

**SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE BIOMASA A ESCALA DE
LABORATORIO MEDIANTE FILTRACIÓN TANGENCIAL**

RICARDO ANDRÉS INFANTE MATENZO



UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
2020

**SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE BIOMASA A ESCALA DE
LABORATORIO MEDIANTE FILTRACIÓN TANGENCIAL**

RICARDO ANDRÉS INFANTE MATENZO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de
MAGISTER EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS

DIRECTOR:

JUAN DANIEL VALDERRAMA RINCÓN

Ingeniero Químico Universidad Nacional de Colombia
Doctor en Ingeniería Química y Biomolecular Universidad de Cornell

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
2020

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de lograr otro peldaño en mi vida. Dedicado a Rosmira Matenzo Duarte por su entrega total en mi formación, ¡lo eres todo má!

A todas las personas que han estado allí en algún momento, mi familia, amigos, al grupo lazos y en especial a cada uno de mis profesores y con mayor cariño al papá de los pollitos Juan Daniel Valderrama Rincón.

AGRADECIMIENTOS

Un logro más en mi formación profesional que consolida mi vida, no sería posible sin la ayuda de Dios porque me dio los dones para ir conquistando los retos que se presentaban.

Al doctor Juan Daniel Valderrama, por confiar en mí en el desarrollo de este proyecto. Por su dedicación, enseñanzas, orientación, financiación total y acompañamiento incondicional en este camino. Por ser un papá con todos los que llegan a trabajar y recibir sus conocimientos.

A los docentes que integran el grupo de investigación GRESIA y hacen posible la maestría en ingeniería de Bioprocesos, porque brindaron las herramientas y confianza para el desarrollo de este proyecto: Héctor Javier Luna Wandurraga, Iván Alejandro Ávila León y Andrés Joaquín Valderrama Rincón.

A mis compañeros y amigos de laboratorio de ingeniería ambiental y el grupo de investigación GRESIA de la Universidad Antonio Nariño, Carlos Mora, Fabian Camilo Otalora, Andrés Julián Martínez y Eva Clumb, por los momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio.

A mi amigo y hermano Oswan Duván Mora León, por apoyarme dentro del grupo de investigación GRESIA y en cada uno de los momentos adversos presentes durante este camino.

A mis amigos Daniel Santiago Vargas, Jesús Alfonso Ramírez, Andrés Mauricio Guerrero, Camilo Aranguren y Linda Triviño, por su respaldo en medio de mis caídas y todo el cariño que siempre me han tenido.

A todas las personas con las que tuve el placer de compartir de esta etapa y todos aquellos que aportan, creen y contribuyen en la investigación en Colombia.

RESUMEN

Se construyó un nuevo prototipo funcional de biorreactor a escala acoplado a un sistema de filtración tangencial a bajo costo con la finalidad de separar y obtener productos de interés biotecnológico (biomasa). El modelo cuenta con el acople de un mecanismo de medición de temperatura, absorción de óptica y presión los cuales permiten hacer establecer el crecimiento de cultivos de microorganismos de manera automatizada.

El desarrollo por medio de etapas de diseño vincula la continuidad de experimentación en crecimiento de cultivos de microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*), la fabricación de moldes y piezas a partir de impresión tridimensional (3D), curado con caucho de silicona y resina poliéster. La integración de elementos electrónicos acoplados a software para el control de condiciones y registro de comportamiento de variables. Gracias a los preliminares en la elaboración de piezas para el biorreactor a escala aptas para proceso de esterilización y acople a sensores electrónicos, se ejecutaron ensayos de crecimiento a partir de mediciones ópticas y de temperatura; junto a ello se logró establecer la capacidad de filtración dentro del sistema a partir de la relación de flux y presión.

Los resultados alcanzados evidencian el crecimiento dentro del biorreactor a escala de las levaduras de manera homogénea. El sistema de presión logró establecer el comportamiento a diferentes condiciones, con una tendencia lineal en los primeros 30 mL de muestra sin la aplicación de tratamiento de prefiltración y agitación; el mismo comportamiento lineal a los 34 mL cuando la muestra pasa por el prefiltrado y agitación y 28 mL de muestra cuando la membrana se lava con agua caliente acoplando las mejoras en los ensayos. Finalmente se identificó la relación que tiene cada una de las condiciones de mejoras del sistema, haciendo que el sistema cuente con las condiciones óptimas para el tratamiento de muestra y lavado de membranas.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
2. JUSTIFICACIÓN	15
3. OBJETIVOS	18
3.1. OBJETIVO GENERAL	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4. MARCO CONCEPTUAL	19
4.1. BIORREACTOR	19
4.1.1. Tipos de operación de biorreactores	19
4.2. BIORREACTORES A PEQUEÑA ESCALA	20
4.3. FILTRACIÓN TANGENCIAL	21
4.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA FILTRACIÓN TANGENCIAL	23
4.4.1. Selección de membrana	24
4.5. ENSUCIAMIENTO DE MEMBRANA	25
4.6. RECUPERACIÓN DE BIOMASA	27
4.7. LEVADURAS COMO AGENTES DE RECUPERACIÓN	28
4.8. CEPA DE CULTIVO	28
4.8.1. <i>Saccharomyces cerevisae</i>	28
5. METODOLOGÍA	30
5.1. MATERIALES	30
5.1.1. SOFTWARE	30
5.1.2. Materias primas para el prototipo	30
5.1.3. Dispositivos de control y seguimiento electrónico	31
5.1.4. Sistema de prefiltración	35
5.1.5. Caja de filtración tangencial	36
5.2. DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS SENSORES DE MEDICIÓN ÓPTICA Y PRESIÓN	39
.....	39
5.2.1. Calibración del sensor de presión	39
5.3. CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA	42
5.3.1. Diseño conceptual	42
5.3.2. Digitalización de piezas	42

5.3.3.	Producción de piezas.....	42
5.4.	OPERACIÓN DEL SISTEMA.....	44
5.4.1.	Ensayos preliminares.....	45
5.4.2.	Sistema de prefiltrado.....	45
5.4.3.	Ensayo con agua del grifo de la llave.....	46
5.4.4.	Ensayos con agua estéril.....	48
5.5.	Lavado de membrana – Retrolavado.....	50
5.6.	Ensayos con cepa de selección.....	50
5.7.	Ensayos con cepa de selección y ajuste de retrolavados.....	53
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
6.1.	CALIBRACIÓN MÓDULO DE PRESIÓN.....	55
6.1.1.	Comportamiento del módulo de presión.....	56
6.1.2.	Curva de calibración.....	57
6.2.	ENSAYOS PRELIMINARES CON AGUA DEL GRIFO DE LA LLAVE.....	58
6.2.1.	Ensayos sin prefiltrado y sin agitación.....	58
6.2.2.	Ensayos con prefiltrado.....	62
6.2.3.	Ensayos con agitación.....	65
6.2.3.2.	<i>Resistencia de membrana.....</i>	<i>67</i>
6.2.4.	Ensayos con prefiltrado y agitación.....	68
6.3.	ENSAYOS PRELIMINARES CON AGUA ESTÉRIL COMERCIAL.....	71
6.3.1.	Ensayo con prefiltrado.....	71
6.3.2.	Ensayo con prefiltrado y agitación.....	73
6.4.	ENSAYOS CON CEPAS DE INTERÉS.....	76
6.4.1.	Ensayos sin prefiltrado y sin agitación.....	76
6.4.2.	Ensayos con prefiltrado.....	79
6.4.3.	Ensayos con agitación.....	81
6.4.4.	Ensayos con prefiltrado y agitación.....	84
6.5.	ENSAYOS CON CEPAS DE SELECCIÓN Y AJUSTE DE RETROLAVADO.....	86
6.5.1.	Ensayos sin prefiltrado y agitación.....	86
6.5.2.	Ensayo con prefiltrado.....	89
6.5.3.	Ensayo con prefiltrado y agitación.....	91
6.6.	DIFERENCIAS ENTRE CONDICIONES ENTRE ENSAYOS.....	94
6.6.1.	Ensayos sin prefiltrado y agitación.....	94

6.6.2. Ensayos con prefiltrado	96
6.6.3. Ensayos con prefiltrado y agitación	98
7. CONCLUSIONES.....	98
8. RECOMENDACIONES	99
REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA	100

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de representación de filtración tangencial (A) Paso por un filtro de membrana (B) Paso por una membrana tubular	22
Figura 2. Diagrama de tipos de ensuciamiento y factores que intervienen en la membrana. Adaptado (Luna H. 2014)	27
Figura 3. Flujo de trabajo en la preparación de OMV. (1) Cultivo en medios líquidos: la composición del medio. (2) Eliminación de bacterias: la centrifugación a baja velocidad elimina la mayoría de bacterias. (3) Concentración del filtrado de cultivo: la ultracentrifugación directa de cultivo. (4) Purificación de acuerdo con la preparación de OMV resultante. En cada paso del flujo de trabajo el rendimiento de OMV se puede cuantificar y realizar control de calidad.....	29
Figura 4. Fotorresistencia LDR junto a LED azul	31
Figura 5. Módulo de presión de 0 - 40 KPa.....	32
Figura 6. Placa de Arduino UNO, estación de mando y control de los circuitos electrónicos	32
Figura 7. Termostato digital W1209, controlador de temperatura	32
Figura 8. Bomba jeringa, conformado por 11 piñones para el desplazamiento del contenido de la jeringa	33
Figura 9. Sistema de piñones de jeringa acoplado a motor paso a paso Nema 17-52 N.....	34
Figura 10. Circuito de control de velocidad de la bomba jeringa.....	34
Figura 11. Biorreactor a escala con cultivo de levadura	35
Figura 12. Sistema de prefiltración. (A) Cono cerámico poroso sobre recipiente de recolección. (B) Vista superior de empaque del cono cerámico. (C) Cono cerámico microporoso.....	35
Figura 13. Piezas de la caja de filtración tangencial. (A) Vista superior de la caja de filtración tangencial con magneto de agitación. (B) Ventilador con magneto. (C) Vista frontal de la caja de filtración tangencial acoplado con ventilador.....	37
Figura 14. Moldes de caja de filtración tangencial en caucho y sus respectivas bases de PLA.....	37
Figura 15. Piezas de la caja de filtración tangencial. (A) Soporte de fijación del módulo de presión. (B) Vista lateral de la tapa con rendija y caja de filtración tangencial con entrada habilitada. (C) Vista superior de caja de filtración tangencial	38
Figura 16. Montaje de calibración de sensor de presión	40
Figura 17. Recipiente de polipropileno con codo en caucho siliconado y tubo de vidrio. Junto a tapa con empaque de protección en caucho siliconado empleado como biorreactor.	43
Figura 18. Piezas de caja de filtración en PLA: (A) Soporte de entrada chasis externo de la caja de filtración tangencial. (B) Acople y soporte de membrana con rendija para la caja de filtración tangencial	43

Figura 19. Moldes en caucho de caja de filtración tangencial. (A) Vista superior de caja completa de filtración tangencial. (B) Acople de roscado para rendija de la caja de filtración junto al cajón de procesamiento de muestra	44
Figura 20. Resultado de pieza en resina servida en molde de caucho	44
Figura 21. Tendencia promedio del comportamiento del sensor de presión con muestra de aire con un volumen de 10 mL (entre los valores de 40 a 30 mL de la jeringa)	55
Figura 22. Ensayos de determinación de comportamiento del sensor de presión con una muestra de aire de 10 mL (entre los valores de 40 a 30 mL en jeringa)..	56
Figura 23. Curva de calibración del módulo de presión a partir de la ley de Boyle	57
Figura 24 Determinación de flux constante y variable en membrana con agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	58
Figura 25. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	59
Figura 26. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	61
Figura 27. Determinación de flux constante y variable en membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado	62
Figura 28. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con sistema prefiltrado.	63
Figura 29. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado	64
Figura 30. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de agua del grifo de la llave con agitación magnética	65
Figura 31. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con agitación magnética.....	66
Figura 32. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con agitación magnética.....	67
Figura 33. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de agua del grifo de la llave con sistema de filtrado y agitación magnética	68
Figura 34. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	69
Figura 35. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	70
Figura 36. Determinación de flux en membrana con muestra de agua estéril comercial con sistema de filtrados	71
Figura 37. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua estéril comercial con sistema de prefiltrado.	72
Figura 38. Resistencia de membrana con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado.	72
Figura 39. Determinación de flux en membrana con muestra de agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	73

Figura 40. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	74
Figura 41. Resistencia de membrana con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	75
Figura 42. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	76
Figura 43. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	77
Figura 44. Resistencia de membrana con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	78
Figura 45. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado.....	79
Figura 46. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con sistema de prefiltrado	79
Figura 47. Resistencia de membrana con muestra de levadura con agitación magnética.....	80
Figura 48. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con agitación magnética	81
Figura 49. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con agitación magnéticas.....	82
Figura 50. Resistencia de membrana con muestra de levadura con agitación magnética.....	83
Figura 51. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética	84
Figura 52. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	85
Figura 53. Resistencia de membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	85
Figura 54. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavada con agua caliente y con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	86
Figura 55. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente y con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	87
Figura 56. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	88
Figura 57. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavado con agua caliente con sistema de prefiltrado.	89
Figura 58. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado.	90
Figura 59. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado	90

Figura 60. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	91
Figura 61. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	92
Figura 62. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con muestra con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	93
Figura 63. Diferencia entre ciclos de filtrado en ensayos sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	94
Figura 64. Resistencia de membrana a diferentes condiciones del sistema de filtración tangencial sin sistema de prefiltrado y agitación magnética	95
Figura 65. Diferencia entre ciclos de filtración en ensayos con sistema de prefiltrado	96
Figura 66. Resistencia de membrana a diferentes condiciones del sistema de filtración tangencial con sistema de prefiltrado.....	97
Figura 67. Diferencias entre ciclos de filtración en ensayos con sistema de prefiltrado y agitación magnética.....	98

INDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Paso de muestra por sistema de prefiltrado antes de ingresar a la caja de filtración tangencial	36
Diagrama 2. Preparación de moldes en caucho siliconado.....	37
Diagrama 3. Obtención de piezas de caja de filtración en resina poliéster	38
Diagrama 4. Ensayo de calibración de sensor de presión	39
Diagrama 5. Ensayo de preliminar del sistema general de filtración tangencial con muestras de agua estéril y agua del grifo de la llave.....	45
Diagrama 6. Aplicación del sistema de prefiltrado con muestra de levadura procesada por sistema de filtración tangencial sin agitación magnética.	46
Diagrama 7. Aplicación del sistema de prefiltrado con muestra de levadura procesada por sistema de filtración tangencial con agitación magnética.	46
Diagrama 8. Ensayo del sistema de filtración tangencial con muestra de agua del grifo de la llave.	47
Diagrama 9. Ensayo de sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de agua del grifo de la llave.....	47
Diagrama 10. Ensayo del sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de agua del grifo de la llave.	48
Diagrama 11. Ensayo del sistema de filtración tangencial con acople de sistema de prefiltrado y activación de agitación magnética con agua del grifo de la llave.	48
Diagrama 12. Ensayo de sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de agua estéril comercial.....	49
Diagrama 13. Ensayo del sistema de filtración tangencial con acople de sistema de prefiltrado y activación de agitación magnética con agua estéril comercial	49
Diagrama 14. Retrolavado después del paso de muestras por el sistema de filtración tangencial.....	50
Diagrama 15. Siembra de S.cerevisiae en biorreactor para la extracción de alícuotas de 50 mL para cada uno de los ensayos.	51
Diagrama 16. Ensayo del sistema de filtración tangencial con muestra de S. cerevisiae	51
Diagrama 17. Ensayo del sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de S. cerevisiae.	52
Diagrama 18. Ensayo del sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de S. cerevisiae.	52
Diagrama 19. Ensayo del sistema de prefiltrado y el sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de S. cerevisiae..	53
Diagrama 20. Retrolavado ajustado con agua caliente después del paso de muestras de S. cerevisiae por el sistema de filtración tangencial. El vapor de agua está representado con la nube de color azul menta.....	54

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ecuación general de filtración. También conocida como Ley de Darcy	23
Ecuación 2. Ecuación de gases ideales	40
Ecuación 3 Ecuación de gases ideales para el comportamiento de a condiciones ideales en Bogotá.....	40
Ecuación 4. Ecuación de gases ideales para el comportamiento de los ensayos respecto al módulo de presión	40
Ecuación 5. Ecuación simplificada del comportamiento de la presión del aire en cada ensayo, ecuación conocida como la Ley de Boyle	41
Ecuación 6. Determinación de la presión emitida por el módulo de presión	41
Ecuación 7. Volumen de un cilindro	41
Ecuación 8. Determinación de la presión emitida por el módulo de presión al haberse desplazado 0,10 mL de volumen de aire.....	42
Ecuación 9. Ecuación de media aritmética o promedio.....	59
Ecuación 10. Área de una circunferencia.....	60
Ecuación 11. Ecuación de determinación de flux para los ensayos.....	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación entre los modos de operación de los biorreactores [24].....	20
Tabla 2. Influencia de las características de la membrana de filtración en el rendimiento.....	23
Tabla 3. Disposición de materias primas en la elaboración del prototipo.	30
Tabla 4. Proveedores de los reactivos empleados para el medio de cultivo	35
Tabla 5. Datos de comportamiento de los 10 mL de muestra de aire dentro de la bomba jeringa (entre los valores de 40 a 30 mL)	56

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Cada vez son más los estudios de desarrollo en modelación y obtención a escala reducida de biorreactores para analizar la actividad enzimática o la respuesta fisiológica celular [1], [2]. Las soluciones para la producción a pequeña escala muestran un rendimiento considerable, debido a la adaptación de mecanismos de automatización que permiten la potencialización de los productos [3]. La aplicación de procesos de filtración permiten la retención de biomasa dentro del reactor, facilitando el lavado del producto con la capacidad de formación de biopelículas en la membrana [4]. Las membranas de filtración brindan una recuperación de partículas, que acopladas a la rápida homogeneidad de mezcla en el reactor a escala, permite la integración de varios sensores para realizar mediciones dinámicas en un entorno controlado [4], [5].

La recuperación estéril a baja escala de productos extracelulares presentes a partir de la operación de un biorreactor, es una propuesta para la producción de bioproductos con diferentes fines. Los métodos de enriquecimiento y aislamiento aplicables que garanticen el control del volumen de muestra, pureza, velocidad, rendimiento para suplir necesidades relacionadas a enfermedades [6]. Tal sistema es la formulación de obtención de biomasa donde podría complementar o reemplazar el paso por el equipo de centrifugación y simultáneamente realizar el parcial tratamiento estéril por medio de filtración tangencial del producto con ayuda de agitación con barra magnética y la articulación de una salida acoplada para la recolección.

Dentro del sistema de recuperación la adaptación de diversos mecanismos a escala de laboratorio permite automatizar los procesos individualmente, reduciendo espacios lo que muestra eficiencia y agilidad para obtener a un menor costo con precisión y disponibilidad los productos, lo que podría facilitar la implementación de este tipo de tecnologías al desarrollo en la actual industria comercial [3].

2. JUSTIFICACIÓN

La obtención convencional de productos en instalaciones a gran escala y centralizadas en un producto específico no es adecuado en la agilidad del mismo. Las soluciones de fabricación a pequeña escala son potencialmente dinámicas porque permiten acelerar el desarrollo del proceso en un menor tiempo y obtener productos con características comparables con referencias comerciales [3]. La realización de ensayos a escala reducida son importante porque representan el

rendimiento de un proceso logrando una caracterización confiable de costos y espacios, a su vez el diseño permite la integración de mecanismos o elementos que permiten hacer el proceso más controlable para garantizar resultados reproducibles y confiables. Los ensayos a escala de laboratorio poseen la ventaja de determinación de costos, la construcción en espacios muy reducidos, cambios y/o adaptaciones mínimas en piezas [3], [4], [7].

Los estudios de investigación en viabilidad de biotecnologías nuevas o mejoradas, como biorreactores, inevitablemente comienzan con ensayos a escala de laboratorio, lo que ha determinado mejores rendimientos con respecto a reactores a escala [8]. Por esta razón, la industria ha optado a la construcción de biorreactores a pequeña escala que proporcionan un entorno bien definido donde es posible monitorear y controlar adecuadamente las condiciones, mientras se recolectan datos precisos, completos y útiles para reducir tiempo en los procesos [9]. Los biorreactores a escala pequeña o también conocidos como biorreactores miniatura apuntan a la aceleración en capacidad de alto rendimiento, para realizar simultáneamente en paralelo diferentes procesos en especial cultivos celulares, por medio de la unión de varias plataformas de biorreactores existentes [10].

La fuerte demanda en procesos de alto rendimiento ha impulsado a otras áreas de la biotecnología a emplear el uso de biorreactores a escala pequeña como es el caso de la expresión proteica-proteómica, ingeniería de cepas, ingeniería metabólica y la síntesis biológica [11]. Un ejemplo es el acceso la producción de nuevas vías metabólicas en microorganismo empleados en la producción innovadora de agentes químicos [12]. Las industrias farmacéuticas y biotecnológica permanecen con constante presión en la reducción de costos y desarrollo inmediato de procesos de alto rendimiento para la innovación y elaboración de vacunas, los estudios de caracterización en los procesos establecen que los rendimientos en un biorreactor a pequeña escala son equivalentes para procesos biológicos industriales para la producción terapéutica de proteínas y anticuerpos monoclonales empleados en cultivos celulares dando como resultados productos biofarmacéuticos de calidad [3], [13], [14]. El desarrollo de un biorreactor a escala de laboratorio, sería una alternativa de reducción masiva de costos, evitando el uso de equipos comerciales de alto costo (centrifuga refrigerada de alto rendimiento) la preparación medios y/o condiciones de almacenamiento o conservación del producto de interés.

Los productos biotecnológicos (sustancias químicas, combustibles y fármacos, etc.) están inmersos a distintos tratamientos los cuales demandan considerables recursos hídricos lo que ha llevado a implementar tecnologías de filtración, los cuales han demostrado características en menor ocupación, calidad de producto y opción de automatización, por la retención completa de microorganismos y/o remanentes, mejorando en gran medida la bioseguridad [15] [16]. La aplicación de tecnologías de filtración, en especial la filtración de flujo cruzado en aguas residuales evidencia la eliminación completa de sólidos suspendidos, la eliminación de materia orgánica y la reducción del ensuciamiento de la membrana [17] [18]. Al

restringir el espacio físico de las moléculas, el uso continuo hace posible la reutilización de la membrana evitando pérdidas por el lavado dentro del biorreactor [19].

El desarrollo de un sistema de recuperación a un biorreactor a escala pequeña es una alternativa de interés en el procesamiento de datos, obtención precisa de productos, reutilización de éstos y la adaptación de diferentes mecanismos que significan una reducción amplia en costo y tiempo, representando una alternativa de innovación en producción.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un sistema de recuperación de biomasa a escala de laboratorio mediante filtración tangencial

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Diseñar las partes y piezas del sistema de recuperación de biomasa a escala de laboratorio a partir de materiales de bajo costo.
2. Construir el sistema de recuperación de biomasa a escala de laboratorio.
3. Evaluar las condiciones de funcionamiento del sistema de recuperación de biomasa a escala de laboratorio.

4. MARCO CONCEPTUAL

4.1. BIORREACTOR

El biorreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo una reacción biológica cultivando de forma controlada un microorganismo para la producción de biomasa, y/o producto; o en algunos casos hacer una reacción específica [20], [21]. El biorreactor es el corazón de cualquier proceso bioquímico, ya que proporciona un entorno controlado para lograr un crecimiento óptimo y/o la formación del producto en el sistema celular particular empleado [22].

4.1.1. Tipos de operación de biorreactores

El modo de operación de los biorreactores es usado de acuerdo a la configuración de las condiciones, siendo clasificados en tres tipos (I) procesos de lote, (II) continuos y (III) semicontinuos (Tabla 1.) [23], [24].

4.1.1.1. *Proceso por lote o batch*

El proceso por lote o batch (por sus siglas en inglés) se reconocen por ser sistemas parcialmente cerrados donde la mayoría de materiales necesarios se adiciona asépticamente y se eliminan al final de la operación. En un bioproceso por lotes, el único material agregado y eliminado durante su operación es el intercambio aire/gas, antiespumantes y agentes que controlan el pH [23], [25].

4.1.1.2. *Proceso continuo*

El proceso continuo tiene una posibilidad de lograr alta productividad con cepas que tienen una tasa de crecimiento alto máximo específico, pudiendo ser operado en una o varias etapas [26]. En la operación del biorreactor el medio fresco es añadido continuamente y los productos junto con el cultivo se eliminan a la misma velocidad, manteniendo así concentraciones constantes de nutrientes [24], [27].

4.1.1.3. *Proceso semicontinuo o fed-batch*

Un proceso semicontinuo o fed-batch (por sus siglas en inglés) emplea los nutrientes necesarios para el crecimiento celular y la formación del

producto con la adición de la alimentación de manera intermitente o continua a través de uno o más flujos de alimentación durante el curso de operación del biorreactor [28].

Tabla 1. Comparación entre los modos de operación de los biorreactores [24].

MODO DE OPERACIÓN	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Lote o batch	Uso de equipos simples adecuados para pequeños volúmenes de producción y obtención flexible de distintos productos.	Tiempo de inactividad para limpieza y adición de alimento, lo que hace que se cambien las condiciones del biorreactor.
Continuo	Alta productividad en óptimas condiciones del producto, debido al manejo constante de los parámetros; facilitando el estudio de comportamiento cinético.	Requiere el control permanente del flujo y el tiempo de utilidad del catalizador como agente necesario en la estabilidad de los microorganismos.
Semicontinuo o Fed-batch	Control para el ajuste de los parámetros de función, permitiendo la formación o inducción del producto.	Necesita alimentación permanente bajo temperatura y concentración de sustrato constante.

4.2. BIORREACTORES A PEQUEÑA ESCALA

Los biorreactores escala pequeña o microbiorreactores (MBR) han surgido como herramientas novedosas para el desarrollo temprano de bioprocesos [29]. La optimización rápida de bioproductos, se debe a la importancia del rendimiento del diseño del bioproceso. El diseño y metodologías a desarrollar incluyen biorreactores a escala de laboratorio para evitar limitaciones en resultados [30]. La necesidad de llevar un gran número de desarrollos y mantener sus condiciones como el pH, el proceso de alimentación y monitorear distintas etapas de la línea de funcionamiento se han demostrado principalmente en cultivos de bacterias como *E. coli* o levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* [30], [31].

Los pequeños volúmenes de microbiorreactores resultan en menor consumo de medios y menores costos de instalación, en particular al establecer la potencial de interacción [31]. El manejo de volúmenes a escala de mililitros permite la construcción de biorreactores de mesa para la producción rápida

y conmutable de productos, logrando muestras seleccionables en menos de 24 horas. La combinación de este sistema con tecnologías analíticas y de purificación podría conducir a plataformas de biofabricación personal, a escala, portátil y totalmente integrada [32]. La biofabricación depende de la naturaleza de la unidad de operaciones y su integración en el sistema final; por lo tanto, es apropiado proporcionar una definición funcional del término “operación continua de la unidad” [33]. Una unidad de operación es continua si es capaz de procesar una entrada de flujo continuo durante períodos prolongados de tiempo teniendo un tiempo de retención interno mínimo, la salida puede ser continua o discretizada en pequeños paquetes de productos de manera cíclica. El procesamiento continuo es un campo técnico rico que abarca varios conceptos, como flujo, enfoque de sistemas de integración y control basado en modelos [33].

La demanda de producción de bioproductos (en especial fármacos), es bastante complejo y requiere de un trabajo de desarrollo adecuado; por lo general este tipo de procesos son costosos y requieren mucho trabajo con una cantidad de limitante [34], [35]. Los biorreactores a pequeña escala y la plataforma de alto rendimiento se están convirtiendo en una solución atractiva y un reemplazo para las placas de microtitulación existentes, los matraces agitados y los biorreactores a escala de banco [35]. Las soluciones para la fabricación a pequeña escala son potencialmente ágiles, debido a la reducción de en el número de operaciones unitarias, lo que permite evaluar de manera instantánea las condiciones del sistema. [3], [36].

El InSCyT (Integrated Scalable Cyto-Technology) es un ejemplo de sistema el cual cuenta con un biorreactor de sobremesa de sub litro el cual está acoplado con sensores en la entrada y salida para el control del flujo, pH, temperatura y velocidad de oxígeno disuelto (OD). El tamaño y la adaptación de sensores facilita el control del pH con respecto a la línea de fluido del cultivo celular y así procesar directamente sin tanques de retención intermedios [3]. Un ejemplo que en la actualidad la fabricación de medicamentos específicos en corto tiempo y un bajo costo.

4.3. FILTRACIÓN TANGENCIAL

La filtración de tangencial o filtración de flujo cruzado (CFF su siglas en inglés *Cross Flow Filtration*), surge a partir de las ósmosis inversas como necesidad de minimizar la formación de tortas sobre la superficie de la membrana, para reducir la suciedad y maximizar la utilidad de la membrana [37], [38]. Los dispositivos de filtración tangencial consisten en un tubo de muestra central con una capa de membrana en la pared interna del canal, la muestra de

estudio se hace circular mediante una bomba a lo largo del tubo y el permeado, que contiene la solución con solutos, se recoge a través de la membrana (Figura 1.)

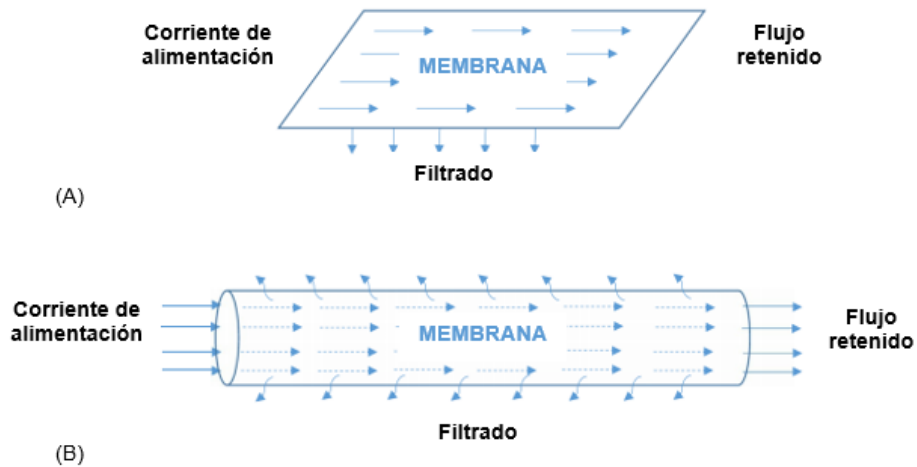


Figura 1. Esquema general de representación de filtración tangencial (A) Paso por un filtro de membrana (B) Paso por una membrana tubular

Este proceso requiere aplicar una presión superior a la del permeado, junto con una velocidad de fluido lo suficientemente alta para reducir la acumulación de soluto en la membrana y evitar incrustaciones [39], [40]. La CFF tiene como objetivo mejorar la estabilidad del flujo y el rechazo aplicando fuerzas de cizallamiento en la superficie de la membrana, a través de un flujo de alimentación a lo largo de la membrana [41].

La CFF con membranas se ha convertido en una técnica para clarificar caldos de cultivos de bioprocesos. Una de las particularidades de la CFF, es el control de la presión transmembranal, bien durante su arranque, porque rápidamente crea una capa de ensuciamiento, lo que resulta en una caída del flujo a una fracción de su valor inicial [42].

En la CFF, la corriente de entrada se divide en dos flujos denominados comúnmente *filtrado* (o permeado) y *retenido* (o concentrado). El permeado es la fracción que ha pasado la membrana, mientras que el retenido corresponde a la fracción enriquecida con la fracción que no atravesó la membrana. La desventaja en la aplicación de CFF es el alto consumo de energía, ya que se emplean caudales considerables de muestras, que puede generar un calentamiento no deseado en el líquido [43].

La CFF es usada para la recuperación de macromoléculas que acopladas a la microfiltración (MF) permite filtrar suspensiones coloidales o partículas con tamaño que varía de 0,02 a aproximadamente 10 micrones. Las aplicaciones relacionadas con la biotecnología van desde la producción de agua estéril,

clarificación de bebidas y la determinación de concentración de masa celular (levadura, *E. coli*) [44].

4.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA FILTRACIÓN TANGENCIAL

El rendimiento de un filtro de CFF se define principalmente por su eficiencia en la penetración o retención de especies deseadas y la tasa de transporte de especies a través de la barrera de la membrana [44]. El flujo permeado establece la relación de volumen de flujo recolectado por unidad de tiempo y el área de la membrana (*Ecuación 1.*); este modo de operación se rige por la llamada ecuación general de filtración (Ley de Darcy) definida como:

$$J = \frac{\Delta P - \Delta \Pi}{\mu \cdot R_h}$$

Ecuación 1. Ecuación general de filtración. También conocida como Ley de Darcy

Donde J ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$) es el flujo de filtrado, ΔP (Pa) la presión aplicada, $\Delta \Pi$ la presión osmótica, μ (Pa s) la viscosidad del solvente y R_h (m^{-1}) la resistencia hidráulica [45], [46].

La naturaleza del material del filtro de membrana es importante desde lo operativo, mecánico, térmico y químico, porque la estabilidad estructural asegurará la extensión de utilidad y fiabilidad del filtro (*Tabla 2.*). La contrasta la influencia de las características generales de rendimiento de un filtro de flujo cruzado [44].

Tabla 2. Influencia de las características de la membrana de filtración en el rendimiento

PROPIEDAD	FLUJO	RETENCIÓN	INFLUENCIA
Asimetría	Alto	Marginal	El flujo es alto respecto a la simetría de la membrana
Simetría	Alto	Marginal	Proporciona mayor superficie de retención por unidad de volumen. Esto lo

Punto burbuja	Marginal	Alto		hace susceptible a ensuciamiento irreversible
Dimensión de los poros	Alto	Marginal sustancial	o	Factor crítico para la vida útil de la membrana Debe optimizarse con cuidado para proporcionar un alto flujo y retención
Distribución de tamaño de poro	Separado	Sustancial		El tamaño de poro estrecho a menudo proporciona una eficiente separación
Porosidad	Sustancial	Marginal ninguna	o	Una mayor porosidad da como resultado una mayor permeabilidad y paso de flujo
Hidrofóbica	Marginal	Puede ser significativa	ser	El rechazo a agua es importante para fines estériles y separaciones acuosas.
Hidrofilica	Marginal	Puede ser significativa	ser	Proporciona humectación, dando un aumento en el transporte de soluciones acuosas y minimizando el ensuciamiento por sustancias orgánicas.

4.4.1. Selección de membrana

Los componentes de un bioproceso son variados y complejos. Componentes como macromoléculas (polisacáridos, proteínas, ácidos húmicos y células microbianas) influyen en el paso general del flujo. Esto causa acumulación en la membrana siendo un factor difícil y complejo de manejar. Por lo tanto,

tener en cuenta las características de formación de remanente en membrana es un paso esencial para la mejora y eficiencia de la filtración [47].

El tamaño y carga de una molécula son importantes para el uso de membranas ya que resulta en un proceso altamente selectivo para la retención del producto. En CFF se tiene en cuenta el tamaño y características de carga de las biomoléculas. De este modo las moléculas que difieren menos de tres veces en tamaño se puede separar mediante el uso de membranas cargadas altamente selectivas junto con la interacción dinámica del flujo de alimentación [48]. Puede resultar difícil seleccionar la membrana y el material de membrana adecuados para determinado proceso, por tanto, es importante poseer información general sobre varios módulos de membrana los cuales pueden ser útiles para realizar una selección [49].

La selección de membrana puede parecer confuso ya que se pueden usar variedad de materiales, los cuales se proporcionan bajo una diversidad de nombres comerciales. Sin embargo, el proceso al que vaya a usarse la membrana y la información general del proceso por el cual pasará la membrana. El primer paso es determinar el proceso preferido Osmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración (RO, NF, UF o MF), después seleccionar el material de la membrana junto con los productos de interés y por último las resistencias químicas que puede tener la membrana frente a varios materiales [50].

Para aplicaciones establecidas, la elección del material de la membrana puede ser complejo, y a menudo se contrasta más de un material. Como regla general, solo las pruebas piloto estructuradas proporcionarán los resultados deseados frente al proceso y selección de membrana [50].

