

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE QUIMICA**



---

**PROPIEDADES CINETICAS DE UN MOLINO CONTINUO PARA LA  
DESINTEGRACION CELULAR UTILIZANDO ESFERULAS DE  
PLASTICO COMO MATERIAL DE RUPTURA**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A:

**JOSE GUILLERMO AGUILAR OSORIO**

**1 9 8 2**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

### I. INTRODUCCION

### II. ANTECEDENTES

#### 1.- Métodos mecánicos de rompimiento celular.

- a) Energía ultrasónica
- b) Agitación Mecánica
- c) Presión en fase líquida
- d) Molienda
- e) Presión en fase sólida

#### 2.- Métodos no mecánicos de rompimiento celular.

- a) Desección
- b) Lisis.
  - i. Física
  - ii. Química
  - iii. Enzimática

#### 3.- Caracterización de sistemas abiertos de reacción por medio de patrones de flujo.

### III. MATERIAL Y METODOS.

- 1.- Descripción del equipo
- 2.- Procedimientos analíticos

### IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

- 1.- Experimentos de rompimiento en lote
- 2.- Efecto del diámetro de las esferulas sobre el grado de rompimiento
- 3.- Experimentos de rompimiento de forma continua
- 4.- Patrones de flujo del sistema
- 5.- Eficiencia de rompimiento

### V. CONCLUSIONES.

### VI. BIBLIOGRAFIA.

## I. INTRODUCCION.

Durante los últimos años el rompimiento celular se ha convertido en un paso crucial para la obtención de productos extracelulares importantes como proteínas, enzimas y otros metabolitos.

El gran potencial de los microorganismos como fuente de proteína para productos alimenticios o para la obtención de enzimas de importancia en la industria farmacéutica y/o alimenticia, ha tenido gran desarrollo, sin embargo, cada vez se hace más necesaria la investigación en esta área.

Los métodos de rompimiento celular existentes son muy amplios y diferentes y oscilan desde la simplicidad de un mortero hasta la sofisticación de las ondas ultrasónicas. Todos los métodos hasta ahora desarrollados los podemos clasificar, de acuerdo con Wimpeny, en dos grandes grupos: métodos mecánicos y no-mecánicos, los que comprenden gran diversidad de técnicas las cuales están expuestas en la tabla I.

