

Universidad Nacional de Ingeniería

Facultad de Ingeniería Química y Textil



TESIS

**Escalamiento del proceso de extracción de proteínas de la
microalga *Arthospira platensis* para el diseño de un reactor piloto**

Para obtener el título profesional de Ingeniero Químico

Elaborado por

Renzo Gabriel Jordan, Roncal Curi

 [0009-0008-9142-4242](https://orcid.org/0009-0008-9142-4242)

Asesor

Ing. Tarsila Tuesta Chavez

 [0000-0002-2594-9322](https://orcid.org/0000-0002-2594-9322)

TOMO I DE I

LIMA – PERÚ

2024

Citar/How to cite	(Roncal, 2024)
Referencia/Reference	Roncal, R. (2024). Escalamiento del proceso de extracción de proteínas de la microalga <i>Arthospira platensis</i> para el diseño de un reactor piloto. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Ingeniería]. Repositorio institucional Cybertesis UNI.
Estilo/Style: APA (7ma ed.)	

Dedicatoria

*Dedico este trabajo a mis hijas Elena y Lucia,
que con su llegada cambiaron mi vida y puedo ver un futuro más brillante.*

*También a mi esposa Lucy, el pilar de nuestra familia,
por su apoyo y paciencia durante la realización de esta tesis.*

Agradecimientos

A mis padres Elqui y Elizabet, por estar siempre presentes en todo hecho importante de mi vida, ser el ejemplo de constancia, humildad y trabajo duro.

A mi asesora, por su constante apoyo y confianza, fundamentales para la concepción, desarrollo y conclusión de esta tesis.

A mi querida tía Jenny, por apoyo desinteresado, por sus palabras llenas de franqueza, desde antes de mi ingreso a la universidad, hasta la realización de esta tesis.

A los miembros de grupo de investigación de Nature (Natural Resources Research) y al grupo de investigación en alimentos GIA-FIQT-UNI por su contribución tanto en el aspecto académico y técnico, así como humano.

A todos los profesionales que aportaron con sus conocimientos, consejos y buenos deseos.

Resumen

El escalamiento para la extracción de proteínas de la espirulina empleando un reactor agitado de 400 litros. Iniciamos con la revisión de antecedentes, luego realizamos pruebas exploratorias a nivel de laboratorio con un reactor de 0,5 litros para determinar los factores y niveles en este caso temperatura (20 °C – 45 °C), tiempo (30min - 70min) y agitación (100 – 900 RPM). Seguidamente, hicimos un DOE para determinar la significancia de los factores y el punto óptimo para el rendimiento de extracción, para esta etapa la agitación no es significativa y la máxima extracción la obtenemos en un tiempo de 48 min a 42 °C, además obtenemos una correlación. En la etapa de 4 L, los rendimientos más altos se obtienen con el agitador Rushton y al corroborar los resultados notamos que hay una diferencia en el rendimiento experimental y el previsto por la correlación de la etapa 0.5 L, esto por el efecto del tipo de agitador en esta etapa. Hallamos el N_p y obtenemos las gráficas de N_p y Re para los diferentes impulsores. Finalmente, usamos la gráfica del número de potencia N_p y el Re , tomando el criterio de mantener relación de potencia por unidad de volumen constante (P/V cte), para determinar la velocidad de agitación del impulsor. Los resultados son: impulsor Hydrofill 300 RPM, Pitched 288 RPM y Rushton 168. Los impulsores, baffles y el reactor se diseñaron mediante la similaridad geométrica con el reactor de 4 litros.

Palabras clave: Escalamiento, Espirulina, reactor, proteína.

Abstract

The scale-up for the extraction of proteins from spirulina using a 400-liter stirred reactor. We begin with the background check, then we perform exploratory tests at the laboratory level with a 0.5-liter reactor to determine the factors and levels in this case temperature (20°C - 45°C), time (30 min - 70 min) and stirring (100 – 900 RPM). Next, we do a DOE to determine the significance of the factors and the optimal point for the extraction performance, for this stage the agitation is not significant, and the maximum extraction is obtained in a time of 48 min at 42°C, we also obtain a correlation. In the 4 L stage, the highest yields are obtained with the Rushton shaker and when corroborating the results, we notice that there is a difference in the experimental yield and that predicted by the correlation of the 0.5 L stage, this is because of the type of agitator at this stage. We find the N_p and obtain the graphs of N_p and Re for the different impellers. Finally, we use the graph of the power number N_p and Re , taking the criterion of maintaining a constant power ratio per unit volume (P/V cte), to determine the agitation speed of the impeller. The results are: Hydrofill 300 RPM impeller, Pitched 288 RPM and Rushton 168. The impellers, baffles and the reactor were designed using geometric similarity with the 4-liter reactor.

Keywords: Scaling, Spirulina, reactor, protein.

Tabla de Contenido

Resumen	v
Abstract	vi
Introducción	xii
Capítulo I. Parte introductoria del trabajo	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Descripción del problema de investigación	1
1.3 Objetivos del estudio	2
1.3.1 Objetivo general	2
1.3.2 Objetivos específicos.....	2
1.4 Antecedentes investigativos	3
Capítulo II. Marcos teórico y conceptual	5
2.1 Marco teórico.....	5
2.1.1 Microalgas – cultivo y producción de espirulina	7
2.1.2 Valor nutricional de la espirulina	10
2.1.3 Técnicas para la ruptura de la pared celular	11
2.2 Marco conceptual	13
2.2.1 Escalamiento de procesos e innovación	13
2.2.2 Escalamiento de un reactor	20
2.2.3 Métodos de escalamiento.....	23
2.2.4 Criterios para selección de impulsores y el diseño de reactor.....	24
Capítulo III. Desarrollo del trabajo de investigación	38
3.1 Propuesta de un método para realizar el escalamiento	38
3.1.1 Etapa de laboratorio 0,5 L.	38
3.1.2 Etapa de laboratorio 4 L.	39
3.1.3 Diseño de reactor piloto de 400 litros.....	39
3.2 Desarrollo experimental	41
3.2.1 Selección del método de análisis de proteínas	41
3.2.2 Materiales.....	42

3.2.3	Equipos	43
3.2.4	Reactivos.....	43
3.2.5	Etapas experimental en la escala de 0.5 litros.....	44
3.2.6	Factores óptimos de la reacción	45
3.2.7	Etapas experimental de 4 litros	55
3.3	Escalamiento de reactor de 4 litro a 400 litros	64
3.3.1	Predicción de la potencia requerida.....	65
3.3.2	Determinación del rango de velocidad de rotación	67
3.3.3	Simulación CFD para un reactor de 400 litros	70
Capítulo IV. Análisis y discusión de resultados		77
4.1	Determinación de los factores y niveles.....	77
4.2	Resultados de los experimentos 2^k con punto central.....	77
4.3	Resultados de los experimentos Box Behnken.....	78
4.4	Desarrollo del escalamiento 0.5L – 4L.....	79
4.4.1	Verificación de la correlación obtenida	79
4.4.2	Obtención de la relación N_p y Re	81
4.4.3	Predicción de la potencia requerida por el reactor piloto.....	81
4.4.4	Simulación CFD.....	82
4.4.5	Diseño del reactor piloto	82
Conclusiones		88
Recomendaciones		89
Referencias bibliográficas.....		90
Anexos		95

Lista de Tablas

Tabla 1 Valor nutricional de la espirulina en polvo	11
Tabla 2 Cuadro comparativo entre las técnicas para la ruptura de pared celular	13
Tabla 3 Información básica de diseño para analizar y mitigar los riesgos	17
Tabla 4 Regla para asignar impulsores en función de la relación Z/T	29
Tabla 5 Regla para determinar el distanciamiento del impulsor de la base de reactor	29
Tabla 6 Resultados de las pruebas preliminares.....	48
Tabla 7 Factores y niveles considerados para el diseño de experimentos	49
Tabla 8 Resultados de los experimentos para el diseño de 2k con 4 puntos centrales ...	50
Tabla 9 Análisis de Varianza 2^3 con punto central	51
Tabla 10 Resultados de los experimentos Box Behnken	52
Tabla 11 Análisis de Varianza Box Behnken.....	53
Tabla 12 Análisis de Varianza Box Behnken excluyendo el factor RPM	54
Tabla 13 Resultados de las pruebas en 4L con diferentes agitadores	57
Tabla 14 Amperajes obtenidos a diferentes revoluciones	61
Tabla 15 Números de potencia de los diferentes impulsores	62
Tabla 16 Relación de N_p y Re en base logarítmica	63
Tabla 17 Relación Potencia Volumen para reactor de 4 litros	66
Tabla 18 Cantidades típicas de potencia por unidad de volumen en la industria.....	66
Tabla 19 Potencia prevista del agitador para el reactor de 400 litros	67
Tabla 20 Dimensiones de los reactores manteniendo la relación $Z/T = 1.45$	68
Tabla 21 Rango de rotación para impulsor marino para reactor 400 litros conservando P/V constante	68
Tabla 22 Rango de rotación para Hydrofill marino para reactor 400 litros conservando P/V constante	68
Tabla 23 Rango de rotación para impulsor Pitched 45° para reactor 400 litros conservando P/V constante	69
Tabla 24 Rango de rotación para impulsor Rushton para reactor 400 litros conservando P/V constante	69
Tabla 25 Velocidades de rotación que mantienen la relación P/V en un reactor de 400 litros.....	70
Tabla 26 Rendimientos obtenidos usando la correlación para $T = 45^\circ C$	80
Tabla 27 Dimensiones del impulsor Rushton para el reactor piloto	83
Tabla 28 Pruebas para la agitación del reactor piloto.....	85
Tabla 29 Costo estimado para el reactor piloto	86

Lista de Figuras

Figura 1 Representación esquemática de obtención de proteína concentrada a partir de espirulina a nivel laboratorio.	7
Figura 2 Fotografía de la microalga <i>Arthospira platensis</i>	9
Figura 3 Esquema del procesamiento industrial de la espirulina.....	10
Figura 4 Ruta para desarrollar un proceso productivo.....	14
Figura 5 Patrón de flujo generado por un impulsor axial	26
Figura 6 Patrón de flujo generado por un impulsor radial	27
Figura 7 Diagrama típico de un reactor agitado con doble impulsor.....	28
Figura 8 Grafica logarítmica del N_p y Re , para diferentes impulsores.	32
Figura 9 Disposición de las galgas extensiométricas y los accesorios para medir el torque en un reactor agitado.	33
Figura 10 Gradiente de esfuerzo cortante generado cerca del impulsor	37
Figura 11 Prototipo para para realizar la extracción de la espirulina en medio básico....	44
Figura 12 Relación del rendimiento en el tiempo, para 900 RPM y 100 RPM	49
Figura 13 Gráfica de contorno de Rendimiento vs Temperatura y Tiempo.....	55
Figura 14 Rendimiento de cada impulsor en el tiempo para el reactor de 4 litros.....	58
Figura 15 Prototipo del reactor de 4 litros	59
Figura 16 Disposición de los equipos para medir el amperaje	61
Figura 17 Relación de $-\log(Po)$ y $\log(Re)$	64
Figura 18 Patrón de flujo, Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor Hydrofill, 5 RPS.....	71
Figura 19 Shear Rate $1/s$, Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor Hydrofill, 5 RPS	72
Figura 20 Patrón de flujo Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor pitched, 4.8 RPS	73
Figura 21 Shear Rate $1/s$, Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor pitched, 4.8 RPS	74
Figura 22 Patrón de flujo Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor Rushton, 2.8 RPS	75
Figura 23 Shear Rate $1/s$, Reactor $Z/T=1.45$, Impulsor Rushton, 2.8 RPS.....	76
Figura 24 Efectos principales para la variable rendimiento 2^3 con punto central	78
Figura 25 Predicción del rendimiento usando la correlación de laboratorio en un reactor de 4 litros vs diferentes impulsores.	81

Lista de Ecuaciones

Ecuación 1 Velocidad de flujo volumétrica en régimen turbulento	30
Ecuación 2 Energía cinética por unidad de volumen	30
Ecuación 3 Relación de velocidad lineal con la velocidad de rotación	31
Ecuación 4 Potencia a partir del número de potencia	31
Ecuación 5 Potencia a partir del torque	31
Ecuación 6 Relación potencia con velocidad de rotación	35
Ecuación 7 Shear rate	37
Ecuación 8 Correlación rendimiento de extracción de proteínas escala de 0.5L	54
Ecuación 9 Número potencia	60
Ecuación 10 Potencia del agitador de laboratorio en corriente continua	60
Ecuación 11 Número de Reynolds para tanque agitado	62
Ecuación 12 Cantidad de calor	86
Ecuación 13 Rendimiento de extracción de proteínas	ANEXOS 6

Introducción

La presente tesis se enfoca en el tema del escalamiento, como una forma de continuar el camino hacia la producción a nivel industrial de los productos que son formulados en los laboratorios de empresas o universidades. En este caso el proceso de que vamos a tratar es la extracción de proteínas de la espirulina, como un paso para la obtención de un concentrado de proteínas de esta forma tener un producto con mayor valor agregado, ya que tiene propiedades especiales que pueden ser usadas en la industria alimentaria (Lupatini, 2016).

El escalamiento de un proceso u operación unitaria puede tener muchas variables que deben ser definidas y comprobadas mediante experimentación, debemos definir desde el tipo de materia prima a utilizar, hasta el nivel de inversión que se está dispuesto a arriesgar. La práctica más común y segura, para minimizar el riesgo es contratar a una empresa especialista en ciertos equipos de producción y con un comprobado desempeño, sin embargo, esta forma de incrementar la producción está acompañada de una importante inversión de capital, además de no ofrecer una ventaja competitiva a la empresa.

Por todo lo anterior mencionado la presente tesis es un aporte al tema de escalamiento, específicamente para un reactor para la extracción de proteínas de la espirulina. Lo que veremos en esta tesis está dividido en los siguientes capítulos:

En el capítulo I, exponemos el proceso a escalar, planteamos la problemática general para el escalamiento de procesos, así como los antecedentes usados para realizar el escalamiento de un reactor para la extracción de proteínas de la espirulina.

En el capítulo II, se describen los aspectos básicos de la espirulina como son la forma de producirla, su aporte nutricional e indicamos las técnicas para la ruptura de la pared celular. Luego exponemos el marco conceptual para el escalamiento de procesos, iniciando por la gestión de riesgos, los fenómenos críticos para el escalamiento de un reactor, métodos de escalamiento y presentamos los criterios para elegir impulsores

adecuados para la tarea de romper la pared celular. demás definimos los conceptos de número de potencia y su relación con el número de Reynolds para el escalamiento de un reactor, ratios de potencia por unidad de volumen y velocidad de punta constante. Concluimos el capítulo listando los instrumentos que se utilizan para el estudio de la mezcla en un reactor en laboratorio e indicando la utilidad de los simuladores de la dinámica de fluidos.

En el capítulo III, realizamos una propuesta de un método para el escalamiento, describimos cuáles serán las condiciones y los objetivos que han de conseguirse en cada etapa para pasar a la siguiente. En la etapa de 0,5 L, utilizamos información de los antecedentes y un método estadístico para hacer un diseño de experimento. Luego en la etapa de 4 litros, nos enfocamos en el estudio del tipo de mezcla y la cantidad de energía empleada para la ruptura de la pared celular.

En el capítulo IV, exponemos los resultados de ambas etapas para el reactor de 0.5 L, se determinaron las condiciones óptimas de extracción de la espirulina, para la etapa de 4 litros determinamos que impulsor nos ofrece un mayor rendimiento y obtenemos la relación logarítmica del número de potencia y Reynolds. Con esta información procedemos a escalar el reactor piloto de 400 litros, empleando los criterios de similitud geométrica y manteniendo la potencia por unidad de volumen para estimar las condiciones de operación con las cuales pretendemos mantener la calidad de extracción. Empleamos un software para simular el tipo de mezcla que obtendríamos utilizando los agitadores de la etapa de 4 litros. Finalmente proponemos el diseño del reactor piloto, incluyendo dimensiones tanto del tanque como del impulsor, instrumentación, material de construcción y forma de calentamiento.

Por último, mostramos las conclusiones y recomendaciones de la tesis.

Capítulo I. Parte introductoria del trabajo

1.1 Generalidades

Merrow (2011) plantea que, desarrollar nuevos productos y procesos que sean factibles técnica, económicamente y además sostenibles, es una constante búsqueda para los profesionales de ingeniería química, para conseguir estas mejoras se llevan a cabo proyectos de ampliaciones, cambio de tecnologías o incluso plantas nuevas. Estos proyectos están acompañados de grandes inversiones las cuales involucran riesgos a la competitividad e incluso a la existencia de las empresas, para reducir estos riesgos es necesario contar con métodos para diseñar equipos a diferentes escalas con el objetivo de alcanzar una producción en las cantidades, rendimientos y calidad necesaria para competir en el mercado.

El escalamiento de un equipo que parte desde investigaciones de antecedentes y pruebas en laboratorio hasta la puesta en marcha de un equipo industrial exige que el profesional o grupo de investigación conozca métodos, técnicas de análisis, equipos, instrumentos y sobre todo contar con personal experimentado, para descubrir y predecir el comportamiento de los variables críticas que rigen un proceso. El objetivo más evidente es incrementar la producción en escalas cada vez mayores, manteniendo la calidad sin incurrir en gastos excesivos.

1.2 Descripción del problema de investigación

El diseño de un reactor piloto de 400 litros a partir de pruebas en laboratorio para la espirulina fue un reto debido a que no se ha encontrado investigaciones anteriores para el escalamiento de algas o microalgas, esto posiblemente se deba a que un proceso de escalamiento este ligado al desarrollo de nuevos productos y la propiedad intelectual este restringida. Sin embargo, hallamos bibliografía con extensa información referente al diseño

de reactores de tanques agitados y por otro lado trabajos de autores que brindaron conceptos y criterios que sirvieron para plantear el desarrollo experimental.

Durante la fase de experimentación se resolvieron diferentes problemas para cumplir con los objetivos de investigación en cada etapa del escalamiento como son : definimos el método de cuantificación de proteínas más adecuado en nuestro caso fue Lowry, determinación del método estadístico más adecuado para hallar el rendimiento óptimo, definir los criterios para el diseño de los impulsores, fabricar los impulsores, método para determinar el amperaje y establecer los criterios para el diseño del reactor piloto de 400 litros.

1.3 Objetivos del estudio

1.3.1 Objetivo general

Diseñar un reactor piloto de 400 litros, para la extracción de proteínas de la espirulina, mediante el método de escalamiento por números adimensionales

1.3.2 Objetivos específicos

- Estimar la combinación de variables independientes en función de la concentración de proteínas, mediante datos experimentales a nivel laboratorio para un reactor de 0.5 litros, utilizando métodos estadísticos enfocados a la optimización de operaciones, como son diseño factorial con 2^k con punto central o método de superficie de respuesta diseño de Box-Behnken
- Diseñar y fabricar impulsores para determinar el tipo de mezcla para conseguir una mejor extracción de proteínas en un reactor de 4 litros.
- Obtener la gráfica de número de potencia (N_p) y número de (Re) característica del reactor de laboratorio, para realizar el diseño y escalamiento del reactor piloto de 400 litros.

- Definir las especificaciones para la implementación del reactor de 400 litros, tales como: diámetro, altura, tipo de impulsor, diámetro del impulsor, número de impulsores y la distancia entre ellos, potencia del agitador, material de fabricación y la ubicación de los instrumentos.

1.4 Antecedentes investigativos

Respecto a los trabajos desarrollados en el escalamiento de reactores tenemos a (Toulouse,1996) el cual se enfoca tanto en la optimización del escalamiento como en los aspectos de la seguridad a escala industrial, valida su metodología de análisis en la industria farmacéutica en donde encuentra reacciones altamente exotérmicas. Las variables de trabajo que utiliza son: temperatura del reactor, velocidad de adición de los reactantes, concentraciones iniciales de los reactantes y el tiempo de operación.

Falk y Villiermaux (1997), nos muestran una rigurosa metodología para la optimización de la operación de agitación analizando las siguientes variables: energía empleada en la agitación respecto del número de Reynolds, utilizando diferentes tipos de impulsores, tiempo de mezcla, consumo de energía, caracterización de la eficiencia de la micromezcla y reacciones que son sensibles a los regímenes de las micromezclas. Utiliza métodos experimentales como velocímetro de punto láser, anemómetro laser Doppler y equipos fotográficos para partículas. Para la simulación utiliza modelos de computaciones de dinámica de fluidos. Concluye que los criterios fundamentales para el escalamiento son: mantener el régimen de micromezcla y reducir la energía de agitación.

Otro aporte es el de Keng et al. (2005), obtiene las condiciones óptimas de operación con la reacción de síntesis de ésteres de palma catalizados por lipasa en un reactor de tanque agitado, estudiando las siguientes variables: temperatura, velocidad de agitación, porcentaje en masa de enzima y cantidades de alimentación de los dos reactantes. Luego (Keng et al.,2008) realiza el escalamiento de este mismo proceso. En la

primera etapa realizó un escalamiento del reactor desde 0.5 litros a 2 litros, realiza un análisis de la dependencia los rendimientos de reacción en un tiempo definido de 5 horas versus diferentes RPM y tipo de agitadores. Como resultado obtiene que el agitador Rushton a 250 RPM tiene el mayor rendimiento de 95.8 %. Además, realiza una valoración visual del régimen de mezclado para enzimas sólidas en suspensión, a diferencia de (Falk & Villiermaux, 1997), que utilizaba técnicas para caracterizar los regímenes de micromezcla en el reactor. Otro criterio utilizado por (Keng et al., 2008), es el porcentaje de sólidos en la mitad de la altura del vaso a diferentes RPM, de esta forma determina cual impulsor le brinda una mejor mezcla. Concluye realizando una gráfica del rendimiento de la reacción con el tiempo para los volúmenes de 2litros y 50 litros, menciona que obtuvo un mejor rendimiento en menor tiempo para el volumen de 50 litros, explica este resultado pudo ser debido a que en el reactor de 50 litros uso un sistema de 3 impulsores y en el de 2 litros solo 1, pero no sabe realmente el fenómeno que lo causa, como si lo hace (Falk & Villiermaux, 1997).

Capítulo II. Marcos teórico y conceptual

2.1 Marco teórico

Respecto a las microalgas en general, según (Barclay & Apt, 2013), desde hace más de una década, se ha reavivado un enorme interés en el uso de tecnologías basadas en microalgas para la producción de alimentos, productos químicos y combustibles renovables y para otras aplicaciones como el tratamiento de aguas residuales. Por ejemplo, (Nurhan, 2012), indica que es posible encontrar ácidos grasos poliinsaturados los cuales son esenciales para la dieta diaria tanto en los animales como de las personas. Varias empresas han conseguido extraer ácidos grasos a partir de algas por ejemplo Martek Biosciences produce alimentos enriquecidos con ácido docosahexaenoico (DHA), Ácido araquidónico (ARA) y además de vitaminas y antioxidantes.

En el caso de la *Arthospira platensis*, comúnmente conocida como espirulina, diversos estudios se han realizado en referencia al aislamiento de componentes valiosos, por ejemplo:

1. Método simple y efectivo para la extracción de la c-ficocianina desde la biomasa seca de la espirulina (Hrishikesh et al., 2018), la ficocianina es utilizada en la industria medica por sus cualidades antiinflamatorias y neuro protectoras por otro lado en la industria alimentaria se usa como colorante natural azul.
2. Propiedades de la lisozima desde la espirulina, proteína compleja para empaques antimicrobianos comestibles para alimentos (Benelhadj et al., 2015). Además, la espirulina tiene un contenido proteico entre 55% al 70% además de vitaminas, antioxidantes y minerales (Richmond & Qiang, 2013).

Dentro de los trabajos para la cuantificación de espirulina destaca la investigación de (Safi et al., 2014), quien realiza un comparativo de los métodos para la ruptura de la pared celular de la espirulina y otras microalgas. Dentro de estos métodos de tratamiento

alcalino es compatible con las proteínas contenidas en las microalgas, además de ser el más económico. (Lupatini et al., 2019), propone un proceso para obtención proteína concentrada a partir de la espirulina utilizando primero sonicación y luego agitación mecánica.

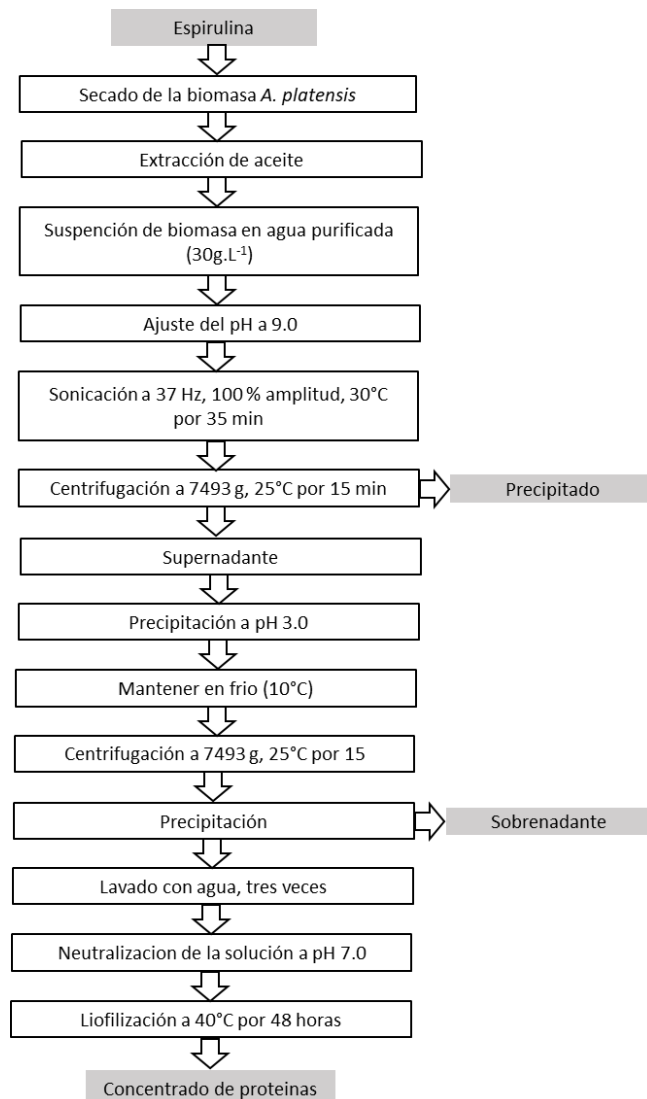
Sobre lo anteriormente mencionado en la presente tesis desarrollamos el escalamiento del proceso para la ruptura de pared celular o extracción de proteínas, para lograrlo analizamos las diversas investigaciones referentes a este proceso, de los cuales destacan: (Safi et al., 2014), (Benelhadj et al., 2015) y (Lupatini et al., 2016).