4.5. ENSUCIAMIENTO DE MEMBRANA

El ensuciamiento o fouling es el resultado del desgaste y pérdida del rendimiento que tienen las membranas debido a la acumulación de sustancias sobre la superficie externa poros. La disminución en la capacidad de paso de flujo por la membrana es definida como tasa de lujo, la cual es alterada por la naturaleza del ensuciante o el mecanismo de acción [51], [52].

De acuerdo a la naturaleza se puede clasificar el agente ensuciante en: biológico, orgánico, inorgánico y material coloidal.

- **Ensuciamiento biológico.** También conocido con el término *biofouling* (expresión en inglés) se caracteriza por la formación de una película bacteriana constituida por sustancias poliméricas

extracelulares (EPS) adherida a la superficie de la membrana. Las EPS conformadas por biomoléculas (ácidos nucleicos, carbohidratos y proteínas), interfieren en el comportamiento de la membrana alterando la porosidad, densidad, carga y propiedades de sorción [53].

- **Ensuciamiento orgánico.** Se integra por la presencia de sustancias de alto peso molecular, en su mayoría cadenas lineales como ácidos flúvicos y húmicos; estos compuestos favorecen la nutrición de poblaciones bacterianas que se encuentran presentes en conglomerado [54].
- **Ensuciamiento inorgánico.** Denominado como incrustación o scaling (expresión en inglés), es un efecto generado por la sobresaturación de una sal, ocasionando sedimentación y formación de cristales sólidos que tamponan directamente los poros membranales, desencadenando mayor precipitación en el filtro [55].
- **Ensuciamiento por material coloidal.** Efecto ocasionado por lo general por arcilla (aluminosilicatos) que no tuvieron un pretratamiento adecuado [54].

Junto a esta categoría se encuentra el mecanismo de acción de la membrana o permeabilidad de la misma (Figura 2.). De acuerdo al diagrama se detalla los tipos de ensuciamiento reversible o removible, ensuciamiento irreversible o irremovible y ensuciamiento irrecuperable [56], [57].

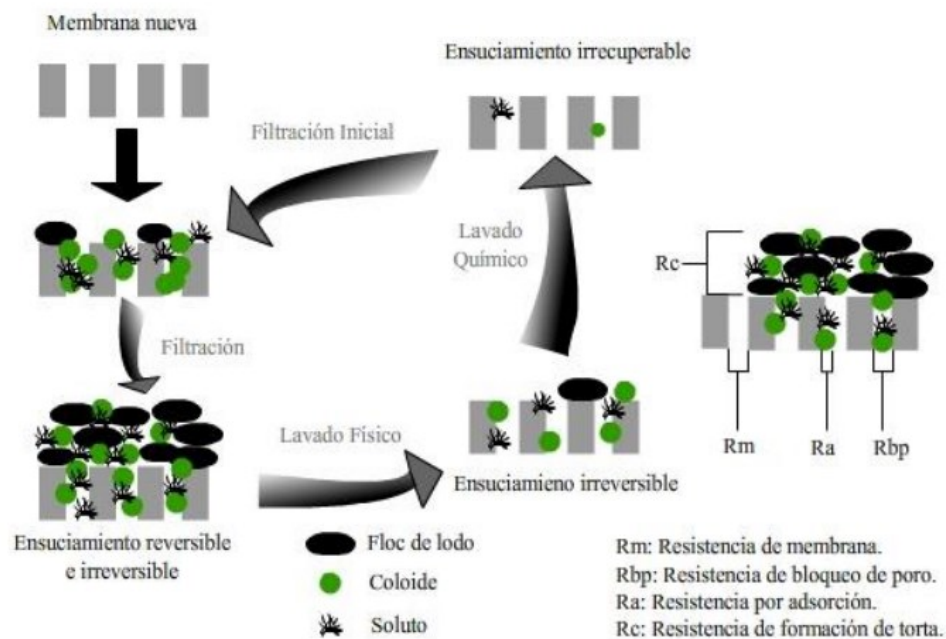


Figura 2. Diagrama de tipos de ensuciamiento y factores que intervienen en la membrana. Adaptado (Luna H. 2014)

- **Ensuciamiento reversible o removible.** Es la acumulación de remanente de manera temporal, atribuyendo la formación de torta, el cual puede ser removido por lavado físico (R_c).
- **Ensuciamiento irreversible o irremovible.** Es el causante del bloqueo permanente del poro en la membrana, la limpieza se realiza mediante lavado químico y no lavado físico (R_{bp}).
- **Ensuciamiento irrecuperable.** Cuando el ensuciamiento es absoluto y no puede ser removido por ningún tipo de lavado. (R_a) [56], [57]

4.6. RECUPERACIÓN DE BIOMASA

La biomasa se ha convertido en un producto valioso en la actualidad en diferentes industrias, lo que ha conducido a la producción y optimización masiva. La recuperación de biomasa es un factor trascendental en la economía mundial; sin embargo, la biomasa también es fuente de una gran variedad de productos, materiales y combustibles [58], [59].

La recuperación de biomasa y/o sustancias de descartes ayuda a la reducción de problemas ambientales, también el uso moderado de recursos naturales [60]. Algunos microorganismos (hongos, bacterias y algas) tienen la capacidad de emplear la biomasa como sustrato para la producción de nuevos productos o la captación de biomoléculas, los cuales son importantes en la biotecnología e ingeniería genética para modificar la estructura y composición en la biomasa [61].

El potencial de la biomasa es una problemática con relevancia para las diferentes industrias. A partir de este fenómeno diferentes investigaciones han demostrado la capacidad de diferentes microorganismos en especial las levaduras de fragmentar y utilizar diferentes compuestos (polifenólicos) como fuente de carbono [62]. El uso de estrategias de recuperación y reciclaje de biomasa son una alternativa de reducción de costos y el impacto ambiental de la producción actual de biocombustibles y agentes de remoción y absorción de residuos [63].

Las capacidades y características de la biomasa de levadura tienen capacidades de adsorción y velocidades rápidas en rangos de pH ácido. La regeneración y biomasa puede utilizarse repetidamente con poca pérdida en

adsorción [64]. Debido a la intensidad del efecto invernadero en el mundo, se están desarrollando investigaciones para reprocesar los desechos y reducir la contaminación; la biomasa residual se convierte en materia prima para la producción de nuevos productos ya que benefician en el impacto del uso de recursos naturales [65].

4.7. LEVADURAS COMO AGENTES DE RECUPERACIÓN

Las levaduras son organismos unicelulares pertenecientes al reino Fungi y se encuentran distribuidos en todo el medio natural. La especie de levadura más explotada y estudiada es *Saccharomyces cerevisiae* denominada popularmente como “levadura de pan”. La estructura y funcionalidad de la levadura ha proporcionado información del comportamiento de los eucariotas simples, facilitando el estudio de alteraciones, enfermedades y trastornos humanos [66], [67]

Las levaduras para su crecimiento presentan una variedad de condiciones; son organismo aerobios y facultativamente anaerobios. Cuando se cultivan en condiciones aerobias producen biomasa, es decir aumento masivo de células de levadura; mientras al producirse anaeróticamente, producen dióxido de carbono y etanol [68].

La biomasa de levadura *Saccharomyces* es un producto valioso como materia prima con diferentes usos en especial como agente detoxificante de efluentes con metales pesados [69]. Los avances en el estudio del comportamiento de superficie de las células de levaduras han proporcionado el desarrollo de estrategias para la ingeniería genética, la producción de biocombustibles a partir de biomasa, entre otras utilidades. Una de las ventajas de la levadura es su producción por medio de cultivo a una alta densidad en un medio a un bajo costo económico [70].

4.8. CEPA DE CULTIVO

4.8.1. *Saccharomyces cerevisiae*

La “levadura del pan” u “hongo del azúcar” es una cepa utilizada en diferentes industrias en especial la alimenticia; es empleada como modelo eucariótico, por su facilidad de cultivo. Tiene una morfología circular u ovoide y se reproduce por gemación. El tiempo de duplicación es aproximadamente de 90 minutos y requiere para su crecimiento aerobio azúcares, nitrógeno, fósforo, algo de azufre y varios metales como el magnesio [71].

La *S. cerevisiae* se compone de una pared celular externa gruesa integrada por una red de beta-glucanos y una cantidad mínima de quitina asociada como capa de manoproteína. Estas propiedades de la pared permiten que la célula de levadura se use como vehículo de tipo de liberación sostenida por su eficacia en la carga de diversos materiales activos y la facilidad de crecimiento a bajo costo [72], [73].

Las condiciones de crecimiento de *S. cerevisiae* está en una temperatura de 5 a 40 °C, pero el rango óptimo para la presencia máxima celular está entre 25 a 30 °C, con una tolerancia ácida en una escala 4 a 6,5 de pH. Su pequeño tamaño celular y tiempo de duplicación entre 85 a 120 minutos, permite hacer cultivos de manera masiva y controlada. El crecimiento y fermentación de la levadura está influenciado por factores como inoculación, carbohidratos disponibles (glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa), presión osmótica e hidratación [74].

5. METODOLOGÍA

5.1. MATERIALES

5.1.1. SOFTWARE

El diseño y elaboración conceptual de cada una de los moldes y piezas del sistema de filtración tangencial a escala de laboratorio fue Blender en la versión 2.90, un programa de acceso libre y en constante renovación. El acceso remoto al cambio a la edición, se realizaron los acoples, soportes y adaptaciones para la instalación para sensores (óptico y presión) y circuitos electrónicos (sonda de temperatura y ventilador modificado con magneto para agitación).

La programación del sensor y los circuitos electrónicos se ejecutó a partir de Arduino IDE versión 1.8.13; programa que permite emitir los comandos de programación para el control electrónico y automático del Arduino UNO conectado al sensor óptico, sensor de presión, sonda de temperatura, ventilador y motor paso a paso. A través de la programación del Arduino UNO se logró controlar y recopilar datos de temperatura y presión dentro del prototipo.

Con el apoyo de Microsoft Excel versión 19.0 se recopilaron, almacenaron y ordenaron los datos emitidos, para su posterior análisis estadístico y elaboración de gráficas.

5.1.2. Materias primas para el prototipo

- Caucho de silicona líquida
- Resina poliéster líquida
- Tubo de vidrio de 7.9 mm (diámetro)
- Cono de cerámica microporosa
- Pivote o cono de jeringa
- Manguera de silicona de 9.8 mm

Tabla 3. Disposición de materias primas en la elaboración del prototipo.

	BIORREACTOR	SOPORTES DE SENSORES	SISTEMA FILTRACIÓN
Caucho de silicona líquida	+	+	+

Resina poliéster líquida	+	+	+
Tubo de vidrio	+	-	+
Pivote o cono de jeringa	+	-	-
Manguera de silicona	+	+	+

5.1.3. Dispositivos de control y seguimiento electrónico

5.1.3.1. Sensor óptico

El sensor óptico está integrado por una fotorresistencia LDR (Light Dependent Resistor) conectado a un diodo emisor de luz (Light Emitting Diode) LED de luz azul o roja (*Figura 4.*), elementos que operaron a partir de la conexión y mando del Arduino UNO, el cual emitió la señal con la energía necesaria para encender LED a partir de la captación de luz de la fotorresistencia LDR en el tiempo. Con un valor de 0 y 999 (0 indicador de carencia total de iluminación y 999 a la saturación de la LDR).

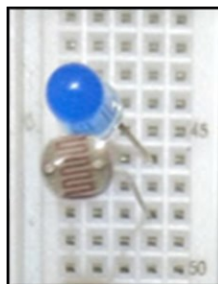


Figura 4. Fotorresistencia LDR junto a LED azul

5.1.3.2. Sensor de presión

El módulo de presión 0 – 40 KPa (*Figura 5.*) acoplado dentro de un soporte en resina que permitió estabilizar la toma de medidas de cada uno de los ensayos. El módulo funcionó a partir de la conexión con el Arduino UNO (*Figura 6.*), emitiendo un dato promedio por cada 50 milisegundo, dichos datos son almacenados y procesados en Microsoft Excel.

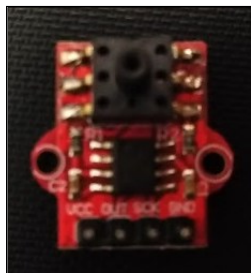


Figura 5. Módulo de presión de 0 - 40 KPa

Con una escala de 0 a 40 KPa (0 indicativo de ausencia de presión en el sistema y 40 kPa el máximo valor soportado por el módulo).



Figura 6. Placa de Arduino UNO, estación de mando y control de los circuitos electrónicos

5.1.3.3. Control digital de temperatura

El control de temperatura se usó para regular la incubación de microorganismos, al igual que los sensores (óptico y presión), éste último también tuvo su conexión con el Arduino UNO. La sonda que cuenta el termostato digital que se sumergió dentro del cultivo para graduar la temperatura deseada (Figura 7.).

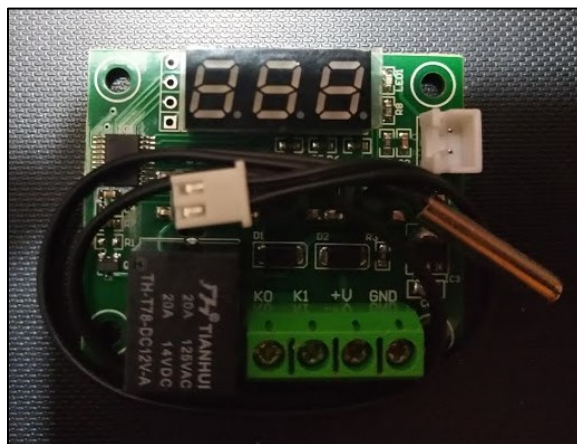


Figura 7. Termostato digital W1209, controlador de temperatura

La calibración de la temperatura antes de la activación del circuito fue 0,3 grados por debajo de la temperatura ambiente y 0,2 grados arriba. Al calentar el medio de cultivo a temperatura de 36°C, el valor mínimo registrado fue de 35,7°C, temperatura donde se encendió la termorresistencia.

5.1.3.4. Control de flujo

El flujo suministrado se realizó por medio de la bomba jeringa, equipo de la autoría del grupo de investigación GRESIA de la UAN (Universidad Antonio Nariño). Se compone de un chasis impreso en PLA con un sistema de 11 piñones, que empuja un apoyo donde se puede ubicar una jeringa de 50 mL (*Figura 8.*) (el sistema de apoyo se adapta a cualquier tamaño de jeringa) acoplado con un motor paso a paso nema 17 – 52 N´ cm (*Figura 9.*), éste a su vez se conecta a un tornillo que hace posible el desplazamiento del apoyo que sostiene el embolo de la jeringa.

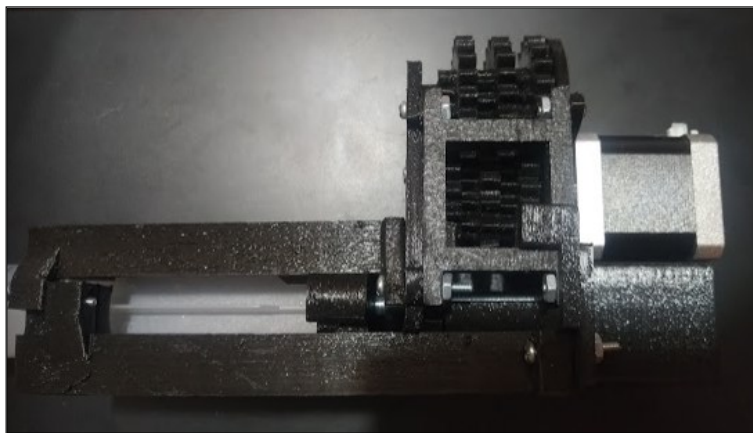


Figura 8. Bomba jeringa, conformado por 11 piñones para el desplazamiento del contenido de la jeringa

El desplazamiento del apoyo de la bomba es posible gracias a un circuito electrónico regulado por pulsadores que modifican la velocidad de rotación del motor y así mismo el flujo (*Figura 10.*). La caja de circuito de modificación de velocidad es propiedad del grupo de investigación GRESIA de la UAN, el sistema electrónico es diseño original del ingeniero y no es de carácter comercial.



Figura 9. Sistema de piñones de jeringa acoplado a motor paso a paso Nema 17- 52 N



Figura 10. Circuito de control de velocidad de la bomba jeringa

5.1.3.5. Cepa de microorganismo y medio de cultivo

La cepa usada fue *Saccharomyces cerevisiae*, conocida comúnmente como levadura para pan o cerveza. El crecimiento (Figura 11.) se hizo en medio de mezcla líquida entre 50 mL de agua, 40 g de levadura, 1,5 g de fertilizante triple 15 (NPK) y 40 g de sacarosa (azúcar blanca).



Figura 11. Biorreactor a escala con cultivo de levadura

Tabla 4. Proveedores de los reactivos empleados para el medio de cultivo

REACTIVO	PROVEEDOR
Levadura	Levapan
Fertilizante Triple 15	Anasac
Sacarosa	Incauca

5.1.4. Sistema de prefiltración

El sistema contó con la conexión de un sistema prefiltración, integrado por un cono de cerámica microporos soportado sobre un recipiente para la recuperación de muestra. El cono cerámico microporoso es un dispositivo de riego automático para plantas comercial y fácil acceso con un diámetro de 3 cm en la entrada de muestra (parte superior) y 1 cm de diámetro en de salida (parte inferior).

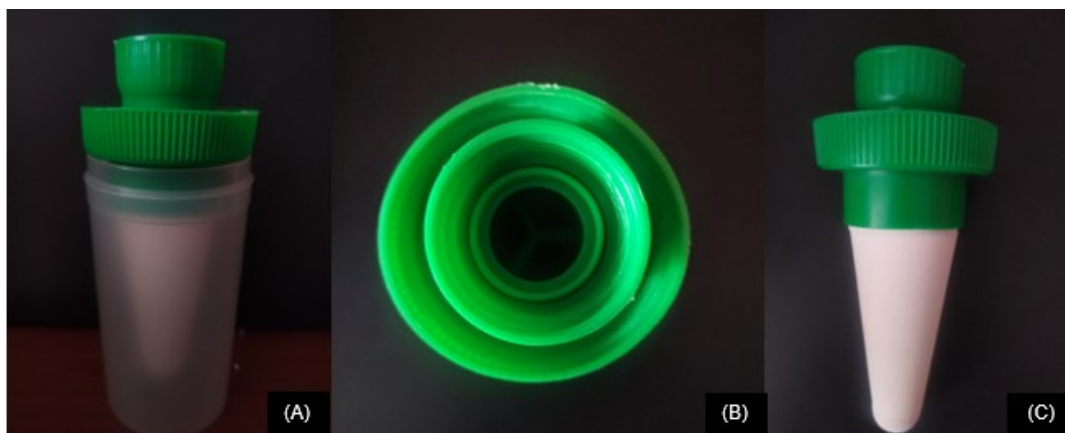


Figura 12. Sistema de prefiltración. (A) Cono cerámico poroso sobre recipiente de recolección. (B) Vista superior de empaque del cono cerámico. (C) Cono cerámico microporoso

La altura total del cono cerámico es de 7 cm. El cono cuenta con un empaque soporte en PVC que permite mantener suspendido el cono cerámico o incrustarlo, el empaque tiene un diámetro de 4 cm y una altura de 4,5 cm (*Figura 12.*).

El producto del cono cerámico fue recopilado en un recipiente de polipropileno con un diámetro total de 4,5 cm y una altura de 9,5 cm. El empaque del filtro cerámico se ajustó al borde del recipiente para recolectar la muestra. Las muestras con la cepa de interés se obtenían desde el cultivo hecho en el biorreactor, el volumen extraído por medio de la jeringa fue de 50 mL y transferido directamente al sistema de prefiltrado (*Diagrama 1.*).

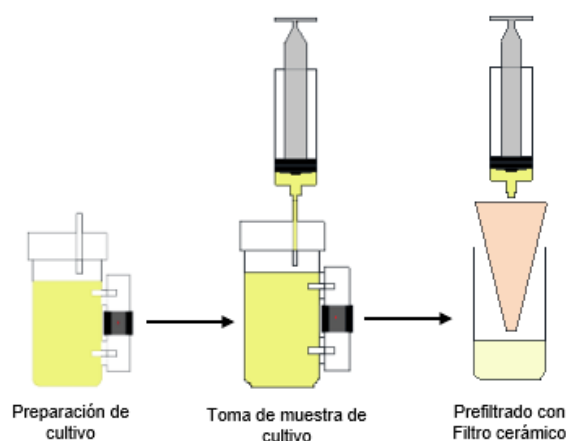


Diagrama 1. Paso de muestra por sistema de prefiltrado antes de ingresar a la caja de filtración tangencial

5.1.5. Caja de filtración tangencial

La caja de filtración tangencial se compone por piezas en resinas, un agitador magnético y ventilador (*Figura 13.*). Cada una de las piezas del equipo, se obtuvieron a partir del diseño en el software libre Blender e impresas en 3D en PLA (Polylactic Acid) y posteriormente sobre éstas se sirvió el caucho siliconado. Sobre los moldes siliconados se aplicó vaselina y colocó recortes de acetato para la adición de resina poliéster y facilitar el desmolde de piezas para ensayo.

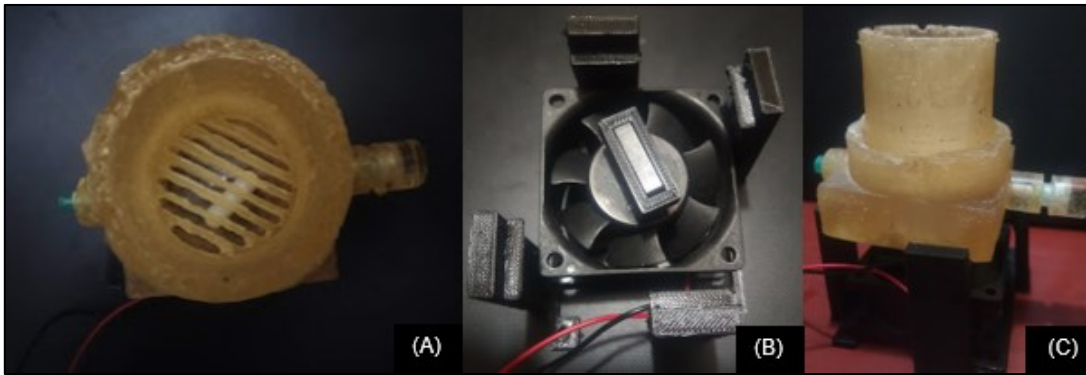


Figura 13. Piezas de la caja de filtración tangencial. (A) Vista superior de la caja de filtración tangencial con magneto de agitación. (B) Ventilador con magneto. (C) Vista frontal de la caja de filtración tangencial acoplado con ventilador

Los moldes en caucho siliconado se elaboraron al pesar el caucho en balanza (Figura 14.). A partir de la cantidad de caucho se agrega el catalizador manteniendo una relación de 6% de catalizador por el peso total de caucho (120 g de caucho siliconado uso 7,2 g de catalizador) (Diagrama 2.)

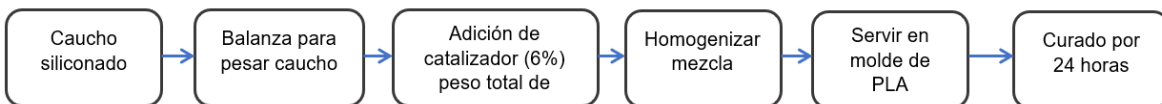


Diagrama 2. Preparación de moldes en caucho siliconado

La constante agitación para homogenizar la mezcla es importante para evitar la formación de burbujas que interfieren en zonas huecas en el molde. Los moldes en caucho siliconado tienen una durabilidad y resistencia térmica entre los 100 y 300 °C [75].

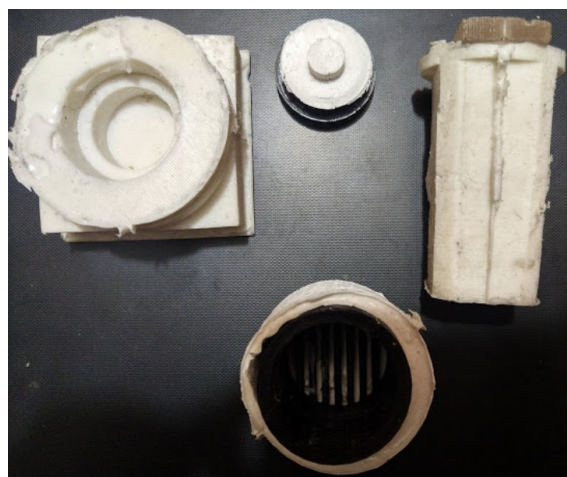


Figura 14. Moldes de caja de filtración tangencial en caucho y sus respectivas bases de PLA

La mezcla se sirvió sobre el molde en PLA a temperatura ambiente, sobre cada una de los moldes se colocó un objeto de mayor peso para mantener el esparcimiento de la mezcla equitativa y las piezas removibles mantuvieran su posición original (*Figura 15.*). Transcurrido las 24 horas se desmonta el molde del producto y éste último es el módulo para la resina.

La resina poliéster al igual que el caucho siliconado, es activado con un catalizador y también debe ser pesado para adicionar la cantidad correspondiente de catalizador respecto a la resina; de acuerdo a la masa de resina se adiciona el 3% en masa de catalizador para su curado (*Diagrama 3.*). La mezcla se homogeniza con agitación constante evitando la formación de burbujas (las burbujas son la apertura de poros en las piezas).

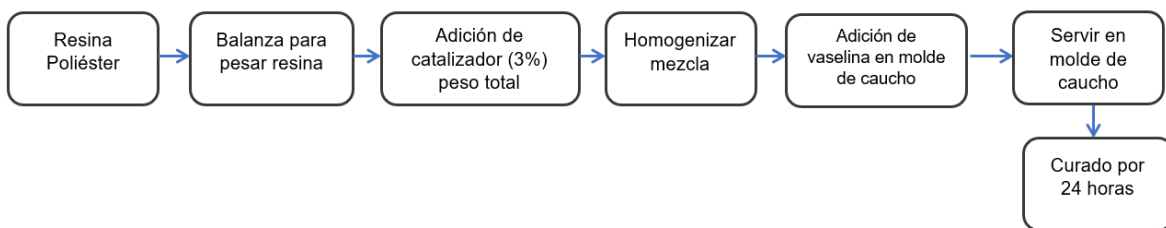


Diagrama 3. Obtención de piezas de caja de filtración en resina poliéster

La resina fue servida sobre el molde de caucho para evitar la adhesión de ésta sobre otro tipo de material y superficie. La coloración de la mezcla (un tono oscuro o ámbar) fue indicativo para ir sirviendo sobre el molde de caucho. El contacto entre el molde de caucho y la mezcla durante el tiempo de curado libera calor. Para el desmolde de la pieza en resina, previo a hacer servida y curada, se adiciona sobre todo el molde de caucho vaselina, con el fin de retirar con facilidad el molde en caucho y tener la pieza en resina.

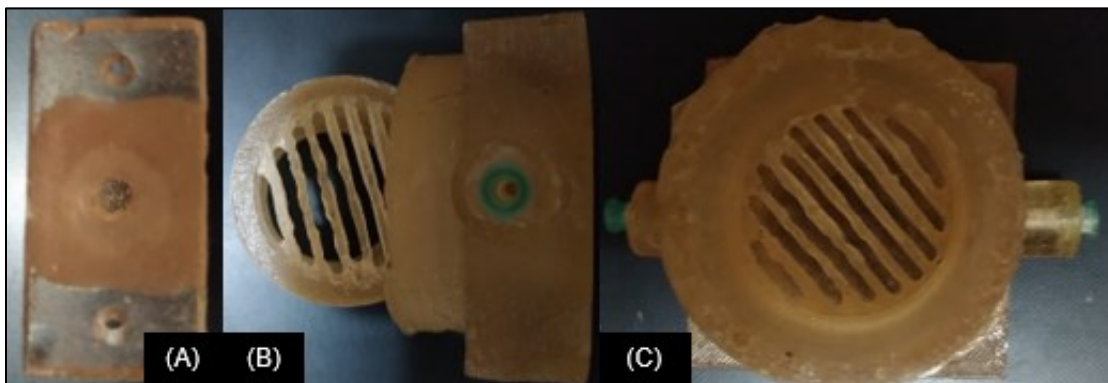


Figura 15. Piezas de la caja de filtración tangencial. (A) Soporte de fijación del módulo de presión. (B) Vista lateral de la tapa con rendija y caja de filtración tangencial con entrada habilitada. (C) Vista superior de caja de filtración tangencial

5.2. DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS SENSORES DE MEDICIÓN ÓPTICA Y PRESIÓN.

El comportamiento de los sensores de estimo a partir de los manuales desarrollados dentro del software de Arduino UNO. Las medidas permiten establecer que el crecimiento poblacional del cultivo y la presión del sistema los datos obtenidos aumentan, por lo cual hay una relación directa.

5.2.1. Calibración del sensor de presión.

El módulo de presión estuvo conectado al circuito de Arduino UNO, al igual que el sensor óptico hizo las veces de emisor y receptor. Por medio de un volumen de 10 mL (entre 40 mL y 30 mL se hicieron todos los ensayos) de aire en la jeringa y con ayuda de la bomba jeringa el volumen se fue desplazando con el propósito de mantener a una velocidad constante (*Diagrama 4.*). Se presentó el punto donde la bomba jeringa entre los 4 a 2 mL restantes de la transferencia de aire la velocidad no se mantenía constante a razón de la pérdida de fuerza de empuje y finalmente el sensor alcanzó su saturación indicando el valor máximo de presión.

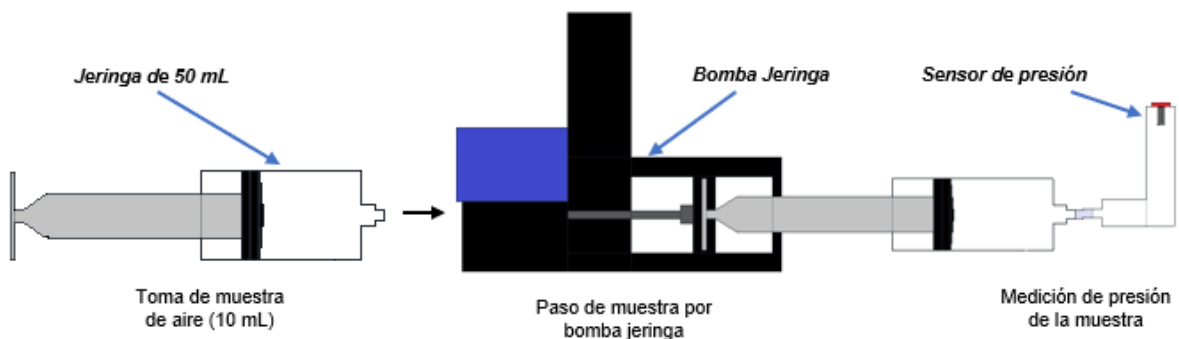


Diagrama 4. Ensayo de calibración de sensor de presión

El acople de entrada al soporte del sensor de presión estaba conectado por medio de una manguera siliconada de 9,3 mm, donde la fuerza ejercida por el émbolo para desplazar el aire, datos que iba captando el módulo de presión (*Figura 16.*). El intervalo seleccionado de muestra fue entre 30 y 40 mL, con la finalidad de establecer si en algún momento al retornar el montaje al estado original el émbolo de la jeringa llegaba a ubicarse por encima de los 40 mL hasta los 50 mL.



Figura 16. Montaje de calibración de sensor de presión

El ensayo se repitió 4 veces., recopilando un total de 960 datos durante 6000 segundos. El sensor de presión por cada ensayo tardó 1500 recopilando 240 datos. A partir de los datos emitidos por el sensor y el volumen desplazado en la jeringa se estableció por medio de la ecuación de gases ideales (Ecuación 2.) el punto de referencia de medición del módulo.

$$PV = nRT$$

Ecuación 2. Ecuación de gases ideales

Donde P (KPa) es la presión a calcular, V (mL) volumen de aire, n (moles) número de moles del aire y T (K) temperatura en las que se encuentra el aire. Para cada uno de los ensayos se determinó que el número de moles y la temperatura son constantes (*Ecuación 3. y Ecuación 4.*). El comportamiento del ensayo respecto a las condiciones atmosféricas en Bogotá, llevó a determinar los valores referentes del módulo sensor medidos.

$$P_1V_1 = n_1RT_1$$

Ecuación 3 Ecuación de gases ideales para el comportamiento de a condiciones ideales en Bogotá

$$P_2V_2 = n_2RT_2$$

Ecuación 4. Ecuación de gases ideales para el comportamiento de los ensayos respecto al módulo de presión

Al igualar las ecuaciones 3 y 4, teniendo en cuenta que el n, R y T son constantes se obtiene la ecuación de Boyle (*Ecuación 5.*)

$$P_1V_1 = \cancel{n_1RT_1}$$

$$P_2V_2 = \cancel{n_2RT_2}$$

$$P_1V_1 = P_2V_2$$

Ecuación 5. Ecuación simplificada del comportamiento de la presión del aire en cada ensayo, ecuación conocida como la Ley de Boyle

Donde P_1 (KPa) es la presión atmosférica de Bogotá, V_1 (mL) volumen de aire a condiciones atmosférica de Bogotá, V_2 (mL) es el volumen de aire seleccionado para los ensayos. Al establecer la relación de comportamiento P_2 (KPa) se convierte en la presión medida por el sensor (*Ecuación 6.*).

$$P_2 = \frac{P_1 \cdot V_1}{V_2}$$

Ecuación 6. Determinación de la presión emitida por el módulo de presión

Los valores para cada uno de las variables de la ecuación fueron:

$P_1 = 74,660$ (KPa) Presión atmosférica de Bogotá

$V_1 = 61,991$ (mL) Volumen de aire empleado a condiciones atmosférica de Bogotá

$V_2 = 61,949$ (mL) Volumen de aire desplazado por la jeringa en medio del ensayo

El volumen de aire empleado a condiciones atmosférica se le adicionó el volumen del soporte del sensor de presión, lo que indica el volumen inicial de muestra son los 40 mL empleados en el ensayo más el volumen del cilindro de conexión entre el sensor y la caja de filtración tangencial. El soporte con una (h) altura de 7 cm y (r) radio de 1 cm, arrojó un volumen de 21,991 mL (*Ecuación 7.*).

$$v = \pi hr^2$$

Ecuación 7. Volumen de un cilindro

$$v = \pi(7 \text{ cm})(1 \text{ cm})^2$$

$$v = 21,991 \text{ cm}^3$$

$$v = 21,99 \text{ mL}$$

Con los datos obtenidos en los ensayos de calibración se usó la (*Ecuación 8.*). Obteniendo como punto de partida el valor de 74,710 KPa (como se muestra en el ejemplo de la ecuación

$$P_2 = \frac{P_1 \cdot V_1}{V_2}$$

$$P_2 = \frac{74,660 \text{ (KPa)} \cdot 61,991 \text{ (mL)}}{61,949 \text{ (mL)}}$$

$$P_2 = 74,710 \text{ KPa}$$

Ecuación 8. Determinación de la presión emitida por el módulo de presión al haberse desplazado 0,10 mL de volumen de aire

5.3. CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA

5.3.1. Diseño conceptual

La elaboración de un sistema de recuperación de biomasa a partir de un biorreactor tipo airlift. A través de la consulta de publicaciones y trabajos similares, realizó el diseño del sistema de recuperación; las piezas que forman parte del sistema estuvieron sujetas de acuerdo a la capacidad máxima en volumen del biorreactor (250 mL). También se tuvo en cuenta el tamaño del tipo de membrana (membrana de éster de celulosa de 47 mm de diámetro por 0,45 nm) y del agitador magnético (barra de agitación de 8 × 20 mm diámetro - longitud) piezas de la caja de filtración. La funcionalidad de este prototipo está soportadas por pruebas de resistencia a los procesos de esterilización, estabilidad de medición óptica y ensayos de crecimiento [76].

5.3.2. Digitalización de piezas

Las piezas del sistema se diseñaron en formato digital con el apoyo del software de libre descarga *Blender*. Con el apoyo del software se construyó la caja de filtración tangencial, identificando cada uno de sus componentes, teniendo en cuenta su morfología y dimensiones.