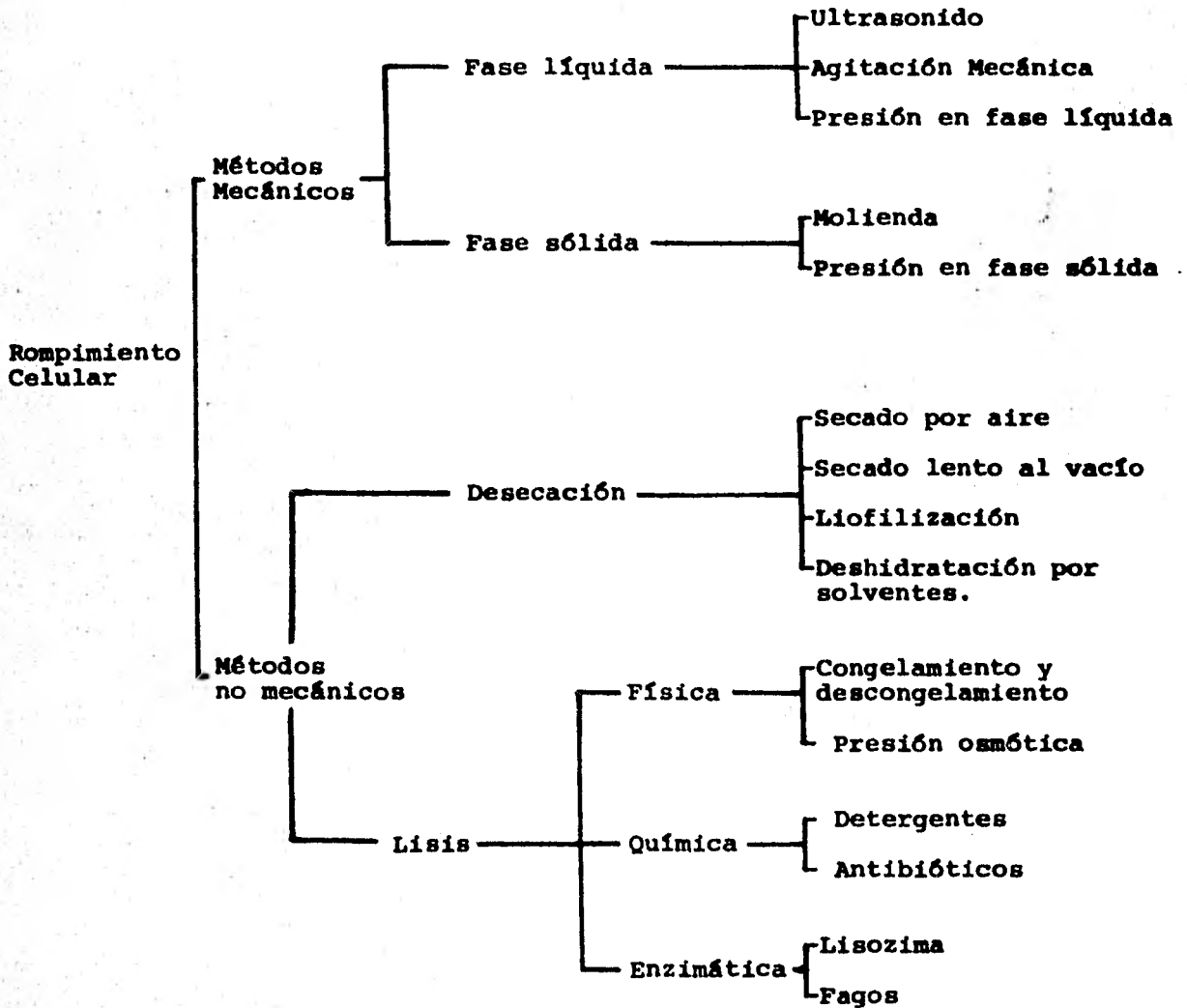
Todos los métodos mecánicos de rompimiento atacan, tanto la pared como la membrana celular, diferenciándose una técnicas de otras, por la eficiencia y el tamaño de los fragmentos celulares producidos. Los métodos no-me-

TABLA I

---

**ESQUEMA GENERAL DE LOS METODOS DE ROMPIMIENTO CELULAR**


---




---

 Adaptado de Wimpeny, 1969.

cánicos, por el contrario, son mucho más específicos y, bajo condiciones adecuadas, pueden atacar la membrana o la pared celular. La fig. 1 ilustra adecuadamente estas técnicas.

Ruptura del complejo  
membrana-pared celular.  
Tensión en la fase líquida  
Tensión en la fase sólida  
Congelamiento y desconge-  
lamiento, presión y shock  
osmótico.

Tensión Mecánica sobre la  
pared celular:

Lisozima  
Antibióticos (Penicilina,  
cicloserina), bacteriófagos.

Destruyen la membrana cito-  
plasmática.  
Desecación, solventes,  
agentes tensoactivos.

Causa desorganización intracelular.  
Tensión en fase líquida y especial-  
mente ultrasonido de baja intensi-  
dad.

FIGURA 1. Sitios de ruptura y agentes causantes del rompimiento celular.

## II. ANTECEDENTES.

### 1.-METODOS MECANICOS DE ROMPIMIENTO.

#### a) Energía Ultrasónica.

Este método emplea frecuencias de sonido de 15-20 kc seg<sup>-1</sup> que está por arriba de la frecuencia audible por el humano. Estas ondas se conocen como ultrasonido, y, si son acopladas de alguna manera a una suspensión de microorganismos ocasionan el rompimiento.

