2010	1920	1620					669
	37											2063	1960	1660					692
Fire HSEF 5-11	45	6	5	456	658	1320	283	283	100	227	330	2108	2005	1705	701	661	330	305	842
	55											2238	2135	1835					946
	75											2283	2180	1880					1051
	90											2288	2185	1880					1097
Fire HSEF 5-12	90	6	5	505	753	1472	302	390	100	227	330	2288	2185	2025	701	661	356	330	1205
	110											2498	2395	2095					1685
	132											2583	2570	2270					1901
Fire HSEF 6-10	75	8	6	506	712	1472	315	334	100	240	330	2245	2155	1825	701	661	330	260	1085
	90											2285	2195	1895					1131
	110											2475	2385	2085					1611
Fire HSEF 6-12	110	8	6	531	785	1472	419	305	100	297	375	2542	2535	2335	853	813	419	305	1771
	132											2798	2720	2520					1992
	160											2798	2720	2520					2095
	200											2798	2720	2520					2177

### 17.11. Ficha técnica de la instalación de silos celdas

Silos celda		
Material	Hórmigon estructural H30	
Nro. de celdas	4	
Volumen	276 m <sup>3</sup>	
Dimensiones	10 x 20 metros	
Altura	1,70 metros	
Profundidad	0,50 metros	
Inclinación del fondo	10°	
Tornillo helicoidal	Material	Acero al carbón
	Nro. de tornillos	1 por celda
	Flujo de transporte	25 m <sup>3</sup> /hs
	Longitud	20 metros
	Diámetro de rosca	0,20 metros
	Velocidad de giro	150 rpm
	Potencia	2,23 kW
Canal de descarga		
Material	Hórmigon estructural H30	
Dimensiones	2 x 15 metros	
Profundidad	0,70 metros	
Inclinación del fondo	35°	
Tornillo helicoidal	Material	Acero al carbón
	Flujo de transporte	25 m <sup>3</sup> /hs
	Longitud	20 metros
	Diámetro de rosca	0,20 metros
	Velocidad de giro	150 rpm
	Potencia	2,23 kW
Fosa de descarga		
Material	Hórmigon estructural H30	
Dimensiones	1,60 x 1,60 metros	
Profundidad	1,10 metros	
Tornillo helicoidal inclinado	Material	Acero al carbón
	Flujo de transporte	25 m <sup>3</sup> /hs
	Longitud	10 metros
	Diámetro de rosca	0,20 metros
	Velocidad de giro	150 rpm
	Inclinación	35°
	Potencia	2,23 kW

## 17.12. Ficha técnica del secador de tambor rotatorio

Material		Acero ASTM-36
Largo		6,0 metros
Diámetro		0,6 metros (interno)
Espesor		6,35 mm
Inclinación		5°
Velocidad de giro		15 rpm
Aislación	Material	Lana de vidrio
	Disposición	Interna
	Espesor	25,4 mm
Sistema de rotación		
Pistas de rodadura		2 a lo largo del tambor
Rodillos	Material	Hierro fundido ASTM-47
	Cantidad	2 por pista de rodadura
	Longitud	254 mm
	Diámetro	101,6 mm
	Disposición	30° del eje vertical del tambor
Ejes	Material	Acero SAE 1045
	Cantidad	1 por rodillo
	Longitud	320 mm
	Diámetro	75 mm
Rodamientos	Cantidad	2 por eje
	Tipo	Rodillos a rótula
	Accesorios	Manguito de fijación
	Diámetro	75 mm
Corona- piñón	Material	Acero SAE 1045
	Relación $D_p$	5:1
	Módulo	8
Quemador de aire		
Tipo		Ducto bridado
Disposición		Entrada
Capacidad		400.000 a 600.000 Kcal/hs
Potencia		1,00 kW
Extractor de centrífugo		
Disposición		Salida
Capacidad		270 m <sup>3</sup> /min
Velocidad de giro		1.400 rpm
Potencia		4,10 kW
Motor eléctrico		
Tipo		Asincrónico trifásico
Velocidad de giro		2.900 rpm
Potencia		4 kW