5.3.3. Producción de piezas

El modelo de biorreactor fue aportado por investigaciones y ensayos previos del grupo de investigación GRESIA de la UAN, los recipientes contenedores para el crecimiento de los cultivos son en polipropileno. En la parta superior de la tapa se encuentra una entrada para la extracción de muestra, la cual cuenta con un tapón de caucho siliconado que sirve como cubierta; hacía uno de los laterales del recipiente tiene dos acoples en acero inoxidable protegidos con caucho siliconado e interconectados por el exterior del recipiente con un tubo de vidrio de 4,5 cm de largo y 0,6 cm de radio. Por medio del codo de vidrio se realizó la lectura de densidad óptica, para establecer el crecimiento celular (*Figura 17.*).



Figura 17. Recipiente de polipropileno con codo en caucho siliconado y tubo de vidrio. Junto a tapa con empaque de protección en caucho siliconado empleado como biorreactor.

Las piezas de la caja de filtración tangencial son originales del grupo de investigación GRESIA de la UAN, impresas en PLA y posteriormente cubiertas con caucho siliconado, para servir sobre estas la resina poliéster y lograr las piezas (Figura 18.).

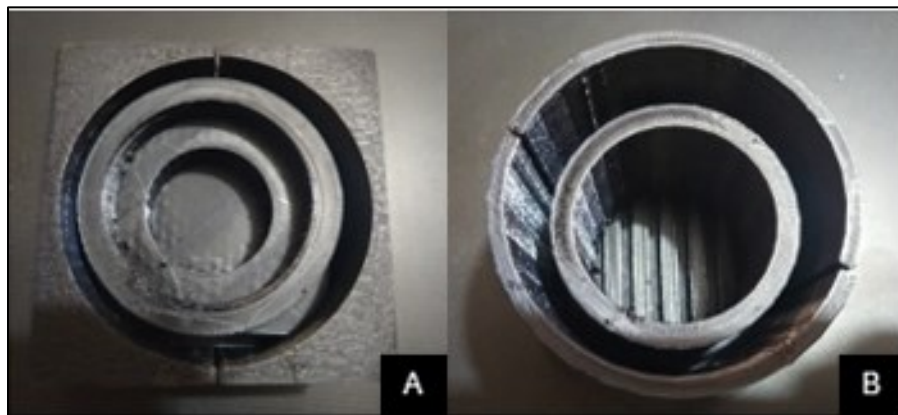


Figura 18. Piezas de caja de filtración en PLA: (A) Soporte de entrada chasis externo de la caja de filtración tangencial. (B) Acople y soporte de membrana con rendija para la caja de filtración tangencial

Cada una de las piezas en caucho de silicona se elaboraron con el apoyo de balanza para lograr adicionar la cantidad proporcional de caucho de silicona y catalizador para el curado de las piezas; la relación de peso de catalizador corresponde al 6% de valor pesado en caucho siliconado (Figura 19.). La mezcla entre el reactivo y catalizador se hace homogénea en constante agitación, evitando la formación (interferente en el curado del caucho)

La mezcla se sirve sobre el molde en PLA y a temperatura ambiente se dejó secando por un tiempo de 24 horas. Transcurrido las 24 horas se desmontó el molde del producto y éste último se usó para servir la resina poliéster.

La resina poliéster al igual que el caucho siliconado, es activado con un catalizador y también debe ser pesado para adicionar la cantidad correspondiente de catalizador respecto a la resina; de acuerdo a la masa de resina se adiciona el 3% en masa de catalizador para su curado (*Figura 20.*). La mezcla se homogeniza con agitación constante evitando la formación de burbujas (las burbujas son la apertura de poros en las piezas).



Figura 19. Moldes en caucho de caja de filtración tangencial. (A) Vista superior de caja completa de filtración tangencial. (B) Acople de roscado para rendija de la caja de filtración junto al cajón de procesamiento de muestra

Para el desmolde de la pieza en resina, previo a hacer servida y curada, se adiciona sobre todo el molde de caucho vaselina, con el fin de retirar con facilidad el molde en caucho y tener la pieza en resina.



Figura 20. Resultado de pieza en resina servida en molde de caucho

5.4. OPERACIÓN DEL SISTEMA

La operación del sistema se conformó por 2 partes:

1. Acople de manera aislada o independiente, correspondiente a la filtración con filtro cerámico. Esta parte denominada prefiltrado.
2. Caja de filtración tangencial y agitación constante.

El prefiltrado se empleó de manera alterna de acuerdo a las condiciones de cada ensayo.

5.4.1. Ensayos preliminares

Establecidos la calibración de los sensores y el ensamble de todo el sistema de filtración se realizaron pruebas con agua de la llave y agua estéril, con el fin de identificar algún tipo de falla. En cada uno de los ensayos se emplearon membranas nuevas, las cuales después de uso se sometieron a proceso de retrolavado, el total de retrolavados por cada membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para cada ensayo (*Diagrama 5.*).

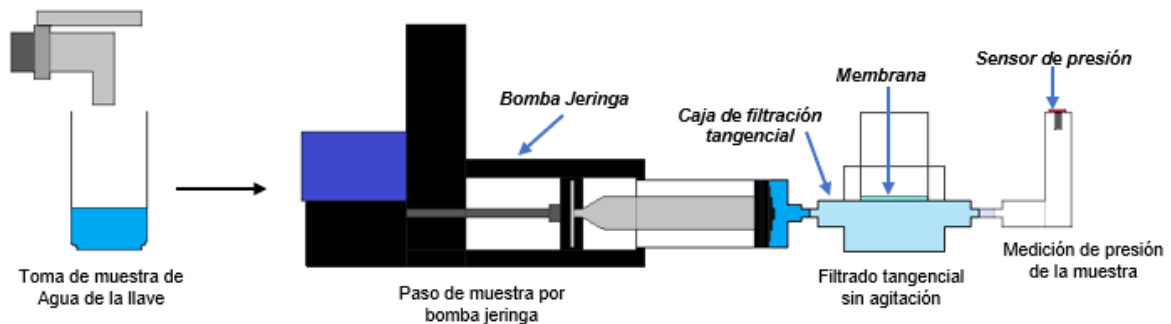


Diagrama 5. Ensayo de preliminar del sistema general de filtración tangencial con muestras de agua estéril y agua del grifo de la llave

5.4.2. Sistema de prefiltrado

En el biorreactor se tomó un volumen de 50 mL, se agregó en un filtro de cerámica, con el fin de simular el comportamiento y retención de células, ya que este tipo de filtros tienden a retener en un 96% de *E. coli* presentes en agua y reducir en un 94% coliformes [77].

La alícuota tomada del biorreactor se conectó a la bomba jeringa y de allí se procedió a pasar por el sistema de filtración tangencial, el cual contó con una membrana nueva. Las muestras obtenidas del biorreactor y procesadas por la caja de filtración tangencial, se operó inicialmente sin agitación magnética y posteriormente con agitación (*Diagrama 6.* y *Diagrama 7.*).

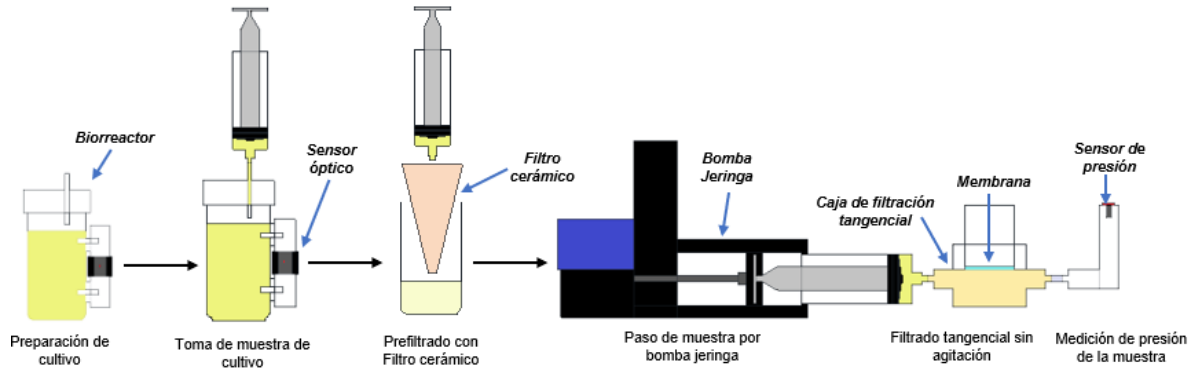


Diagrama 6. Aplicación del sistema de prefiltrado con muestra de levadura procesada por sistema de filtración tangencial sin agitación magnética.

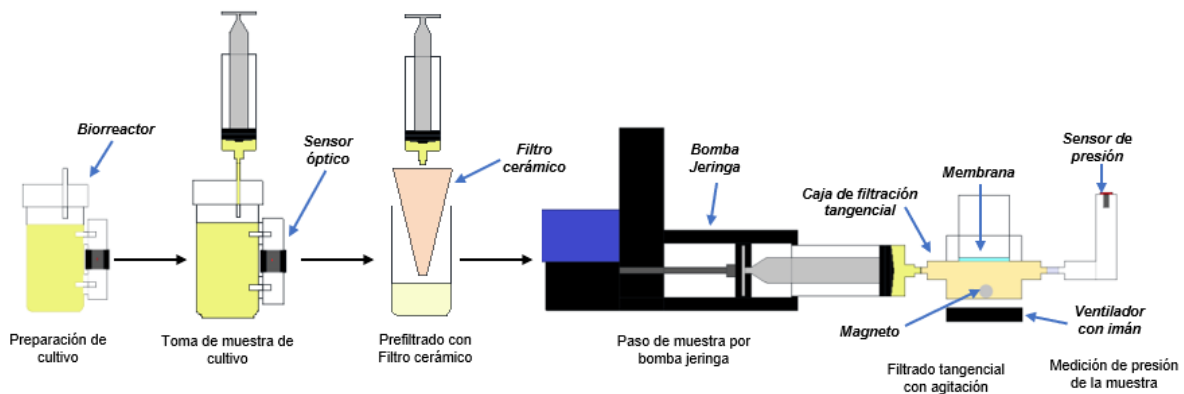


Diagrama 7. Aplicación del sistema de prefiltrado con muestra de levadura procesada por sistema de filtración tangencial con agitación magnética.

El filtro cerámico permitió simular el comportamiento de retención de células dentro de la membrana y el afluente obtenido contenga las partículas extracelulares.

5.4.3. Ensayo con agua del grifo de la llave

Con un volumen de 50 mL de agua de grifo de la llave se pasa por el sistema de filtrado tangencial con ayuda de la bomba jeringa. El sistema de filtración cuenta con una membrana nueva, (sin prefiltrado y agitado) el volumen es transferido el al otro extremo del sistema se va registrando la presión que va ejerciendo la bomba jeringa para hacer la transferencia del volumen total o en su efecto hasta donde la bomba no ejerza más fuerza sobre la jeringa. Finalizada la transferencia, la membrana se sometió a retrolavado, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (Diagrama 8.).

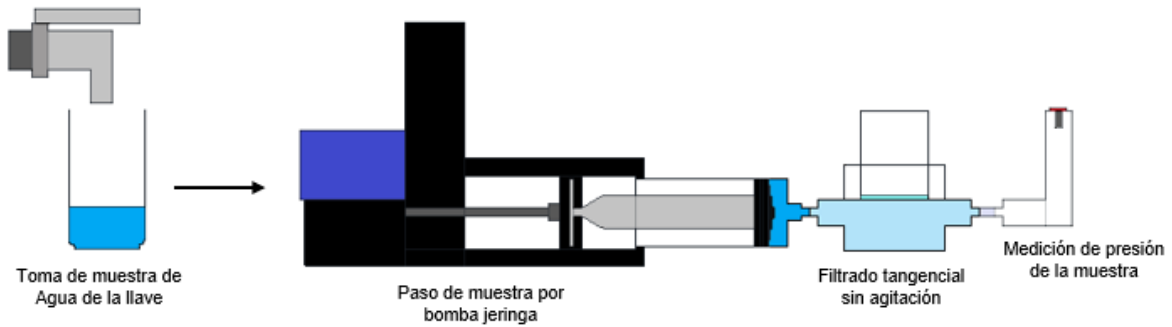


Diagrama 8. Ensayo del sistema de filtración tangencial con muestra de agua del grifo de la llave.

5.4.3.1. Ensayo con prefiltrado

El agua de la llave se pasó por el sistema de prefiltrado (filtro cerámico). El contenido filtrado se transfirió al sistema de filtración tangencial con ayuda de la bomba jeringa; por la salida del otro extremo del sistema de filtración tangencial se va reportando la presión ejercida por la bomba jeringa hasta traspasar el volumen total o el punto en donde la bomba ya no tenga fuerza de empuje. Sucedido cualquiera de los fenómenos (traspaso total o pérdida de fuerza de la bomba) la membrana fue lavada, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (*Diagrama 9*).

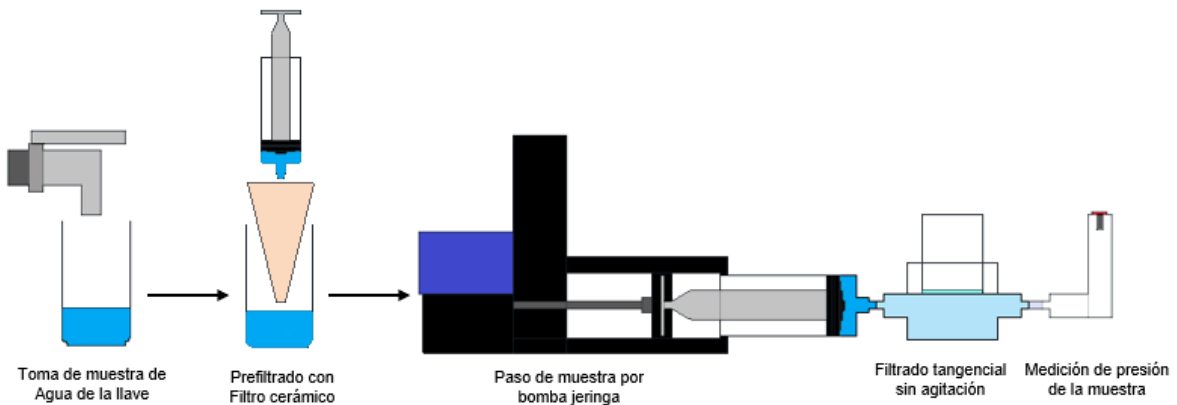


Diagrama 9. Ensayo de sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de agua del grifo de la llave.

5.4.3.2. Ensayo con agitación.

La muestra de agua no tuvo paso por el sistema de prefiltrado previamente. El sistema de filtración tangencial con una nueva membrana se inyectó la muestra, dentro de la caja de filtración tangencial se activó la agitación magnética para determinar el comportamiento con la muestra. Transcurrido el tiempo de transferencia del volumen total o la interrupción de la bomba jeringa; se realizó el lavado de la membrana, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2

réplicas en total para el ensayo, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (*Diagrama 10.*).

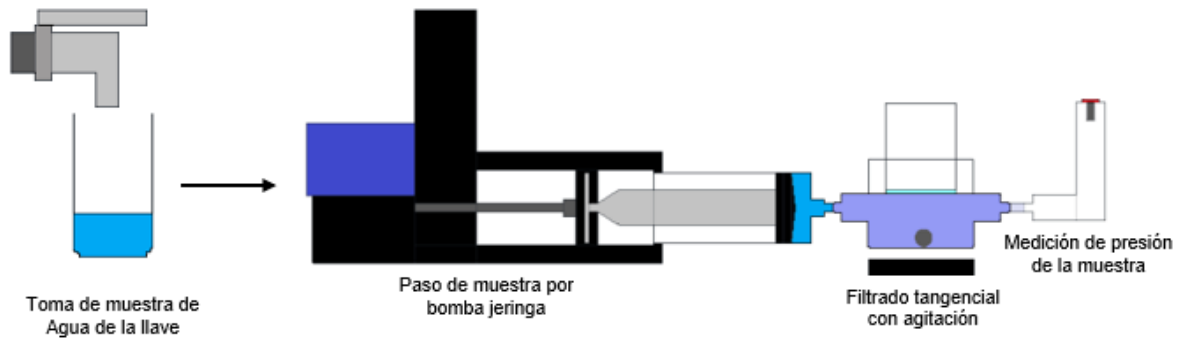


Diagrama 10. Ensayo del sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de agua del grifo de la llave.

5.4.3.3. Ensayo con prefiltrado y agitado

Una muestra de 50 mL de agua del grifo de la llave se pasó por el sistema de prefiltrado, posteriormente el producto se recolectó y con ayuda de la bomba jeringa se transfirió por el sistema de filtración tangencial. Este último contó con la activación de la agitación magnética. Finalizado el paso total de la muestra o la interrupción de la misma por el estancamiento de la bomba, la membrana se sometió a lavado, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (*Diagrama 11.*).

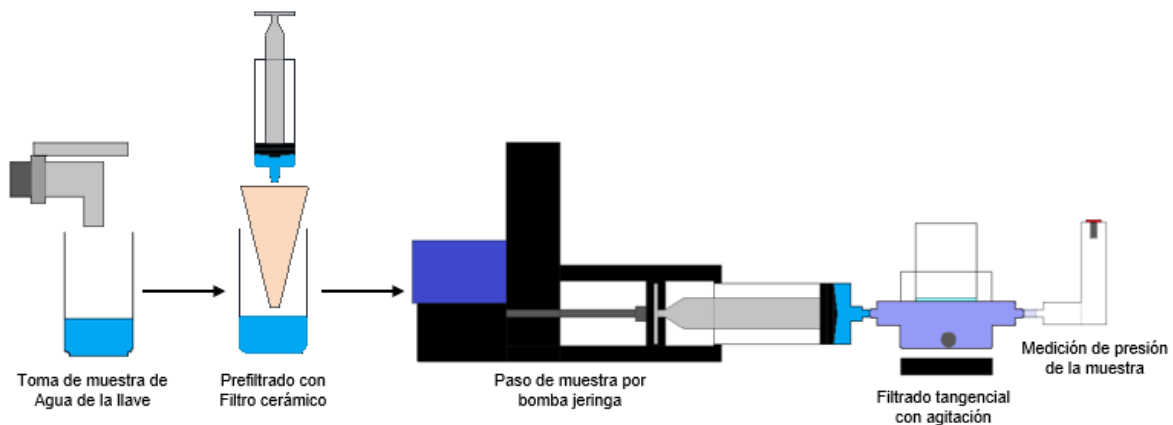


Diagrama 11. Ensayo del sistema de filtración tangencial con acople de sistema de prefiltrado y activación de agitación magnética con agua del grifo de la llave.

5.4.4. Ensayos con agua estéril

5.4.4.1. Ensayo con prefiltrado

Con 50 mL de agua estéril comercial se pasó por el sistema de prefiltrado (filtro cerámico). El contenido filtrado se transfirió al sistema de filtración tangencial con ayuda de la bomba jeringa; por la salida del otro extremo del sistema de filtración tangencial se va reportando la presión ejercida por la bomba jeringa hasta traspasar el volumen total o el punto en donde la bomba ya no tenga fuerza de empuje. Sucedido cualquiera de los fenómenos (traspaso total o pérdida de fuerza de la bomba) la membrana fue lavada, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (*Diagrama 12.*).

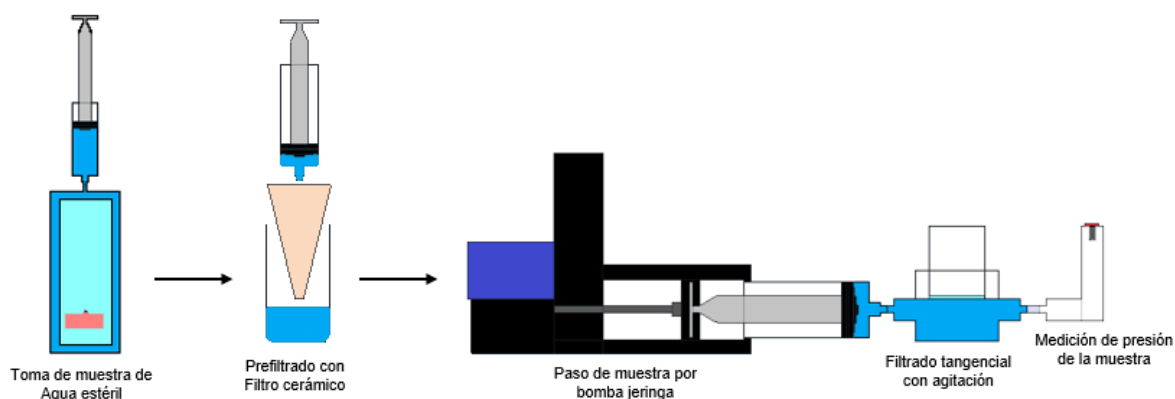


Diagrama 12. Ensayo de sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de agua estéril comercial.

5.4.4.2. Ensayo con prefiltrado y agitado

50 mL de agua estéril comercial se pasó por el sistema de prefiltrado, posteriormente el producto se recolectó y con ayuda de la bomba jeringa se transfirió por el sistema de filtración tangencial que contó con la activación de la agitación magnética. Finalizado el paso total de la muestra, la membrana fue lavada, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (*Diagrama 13.*).

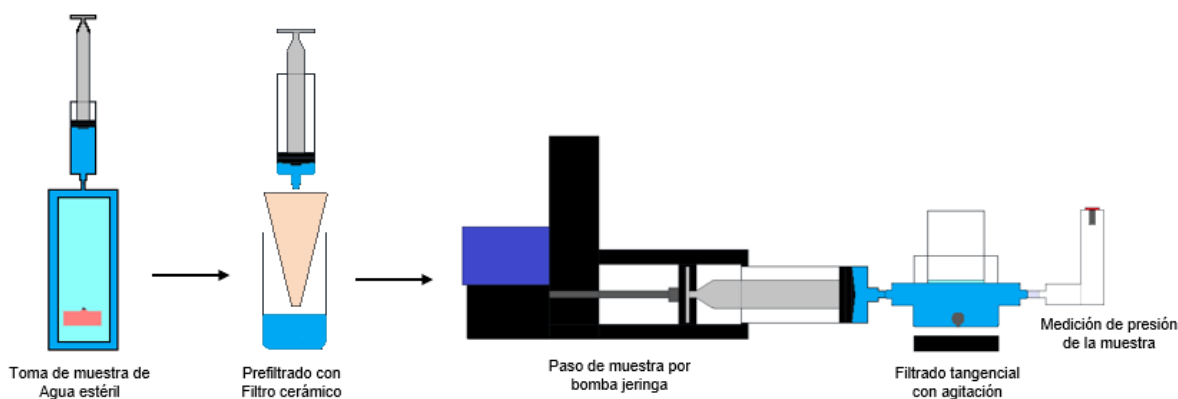


Diagrama 13. Ensayo del sistema de filtración tangencial con acople de sistema de prefiltrado y activación de agitación magnética con agua estéril comercial

5.5. Lavado de membrana – Retrolavado.

En la parte superior del sistema de filtración tangencial se adicionó 50 mL de agua estéril comercial (Agua destilada estéril Apirógena) para remover la torta formada en la membrana. El sistema de agitación se activó al tiempo que se iba suministrando el agua y se detuvo en el momento que no se observó algún remanente. La entrada de muestras del sistema de filtración se convirtió en la salida del lavado, la bomba jeringa funcionó de manera inversa para extraer el contenido del lavado. Por cada paso de 50 mL de muestra transferida se realizó 3 lavados a la membrana (*Diagrama 14.*).

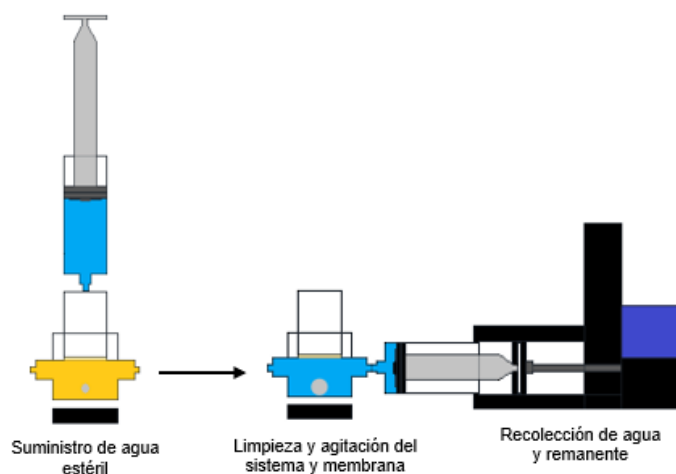


Diagrama 14. Retrolavado después del paso de muestras por el sistema de filtración tangencial.

5.6. Ensayos con cepa de selección

La cepa de selección fue *S. cerevisiae*. Los ensayos se definieron después de establecer el comportamiento del sistema de filtración tangencial con las muestras de agua del grifo de la llave y agua destilada estéril comercial.

Se cultivó en el biorreactor 200 g de *S. cerevisiae*, en 250 mL de agua con 7,5 g de fertilizante triple 15 (NPK) y 200 g de sacarosa (azúcar blanca de mesa), se tomaron 4 alícuotas de 50 mL para realizar cada uno de los ensayos. Al igual que los ensayos con el agua del grifo de la llave y el agua estéril, las muestras se sometieron a cada una de las condiciones o adaptaciones al sistema de filtración tangencial (*Diagrama 15.*).

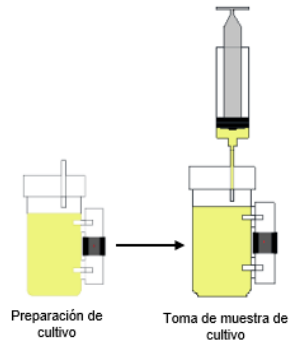


Diagrama 15. Siembra de *S. cerevisiae* en biorreactor para la extracción de alícuotas de 50 mL para cada uno de los ensayos.

Las alícuotas tuvieron el mismo tratamiento que las muestras de agua y se traspasaron a la caja de filtración tangencial con ayuda de la bomba jeringa. El primer ensayo se realizó sin el uso del sistema de prefiltrado y sistema de agitación magnética en la caja de filtración tangencial.

El paso total de la muestra por la caja de filtración tangencial o el punto en donde la bomba jeringa ya no diera paso a la muestra, se procedió a hacer el lavado de la membrana, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (Diagrama 16.)

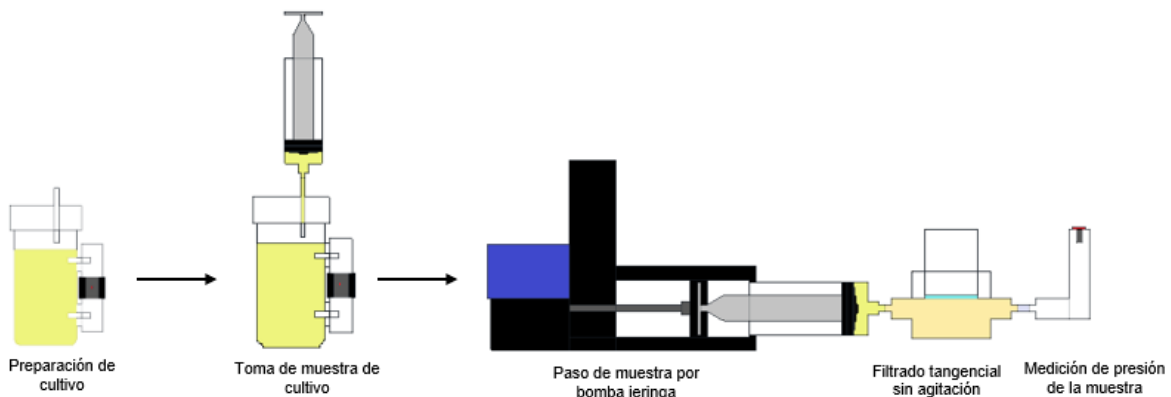


Diagrama 16. Ensayo del sistema de filtración tangencial con muestra de *S. cerevisiae*

5.6.1. Ensayos con prefiltrado

La muestra de *S. cerevisiae* pasó por el sistema de prefiltrado (filtro cerámico). El contenido filtrado se transfirió al sistema de filtración tangencial con ayuda de la bomba jeringa; al otro lado de la caja del sistema de filtración tangencial está conectado al sensor de presión, el cual determina la fuerza con la que se está desplazando la muestra hasta traspasar el volumen total o el punto donde la bomba ya no tenga fuerza para empujar la muestra. La membrana fue lavada posterior al paso de la muestra por la caja de filtración tangencial, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (Diagrama 17.).

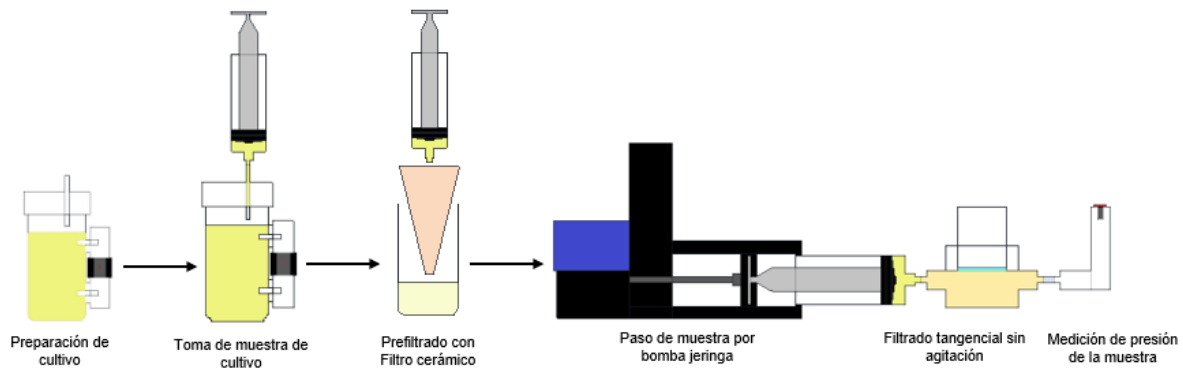


Diagrama 17. Ensayo del sistema de prefiltrado y sistema de filtración tangencial con muestra de *S. cerevisiae*.

5.6.2. Ensayos con agitación

La alícuota de 50 mL de *S. cerevisiae* no pasó por el sistema de prefiltrado, sino que fue ubicada en la bomba jeringa de manera directa, dentro de la caja de filtración tangencial se activó la agitación magnética para determinar el comportamiento en la formación de torta en la membrana. Transcurrido el tiempo de transferencia del volumen total o la interrupción de la bomba jeringa; se realizó el lavado de la membrana, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (Diagrama 17.).

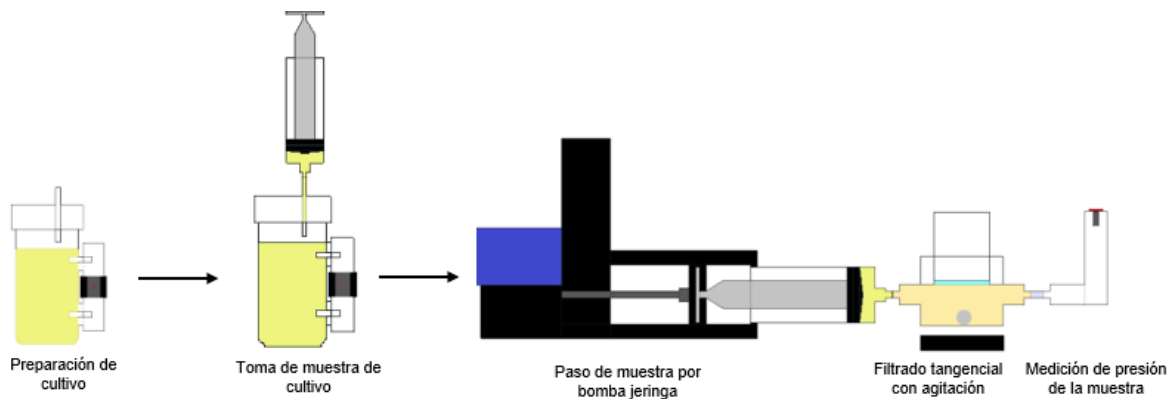


Diagrama 18. Ensayo del sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de *S. cerevisiae*.

5.6.3. Ensayos con prefiltrado y agitado

La muestra de *S. cerevisiae* se extrajo del biorreactor y pasó por el sistema de prefiltrado, posteriormente el producto se ubicó en la bomba jeringa. Se inyectó al sistema de filtración tangencial que estaba con la agitación magnética activa. Finalizado el paso total de la muestra o el estancamiento del motor para empujar, la membrana se retrolavado, el total de retrolavados en la membrana fue de 3 con 2 réplicas en total para el ensayo (Diagrama 19.).

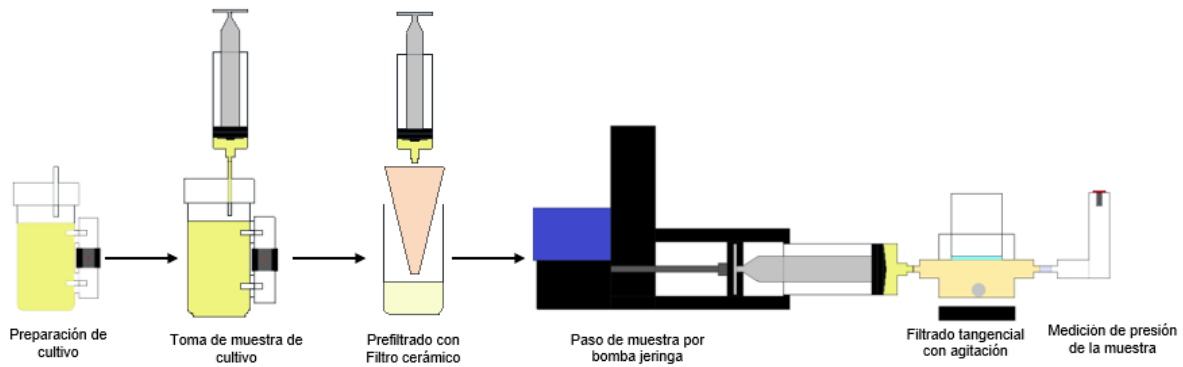


Diagrama 19. Ensayo del sistema de prefiltrado y el sistema de filtración tangencial con activación de agitación magnética con muestra de *S. cerevisiae*.

5.7. Ensayos con cepa de selección y ajuste de retrolavados

La cepa interés fue sometida a cada uno de los ensayos en el sistema de filtración tangencial siguiendo la misma secuencia que los ensayos anteriores (ensayos con cepa de selección, con prefiltrado, con agitación, con prefiltrado y agitación). Las membranas empleadas tuvieron un proceso de retrolavado con agua caliente (agua del grifo de la llave ebullición y enfriada hasta 75 °C [78], [79]).

El agua para el proceso de retrolavado fue suministrada por el grifo de la llave, se calentó hasta ebullición (92 °C en Bogotá [80]) y posteriormente se dejó enfriar hasta alcanzar los 75 °C, temperatura que fue medida con el termostato. También se hicieron ensayos donde el agua no alcanzó la temperatura de ebullición, si no los 75 °C o un máximo 80 °C y posteriormente se dejó enfriar hasta los 75 °C.

Con un volumen de 50 mL de agua caliente se ingresó por la parte superior de la caja de filtración tangencial para quitar la torta en la membrana. El sistema de agitación magnética se mantuvo encendido desde la adición del agua y se detuvo hasta que se extrajo todo el contenido de agua caliente y remanente con el apoyo de la bomba jeringa (*Diagrama 20*). Cada membrana se le realizó 3 retrolavados por duplicado por el paso de cada muestra.