En el Figura 1, mostramos un esquema para obtener proteínas concentradas bajo la propuesta de (Lupatini et al., 2019), las siglas en ingles SPpC para *S.platensis* protein concéntrate, lo cual significa proteínas concentradas de *Arthospira platensis*.

En este estudio se utiliza el ultrasonido para la ruptura de la pared celular. En la presente tesis, realizamos la extracción de las proteínas usando solamente la agitación mecánica.

Figura 1

Representación esquemática de obtención de proteína concentrada a partir de espirulina a nivel laboratorio.



Nota: Producción de proteínas a partir de la espirulina. Basada en Lupatini 2019.

2.1.1 Microalgas – cultivo y producción de espirulina

Las microalgas son una materia prima potencial para la próxima generación de biocombustibles, pero estudios de viabilidad recientes de (Williams & Laurens, 2010) y (Wijffels et al., 2010) indican que se requiere un enfoque integrado a una biorrefinería para que la producción de biocombustibles a partir de microalgas sea rentable. En este sentido podemos plantear que las proteínas jueguen un papel importante en la biorrefinería de algas, ya que podrían ser un producto secundario que eleve la rentabilidad.

Debido a su abundancia y al perfil de aminoácidos de las microalgas, las microalgas como la espirulina han sido consideradas durante mucho tiempo como una fuente alternativa de proteínas (Spolaore et al., 2006). Sin embargo, el uso de la proteína de las microalgas no ganó una importancia significativa, ya que la presencia de componentes no proteicos como la clorofila provoca cambios no deseados en el color, el sabor y la textura (Becker, 2007). Para aumentar aplicaciones potenciales en los alimentos y aumentar su valor comercial, las proteínas de las microalgas deben extraerse libre de interferentes como pigmentos, colorantes y componentes con sabores desagradables, sin alterar su valor nutricional.

La espirulina ha llamado la atención debido a su uso tradicional como alimento y la producción comercial actual a gran escala y su aplicación como alimento, alimento funcional, suplemento dietético, nutraceuticos y alimentos para animales. Debido a su facilidad de crecimiento, también ha servido como una buena herramienta para muchos estudios fisiológicos, bioquímicos y biológicos moleculares. Se han hecho avances en su producción a gran escala, procesamiento y aplicación en los últimos 30 años. Desarrollos futuros para mejorar el rendimiento, extraer principios activos beneficiosos, así como reducir el costo de producción, necesitará una comprensión profunda de su biología y conocimiento sobre su cultivo industrial.

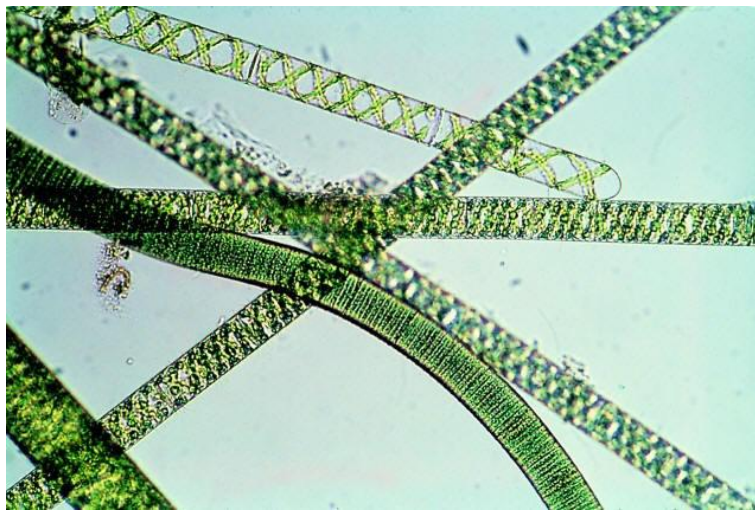
En la Figura 2, aprecia una fotografía de la espirulina, esta es una cianobacteria filamentosa multicelular, microalga azul verdosa compuesta de células cilíndricas no heterolíticas dispuestas en un tricoma helicoidal no ramificado. Las células tienen un diámetro de 6 a 12 μm . El paso de la hélice varía de 12 a 72 μm y el diámetro de la hélice varía de 30 a 70 μm . las células cilíndricas son más anchas que largas y contienen una abundante cantidad de vesículas de gas (Richmond & Qiang, 2013).

La producción industrial de la espirulina se realiza en las siguientes etapas: crecimiento, concentración y secado, este proceso se muestra un esquema en la Figura 3.

Usamos este tipo de espirulina en la presente investigación, siendo de procedencia de China, de la planta de producción Quindao Huineng Biotech, en el Anexo 1, se tiene el certificado de calidad de la espirulina.

Figura 2

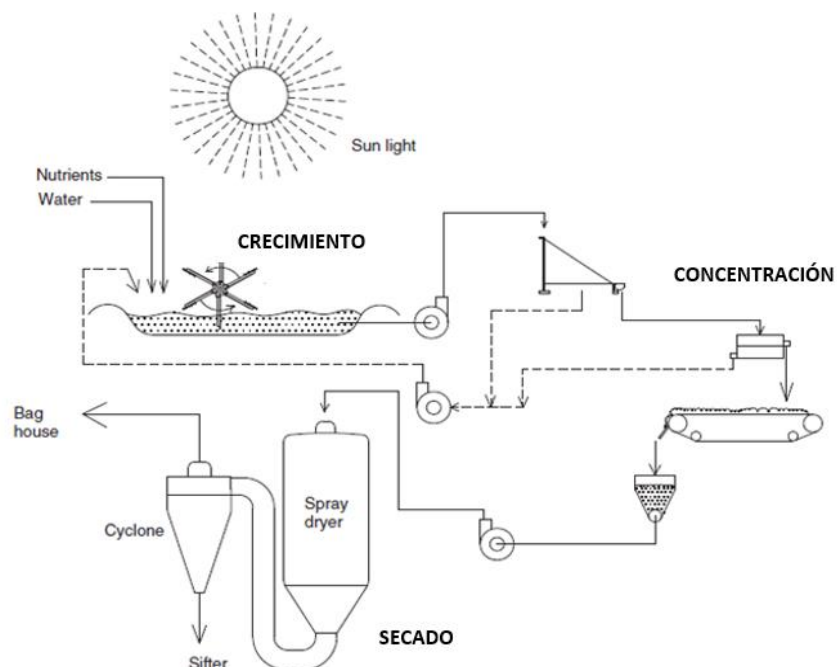
Fotografía de la microalga Arthrospira platensis



Nota: Adaptado de Karili Fedor *Arthrospira platensis*. Bio203 University of Wisconsin-La Crosse 2011.

Figura 3

Esquema del procesamiento industrial de la espirulina



Nota: Adaptado de Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology (P348), por Richmond, 2013, Wiley-Blackwell.

2.1.2 Valor nutricional de la espirulina

La espirulina aporta importantes nutrientes a la dieta humana como los aminoácidos esenciales y ha sido incorporada a varios alimentos como jugos, pastas, harinas para panadería, cereales, chips hasta cerveza. De la misma forma ha sido utilizada para suplemento alimenticio en animales. A continuación, en la Tabla 1 mostramos la composición alimenticia de la espirulina.

Tabla 1*Valor nutricional de la espirulina en polvo*

<i>Composición</i>	<i>por 100 g</i>	<i>Composición</i>	<i>por 100 g</i>
Macronutrientes		Vitaminas	
Calorías	382 cal	Vitamina A (como 100 % β -caroteno)	360000 IU
Grasas totales	7.5 g	Vitamina K	1080 mug
Grasas saturadas	2.71 g	Tiamina HCl (Vitamina B1)	0.09 mg
Grasas polinsaturadas	2.57 g	Riboflavina (vitamina B2)	3.66 mg
Grasas monoinsaturadas	0.418 g	Niacina (vitamina B3)	16.8 mg
Colesterol	<1 mg	Vitamina B6 (piridoxina HCL)	0.839 mg
Carbohidratos totales	14.6 g	Vitamina B12	226 mcg
Fibra dietética	7.72 g	Minerales	
Azúcares	<0.1 g	Calcio	288 mg
Lactosa	<0.1 g	Hierro	53.9 mg
Proteína	67.5 g	Fósforo	975 mg
Aminoácidos esenciales (mg)		Yodo	549 mug
Histidina	1010	Magnesio	292 mg
Isoleucina	3490	Zinc	1.4 mg
Leucina	5400	Selenio	21.3 mcg
Lisina	3050	Cobre	0.383 mg
Metionina	1360	Manganeso	2.86 mg
Fenilalanina	2770	Cromo	<990 mcg
Treonina	2990	Potasio	1620 mg
Triptófano	920	Sodio	692 mg
Valina	3320	Fitonutrientes	
Aminoácidos no esenciales (mg)		Ficocianina	17.80 %
Alanina	4400	Clorofila	1.20 %
Arginina	4550	Acido linoleico gamma	1.39 g
Ácido aspártico	6120	Total, carotenoides	509 mg
Cistina	566	β -caroteno	227 mg
Ácido glutámico	8900	Zeaxantina	116 mg
Glicina	3030		
Prolina	2270		
Serina	2780		
Tirosina	2790		

Nota: Extraído de Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology (P352), por Richmond, 2013, Wiley-Blackwell.

2.1.3 Técnicas para la ruptura de la pared celular

La técnica para realizar la ruptura de la membrana celular debe elegirse en función de la naturaleza de esta (Rausch, 1981). y la calidad del producto que se desea obtener

en el proceso siguiente. Las técnicas de ruptura se pueden clasificar en mecánica, no mecánica, química y energéticos.

2.1.3.1 Mecánica

Dentro de ellas, consiste en el uso de homogenizadores de alta presión, consiste en una báscula o bomba con capacidad de aplicar altas presiones, alrededor de 2000 atm, a la biomasa contenida y permitir su salida por una salida angosta, esta acción causa efectos cortantes los cuales rompen la pared celular. Se utiliza para microalgas con fuertes membranas celulares (de Boer et al., 2012). También el uso de molinos de bolas, es el método más utilizado para romper paredes celulares fuertes, también es utilizado como un pretratamiento de ruptura de membrana celular.

2.1.3.2 Química

Se basa en hidrolizar la pared celular con soluciones alcalinas de NaOH o KOH a alto pH > 9 - 11. Como lo hacen (Benelhadj et al., 2016), (Lupatini et al., 2016) y (Lennin & Ruiz, 2017), es un método barato, pero no es recomendable para recuperación de lípidos ya que los saponifica en el proceso, es útil si los componentes internos de la célula son estables a pH alcalino.

2.1.3.3 Energética

El más conocido es la técnica por ultrasonido, el mecanismo de ruptura se logra por cavitación de la membrana celular a la alta frecuencia, aproximadamente entre 10 a 20 kHz, (Safi et al., 2014) utiliza una frecuencia de 20kHz para la espirulina. Cuando la solución es sometida a una onda ultrasónica causa gran variación de presión en la superficie de la pared celular la cual genera burbujas las cuales explotan causando cavitación y finalmente rompiendo la pared celular. Este método mantiene los lípidos intactos. (Luo et al., 2015)

Tabla 2*Cuadro comparativo entre las técnicas para la ruptura de pared celular*

<i>Técnica</i>	<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Mecánico	Efectivo con algas de paredes celulares fuertes	No es un tratamiento de separación efectivo, es considerado un pretratamiento
Químico	Barato, pero se debe tener en cuenta si los componentes a extraer son estables a pH ácidos o básicos	Saponifica los lípidos y no permite la separación de las grasas
Energético	Los componentes extraídos están en una solución libre de otros interferentes.	Los dispositivos de ultrasonido son caros

En base a lo expuesto y a la revisión de antecedentes, el método químico a pH básico es el más adecuado para la extracción de proteínas de la espirulina.

2.2 Marco conceptual

2.2.1 Escalamiento de procesos e innovación

2.2.1.1 Ruta para el escalamiento de procesos hasta la instalación industrial

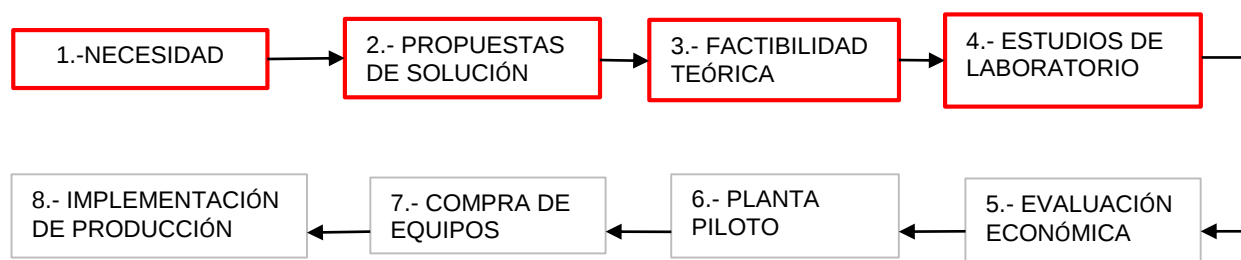
La definición de escalamiento de procesos es casi un consenso para varios autores, por ejemplo, para (Harmsen, 2019), el proceso de escalamiento es generar conocimiento a partir de conceptos para convertir exitosas ideas en instalaciones comerciales que cumplan con el diseño y producción prevista. En ese mismo sentido (Reisman, 1993), cataloga un escalamiento exitoso cuando el proceso es diseñado y construido dado un incremento calculado en la producción. Además, indica que las interacciones que no son identificadas causan fenómenos inesperados que pueden tener consecuencias económicas adversas.

El Ingeniero Paul Witt del área de investigación de DOW Chemical, en un curso virtual ofrecido por la Center of Innovate and Strategic Transformation of Alcan Resources (CISTAR, 2021) brindó una ruta general desde una idea de negocio hasta una planta de proceso industrial.

En la Figura 4, mostramos una propuesta teórica para desarrollar una unidad de producción en 8 etapas, para la presente tesis solo se realizarán las 4 primeras etapas las cuales están resaltadas.

Figura 4

Ruta para desarrollar un proceso productivo



Nota: Elaborado en base a curso online Industrial Reaction Engineering - CISTAR

Cada paso de este esquema debe tener resultados satisfactorios, evaluados por un equipo competente, para luego pasar al siguiente paso:

1. Identificamos la necesidad u oportunidad de mercado que podemos tener en un momento determinado. Tal como lo planteamos en esta tesis, proponemos a la espirulina como un recurso para extraer proteínas en alta concentración, las cuales pueden ser usadas en la industria alimentaria.
2. Propuesta de solución, planteamos diferentes procesos para obtener las proteínas cárnicas, pollo, pescado, granos o espirulina. Podemos empezar realizando investigación bibliográfica puede en la biblioteca, consultando patentes. Una vez terminada la investigación bibliográfica debemos tener en cuenta que el hecho de conocer un proceso no nos hace factible técnica o económicamente.
3. Factibilidad teórica, nos aseguramos de que se cumplan las leyes termodinámicas además de la estequiometría. En nuestro caso, según los antecedentes revisados la reacción de hidrolisis básica de la pared celular es

factible y se desarrolla en condiciones de son replicables con los equipos disponibles. Además, otro punto a tener en cuenta que las proteínas de la espirulina se desnaturalizan aproximadamente a 60 °C (Lupatini et al, 2016).

4. Estudios de laboratorio, determinamos, por ejemplo: las velocidades de reacción, selectividades, luego buscamos los rendimientos deseados del proceso. Determinamos si es posible alcanzar la calidad del producto.
5. Evaluación económica, utilizando la información de los pasos 3 y 4, definimos el cómo gestionaremos la cadena de suministros, distribución de los productos. Obtenemos además los indicadores de económicos como el VAN y el TIR. Definimos el impacto al medio ambiente, por último, como podemos obtener la sostenibilidad de proceso. Todo esto se realiza considerando que el trabajo de escalamiento se realizar para una empresa constituida con datos confiables.
6. Implementación de una planta piloto completa, usamos la planta piloto para obtener la información que nos asegure un rendimiento adecuado, para de esta forma cumplir con los indicadores económicos predichos en la etapa 5. En este punto decidimos si fuese necesario realizar una etapa de escalamiento adicional antes de construir la planta de producción.
7. Selección y compra de equipos, finalizado el proceso de escalamiento se pasa a realizar la compra de los equipos y otros para la construcción de la planta definitiva.
8. Implementación de la producción, luego terminamos de instalar los equipos para la nueva planta, para iniciar la producción.

2.2.1.2 Gestión de riesgos durante el escalamiento de un proceso

Según (Merrow, 2011), cuando un proyecto no ha realizado un adecuado estudio de los procesos, es casi seguro que fallará. Enumerar los posibles riesgos en el escalamiento para la obtención de un producto, no está limitado solamente a aspectos

técnicos y de seguridad de los procesos como veremos más adelante, sino también al ámbito comercial, financiero y otros, que dependiendo de la industria pueden surgir durante el escalamiento final del proceso.

2.2.1.2.1 Principales riesgos durante el escalamiento de un proceso

Riesgo comercial, (Harmsen, 2019), indica que la metodología para desarrollar un escalamiento es limitar los riesgos de los proyectos comerciales desde el proceso a nivel de laboratorio, ya que los efectos de una falla de implementación a escala comercial para una empresa pueden ser enorme. Paul Witt, Ejecutivo de DOW en una capacitación indica, “El proceso de escalamiento debe ser meticulosamente planificado, debe recabarse mucha información en cada etapa para asegurar el éxito de la siguiente etapa, de esta forma estaremos sacando el mayor provecho posible a la inversión en la investigación”.

Riesgo industrial o desarrollo de proceso, durante el proceso de escalamiento existen diversos vacíos de conocimiento los cuales deben irse develando a medida que avance la investigación, al mismo tiempo podremos identificar los riesgos asociados al desarrollo del proceso. Luego de evaluar estos riesgos se realizan los cambios necesarios, como puede ser: dimensiones de equipos, tecnologías de proceso, materia prima, presentación del producto, etc. (Harmsen, 2019) propone diversos capítulos para un diseño básico de un escalamiento comercial, dentro de este contenido los aspectos relacionados al riesgo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3*Información básica de diseño para analizar y mitigar los riesgos*

EVALUACIÓN DE RIESGOS	DESCRIPCIÓN
Seguridad	Análisis Funcional de Operatividad inicial. (HAZOP)
Explosión	Comportamiento de la reacción cuando está fuera de control y medidas de mitigación
Salud	Enfocada en la salud de operadores, usuarios de productos y sociedad.
Medioambiente	Identificación y mitigación de riesgos ambientales del proceso. (EIA).
Económico	Incertidumbres económicas, tamaño de mercado, precio de ventas, etc.
Social	Aceptación del proceso por parte de la sociedad
Técnico	Nivel de madurez tecnológica (TRL en inglés), nos indica que tan utilizada y comprobada esta la tecnología a utilizar.

Nota: Extraído de Industrial Process Scale-up: A Practical Innovation Guide from Idea to Commercial Implementation, por J. Harmsen, 2019, Elsevier

Riesgo financiero, las posibles pérdidas económicas durante un fallido escalamiento de procesos, no se limitan a la inversión de capital adicional necesaria o las pérdidas de ingresos. Está implicada también la pérdida de confianza de los clientes que enfrenta la empresa con respecto a la entrega de sus productos según lo prometido. Además, significa la pérdida de confianza de la alta dirección en el poder de innovación de la empresa. Esto puede afectar fuertemente el presupuesto para futuros proyectos de innovación de procesos. Así mismo, por proveedores de tecnología, una falla en la implementación puede tener un gran impacto negativo en futuros acuerdos (Fisher, 2009).

2.2.1.2.2 Mitigación de riesgos durante el escalamiento

De forma general podemos gestionar los riesgos usando dos métodos. El primero más conocido es la implementación de una planta o unidad piloto en nuestro caso un reactor. Los autores (J.Harmsen, 2019) y (McConville, 2002), enumeran algunas razones por la cual es necesario implementar una planta piloto como parte del proceso de escalamiento, las listamos a continuación :

1. Evidenciar fenómenos desconocidos de la operación, que no se evidencian en las etapas de laboratorio. Por ejemplo: formación de espuma, corrosión, formación de azeótropos, decaimiento de catalizador, entre otros.
2. Validar el balance de materia y energía realizado, caracterizando corrientes de masa y calor. Además, es posible variar los parámetros de operación en función de obtener mejores rendimientos.
3. Testear algunos materiales de construcción. Se colocarán cupones de pruebas en diversas partes de los equipos.
4. Probar diferentes materias primas disponibles, en ocasiones las pruebas a nivel laboratorio utilizan materia prima de alta pureza los cuales no se pueden usar en la producción comercial.
5. Producir las primeras muestras de productos para los potenciales clientes. Aunque el producto tenga especificaciones conocidas como los “bulk chemicals”. Es necesario brindar las muestras a los clientes ya que se pueden utilizar para diferentes procesos y productos.
6. Aprender cómo manejar o transportar los reactantes, subproductos, efluentes y productos.
7. Entrenar al personal para la futura planta de producción comercial.

El segundo método está más centrado en la experiencia y los recursos dedicados a la investigación para el desarrollo de productos. Se conoce como el método de “Valor de la Información”. El cual nos dice que, si bien instalar una planta piloto puede ser la opción más común para realizar un escalamiento, no siempre es un paso obligatorio, ya que existen condicionantes como son costo, tiempo y oportunidad de mercado del nuevo producto. El método de Valor de la Información expuesto por (Harmsen, 2019), fue desarrollado por la compañía Shell, considerando de ante mano un VPN_P positivo de un proyecto, y varios $VPNs$ negativos a los elementos negativos de una propuesta de desarrollo. El proceso se puede resumir así:

- Primer paso, recabar toda la información concerniente al nuevo desarrollo a implementar, sin ningún tipo de experimentación.
- Segundo, se identifican todos los riesgos y fenómenos desconocidos.
- Tercero de cada uno de estos riesgos, se estima un porcentaje de falla y al coste de esta falla se asigna un VPN negativo.
- Cuarto, combinamos el VPN negativo con el porcentaje de falla y lo restamos con el VPN_P , este resultado se denomina “implementación directa.”
- Quinto, se realizan planes de desarrollo, por cada uno de estos planes se estima el costo.
- Sexto, en función a estas nuevas propuestas de desarrollo se estima nuevamente el porcentaje de falla, este se denomina “costo de desarrollo”
- Finalmente se compara el VPN de la “implementación directa” con el VPN “costo desarrollo”.

La principal ventaja de este método es que se consideran diversas opciones de desarrollo de procesos, de forma cuantitativa basados en los riesgos implicados y el impacto monetario en el desarrollo comercial. Estas opciones pueden ser evaluadas al mismo tiempo. Por otro lado, este método está condicionado a tener un buen equipo de profesionales experimentados los cuales podrán reconocer la mayor cantidad de riesgos posibles y su porcentaje de falla. En caso de no contar con los profesionales de forma interna puede conseguir a los profesionales fuera de la organización.

En caso una empresa adquiriera una planta llave en mano con un proceso nuevo, es recomendable solicitar información detallada referente al escalamiento realizado desde una planta piloto a la etapa comercial. Se debe tener especial cuidado de adquirir una tecnología ampliamente comprobada de esa forma se reduce el riesgo de fallar.

2.2.2 Escalamiento de un reactor

2.2.2.1 *Fenómenos críticos de desempeño en el reactor*

Para (Harmsen, 2019), los fenómenos críticos de desempeño caracterizan el comportamiento del proceso desarrollado en el equipo, estos fenómenos son además dependientes de la escala de producción, para los reactores químicos los principales fenómenos críticos de desempeño son:

2.2.2.1.1 Cinética de reacción

Es necesario conocer el orden de la reacción que se está desarrollando ya que esto nos indicará cual es la dependencia del avance de la reacción con la concentración de los reactantes o productos. Además, nos indicará el tiempo necesario para tener un rendimiento deseado. Con esta información sabremos si la operación se llevará a cabo en un reactor tipo batch o continuo CSTR.

Además, debemos tener en cuenta que a medida que aumentemos la escala nos alejaremos de un comportamiento ideal de un reactor, (Fogler, 2008) menciona algunas de las principales suposiciones son: Mezcla perfectamente homogénea, distribución de temperatura uniforme, distribución de tiempo de residencia uniforme en todas las partes del reactor y mezcla perfecta al momento de agregar los reactivos.

Una buena práctica para simular un avance de reacción deficiente a nivel laboratorio es utilizar reactivos con una pureza menor a la que se utilizará a nivel comercial, de esta forma detectar posibles efectos inesperados. (J.Bonem, 2018)

2.2.2.1.2 Calor de reacción

El objetivo principal de realizar un estudio del calor de reacción durante el escalamiento de un reactor es conseguir un diseño del reactor a escala comercial con la capacidad de remover o agregar calor. Según (J. Bonem, 2019), entre el 85 % - 90 % son reacciones exotérmicas, por esa razón vamos a prestar mayor atención a este tipo de

reacciones. Debemos tener en cuenta que si el calor de reacción es un fenómeno significativo es necesario realizar los siguientes estudios:

1. Determinar el calor de reacción asociado a la reacción, es posible estimar un calor de reacción a partir de información bibliográfica, pero es recomendable realizar la medición de forma experimental. Inicialmente a nivel laboratorio es complicado detectar la cantidad de calor liberado o absorbido, debido a que pueden tener un sistema eficiente de remoción de calor o no tienen el aislamiento adecuado. Es necesario llevar a cabo una buena medición del calor de reacción en cada etapa del aislamiento, ya que este será mayor a medida que se incremente el volumen del reactor.
2. Determinar el impacto de la reducción del área lateral en razón con el incremento del volumen A/V , cuando se realiza el cambio en el volumen de reactor. Por ejemplo, aumentar en 100 veces su tamaño, esta relación A/V se reduce en un 80%. Esto nos indica que el calor disipado por las paredes será insuficiente para controlar la temperatura del reactor y es necesario implementar un intercambiador de calor, incluso en reacciones críticas será necesario utilizar fluidos especiales para el enfriamiento.
3. Determinar el potencial de la pérdida de control de temperatura en el reactor comercial, este fenómeno sucede cuando un leve incremento de la temperatura del reactor hace que la velocidad de reacción se incremente considerablemente. Por ello es necesario estudiar el calor de reacción a diferentes temperaturas a nivel laboratorio. Para superar una situación de pérdida de control de temperatura, es necesario que el sistema de enfriamiento este sobredimensionado.
4. Evaluar el inicio de la temperatura del reactor hasta la llegada al punto de reacción, para asegurarnos que no existan efectos negativos en la etapa inicial de un reactor batch.