El equipo requerido consiste de un oscilador electrónico, un amplificador y un transductor el cual se acopla a la suspensión celular por medio de un electrodo.

El líquido tratado, por efecto de las ondas ultrasónicas, presenta cavitación; la tensión y compresión alternadas del líquido hace que se formen microburbujas de gas. Durante la cavitación de estas burbujas se alcanzan temperaturas por arriba de los 4000°K y presiones de  $3 \times 10^6$  atm., (Nultingk, 1951). Se cree que se forma una microcorriente de líquido alrededor de las burbujas, cuya aceleración genera grandes fuerzas de corte que ocasionan el rompimiento.

La eficiencia del método, depende, como muchos de



los otros, del microorganismo de que se trate, del tiempo de exposición y de la intensidad del tratamiento. Microorganismos Gram-negativos como bacilos son fácilmente desintegrados; lactobacilos y levaduras son más resistentes, mientras que cocos Gram-positivos, como Staphylococcus aureus ; son muy difíciles de romper por ultrasonido.

El ultrasonido es un método ampliamente utilizado a escala de laboratorio, pero su aplicación en el rompimiento celular a gran escala se ve limitado por los problemas de control de temperatura, que se presentan aún a escala de laboratorio, así como por la dificultad de transmitir energía suficiente a grandes volúmenes de suspensión. Sin embargo, se han desarrollado celdas de flujo continuo que resuelven algunos problemas pero su utilización a nivel industrial todavía no es una realidad.

#### b) AGITACION MECANICA

Mediante la agitación mecánica se pueden alcanzar fuerzas de corte tan grandes como por el ultrasonido. Estas fuerzas son generadas por discos que giran a alta

velocidad, de tal modo que se forman gradientes de velocidad en la vecindad del disco que dependen de la velocidad angular del disco y del radio del mismo. Este método es poco efectivo para romper células bacterianas, ya que, las fuerzas generadas no son suficientemente grandes.

La vibración mecánica, usando pequeñas esferas de vidrio mezcladas con la suspensión celular, resulta más efectiva. Estos métodos parecen dañar las células por los fuertes campos de corte alrededor de las esferas que son aceleradas con gran rapidez.

#### c) PRESION EN FASE LIQUIDA

Cualquier sistema que sea capaz de comprimir una suspensión de microorganismos y la libere súbitamente por un orificio pequeño, ocasiona fuerzas de corte que pueden romper las células. Este método consiste en someter una suspensión de microorganismos a elevadas presiones y forzarla a pasar, a través de un orificio pequeño, a un reservorio donde se obtienen las células rotas. French (1955) uso un sistema de este tipo para el rompimiento de

cloroplastos, pasando una suspensión de éstos a través de una válvula de aguja a presiones superiores a 20,000 psi. Ribí (1959) utilizó también este sistema pero operando a presiones superiores (40,000 psi) , controlando la temperatura externa por medio de CO<sub>2</sub> gaseoso.

#### d) MOLIENDA

Se han usado una gran variedad de técnicas de molienda para obtener extractos de microorganismos, (Hugo, 1954). En general son técnicas poco eficientes, algunas usan agentes abrasivos como polvo de vidrio, alúmina, arena, etc., mezcladas con la suspensión celular, o bien , el uso de suspensiones celulares congeladas y molidas en molinos automáticos, molinos de bolas o morteros manuales, sin embargo, éstas técnicas son laboriosas, lentas y por lo general ineficientes.

#### e) PRESION EN FASE SOLIDA

Los métodos de rompimiento mediante los cuales se somete una suspensión celular en estado sólido (congelada) a altas presiones, se iniciaron en 1951 con la prensa de Hughes en la cual se coloca una suspensión celular, se congela y se fuerza a pasar por una pequeña válvula, por

efecto de la alta presión ejercida por un pistón.

Este método es efectivo cuando se quieren obtener preparaciones de membranas, ya que se obtienen relativamente intactas.

Basados en el mismo principio, se han hecho equipos similares al de Hughes (Edebo, 1960; Edebo y Herden, 1960). Este método es poco útil para el procesamiento de grandes volúmenes.