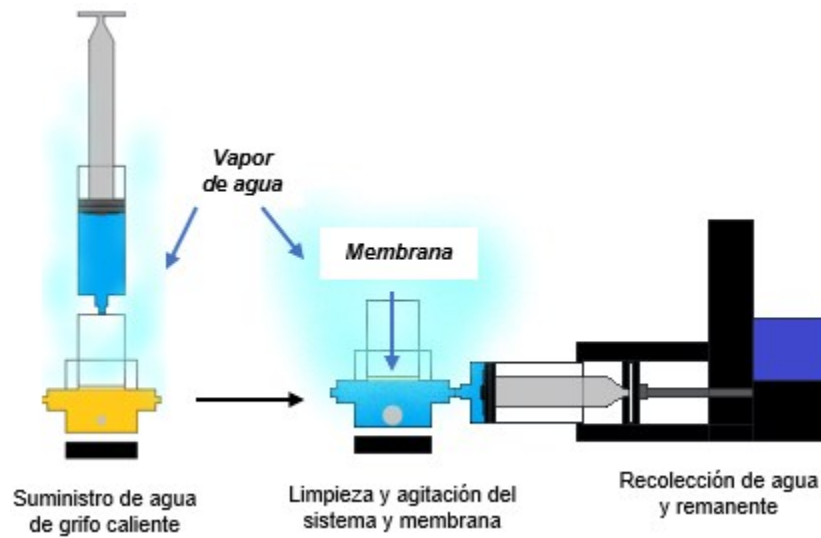


Diagrama 20. Retrolavado ajustado con agua caliente después del paso de muestras de *S. cerevisiae* por el sistema de filtración tangencial. El vapor de agua está representado con la nube de color azul menta

La membrana logró su colmatación, el ensuciamiento de la membrana aumentó por la concentración celular, el número de ensayos y el flujo de permeado, lo que disminuyó potencialmente la recuperación de células [81]. La vida útil estuvo determinada por la formación de torta [82].

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. CALIBRACIÓN MÓDULO DE PRESIÓN

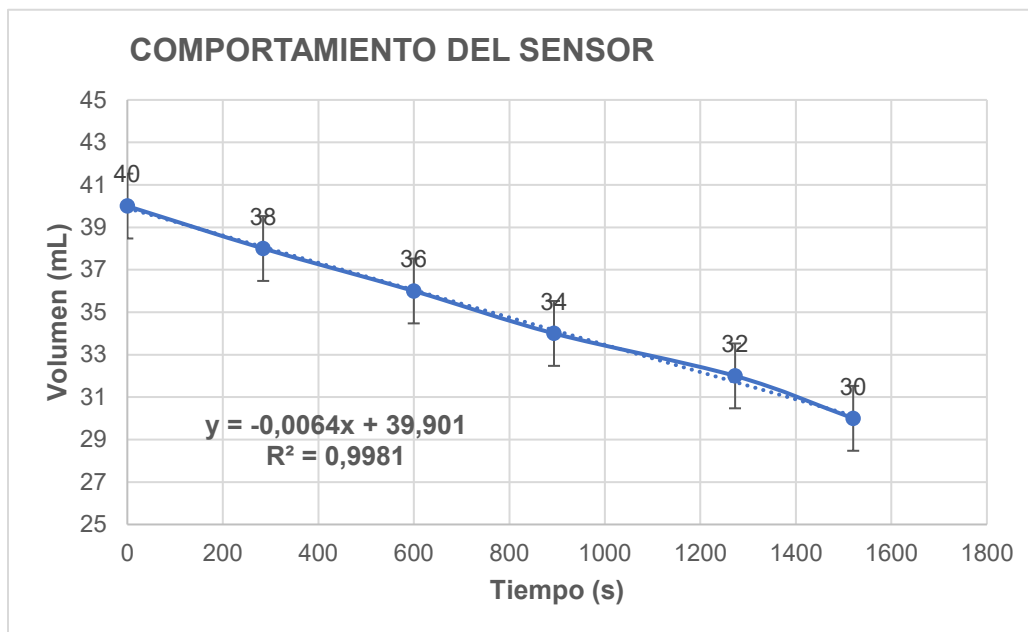


Figura 21. Tendencia promedio del comportamiento del sensor de presión con muestra de aire con un volúmen de 10 mL (entre los valores de 40 a 30 mL de la jeringa)

En la *Figura 21*, se observa la tendencia lineal que tiene el paso de los 10 mL de aire por el sensor de presión. El comportamiento a medida que el tiempo pasa se logra evidenciar una diferencia de 300 a 500 segundos por cada 2 mL de la muestra. A partir de la lectura se logra dar cuenta del flujo continuo y constante que mantiene la bomba jeringa.

El desplazamiento de muestra de aire mantiene una relación de -0,0064 por cada segundo que transcurre, la fluctuación que tiene la muestra es de 0,2%, indicativo que de la continua fuerza que está ejerciendo la bomba jeringa para transferir el volúmen de muestra sobre el armazón que sostiene el sensor de presión.

La gráfica es el promedio del comportamiento de 4 ensayos (*Figura 22*.) donde se encuentra la variación del tiempo respecto al volúmen desplazado realizados bajo las mismas condiciones

6.1.1. Comportamiento del módulo de presión

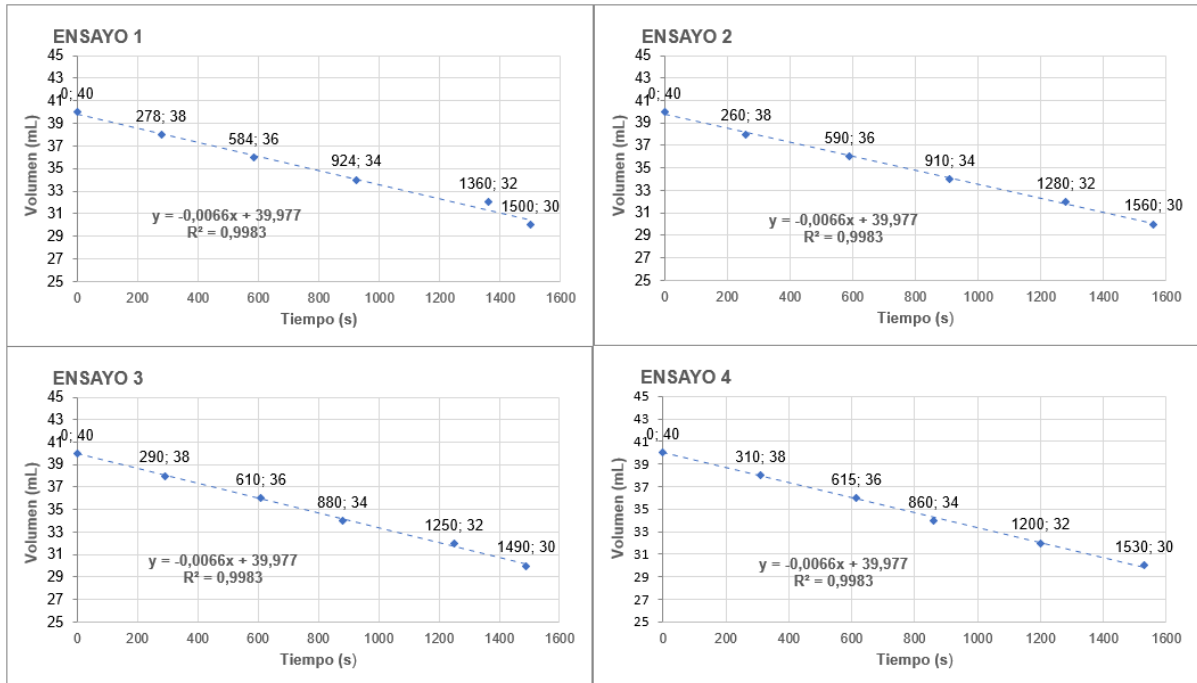


Figura 22. Ensayos de determinación de comportamiento del sensor de presión con una muestra de aire de 10 mL (entre los valores de 40 a 30 mL en jeringa)

Corresponde a cada uno de los 4 ensayos que se realizaron para saber el comportamiento de los 10 mL de muestra de aire durante el tiempo y la presión que iba ejerciendo el paso del volumen dentro de la caja de filtración tangencial. La tendencia en cada uno de los ensayos muestra un flujo continuo de aire; con una diferencia entre cada 2 mL de 400 segundos.

A partir del comportamiento del desplazamiento de la muestra de aire en la bomba jeringa se realizó un análisis matemático (Tabla 5.), donde se logró establecer el promedio del tiempo con respecto al cambio de cada 2 mL y la desviación estándar entre cada uno de los datos frente al sensor de presión.

Tabla 5. Datos de comportamiento de los 10 mL de muestra de aire dentro de la bomba jeringa (entre los valores de 40 a 30 mL)

VOLUMEN (mL)	Ensayo 1 Tiempo (s)	Ensayo 2 Tiempo (s)	Ensayo 3 Tiempo (s)	Ensayo 4 Tiempo (s)	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
40	0	0	0	0	0	0
38	278	260	290	310	284,5	18,18653348
36	584	590	610	615	599,75	13,04559313
34	924	910	880	860	893,5	25,03497553
32	1360	1280	1250	1200	1272,5	58,04093383

30	1500	1560	1490	1530	1520	27,38612788
----	------	------	------	------	------	-------------

Establecida la relación de interacción de la muestra, se empleó la ecuación de gases ideales, donde las variables de temperatura y número de moles fueron determinadas como constantes, por lo tanto, el volumen y la presión son los valores variables para el ensayo.

6.1.2. Curva de calibración

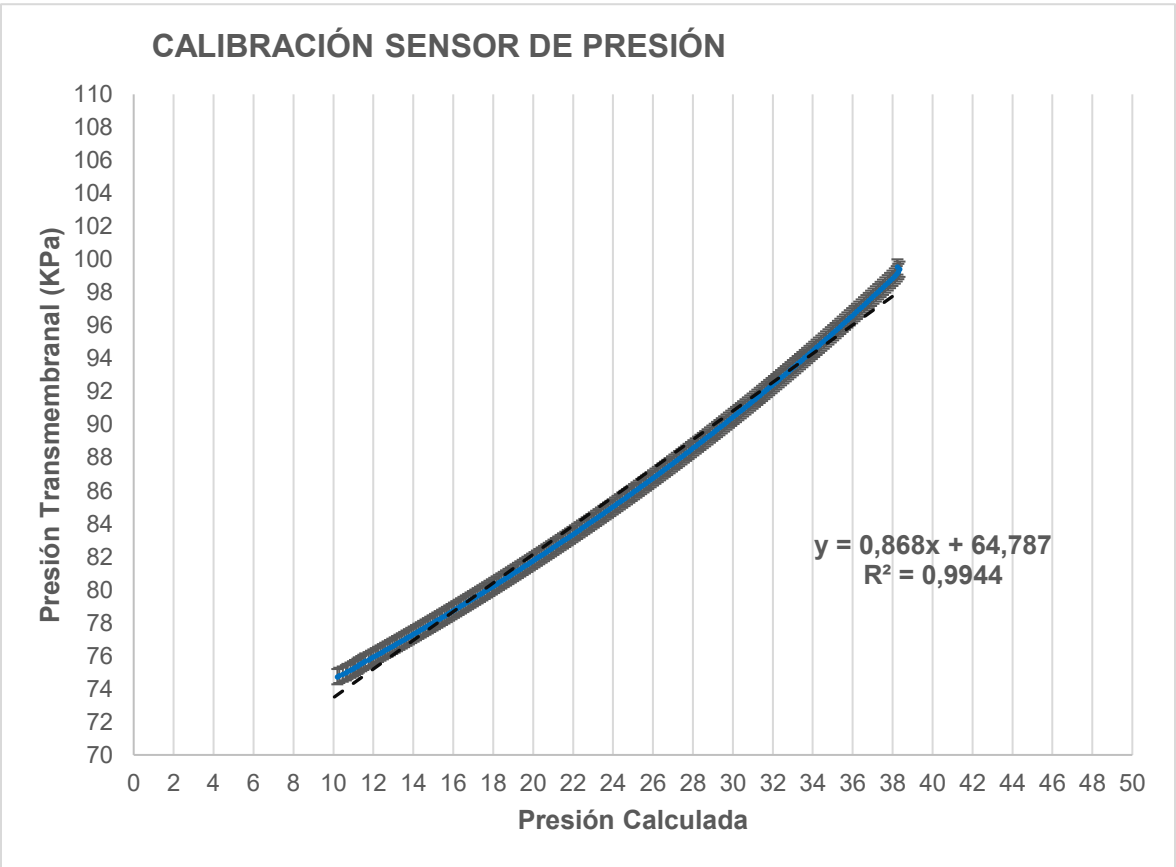


Figura 23. Curva de calibración del módulo de presión a partir de la ley de Boyle

La Figura 23. Muestra a partir del procesamiento de 490 datos procesados y la relación de la ley de gases ideales, que al despejarse da como resultado la ley de Boyle, se tiene en cuenta la presión atmosférica de Bogotá y se determina la presión ejercida por los 10 mL de aire sobre el sensor de presión, logrado encontrar los puntos de mínimo y máximo en los cuales se encuentra la presión que tiene el sistema.

El valor de R² evidencia la correlación de comportamiento del sensor con respecto al promedio y lo hallado con respecto a la ley de Boyle, lo que da un margen de

fluctuación de 0,1%, indicativo que la ubicación del sensor y la conexión que ejerce la presión sobre el sensor no posee fuga, falla o interferente alguno. De acuerdo a la ecuación la tendencia del sensor el valor mínimo el cual mide es 74,71 KPa y el valor máximo de 89,02 KPa.

6.2. ENSAYOS PRELIMINARES CON AGUA DEL GRIFO DE LA LLAVE

6.2.1. Ensayos sin prefiltrado y sin agitación

6.2.1.1. Determinación del flujo de muestra

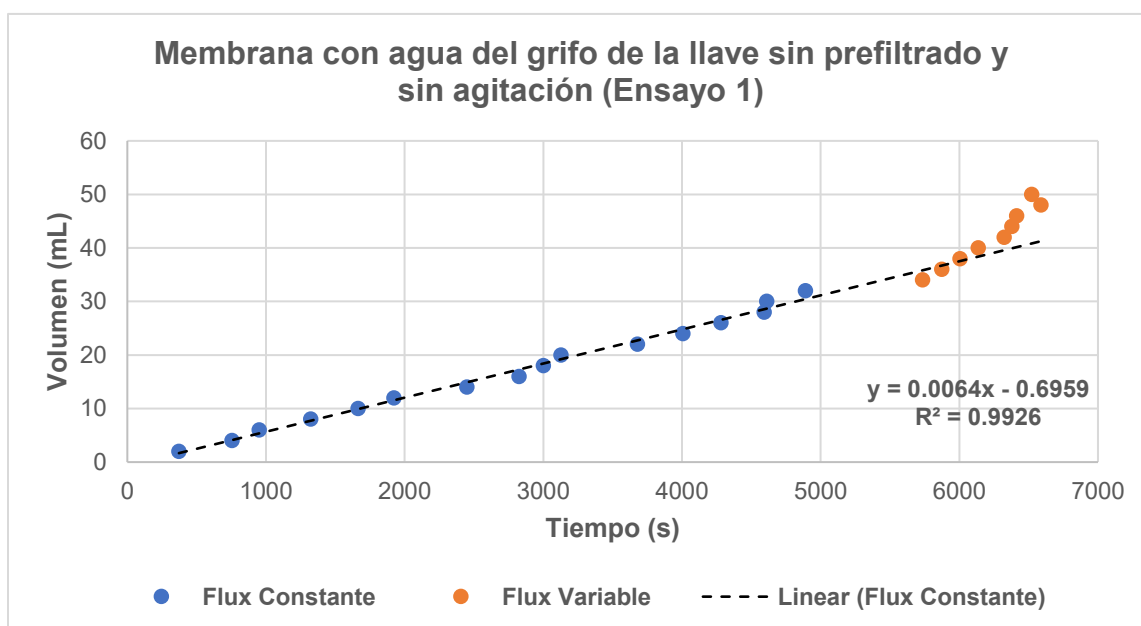


Figura 24 Determinación de flux constante y variable en membrana con agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 24. se observa el comportamiento lineal que tiene el flujo de muestra respecto al tiempo hasta llegar a los 32 mL en donde la tendencia del comportamiento deja de ser lineal, lo que muestra que la fuerza en el motor disminuye y la membrana está formando torta dentro del sistema.

La muestra al no ser sometida a un pretratamiento muestra la presencia de sólidos o partículas coloidales que se están acumulando en la membrana. Después de los 34 mL se evidencia que el flux es variable por tanto no es posible establecer con precisión cual es el comportamiento que está teniendo la membrana o determinar si ha llegado a su punto de colmatación.

Cada uno de los ensayos realizados (*Figura 25.*) dentro del sistema se determinó el caudal de flujo bajo las diferentes condiciones en que estuvieron las muestras y el flux de la misma dentro de la tendencia de comportamiento continuo y lineal. A partir de los datos recolectados para cada ensayo, la cantidad de muestra que fluye por la membrana a través del sistema de filtración tangencial.

Los valores en donde la tendencia del flujo fue lineal se procesaron por medio del software Excel, teniendo en cuenta que para cada condición se realizaron 4 ensayos y a partir del promedio de los 4 ensayos. El caudal es el resultado del paso de muestra (volumen) en unidad de tiempo.

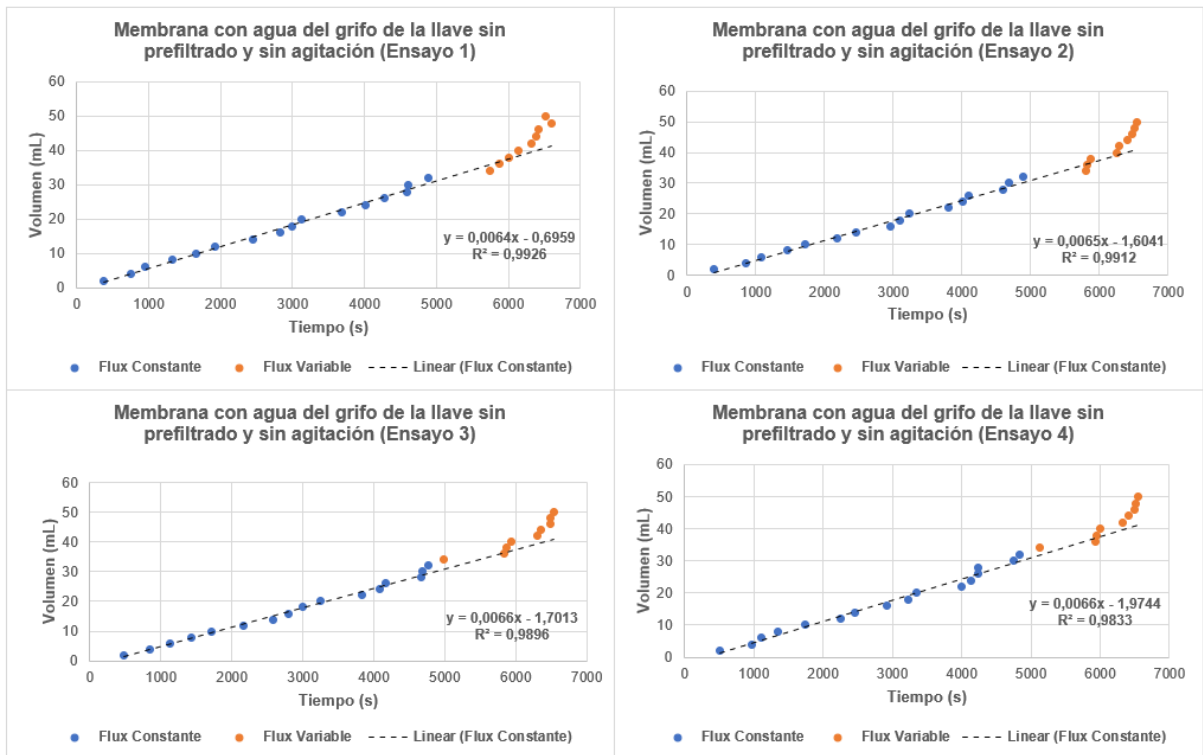


Figura 25. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

El caudal en el comportamiento lineal se determinó por medio de la ecuación de media aritmética o promedio, desde los datos emitidos (*Ecuación 9.*) por los 4 ensayos hechos bajo las diferentes condiciones. El c

$$P = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n}{n}$$

Ecuación 9. Ecuación de media aritmética o promedio.

$$Q = \frac{0,0064 \left(\frac{mL}{s}\right) + 0,0065 \left(\frac{mL}{s}\right) + 0,0066 \left(\frac{mL}{s}\right) + 0,0066 \left(\frac{mL}{s}\right)}{4}$$

Donde **Q** es el promedio de los valores de los caudales de cada uno de los ensayos

$$Q = 0,006525 \text{ mL/s}$$

$$Q = 0,006525 \left(\frac{mL}{s}\right) \times \frac{1 \text{ (m}^3\text{)}}{100000 \text{ (mL)}}$$

$$Q = 6,525E - 09 \text{ m}^3/\text{s}$$

El caudal tiene un valor de **6,525E - 09 m³/s**

La determinación del flux dentro de la permanencia del comportamiento lineal en los ensayos, se tuvo en cuenta el área transversal la caja de filtración. El área transversal de la caja de filtración tangencial se determinó por medio de la ecuación del área de la circunferencia (*Ecuación 10.*)

$$A = \pi \times r^2$$

Ecuación 10. Área de una circunferencia

$$A = \pi \times (0,0256)^2$$

$$A = 2,0588E - 03 \text{ m}^2$$

Donde:

- **A = 2,0588E - 03 (m²)** Área superficial de la caja de filtración tangencial
- **π = 3,14192 ... pi**
- **r = 0,0256 (m)** Radio del espacio ocupado por la membrana dentro de la caja de filtración tangencial

El valor del área transversal se convirtió en una constante, puesto que se empleó la misma caja de filtración tangencial y se mantuvo el mismo tamaño de membrana (*Ecuación 11.*). Finalmente, la fracción del área transversal sobre el caudal es el valor del flux para el comportamiento lineal del experimento

$$F = Q \div A$$

Ecuación 11. Ecuación de determinación de flux para los ensayos.

$$F = 6,525E - 09 \frac{m^3}{s} \div 2,0588E - 03 m^2$$

$$F = 3,1693E - 06 \left(\frac{m^3}{s} \times m^2 \right)$$

Donde:

- $F = 3,1693E - 06 \left(\frac{m^3}{s} \times m^2 \right)$ Flux del comportamiento continuo y lineal del ensayo bajo las condiciones establecidas.
- $Q = 6,525E - 05 m^3/s$ Caudal de muestra dentro de la caja de filtración tangencial
- $A = 2,0588E - 03 (m^2)$ Área transversal de la caja de filtración tangencial

El valor del flux continuo en el ensayo es de $3,1693E - 06 \left(\frac{m^3}{s} \times m^2 \right)$

6.2.1.2. Resistencia de membrana

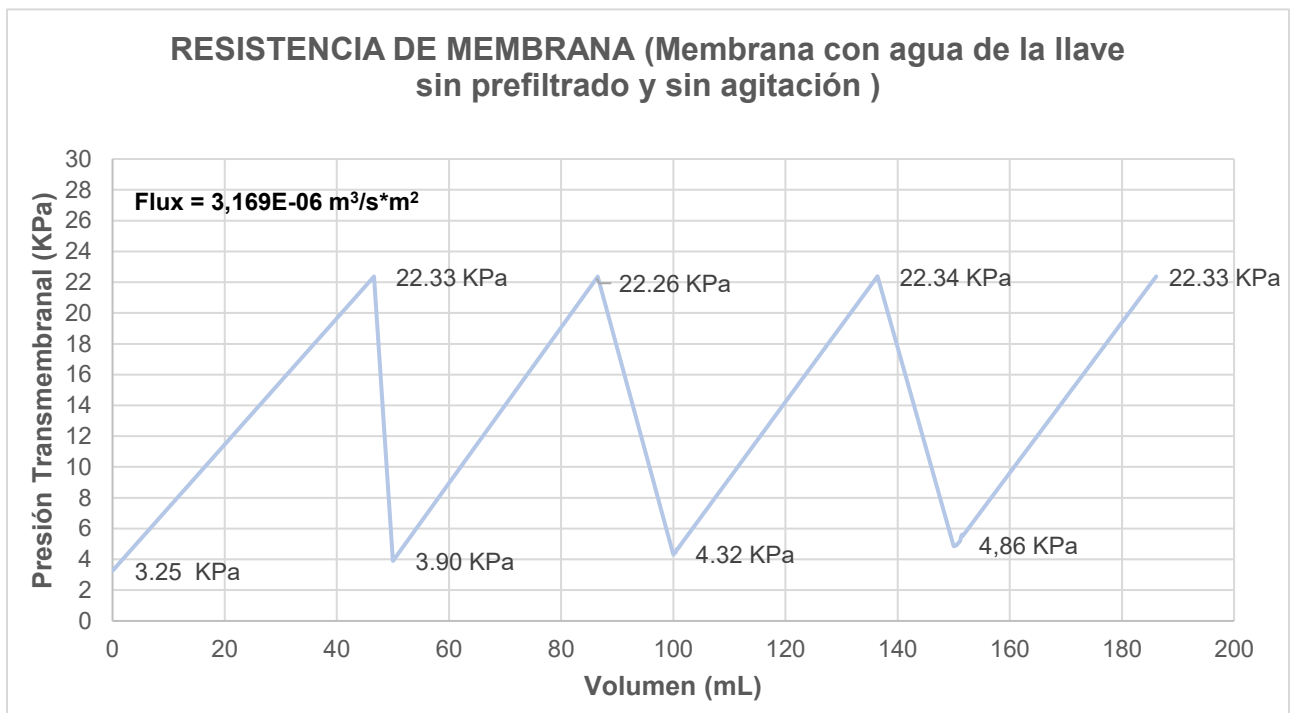


Figura 26. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave sin sistema de prefiltrado y agitación magnética.

En la *Figura 26.* se observa que al realizar el primer ciclo de filtrado de 50 mL de muestra el valor de la presión es de 3,25 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,33 KPa. Después del primer retrolavado de la membrana la presión en la

membrana es de 3,90 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,65 KPa con respecto al valor inicial y el valor máximo para el paso de los 50 mL de muestra en segundo ciclo de filtrado es de 22,26 KPa, un valor 0,07 KPa por debajo del valor máximo en el primer ciclo de filtrado. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 4,32 KPa, una diferencia de 0,42 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 1,07 KPa con respecto al valor inicial de la presión para el ensayo, lo que demuestra que la membrana está teniendo taponamiento en los poros por la acumulación de agentes contaminantes; la presión máxima que alcanza el tercer ciclo de filtrado es 22,34 KPa el valor más alto de en todos los ciclos y lo que también indica que el retrolavado logró remover sobre poros remanentes. El tercer y último retrolavado en la membrana determina que el valor inicial de la presión para el cuarto ciclo de filtrado es de 4,86 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,54 KPa respecto al valor anterior, 0,96 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 1,61 KPa a razón del primer ciclo de filtrado. El valor máximo de la presión para el último ciclo de filtrado es 22,33 KPa, manteniendo la tendencia con respecto a los ciclos anteriores.

La formación de torta en cada uno de los ciclos de filtrado es paulatina, el retrolavado es óptimo puesto que el ensuciamiento en la membrana es reversible en cada uno de los ciclos de filtrado, evitando la colmatación masiva y pronta. El flujo de la muestra en la bomba de jeringa es continuo debido a que no hay saturación en la membrana y tampoco pérdida en la fuerza de empuje por parte del motor. Los flux durante todos los ciclos de filtración son continuos ($3,169E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$) pese que al faltar 16 mL de muestra pareció que el motor de la bomba jeringa perdió fuerza le muestra continuo su flujo.

6.2.2. Ensayos con prefiltrado

6.2.2.1. Determinación del flujo de muestra

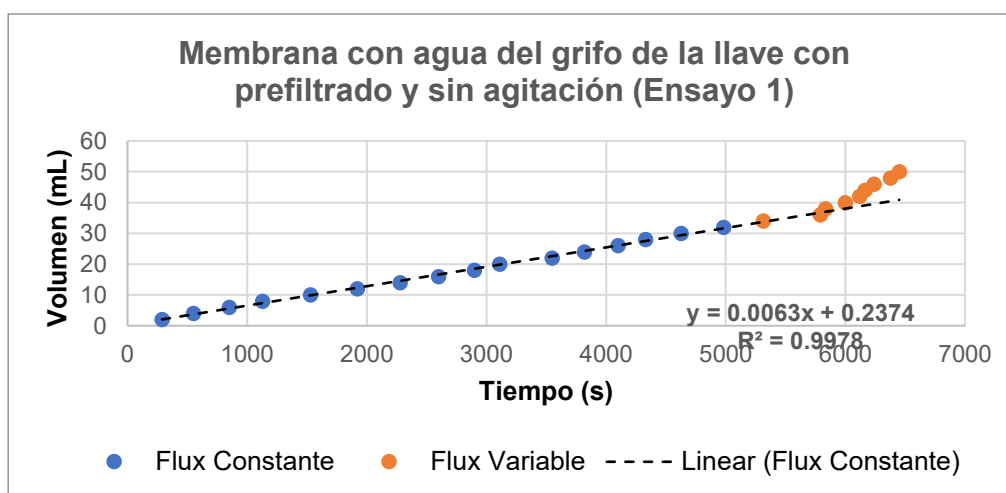


Figura 27. Determinación de flux constante y variable en membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado

La *Figura 27*. muestra el comportamiento lineal que tiene el caudal de la muestra previamente tratada en el sistema de prefiltrado, hasta los 34 mL de paso de muestra no hay un salto o cambio significativo en el paso. A diferencia del ensayo sin sistema de prefiltrado y agitación, hay un aumento de 2 mL en el flujo de la muestra. El tratamiento de la muestra por el sistema de prefiltrado permite un mayor flujo de muestra sobre el sistema y prolonga la estabilidad de la bomba jeringa.

La muestra al haber pasado por el sistema de prefiltrado muestra la disminución en la presencia de partículas del coloidales o sólidos suspendidos en la muestra. Después de los 36 mL se evidencia que el flux es variable por tanto no es posible establecer con precisión cual es el comportamiento que está teniendo la membrana o determinar si ha llegado a su punto de colmatación.

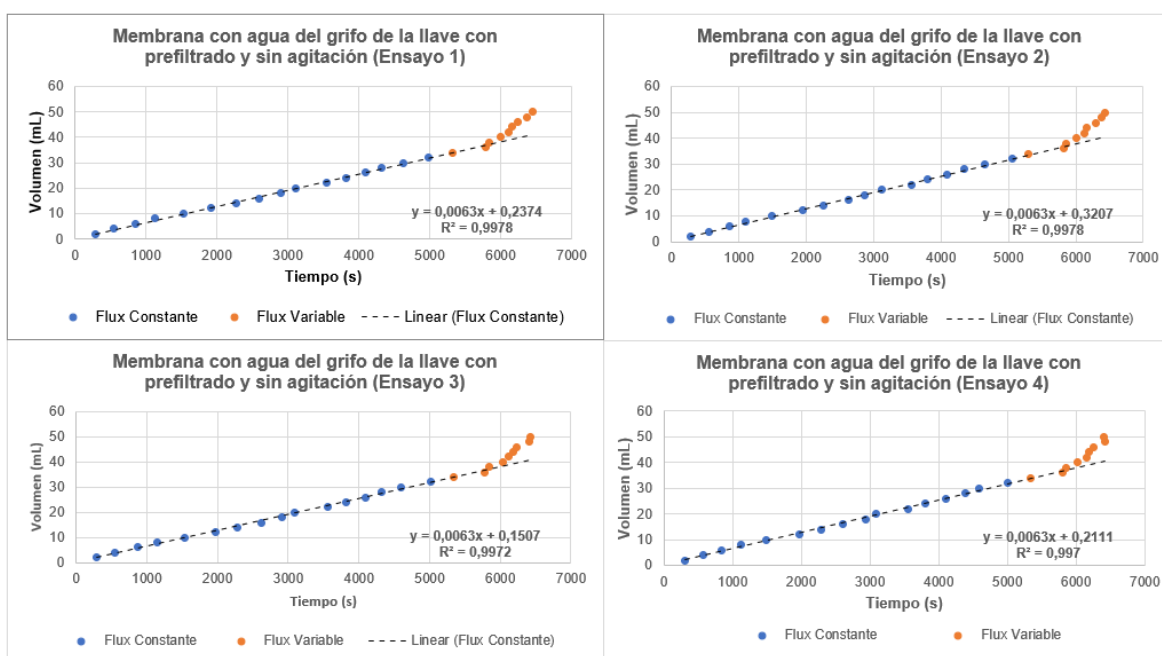


Figura 28. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con sistema prefiltrado.

La *Figura 28*. el caudal en el comportamiento lineal tiene un valor de $6,3E-09 \text{ m}^3/\text{s}$ y el flux de $3,06E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$. Un comportamiento similar al del ensayo anterior. Sin embargo, el paso sin dificultad de 36 mL de muestra evidencia que hay una reducción leve en el flux, indicativo que la membrana no se colmató tan rápido y el sistema de prefiltrado retiene un número significativo de sólidos o remanentes presente en la muestra.

6.2.2.2. Resistencia de membrana

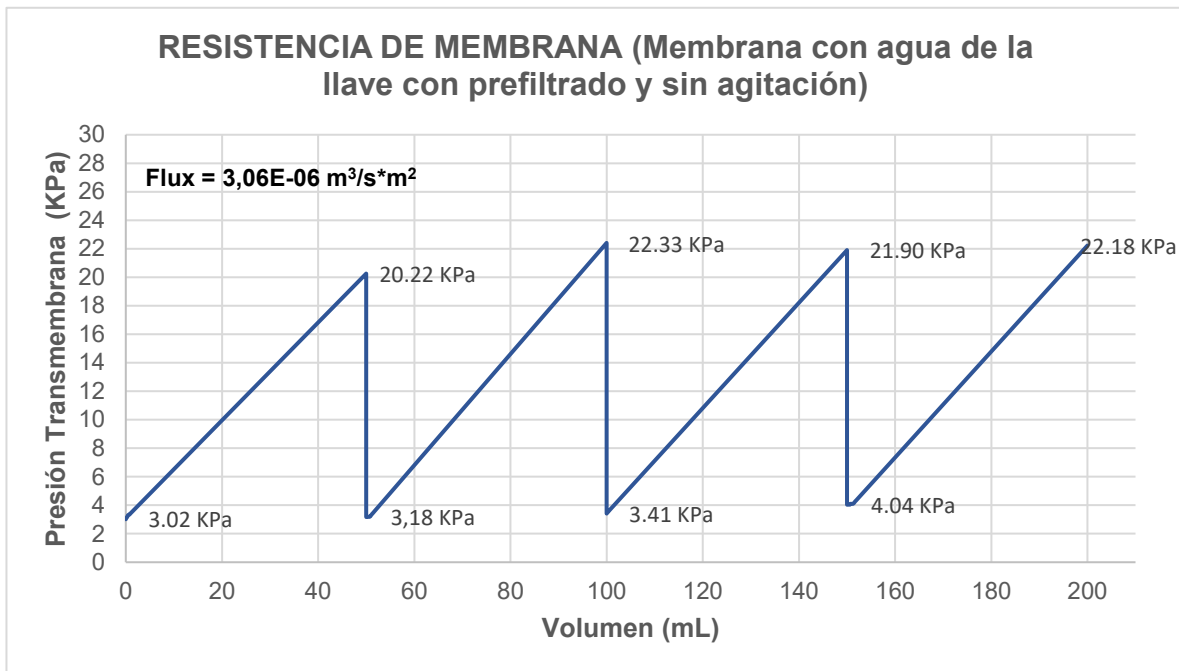


Figura 29. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado

La Figura 29. se observa que el primer ciclo de filtrado de 50 mL de muestra el valor de la presión es de 3,02 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 20,22 KPa. Después del primer retrolavado de la membrana la presión inicial para el siguiente ciclo de filtrado es 3,18 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,16 KPa con respecto al valor inicial y el valor máximo para el paso del os 50 mL de muestra es de 22,33 KPa, un valor 2,11 KPa por arriba del valor máximo en el primer ciclo de filtrado, hecho que evidencia la apertura de nuevos poros en la membrana o la ubicación adecuada de la misma dentro de la caja de filtración tangencial. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 3,41 KPa, una diferencia de 0,23 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 0,39 KPa con respecto al valor inicial de la presión para el ensayo, lo que demuestra que la membrana está teniendo taponamiento en los poros por la acumulación de partículas presentes en el agua ; la presión máxima que alcanza el tercer ciclo de filtrado es 21,90 KPa un valor por debajo del anterior (con una diferencia de 0,43 KPa) lo muestra que la membrana tiene algunos poros sellados o se acumuló en cierta zona los sólidos. El tercer y último retrolavado en la membrana determina un valor inicial de la presión para el cuarto ciclo de filtrado de 4,04 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,63 KPa respecto al valor anterior, 0,86 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 1,02 KPa a razón del primer ciclo de filtrado. El valor máximo de la presión para el último ciclo de filtrado es 22,18 KPa.