2.2.2.1.3 La distribución de la temperatura

En un reactor a escala industrial pueden ocurrir varios problemas que no se verifican en un reactor en escala laboratorio o piloto, como son los puntos de alto calor o reacciones que ocurren de forma inmediata a la adición de reactivos o catalizadores. Este tipo de fenómenos que son difíciles de detectar, afectan la calidad y rendimiento del producto final. Para superar estas deficiencias es necesario brindar una buena agitación que distribuya perfectamente la masa a lo largo del reactor.

2.2.2.1.4 Modo de alimentación de los reactantes

En las pruebas de laboratorio se agregan los reactivos rápidamente en un reactor muy bien agitado, esto muchas veces no puede lograrse en un reactor comercial. Este punto es crítico cuando la reacción es rápida o cuando se va a adicionar el catalizador dentro del reactor, incluso en algunos casos el punto de adición de un determinado reactivo afecta el desarrollo de la reacción. En esta investigación se utilizará espirulina seca a nivel laboratorio, pero a nivel piloto se sugiere utilizar espirulina que sale del proceso de concentración, tal como se muestra en la figura 3, será una mezcla de agua y espirulina similar a un lodo, de esta forma reducir costos al evitar el proceso de secado.

2.2.2.1.5 Distribución del tiempo de residencia DTR.

Este fenómeno trata sobre el tiempo que estos reactivos permanecen dentro del reactor, este tiempo no será igual para todas las partes dentro del reactor, sino que habrá puntos en los cuales se tenga mayor tiempo y otros los cuales pase rápidamente. Las causas de una DTR muy dispersa dependen principalmente de la geometría del reactor y el régimen de agitación. Por ejemplo, las partículas que están cerca de la pared del reactor tienen un régimen laminar mientras que las partículas cercanas al agitador tienen régimen turbulento. Según (Bonem,2018), el análisis del DTR es crítico para reactores agitados continuos CSTR y no para reactores Batch.

2.2.2.1.6 Mezcla de reactivos

En toda etapa del escalamiento es importante mantener un patrón de agitación que nos permita conseguir los mismos resultados. El método cuantitativo, se basa en el uso de números adimensionales y aspectos teóricos que describen la agitación este método es el más usado pero que tomando diferentes aspectos teóricos nos brindan diferentes resultados. Una herramienta para estudiar este fenómeno es la simulación de flujo dinámico, en ingles Computational fluid dynamics (CFD) para estimar los patrones de flujo y proponer un sistema de agitación, el cual debe parecerse al desarrollado en la etapa piloto.

2.2.3 Métodos de escalamiento

Los métodos expuestos por (Harmsen, 2019), son los siguientes:

2.2.3.1 *Fuerza bruta*

Este método se basa en llevar un proceso conocido a una escala mayor o menor, conservando las mismas condiciones tanto en la escala de laboratorio como en la industrial. Este incremento o reducción, tiene éxito en limitadas operaciones, tal es el caso de incremento de tuberías en un reactor PFR, en la mayoría de los casos, los fenómenos críticos de desempeño se mantienen de una escala menor a una mayor.

2.2.3.2 *Modelamiento*

Se realiza mediante el modelamiento numérico de los parámetros críticos de escalamiento como son: distribución de tiempo de residencia, transferencia de masa, calor y cantidad de movimiento. Los cuales después deben ser evaluados de forma experimental en las etapas de laboratorio y planta piloto.

2.2.3.3 *Empírico*

Es un método costoso y lento. Se toman parámetros como temperatura, pH agitación, presión y en base a modelos estadísticos y diseño de experimentos se monitorea

el performance de la operación se consigue una correlación la cual debe cumplirse en las plantas de mayor escala. Este método se utiliza cuando el método de fuerza bruta no puede aplicarse y el modelamiento es muy complejo ya que es posible ignorar los parámetros críticos de escalamiento. Usualmente se aplica en reactores batch.

2.2.3.4 Números adimensionales

Establece que mediante el análisis dimensional de los parámetros críticos de escalamiento se definen los números adimensionales. Estos números adimensionales deben mantenerse constantes en ambas etapas del escalamiento. En el caso de un reactor agitado, diversos autores como (Edward L. Paul et al ., 2004 ;Tatterson, 2002 ; Sharratt, 1997) usan números adimensionales como el número de Reynolds (Re) y el número de potencia (Po), conjuntamente con el criterio de mantener la distribución de energía y fuerzas cortantes, en las etapas de escalamiento. Debo mencionar que, para otras operaciones, este método no resulta confiable para (Harmsen, 2019), por dos razones; no todos los fenómenos críticos son tomadas en cuenta por los números adimensionales y que no existe un método de validación que indique que los fenómenos críticos son tomados en cuenta por los números adimensionales.

2.2.3.5 Escalamiento directo

Es el peor método de escalamiento y nunca funciona, lo llevan a cabo empresas sin experiencia

2.2.4 Criterios para selección de impulsores y el diseño de reactor

Los criterios para diseñar un reactor se basan en el estudio de la mezcla o la hidrodinámica durante su operación, para iniciar es necesario definir lo que necesitamos medir y los métodos e instrumentos que usaremos para tal fin. Los instrumentos básicos utilizados para medición de variables en un reactor son:

- Tacómetro óptico de mano utilizado para calibrar y verificar la velocidad digital la lectura en la mayoría de los agitadores.

- Voltímetros de promedio utilizados para medir señales de galgas extensométricas, etc.
- Termómetros digitales para controlar la temperatura de los fluidos.
- Baño de agua con temperatura controlada y sistema de recirculación de temperatura control de vasos pequeños, generalmente recirculando el líquido en los alrededores caja de visualización.
- Cámara de video digital (u otra de alta calidad) (y trípode) para grabar la visualización experimentos.
- Cámara digital para fotografiar experimentos.
- Tamices (y agitador) para el tamaño bruto de partículas sólidas y para ayudar a eliminar rangos de tamaño particular de una muestra.
- Reómetros. Hay una gran cantidad de tipos diferentes de reómetro en el mercado, y uno debe especificarse de modo que todos los elementos reológicos.

Las herramientas para toma de datos para agitación, las diferentes técnicas para realizar medición no son siempre confiables salvo en experimentos con condiciones muy específicas, por ello debemos prestar mayor atención a las técnicas que son más confiables y repetibles.

2.2.4.1 Selección de impulsores

Para elegir los impulsores es necesario definir, el patrón de agitación. Según (Sharratt, 1997), la causa más común de la falla de un agitador no es algún mal cálculo de la potencia o la velocidad rotacional sino simplemente la incorrecta definición de la tarea del agitador. El mismo autor, propone una clasificación en dos tipos de agitadores:

2.2.4.1.1 Agitadores de diámetro largo o de poca holgura

Son agitadores que tienen aproximadamente desde el 70 % o el 90% del diámetro del reactor además de estar muy cerca del fondo de este. Operan a baja rotación, no utilizan baffles y son usados en reacciones con fluidos muy viscosos no newtonianos.

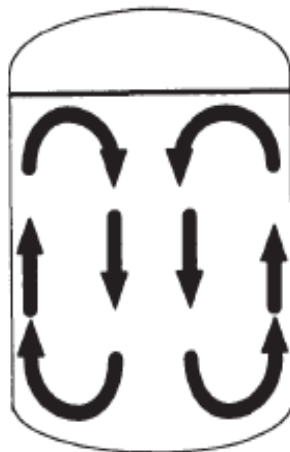
2.2.4.1.2 Agitadores de diámetro pequeño o de alta velocidad

El diámetro de estos agitadores esta entre el 25 % al 50 % del diámetro del vaso, se utilizan para soluciones de baja o moderada viscosidad. Operan dentro del régimen turbulento y usualmente utilizan baffles, pero pueden omitirse. Los patrones de flujo dentro del reactor pueden diferenciarse en tres tipos, impulsores que generan flujos axiales, impulsores que generar flujos radiales e impulsores Hydrofill.

Impulsores que generan flujos axiales, tienen las siguientes características, están diseñadas para conseguir un régimen turbulento con baja potencia por unidad de volumen impulsado, mediante sus aleas aerodinámicamente diseñadas, usualmente tres, son recomendables para fluidos de baja viscosidad o para soluciones que contienen partículas que se decanten. Los impulsores axiales generan un patrón de flujo como el que vemos en la siguiente figura.

Figura 5

Patrón de flujo generado por un impulsor axial



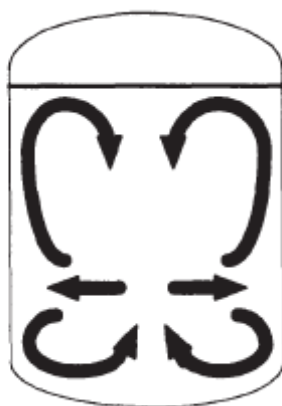
Nota: Extraído de Handbook of industrial mixing. Edward L. Paul (2004)

Impulsores que generan flujos radiales, tienen las siguientes características, las aleas de este agitador son verticales y conectadas a un disco, utilizan gran parte de la potencia para impulsar poca cantidad de volumen, este movimiento de volumen se concentra cerca del impulsor produciendo altos efectos cortantes. Son recomendables para reacciones líquido – gas y con reacciones que sean muy rápidas y que el reactor cuente con baffles para lograr mezcla efectiva.

El patrón de flujo de los impulsores radiales envía el fluido a las paredes del vaso, a diferencia del patrón flujo axial, los torbellinos generados tanto arriba como abajo se cortan en el impulsor, este es un efecto del disco al cual están unidos las aletas.

Figura 6

Patrón de flujo generado por un impulsor radial



Nota: Extraído de Handbook of industrial mixing. Edward L. Paul

Los impulsores Hydrofill generan un flujo axial, pero con menores efectos cortantes que los impulsores axiales comunes, la diferencia es que las aleas tienen “menos terminaciones puntadas”, y algunos modelos tienen ligeras curvaturas. Como resultado tiene un menor número de potencia y un alto flujo por unidad de potencia.

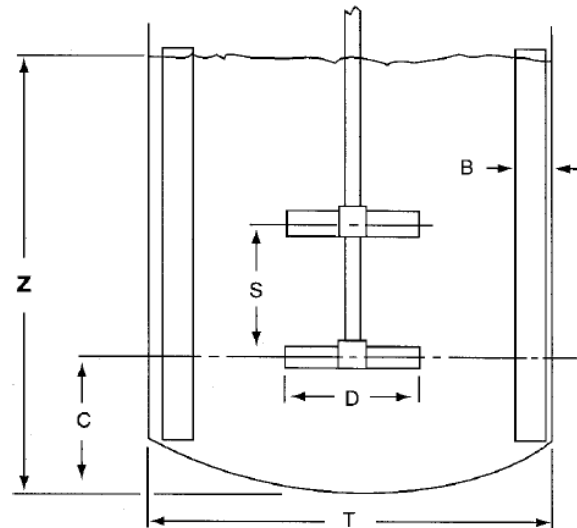
Existen otros tipos de impulsores diseñados exclusivamente para diversas tareas, estos impulsores usualmente están desarrollados por empresas y están patentados.

2.2.4.2 Ubicación y dimensiones del impulsor

Un modelo típico de reactor con impulsor y baffles es el siguiente:

Figura 7

Diagrama típico de un reactor agitado con doble impulsor



Nota: Extraído de Handbook of industrial mixing Edward L. Paul (2004)

Donde:

Z = Altura del volumen de líquido

C = Espaciamiento del impulsor con la base

T = Diámetro total del reactor

B = Ancho del baffle

S = Espaciamiento entre impulsores

Por otro lado, (Mc Cabe, 2007) indica los valores para las relaciones en las longitudes para un reactor estándar, las cuales son:

$$\frac{D}{T} = \frac{1}{3} \quad \frac{Z}{T} = 1 \quad \frac{B}{T} = \frac{1}{12} \quad \frac{C}{T} = \frac{1}{3}$$

Según lo indicado por (Sharratt, 1997), dependiendo de la relación de altura (Z) con el diámetro (T), común emplear un segundo impulsor en el eje de agitación, tal como se muestra en la figura 8.

Tabla 4

Regla para asignar impulsores en función de la relación Z/T

Z/T	Numero de impulsores
Mayor a 1	1
1 – 1.3	2
1.15 – 1.5	3
1.3 - 2	4

Nota: Extraído de Handbook of Batch Process Design. Sharratt,1997

Este criterio es complementado por (Paul et al., 2004) recomienda las siguientes relaciones para el distanciamiento en caso de un agitador con dos impulsores, considerando la tarea que debe realizar dicho impulsor.

Tabla 5

Regla para determinar el distanciamiento del impulsor de la base de reactor

Sistema de mezcla	Elevación de los impulsores desde la base del tanque	
	Base -C	Altura
Mezcla de líquidos	Z/3	-
	T/3	2 Z/3
Suspensión de sólidos	Z/4	-
	T/4	2 Z/3
Dispersión de gases	T/6	-
	T/6	2 Z/3

Nota: Adaptado de Handbook of industrial mixing Edward L. Paul (2004)

2.2.4.3 Medida del consumo de energía o torque

Según (Paul et al., 2004), para escalar un sistema de agitación la medición de la energía entregada al sistema es probablemente el factor más importante y determinante, en el estudio de (Falk & Villermaux, 1997) sus principales objetivos para escalar reactores

agitados son; mejorar la selectividad y reducir el consumo de energía en un agitador, esto último importante a nivel industrial ya que a largo plazo genera un costo considerable en las operaciones.

Para estudiar el consumo de energía o potencia debemos definir los siguientes conceptos:

2.2.4.3.1 Número de potencia N_P

Está definido de la siguiente manera:

“El número de potencia N_p es análogo al factor de fricción o al coeficiente de arrastre. Es proporcional a la relación entre la fuerza de arrastre que actúa sobre una unidad de área del impulsor y la fuerza inercial. La fuerza inercial, a su vez, está asociada con el flujo de cantidad de movimiento correspondiente al movimiento global del fluido.” (McCabe, 2007, pag 274).

El mismo autor indica que el número de potencia depende del tipo de impulsor, densidad y viscosidad del fluido, relaciones geométricas del reactor, espaciamiento de los impulsores, espaciamiento del impulsor desde el fondo, número de aspas, nivel del líquido, velocidad de rotación, si se tiene baffles o no, entre otros. Así mismo, sugiere usar un modelo a escala piloto para determinar el N_p , de un determinado reactor a instalar.

Continuando con McCabe (2007), la potencia aplicada a un reactor el cual contiene un fluido newtoniano, en régimen turbulento es igual a la velocidad volumétrica de flujo q multiplicado por la energía cinética por unidad de volumen E_k .

$$q = ND^3N_q \quad \dots \dots \dots (1)$$

N_q es el número de flujo, que es característico de cada tipo de impulsor.

$$E_k = \frac{\rho V^2}{2} \quad \dots \dots \dots (2)$$

Considerando que la velocidad V_2 , es proporcional a la velocidad de rotación o velocidad de la punta:

$$V^2 \propto k N D \dots\dots\dots (3)$$

La constante k , esta referido a ciertos parámetros geométricos del impulsor y podríamos utilizarlo para calcular N_q , una definición o estudio más profundo de este parámetro, excede el alcance de esta tesis.

Tenemos que la potencia es igual a:

$$P = \rho N^3 D^5 k N_q$$

Ordenando la ecuación:

$$\frac{P}{\rho N^3 D^5} = k N_q$$

La parte izquierda de esta ecuación se conoce como número de potencia, N_p y es un número adimensional.

Las expresiones utilizadas para calcular la potencia entregada son:

$$P = N_p \rho N^3 D^5 \dots\dots\dots (4)$$

$$P = \frac{T_q N}{9.5541} \dots\dots\dots (5)$$

Donde:

N_p = número de potencia

ρ = densidad de la solución kg/m^3

N = revoluciones en RPS

D = diámetro del impulsor en m

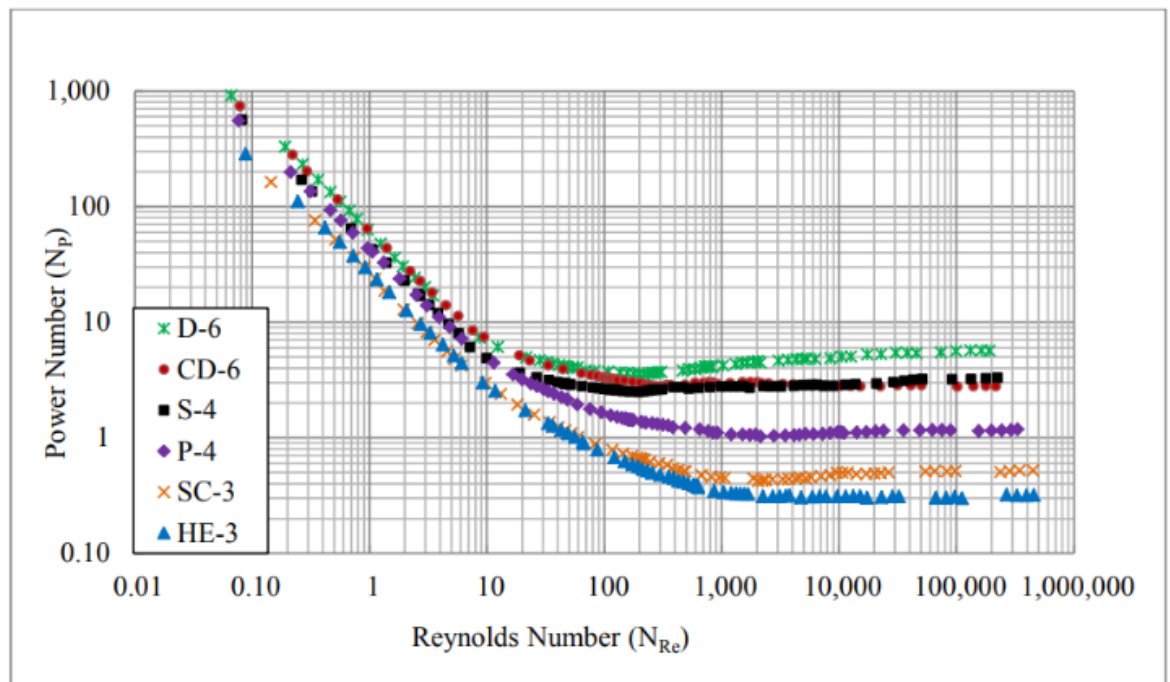
T_q = Torque N.m

Una vez obtenido el número de potencia N_p , según las ecuaciones 4 y 5, hallamos la potencia o torque aplicada a un reactor agitado, el cual debe cumplir con las relaciones geométricas y el tipo de impulsor empleado en los experimentos. Seguidamente graficamos el número de potencia N_p en relación con el número de Reynolds Re . Esta relación la usaremos para el escalamiento del reactor piloto. La gráfica que hallaremos del N_p con Re debe ser en base logarítmica, de esta forma podremos identificar la zona de flujo laminar donde la pendiente entre es negativa y la zona de flujo turbulento donde la pendiente es cero, eso quiere decir que el N_p no depende del número de Reynolds. (McCabe, 2007).

En la investigación de Ma (2014) obtiene varias gráficas Re vs N_p en diferentes regímenes de agitación para diferentes tipos de impulsores.

Figura 8

Grafica logarítmica del N_p y Re , para diferentes impulsores.



Nota: Extraído de Ma, Z. (2014). Impeller Power Draw Across the Full Reynolds Number Spectrum (Tesis de Maestría de la Universidad de Dayton)

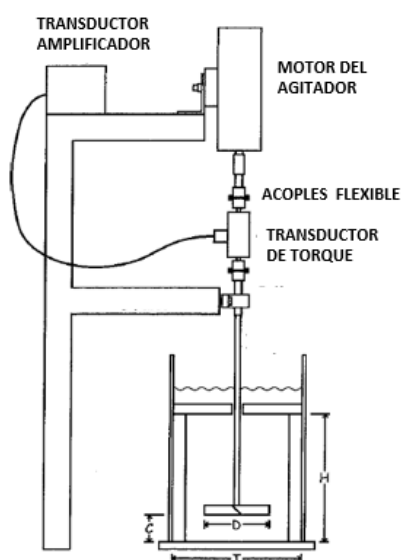
En la figura 8, el autor indica que el régimen laminar se encuentra cuando el Re es menor a 10 debido a que su pendiente es negativa y lineal, así mismo el régimen turbulento es a partir Re mayores a 1000 donde el N_p se mantiene casi constante al Re . Por último, el tramo desde los 10 a 1000 Re , consideramos régimen de transición.

Para poder obtener el número de potencia N_p , según las ecuaciones 4 y 5, nos hace falta medir la potencia empleada o el torque del agitador (Paul et al ., 2004), propone a las galgas extensiométricas y la medición de potencia.

Las galgas extensiométricas, se utilizan para medir magnitudes mecánicas el principio de funcionamiento es que la resistencia de los elementos varía con la fuerza aplicada. Para medir el torque en el impulsor de un reactor, además de instalar las galgas extensiométricas requieres un transductor para convertir la variación de voltaje en torque y un amplificador para poder finalmente registrar el torque. En la Figura 9, tenemos un esquema típico.

Figura 9

Disposición de las galgas extensiométricas y los accesorios para medir el torque en un reactor agitado.



Nota: Extraído de Handbook of industrial mixing Edward L. Paul (2004)

Medición de potencia, utilizando equipos de medición eléctrica es posible conseguir la potencia utilizada por el motor. Sin embargo, la potencia empleada por el motor se dispersa en el rozamiento de los engranajes, desprendimiento de calor, eficiencia del motor entre otros. Tomando en cuenta la poca precisión de los equipos no es un método recomendable para realizarlo en pequeñas etapas.

Antes de continuar debemos definir ciertos conceptos importantes, según (Tatterson, 2002), que nos ayudará a desarrollar las etapas de escalamiento.

2.2.4.3.2 Similaridad de procesos

Se debe identificar el proceso por el cual se hace posible el cumplimiento del objetivo y procurar repetirlo en cada etapa del escalamiento, es posible que también se pueda mejorar el rendimiento y calidad en cada etapa de escalamiento.

En el caso de la extracción de proteínas de la espirulina, es la hidrólisis alcalina de la pared celular de la espirulina, la cual depende de la temperatura, tiempo, pH, concentración en masa y agitación.

2.2.4.3.3 Similaridad de geometría

Se aplica a equipos que conservan las relaciones geométricas de sus dimensiones durante el escalamiento. Tatterson, (2002) recomienda que el reactor usado a nivel laboratorio debe tener dimensiones y proporciones geométricas similares a un reactor de escala industrial, proponemos esto debido a que durante el escalamiento los grupos adimensionales son relaciones geométricas, las cuales se cancelan y simplifican los cálculos. Este criterio no es garantía de que las condiciones de operación se mantengan, sin embargo, para la presente tesis aplicaremos este criterio. Por último, debemos tener en cuenta que a nivel industrial lo siguiente: el material a ser procesado, las condiciones de operación o energía requerida.

2.2.4.3.4 Energía, potencia y su importancia,

La energía aplicada sobre la masa en una operación unitaria es la responsable del cambio en esta materia. Esta energía puede introducirse al sistema o volumen de control como calor, variación del nivel, agitación y presión. La cantidad de energía aplicada y la forma en que debe ser aplicada, es la clave para llevar a cabo una reacción.

2.2.4.3.5 Ratio de escalamiento

Esta ratio debe entenderse como la cantidad de energía que realizará la transformación dentro de un volumen de proceso. Para la presente tesis vamos a utilizar la relación de P/V. Para nuestro caso, un reactor de agitador vertical, en flujo turbulento, la potencia tiene la siguiente relación:

$$Potencia \propto \rho N^3 D^5 \dots \dots \dots (6)$$

Donde:

N = Velocidad de rotación (RPS)

ρ = Densidad (gL^{-1})

D = Diámetro (m)

2.2.4.3.6 Criterio de escalamiento por números adimensionales y factores

Bonem (2019), destaca los dos factores más utilizados, el primero es velocidad de punta constante o misma velocidad de agitación, nos brinda una ratio de energía por volumen menor, en consecuencia, la potencia introducida al reactor industrial sería más baja que la introducida al reactor piloto. El segundo es ratio energía por volumen constante, si realizamos un escalamiento manteniendo la constante la potencia por volumen (P/V), la velocidad del agitador será más alta en el reactor industrial.

El uso de alguno de estos dos criterios de escalamiento dependerá del tipo de reacción, si se tienen dificultades realizando el proceso de agitación (Bonem, 2019) propone dos soluciones para el diseño de un tanque o reactor agitado a nivel industrial.

El primero, es definir el patrón de mezcla que requerimos, esto lo podemos definir en las etapas de laboratorio y piloto. Los tipos de mezcla pueden ser, perfectamente mezclado, con sólidos en suspensión, sin sólidos en las rendijas del reactor, uniformemente mezclado a la salida del reactor, entre otros. Luego de definido el tipo de mezcla, consultamos con una empresa experta para que puedan definir el tipo de agitación necesario.

La segunda, es utilizar una simulación CFD (computacional fluid dynamics) para analizar patrones de flujo y probar diferentes tipos de agitadores y condiciones para conseguir las mismas condiciones que se tenían en el reactor piloto. El uso de los paquetes de CFD requieren especialistas los cuales podemos contratar.