### 17.13. Ficha técnica del biorreactor industrial

Cuerpo del biorreactor		
Material	Acero inoxidable AISI 316	
Diámetro	3,00 metros (interno)	
Altura	4,40 metros	
Espesor	4,76 mm	
Puertos de entrada	6 (de 2 pulgadas de diámetro)	
Ductos bridados	2 (de 2 pulgadas de diámetro)	
Aislación	Material	Poliuretano inyectado
	Disposición	Interna
	Espesor	15,87 mm
Baffles	Cantidad	4
	Ancho	0,30 metros
	Disposición	90° uno respecto de otro
Tapa del biorreactor		
Material	Acero inoxidable AISI 316	
Tipo	Torisférico	
Diámetro	3,00 metros (interno)	
Altura	0,50 metros	
Radio interior	1,50 metros	
Espesor	9,52 mm	
Puerta	1 (de 450 mm de diámetro)	
Puertos de entrada	4 (de 2 pulgadas de diámetro)	
Ductos bridados	2 (de 4 y 8 pulgadas de diámetro)	
Fondo del biorreactor		
Material	Acero inoxidable AISI 316	
Tipo	Torisférico	
Diámetro	3,00 metros (interno)	
Altura	0,50 metros	
Radio interior	1,50 metros	
Espesor	9,52 mm	
Ducto de bridados	1 (de 8 pulgadas de diámetro)	
Válvula	Material	Acero inoxidable AISI 316
	Accionamiento	Manual con palanca
	Diámetro	8 pulgadas

Sistema de agitación		
Material	Acero inoxidable AISI 316	
Diámetro	1,00 metros	
Largo del eje	3,42 metros	
Propelas	3 a lo largo del eje	
Paletas	4 por propela	
Inclinación de paletas	45°	
Velocidad de giro	120 rpm	
Potencia	4,10 kW	
Sistema regulador de temperatura		
Material	Acero inoxidable AISI 316	
Tipo	Encamisado	
Altura de agua	3,40 metros	
Diámetro menor	3,0095 metros	
Diámetro mayor	3,2095 metros	
Área de intercambio térmico	32 m <sup>2</sup>	
Sistema difusor de aire		
Estructura	Material	Acero inoxidable AISI 316
	Bifurcaciones	6 ramales (forma hexagonal)
	Largo	1,125 metros por ramal
	Diámetro	60,3 mm
	Espesor	2,77 mm
Difusores	Cantidad	18 (3 por ramal)
	Caudal	3 a 25 m <sup>3</sup> /hs
	Diámetro	310 mm
	Diámetro de rosca	3/4 de pulgada





## 18. Bibliografía

Se divide el material bibliográfico según el origen de la fuente.

### 18.1. Revistas o publicaciones

1. *Desarrollo de astaxantina para acuicultura a partir de levaduras.* (2016). Argentina: Innovación Argentina, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva.
2. *Producción por acuicultura en Argentina.* (2010). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
3. *Producción por acuicultura en Argentina.* (2012). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
4. *Producción por acuicultura en Argentina.* (2014). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
5. *Producción por acuicultura en Argentina.* (2015). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
6. *Producción por acuicultura en Argentina.* (2016). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
7. *La salmonización de las truchas.* (1995). Núm. 13/88 HD. España: Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense.
8. *Manual práctico para el cultivo de truchas arcoíris.* (2014). Guatemala: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO.
9. *Cultivo de especies de aguas templado-frías.* (2004). Argentina: Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agroindustria.
10. *¿Cómo alimentar a mis truchas? Recomendaciones y aplicación de fórmulas.* (2015). Primera Edición. Perú: Cáritas del Perú.
11. *Natural astaxanthin (Haematococcus algae meal) as a carotenoid and vitamin source for salmonids.* (2001). Technical Bulletin #055. Hawaii: Cyanotech Corporation.
12. *Cobertura de los servicios de agua y saneamiento a nivel nacional.* (2015). Argentina: Área de Pensamiento Estratégico, Cámara Argentina de la Construcción.
13. *Informe estadístico del sector eléctrico.* (2015). Argentina: Secretaría de energía eléctrica, Ministerio de Energía y Minería.
14. *Informe de balance y gestión.* (2016). Argentina: Ente Nacional Regulador del Gas.
15. *Informe anual de cosecha y elaboración.* (2017). Argentina: Instituto Nacional de Vitivinicultura.
16. *Crisis en el sector frutícola.* (2017). Argentina: Observatorio de Políticas Públicas, Universidad Nacional de Avellaneda.