La formación de torta en cada uno de los ciclos de filtrado es paulatina, el retrolavado es óptimo puesto que el ensuciamiento en la membrana es reversible

en cada uno de los ciclos de filtrado. El caudal de flujo es $6,3E-09 \text{ m}^3/\text{s}$, mientras los flux durante todos los ciclos de filtración son continuos ($3,06E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$), aunque al faltar 14 mL de muestra al sistema de filtración tangencial la bomba jeringa mantiene su fuerza y no hay un sobreesfuerzo en el motor por transferir el restante de muestras.

6.2.3. Ensayos con agitación

6.2.3.1. Determinación del flujo de muestra

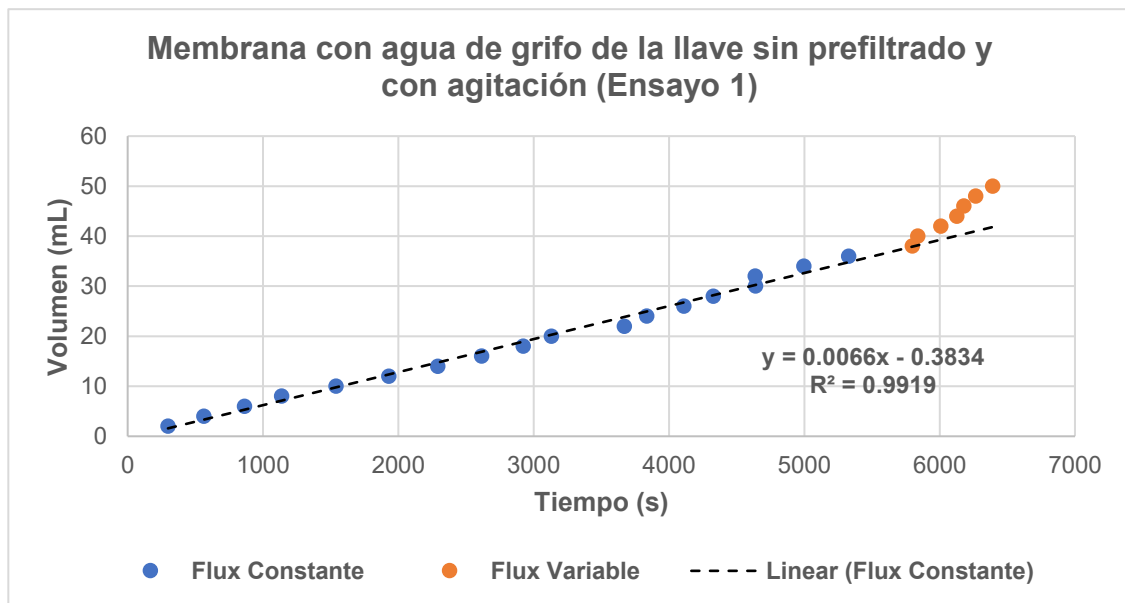


Figura 30. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de agua del grifo de la llave con agitación magnética

La *Figura 30*. muestra el comportamiento lineal que tiene el caudal de la muestra sometida al sistema de agitación, a los 34 mL se mantiene comportamiento lineal en el caudal. El tratamiento de la muestra por agitación permitió un mayor flujo de muestra sobre el sistema y prolongó la estabilidad de la bomba.

La muestra al ser inyectada directamente al sistema de filtración tangencial y tener activo la agitación magnética muestra la disminución de sólidos o partículas coloidales que se están en la muestra y se acumulan en la membrana. Después de los 36 mL se evidencia que el flux es variable, fenómeno que va asociado a la formación de torta y ensuciamiento permanente sobre la membrana. El caudal en el comportamiento lineal tiene un valor de $6,3E-09 \text{ m}^3/\text{s}$.

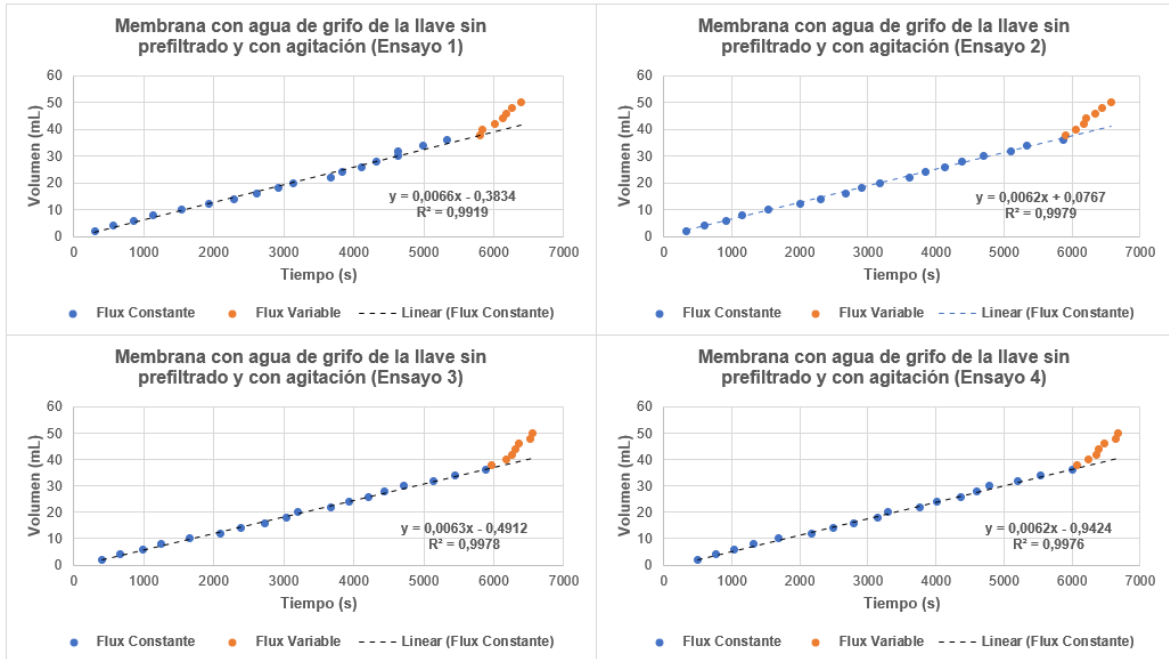


Figura 31. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con agitación magnética.

La Figura 31. muestra el comportamiento lineal que tiene el caudal de la muestra de agua sometida directamente al sistema de agitación, evidenciando que a los 36 mL se mantiene un comportamiento lineal en el caudal. El tratamiento de la muestra por agitación es efectivo, conservando el flujo durante la transferencia de la caja de filtración tangencial. Durante la transferencia de los 36 mL el caudal fue de $6,325 \times 10^{-9} \text{ m}^3/\text{s}$ y un flux en los ciclos de filtración continuo ($3,072 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$), de ahí en adelante el flux es variable por tanto no es posible establecer con precisión cual es el comportamiento de la membrana.

6.2.3.2. Resistencia de membrana

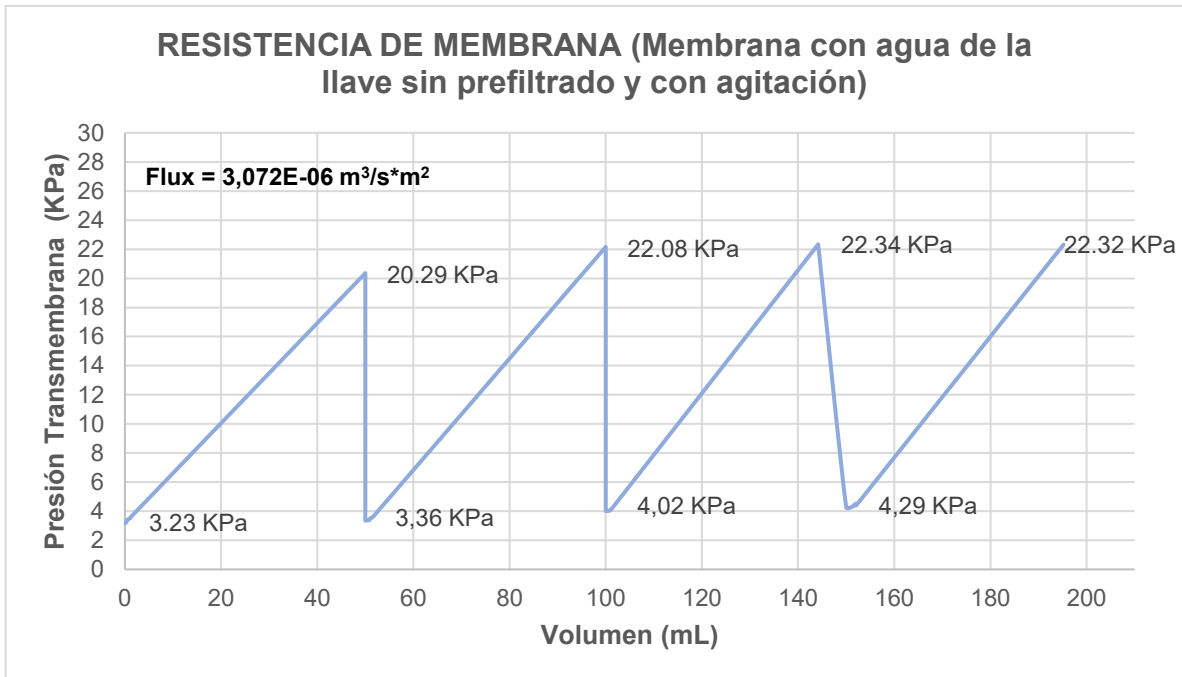


Figura 32. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con agitación magnética

La Figura 32. se observa que el comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 3,23 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 20,29 KPa. Después del primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 3,36 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,13 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,08 KPa, un valor 1,79 KPa superior del valor máximo en el primer ciclo de filtrado, el primer retrolavado habilitó poros en la membrana o en su efecto se posicionó correctamente en la caja de filtración tangencial. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 4,02 KPa, una diferencia de 0,66 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 0,79 KPa con referente con el que se inició el ensayo, lo que muestra la acumulación de remanentes en el agua; la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,34 KPa valor que corresponde al pico más alto de la presión en todos los ciclos de filtración. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 4,29 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,27 KPa respecto al valor anterior, 0,93 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 1,06 KPa a razón del primer ciclo de filtrado. El valor máximo de la presión para el último ciclo de filtrado es 22,32 KPa.

6.2.4. Ensayos con prefiltrado y agitación

6.2.4.1. Determinación del flujo de muestra

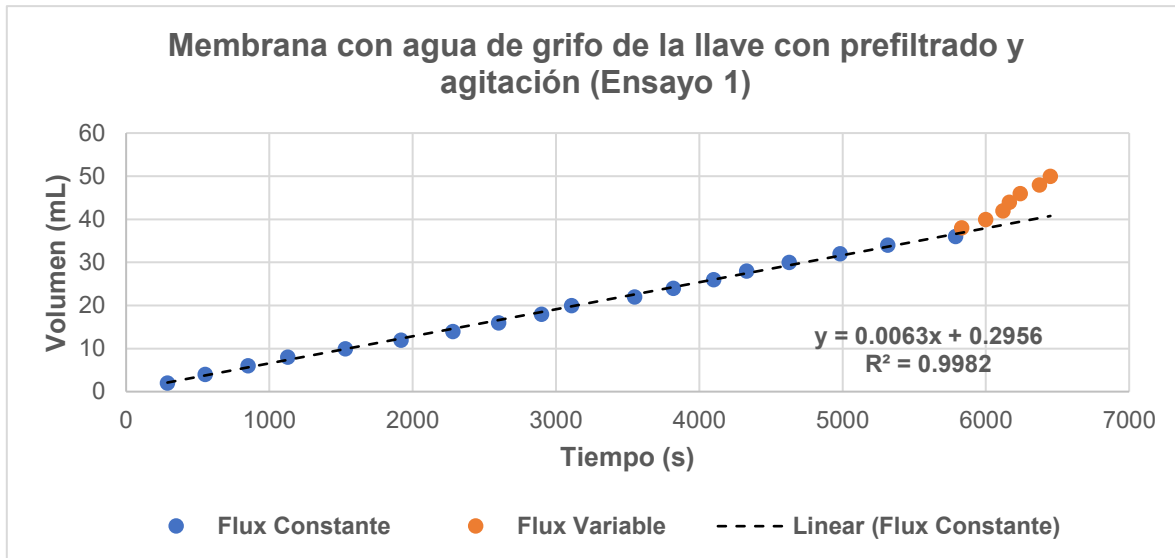


Figura 33. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de agua del grifo de la llave con sistema de filtrado y agitación magnética

La Figura 33. muestra la tendencia lineal que tiene el caudal de la muestra de agua sometida directamente al sistema de agitación, a los 38 mL el comportamiento es continuo. Al haber pasado por el sistema de prefiltrado y agitación magnética el tránsito de del flujo en el sistema de filtración tangencial es homogéneo hasta el paso total del volumen

El caudal con tendencial lineal es $6,275E-09 \text{ m}^3/\text{s}$ y los flux de $3,048E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$ El sistema de prefiltrado y agitación magnética, complementan al sistema en general porque disminuyeron la presencia de sólidos o partículas coloidales que se hallaban en un principio en la muestra, también se evita al ensuciamiento permanente en la membrana.

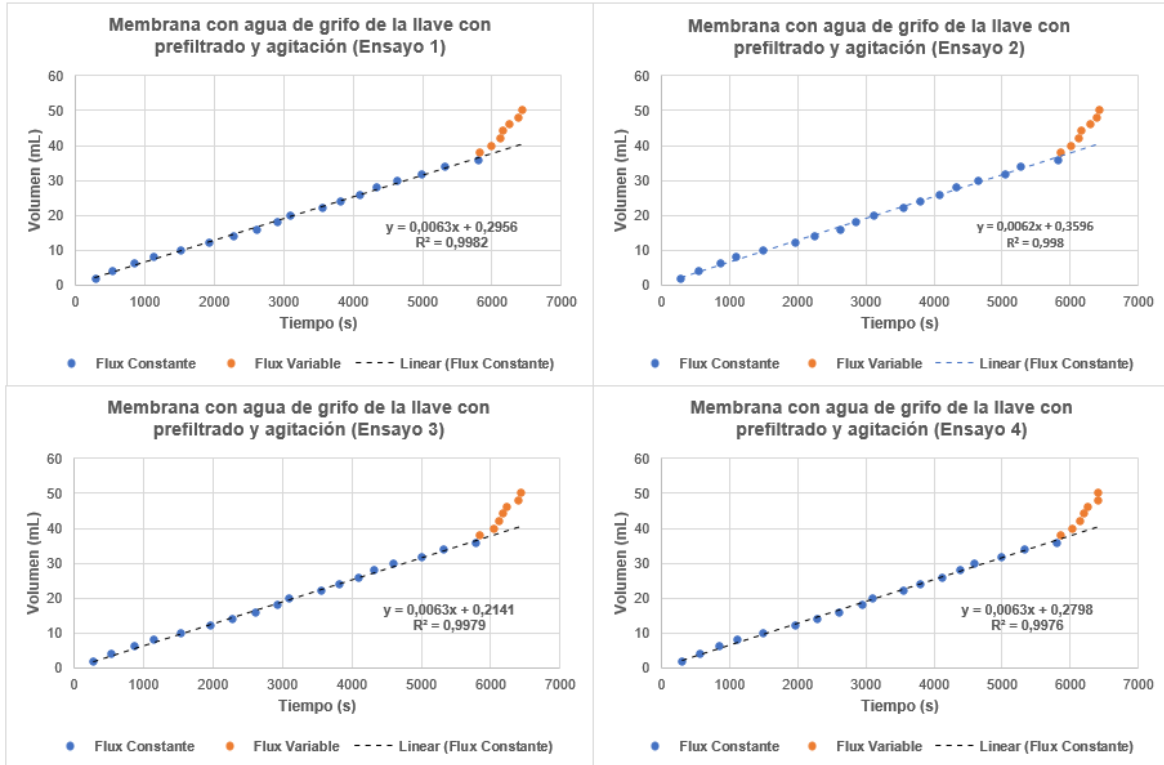


Figura 34. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado y agitación magnética

Los ensayos (Figura 34.) realizados con todos los complementos dentro del sistema de filtración tangencial muestran que la relación del tiempo es equitativa en cada uno de los ensayos, a excepción del ensayo 3 donde la relación aumenta en $1E-04$ unidades, lo que evidencia la estabilidad y optimización de todo el mecanismo en especial la bomba de jeringa que da el paso de muestra a la caja de filtración tangencial.

6.2.4.2. Resistencia de membrana

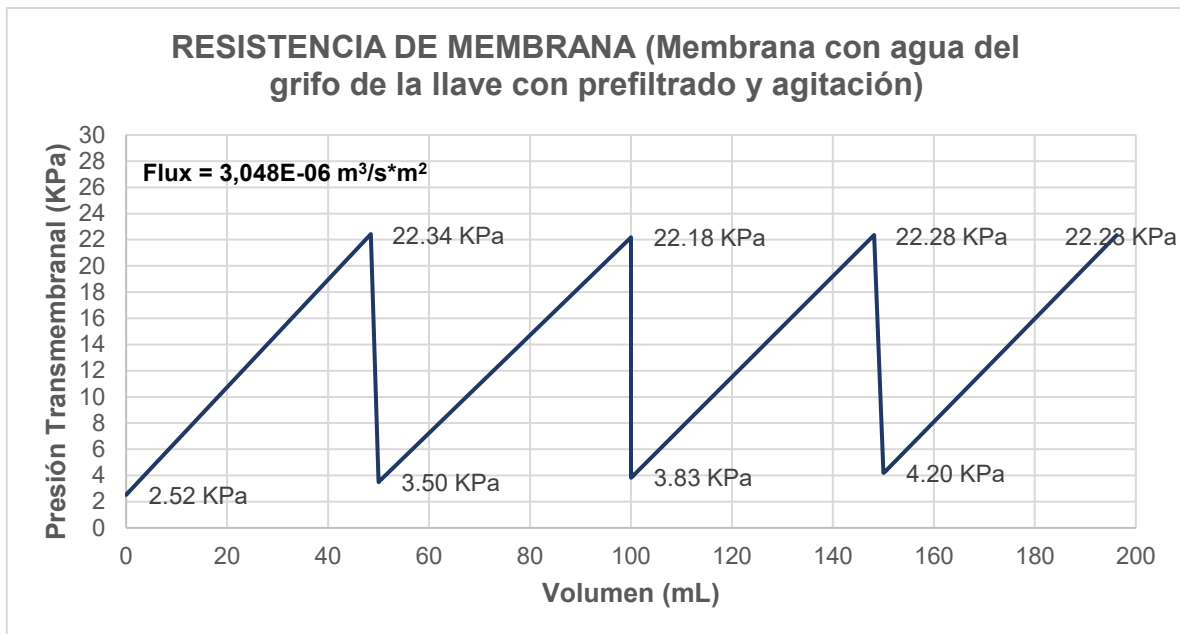


Figura 35. Resistencia de membrana con agua del grifo de la llave con sistema de prefiltrado y agitación magnética.

La Figura 35. se observa que el comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 2,52 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,34 KPa de presión en todos los ensayos. Después del primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 3,50 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,98 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,18 KPa, un valor 0,16 KPa por debajo del valor máximo en el primer ciclo de filtrado, el primer retrolavado removi6 parte del ensuciamiento en la membrana, pero se empieza a tener colmataci6n permanente en la misma. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 3,83 KPa, una diferencia de 0,33 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 1,31 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra la acumulaci6n de remanentes en el agua; la m6xima presi6n en el tercer ciclo de filtrado es 22,28 KPa. El 6ltimo retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 4,20 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,37 KPa respecto al valor anterior, 0,70 KPa en relaci6n al segundo ciclo de filtrado y 1,68 KPa a raz6n del primer ciclo de filtrado. El valor m6ximo de la presi6n para el 6ltimo ciclo de filtrado es 22,28s KPa.

6.3. ENSAYOS PRELIMINARES CON AGUA ESTÉRIL COMERCIAL

6.3.1. Ensayo con prefiltrado

6.3.1.1. Determinación del flujo de muestra

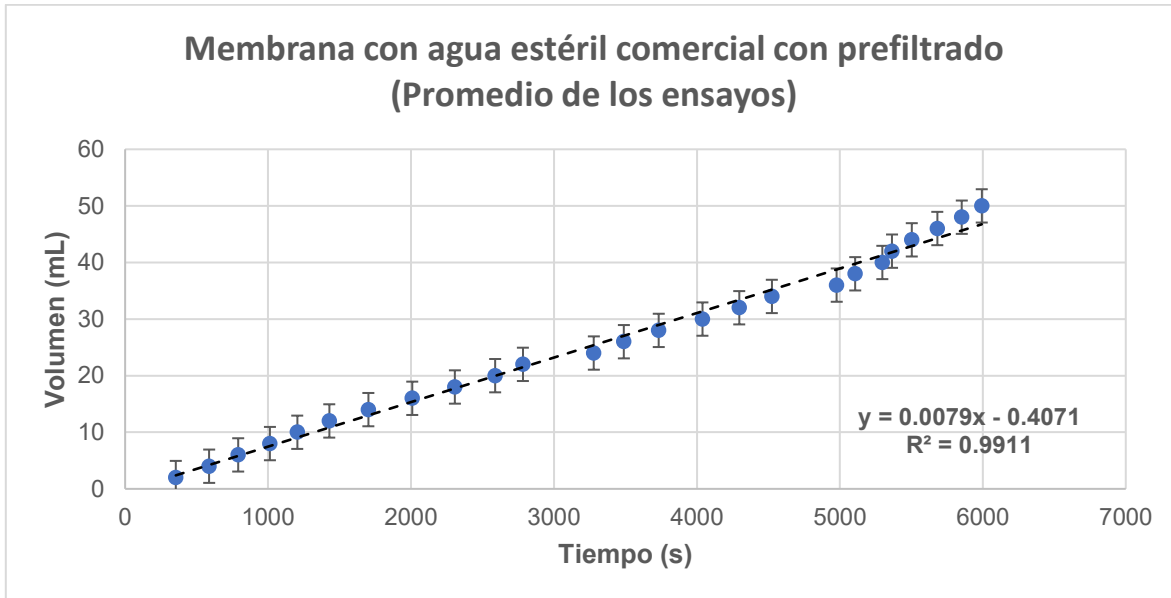


Figura 36. Determinación de flux en membrana con muestra de agua estéril comercial con sistema de filtrados

La Figura 36. muestra el comportamiento lineal que tiene el caudal del agua destilada estéril, el flujo paso sin ningún tipo de dificultad por el sistema de filtración tangencial. Aunque en los volúmenes de 34, 36 y 38 mL se evidencia un distanciamiento de la línea de tendencia, indicativo que la membrana en el rango de estos volúmenes empieza a tener saturación.

El caudal en la membrana $7,825E-09 \text{ m}^3/\text{s}$ y los flux de $3,801E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$, se determinó a partir del promedio de los 4 ensayos (Figura 37.). La transferencia de la muestra por el sistema de filtración tangencial fue continua sin interrupción o aparente detenimiento de la bomba jeringa. El ensayo dio cuenta de la presión que va adquiriendo la membrana con una muestra carente de sólidos o partículas en disolución.

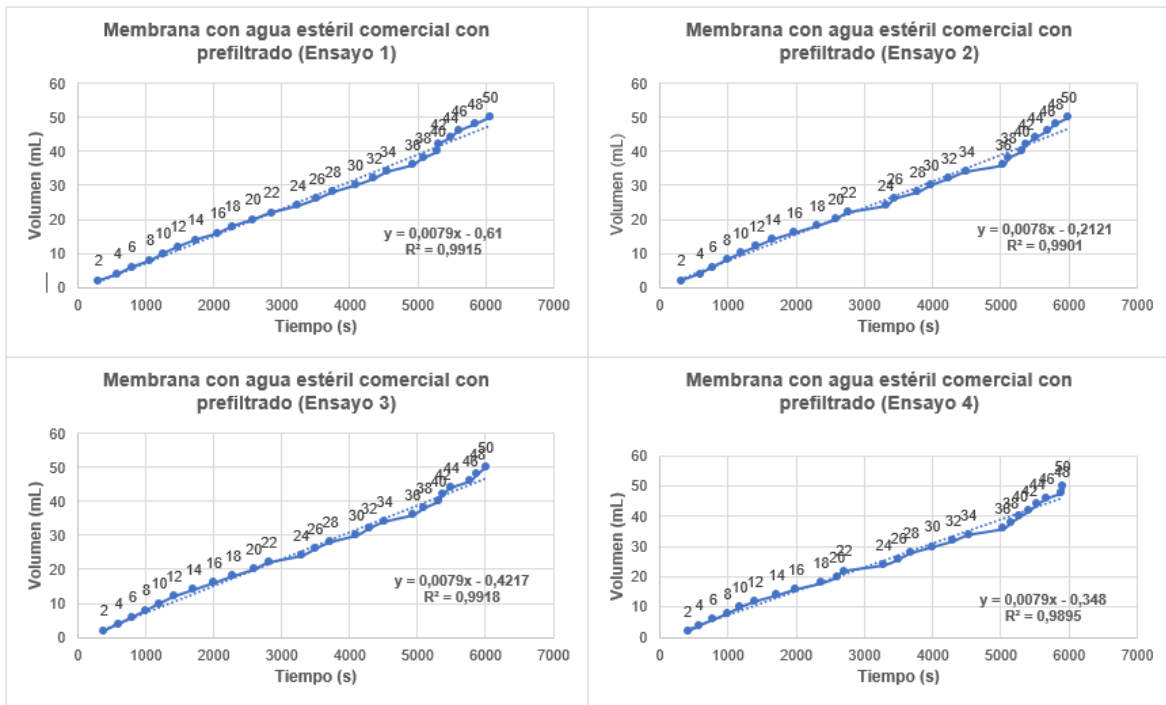


Figura 37. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de agua estéril comercial con sistema de prefiltrado.

6.3.1.2. Resistencia de membrana

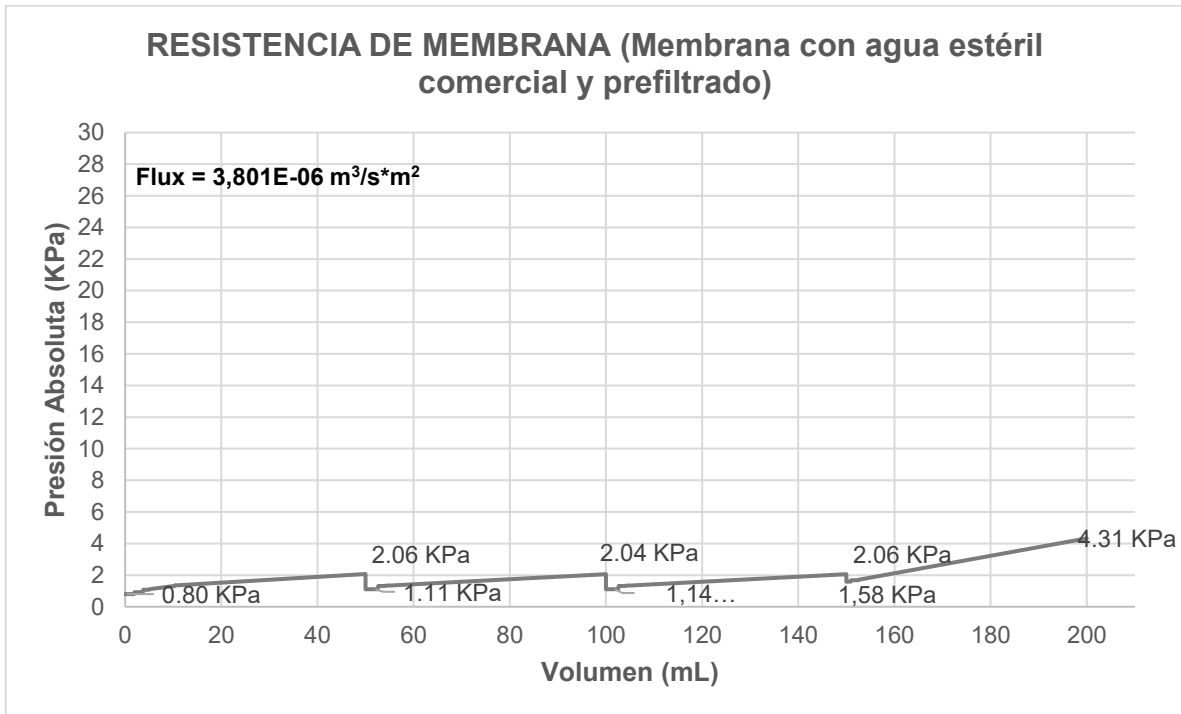


Figura 38. Resistencia de membrana con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado.

La *Figura 38*. Muestra el comportamiento del agua estéril comercial con el sistema prefiltrado muestra, que al realizar retrolavados la membrana contiene partículas coloidales, quizá presentes en el interior de la caja de filtración tangencial por ensayos anteriores o la membrana posee algunos poros taponados por efecto de fabricación o el empaque en donde venía almacenado el agua desprendió parte del material.

Se observa que el comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 0,80 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 2,06 KPa. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 1,11 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,31 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 2,04 KPa, un valor 0,02 KPa por debajo del valor anterior en ese punto, un valor casi igual a cero. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 1,14 KPa, una diferencia de 0,03 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 0,34 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que el agua presenta algún tipo de interferente (bien sea un residuo del material del empaque, residuo en la caja de filtración tangencial) la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 2,06 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 1,58 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,44 KPa respecto al valor anterior, 0,47 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 0,78 KPa a razón del primer ciclo de filtrado. El valor máximo de la presión para el último ciclo de filtrado es 4,31 KPa.

6.3.2. Ensayo con prefiltrado y agitación

6.3.2.1. Determinación de flujo de muestra

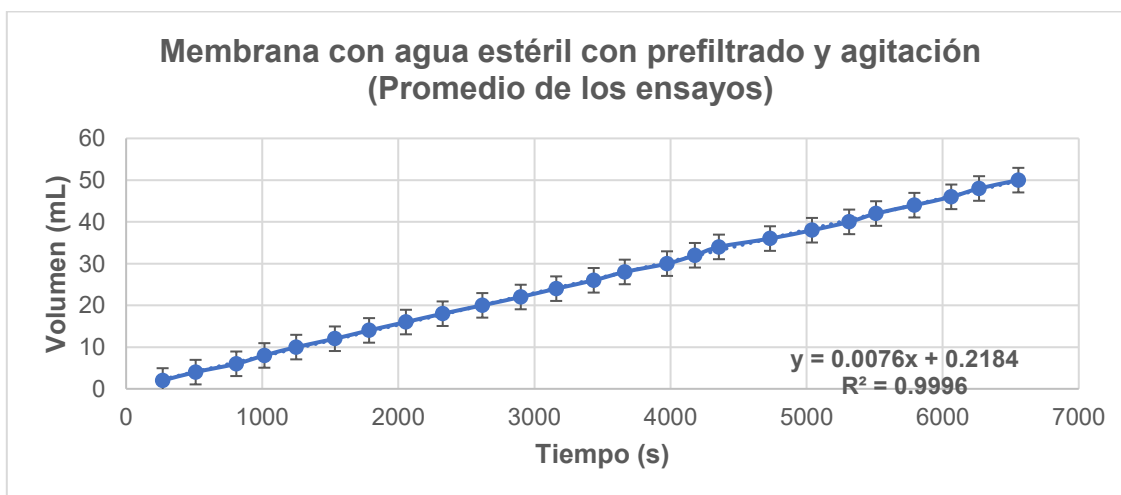


Figura 39. Determinación de flux en membrana con muestra de agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética.

La *Figura 39*. muestra con relación al sistema de prefiltrado y agitación magnética, hay un comportamiento lineal en el flujo de muestra. Al ser agua destilada estéril comercial se evidenció que el flujo pasa a un menor tiempo y no se presentó desvío en ninguno de los puntos con respecto a la línea de tendencia.

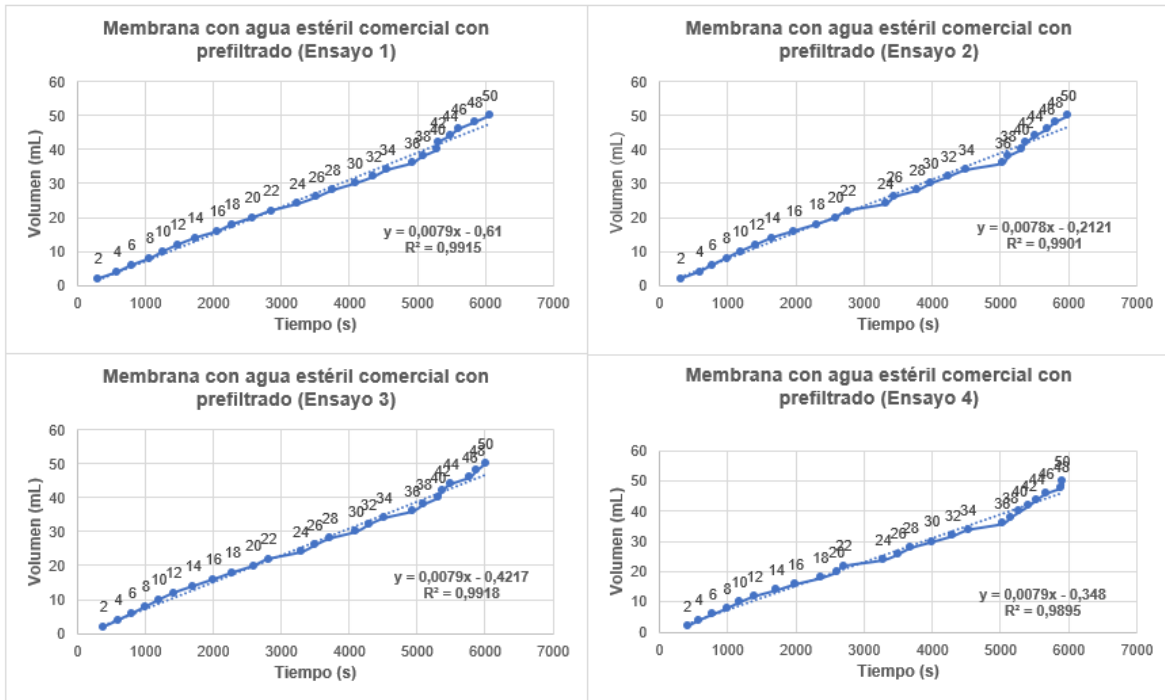


Figura 40. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética

El caudal en la membrana $7,875E-09 \text{ m}^3/\text{s}$ y los flux de $3,825E-06 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^2$, se determinó a partir del promedio de los 4 ensayos (*Figura 40*.). La transferencia de la muestra por el sistema de filtración tangencial fue continua sin interrupción o aparente detenimiento de la bomba jeringa. El ensayo dio cuenta de la presión que va adquiriendo la membrana con una muestra carente de sólidos o partículas en disolución.

La muestra al haber sido sometida por el sistema muestra la optimización del proceso al mantener constante el flujo de muestra, lo que dedujo que, a mayor cantidad de flujo sobre la bomba, el motor va perdiendo de a poca fuerza para el arrastre.