## 2.- METODOS NO-MECANICOS

### a) Deseccación

Los principales métodos para lograr la deseccación de microorganismos han sido:

#### i) Secado por aire:

La pasta celular, colectada por centrifugación o filtración, es extendida sobre charolas o mallas y expuesta a corrientes de aire a una temperatura de 25-30°C, ocasionalmente a temperaturas mayores (35-40°C), durante dos o tres días. Las capas de células son removidas temporalmente para acelerar el proceso de secado. Las células secadas de este modo frecuentemente sufren auto-

lisis parcial. El material extracelular es posteriormente extraído suspendiendo las células en medios adecuados para la extracción de este material en las mejores condiciones. Sin embargo, hay gran pérdida de actividad enzimática provocado por el largo tiempo de exposición del material a estas temperaturas.

ii) Secado lento al vacío:

La pasta celular es deshidratada por efecto de vacío y baja temperatura, el tiempo de exposición es de 10 a 12 hrs. La pasta resultante es de consistencia quebradiza y dura que, posteriormente, se muele y se suspende en una solución acuosa para llevar a cabo la extracción de los constituyentes intracelulares. Este método ha sido empleado para extraer el sistema enzimático de etanol-oxidasa de Clostridium Kluyveri (Stadtman y Barker, 1949), para aislar glutaminasa de C. welchii (Hughes y Williamson, 1952) con buenos resultados. Sin embargo, resulta obvio que su utilización sólo es posible en escala de laboratorio.

iii) Liofilización:

Por este método la liberación del contenido celular es poco efectiva, aunque es el mejor para la preservación

de la actividad enzimática y la viabilidad celular por períodos muy prolongados. Prácticamente no se utiliza para el rompimiento de células y su real aplicación es en la conservación de extractos celulares y otros materiales.

iv) Deshidratación por solventes:

Las células pueden ser convenientemente deshidratadas adicionándolas, en suspensión acuosa, a grandes volúmenes de solventes miscibles con agua y a temperaturas suficientemente bajas, tales que no lesionen los componentes que se desean extraer.

Entre los solventes más utilizados están: acetona cloroformo, dioxano y tolueno, este último es inmisible pero tiene capacidad de romper células. Las células son tratadas con acetona a baja temperatura ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) y luego filtradas por efecto de vacío para la eliminación de acetona. Este tipo de solventes actúan a nivel de la membrana celular, afectando la permeabilidad de la célula. Casi siempre es necesario, después de un tratamiento con solventes, un proceso de molienda para aumentar el grado de extracción.

## b) Lisis

La lisis puede ser definida como la destrucción del complejo membrana-pared celular, tal que el contenido de éstas sea liberado.

La lisis puede ser dividida en tres tipos de acuerdo a los agentes causantes de ella:

### 1) Física:

Entre ésta tenemos:

#### 1.- Congelamiento y descongelamiento

Se somete a las células a tratamientos de congelamiento y descongelamiento sucesivos, con lo que se logra el rompimiento de la pared celular.

La eficiencia de este método se ve limitada a una liberación de proteína soluble de menos del 10% de la proteína total de la célula, además que ocasiona una pérdida considerable de la actividad enzimática. Esta técnica se ve favorecida por el uso de la congelación lenta, ya que los cristales de hielo así formados, son de gran tamaño, pero es inoperante a gran escala.

#### 2.- Cambios de presión osmótica

Los cambios de presión osmótica han sido utilizados para la extracción de ciertas enzimas hidrolíticas, sobre

todo en bacterias Gram-negativas como E. coli y Salmonella typhimurium. Las células deben ser lavadas para eliminar los residuos del medio de cultivo, para luego ser suspendidas en soluciones de alta tonicidad (sacarosa al 20%) y con agitación suave durante algunos minutos, posteriormente las células se colectan por centrifugación y se dispersan en agua fría (4°C) con adición subsecuente de solución reguladora para la preservación de la actividad enzimática, las células son eliminadas por centrifugación, quedando, en el sobrenadante, las enzimas liberadas. La técnica es poco eficiente, obteniéndose rendimientos que van del 4 al 7% de la proteína capaz de ser liberada (Charm y Matteo, 1971).