17. *Informe de cadenas de valor en la vitivinicultura*. (2016). Año 1 – N°13. Argentina: Secretaria de Política Económica y Planificación del desarrollo, Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas.
18. *Plan de inversión vial 2016-2025*. (2015). Argentina: Área de Pensamiento Estratégico, Cámara Argentina de la Construcción.
19. *Parque, áreas y zonas industriales*. (2011). Argentina: Instituto de Desarrollo Industrial, Tecnológico y de Servicios.
20. *Uso del vehículo bitren y sus implicancias*. (2015). Argentina: Unión Industrial de Córdoba.
21. *Biocombustibles y calderas de biomasa*. (2012). España: Centro Nacional de Energías Renovables, Gobierno de Navarra.
22. *Informe estadístico*. (2018). Argentina: Ministerio de Economía, Infraestructura y Economía del Gobierno de Mendoza.
23. *El transporte automotor de cargas en la Argentina*. (2006). Argentina: Federación Argentina de Entidades Empresarias del Autotransporte de Cargas y la Cámara Empresaria de Operadores Logísticos.

## 18.2. Artículos

1. Steffanello, C. y Rosa, C. (2014). *Composición aproximada de las cáscaras de diferentes frutas*. Brasil: Centro Universitario Franciscano.
2. García Guerra, A. (2012). *Estudio de la producción de astaxantina por Xanthophyllomyces dendrohous*. España: Departamento de Biología Molecular, Universidad de León.
3. Mayer, P. y Du Preez, J. (1994). *Astaxanthin production by Phaffia Rhodozyma mutant on grape juice*. USA: World Journal of Microbiology and Biotechnology.
4. Starnes Saunders, M. y Takeda, F. (1982). *Composition and utilization of Florida grape pomace*. USA: Agriculture Science Division, University of Florida.
5. Ferrer, J. y Mujica, D. (1993). *Producción de un compostaje a partir de desechos de uva*. Venezuela: Laboratorio de Fermentaciones Industriales, Universidad del Zulia.
6. Johnson, E. y Lewis, M. (1979). *Astaxanthin formation by the yeast P. rhodozyma*. USA: Department of Food Science and Technology, University of California.
7. Moriel, D. y Pereira Machado, I. (2004). *Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast Phaffia rhodozyma*. Brasil: Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná.
8. Hu, Z. y Zheng, Y. (2006). *Production of astaxanthin by X. dendrorhous ZJUT46 with fed-batch fermentation in 2.0 m<sup>3</sup> fermentor*. China: Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology.

9. Abraham, E. y Martínez, F. (2000). *Inventario de recursos para la planificación y gestión de la región andina Argentina*. Argentina: Universidades y centros de investigación de la región andina de Argentina en colaboración con la universidad de Granada.

### 18.3. Libros

1. Baxarias, F. (2018). *Procesos de separación de biotecnología industrial*. España: Editorial UPC.
2. Perry, H. (1999). *Chemical engineers handbook, seventh edition*. USA: McGraw-Hill.
3. Doran, P. (1995). *Bioprocess engineering principles*. USA: El Sevier Science and Technology Books.
4. Chiu, Y. y Gueriguian, J. (1991). *Drug biotechnology regulation: scientific basis and practices*. USA: Food and Drug Administration, Marcel Dekker Inc.
5. Rosato, M. (2010). *Fundamentos de protección estructural contra incendios*. Argentina: Editorial Centro de Estudios para el Control del Fuego, Instituto Argentino de Seguridad.
6. Peters, M. y Timmerhaus, K. (1991). *Plant design and economics for chemical engineers, fourth edition*. USA: McGraw-Hill.
7. Smith, C., & Corripio, A. (1991). *Control Automático de Procesos. Teoría y Práctica*. México: Editorial Limusa S.A.
8. F. G. Shinskey (1988). *Process Control Systems*. USA: McGraw Hill.
9. Donald R. Coughanowr (2009). *Process Systems Analysis and Control*. USA: McGraw Hill.