6.3.2.2. Resistencia de membrana

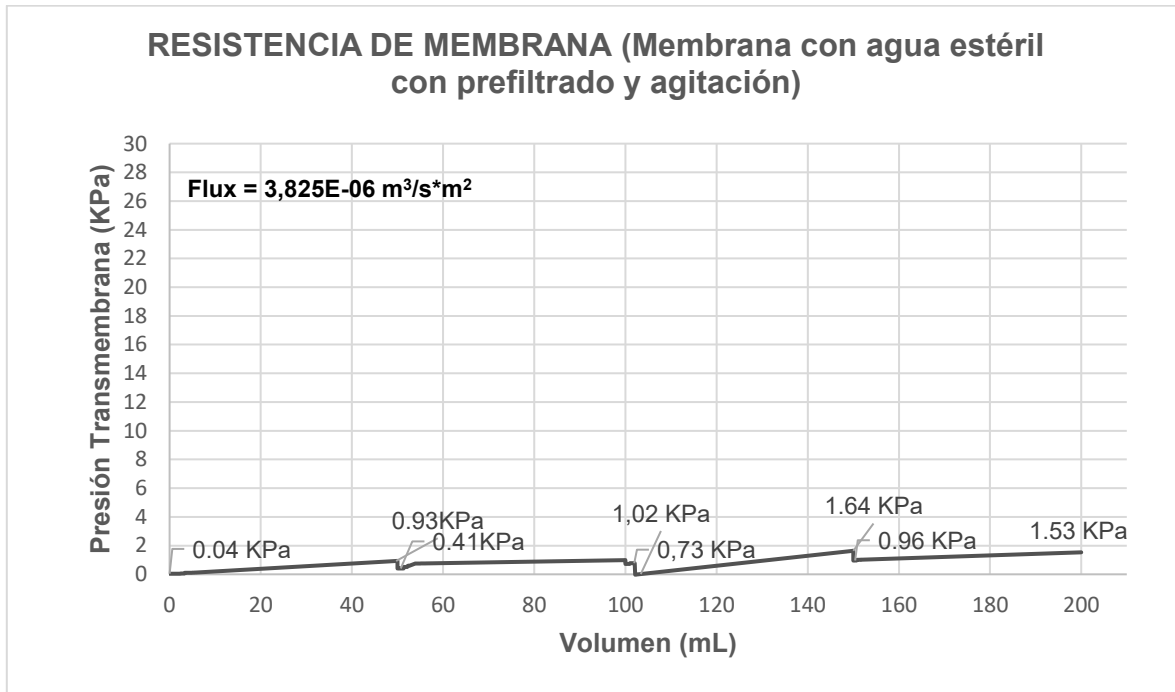


Figura 41. Resistencia de membrana con agua estéril comercial con sistema de prefiltrado y agitación magnética

En la *Figura 41*. Se observa el comportamiento del agua estéril comercial con el sistema prefiltrado y agitación magnética, evidenció que al realizar retrolavados la membrana contiene algunos poros taponados por falla de fabricación o quizá en el interior de la caja de filtración tangencial hay presencia de residuos por ensayos anteriores o el empaque en donde venía almacenado el agua desprendió parte del material.

El comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 0,04 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 0,93 KPa. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 0,41 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,37 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 1,02 KPa, un valor 0,09 KPa por arriba del valor anterior en ese punto, un valor casi igual a cero. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 0,73 KPa, una diferencia de 0,32 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 0,69 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que el sistema presenta algún tipo de interferente (bien sea un residuo del material del empaque, residuo en la caja de filtración tangencial) la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 1,64 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 0,96 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,23 KPa respecto al valor anterior, 0,55 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 0,92

KPa a razón del primer ciclo de filtrado. El valor máximo de la presión para el último ciclo de filtrado es 1,53 KPa.

6.4. ENSAYOS CON CEPA DE INTERÉS

6.4.1. Ensayos sin prefiltrado y sin agitación

6.4.1.1. Determinación del flujo de muestra

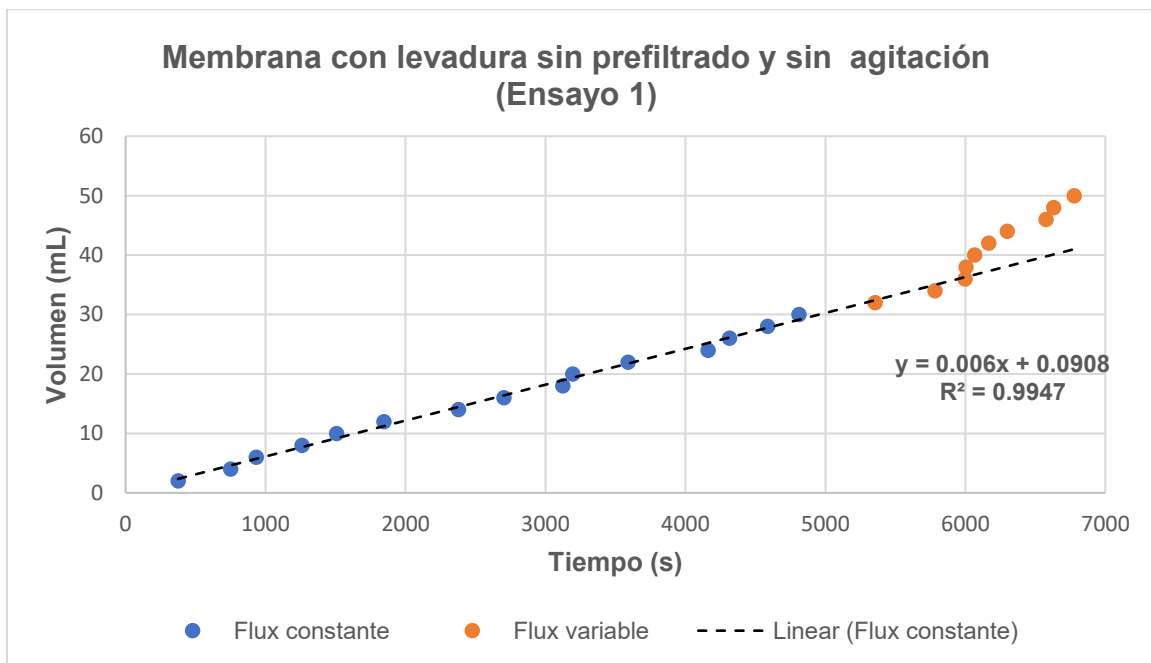


Figura 42. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 42. muestra el comportamiento de la membrana con muestra de levadura sin ninguno de los sistemas de mejora (prefiltrado y agitación), a los 30 mL el comportamiento deja de ser lineal, lo que muestra que la membrana está formando torta y la bomba jeringa va perdiendo fuerza para la transferencia del contenido. A los 36 mL hasta el volumen final la presión ejercida es tan fuerte que expulsa el contenido casi de manera instantánea

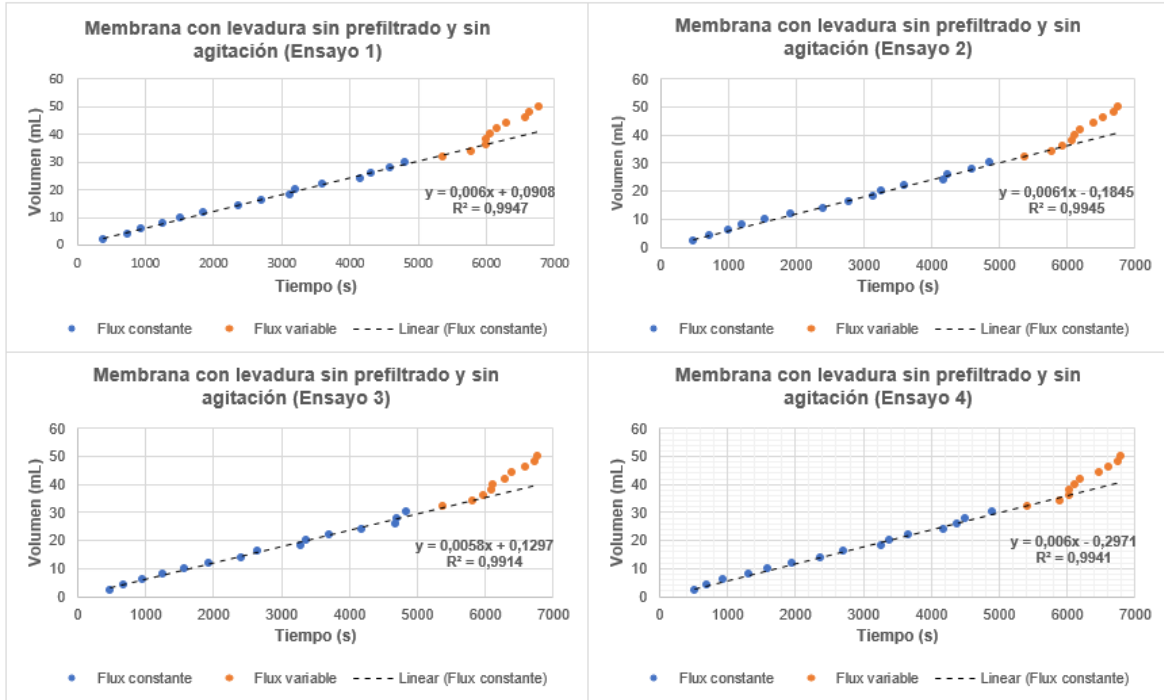


Figura 43. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

A partir de los 4 ensayos bajo las mismas condiciones (Figura 43.), se logra establecer el comportamiento constante del caudal con un valor de $6E-09 \text{ m}^3$ y el flux de $2,914E-06 \text{ m}^3/\text{s} \cdot \text{m}^2$. El volumen continuo por el sistema tangencial, las levaduras por su tamaño adhirieron a la membrana favoreciendo la formación de torta.

6.4.1.2. Resistencia de membrana

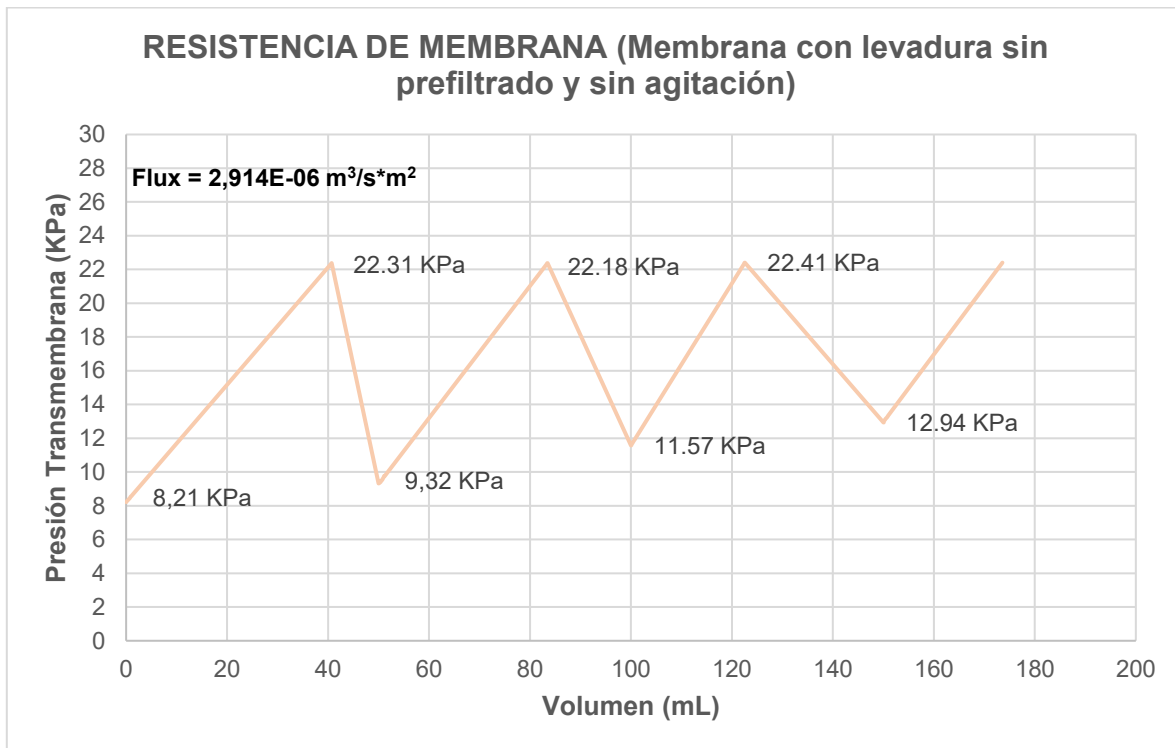


Figura 44. Resistencia de membrana con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

En la *Figura 44*. Se observa el comportamiento de la muestra de levadura sin el sistema de prefiltrado y agitación magnética, evidenció que al realizar retrolavados la membrana va almacenando el exceso de células o células muertas que quedaron en medio de la mezcla.

Se observa que el primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 8,21 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,31 KPa. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 9,32 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,11 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,18 KPa, un valor 0,13 KPa por debajo del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 11,57 KPa, una diferencia de 2,25 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 3,36 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que la membrana se está colmatando y la muestra contiene un exceso de células, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,41 KPa, siendo el pico más alto de todo el ensayo. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 12,94 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,37 KPa respecto al valor anterior, 3,62 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 4,73 KPa a razón del primer ciclo de filtrado.

6.4.2. Ensayos con prefiltrado

6.4.2.1. Determinación de flujo de muestra

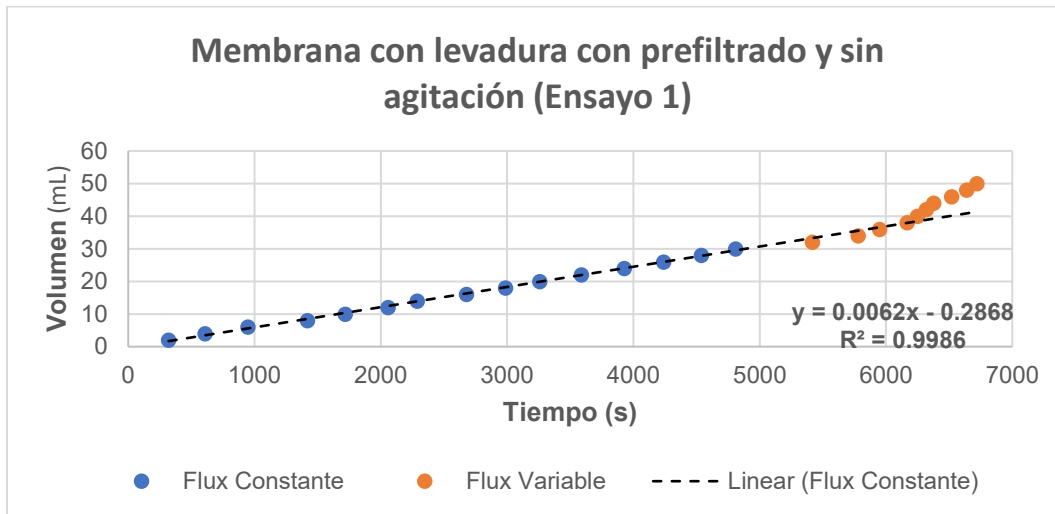


Figura 45. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado

En la *Figura 45*. Se observa el comportamiento del flujo lineal se observa hasta el volumen 30 mL, con un valor de R^2 de 0,998 evidencia mejora en el paso de células dentro de la membrana, ya que el paso de flujo en el sistema es más estable respecto al ensayo sin prefiltración. A partir de los 30 mL el flujo dentro del sistema se detiene hasta llegar a los 38 mL y la bomba pierde la tendencia.

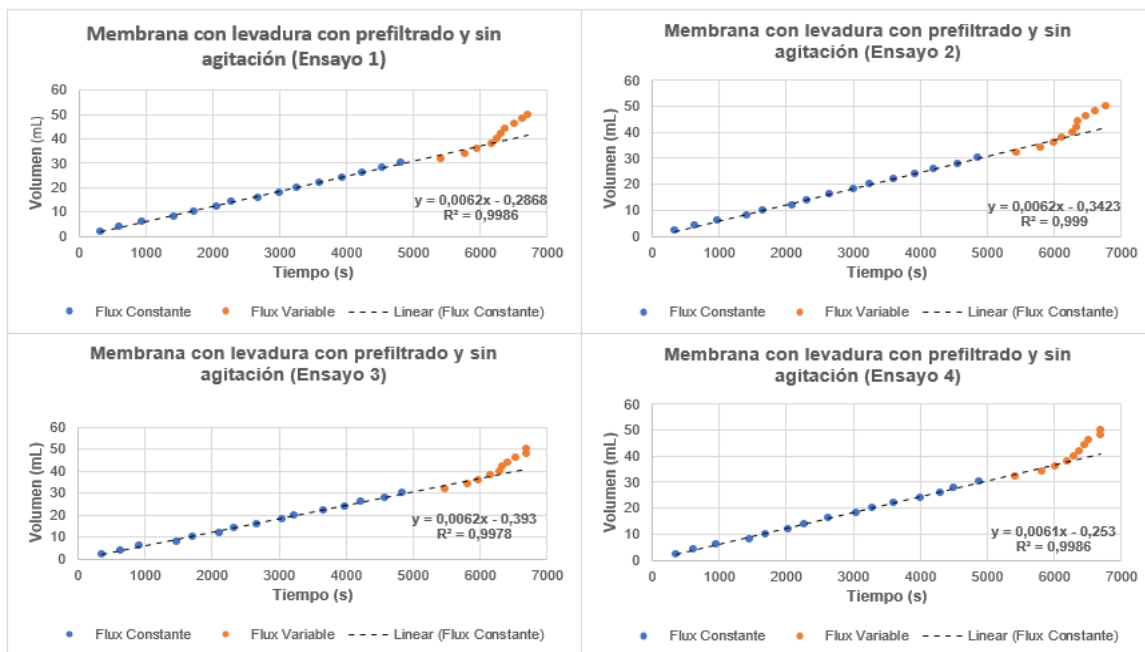


Figura 46. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con sistema de prefiltrado

El caudal, en el comportamiento lineal tiene un valor de $6,175E-09 \text{ m}^3$ y el flux de $2,999E-06 \text{ m}^3/\text{s}\cdot\text{m}^2$. La tendencia en cada uno de los ensayos es que al alcanzar el volumen de 32 mL la bomba empieza a retener su paso, entre los 38 mL y 50 mL la fuerza que adquiere la bomba es tal que la presión y el paso de flujo sobre la membrana es inmediato, indicador que posiblemente hubo poros en la membrana que se taponaron y dieron paso a ensuciamiento o en su efecto la presión en el sistema permitió abrir aquellos poros que por defecto estaban taponados. El tamaño de las células también es un factor que puede estar ocasionando la pronta colmatación en la membrana.

6.4.2.2. Resistencia de membrana

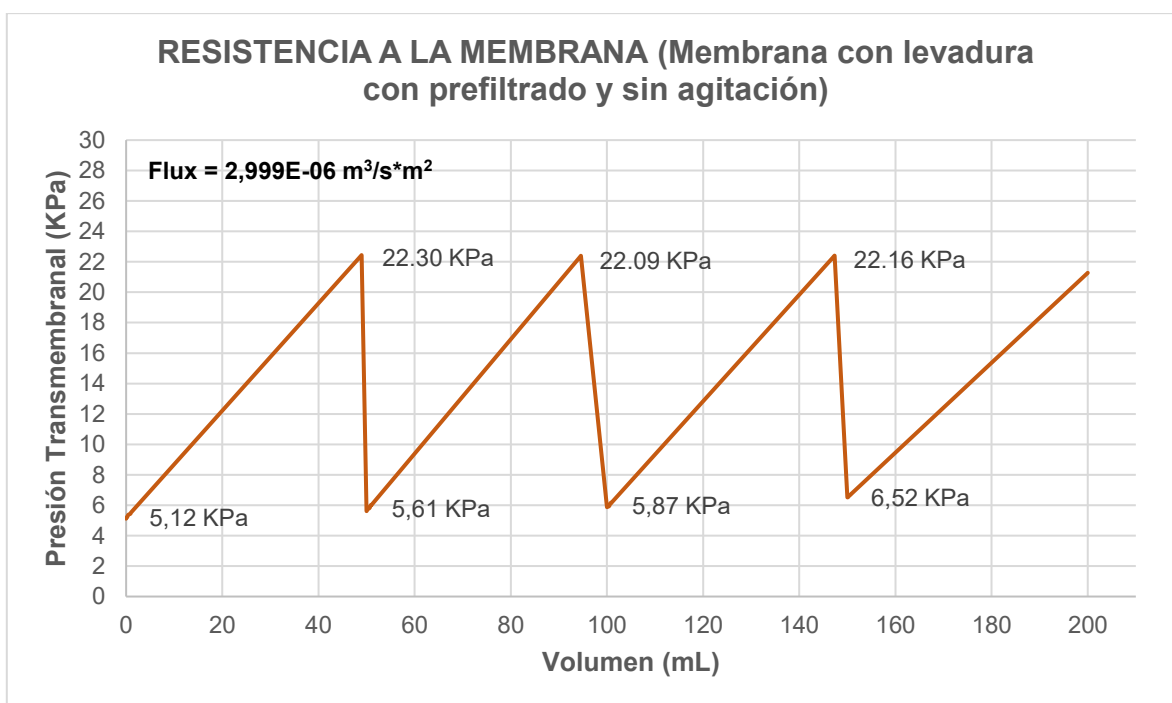


Figura 47. Resistencia de membrana con muestra de levadura con agitación magnética

La Figura 47. se observa el comportamiento de la muestra de levadura con el sistema de prefiltrado, evidenció la membrana no va acumulando tan rápido el exceso de células o células muertas que quedaron en el medio.

El comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 5,12 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,30 KPa, siendo este el pico más alto de presión en el ensayo. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 5,61 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,39 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,09 KPa, un valor 0,21 KPa por debajo del valor anterior en ese

punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 5,87 KPa, una diferencia de 0,26 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 0,75 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que la membrana se está colmatando de una manera paulatina y que el paso de la muestra por el sistema prefiltrado retiene óptimamente remanente, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,16 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 6,52 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,65 KPa respecto al valor anterior, 0,91 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 1,40 KPa a razón del primer ciclo de filtrado.

6.4.3. Ensayos con agitación

6.4.3.1. Determinación de flujo de muestra

Membrana con levadura sin prefiltrado y con agitación (Ensayo 1)

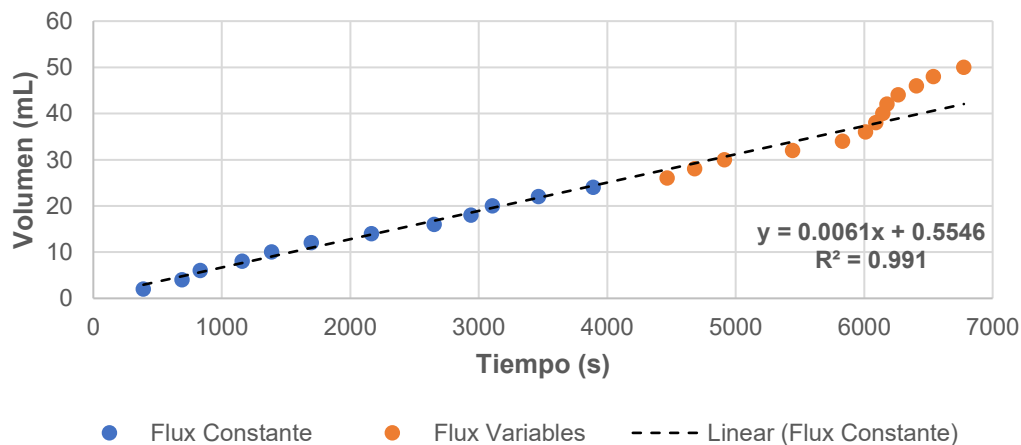


Figura 48. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con agitación magnética

La Figura 48. muestra el comportamiento lineal del flujo hasta un volumen de 24 mL, en donde la bomba empezó a perder la fuerza de empuje y transfirió 14 mL más, de allí la bomba jeringa no logro pasar los últimos 2 mL al sistema. A partir de los 36 mL la bomba nos sigue transfiriendo al sistema el mismo flujo de muestra, la membrana llega a su punto límite a la colmatación.

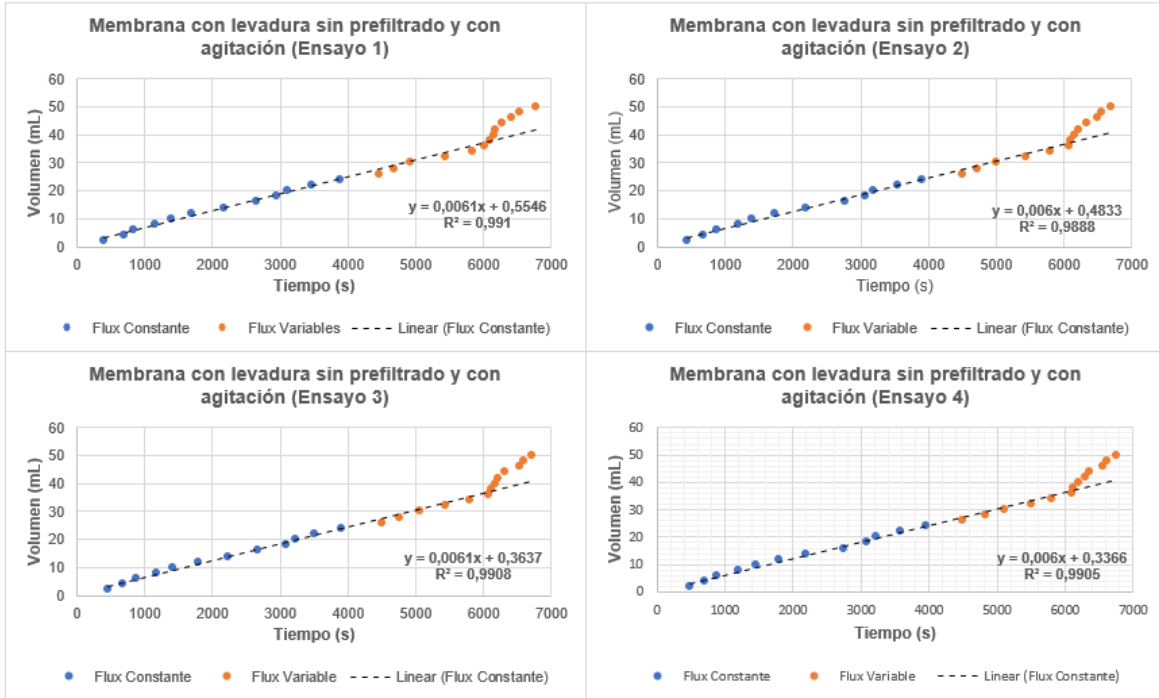


Figura 49. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con agitación magnéticas

Los ensayos (Figura 49.) permitieron establecer el caudal, en la tendencia lineal es de $6,05E-09 \text{ m}^3$ y el flux de $2,938E-06 \text{ m}^3/\text{s} \cdot \text{m}^2$ la tendencia, muestra que la membrana pese a contar con la agitación se está ensuciando de manera permanente, por tanto, la agitación es leve frente al fraccionamiento de remanentes. El paso del flujo en el sistema presenta una leve retención a partir de los 34 mL, hecho en donde el motor pierde la fuerza con la que estaba dando paso a la muestra y posterior a este valor la transferencia de la muestra es inmediata.

6.4.3.2. Resistencia de membrana

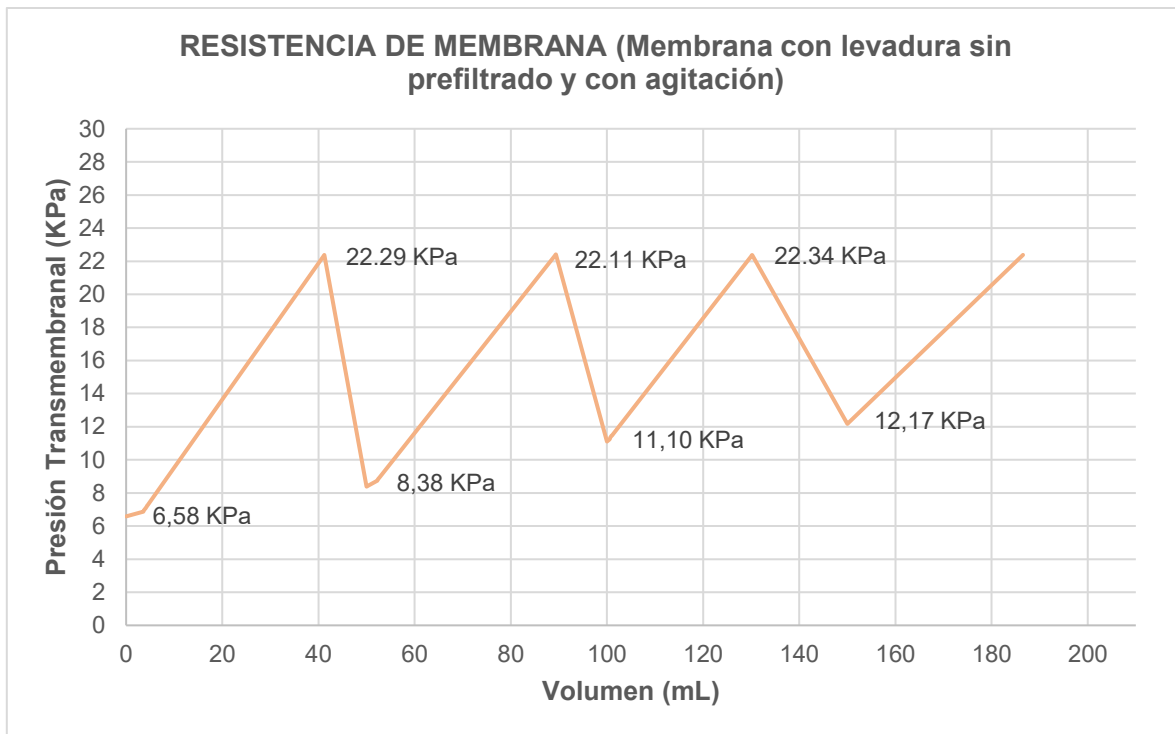


Figura 50. Resistencia de membrana con muestra de levadura con agitación magnética

La Figura 50. Se muestra comportamiento de la muestra de levadura con la agitación magnética mostró que la membrana se va ensuciando con el paso de la muestra.

El primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 6,58 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,29 KPa, siendo este el pico más alto de presión en el ensayo. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 8,38 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,80 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,11 KPa, un valor 0,18 KPa por debajo del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 11,10 KPa, una diferencia de 2,72 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 4,52 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que la membrana se está colmatando y el paso de la muestra por lo que agitación está removiendo remanente, pero se está estancando en la membrana, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,34 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 12,17 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,07 KPa respecto al valor anterior, 3,79 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 5,59s KPa a razón del primer ciclo de filtrado.

6.4.4. Ensayos con prefiltrado y agitación

6.4.4.1. Determinación de flujo de muestra

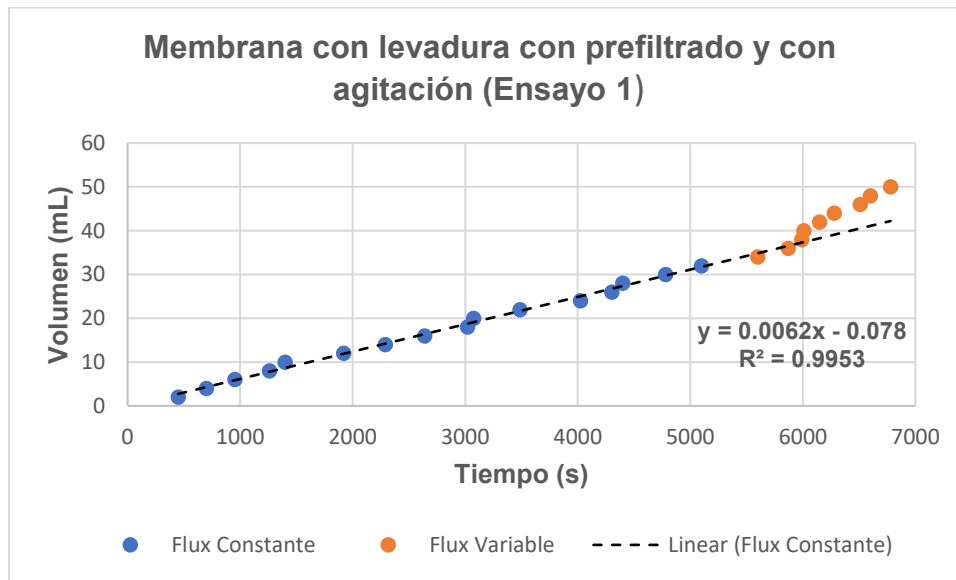


Figura 51. Determinación de flux constante y variable en membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 51. muestra el comportamiento lineal del flujo hasta un volumen de 32 mL, en donde la bomba empezó a perder la fuerza de empuje y transfirió los 18 mL restantes de forma forzada e inmediata. El sistema de prefiltrado y agitación magnética permitió transferir 6 mL más con respecto a los ensayos anteriores, pese a la dificultad que muestra la bomba se mantiene linealidad en el suministro de la muestra.

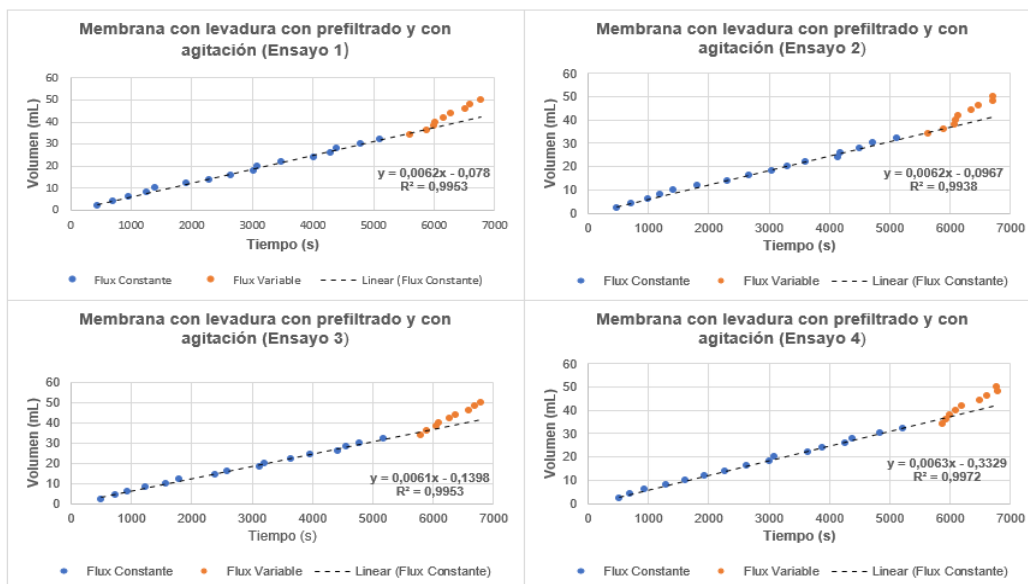


Figura 52. Ensayos de determinación de caudal y flux de muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética

Los ensayos (Figura 52.) bajo las mismas condiciones permitió establecer el caudal, en la tendencia lineal es de $6,2E-09 \text{ m}^3/\text{s}$ y el flux de $3E-06 \text{ m}^3/\text{s}\cdot\text{m}^2$ la tendencia, muestra que tanto el sistema de prefiltrado como agitación magnética hacen que la membrana no acumule tanto ensuciamiento y siga el flujo de remanente por la caja. El paso del flujo en el sistema presenta una leve retención a partir de los 36 mL, sin embargo, no se ve un paso forzado ni inmediato de la muestra por el sistema.

6.4.4.2. Resistencia de membrana

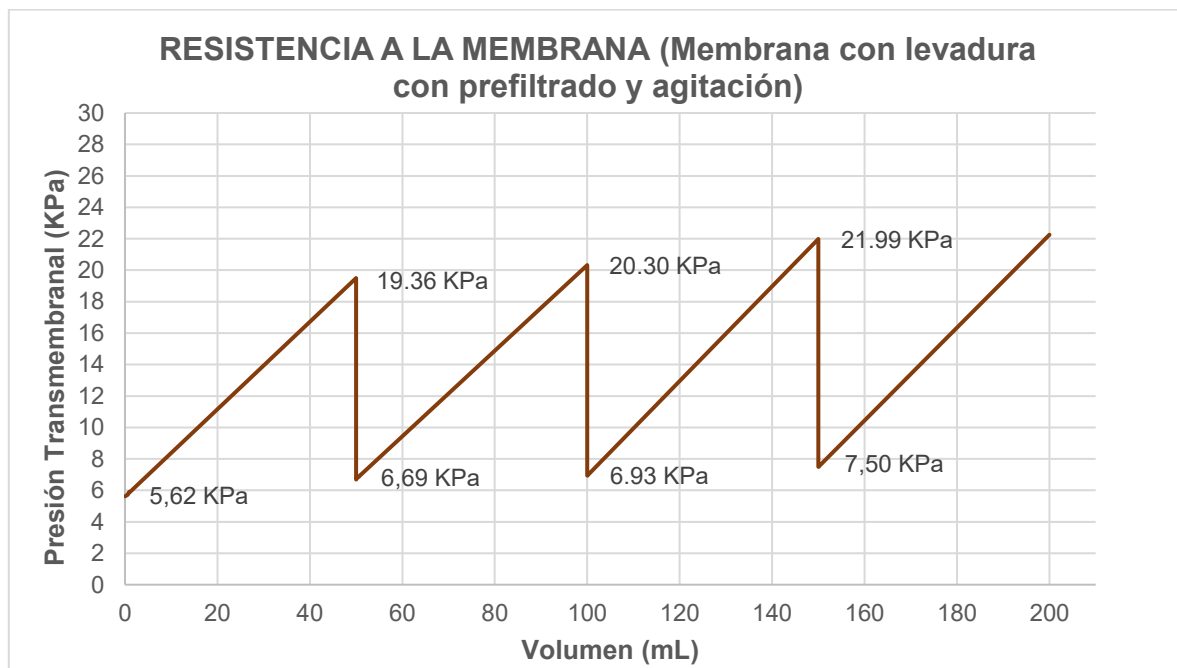


Figura 53. Resistencia de membrana con muestra de levadura con sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 53. Se observa el comportamiento de la muestra de levadura con el sistema de prefiltrado y agitación magnética mostró que el flujo de remanente va siguiendo su curso y la membrana tiene un ensuciamiento removible.

El primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 5,62 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 19,36 KPa. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 6,69 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,07 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 20,30 KPa, un valor 0,94 KPa arriba del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 6,93 KPa, una diferencia de 0,24 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 1,31 KPa con el valor del inicio del

ensayo, lo que muestra que el sistema de prefiltrado y agitación magnética está favoreciendo la no formación de torta sobre la, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 21,99 KPa siendo el pico más alto y máximo de presión. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 7,50 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,57 KPa respecto al valor anterior, 0,81 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 1,88 KPa a razón del primer ciclo de filtrado.

6.5. ENSAYOS CON CEPA DE SELECCIÓN Y AJUSTE DE RETROLAVADO

6.5.1. Ensayos sin prefiltrado y agitación

6.5.1.1. Determinación de flujo de muestra

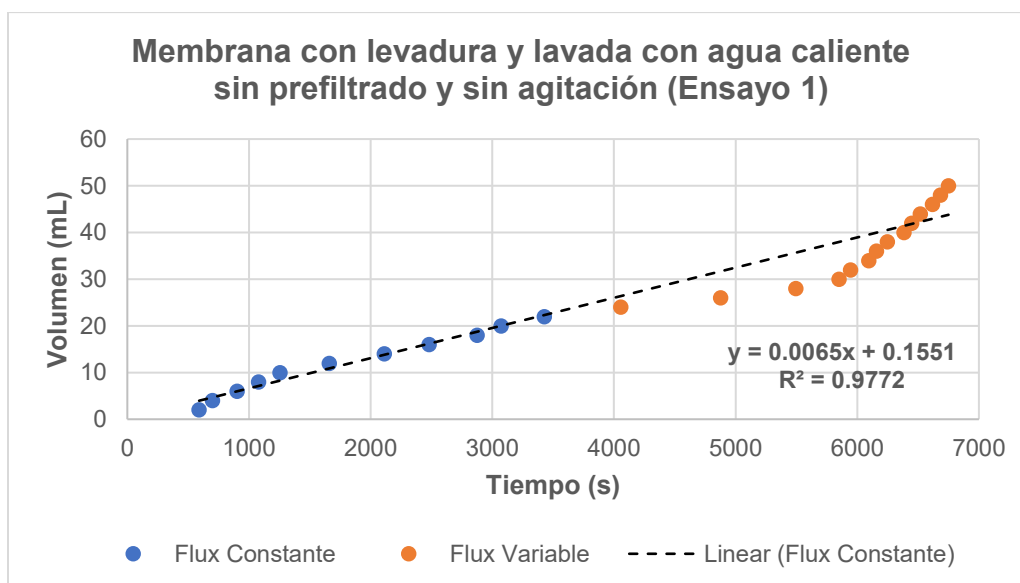


Figura 54. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavada con agua caliente y con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 54. muestra un comportamiento similar al ensayo de membrana con levadura sin prefiltración y agitación, ya que el flujo constante dentro del ensayo se encuentra hasta un volumen inferior a 30 mL. En este caso el volumen que logró transferir la bomba llegó hasta los 26 mL.

Evidentemente la falta del sistema de prefiltrado y agitación magnética en la muestra es evidente a razón de que la bomba jeringa pierde fuerza y nos transmite en su totalidad el volumen.

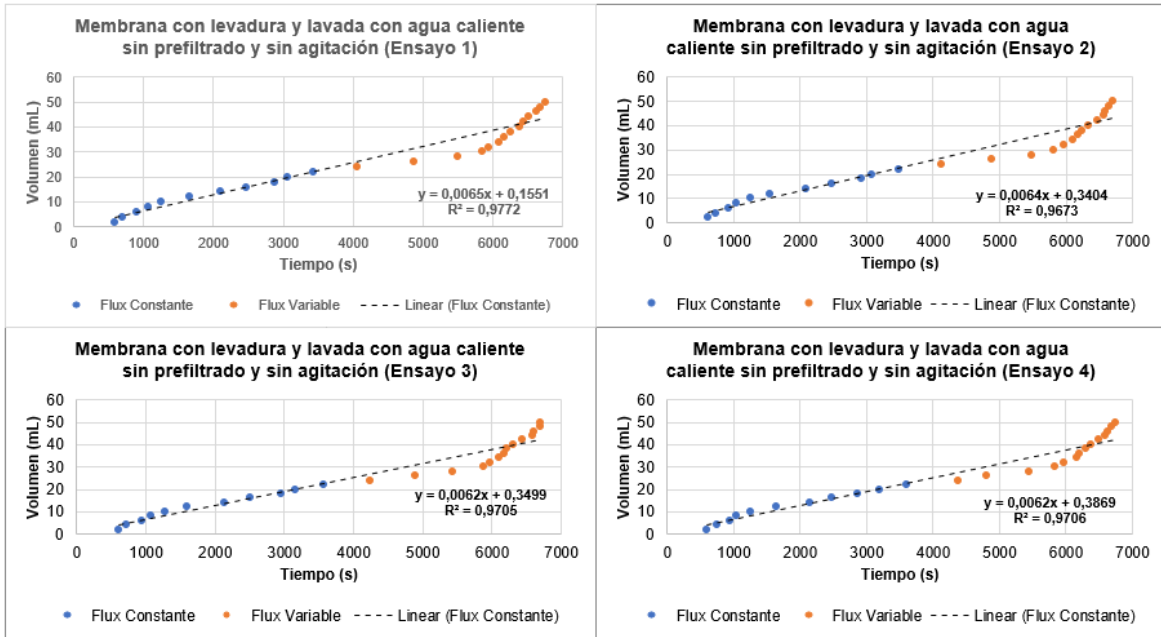


Figura 55. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente y con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 55. Muestra el total de ensayos hecho bajo las mismas condiciones y en donde fue posible determinar el caudal, en la tendencia lineal es de $6,325E-09 \text{ m}^3$ y el flux de $3,072E-06 \text{ m}^3/\text{s}\cdot\text{m}^2$. El R^2 del comportamiento constante del flujo es el más bajo respecto a los demás ensayos, indicativo que la membrana al ser lavada con agua caliente puede verse afectada por la temperatura.

6.5.1.2. Resistencia de membrana

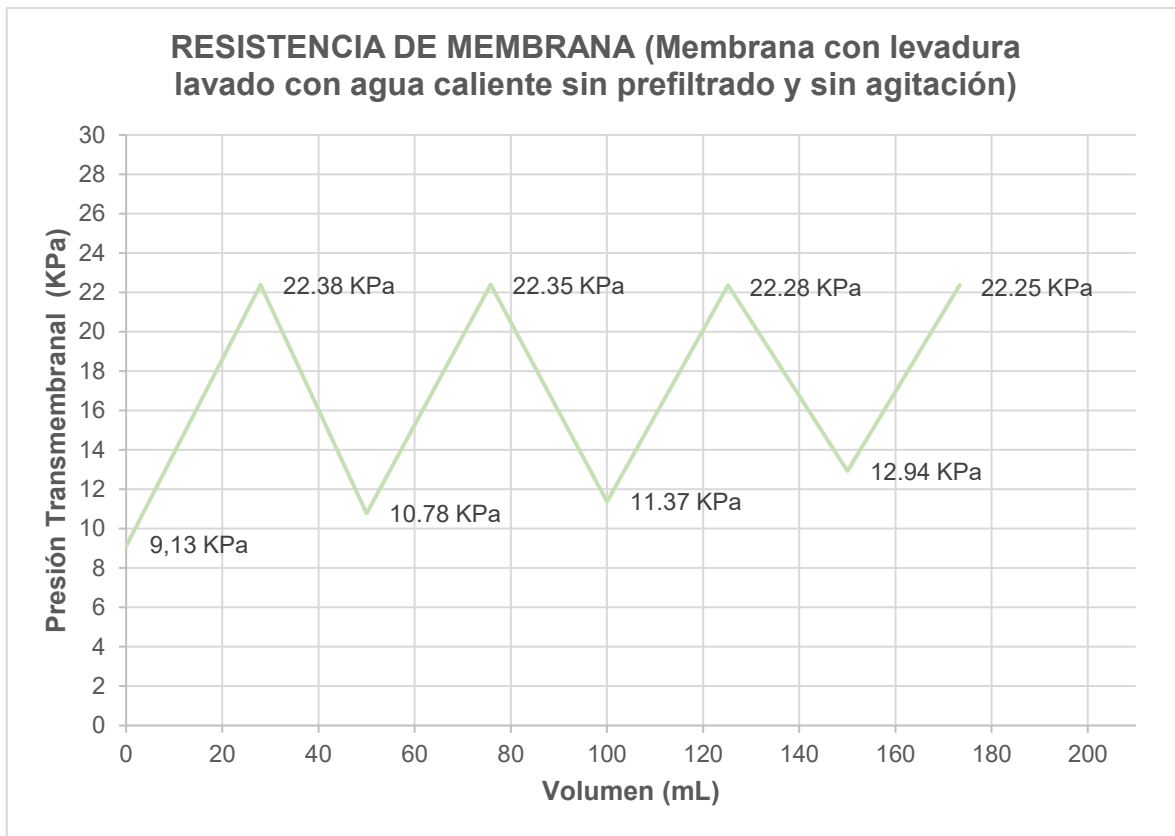


Figura 56. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con muestra de levadura sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 56. Se observa el comportamiento de la muestra de levadura sin el sistema de prefiltrado y agitación magnética mostró que el flujo de remanente va siguiendo su curso y la membrana tiene un ensuciamiento removible.

El primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 9,13 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,38 KPa, siendo el valor máximo de la presión en el ensayo. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 10,78 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,65 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,35 KPa, un valor 0,03 KPa abajo del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 11,37 KPa, una diferencia de 0,59 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 2,24 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que el sistema de prefiltrado y agitación magnética está favoreciendo la no formación de torta sobre la, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,28 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 12,92 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,57 KPa respecto al valor

anterior, 2,81 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 3,81 KPa a razón del primer ciclo de filtrado.

6.5.2. Ensayo con prefiltrado

6.5.2.1. Determinación del flujo de muestra

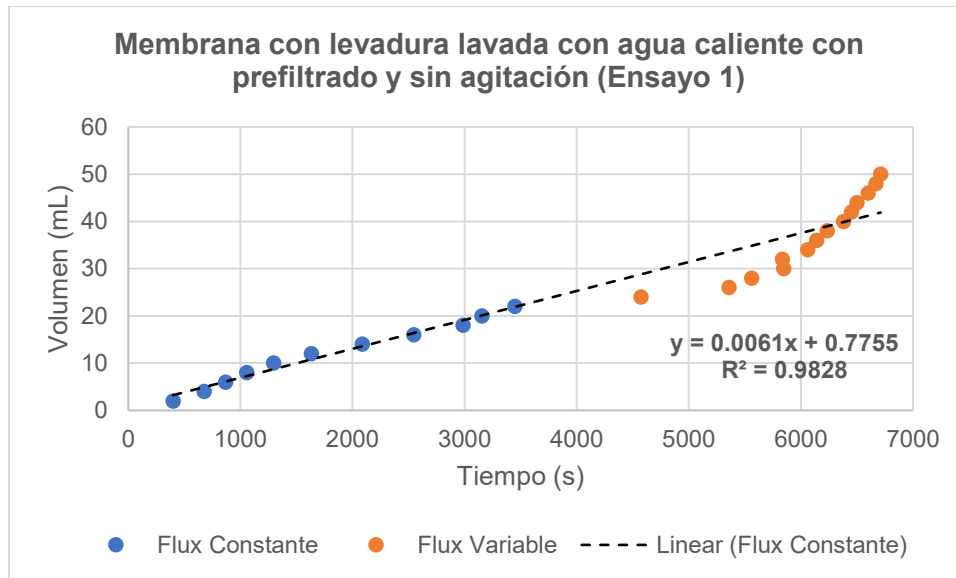


Figura 57. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavado con agua caliente con sistema de prefiltrado.

La Figura 57. Muestra el comportamiento lineal del flujo, a comparación del ensayo anterior logró desplazar 2 mL más que el ensayo anterior. Lo que evidencia el sistema de prefiltración es la remoción y retención de exceso de células en la muestra. Sin embargo, la presión en cada uno de los puntos de partida tiene una diferencia de 1 KPa y el análisis de la nueva muestra alcanza la presión máxima en la membrana.

La Figura 58. Evidencia la similitud del comportamiento del caudal, en la tendencia lineal es de $6E-09s \text{ m}^3$ y el flux de $2,914E-06 \text{ m}^3/s \cdot \text{m}^2$. El sistema de prefiltrado permite que haya un mayor paso de caudal sobre el sistema, aunque llega al volumen de 34 mL en donde el flujo deja de ser continuo presentando un estancamiento en la bomba jeringa y el paso de la muestra se ve estancando al llegar a los 40 mL el paso de la muestra se genera de forma continua hasta la transferencia total del volumen.

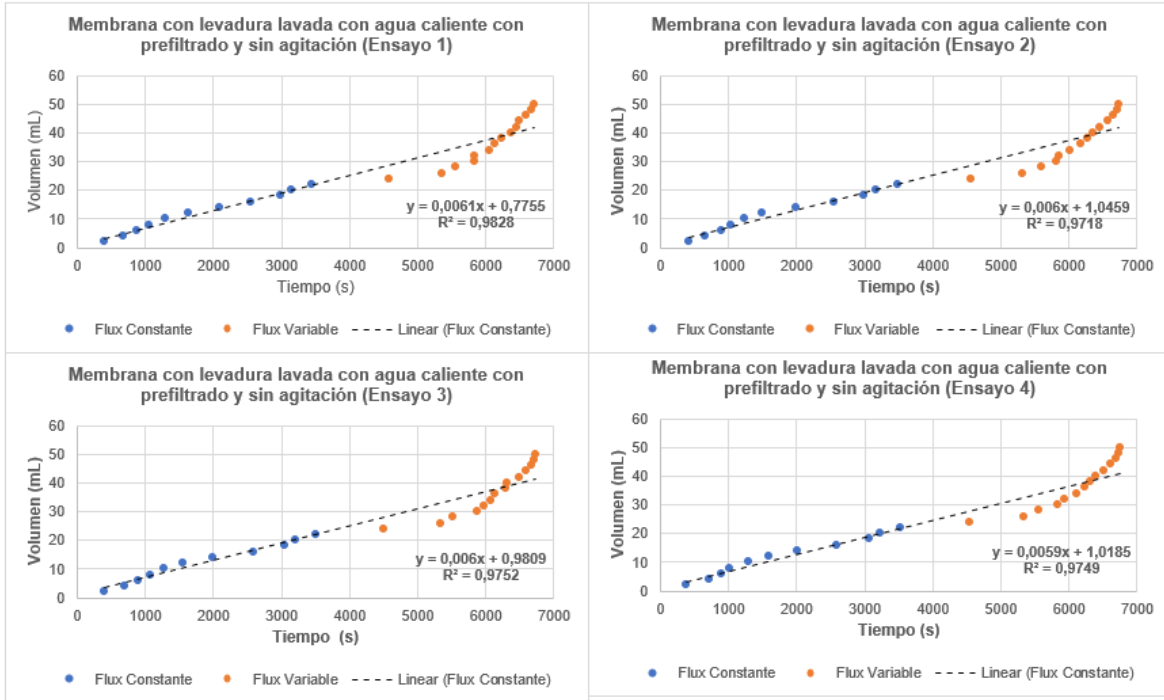


Figura 58. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado.

6.5.2.2. Resistencia de membrana

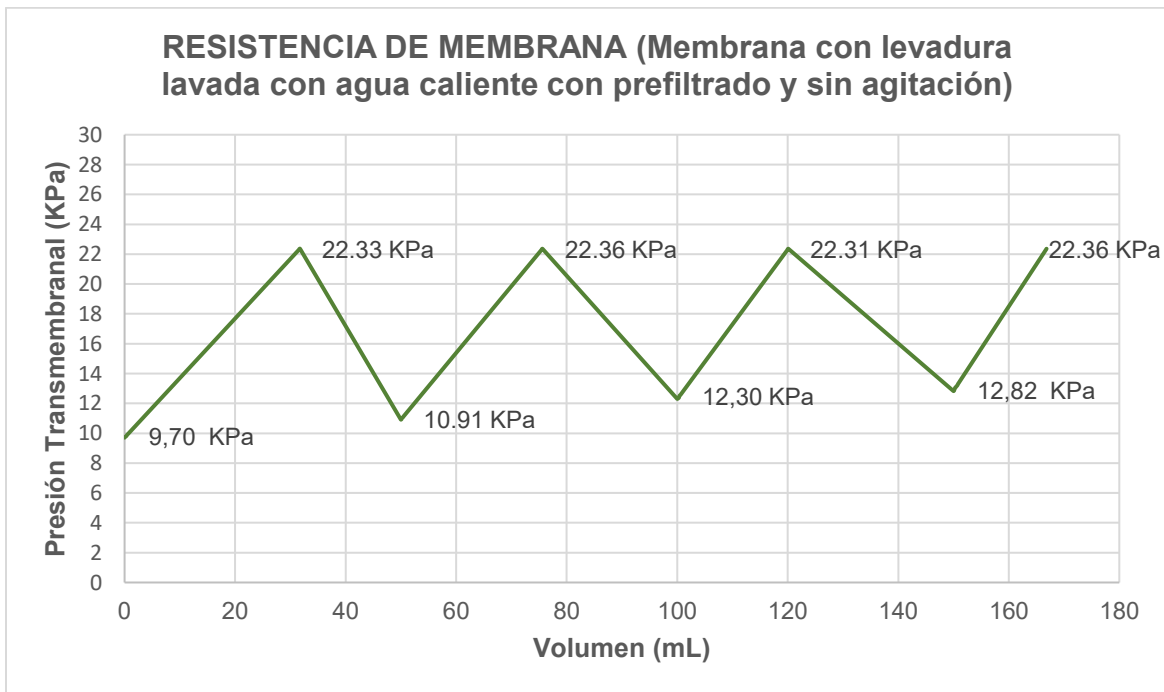


Figura 59. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado

La Figura 59. Se observa el comportamiento de la muestra de levadura con el sistema de prefiltrado mostró que el flujo de remanente va siguiendo su curso y la membrana tiene un ensuciamiento removible.

Se detalla en el primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 9,70 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,33 KPa, siendo el valor máximo de la presión en el ensayo. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 10,91 KPa, lo que muestra una diferencia de 1,21 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,36 KPa, un valor 0,03 KPa arriba del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 12,30 KPa, una diferencia de 1,39 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 2,60 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que el sistema de prefiltrado y agitación magnética está favoreciendo la no formación de torta sobre la, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,31 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 12,82 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,52 KPa respecto al valor anterior, 1,91 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 3,12 KPa a razón del primer ciclo de filtrado, el valor máximo de presión alcanzado en el ciclo de filtrado y en todo el ensayo es 22,36 KPa.

6.5.3. Ensayo con prefiltrado y agitación

6.5.3.1. Determinación del flujo de muestras

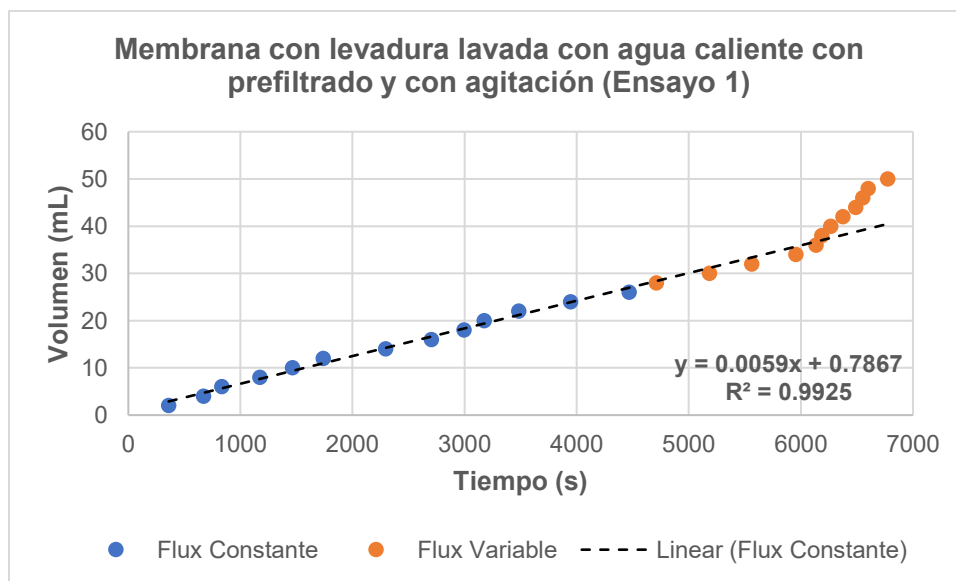


Figura 60. Determinación de flux constante y variable en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado y agitación magnética

La *Figura 60*. muestra el comportamiento lineal que tiene el flujo de muestra hasta los 30 mL, inclusive podría considerarse continuo hasta los 32 mL. A diferencia de todos los ensayos con agua caliente el sistema de prefiltrado y agitación magnética contribuyen al paso de muestra total sobre el sistema. La bomba al igual que los ensayos con el agua caliente presente un punto de fallo, en este caso está a los 32 mL, una diferencia de 4 mL con respecto al ensayo.

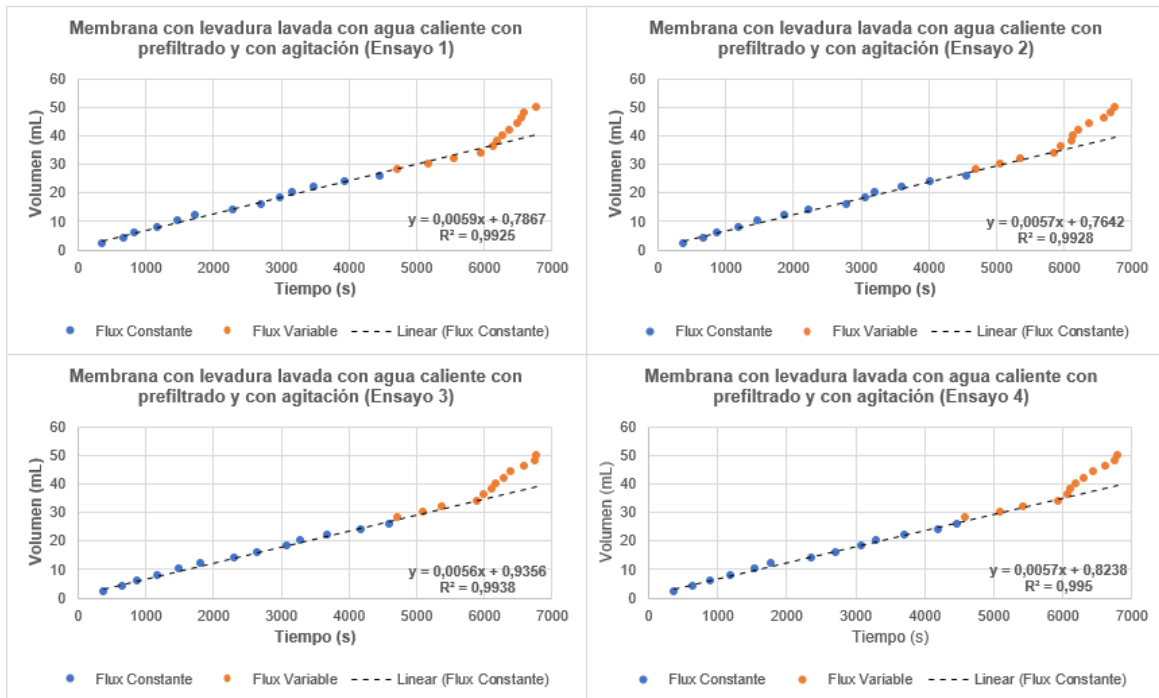


Figura 61. Ensayos de determinación de caudal y flux en membrana retrolavada con agua caliente con sistema de prefiltrado y agitación magnética

El sistema de prefiltrado muestra una retención masiva de células, lo que facilita el proceso de agitación para transferir el contenido total de muestra evitando el estancamiento de la bomba y prolongando el tiempo de colmatación de la membrana y la salida del remanente al otro extremo del sistema de filtración tangencial.

La realización de los ensayos (*Figura 61.*) determinaron el caudal y el flux en el ensayo con unos valores de $5,725E-09 \text{ m}^3$, para el primero y $2,781E-06 \text{ m}^3/\text{s}\cdot\text{m}^2$ para el segundo, se evidencia una tendencia de comportamiento, puesto que a un volumen de 40 mL el paso de la muestra es más rápido y busca mantener una linealidad similar que al inicio de la muestra, lo que deja claro que el sistema de prefiltrado y agitación magnética están actuando para evitar el ensuciamiento permanente e irreversible en la membrana.

6.5.3.2. Resistencia de membrana

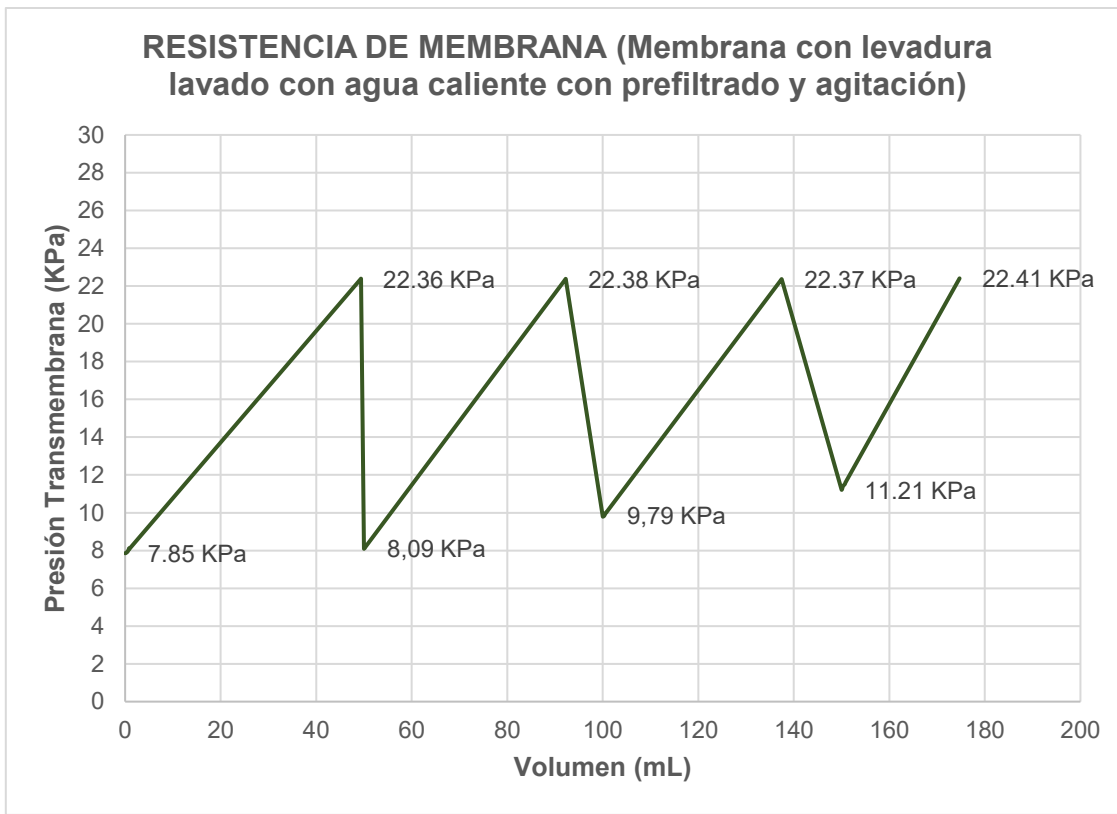


Figura 62. Resistencia de membrana retrolavada con agua caliente con muestra con sistema de prefiltrado y agitación magnética

La *Figura 62*. Se observa el comportamiento de la muestra de levadura con el sistema de prefiltrado y agitación magnética mostró que el flujo de remanente va siguiendo su curso y la membrana tiene un ensuciamiento permanente e irreversible, que va disminuyendo su capacidad de filtración a medida que se realizan los retrolavados.

Se observa que el comportamiento del primer ciclo de filtrado el valor de la presión es de 7,85 KPa, hasta alcanzar el valor máximo de 22,36 KPa,. Posterior al primer retrolavado de la membrana la presión de partida para el siguiente ciclo de filtrado es 8,09 KPa, lo que muestra una diferencia de 0,24 KPa con respecto al valor inicial, el valor máximo posterior al primer ciclo de filtración es 22,38 KPa, un valor 0,02 KPa arriba del valor anterior en ese punto. El segundo retrolavado en la membrana establece que el valor de inicio para el tercer ciclo de filtrado es de 9,79 KPa, una diferencia de 1,70 KPa con respecto al segundo punto de inicio de filtrado y 1,94 KPa con el valor del inicio del ensayo, lo que muestra que el sistema de prefiltrado y agitación magnética está favoreciendo la no formación de torta sobre la, la máxima presión en el tercer ciclo de filtrado es 22,37 KPa. El último retrolavado en la membrana determina un valor de inicio para el cuarto ciclo de filtrado de 11,21 KPa,

lo que muestra una diferencia de 1,42 KPa respecto al valor anterior, 3,12 KPa en relación al segundo ciclo de filtrado y 3,36 KPa a razón del primer ciclo de filtrado, el valor máximo de presión alcanzado en el ciclo de filtrado y en todo el ensayo es 22,41 KPa.

6.6. DIFERENCIAS ENTRE CONDICIONES ENTRE ENSAYOS

El sistema de filtración tangencial pasó por diferentes condiciones, donde se logró determinar el comportamiento del flujo de muestra y a la vez la capacidad de filtración de la membrana, por tal razón se procedió a comparar los procesos para indicar el de mayor rendimiento.

6.6.1. Ensayos sin prefiltrado y agitación

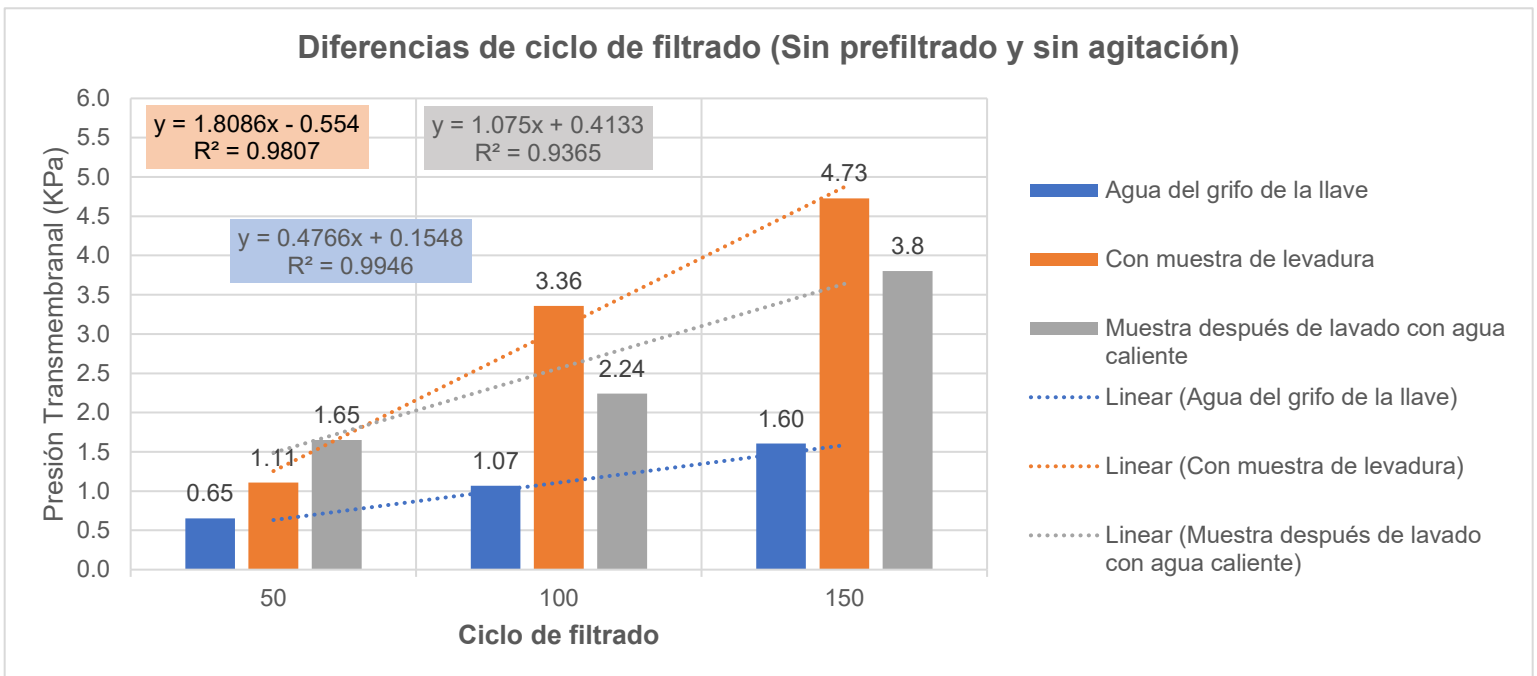


Figura 63. Diferencia entre ciclos de filtrado en ensayos sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

La *Figura 63*. Relaciona las diferencias que presentan cada uno de los ensayos realizados dentro de la caja de filtración tangencial sin sistema de prefiltrado y agitación magnética. Se observa que al emplear el retrolavado con agua caliente se mantiene una relación de 1,075 respecto al paso de nueva muestra por la membrana; no obstante, los retrolavados evidencia que la membrana posee ensuciamiento irreversible conduciendo a la pronta colmatación.

Realizar los retrolavados con agua estéril comercial sobre las muestras hay una mayor remoción y una tendencia lineal a medida que se realiza; el agua del grifo de la llave queda en evidencia que posee sólidos ya que al ser filtrada no varía considerablemente la presión, pero al ser agua tratada aún falta verificar su calidad.

El tamaño de la levadura, influye en el taponamiento de la membrana, porque al ser sometida a retrolavado el siguiente ciclo dispara los picos de presión con una tendencia.