2.2.4.4 Simulación utilizando computational fluid dynamics o CFD

Esta es una herramienta para realizar una predicción del comportamiento de un fluido a ciertas condiciones. Está basada en las ecuaciones de Navier Stock, las cuales a su vez están basadas en los principios de balance de masa, conservación de momentum y conservación de energía. No es posible realizar la resolución de la ecuación de Navier Stock directamente, ya que demanda demasiada capacidad computacional. En lugar de ello se utiliza el método matemático de volúmenes finitos, este consiste en dividir todo el volumen de estudio en volúmenes pequeños y evaluar las interacciones en cada frontera. Seguidamente se obtienen gráficas con gradientes de energía, de las cuales podemos obtener información aproximada antes de realizar la experimentación. Dar una explicación detallada de los fundamentos de este método de simulación excede los alcances de esta tesis, puede consultarse en (Paul et al 2004 ; Çengel 2020).

Para un reactor agitado obtendremos las gráficas de variación de corte y patrones de flujo, para evaluar cualitativamente el grado de mezcla para el reactor piloto.

2.2.4.4.1 Gráficas de la ratio de corte

Una fuerza de corte es una que se aplica de manera tangencial al área. En mecánica de fluidos una fuerza de corte es aquella que deforma la superficie de los líquidos. La gráfica de variación o gradientes de las fuerzas de corte, nos indicaran los puntos donde se tiene una mayor velocidad del fluido, está relacionado con el tipo de impulsor a utilizar, turbulencia, entre otros.

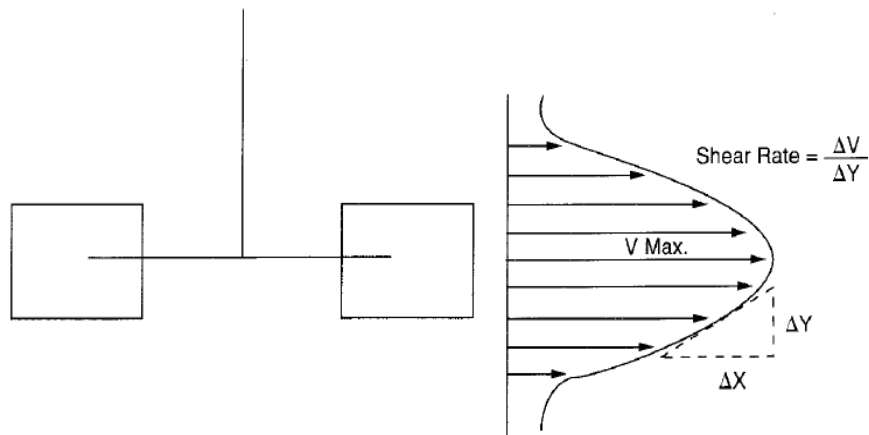
El share rate o ratio de corte se define de la siguiente manera

$$\text{Shear Rate} = \frac{\text{Gradiente de velocidad} \left(\frac{1}{s} \right)}{\text{Espacio de variación}} \dots \dots (7)$$

Los mayores gradientes de velocidad se obtienen cerca de los impulsores.

Figura 10

Gradiente de esfuerzo cortante generado cerca del impulsor



Nota: Extraído de Handbook of industrial mixing. Paul et al. (2004)

2.2.4.4.2 Gráficas de patrones de flujo

Estas gráficas muestran las líneas de velocidad que se formarían dentro del reactor, así como los remolinos. Son útiles para determinar el tipo de patrón de agitación que alcanzamos con el agitador.

Capítulo III. Desarrollo del trabajo de investigación

3.1 Propuesta de un método para realizar el escalamiento

Para Tatterson (2002), para el escalamiento es llevado a cabo en diversas etapas, empleando diferentes métodos de diseño, mediante los cuales un proceso con bajo volumen de producción es llevado hasta una escala de producción comercial o de mayor volumen, cada una de estas etapas y diseños son elegidos a criterio del ingeniero a cargo y no son garantía de un escalamiento exitoso, a veces es necesario volver a estudiar etapas de escalamiento inferiores para nuevamente llegar a una escala mayor. Sumado a la anterior, como vimos anteriormente, las etapas de escalamiento pueden ser laboratorio, piloto y planta, pero no existe una regla establecida respecto a la cantidad de etapas.

Para realizar el escalamiento, es muy importante conocer las condiciones de operación y diseño de los equipos para que cumpla con los objetivos deseados para el proceso o producto en cada etapa. Estos objetivos varían en cada etapa, para la presente tesis proponemos un método con tres etapas:

3.1.1 Etapa de laboratorio 0,5 L.

En el presente trabajo extraemos las proteínas mediante la hidrólisis básica. Se tendrá como objetivo, maximizar la variable de respuesta, esta variable de respuesta es el rendimiento de la extracción de proteínas. La determinación de este rendimiento se realizará según el Anexo B. En esta etapa conseguimos la siguiente información:

- Características generales cualitativas de la reacción.
- Condiciones óptimas de operación.
- Selección del método de análisis de las proteínas.
- Obtener una correlación entre los factores significativos para determinar el rendimiento de la extracción de proteínas.

- Conseguiremos estos objetivos mediante la selección del diseño experimental. Desarrollo de la parte experimental, toma de datos, tratamiento estadístico de datos.

Según Gutiérrez (2012), se considera como factor, a toda variable que pueda afectar o influir en la variable de respuesta. Este término será usado para la exposición de los resultados y tratamiento de datos.

3.1.2 Etapa de laboratorio 4 L.

En base a los resultados obtenidos para un reactor de 0,5 L, realizamos el experimento con un reactor de 4 L, diseñamos los impulsores y baffles, según la geometría de este reactor. La primera parte de la experimentación buscamos el óptimo rendimiento conseguido en el reactor de 0,5 L, utilizando los diferentes tipos de impulsores en el reactor de 4 L. La segunda parte, se consiguieron los datos de potencia del motor, para realizar el escalamiento siguiendo el criterio de que la potencia por unidad de volumen se mantiene de una escala a la otra. En esta etapa conseguimos la siguiente información:

- Seleccionar impulsores
- Obtener gráficas de número de potencia (N_p) en función del número de Reynolds (Re).
- Nuevas condiciones de operación, en caso sean requeridas.
- Mantener o mejorar el rendimiento alcanzado en la etapa de laboratorio.
- Definir la geometría y medidas del reactor piloto.

3.1.3 Diseño de reactor piloto de 400 litros

Se realizó el escalamiento de 4 a 400 litros, nos basamos primeramente en que un escalamiento de mayor orden incrementa los riesgos y los costos, debemos tener en cuenta que en nuestro caso las mediciones de consumo de energía en un reactor de 4 litros no fueron exactos, por lo tanto, no deberían extrapolarse a uno de mayor tamaño que uno de 400 litros.

Seguidamente, para ya llegar a un diseño de un reactor de tipo comercial diseñamos el impulsor, así como su velocidad, cuáles son las características térmicas de la reacción por ejemplo la ratio área volumen se reduce y hace que el enfriamiento o calentamiento sea más lento afectando el desarrollo de la reacción, incluso cuando a nivel de laboratorio el calor de reacción era despreciable. Los puntos de dosificación de reactantes y su modo de adición, deben estar definidos. (Bonem, 2018).

Por último, debemos tener en cuenta que los experimentos para estudiar el mezclado de forma confiable deben llevarse a cabo en reactores de un diámetro mayor a 30 cm y deben mantener la geometría del reactor y los baffles que se tendría a escala comercial. Debemos tener cuidado de plantear estrategias de mezcla en reactores que estén muy alejados de la escala comercial ya que podemos asumir ciertos valores que no serían recomendables a escala comercial, además de no observar ciertos patrones del fluido que son apreciables en escalas mayores. (Paul et al., 2004).

Diseñar el reactor piloto es el objetivo de la presente tesis, no fue posible realizar experimentos a nivel piloto ya que adquirir un reactor de esas dimensiones y la espirulina necesaria para la experimentación requiere un presupuesto elevado.

Lo único que tenemos a nuestro alcance es realizar una simulación dinámica del fluido, escalando el reactor de 4 litros a 400 litros, manteniendo la similaridad geométrica. Esta simulación nos ayudará a obtener una aproximación del tipo de mezcla del reactor con diferentes impulsores y evaluar la información generada. Utilizaremos una aplicación simplificada de CFD para el módulo de mezcla en un tanque agitado del software Comsol Multiphysics versión 6.0.

A pesar de no contar con un reactor piloto, proponemos los objetivos que deberían cumplirse, durante la experimentación del reactor piloto de 400 litros, para que pueda ser encaminado al diseño de un reactor industrial. En esta etapa del escalamiento debemos conseguir la siguiente información:

- Estimación de consumo de energía y N_p , midiendo el torque con instrumentos adecuados.
- Definir las condiciones de operación a nivel industrial.
- Mantener o mejorar el rendimiento alcanzado en la etapa de laboratorio de 4L.
- Selección de los instrumentos de control.
- Modo de adición de la solución soda cáustica.
- Diseño del control de la temperatura y pH de operación.

Debemos tener claro que no es posible establecer una única ruta para conseguir un adecuado escalamiento antes de las pruebas experimentales, el paso a una siguiente etapa corresponderá a que si se han cumplido los objetivos trazados.

Muchas características y condiciones del proceso y equipo a nivel industrial no pueden definirse a nivel laboratorio o incluso piloto, es necesario recolectar y procesar mucha información para realizar una propuesta. Es posible que aun realizando las mejores prácticas y rigurosos cálculos no se consigan los resultados esperados y se tenga que volver al punto anterior del escalamiento. Este proceso iterativo hace que el escalamiento sea costoso y riesgoso para la empresa, por ello es necesario contar un equipo competente y experimentado para minimizar las posibilidades de fracaso.

3.2 Desarrollo experimental

3.2.1 Selección del método de análisis de proteínas

Las técnicas para la cuantificación de proteínas, más usadas son método Kjeldahl y métodos espectrofotométricos más usados como son Bradford y Lowry. El método Kjeldahl calcula el nitrógeno orgánico total, mediante la determinación de sales de amonio conseguidas luego de la digestión total de las muestras (Arredondo, 2007), este método tiene diversas desventajas frente a los métodos espectrofotométrico, como son la cantidad de muestra requerida, la precisión, límite de detección del orden de 15 μg de proteína y fácil implementación. (Lenin, 2017). Por otro lado, (Becker.1994) indica que en las

microalgas aproximadamente el 10% de nitrógeno es no proteínico, contenido principalmente en los ácidos nucleicos, en las glucosaminas, en las membranas celulares, o presente como aminoácidos libres y ficobiliproteínas, por lo que este método sobre estima la cantidad de proteínas.

Usando el método de Bradford la muestra se identifica usando el colorante azul brillante de Coomassie y su cuantificación se basa en el cambio del pico de máxima absorción, que vira progresivamente entre 465 y 595 nm. (Arredondo, 2007).

Peterson (1979), nos explica en que se basa el método de Lowry. Se usa el reactivo Folin-Ciocalteu, (ácido fosfomolibdico-túngstico:FMT), después de un tratamiento con solución alcalina de cobre conocido como reactivo de Lowry. El reactivo de Folin, catalizado por el reactivo de Lowry, oxida los aminoácidos aromáticos como tirosina y triptófano presentes en la mayoría de las proteínas, reduciéndose a heteropolimolibdeno de color azul, cuya intensidad depende de la tirosina y triptófano.

Las razones por las cuales descartamos el método de Bradford en comparación con el método de Lowry, son : la curva de calibración no es lineal para muestras superiores a 60 mug de proteína, con Lowry tenemos un rango hasta 150 mug, el colorante Coomassie varia su efectividad con el paso del tiempo, con Bradford debemos usar diferentes longitudes de onda con Lowry solamente 750 nm y por último la investigación de Harrison y Thomas (1988), indica que el método de Lowry es más conveniente ya que en pruebas realizadas para cuantificar 23 tipos de proteínas la desviación estándar se mantuvo, mientras que con el método Bradford fue 2 veces mayor.

3.2.2 Materiales

Durante la etapa experimental se utilizaron los siguientes materiales

- Micropipeta de 100 μ L
- Micropipeta de 1000 μ L
- Impulsor para 0.5 litros

- Impulsores para vaso de 4 litros
- Baffles para el vaso de 0.5 litros
- Baffles de 4 litros
- Vaso de 0.5 litros
- Vaso de 4.2 litros
- Termómetro de mercurio

Tanto los baffles para los vasos de 0.5 y 4 litros, como los impulsores para el reactor de 4 litros son de material de acero inoxidable de diseño y fabricación propia. Los vasos usados como reactores serán los vasos de Erlenmeyer marca Pirex. Debo indicar que esta tesis fue financiada enteramente por el tesista.

3.2.3 Equipos

Se utilizaron los siguientes equipos:

- Espectrofotómetro UV - Thermo Fisher Modelo Genesys 50
- Agitador vertical – Marca EuroTech 370
- Centrífuga – Marca Thermo Fisher Modelo SOVALL ST 16R
- Baño María – Marca TOMOS de 20 litros
- pH metro manual marca – Hanna HI98103 con electrodo HI 1271
- Pinza amperimétrica Marca PRASEK mod PR-202

3.2.4 Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos

- Reactivo de Folin-Ciocalteu – Sigma Aldrich
- Reactivo prueba Modificado De Lowry, el cual fue elaborado con:
 - Sulfato de cobre pentahidratado
 - Carbonato de sodio
 - Tartrato de sodio tetrahidratado

- Espirulina en polvo de procedencia China, ver ficha técnica en Anexo A
- Soda cáustica perlada
- Agua desionizada

3.2.5 Etapa experimental en la escala de 0.5 litros

La disposición de los equipos y la preparación de la mezcla para la reacción en esta etapa del escalamiento fue preparada con de la siguiente manera. Primero programamos la temperatura requerida en el baño maría, después colocamos el vaso 0.5 L de agua en el reactor, cuando tenemos la temperatura deseada agregamos 15 gr de espirulina, seguidamente iniciamos la agitación y finalmente agregamos la solución de NaOH para alcanzar el pH deseado 9.5 a 10.0. La disposición final es como se muestra en la Figura 11.

Figura 11

Prototipo para para realizar la extracción de la espirulina en medio básico



Se fabricaron baffles a la medida del vaso de Erlenmeyer de 600 mL marca Pirex, el cual es usado como reactor para las pruebas de 0,5 litros. Las medidas para estos baffles, tomando como referencia la nomenclatura de la Figura 8.

$T = 8.6$ cm de diámetro interior,

$Z = 8.6$ cm de altura del líquido

$B = T/12 = 73$ milímetros de ancho del baffle,

$D = 3.8$ cm diámetro del impulsor de fábrica.

Ciertamente la medida del impulsor no es la tercera parte del diámetro del reactor, estamos usando el impulsor que viene de fabrica con el agitador vertical. Recordemos que según el apartado Propuesta de un método para realizar el escalamiento en esta etapa no definimos el tipo de impulsor o sus medidas.

3.2.6 Factores óptimos de la reacción

Utilizaremos el método propuesto por (Gutiérrez, 2012) para obtener un resultado óptimo que resumimos a continuación:

Iniciamos con el cribado, este paso consiste en enumerar las variables que podrían influenciar en el resultado y los niveles o magnitudes en que estos interactúan en la reacción. Se realizan pruebas aleatorias a criterio del experimentador, con el objetivo de definir cuáles serán estas variables a los que en adelante llamaremos factores, los cuales serán analizados para optimizar el proceso.

Realizamos la selección de factores y niveles de prueba para nuestro experimento, a partir de las variables independientes dentro del experimento son: pH, temperatura, cantidad de espirulina por unidad de volumen, velocidad de agitación, tipo de impulsor, tiempo y las dimensiones del reactor de laboratorio. Entendemos como nivel, al rango de operación que definimos para cada factor.

Dentro de estas variables independientes a continuación elegimos las que tienen mayor influencia en el desarrollo de la reacción en base a los antecedentes revisados. (Rausch,1981) toma en cuenta la temperatura, concentración normal del NaOH y tiempo. Respecto al pH (Benelhadj. S, 2016 ; Lupatini,2016) indican que el rango de pH óptimo, para solubilizar las proteínas de la espirulina, es entre 9 a 10, para la presente tesis definiremos el rango de pH 9.5 - 10. Lennin (2017), realizó la optimización para la extracción de proteínas con los parámetros de temperatura, tiempo y concentración de NaOH. En la investigación de Lupatini (2016) concluye que la concentración de espirulina óptima para extracción de proteínas es de 30 gL⁻¹, a diferencia de Safi 0.5 g o Lennin 0.005 g, estos dos últimos enfocados a conseguir un método óptimo para cuantificar proteínas en microalgas a nivel laboratorio, realiza varios experimentos para obtener la extracción óptima de proteínas y carbohidratos de la espirulina, en referencia a la concentración de la masa de espirulina, los resultados estadísticos de sus pruebas indicaron que una concentración de espirulina mayor a la indicada no beneficia la extracción. Además, emplea una técnica combinada de sonicación y luego agitación mecánica, para alcanzar una extracción óptima, para esta tesis solamente utilizamos la agitación mecánica.

Según el método empleado por Arredondo & Voltolina (2007), la parte sólida obtenida luego de la centrifugación, denominado “pellet”, es sometido nuevamente a una hidrólisis básica. Sin embargo, en el presente estudio no se realizará una segunda hidrólisis a la fase sólida.

Las condiciones supuestas para el desarrollo de la reacción de ruptura de pared celular fueron:

1. Isotérmica
2. Reactor por lotes, no hay ingreso ni salida de materia.
3. No hay cambio de densidad, ni evaporación
4. Todos los reactivos se agregarán los reactivos en un solo momento.

5. El supuesto para este ensayo será que la solución reactiva está perfectamente mezclada.
6. Fase líquida

Debemos aclarar que estamos considerando en fase líquida por dos razones, primero debido a que el tamaño de la microalga es muy pequeño y de forma irregular, es una hélice de 12 a 72 μm de largo y 30 a 70 μm de diámetro, según la formula empírica de Zwietering expuesta por Mak (1992), para suspensión de sólidos en una reacción el rango de la partícula va desde 150 – 850 μm . Segundo la espirulina a medida que la reacción avanza se va descomponiendo en partes incluso más pequeñas. Tercero la solución final es difícil de decantar por gravedad, podemos asumir que prácticamente es una sola fase.

Luego definir los factores y niveles, realizaremos un diseño de experimentos con un modelo de primer orden 2^k con punto central con 4 repeticiones, en cual verificaremos la influencia lineal de cada factor, así como de sus interacciones y la posible presencia de curvatura la cual será evidenciada en la ANOVA, de ser este el caso debemos realizar el modelamiento de 2do orden.

Por último, realizamos un modelo de 2do orden, para encontrar los puntos óptimos, utilizando el modelo Box Behnken, ya que nos permite obtener resultados con la menor cantidad de experimentos, para la presente tesis este punto es importante debido que la materia prima la espirulina es costosa, así como los reactivos para la detección de proteínas.

3.2.6.1 Cribado - Pruebas preliminares

La primera prueba, verificamos la existencia de una tendencia de extracción de proteínas en el tiempo a unas condiciones dadas en base a los antecedentes. Las condiciones de operación son las siguientes:

Volumen = 500 mL, vaso de precipitado con baffles.

pH = 9.5-10

RPM = 900

Temperatura = 21 °C, temperatura ambiente

Tiempos de toma de muestra en minutos = 15, 30, 50, 65 y 85

La segunda prueba, reducimos la velocidad de agitación del impulsor a 1,67 revoluciones por segundo y mantenemos las demás variables constantes, los parámetros de trabajo son:

Volumen = 500 mL, vaso de precipitado con baffles.

pH = 9.5-10

RPM = 100

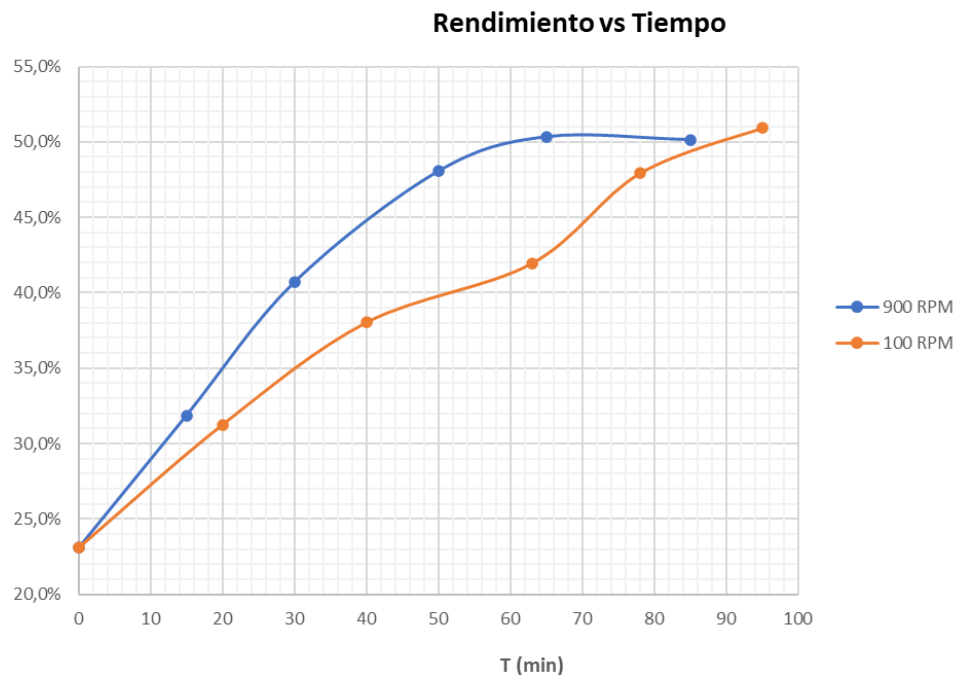
Temperatura = 21 temperatura ambiente

Tiempos de toma de muestra en minutos = 11, 20, 63, 78, 95

Según lo indicado en el ANEXO B “Determinación de la concentración de proteína”, obtenemos los resultados de la concentración de proteínas en $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabla 6
Resultados de las pruebas preliminares

Prueba - 100 rpm		Prueba - 900 rpm	
T (min)	Extracción	T (min)	Extracción
0	23.1 %	0	23.1 %
20	31.3 %	15	31.9 %
40	38.0 %	30	40.7 %
63	41.9 %	50	48.1 %
78	47.9 %	65	50.3 %
95	50.9 %	85	50.2 %

Figura 12*Relación del rendimiento en el tiempo, para 900 RPM y 100 RPM***Tabla 7***Factores y niveles considerados para el diseño de experimentos*

Variables para el diseño de experimentos		Códigos de niveles		
		-1	0	1
Tiempo	Min	30	50	70
Velocidad del impulsor	RPM	100	500	900
Temperatura	°C	20	32.5	45

3.2.6.2 Búsqueda I o de primer orden, diseño de experimentos 2^k con punto central

En base a la experiencia de Lennin y Ruiz (2017), que trabajó con tres niveles para cada factor, planteamos un diseño de experimentos de tres niveles, para la temperatura, tiempo y velocidad de rotación. Cada nivel tendrá una notación, -1 corresponde para el nivel inferior, 0 para el nivel intermedio 1 como el nivel más alto.

Tabla 8*Resultados de los experimentos para el diseño de 2k con 4 puntos centrales*

Experimento	Temperatura °C	Tiempo min	RPM	Rendimiento
1	20	30	900	35,1 %
2	32.5	50	500	46,7 %
3	32.5	50	500	45,5 %
4	32.5	50	500	46,1 %
5	45	30	100	47,6 %
6	45	70	100	48,5 %
7	45	30	900	47,8 %
8	20	70	100	41,4 %
9	20	70	900	44,2 %
10	20	30	100	35,5 %
11	32.5	50	500	47,5 %
12	45	70	900	44,8 %

Utilizamos el software Minitab, para procesar estos resultados y obtenemos el análisis de varianza o ANOVA.

Tabla 9*Análisis de Varianza 2³ con punto central*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	8	0.022878	0.002860	39.17	0.006
Lineal	3	0.015237	0.005079	69.58	0.003
Tem	1	0.013141	0.013141	180.01	0.001
tiempo	1	0.002083	0.002083	28.53	0.013
RPM	1	0.000014	0.000014	0.19	0.693
Interacciones de 2 términos	3	0.004059	0.001353	18.53	0.019
Tem*tiempo	1	0.003631	0.003631	49.74	0.006
Tem*RPM	1	0.000421	0.000421	5.76	0.096
tiempo*RPM	1	0.000007	0.000007	0.10	0.776
Interacciones de 3 términos	1	0.000596	0.000596	8.16	0.065
Tem*tiempo*rpm	1	0.000596	0.000596	8.16	0.065
Curvatura	1	0.002985	0.002985	40.90	0.008
Error	3	0.000219	0.000073		
Total	11	0.023097			

3.2.6.3 Búsqueda II o de segundo orden, diseño de experimentos Box Behnken

Para los factores y niveles seleccionados anteriormente, realizamos el planteamiento de experimentos para un modelo Box Behnken y tenemos el siguiente diseño de experimento expresado en la tabla 7. Para los factores y niveles seleccionados anteriormente, realizamos el planteamiento de experimentos para un modelo Box Behnken y tenemos el siguiente diseño de experimento con los rendimientos obtenidos mediante los procedimientos indicados en el ANEXO 2.

Tabla 10*Resultados de los experimentos Box Behnken*

Experimento	Temperatura °C	Tiempo min	RPM	Rendimiento
1	32.5	50	500	46,7%
2	20	70	500	37,2%
3	32.5	70	900	44,5%
4	32.5	50	500	46,1%
5	32.5	50	500	47,3%
6	32.5	50	500	45,5%
7	32.5	70	100	44,7%
8	32.5	30	100	43,4%
9	45	50	900	47,7%
10	45	70	500	46,5%
11	45	30	500	46,7%
12	32.5	30	900	44,4%
13	45	50	100	46,8%
14	20	50	100	38,4%
15	20	30	500	30,0%
16	20	50	900	36,8%

Nuevamente utilizamos el Minitab para procesar estos datos y obtenemos los siguientes resultados.