### 18.4. Proyectos de grado

1. García, A. y Santías, V. (2017). *Proyecto de instalaciones necesarias en una planta azucarera*. España: Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla.
2. Zamora, M. (2010). *Planta de producción de jarabe de azúcar de remolacha*. España: Universidad de Cádiz.
3. Orduz Aladino, S. (2012). *Diseño mecánico de horno rotatorio de funcionamiento horizontal*. Colombia: Universidad del Valle.
4. Montes, A. y Perrea, A. (1996). *Puesta en marcha de un horno rotatorio para altas temperaturas*. Colombia: Universidad del Valle.

## 18.5. Patentes

1. Kenneth Jacobson, G. *et al.* (2000). *Astaxanthin over-producing strains of Phaffia rhodozyma method for their cultivation and their use in animal*. Patent N° 6.015.684. USA: Archer-Daniels-Midland Company.

## 18.6. Páginas web

1. Seahorse Source. Store. Food. Enrichments. Página web: <https://seahorsesource.com>. Fecha de consulta: Febrero de 2019.
2. Algova. Aquaculture. Haematococcus pluvialis Astaxanthin. Página web: <https://algova.com>. Fecha de consulta: Febrero de 2019.
3. American Type Culture Collection. Products. Cells and Microorganisms. Fungi and Yeast. Página web: <https://www.atcc.org>. Fecha de consulta: Marzo de 2019.
4. Flottweg. Productos. Centrifuga de Discos. Página web: <https://www.flottweg.com>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
5. Alfa Laval. Productos y Soluciones. Transferencia de Calor. Página web: <https://www.alfalaval.lat>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
6. Galaxie Secado Spray. Productos. Información Técnica. Página web: <https://www.galaxie.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
7. Todo Chiller. Chillers Alfaliq. Enfriadores de Agua. Página web: <https://www.todochiller.com>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
8. Atlas Copco. Productos. Compresores de Aire Exentos de Aceite. Página web: <https://www.atlascopco.com>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
9. Servicio Meteorológico Nacional. Estadísticas Climáticas de Largo Plazo. Página web: <https://www.smn.gov.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
10. Prillwitz y Cia. Productos. Procesos Industriales. Página web: <https://www.prillwitz.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
11. Sansoni. Productos. Elevadores de Cangilones, Rosca Extractora para Silos y Cintas Transportadoras. Página web: <https://sansoni.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
12. Nova Biotech. Productos. Biorreactores Serie DL y DG. Página web: <https://www.novabiotech.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
13. WAM Group. Productos. Mezcladores y Separadores Sólido-Líquido. Página web: <https://wamgroup.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
14. Caldimet. Calderas. Generadoras de Vapor. Página web: <https://www.caldimet.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.

15. American Burners. Productos por Modelo. Quemadores para Calentamiento de Aire. Página web: <https://www.rubcar-borghi.com.ar>. Fecha de consulta: Abril de 2019.
16. INDEC. Estadísticas. Población, Sociedad, Económica y Geografía. <https://www.indec.gob.ar>. Fecha de consulta: Mayo de 2019.
17. MyV Mixing. Productos y Servicios. Agitadores. Agitadores Verticales. Página web: <https://myv-mixing.com.ar>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
18. Klockmetal. Chapas de Acero, Tubos y Caños. Página web: <https://www.klockmetal.com>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
19. Repicky. Productos. Sistemas de Aireación. Página web: <https://repicky.com.ar>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
20. SKF. Productos. Rodamientos, Unidades y Soportes. Rodamientos de Rodillos. Página web: <https://www.skf.com>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
21. Czerweny. Productos. Motores. Página web: <http://www.motoresczerweny.com.ar>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
22. Isover. Productos. Industria. Tanques y Cisternas. Página web: <https://www.isoover.com.ar>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
23. OsmoVic. Equipos y Plantas Compactas. Página web: <https://osmovic.com.ar>. Fecha de consulta: Junio de 2019.
24. Lilytech. Humidity and Temperature Control. Página web: <https://lilytech.shop>. Fecha de consulta: Julio de 2019.
25. Donaldson. Productos y Soluciones. Membranas. Página web: <https://www.donaldson.com>. Fecha de consulta: Julio de 2019.
26. Grundfos. Productos. Bombas Centrifugas Horizontales. Página web: <https://ar.grundfos.com>. Fecha de consulta: Julio de 2019.
27. AYSAM Aguas Mendocinas. Cuadros Tarifarios. Página web: <https://www.aysam.com.ar>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
28. ECOGAS. Cuadros tarifarios. Página web: <https://www.ecogas.com.ar>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
29. EDEMSA Energía Mendocina. Cuadros tarifarios. Página web: <https://www.edemsa.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
30. Matches. Cost Information Exchange. Página web: <https://www.matche.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
31. Sigma Aldrich. Productos. Cell Culture. Página web: <https://www.sigmaaldrich.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
32. Thermo Fisher. Chemical & Glassware Price List 2017-2018. Página web: <https://www.thermofisher.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.