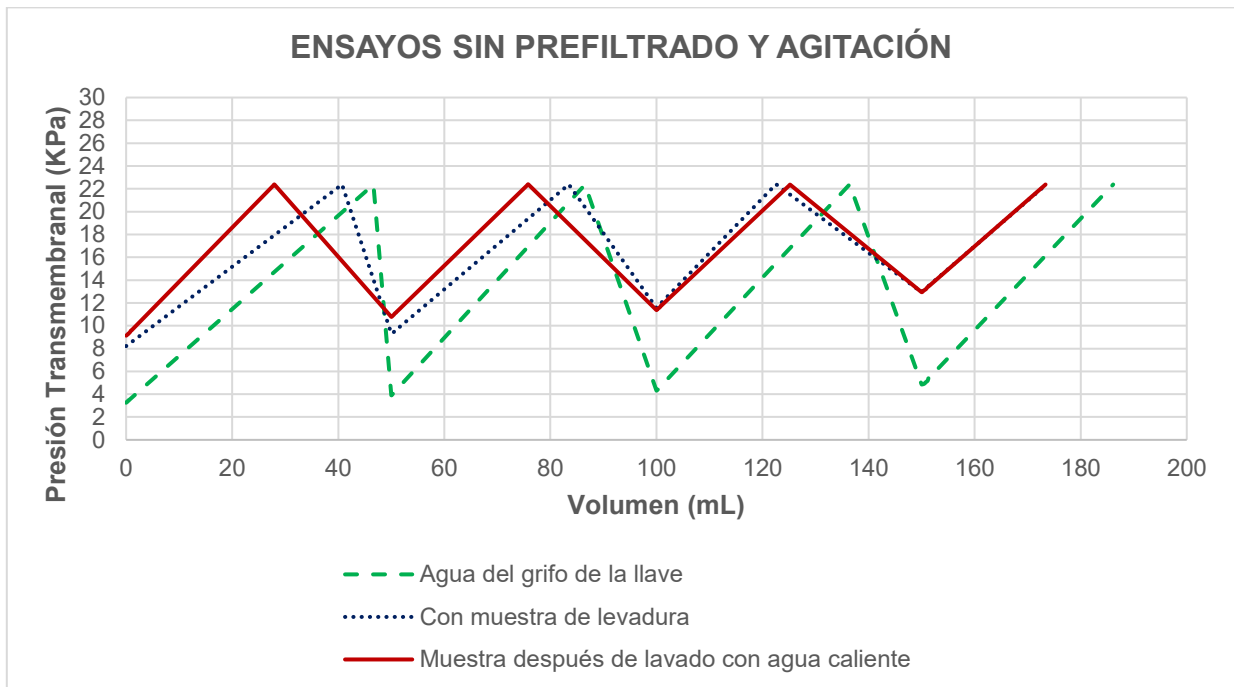


Figura 64. Resistencia de membrana a diferentes condiciones del sistema de filtración tangencial sin sistema de prefiltrado y agitación magnética

El contraste (*Figura 64.*) entre la capacidad de resistencia de membrana deja claro que la capacidad de filtración después del lavado con agua caliente menor respecto a los demás ensayos. Sin embargo, hay una mayor linealidad en el flujo y capacidad de paso de muestra por el sistema de filtración, por lo que es conveniente establecer las condiciones de temperatura de tolerancia de la membrana para aplicar el retrolavado.

6.6.2. Ensayos con prefiltrado

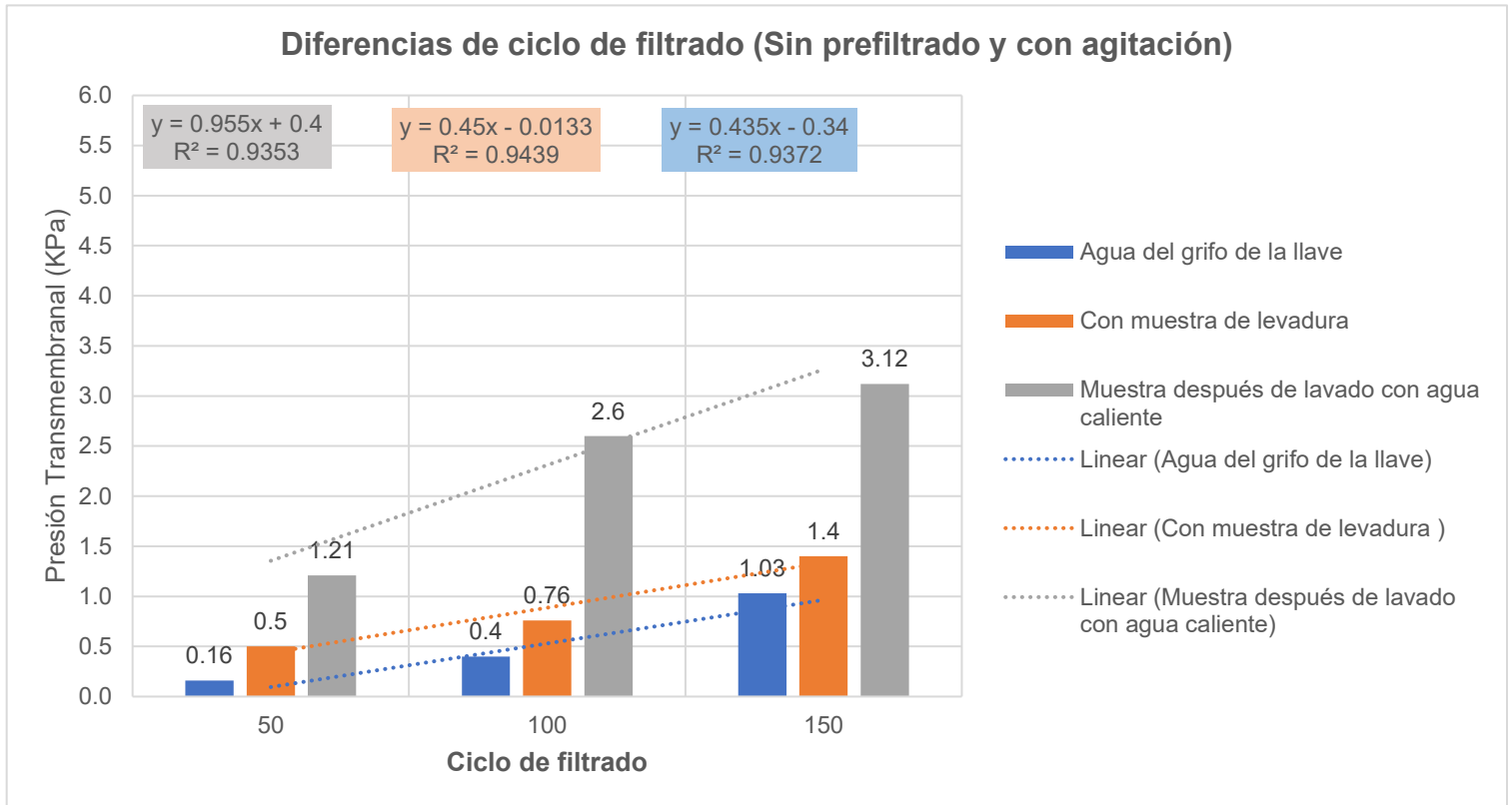


Figura 65. Diferencia entre ciclos de filtración en ensayos con sistema de prefiltrado

La *Figura 65*. Relaciona las diferencias que presentan cada uno de los ensayos realizados dentro de la caja de filtración tangencial con sistema de prefiltrado y sin agitación magnética. Se observa que al emplear el retrolavado con agua caliente se mantiene una correlación óptima $R^2 = 0,9353$, respecto a los demás ensayos es el más bajo y presenta los picos de presión más altos al iniciar un nuevo ciclo. No obstante, la diferencia entre picos (muestra con levadura y agua caliente) se logra observar que el agua caliente es una alternativa en caso de no contar con agua estéril para hacer la limpieza de la membrana y el sistema en general.

Realizar los retrolavados con agua estéril comercial sobre las muestras hay una mayor remoción y una tendencia lineal a medida que se realiza; pasar la muestra por sistema prefiltrado es una buena opción para evitar la pronta colmatación de la membrana dentro del sistema, así mismo evita la saturación de la bomba jeringa para el paso de muestra. El tamaño de la levadura, influye, pero el sistema de prefiltrado ayuda a contener aquellas células que por su tamaño puede obstaculizar la filtración en la membrana.

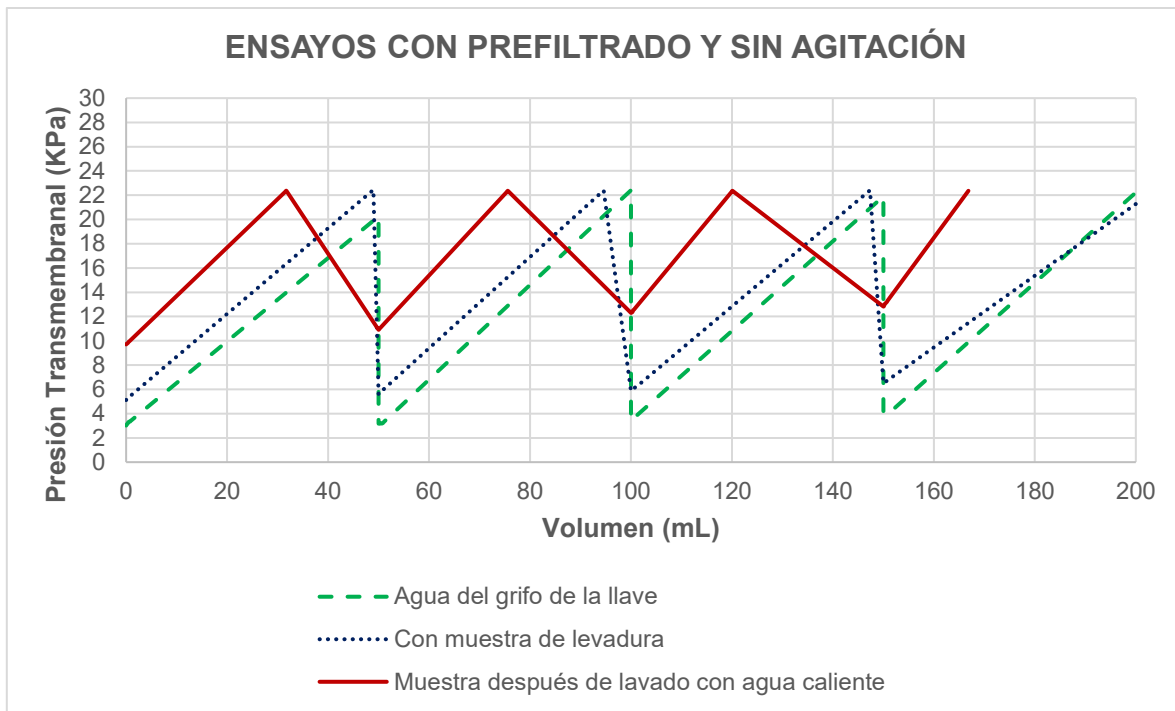


Figura 66. Resistencia de membrana a diferentes condiciones del sistema de filtración tangencial con sistema de prefiltrado.

El contraste (*Figura 66.*) entre la capacidad de resistencia de membrana expone que la capacidad limpieza del agua caliente mantiene una relación entre cada uno de los picos, aunque, con la limpieza del agua estéril, la capacidad de retención es menor. La presencia de partículas sólidas dentro del agua del grifo de la llave por más que se caliente y filtre, muestra claramente las fallas dentro del suministro de agua.

La acción del agua caliente dentro del sistema en general y en especial en la membrana muestra que no logra remover los remanentes sobre la membrana, hecho que puede estar asociado a que los diluye y favorece a que se adhieran a la membrana.

6.6.3. Ensayos con prefiltrado y agitación

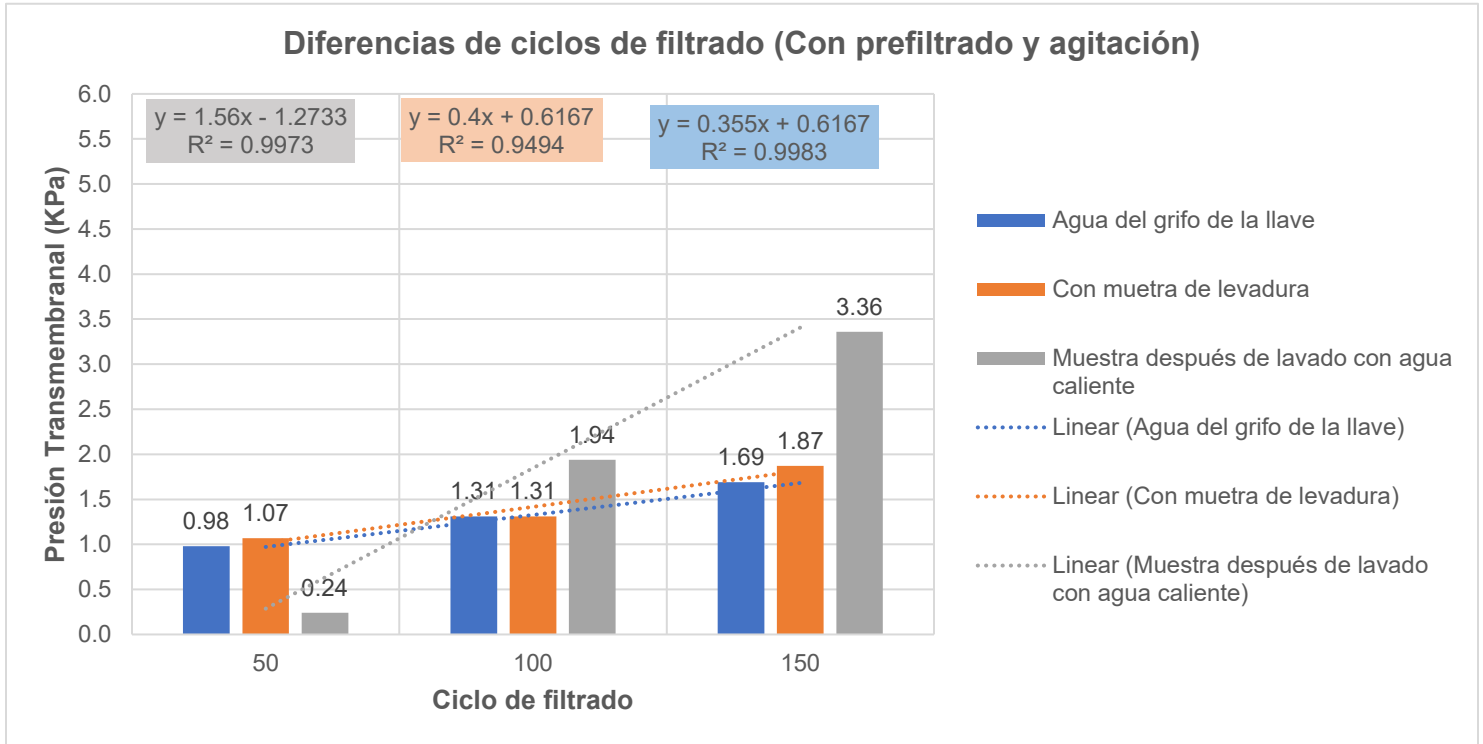


Figura 67. Diferencias entre ciclos de filtración en ensayos con sistema de prefiltrado y agitación magnética

La Figura 67. Relaciona las diferencias que presentan cada uno de los ensayos realizados dentro de la caja de filtración tangencial con sistema de prefiltrado y con agitación magnética. Se observa que al emplear el retrolavado con agua caliente se mantiene una correlación óptima $R^2 = 0,9973$, pero presenta los picos más altos después del segundo retrolavado y el último, mientras que en el primero se evidencia el pico más bajo.

Realizar los retrolavados con agua caliente como purga y de allí agua estéril comercial para los demás ensayos puede propiciar una mejor limpieza en la membrana.

7. CONCLUSIONES

La adición menor del catalizador a la resina, evita considerablemente la formación de poros de las piezas al momento de curado.

Implementar trozos de acetato en las zonas huecas de las piezas permite mantener las superficies lisas, lo que ayuda al desmonte de la pieza

Lubricar los moldes de caucho de silicona con vaselina previo a servir la resina facilita el retiro de las piezas en resina del molde de caucho.

Ejercer en la parte superior y laterales de los moldes presión en el tiempo de curado, genera homogeneidad de la solución dentro del molde, evitando la inestabilidad de piezas complementarias

La implementación de la bomba jeringa a una velocidad constante, permite identificar un comportamiento lineal de caudal.

Se comprobó el comportamiento continuo que tiene el módulo de presión, estableciéndose con precisión el valor mínimo y máximo que mide de cambio de volumen, una alternativa para cambiar los manómetros convencionales, ya que registra 20 datos por minutos.

El sistema de prefiltrado y agitación magnética son buenas alternativas para hacer más eficiente y óptimo el sistema de filtración tangencial para el tratamiento de muestras, la implementación de ambos acoples permite un mayor paso de volumen sobre la bomba jeringa.

El sistema de agitación magnética con el agua caliente es una buena alternativa de lavado en caso dado que no se cuente con agua estéril o solución química para remover la torta de la membrana, ya que mantiene el tiempo de retención de la membrana, conservando los valores mínimos y máximos de presión cercanos.

La aplicación de los acoples de prefiltración y agitación en todo el sistema favorece la eliminación de remanentes en la membrana y prolonga la utilidad de la misma.

8. RECOMENDACIONES

Establecer la durabilidad que tiene la membrana con la aplicación de diferentes concentraciones de cultivos de levadura y otro tipo de biomásas.

Realizar una extensión a la bomba jeringa de manera que el embolo no quede inestable en ocasiones en el momento que se está realizando la transferencia de muestra al sistema de filtración tangencial.

La pieza de soporte del embolo a la bomba de filtración tangencial contenga una cubierta en caucho u otro material que facilite su retiro y evite la ruptura de la pieza en el momento de montarla o viceversa.

Emplear un empaque doble o más ancho para el ajuste del sistema de roscado de la rendija que sostiene la membrana y por donde se emite el agua para el lavado del sistema tangencial.

Implementar una tapa o cubiertsa en la parte superior de la pieza anterior mencionada, para evitar la interferencia de otro tipo de agentes o microorganismos del ambiente que puede afectar la retención en la membrana.

Mejorar los acoples de entrada y salida del sistema de filtración tangencial de manera que puedan entrar se ajustado a presión y con roscado y así evitar posibles fugas.

Realizar un acople removible y adaptable para el sensor de presión de manera que pueda graduarse al largo de la manguera de salida o transferencia del volumen evitando las fugas o rupturas de la pieza soporte o del mismo sensor.

Ajustar el sistema de prefiltración a la bomba jeringa de manera que el producto, pase inmediatamente a la jeringa o se tenga la menor manipulación de la muestra antes de pasar el sistema de filtración tangencial.

Desarrollar ensayos de limpieza con un tensoactivo previo a la esterilización y determinar si favorece con la remoción de residuos presentes en el sistema de filtración tangencial.

Adecuar el mecanismo de entrada y salida al sistema de filtración tangencial, que permita hacer el lavado por la misma entrada por donde se inyecta la muestra de estudio.

Elaborar ensayos con otro tipo de microorganismos

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. W. Nienow *et al.*, «The physical characterisation of a microscale parallel bioreactor platform with an industrial CHO cell line expressing an IgG4», *Biochem. Eng. J.*, vol. 76, pp. 25-36, jul. 2013, doi: 10.1016/j.bej.2013.04.011.
- [2] J. B. Sieck *et al.*, «Development of a Scale-Down Model of hydrodynamic stress to study the performance of an industrial CHO cell line under simulated production scale bioreactor conditions», *J. Biotechnol.*, vol. 164, n.º 1, pp. 41-49, mar. 2013, doi: 10.1016/j.jbiotec.2012.11.012.
- [3] L. E. Crowell *et al.*, «On-demand manufacturing of clinical-quality biopharmaceuticals», *Nat. Biotechnol.*, vol. 36, n.º 10, pp. 988-995, nov. 2018, doi: 10.1038/nbt.4262.
- [4] C. Allonneau, E. Olmos, S. Guyot, E. Ferret, P. Gervais, y R. Cachon, «Hydrodynamic characterization of a new small-scale reactor mixed by a

- magnetic bar», *Biochem. Eng. J.*, vol. 96, pp. 29-37, abr. 2015, doi: 10.1016/j.bej.2014.12.005.
- [5] R. J. Lobb *et al.*, «Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma», *J. Extracell. Vesicles*, vol. 4, n.º 1, p. 27031, ene. 2015, doi: 10.3402/jev.v4.27031.
- [6] C. Ma, F. Jiang, Y. Ma, J. Wang, H. Li, y J. Zhang, «Isolation and Detection Technologies of Extracellular Vesicles and Application on Cancer Diagnostic», *Dose-Response*, vol. 17, n.º 4, p. 155932581989100, oct. 2019, doi: 10.1177/1559325819891004.
- [7] J. I. Betts, S. D. Doig, y F. Baganz, «Characterization and Application of a Miniature 10 mL Stirred-Tank Bioreactor, Showing Scale-Down Equivalence with a Conventional 7 L Reactor», *Biotechnol. Prog.*, vol. 22, n.º 3, pp. 681-688, jun. 2006, doi: 10.1021/bp050369y.
- [8] S. Connelly *et al.*, «Bioreactor Scalability: Laboratory-Scale Bioreactor Design Influences Performance, Ecology, and Community Physiology in Expanded Granular Sludge Bed Bioreactors», *Front. Microbiol.*, vol. 8, p. 664, may 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.00664.
- [9] M. Ben-Tchavtchavadze, M. Perrier, y M. Jolicoeur, «Small-Scale Bioreactor Platform for Bioprocess Optimization», vol. 27, n.º 5, p. 11, 2007.
- [10] J. I. Betts y F. Baganz, «Miniature bioreactors: current practices and future opportunities», *Microb. Cell Factories*, vol. 5, n.º 1, p. 21, 2006, doi: 10.1186/1475-2859-5-21.
- [11] Q. Long *et al.*, «The development and application of high throughput cultivation technology in bioprocess development», *J. Biotechnol.*, vol. 192, pp. 323-338, dic. 2014, doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.03.028.
- [12] M. Scheel y T. Lütke-Eversloh, «New options to engineer biofuel microbes: Development and application of a high-throughput screening system», *Metab. Eng.*, vol. 17, pp. 51-58, may 2013, doi: 10.1016/j.ymben.2013.03.002.
- [13] R. Bareither y D. Pollard, «A review of advanced small-scale parallel bioreactor technology for accelerated process development: Current state and future need», *Biotechnol. Prog.*, vol. 27, n.º 1, pp. 2-14, ene. 2011, doi: 10.1002/btpr.522.
- [14] R. Bareither, N. Bargh, R. Oakeshott, K. Watts, y D. Pollard, «Automated disposable small scale reactor for high throughput bioprocess development: A proof of concept study: Automated Disposable Small Scale Reactor», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 110, n.º 12, pp. 3126-3138, dic. 2013, doi: 10.1002/bit.24978.
- [15] X. Li, L. Jiang, y H. Li, «Application of Ultrafiltration Technology in Water Treatment», *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 186, p. 012009, oct. 2018, doi: 10.1088/1755-1315/186/3/012009.
- [16] Z. L. Zhao, Y. Lin, y S. P. Liu, «Study on Ultrafiltration Membrane Technology for Water Purification in Zhengzhou», *Adv. Mater. Res.*, vol. 287-290, pp. 2156-2160, jul. 2011, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.287-290.2156.
- [17] Y. Zhao y X. Li, «Polymerized titanium salts for municipal wastewater preliminary treatment followed by further purification via crossflow filtration for water reuse», *Sep. Purif. Technol.*, vol. 211, pp. 207-217, mar. 2019, doi: 10.1016/j.seppur.2018.09.078.

- [18] K. Hagen, «Removal of particles, bacteria and parasites with ultrafiltration for drinking water treatment», *Desalination*, vol. 119, n.º 1-3, pp. 85-91, sep. 1998, doi: 10.1016/S0011-9164(98)00117-9.
- [19] C. F. Galinha, S. Sanches, y J. G. Crespo, «Membrane bioreactors», en *Fundamental Modelling of Membrane Systems*, Elsevier, 2018, pp. 209-249.
- [20] R. Singh, A. Pandey, y C. Larroche, *Advances in Industrial Biotechnology*. 2014.
- [21] S. Bhatia y T. Bera, «Classical and Nonclassical Techniques for Secondary Metabolite Production in Plant Cell Culture», en *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, Elsevier, 2015, pp. 231-291.
- [22] G. D. Najafpour, «CHAPTER 6 - Bioreactor Design», en *Biochemical Engineering and Biotechnology*, G. D. Najafpour, Ed. Amsterdam: Elsevier, 2007, pp. 142-169.
- [23] M. Spier, L. Vandenberghe, A. Pedroni, y C. Soccol, «Chapter 2 Application of Different Types of Bioreactors in Bioprocesses», en *Bioreactors: Design, properties and applications*, New York: Nova Science Publisher, p. 37.
- [24] J. Singh, N. Kaushik, y S. Biswas, «Bioreactors – Technology & Design Analysis», p. 10.
- [25] A. Cinar, Ed., *Batch fermentation: modeling, monitoring, and control*. New York: Marcel Dekker, 2003.
- [26] R. Sindhu, P. Binod, y A. Pandey, «Microbial Poly-3-Hydroxybutyrate and Related Copolymers», en *Industrial Biorefineries & White Biotechnology*, Elsevier, 2015, pp. 575-605.
- [27] M. S. R. Abbott, A. P. Harvey, G. V. Perez, y M. K. Theodorou, «Biological processing in oscillatory baffled reactors: operation, advantages and potential», *Interface Focus*, vol. 3, n.º 1, p. 20120036, feb. 2013, doi: 10.1098/rsfs.2012.0036.
- [28] H. C. Lim y H. S. Shing, *Fed-Batch Cultures. Principles and applications of semi-batch bioreactors*. New York: Cambridge University Press, 2013.
- [29] C. K. Tan *et al.*, «Electromagnetic stirring in a microbioreactor with non-conventional chamber morphology and implementation of multiplexed mixing: Electromagnetic stirring in a microbioreactor», *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, n.º 10, pp. 1927-1936, oct. 2015, doi: 10.1002/jctb.4762.
- [30] R. Puskeiler, A. Kusterer, G. T. John, y D. Weuster-Botz, «Miniature bioreactors for automated high-throughput bioprocess design (HTBD): reproducibility of parallel fed-batch cultivations with *Escherichia coli*», *Biotechnol. Appl. Biochem.*, vol. 42, n.º 3, p. 227, dic. 2005, doi: 10.1042/BA20040197.
- [31] R. Hortsch, A. Stratmann, y D. Weuster-Botz, «New milliliter-scale stirred tank bioreactors for the cultivation of mycelium forming microorganisms», *Biotechnol. Bioeng.*, p. n/a-n/a, 2010, doi: 10.1002/bit.22706.
- [32] P. Perez-Pinera *et al.*, «Synthetic biology and microbioreactor platforms for programmable production of biologics at the point-of-care», *Nat. Commun.*, vol. 7, n.º 1, p. 12211, nov. 2016, doi: 10.1038/ncomms12211.
- [33] «Konstantinov B. - 2015 - White paper on continuous bioprocessing.pdf». .
- [34] V. Bertrand *et al.*, «Proteomic analysis of micro-scale bioreactors as scale-down model for a mAb producing CHO industrial fed-batch platform», *J. Biotechnol.*, vol. 279, pp. 27-36, ago. 2018, doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.04.015.

- [35] A. Bolic, H. Larsson, S. Hugelier, A. Eliasson Lantz, U. Krühne, y K. V. Gernaey, «A flexible well-mixed milliliter-scale reactor with high oxygen transfer rate for microbial cultivations», *Chem. Eng. J.*, vol. 303, pp. 655-666, nov. 2016, doi: 10.1016/j.cej.2016.05.117.
- [36] S. Sohoni, P. Bapat, y A. Lantz, «Robust, small-scale cultivation platform for *Streptomyces coelicolor*», *Microb. Cell Factories*, vol. 11, n.º 1, p. 9, 2012, doi: 10.1186/1475-2859-11-9.
- [37] «Calabro V. -2011 - Fundamental membrane processes, science.pdf». .
- [38] «Trevor Sparks, George Chase - Filters and Filtration Handbook-Butterworth-Heinemann (2015).pdf». .
- [39] «Ding et al. - 2015 - Dynamic Filtration with Rotating Disks, and Rotati.pdf». .
- [40] «Sano y Davalos - 2012 - Microfluidic techniques for the detection, manipul.pdf». .
- [41] «Chapter 2 - Microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration, reverse osmosis, and forward osmosis», p. 46.
- [42] S. Mukherjee, «Isolation and Purification of Industrial Enzymes: Advances in Enzyme Technology», en *Advances in Enzyme Technology*, Elsevier, 2019, pp. 41-70.
- [43] E. L. T. Larsson, «(73) Assignee: Alfa Laval Brewery Systems AB», p. 7.
- [44] «Bhave R. - 1996 - Cross Flow Filtration Fermentation.pdf». .
- [45] «Ghosh - 2008 - Biopharmaceutical Separations by Ultrafiltration.pdf». .
- [46] «Rayess - 2011 - Cross-flow microfiltration applied to oenology A .pdf». .
- [47] K.-J. Hwang y P.-Y. Sz, «Filtration characteristics and membrane fouling in cross-flow microfiltration of BSA/dextran binary suspension», *J. Membr. Sci.*, vol. 347, n.º 1-2, pp. 75-82, feb. 2010, doi: 10.1016/j.memsci.2009.10.008.
- [48] T. Musumeci, A. Leonardi, A. Bonaccorso, R. Pignatello, y G. Puglisi, «Tangential Flow Filtration Technique: An Overview on Nanomedicine Applications», *Pharm. Nanotechnol.*, vol. 6, n.º 1, pp. 48-60, abr. 2018, doi: 10.2174/2211738506666180306160921.
- [49] T. Urošević, D. Povrenović, P. Vukosavljević, I. Urošević, y S. Stevanović, «Recent developments in microfiltration and ultrafiltration of fruit juices», *Food Bioprod. Process.*, vol. 106, pp. 147-161, nov. 2017, doi: 10.1016/j.fbp.2017.09.009.
- [50] J. Wagner, «Membrane Filtration Handbook Practical Tips and Hints», p. 126.
- [51] W. J. Koros, Y. H. Ma, y T. Shimidzu, «Terminology for membranes and membrane processes (IUPAC Recommendations 1996)», *Pure Appl. Chem.*, vol. 68, n.º 7, pp. 1479-1489, ene. 1996, doi: 10.1351/pac199668071479.
- [52] H. J. Luna, B. E. L. Baêta, S. F. Aquino, y M. S. R. Susa, «EPS and SMP dynamics at different heights of a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR)», *Process Biochem.*, vol. 49, n.º 12, pp. 2241-2248, dic. 2014, doi: 10.1016/j.procbio.2014.09.013.
- [53] H. Liu y H. H. P. Fang, «Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges», *J. Biotechnol.*, vol. 95, n.º 3, pp. 249-256, may 2002, doi: 10.1016/S0168-1656(02)00025-1.
- [54] J. S. Vrouwenvelder y D. van der Kooij, «Diagnosis of fouling problems of NF and RO membrane installations by a quick scan», *Desalination*, vol. 153, n.º 1-3, pp. 121-124, feb. 2003, doi: 10.1016/S0011-9164(02)01111-6.

- [55] S. Shirazi, C.-J. Lin, y D. Chen, «Inorganic fouling of pressure-driven membrane processes — A critical review», *Desalination*, vol. 250, n.º 1, pp. 236-248, ene. 2010, doi: 10.1016/j.desal.2009.02.056.
- [56] «Meng et al. - 2009 - Recent advances in membrane bioreactors (MBRs) Me.pdf». .
- [57] «Judd y Judd - 2011 - The MBR book principles and applications of membr.pdf». .
- [58] H. L. Chum y R. P. Overend, «Biomass and renewable fuels», p. 9, 2001.
- [59] R. Pérez-Torrado, E. Gamero, R. Gómez-Pastor, E. Garre, A. Aranda, y E. Matallana, «Yeast biomass, an optimised product with myriad applications in the food industry», *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 46, n.º 2, pp. 167-175, dic. 2015, doi: 10.1016/j.tifs.2015.10.008.
- [60] G. Zhu, X. Zhu, Q. Fan, y X. Wan, «Recovery of biomass wastes by hydrolysis in sub-critical water», *Resour. Conserv. Recycl.*, vol. 55, n.º 4, pp. 409-416, feb. 2011, doi: 10.1016/j.resconrec.2010.12.012.
- [61] «Kumar D. - 2017 - Utilization of lignocellulosic biomass by oleaginous yeast and bacteria.pdf». .
- [62] «Hainal A. - 2010 -Transformation_of_polyphenols_from_bioma.pdf». .
- [63] I. Espinosa-Gonzalez, A. Parashar, M. Chae, y D. C. Bressler, «Cultivation of oleaginous yeast using aqueous fractions derived from hydrothermal pretreatments of biomass», *Bioresour. Technol.*, vol. 170, pp. 413-420, oct. 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.08.006.
- [64] J. Yu, M. Tong, X. Sun, y B. Li, «Enhanced and selective adsorption of Pb²⁺ and Cu²⁺ by EDTAD-modified biomass of baker's yeast», *Bioresour. Technol.*, vol. 99, n.º 7, pp. 2588-2593, may 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.04.038.
- [65] N. Hossain, J. Haji Zaini, y T. M. I. Mahlia, «A Review of Bioethanol Production from Plant-based Waste Biomass by Yeast Fermentation», *Int. J. Technol.*, vol. 8, n.º 1, p. 5, ene. 2017, doi: 10.14716/ijtech.v8i1.3948.
- [66] M. L. T. Carl A Batt, *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, 2014.
- [67] R. A. Infante Matenzo y O. D. Mora León, «Amplificación, clonación y expresión de los genes (kmp11, hsp70, lack ,tsa y hlyA) de leishmania en cepas recombinantes de escherichia coli», feb. 2017, Accedido: jun. 09, 2020. [En línea]. Disponible en: <http://repository.udistrital.edu.co/handle/11349/14444>.
- [68] B. Caballero, «Johns Hopkins University Center for Human Nutrition School of Hygiene and Public Health 615 North Wolfe Street Baltimore, Maryland 21205-2179 USA», p. 6406.
- [69] I. M. P. L. V. O. Ferreira, O. Pinho, E. Vieira, y J. G. Tavela, «Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications», *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 21, n.º 2, pp. 77-84, feb. 2010, doi: 10.1016/j.tifs.2009.10.008.
- [70] H. Fukuda, A. Kondo, y S. Tamalampudi, «Bioenergy: Sustainable fuels from biomass by yeast and fungal whole-cell biocatalysts», *Biochem. Eng. J.*, vol. 44, n.º 1, pp. 2-12, abr. 2009, doi: 10.1016/j.bej.2008.11.016.
- [71] R. Salari y R. Salari, «Investigation of the Best Saccharomyces cerevisiae Growth Condition», *Electron. Physician*, vol. 9, n.º 1, pp. 3592-3597, ene. 2017, doi: 10.19082/3592.

- [72] J. G. De Nobel, F. M. Klis, T. Munnik, J. Priem, y H. Van Den Ende, «An assay of relative cell wall porosity in *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* and *Schizosaccharomyces pombe*», *Yeast*, vol. 6, n.º 6, pp. 483-490, nov. 1990, doi: 10.1002/yea.320060605.
- [73] G. Shi *et al.*, «Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant», *J. Food Eng.*, vol. 80, n.º 4, pp. 1060-1067, jun. 2007, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.038.
- [74] G. G. Stewart, «SACCHAROMYCES | *Saccharomyces cerevisiae*», en *Encyclopedia of Food Microbiology*, Elsevier, 2014, pp. 309-315.
- [75] A. V. Kaliyathan, A. Mathew, A. V. Rane, K. Kanny, y S. Thomas, «Natural rubber and silicone rubber-based biomaterials», en *Fundamental Biomaterials: Polymers*, Elsevier, 2018, pp. 71-84.
- [76] J. E. M. Fandiño, «DESARROLLO DE BIORREACTORES CONTROLADOS APLICABLES AL ESTUDIO DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS DE INTERES COMERCIAL.», Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, 2018.
- [77] D. Lantagne, M. Klarman, A. Mayer, K. Preston, J. Napotnik, y K. Jellison, «Effect of production variables on microbiological removal in locally-produced ceramic filters for household water treatment», *Int. J. Environ. Health Res.*, vol. 20, n.º 3, pp. 171-187, jun. 2010, doi: 10.1080/09603120903440665.
- [78] Evelyn, E. Milani, y F. V. M. Silva, «Comparing high pressure thermal processing and thermosonication with thermal processing for the inactivation of bacteria, moulds, and yeasts spores in foods», *J. Food Eng.*, vol. 214, pp. 90-96, dic. 2017, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.06.027.
- [79] «Lee et al. - 2016 - Effects of the high pressure homogenization on the.pdf». .
- [80] «CARACTERIZACION CLIMATICA BOGOTA.pdf». .
- [81] T. Kwon *et al.*, «Microfluidic Cell Retention Device for Perfusion of Mammalian Suspension Culture», *Sci. Rep.*, vol. 7, n.º 1, p. 6703, dic. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-06949-8.
- [82] J. D. Valderrama y F. R. S. Gutierrez, «Engineering of bacterial outer membrane vesicles», en *Lipid Nanocarriers for Drug Targeting*, Elsevier, 2018, pp. 199-229.