Tabla 11
Análisis de Varianza Box Behnken

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	0.036744	0.004083	21.11	0.001
Lineal	3	0.026470	0.008823	45.62	0.000
RPM	1	0.000000	0.000000	0.00	0.986
MIN	1	0.000880	0.000880	4.55	0.077
TEMP	1	0.025590	0.025590	132.31	0.000
Cuadrado	3	0.008726	0.002909	15.04	0.003
RPM*RPM	1	0.000002	0.000002	0.01	0.914
MIN*MIN	1	0.002043	0.002043	10.56	0.017
TEMP*TEMP	1	0.006681	0.006681	34.54	0.001
Interacción de 2 factores	3	0.001548	0.000516	2.67	0.142
RPM*MIN	1	0.000034	0.000034	0.18	0.689
RPM*TEMP	1	0.000155	0.000155	0.80	0.405
MIN*TEMP	1	0.001358	0.001358	7.02	0.038
Error	6	0.001160	0.000193		
Falta de ajuste	3	0.000971	0.000324	5.12	0.106
Error puro	3	0.000189	0.000063		
Total	15	0.037905			

Tabla 12*Análisis de Varianza Box Behnken excluyendo el factor RPM*

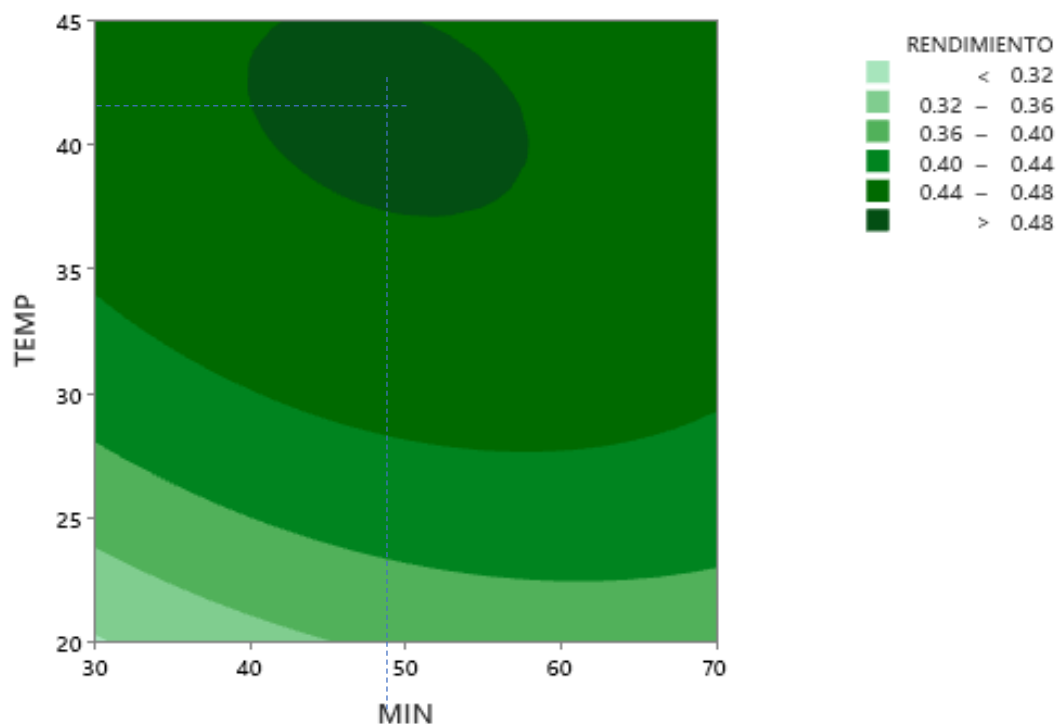
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	5	0.036553	0.007311	54.06	0.000
Lineal	2	0.026470	0.013235	97.87	0.000
MIN	1	0.000880	0.000880	6.51	0.029
TEMP	1	0.025590	0.025590	189.23	0.000
Cuadrado	2	0.008724	0.004362	32.26	0.000
MIN*MIN	1	0.002043	0.002043	15.11	0.003
TEMP*TEMP	1	0.006681	0.006681	49.40	0.000
Interacción de 2 factores	1	0.001358	0.001358	10.05	0.010
MIN*TEMP	1	0.001358	0.001358	10.05	0.010
Error	10	0.001352	0.000135		
Falta de ajuste	7	0.001163	0.000166	2.63	0.229
Error puro	3	0.000189	0.000063		
Total	15	0.037905			

Hallamos también una correlación para predecir el porcentaje de rendimiento en función de las variables temperatura y tiempo.

$$\text{Rendimiento} = - 0.2460 + 0.00857 \text{ MIN} + 0.02521 \text{ TEMP} - 0.000056 \text{ MIN*MIN} - 0.000262 \text{ TEMP*TEMP} - 0.000074 \text{ MIN*TEMP} \text{ ----- Ecuación (8)}$$

Figura 13

Gráfica de contorno de Rendimiento vs Temperatura y Tiempo



3.2.7 Etapa experimental de 4 litros

3.2.7.1 Pruebas con diversos impulsores

Según lo indicado en el marco teórico referente a la selección de impulsores, tenemos dos tipos principales de impulsores los que generan flujos radiales o axiales. Las pruebas que realizaremos serán en un reactor de 4 litros en el cual usaremos impulsores, que se diseñaron para este proyecto: Pitched 45°, pala marina de 3 aletas, Hydrofil y Rushton.

El reactor utilizado será un vaso de 4.5 litros marca PIREX, las medidas del volumen de reacción, bajo la notación de la gráfica 8, son las siguientes:

$Z = 22 \text{ cm}$

$T = 15.2 \text{ cm}$

$Z/T = 1.45$

A partir de esta información y utilizando las relaciones de las tablas 2 y 3, definimos que el tipo de mezcla como sólido en suspensión y que vamos a utilizar un agitador con dos impulsores. Tendremos las siguientes medidas para los espaciamientos desde la base y los impulsores.

$$C = T/4 = 3,8 \text{ cm}$$

$$S = 2Z/3 - T/4 = 11.7 \text{ cm}$$

Así mismo definimos el tamaño del diámetro del impulsor en 6 cm que es un centímetro más que la relación estándar planteada por McCabe que es un tercio del diámetro del reactor. La razón de este incremento es para facilitar la fabricación de estos impulsores. Posteriormente, compararemos los resultados en esta etapa con la fórmula de 0.5 litros.

Utilizamos el procedimiento para análisis de proteínas del ANEXO B y obtenemos los rendimientos en los tiempos indicados.

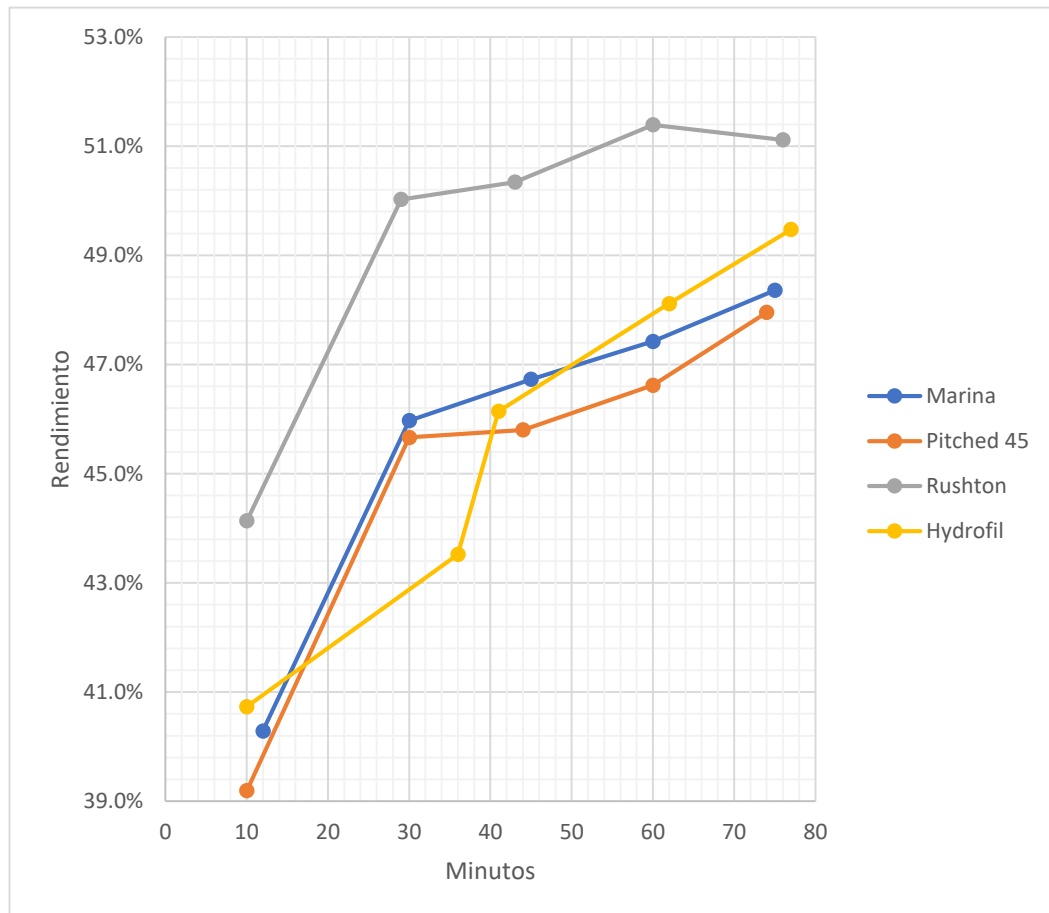
Tabla 13*Resultados de las pruebas en 4L con diferentes agitadores*

Impulsor	Rendimiento Promedio	Tiempo
Hélice Marina	40.3 %	12
	46.0 %	30
	46.7 %	45
	47.4 %	60
	48.4 %	75
Pitched	39.2 %	10
	45.7 %	30
	45.8 %	44
	46.6 %	60
	48.0 %	74
Rushton	44.1 %	10
	50.0 %	29
	50.3 %	43
	51.4 %	60
	51.1 %	76
Hydrofil	40.7 %	10
	43.5 %	36
	46.1 %	41
	48.1 %	62
	49.5 %	77

Obtenemos la siguiente figura.

Figura 14

Rendimiento de cada impulsor en el tiempo para el reactor de 4 litros



3.2.7.2 Modo de adición de reactivos

El agregar los reactivos fue de la misma forma que en la prueba del reactor de 0.5 litros. Primero hacemos que la temperatura del agua sea a 45 °C y luego agregamos la espirulina, la disolvemos y finalmente agregamos la solución de potasa caustica, para conseguir un pH entre 9.5 a 10.

En esta etapa constatamos que mientras más escalemos en volumen de reactor más difícil será agregar la espirulina en polvo y conseguir que la fase sólida se disperse en el líquido, se tendría muchos grumos en el seno del líquido o pegado en el impulsor o las paredes del reactor. Por ejemplo, en un reactor de 0.5 litros debemos agregar 15 gramos de espirulina. Luego en el reactor de 4 litros son 120 gramos y finalmente en el reactor

piloto de 400 litros serían 12 kilos. Por ello planteamos que el reactor piloto debe estar instalado en una planta de producción de espirulina y debe alimentarse espirulina luego de la etapa de concentración.

Figura 15

Prototipo del reactor de 4 litros



3.2.7.3 Obtención del número de potencia N_p

Según lo revisado en (Edward L. Paul, 2012), el N_p se calcula a partir de la medición del torque aplicado en el proceso, para ello el método sugerido es la utilización de galgas extensiométricas o reómetros modificados para medir el torque. Sin embargo, para la presente tesis no fue posible encontrar algún laboratorio que realice el servicio de medición de torque mediante estas técnicas u otras, por otro lado, comprar el equipo está fuera del presupuesto. Por ello calculamos la potencia en watts, midiendo el amperaje del agitador durante el desarrollo del experimento.

Reordenando la ecuación 4, el número de potencia es:

$$N_P = \frac{P}{\rho N^3 D^5} \dots \dots \dots (9)$$

Donde:

$$\rho = 1000 \text{ kgm}^{-3}$$

$$D = 0.06 \text{ m}$$

N en revoluciones por segundo RPS

P potencia en watts

Para obtener el dato de potencia, tenemos la relación del amperaje con la potencia cuando la corriente es estable y continua.

$$P = \text{Amperaje} \times \text{Voltaje} \dots \dots \dots (10)$$

El voltaje en el laboratorio es continua y estable en 220V, para medir la potencia del agitador vertical utilizaremos una pinza amperimétrica, uno de los cables de alimentación fue enrollado 10 veces formando un anillo en donde colocar la pinza de esta forma se amplificó por 10 la corriente eléctrica. Registramos diferentes amperajes, variando las revoluciones con ello conseguir una relación del número de Reynolds y el número de potencia N_p , para cada impulsor.

El arreglo fue tal como se muestra en la siguiente imagen, donde el voltaje es de 220 V, amperaje es el tomado en la lectura de la pinza amperimétrica marca PRASEK modelo PR-202A con una precisión de $\pm 2.0 \%$.

Figura 16*Disposición de los equipos para medir el amperaje***Tabla 14***Amperajes obtenidos a diferentes revoluciones*

RPS	AMPERAJE			
	Marina	Pitched	Hydrofil	Rushton
1.7	0.027	0.028	0.027	0.028
3.3	0.029	0.029	0.028	0.03
5.0	0.0305	0.03	0.029	0.035
6.7	0.033	0.031	0.03	0.044
8.3	0.037	0.033	0.031	0.058
10.0	0.043	0.035	0.033	0.076
11.7	0.05	0.039	0.035	0.105
13.3	0.058	0.043	0.038	0.14
15.0	0.071	0.048	0.041	0.185
16.7	0.087	0.054	0.044	0.25
18.3	0.100	0.068	0.057	0.32
20.0	0.115	0.088	0.074	0.42
21.7	0.1450	0.112	0.095	0.535
23.3	0.185	0.139	0.119	0.67
25.0	0.225	0.17	0.146	0.82

Luego utilizando la Ecuación 9, obtenemos el Np.

Tabla 15

Números de potencia de los diferentes impulsores

RPS	Número de potencia - Np			
	Marina	Pitched	Hydrofil	Rushton
1.7	1650	1711	1650	1711
3.3	222	222	214	229
5.0	69	68	66	79
6.7	32	30	29	42
8.3	18	16	15	28
10.0	12	10	9	22
11.7	9	7	6	19
13.3	7	5	5	17
15.0	6	4	3	16
16.7	5.3	3.3	2.7	15.3
18.3	4.6	3.1	2.6	14.7
20.0	4.1	3.1	2.6	14.9
21.7	4.0	3.1	2.6	14.9
23.3	4.1	3.1	2.7	14.9
25.0	4.1	3.1	2.6	14.8

A continuación, obtenemos el número de Reynolds para el reactor de 4 litros y lo relacionamos con el Np, ambos en base logarítmica.

La relación para el número Re, en un reactor agitado es:

$$Re = \frac{\rho ND^2}{\mu} \dots \dots \dots (11)$$

$$\rho = 1000 \text{ Kgm}^{-3}$$

D diametro del impulsor en metros

N en revoluciones por segundo RPS

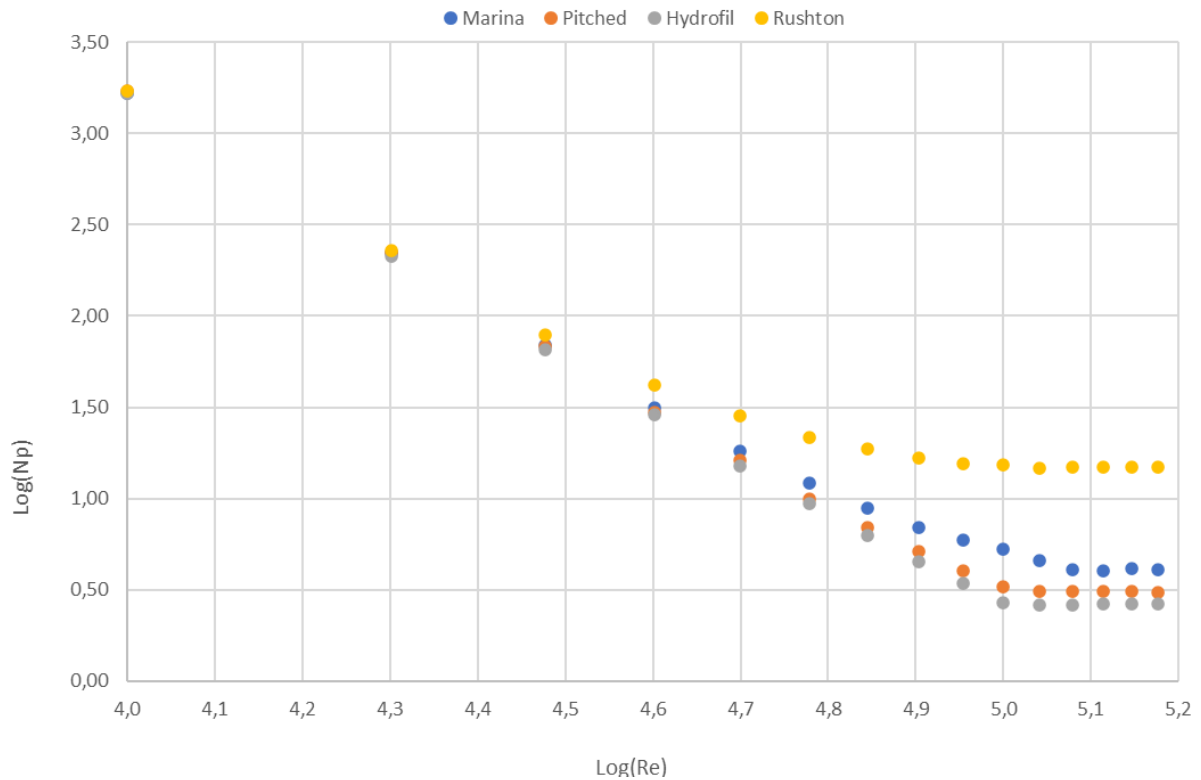
$$\mu = 0.006 \text{ Pa.s}$$

Viscosidad del agua a 45°C de (Cengel, Y.A. 2007) en la tabla A 9. Apéndice 1

Tabla 16*Relación de Np y Re en base logarítmica*

RPS	-Log(Po)				Log(Re)
	Marina	Pitched	Hydrofil	Rushton	
1.7	3.22	3.23	3.22	3.23	4.0
3.3	2.35	2.35	2.33	2.36	4.3
5.0	1.84	1.83	1.82	1.90	4.5
6.7	1.50	1.47	1.46	1.62	4.6
8.3	1.26	1.21	1.18	1.45	4.7
10.0	1.09	1.00	0.97	1.33	4.8
11.7	0.95	0.84	0.79	1.27	4.8
13.3	0.84	0.71	0.66	1.22	4.9
15.0	0.77	0.60	0.54	1.19	5.0
16.7	0.73	0.52	0.43	1.18	5.0
18.3	0.66	0.49	0.42	1.17	5.0
20.0	0.61	0.49	0.42	1.17	5.1
21.7	0.61	0.49	0.42	1.17	5.1
23.3	0.61	0.49	0.42	1.17	5.1
25.0	0.61	0.49	0.42	1.17	5.2

Figura 17
Relación de $-\log(N_p)$ y $\log(Re)$



3.3 Escalamiento de reactor de 4 litro a 400 litros

Los criterios para desarrollar la propuesta del reactor piloto según Tatterson (2002), adaptado a lo desarrollado hasta el momento, son los siguientes:

1. Es necesario alcanzar el mismo grado de mezcla en el reactor de 400 litros que en el reactor de 4 litros.
2. En una reacción real, esta se lleva a cabo en zonas determinadas del reactor y no en todo el volumen del reactor.
3. La tarea que debe cumplir el reactor es la ruptura de la pared celular.
4. La modificación del impulsor, la velocidad de rotación o la geometría del reactor, producen cambios en el rendimiento de la reacción, pero estos no se pueden saber a priori es necesario realizar pruebas.

5. La alimentación de la espirulina debe realizarse en fase acuosa tal como se muestra en el diagrama de flujo en la figura 2. Ya que tener la espirulina en polvo, para luego hacer una solución presenta dificultades operativas como la formación de grumos. además de ser económicamente ineficiente, ya que el proceso de secado y envasado no tendría sentido. Por ende, la planta piloto debe instalarse en una planta de producción de espirulina.
6. En base a lo desarrollado para el reactor de 4 litros utilizaremos el principio de similaridad geométrica para diseñar un reactor de 400 litros, de esta forma solamente tendremos que utilizar las relaciones de energía y el número de potencia N_p .
7. El criterio de escalamiento se realizará a partir de mantener la cantidad de energía por unidad de volumen P/V constante.
8. No tendremos impacto por el cambio de régimen ya que tanto las pruebas en el reactor de 4 litros y 400 litros están en régimen turbulento.
9. Se debe tener en cuenta que el tiempo de mezcla va siendo cada vez más grande a medida que un equipo es más grande. Por ello el escalamiento de las operaciones de mezclado son impredecibles.

3.3.1 Predicción de la potencia requerida

En base a los datos obtenidos del consumo eléctrico para el reactor de 4 litros y conservando la similaridad geométrica para diseñar un reactor de 400 litros, realizaremos la predicción de la cantidad de energía necesaria. Teniendo en cuenta la cantidad de energía utilizada en las pruebas experimentales obtenemos el siguiente cuadro.

Tabla 17*Relación Potencia Volumen para reactor de 4 litros*

RPM	RPS	P/V (W/m ³)			
		Marina	Pitched	Hydrofil	Rushton
100	1.67	1485	1540	1485	1540
200	3.33	1595	1595	1540	1650
300	5.00	1677.5	1650	1595	1925
400	6.67	1815	1705	1650	2420
500	8.33	2035	1815	1705	3190
600	10.0	2365	1925	1815	4180
700	11.7	2750	2145	1925	5775
800	13.3	3190	2365	2090	7700
900	15.0	3905	2640	2255	10175
1000	16.7	4785	2970	2420	13750

Luego tomamos la referencia de Towler (2022), la cantidad de energía por unidad de volumen que es típico en la industria.

Tabla 18*Cantidades típicas de potencia por unidad de volumen en la industria*

Tipo de agitación	Aplicaciones	kW/m ³
Leve	Mezcla simple	0.04 – 0.1
	Reacciones homogéneas	0.01 – 0.03
Medio	Transferencia de calor	0.03 – 1.0
	Mezcla líquida – líquido	1.0 – 1.5
Severo	Suspensión de sólidos	1.5 – 2
	Absorción de gases	1.5 – 2
	Emulsiones	1.5 – 2
Violento	Suspensión de sólidos finos	> 2

Nota: Extraído de Chemical Engineering Design Principles, Practice and Economics of Plant and Process Design. Towler, 2022

Con esta información y contrastando con los valores de la Tabla 18, vemos que no podemos considerar los valores P/V de todo el rango de experimentación ya que sería excesivo. Descartamos de esta forma el trabajar con velocidades de rotación elevadas.

Entonces, vamos a considerar como criterio de diseño que la relación de potencia con el volumen será como máximo 1600 W/m^3 , considerando la solución como una suspensión de sólidos.

Seguidamente considerando que el volumen final al que se trabajará será de 400 litros o 0.4 m^3 , multiplicamos la tabla 18 por 0.4 y obtendremos.

Tabla 19
Potencia prevista del agitador para el reactor de 400 litros

RPS	Potencia (Watts)			
	Marina	Pitched	Hydrofil	Rushton
1.67	594	616	594	616
3.33	638	638	616	660
5.00	671	660	638	770
6.67	726	682	660	968

Entonces según el criterio de mantener el P/V constante tendremos que dependiendo del tipo de impulsor tendremos un rango de trabajo desde 0.61 a 0.67 kW.

3.3.2 Determinación del rango de velocidad de rotación

Para determinar la rotación de operación del reactor de 400 litros utilizaremos la gráfica N_p en función del Re obtenida en la parte experimental. Haremos una búsqueda de los datos de N_p a partir de los valores de Re para el diámetro del reactor de 400 litros.

Tabla 20*Dimensiones de los reactores manteniendo la relación $Z/T = 1.45$*

V 1 (L)	4	V 2 (L)	400
Z 1(cm)	22	Z 2 (cm)	102.2
T 1(cm)	15.2	T 2(cm)	70.6
D 1 (cm)	6	D2 (cm)	28

Hallamos el número de Reynolds para el diámetro del reactor de 400 litros D2 y la contrastamos con cada curva de los impulsores de la figura 18. Verificamos que para los Re obtenidos estamos en una zona donde los Np son constantes.

Tabla 21*Rango de rotación para impulsor marino para reactor 400 litros conservando P/V constante*

Marina			
RPS	Log (Re)	Log (Np)	P (W)
3.3	5.65	0.61	270.97
3.7	5.69	0.61	360.66
4.0	5.73	0.61	468.24
4.3	5.76	0.61	595.32
4.7	5.79	0.61	743.54
5.0	5.82	0.61	914.52

Tabla 22*Rango de rotación para Hydrofill marino para reactor 400 litros conservando P/V constante*

Hydrofill			
RPS	Log (Re)	Log (Np)	P (W)
4.7	5.79	0.42	480
5.0	5.82	0.42	590
5.3	5.85	0.42	717
5.7	5.88	0.42	860
6.0	5.90	0.42	1020
6.3	5.93	0.42	1200

Tabla 23

Rango de rotación para impulsor Pitched 45° para reactor 400 litros conservando P/V constante

Pitched			
RPS	Log(Re)	Log(Np)	P (W)
4.0	5.73	0.49	355
4.3	5.76	0.49	452
4.7	5.79	0.49	564
4.8	5.81	0.49	627
5.0	5.82	0.49	694
6.7	5.95	0.49	1644

Tabla 24

Rango de rotación para impulsor Rushton para reactor 400 litros conservando P/V constante

Rushton			
RPS	Log(Re)	Log(Np)	P (W)
2.3	5.49	1.17	337.45
2.5	5.52	1.17	415.05
2.7	5.55	1.17	503.72
2.8	5.58	1.17	604.20
3.0	5.60	1.17	717.21
3.2	5.62	1.17	843.51

En resumen, las velocidades de rotación para cada impulsor alcance la potencia requerida se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 25

Velocidades de rotación que mantienen la relación P/V en un reactor de 400 litros

VELOCIDAD DE ROTACIÓN EN RPS			
Marina	Hydrofill	Pitched	Rushton
4.3	5	4.8	2.8

En la etapa de escalamiento de reactor piloto debemos validar si con esta cantidad de potencia es posible obtener un rendimiento similar al obtenido en etapas anteriores.