33. Index Mundi. Commodities. Vegetable Oils. Página web: <https://www.indexmundi.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
34. Estructplan. Provincia de Mendoza. Página web: <https://estrucplan.com.ar>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
35. Global Rates. Estadísticas Económicas. Inflación. Índice de Precios de Consumo. IPC Estados Unidos. Página web: <https://es.global-rates.com>. Fecha de consulta: Agosto de 2019.
36. Honeywell. DC1000 Series Digital Controller Product Manual. Página web: <https://www.honeywellprocess.com>. Fecha de consulta: Octubre de 2019.
37. WIKA. Transmisor de temperatura analógico Modelo T91.30, versión de carril. Página web: <https://www.wika.es>. Fecha de consulta: Octubre de 2019.
38. Masoleinan. 21000 Series Control Valves Página web: <http://fluid-control.bg>. Fecha de consulta: Octubre de 2019.
39. Emerson. Documents. Automatitacion. Rosemount™ 1067 Compact Sensor and 1097 Thermowell. Página web: <https://www.emerson.com>. Fecha de consulta: Octubre de 2019.

## 18.7. Leyes

1. Argentina. Ley Nacional N° 19.587 Decreto 351/79, de 1972, de Higiene y Seguridad en el Trabajo.
2. Argentina. Ley Nacional N° 25.675, de 2002, de Ley General de medio Ambiente.
3. Argentina. Ley Nacional N° 25.612, de 2002, de Gestión Integral de los Residuos Industriales y de Actividades de Servicio.
4. Argentina. Ley Nacional N° 25.916, de 2004, de Gestión Integral de los Residuos Domiciliarios.
5. Argentina. Ley Nacional N° 25.688, de 2002, de Régimen de Gestión Ambientes de Aguas.
6. Argentina. Ley Nacional N° 24.051, de 1993, de Generación de Residuos Peligrosos.
7. Argentina. Ley Nacional N° 20.284, de 1973, de Plan de Prevención de Condiciones Críticas de Contaminación Atmosférica.
8. Argentina. Ley Nacional N° 22.428, de 1981, de Fomento de la Conservación de Suelos.

## 18.8. Normas

1. IRAM. (1985). *Matafuegos manuales y sobre ruedas. Elección, instalación y uso*. N° 3517-1. Argentina: Instituto Argentino de Normalización y Certificación.
2. IRAM. (1989). *Instalaciones fijas contra incendios. Sistemas de hidrantes y bocas de incendio*. N°3597. Argentina: Instituto Argentino de Normalización y Certificación.

3. NFPA. (2016). *Standard for the installation of sprinkler systems*. N° 13. USA: National Fire Protection Association.
4. INPRES-CIRSOC. (2018). *Reglamento argentino para construcciones sismoresistentes*. N° 103. Argentina: Ministerio de Planificación Federal, Inversión Pública y Servicios.
5. INPRES-CIRSOC. (2018). *Reglamento argentino de estructuras de hormigón*. N° 201. Argentina: Ministerio de Planificación Federal, Inversión Pública y Servicios.
6. API. (2012). *Welded Steel tanks for oil storage*. N° 650. USA: American Petroleum Institute.