3.3.3 Simulación CFD para un reactor de 400 litros

Realizaremos una simulación para los impulsores dobles dentro de una aplicación del software COMSOL Multiphysics en el módulo de mezcla, dentro de esta aplicación no se tenía disponible el impulsor pala marina, diseñar la geometría y la simulación esta fuera del alcance de esta tesis. Utilizaremos la velocidad de rotación de la Tabla 25.

- Impulsor Hydrofill

Figura 18

Patrón de flujo, Reactor Z/T=1.45, Impulsor Hydrofill, 5 RPS

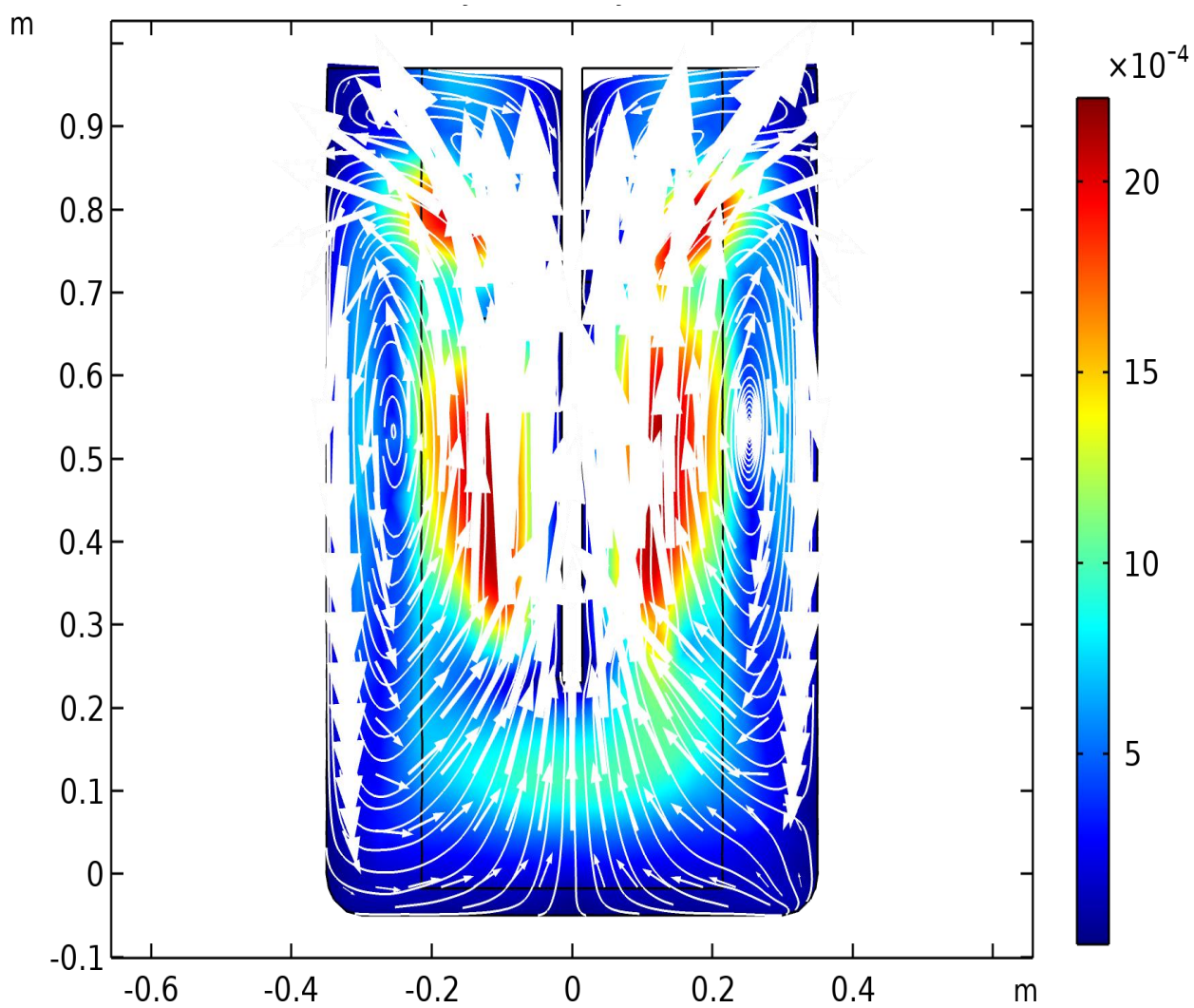
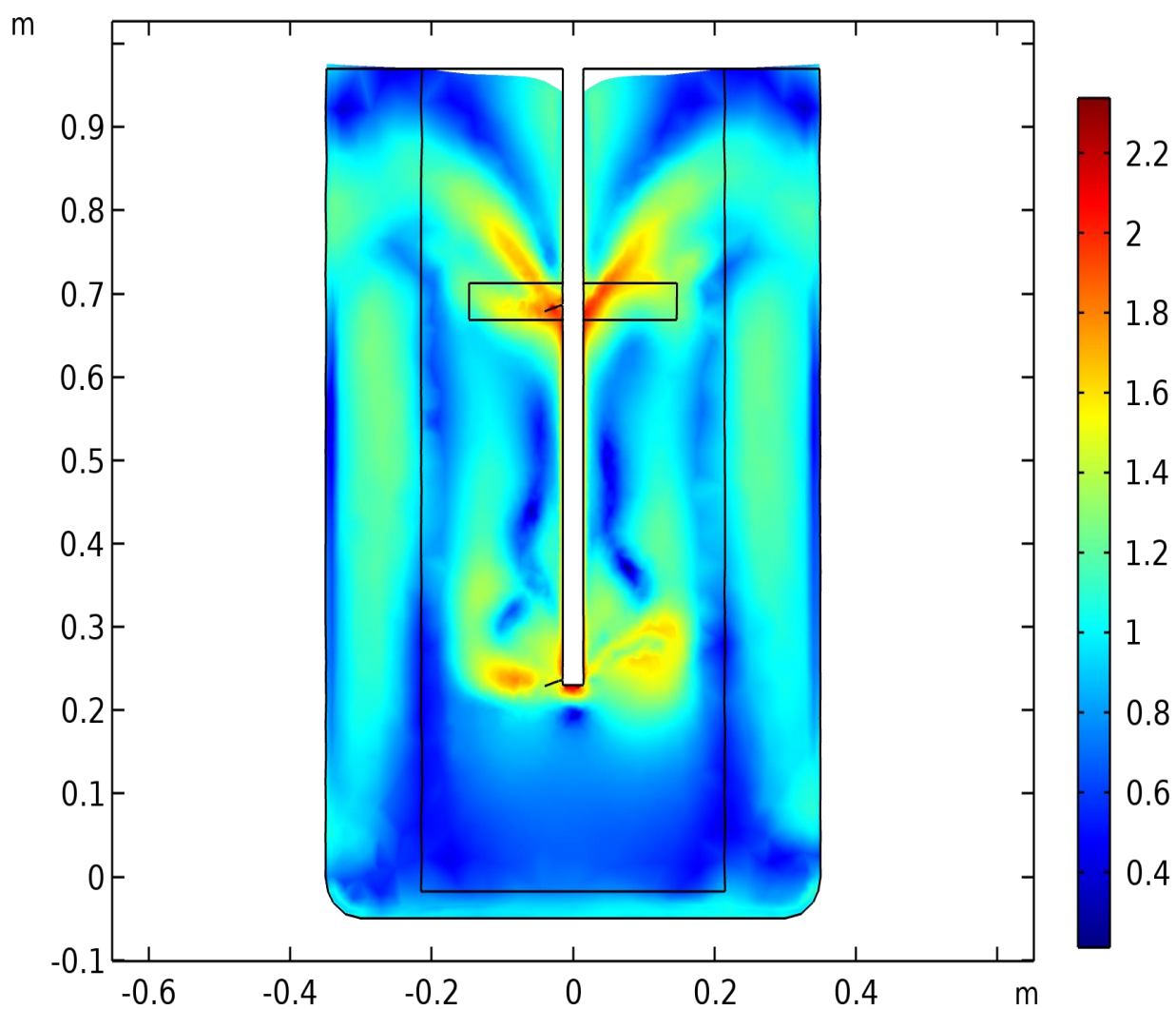


Figura 19

Shear Rate 1/s, Reactor Z/T=1.45, Impulsor Hydrofill, 5 RPS



- Impulsor Pitched 45°

Figura 20

Patrón de flujo Reactor Z/T=1.45, Impulsor pitched, 4.8 RPS

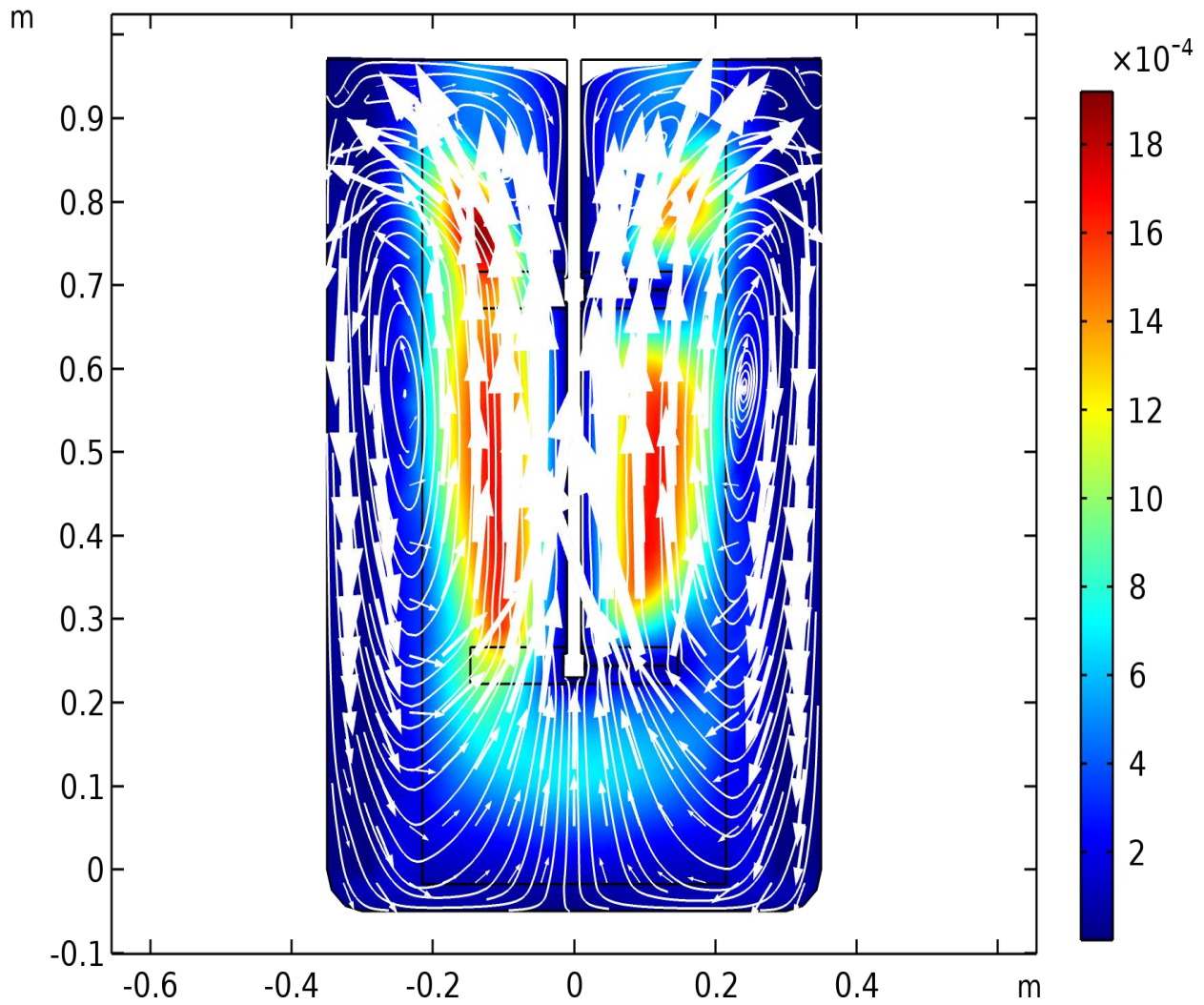
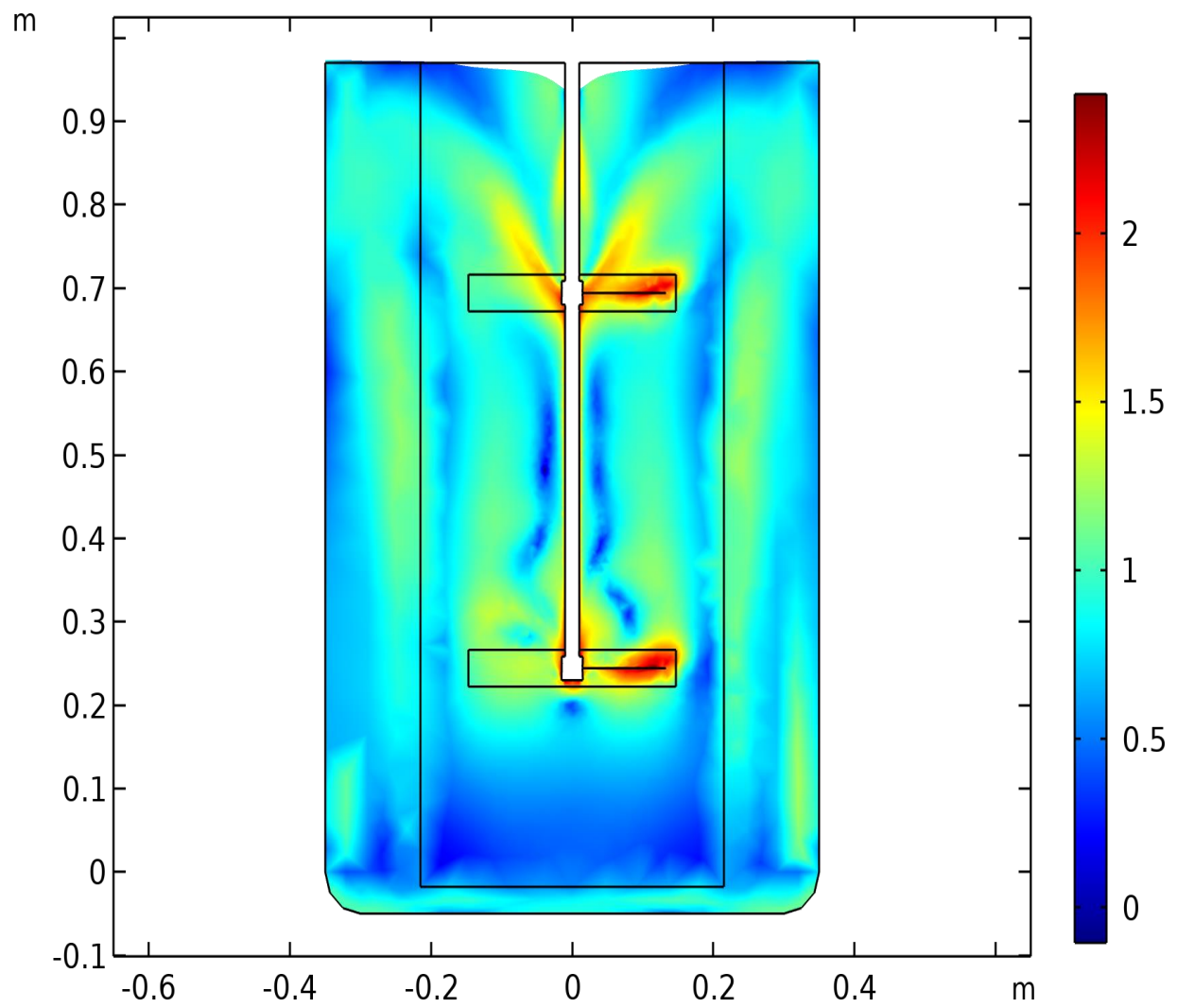


Figura 21

Shear Rate 1/s, Reactor Z/T=1.45, Impulsor pitched, 4.8 RPS



- Impulsor Rushton

Figura 22

Patrón de flujo Reactor Z/T=1.45, Impulsor Rushton, 2.8 RPS

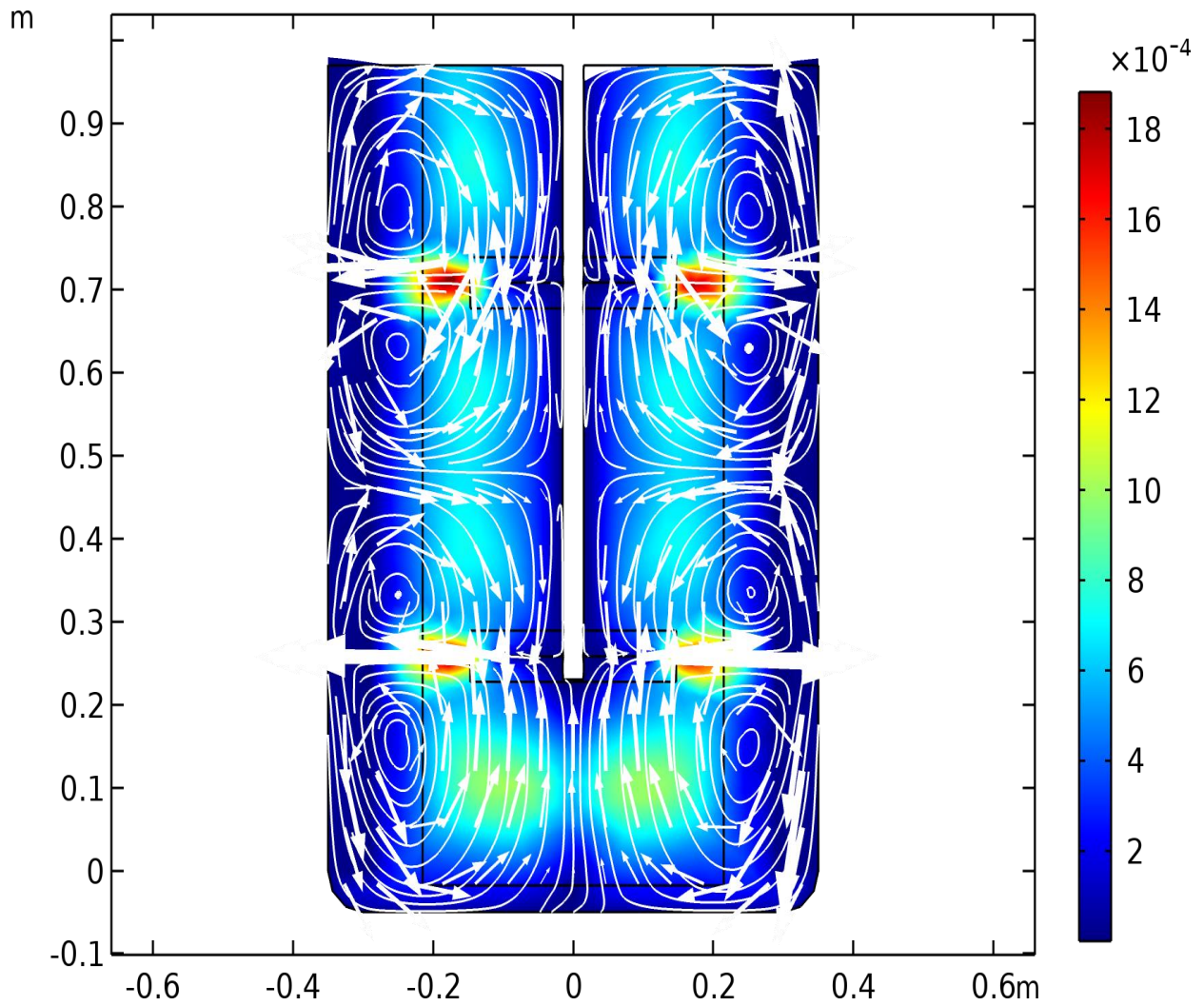
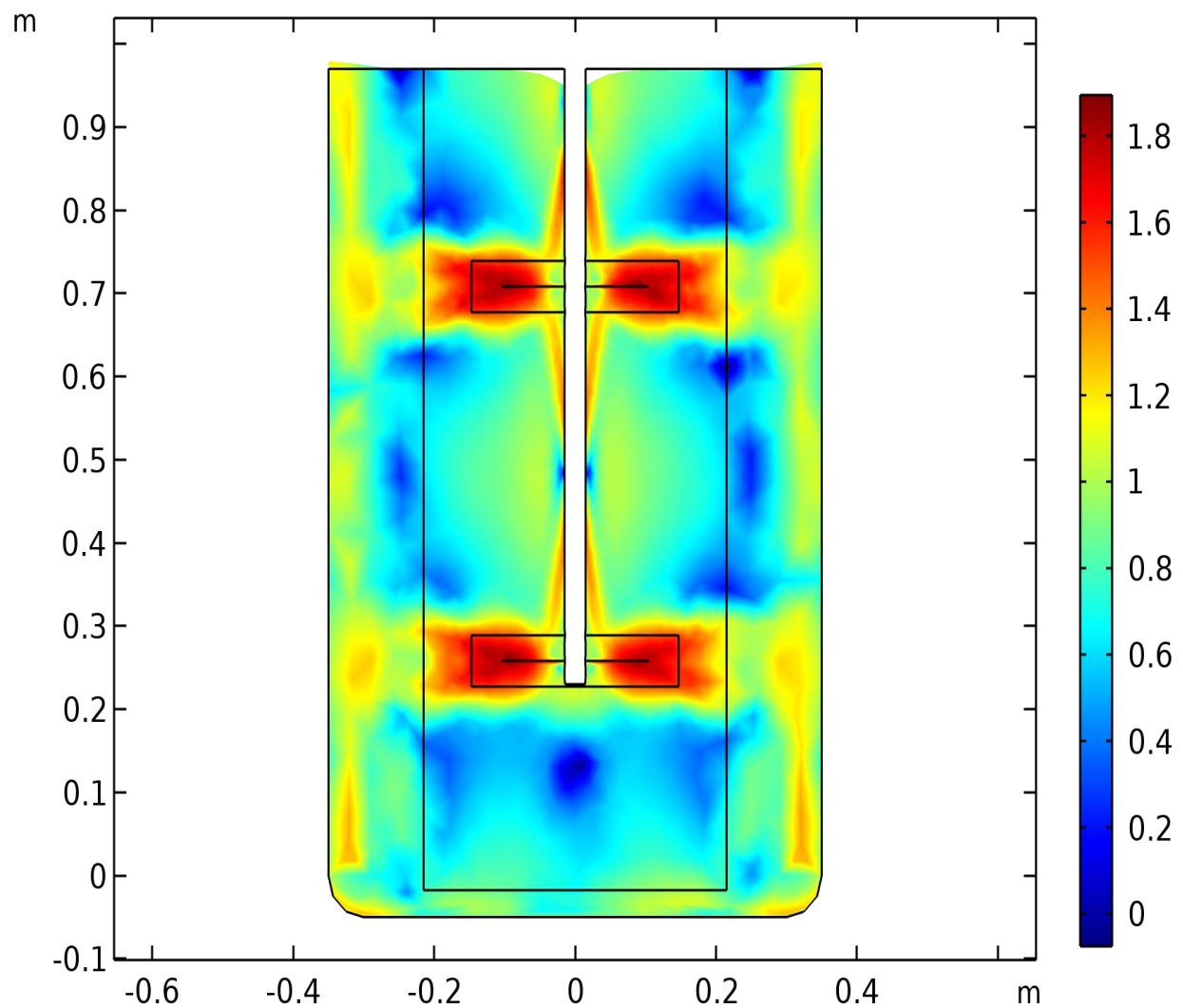


Figura 23

Shear Rate 1/s, Reactor Z/T=1.45, Impulsor Rushton, 2.8 RPS



Capítulo IV. Análisis y discusión de resultados

4.1 Determinación de los factores y niveles

En la Figura 12, notamos que para el minuto 50, la prueba de 900 RPM a extraído 48 % mientras que la prueba de 100 RPM ha logrado cerca del 40 % de extracción, es una diferencia notoria de la capacidad de extracción. Por el lado del rendimiento, para obtener un rendimiento del 50 %, para la prueba de 900 RPM la obtenemos en 60 min, pero para la prueba de 100 RPM lo obtenemos en 90 min.

Por lo tanto, vemos que la agitación podría ser una variable significativa para la extracción de proteínas, sin embargo, aun desconocemos cuál será su interacción con los demás factores en el experimento. Consideraremos el rango de estudio desde los 100 RPM hasta los 900 RPM y el tiempo desde 30 a 70 min.

En el caso de la temperatura, aplicaremos el mismo criterio que Lupatini (2016) usaremos una temperatura por debajo de 60 °C para evitar la desnaturalización de las proteínas y trabajamos como máximo a 45 °C, además de reducir los recursos necesarios para el funcionamiento de un reactor de mayor capacidad. En conclusión, definimos las siguientes factores y niveles, tal como lo indica la Tabla 7.

Trabajaremos en un solo bloque, ya que tendremos los mismos equipos de trabajo, un solo lote de espirulina, el mismo experimentador y ambiente de trabajo. Para anular todo efecto indeseable, como es el caso de las variables ambientales desarrollaremos las pruebas en orden aleatorio (Gutiérrez 2012).

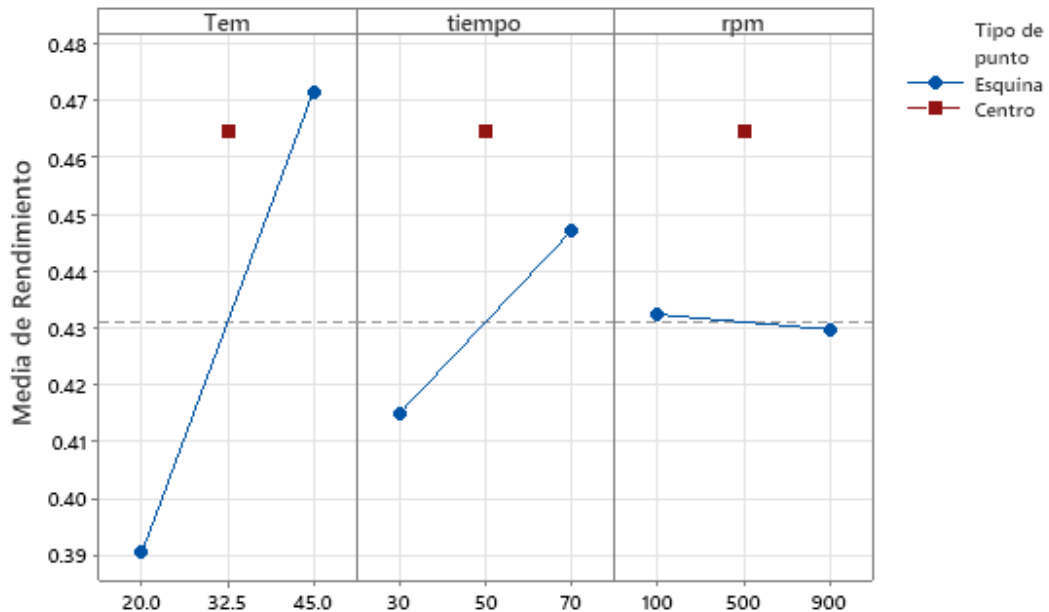
4.2 Resultados de los experimentos 2k con punto central

Los resultados de las Tablas 8 y 9, nos indican que los factores que tienen una interacción lineal significativa son la temperatura y el tiempo. Además, que las interacciones con el factor de velocidad de rotación RPM, son poco significativas.

Finalmente evidenciamos que tenemos presencia de curvatura con un $p = 0.008$ ($p < 0.05$). Esto nos indica que debemos continuar con un modelo de segundo orden.

Figura 24

Efectos principales para la variable rendimiento 2^3 con punto central



Complementariamente a la ANOVA, tenemos la gráfica de efectos principales para el rendimiento. En cada mini gráfica está indicada los puntos extremos en función del rendimiento, entonces a mayor pendiente mayor influencia del factor. Además, nos muestra el punto central de las interacciones, mientras este punto este más alejado de la línea del factor, nos indica que se puede tener mayor curvatura. En el caso del tiempo el rendimiento máximo puede estar más cercano a los 50 min que a los 70. En el caso de los RPM es un factor que no tiene mucha significancia, el rendimiento es el mismo a los 100 o 900 RPM.

4.3 Resultados de los experimentos Box Behnken

El ANOVA, se presenta en la Tabla 11, donde comprobamos que la temperatura tiene una influencia significativa tanto como termino lineal, cuadrático y con la interacción del tiempo. Se continúa comprobando que la velocidad de rotación RPM del impulsor no

es significativa, para este experimento, por ello para hallar las variables óptimas en esta dimensión del reactor 0.5 litros, excluirémos el factor de RPM y repetiremos el análisis de varianza.

En este análisis de varianza, donde se ha excluido la variable velocidad de rotación, se tienen todos los términos de forma significativa tanto los lineales, cuadráticos y de interacción. Se procedió a realizar el ajuste para una correlación (la ecuación 11), donde obtenemos un R^2 de 96,43 %. También obtenemos la gráfica de contorno temperatura versus tiempo.

Con la ayuda de la Figura 13, encontramos el rendimiento máximo en el centro del área indicada de color verde oscuro, donde el mayor rendimiento es 48 % y se alcanza aproximadamente en los valores 48 min y 42 °C.

4.4 Desarrollo del escalamiento 0.5L – 4L

De la figura 14 observamos que el impulsor Rushton, el cual es un agitador de tipo radial, alcanza un rendimiento de 50 % en 30 min y se mantiene prácticamente en ese valor casi toda la experiencia. Por otro lado, los impulsores de tipo axial muestran un desarrollo más lento, eventualmente alcanzarán el rendimiento máximo conseguido por el impulsor Rushton de 52 % pero en tiempo superior a 80 minutos.

4.4.1 Verificación de la correlación obtenida

Considerando los valores del tiempo de la Tabla 13 y la Figura 14, vamos a verificar la correlación obtenida con el modelo de superficie Box Behnken. Primero vamos a obtener valores directamente de la correlación obtenida en la etapa de 0,5 L, la ecuación 10.

Tabla 26

Rendimientos obtenidos usando la correlación para $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$

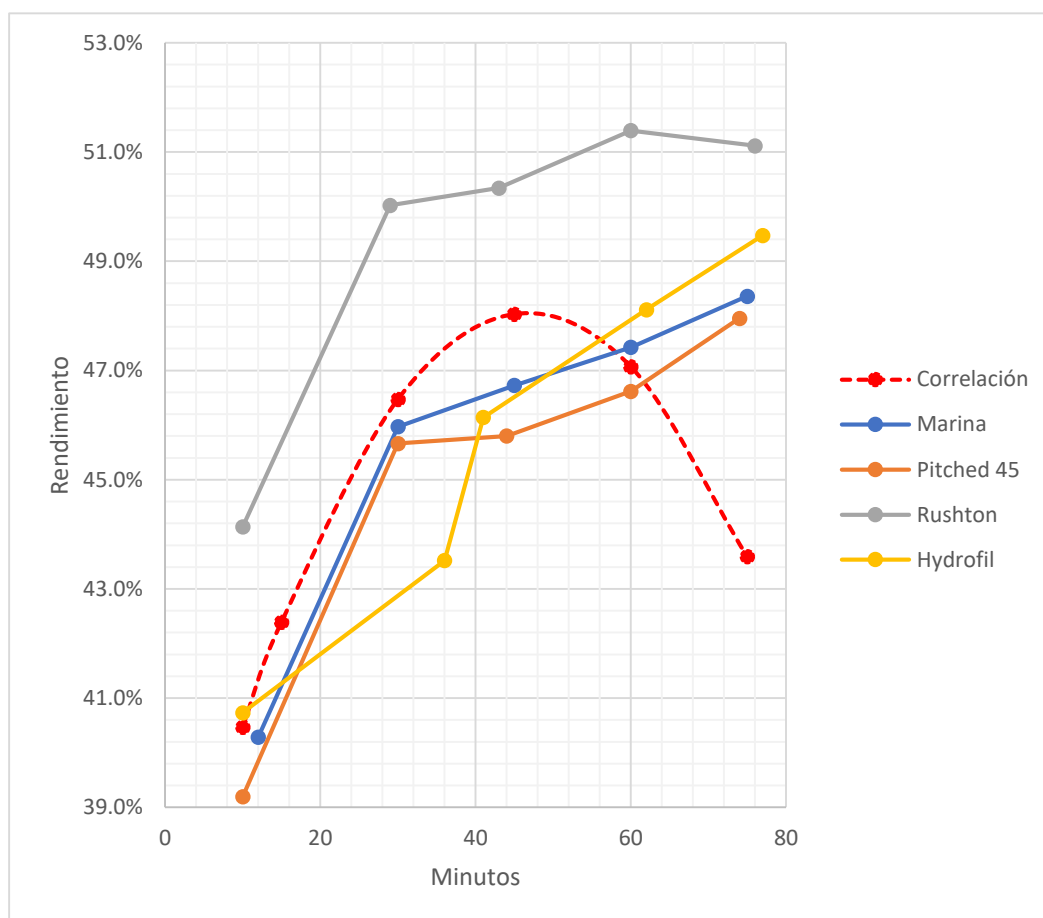
Tiempo (min)	Rendimiento
10	40.5 %
15	42.4 %
30	46.5 %
45	48.0 %
60	47.1 %
75	43.6 %

Luego graficaremos sobre la figura 16, obtenemos la figura 19. Observamos que la correlación se ajusta bien dentro de los primeros 30 minutos con los impulsores de hélice marina y pitched 45, luego en el punto de máximo rendimiento para la curva de correlación, en concordancia con la gráfica 15, es de 48%, estando alejado de todos los puntos de rendimiento de las demás curvas.

En esta escala se hace evidente que el impulsor Rushton obtiene mejor performance en función de los demás impulsores y la correlación.

Figura 25

Predicción del rendimiento usando la correlación de laboratorio en un reactor de 4 litros vs diferentes impulsores.



4.4.2 Obtención de la relación N_p y Re

Según lo descrito en el apartado 2.2.4.3.1 Número de potencia, en analogía con la figura 8, tenemos que, para nuestros impulsores y reactor, la Fig 17, de relación $-\log(N_p)$ y $\log(Re)$, el tramo de pendiente negativa es régimen laminar, esto es desde 4.0 hasta $\log(Re)$ igual a 4.6 y el régimen turbulento inicia en $\log(Re)$ igual a 5.0. En la misma figura también verificamos que el impulsor Rushton demanda mayor energía que los otros 3 impulsores.

4.4.3 Predicción de la potencia requerida por el reactor piloto

La potencia requerida está ligada a la velocidad de rotación que tendrá nuestro reactor piloto, esta potencia a la vez debe cumplir los criterios de mantener una ratio de

P/V constante y el mismo grado de turbulencia, esto se logró utilizando la gráfica de 17 los valores de potencia típicas listadas en la tabla 18. La tabla 25 nos muestra las velocidades que requiere cada impulsor para conseguir un P/V aproximado de 590 a 630 watts.

4.4.4 Simulación CFD

Con la información de la Tabla 25 y utilizando un subprograma de CFD dentro del software COMSOL Multiphysics, obtenemos las figuras para los impulsores, Hydrofill, Pitched y Rushton.

Los patrones de flujo de cada impulsor, presentadas en las Figuras 18, 20 y 22, son correspondientes a sus diseños en el caso de los axiales, tenemos un flujo que es impulsado por toda la altura del reactor mientras que en el único impulsor de tipo radial el flujo se empuja a las paredes.

Debemos remarcar que la Figura 23 de shear rate, indican que el impulsor Rushton genera más esfuerzos cortantes que los otros dos impulsores.

4.4.5 Diseño del reactor piloto

4.4.5.1 Dimensiones del reactor

En la Tabla 26, tenemos el diámetro total de 70.6 cm y una altura de 102.2 cm, pero recordemos que esos valores corresponden al volumen de trabajo o al volumen en donde la reacción tendrá lugar. Para determinar la medida del reactor debemos considerar las particularidades de la reacción, por ejemplo, en nuestra reacción se genera espuma, la cantidad de espuma en la escala de 0.5 litros era escasa, pero en la escala de 4 litros, la cantidad de espuma era considerablemente mayor, por lo tanto, a una escala de 400 litros, la espuma generada será abundante, por ello consideramos una altura total del reactor 130 cm para tener 28 cm para la espuma. El diámetro interno lo dejaremos en 72 cm, consideramos que no hay razón para modificar esta medida.

4.4.5.2 Dimensiones del impulsor

En base a los resultados obtenidos, escalaremos el impulsor Rushton el cual cumple mejor la tarea de ruptura de pared celular además de obtener un mejor rendimiento, las medidas se tomarán proporcionales a la escala de 4 litros.

Tabla 27

Dimensiones del impulsor Rushton para el reactor piloto

Diámetro del disco	21 cm
Longitud aspa	10 cm
Ancho aspa	6 cm
Longitud de adhesión del aspa al disco	3 cm

Según lo expuesto en la tabla 4 y la Figura 7, las ubicaciones de los impulsores, en referencia a la base del reactor, son: el primero a 35 cm de la base y el otro a 70 cm.

4.4.5.3 Material de construcción

Según Thomas F. O'Brien (2005) En material adecuado para fabricar este reactor es el acero inoxidable de grado alimentario 316, por dos razones, por ser el material compatible para trabajar con una solución corrosiva de NaOH y ser grado alimentario. Dentro de la industria alimentaria el acero inoxidable es considerado el mejor material para la fabricación de alimentos, ya que la corrosión es casi inexistente y el material es de baja rugosidad permitiendo su correcto lavado.

4.4.5.4 Calentamiento de reactor

Para plantear un modo de calentamiento del reactor de 400 litros debemos tener en cuenta lo siguiente, el calentamiento debe realizarse de forma similar a la realizada en el reactor de 4 litros, es decir el calor debe suministrarse desde toda el área lateral del reactor, no se recomienda utilizar un calentador sumergido dentro del reactor, ya que las altas temperaturas pueden afectar a las proteínas (Lupatini 2016), por ello sugerimos un reactor enchaquetado.

4.4.5.5 Instrumentación

Los parámetros de reacción que tenemos que controlar son tanto la temperatura como el pH. Las condiciones de operación e instalación son:

- Rango de pH entre 8 a 12
- Temperatura de operación entre 20 °C a 70 °C
- Solución alcalina, en base a NaOH.
- Presión atmosférica
- Unión roscada de ½"

4.4.5.6 Medidor de pH

Según las condiciones indicadas, el instrumento que propondremos para el reactor piloto es el pH Sensor InPro4800 de la marca Mettler Toledo. La sensibilidad del pH en el reactor piloto dependerá del tiempo en el cual la agitación consiga distribuir o diluir totalmente la solución de soda y también de la posición en la cual se coloque el pHmetro lejos o cerca del punto de adición de soda cáustica. La posición para la instalación es a 260 mm de la base del reactor en un acople roscado de ½".

4.4.5.7 Medidor de temperatura

Según las condiciones indicadas, el instrumento que propondremos para el reactor piloto es un RTD PT 100 con vaina de acero inoxidable con una conexión de 3 hilos. Marca Pyromation. Con un rango de operación de -30 a 200 °C, con una tolerancia de $\pm (0.15 + 0.002 \cdot t)$ °C. Contará con una pantalla Marca SIEMENS. La posición para la instalación es a 880 mm de la base del reactor en un acople roscado de ½".

4.4.5.8 Propuesta del plan de pruebas para el reactor piloto de 400 litros

1. Tal como en las escalas anteriores, en la escala piloto se deben conseguir resultados que nos permitan diseñar un reactor para producción industrial con

una capacidad de extracción de proteínas cercana o superior a la obtenida en laboratorio.

2. Para esa etapa proponemos las siguientes pruebas para conseguir los objetivos planificados en el apartado vi del capítulo 2.
3. Medición del consumo de energía con galgas extensiométricas o torquímetros.
4. Realizar las pruebas de agitación con el impulsor Rushton, tomando el tiempo en 45 min a una temperatura de 45 °C y variando la velocidad, tomamos como línea base 168 RPM, valor obtenido en el diseño. Tal como se muestra en la tabla:

Tabla 28

Pruebas para la agitación del reactor piloto

Variaciones	RPM
línea base + 15%	193
línea base + 10%	185
línea base + 5%	176
línea base	168
línea base - 5%	160
línea base - 10%	152
línea base - 15%	144

Dado que la adición de soda caustica al reactor, no genera liberación de calor o gases, se espera que este comportamiento se mantenga a escala piloto. Se tiene previsto es una altura de 28 cm adicional por la espuma que se generaría en esta escala. La solución de soda cáustica se puede agregar manualmente.

4.4.5.9 Motor del agitador

Consideramos un motorreductor coaxial de 1.5 HP con variador de frecuencia para variar la velocidad.

4.4.5.10 Presupuesto

El presupuesto de para la fabricación del reactor piloto y los instrumentos se tomaron en base a cotizaciones de proveedores y se muestran en la tabla 29.

Tabla 29

Costo estimado para el reactor piloto

Concepto	Costo
Reactor con agitador	\$ 29500
pH metro	\$ 2633
Sensor de temperatura	\$ 2368
Sub Total	\$ 34501
Otros gastos asociados 15%	\$ 5175
Capex Total	\$ 39676

Calculamos el costo del consumo de electricidad de la siguiente manera, para el motor del agitador de 1.5 HP, podemos considerar que se va utilizar durante 12 horas ya que será un reactor operado en batch, es necesario limpiarlo y volver a llenarlo entre cada prueba. Tenemos entonces un uso de 13.4 kWh/día teniendo un costo de 0.1237 USD/kWh (Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería [OSINERGMIN]), obtenemos un costo de 1.65 USD/día

Calculamos el costo del consumo de vapor, considerando la cantidad de energía mediante el uso de la formula

$$Q = C_p \cdot \Delta T \cdot m \quad (12)$$

Donde :

Q = Calor necesario para elevar la temperatura

Cp = Capacidad calorífica del agua 4.186 KJ/kg.°C

ΔT = Variación de temperatura 42 °C – 20 °C será 22 °C

m = Masa será de 400 kg

Al final tenemos una necesidad calorífica de 36837 kJ/batch, en relación al uso del agitador que podemos hacer 12 pruebas durante 24 horas, tendremos un requerimiento calorífico de 442041 KJ/día, con un costo de 7.2 USD/MMBTU (Manrique, 2023), tenemos un costo de 3,02 USD/día

Respecto al agua necesaria, necesitaremos 400 litros por cada batch, para las 12 pruebas que se pueden realizar vamos a requerir 4.8 m³, considerando un costo por metro cubico de agua osmotizada de 1.17 USD/m³ (Carreras,2018), tenemos un costo de 5.62 USD/día.

Sumando todos los costos de los servicios tenemos 10.29 USD/día, si consideramos un factor de 1.2 por las ineficiencias de los equipos y otros factores no considerados, en un mes tendremos un OPEX total de 370 USD.

Conclusiones

1. En las etapas de revisión de antecedentes y experimentación a nivel laboratorio identificamos las variables críticas y sus valores para obtener una extracción óptima, como son: la temperatura 45 °C, el tiempo 48 min, pH 9.5 – 10 y relación masa espirulina/ agua de 30 gL⁻¹, con un rendimiento de 48 %. Para la etapa de 0.5 litros obtuvimos una correlación la cual no era válida totalmente para la escala de 4 litros, no se acercaba a los valores máximos. Esto es coherente con el método planteado, ya que cada etapa del escalamiento tiene un objetivo específico que cumplir, en el caso de la etapa de 4 litros es determinar el efecto del tipo de agitación en la reacción, en la etapa de 0.5 litros la agitación no era una variable significativa.
2. Para el reactor de laboratorio 4 litros, hallamos que utilizando un impulsor de tipo Rushton obtenemos el máximo rendimiento aproximadamente de 50 %, en el menor tiempo posible de 30 min. Esto se debe a que este tipo de impulsor causa esfuerzos cortantes, los cuales ayudan a la ruptura de la pared celular de la espirulina. El efecto del tipo de impulsor no está considerado dentro de la correlación del rendimiento.
3. Mediante el método de escalamiento de números adimensionales y la gráfica de número de potencia (Np) y número de Reynolds (Re), fue posible diseñar el reactor piloto de 400 litros que nos permita la extracción de proteínas con una alta probabilidad de obtener un máximo rendimiento. Las dimensiones del reactor serían 70,6 cm de diámetro y una altura de 102.2 cm, además el impulsor debe ser Rushton con un diámetro de 28 cm, con 21 cm de disco. Sugerimos utilizar el sensor de temperatura tipo RTD PT 100 marca SIEMENS, así como el sensor de pH marca Mettler Toledo modelo InPro4800. El material del reactor y el impulsor debe ser acero inoxidable 316 grado alimentario, por último, el motor del agitador debe tener una potencia de 1.5 HP, debe contar con un variador de potencia para realizar pruebas de agitación.

Recomendaciones

1. Para complementar este estudio, debemos evaluar la extracción de proteínas de los residuos sólidos que se separan de la primera filtración mostrados en la Figura 3, con el objetivo de buscar un mejor rendimiento de la extracción de proteínas y verificar si esta operación que adicione valor al proceso.
2. Realizar el cálculo del número de potencia N_p utilizando galgas extensiométricas o algún instrumento más confiable de medición
3. A escala piloto, realizar un estudio enfocado en agitadores que ejerzan altas fuerzas cortantes con el objetivo de reducir el tiempo de reacción.
4. Este estudio podría continuarse con el escalamiento del siguiente proceso, la separación de la fase sólida y líquida de la solución de proteínas con el residuo sólido que no fue disuelto.

Referencias bibliográficas

- Amos, R. y Hu, Q. (2013). Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology Oxford. (pp 339-358). John Wiley & Sons.
- Arredondo, B. y Voltolina, D.(2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. (pp. 36-39). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste La Paz, Baja California Sur.
- Barclay, W. y Apt, K. (2013) Strategies for Bioprospecting Microalgae for Potential Commercial Applications. Richmond Amos, Qiang Hu (Ed). Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology (pp.69-79) <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch4>
- Becker, E.W. (2007). Micro-algae as a source of protein. Biotechnology Advances Vol 25, (pp. 207–210). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- Becker, E.W. (1994). Microalgae Biotechnology and Microbiology. Cambridge Studies in Biotechnology. (pp. 177-196). Cambridge Press.
- Benelhadj, S., Adem, G., Pascal, D., Hamadi, A. y Dorra, G. (2015). Properties of lysozyme/*Arthrospira platensis* (Spirulina) protein complexes for antimicrobial edible food packaging, Algal Research Journal Vol 15, 1056-1063. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.003>
- Benelhadj, S., Adem, G., Pascal, D., Hamadi, A. y Dorra, G. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (Spirulina) *platensis* protein isolate, Food Chemistry Vol 194, 1056-1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>
- Bonem, J. (2018). Chemical projects scale up: how to go from laboratory to commercial. (pp. 22-25,93-97). Elsevier.
- Boye, J.I.S., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, M., Mondor, E. y Rajamohamed, F.S.H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques Food Research International Vol 43, 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>
- Carreras, C. (16 de febrero de 2018). Cuánto cuesta operar una Planta de Osmosis Inversa (OPEX : US \$/m3). <https://www.linkedin.com/pulse/cu%C3%A1nto-cuesta-operar-una-planta-de-osmosis-inversa-opex-carreras/>
- de Boer, K., Moheimani, N., Borowitzka, M.A. y Bahri, P.A. Extraction and conversion pathways for microalgae to biodiesel: a review focused on energy consumption. *J Appl Phycol* **24**, 1681–1698 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9835-z>

- Dulekgurgen, E. Proteins (10 Noviembre 2005). Lowry Protocol [Online]. Istanbul, Turkey: Istanbul Technical University. Available: <https://web.itu.edu.tr/~dulekgurgen/Proteins.pdf>
- Falk, L. y Villiermaux, J. (1997). Numerical scale-up and design of high-efficiency mixers for control and optimization of the yield and selectivity in chemical reactors. *Applied Thermal Engineering*, Vol 17, 845-859. [https://doi.org/10.1016/S1359-4311\(96\)00068-3](https://doi.org/10.1016/S1359-4311(96)00068-3)
- Fisher, P.A. (2009). Acciones ordinarias y beneficios extraordinarios. (pp 52-53). Deusto. Vizcaya España
- Fogler, H. (2008). Elementos de ingeniería de las reacciones químicas 4ta edición. (pp. 13-14). Pearson Education. México.
- Gutiérrez Pulido, H. (2012). Análisis y diseño de experimentos 3era edición. (pp. 343-374). McGRAW-HILL. México.
- Harmsen, J. (2019). Industrial Process Scale-up: A Practical Innovation Guide from Idea to Commercial Implementation (2da edición). (pp 2-76). Elsevier.
- Harrison, P.J. y Thomas, T.E. (1988). Biomass Measurements: Protein Determination. In: *Experimental Phycology. A Laboratory Manual*. Lobban, CS., Chapman, D.J., Kremer, B.P. (eds). (pp. 27-34). Cambridge University Press.
- Hrishikesh, A., Tavanandi, R., Jampani, C. y Raghavarao, K.S.M.S.. (2018). Simple and efficient method for extraction of C-Phycocyanin from dry biomass of *Arthrospira platensis*, *Algal Research Journal* Vol 31, 239-251. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.008>
- Keng, P., Basri, M., Ariff, A.B., Abdul Rahman, M.B., Abdul Rahman, R.N.Z. y Salleh, A.B. (2008) Scale-up synthesis of lipase-catalyzed palm esters in stirred-tank reactor. *Bioresource Technology*, Vol 99, 6097-6104. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.049>
- Keng, P., Mahiran Basri, M., Basyaruddin, A., Rahman, A.B.S., Rahman, R.N.Z.A. y Arbakariya, A. (2005). Optimization of Palm-Based Wax Esters Production Using Statistical Experimental Designs. *Journal of Oleo Science*, Volume 54, 519-528. <https://doi.org/10.5650/jos.54.519>
- Flores, L. y Ruiz Soto, A. (2017) Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de proteínas en la microalga *Arthrospira platensis*. *Revista Sociedad Química del Perú*, Vol.83, N4, 371-381 ISSN 1810-634X.

- Luo, J. Fang, Z., Smith, R.L. y Qi, X. (2015). Fundamentals of Acoustic Cavitation in Sonochemistry. In: Fang, Z., Smith, Jr., R., Qi, X. (eds) Production of Biofuels and Chemicals with Ultrasound. Biofuels and Biorefineries, vol 4. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9624-8_1
- Lupatini, A.L., Colla, L.Maria., Canan, C. y Colla E. (2016). Potential application of microalgae spirulina platensis as a protein source. Journal of the Science of Food and Agriculture. PMID: 27507218 DOI: 10.1002/jsfa.7987.
- Lupatini, A.L., Silva de Souza, L.E., Colla, L.M., Vieira Costa, J.A., Sehn, E., Stival Bittencourt, P.R., de Moraes Flores, É.L., Canan, C. y Colla, E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of Spirulina platensis protein concentrate for food enrichment. LWT - Food Science and Technology. Volume 114. doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267.
- Ma, Z. (2014). Impeller Power Draw Across the Full Reynolds Number Spectrum (Tesis de Maestría de la Universidad de Dayton]. Recuperado de Electronic Theses and Dissertations Center. http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=dayton1406766474
- Mak, T.A. (1992), Solid-liquid mixing in mechanically agitated vessels. Department of Chemical and Biochemical Engineering University College London. Torrington Place. London England
- Manrique Aliaga, A.R. (13 de marzo de 2023). Evaluación de implementación de un Sistema de Transporte de Gas Natural mediante gasoducto en el Norte del Perú. Revista Energía Andina. <https://www.linkedin.com/pulse/evaluaci%C3%B3n-de-implementaci%C3%B3n-un-sistema-transporte-gas/>
- Merrow, E.W. (2011). Industrial megaprojects concepts, strategies, and practices for success John Wiley & Sons, Inc.
- McCabe, W.L., Smith, J.C. y Harriot, P. (2007), Operaciones unitarias en ingeniería química (7ma edición). (pp. 259-305). McGraw – Hill. México D.F. México
- McConville, F. (2002). The pilot plant real book. A unique handbook for chemical process industry. FXM Engineering and design. (pp. 10-24). Spiral edición. Massachusetts Estados Unidos.
- Nurhan, T.D. (2012). Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing. Oklahoma State University. (pp. 229-236). John Wiley & Sons.

- Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería. Tarifas Internacionales_Junio 2022.https://www2.osinergmin.gob.pe/publicacionesgrt/pdf/TasasInternacionales/TarifasInternacionales_Junio%202022%20.xlsx
- Paul, E., Atiemo-Obeng, L., Suzanne, V.A. y M, Kresta. (2004). Handbook of industrial mixing science and practice. (pp. 145-164,302-315,345-376). John Wiley & Sons, Inc.
- Peterson, G.L. (1979). Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry Rosenbrough, Farr and Randall. *Analytical of Biochemistry* 100: Pag 201 -220. [doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90222-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90222-7).
- Rausch, T. (1981). The estimation of microalgal protein content and its meaning to the evaluation of algal biomass I. Comparison of methods for extracting protein. *Limnological Institute, University of Constance* 1980 (*Hydrobiologia* 78:237-251)
- Reisman, H.B. (1993). Problems in Scale-Up of Biotechnology Production Processes. *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol 13, 195-253. <https://doi.org/10.3109/07388559309041319>
- Ronald, H., Gladman, B., Danquah, M.K. y Webley, P.A. (2011). Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresour Technol* Vol 2, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.136>
- Safi, C., Ursu, A.U., Laroche, C., Othmane Merah, B.Z., Pontalier, P.Y. y Vaca-Garcia, C. (2013). Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods. *Algal Research Journal* Vol 3, 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.12.004>
- Safi, C., Liu, D.Z., Yap, B.H.J., Martin, G.J.O., Vaca-Garcia, C. y Pontalier, P.Y. (2014). A two-stage ultrafiltration process for separating multiple components of *Tetraselmis suecica* after cell disruption. *J Appl Phycol* 26, 2379–2387. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0271-0>
- Safi, C., Charton, M., Ursu, A.V., Laroche, C., Othmane Merah, B.Z., Pontalier, P.Y. y Vaca-Garcia, C. (2014). Release of hydro-soluble microalgal proteins using mechanical and chemical treatments, *Algal Research Journal* Vol 3, 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.11.017>
- Salgado, P. (2009). Proteínas de Girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos -Universidad Nacional de La Plata. <https://doi.org/10.35537/10915/2623>
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., y Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87-96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>

- Thomas, F.O., Bommaraju, T.V. y Hine, H. (2005) Handbook of Chlor-Alkali Technology. (pp. 1025-1027). Springer. Estados Unidos.
- Towler, G y Sinnott, R. (2022). Principles, practice and economics of plant and process design. (pp. 519-524). Elsevier. Oxford, United Kingdom.
- Sharratt, P.N. (1997). Handbook of Batch Process Design. London. (pp.107-116). Chapman & Hall
- Tatterson, G.B. (2002). Process Scaleup and Design. (pp. 17-81). Editorial: Gary Tatterson
- Toulouse, C., Cezerac, J., Cabassud, M., Le Lann, M.V. y Casamatta, G. (1996). Optimisation and scale-up of batch chemical reactors: Impact of safety constraints, Vol 51, 2243-2252. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(96\)00081-4](https://doi.org/10.1016/0009-2509(96)00081-4)
- Williams, P. y Laurens, L. (2010). Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. Energy & Environmental Science Journal Vol 3. DOI: 10.1039/b924978h
- Wijffels, R.H., Barbosa, M.J. y Eppink, M.H.M.(2010). Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 287-295. <https://doi.org/10.1002/bbb.215>
- Witt, P. Industrial Reaction Engineering [MOOC]. CISTAR Center for Innovative and Strategic Transformation of Alkane Resources. <https://cistar.us/>
- Cengel, Y.A. (2007). Transferencia de calor y masa un enfoque practico (pp. 852). Mcgraw-Hill Interamericana Editores. México D.F. México.

Anexos

ANEXO 1: Certificado de análisis de la espirulina en polvo	1
ANEXO 2: Determinación del porcentaje de extracción de proteínas	2
ANEXO 3: Plano de un reactor piloto	7
ANEXO 4: Plano de detalle del impulsor Rushton	8
ANEXO 5: Cotizaciones de instrumentos y equipos	9

ANEXO 1: Certificado de análisis de la espirulina en polvo

 Chiti Qingdao Huineng Biotech Co., Ltd. ADD: A1#411, Industrial Technology Research Institute, No. 17 Songyuan Road, Chengyang, Qingdao, China TEL: +86 152 5323 9615 EMAIL: info@chitibiotech.com Contact: Elsa Shaw Website: https://www.chitibiotech.com			
CERTIFICATE OF ANALYSIS Chiti-VF-005S-A			
Product Name	Spirulina Podwer	Report Date	2022/10/05
Latin name	Spirulina pulveris	Batch Number	CH0220220925
Manufacture Date	2022-9-25	Expiry Date	2024-9-24
Country Of Origin	China		
ITEMS	SPECIFICATION	RESULTS	
Appearance	Dark Green Powder	Conplies	
Protein	≥60%	67%	
Phycocyanin	≥8%	14.82%	
Chlorophyll	≥1%	1.30%	
Carotenoids	≥0.2%	0.33%	
Ash	≤7%	6.10%	
Moisture	≤7%	6.50%	
Arsenic(As)	≤1ppm	0.55ppm	
Lead(Pb)	≤1ppm	0.24ppm	
Cadmium(Cd)	≤0.2ppm	0.01ppm	
Mercury(Hg)	≤0.05ppm	0.01ppm	
Total Bacteria	≤50,000cfu/g	38000	
Coliforms	Not detected	confrom	
Yeast & Mold,CFU/g	<1,00cfu/g	20	
Staphylococcus	Not detected	confrom	
Salmonella	Not detected	confrom	
Shigella	Not detected	confrom	
Mesh	Min 80 mesh	confrom	
Packing and Storage	To store at 0℃—20℃ and to avoid light and heat		
Analyst: Fangzhiwei	Checker: Gujianliang	QC. Manager: Wang	



ANEXO 2: Determinación del porcentaje de extracción de proteínas. Según E. Dulekgurgen, 2005.

DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

- Pesar 0.05 g de albumina de bovino y aforarlo en una fiola de 500 mL con agua desmineralizada. Agitar bien, la concentración será de 100 mgL⁻¹.
- Utilizando la solución anterior, realizar las siguientes diluciones.

Volumen de agua	Volumen de solución BSA	Concentración final
10 ml	0 ml	0 mg/L
8 ml	2 ml	20 mg/L
6 ml	4 ml	40 mg/L
4 ml	6 ml	60 mg/L
2 ml	8 ml	80 mg/L
0 ml	10 ml	100 mg/L

PROCEDIMIENTO

- Preparar la solución de Lowry mediante la mezcla de las soluciones A, B y C.
- Debemos trabajar por triplicado.
- La muestra y transfiere 0.5 ml a un tubo de 10ml, utilizamos la micropipeta de 1000 µL.
- Agregamos 0.7 ml de la solución de Lowry a los tubos, utilizamos una micropipeta de 1000 µL.
- Tapamos y empleamos un agitador vortex para mezclarlo durante 20 segundos.
- Incubar por aproximadamente 20 minutos en la oscuridad.
- En los últimos 5 minutos preparar el reagente Folin diluido.
- Luego de los 20 minutos de incubación, toma las muestras fuera y agrega 0.1 ml de reagente Folin diluido a cada tubo. Tapa y mezcla inmediatamente.
- Incubar una vez más por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Luego de pasado este tiempo, mezcla las muestras brevemente.

- Luego transferir el contenido de las muestras 1.3 mL a las microcubetas.
- Ajustar el espectrofotómetro a una longitud de onda a 750 nm, evaluamos el valor 0 con 2 microcubetas llenadas con agua desmineralizada. Luego colocamos las muestras a medir.
- Preparar la curva de calibración y calcular el contenido de proteínas de las muestras.

Obtenemos la relación de contenido de proteína con la absorbancia a una longitud de onda 750nm, está definida por la relación:

$$Abs_{750nm} = 0.1502 + 0.003104 \times Proteinas \left(\frac{\mu g}{mL} \right)$$

Despejando para obtener las proteínas en la muestra.

$$Proteinas \left(\frac{\mu g}{mL} \right) = \frac{Abs_{750nm} - 0.1502}{0.003104}$$

PROTOCOLO DE DETERMINACIÓN DE PROTEINAS METODO LOWRY

1.- Materiales, reactivos y equipos

- Tubos de ensayo
- Tubos para centrifuga
- Microcubetas
- Espectrofotómetro
- Agitador vortex
- Albumina de bovino
- Agente folin
- Tartrato de sodio
- Sulfato de cobre
- Soda caustica
- Agua de mineralizada
- Carbonato de sodio

2.- Preparación de soluciones

La solución de Lowry debe ser preparada el mismo día de la medición. Sin embargo, las soluciones individuales pueden prepararse antes para ser mezcladas el mismo día de la medición.

SOLUCIÓN A, es una solución alcalina. 2N Folin y agente fenol ciocalteu conteniendo ácido clorhídrico y fosfórico. Cantidades para la preparación:

- 2.86 gr NaOH
- 14.3 gr NaCO₃

SOLUCIÓN B, para 100 mL

- 1.42 gr CuSO₄.5H₂O

SOLUCIÓN C, para 100 ml

- 2.85 g Na₂Tartrate.2H₂O

SOLUCION LOWRY

Solución A + solución B + Solución C con una ratio de volumen 100:1:1

REAGENTE FOLIN

Se consigue mezclando, 5ml de 2N reactivo de Folin Ciocalteu + 6 ml de agua desmineralizada. Esta solución es sensible a la luz. Entonces debe ser preparada en los últimos 5 minutos de la incubación de la primera muestra y debe ser mantenido en un contenedor ámbar.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Luego de la hidrolisis alcalina se toma una muestra de aproximadamente 50 g, el cual será centrifugada a 20 °C en una centrifuga Thermo Scientific modelo Sorvall ST 16R, durante 10 minutos a 3500 g
2. Luego tomamos el sobrenadante en un tubo de ensayo.
3. Diluiremos esta muestra en 20 veces, de esta forma nos aseguramos de que los valores de proteínas estén dentro de la curva de calibración. Para esto tomamos 100 µL de muestra y lo colocamos en un tubo de centrifuga de 2ml y agregamos 1900 µL de agua destilada.
4. Preparamos la solución de Lowry mediante la mezcla de las soluciones A, B y C.
5. Con una micropipeta de 1000 µL, tomamos 500 µL del tubo para centrifuga de 2 ml, en otros 3 tubos de muestra, de esta forma tendremos 3 repeticiones de la muestra original.
6. Agregamos 700 µL de la solución de Lowry a los 3 tubos que contienen las muestras, utilizamos una micropipeta de 1000 µL.
7. Tapamos y empleamos un agitador vortex para mezclarlo durante 20 segundos.
8. Incubar por aproximadamente 20 minutos en la oscuridad.
9. En los últimos 5 minutos preparar el reagente Folin diluido.
10. Luego de los 20 minutos de incubación agregamos 100 µL de reagente Folin diluido a cada tubo. Tapa y mezcla inmediatamente con un agitador vortex.
11. Incubar una vez más por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Luego de pasado este tiempo, mezcla las muestras brevemente.
12. Luego transferir el contenido de las muestras 1.3 mL a las micro-cubetas.
13. Ajustar el espectrofotómetro a una longitud de onda a 750 nm, evaluamos el valor 0 o blanco con una microcubetas llenadas con agua desmineralizada. Luego colocamos las 3 muestras repetidas a medir.
14. Anotamos las absorbancias obtenidas, como Abs 750 nm. Hay que recordar que esta absorbancia corresponde a una dilución de 20 veces de la muestra original.

DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN

Luego hallamos el rendimiento de la extracción de proteínas

$$\text{Porcentaje de extracción} = \frac{\text{Proteínas en la muestra}}{\text{Proteínas totales}} \times 100\%$$

Donde la concentración de proteínas extraídas

$$\text{Proteínas} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Abs750nm} - 0.1502}{0.003104}$$

$$\text{Proteínas muestra} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \text{Proteínas} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times 20$$

Sabiendo que la concentración de proteínas en la muestra es de 67% de proteínas.

$$\text{Proteínas totales} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \left(\frac{m_{\text{spr}} \times 0.67 \times 10^6 \times \frac{\mu\text{g}}{\text{g}}}{Vr(\text{mL})} \right)$$

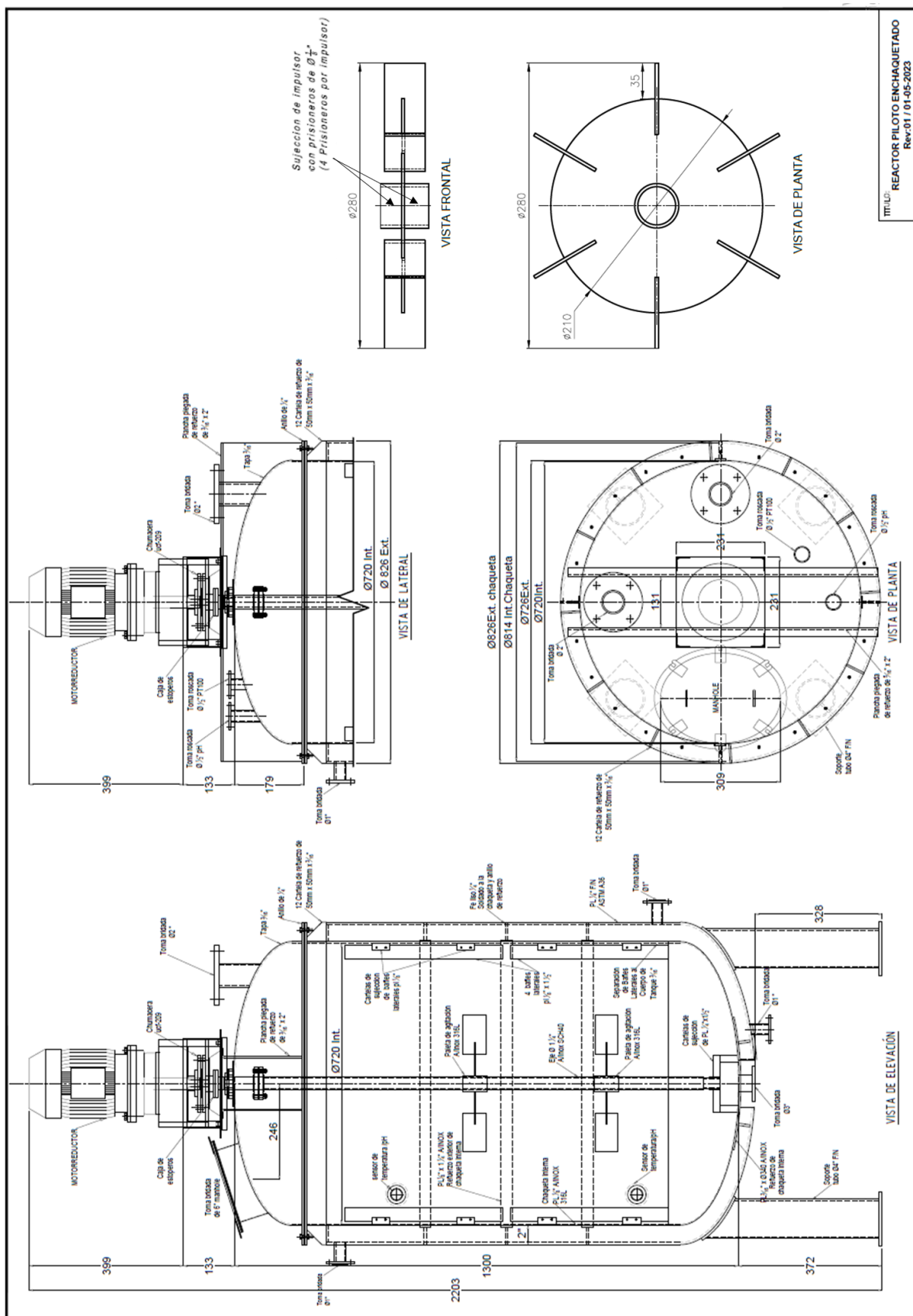
Donde:

Vr = Volumen de la reacción (mL)

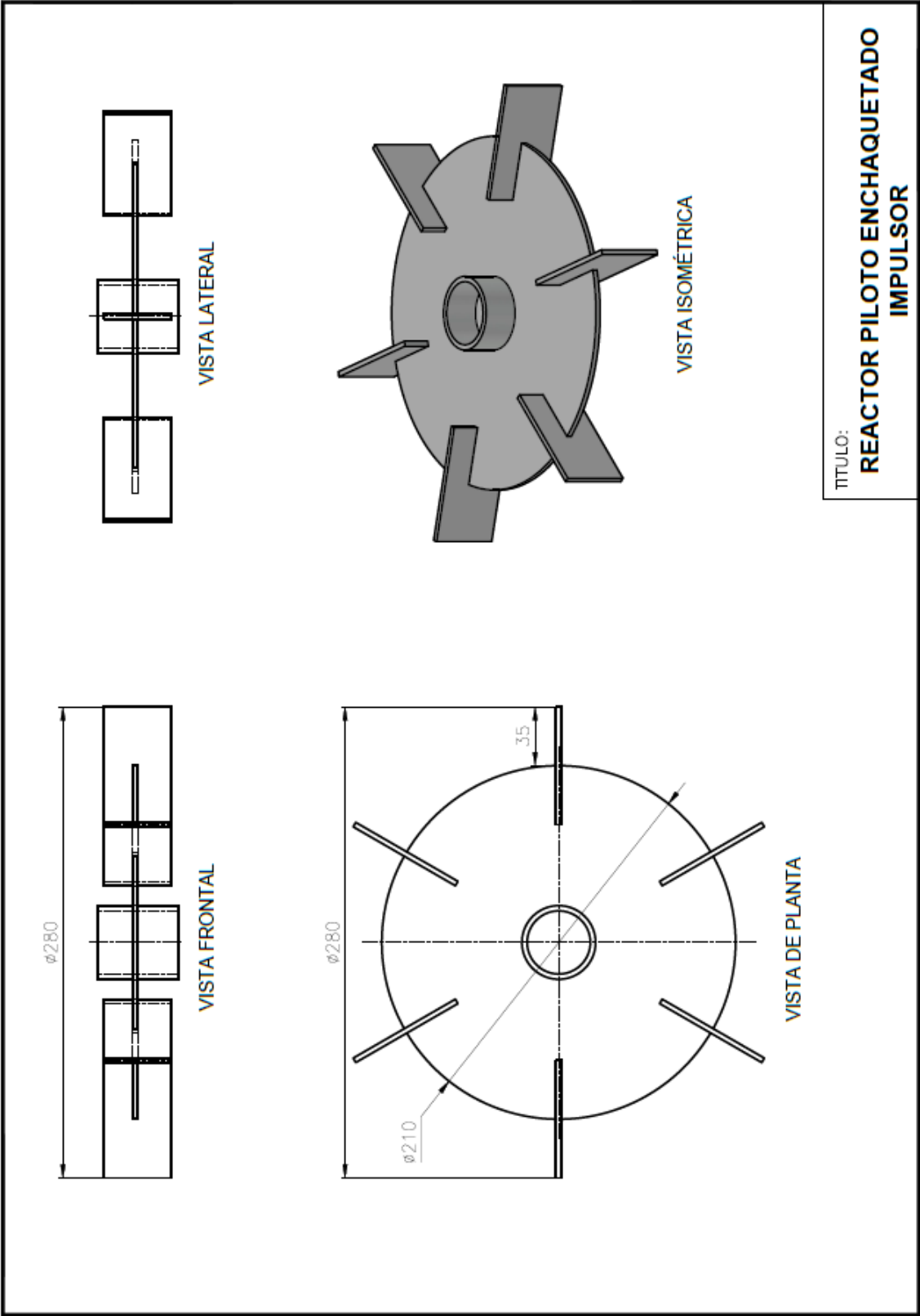
m_{spr} = Masa de espirulina (g)

$$\text{Rendimiento de extracción} = \frac{\text{Proteínas muestra} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right)}{\text{Proteínas totales} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right)} \times 100 \% \dots \dots (13)$$

ANEXO 3. Plano de un reactor piloto



ANEXO 4: Plano de detalle del impulsor Rushton



ANEXO 5. Cotizaciones de instrumentos y equipos

Cotización pH metro



COTIZACION N°: 090823-379

CLIENTE: Quimpac
ATENCION: Carolina Tenorio

FECHA: 09.08.2023

Elsa Gonzales Urbisagasti
Anders Peru SAC
Jr. Paseo del bosque 500
Oficina 301 – San Borja
Lima- Peru
www.qanders.com
elsa.gonzales@qanders.com
+511 615 8600 anexo 642
+51 997 538 838

Muchas gracias por su consulta. En base a nuestras condiciones generales de venta y entrega, nos complace ofrecerle lo siguiente :

CANTIDAD	DESCRIPCION	Precio unitario USD	PRECIO TOTAL USD
2	pH Sensor InPro4800/SG/120/PT1000	1150.00	2231.00
	descuento 3%	34.50	
	pH Sensor InPro4800/SG/120/PT1000	1115.50	
		Total Neto:	2231.00
		IGV:	401.58
		Total (USD):	2632.58

Condiciones

Validez de la oferta: 30 dias calendario

Garantia de manufactura : 12 meses

Condicion de pago : en negociacion

Entrega : ver siguiente pagina

Tendríamos mucho gusto en poder atender su pedido por el producto ofrecido. Asegurándoles desde ya nuestra preferente atención.



Cotización de sensor de temperatura



GR TECH S.A.C.
Instrumentacion y Control
Telef: 613-6056, 613-6050, Fax: 613-6060,
E-mail: Irojas@grtech.com.pe

SIEMENS

Estimados señores:

Nos es grato dirigimos a ustedes con la finalidad de ofertarle lo siguiente:

ÍTEM	CANT	DESCRIPCIÓN	P. UNIT. US\$	P. TOTAL US\$
3	2	SENSOR DE TEMPERATURA RTD(PT100) CON TRANSMISOR Y DISPLAY COMPACTO	2,007.00	4,014.00
		Consiste en lo siguiente: TRANSMISOR DISPLAY - SITRANS TF		DOLARES
		MARCA : SIEMENS MODELO : SITRANS TF CODIGO : 7NG3136-0AC10 * Tipo de entrada : Configurado para recibir el PT100 * Característica : Lineal con la temperatura * Alimentación : 24VDC loop power * Display : Display digital de 4 dígitos * Tipo de conexión : Configurado para 3 hilos * Tiempo de respuesta : < 250 ms * Error de la salida analógica : < 0,025 % del alcance de medida * Salida analógica : 4-20 mA+HART, 2 hilos * Material de carcasa : Carcasa de aluminio recubierto de pintura de poliuretano * Funcion de vigilancia de sensores : Vigilancia de rotura, Vigilancia de cortocircuitos * Funciones ampliadas de diagnóstico como puntero de arrastre, contador de horas de funcionamiento etc.	TIEMPO DE ENTREGA: 8 SEMANAS	
Se adjunta hoja de dimensiones del sensor RTD con DISPLAY (Equipo compacto)		RTD(PT100) CON TERMOPOZO Marca : PYROMATION Procedencia / Fabricacion : Estados Unidos Código del RTD : RAF185L483-HF410R308(1/4)08-SC-8P U422 Datos del sensor RTD(Pt100): * Tipo de RTD : PT100, 3 hilos * Tolerancia : Clase A * Rango de medición : -30 a 200 °C * diametro del bulbo : 1/4" * Material del bulbo : Acero inoxidable 316 * Rosca de conexion : 1/2" NPT * Material del niple y union : Acero inoxidable 316 * Resorte interno : Para un mejor acople entre el bulbo y la pared interna del termopozo. * Cabezal de aluminio Nema 4X con tapa roscada y cadena de sujecion para la tapa del cabezal * Fiting de compresion de posicion ajustable de acero inox con rosca de 1/2" NPT * Niple para conectar sensor al transmisor en acero inox con conexión de 1/2"NPT Datos del Termopozo: * Tipo de construcción : Conexión bridado * Conexión al Proceso : Brida 1", 300# Raised Face (RF-std) * diametro del orificion : 1/4" (Para alojar al sensor) * Material : ALLOY C276 (Unico elemento en contacto con el fluido) * Dimension "U" insercion : 6 1/4" pulgadas (Insertado dentro del tanque) * Dimension "L" Total : 8.25 pulgadas		

Cotización de reactor piloto y agitador

COTIZACIÓN: PPGP.0509/2023				
FABRICACION DE REACTOR PILOTO CON AGITADOR				
Señores: Ruc: Dirección: Aten.: Ing. Renzo R. Móviles: Lugar: LIMA Modalidad: Todo Costo.	Fecha: 13 de Abril del 2023 Moneda: Dolares Forma de 50 - 50 Contacto: Jesús Celular: E-Mail: jfloreshuaman@gmail.com proyectos@geproing.com.pe			
Asunto: Mediante la presente lo saludamos y muy cordialmente alcanzamos la cotización de la referencia según sus requerimientos.				
ITE	DESCRIPCIÓN	Unid.	Cant.	P.unit
M				Total
	<u>FABRICACION SEGÚN PLANO REACTOR</u>	Glob.	1	
100	<u>CARACTERISTICAS DE REACTOR</u> Material SS-316 Diámetro interior 720 mm Ancho del encaquetado 2" Altura total 1300 mm Diámetro Man Hole 508 mm Bridas de ingreso dos de 2" y un manhole de 12" Brida de descarga de 1" 02 tomas roscadas de 1/2" en la tapa. 02 tomas roscadas de 1/2" en la parte lateral del tanque Prueba de estanqueidad x 24 hrs agua a presión atmosférica Soportes			
200	AGITADOR Motoreductor de 15 HP Variador de velocidad Eje de 1440 mm material SS-316 Impulsor rushton Disco de 210 mm y pala de 100 mm largo x 60 mm ancho			
	Los materiales serán por cuenta de GEPROING Todo trabajo se realizará después de enviar el 50% del valor y el 50% a contraentrega			
Cualquier modificación que no contemple esta cotización, será tomada como trabajo adicional				
CONDICIONES COMERCIALES				SUB \$ 25,000.00 I.G.V 18% \$ 4500.00 TOTAL \$ 29,500.00
Tiempo de entrega: 30 Días hábiles. Vigencia de cot: 30 días				
Garantía: 1 año después de la entrega del proyecto. Jesús Flores Huaman Proyectos Geproing S.A.C				