#### ii) Química

Los métodos químicos se basan en el uso de agentes que ocasionan la pérdida de la permeabilidad celular. Los principales agentes utilizados son agentes tensoactivos como detergentes aniónicos y catiónicos, algunos antibióticos (novobiocina, cicloserina, etc.) y sales biliares.

#### iii) Enzimática

Los métodos de lisis enzimática pueden ser divididos en dos grupos:



- 1) Acción directa sobre un enlace específico en el complejo de la pared celular.
- 2) Inhibición de un sistema enzimático responsable de la síntesis de la pared celular.

Este método por razones económicas está limitado a una escala relativamente pequeña o a la extracción de alguna enzima o componente celular sumamente lábil para fines bioquímicos.

Los métodos antes descritos son, en general, aplicables a escala de laboratorio y, su utilización a gran escala se ve limitada ya que presentan características tales que su escalamiento es impracticable.

Cuando nos enfrentamos al problema práctico de extraer material celular en grandes cantidades, las alternativas que se pueden plantear son, básicamente, las siguientes:

- 1.- Revisión de equipo y la posibilidad de que éste pueda ser adaptado para el proceso de rompimiento.
- 2.- Diseño de equipo destinado específicamente para este propósito.

Estudios realizados sobre molinos coloidales, molinos de esférulas y homogenizadores de alta presión indican

que la adaptación de máquinas ya existentes es la posibilidad más adecuada.

Las características más importantes al diseñar un nuevo equipo o adaptar alguno ya descrito, para el rompimiento de células son, en términos generales, las siguientes:

- a) Preservación del producto deseado en las mejores condiciones.
- b) Fácil separación del componente requerido del desecho celular.
- c) Corto tiempo de rompimiento.
- d) Alto grado de pureza y estabilidad del componente celular deseado.
- e) Alta eficiencia y bajo costo de operación.
- f) Susceptible de ser operado de manera continua.

Sin embargo, es difícil que un aparato reúna todas estas características pero, existen algunas máquinas que son una buena aproximación, como los homogenizadores de alta presión y el Dyno-mill. Ninguno de los dos ha sido diseñado para el rompimiento celular, pero han podido ser adaptados para su utilización en este proceso.

El homogenizador de alta presión, ha sido descrito por Hetherington et al (1971) y los resultados obtenidos muestran que su utilización es factible y que puede ser usado con ventajas sobre otros aparatos. Sin embargo, presenta algunas desventajas como el desgaste tan fuerte que sufre la válvula de paso de la suspensión. Esta válvula está construida de carburo de tungsteno y está en contacto con partículas sólidas (las células) que son las que ocasionan el desgaste, ya que no fué diseñada para este tipo de uso.

Por otro lado, los homogenizadores de alta presión tienen tendencia a bloquearse con microorganismos filamentosos por lo que no resultan tan eficientes en estos casos; además existe el problema de control de temperatura, debido a las altas presiones de operación.

El Dyno-mill, originalmente diseñado para la homogenización de pinturas, puede ser utilizado en el proceso de rompimiento (Currie et al, 1972 y Limón et al, 1979) con algunas ventajas sobre el homogenizador de alta presión. La operación de este aparato requiere de esférulas de vidrio que pueden ocasionar la presencia de partículas de vidrio en el producto final, por esta razón, que ade-

más restringe la aplicación del producto para consumo humano, se pensó en la utilización de esferulas de otro material y su evaluación, respecto a las de vidrio. En el proceso de rompimiento en el Dyno-mill es necesario realizar los estudios cinéticos correspondientes a la operación del molino con esferulas diferentes a las de vidrio y obtener información para la posterior utilización de este molino en la obtención de extractos celulares de aplicación para el consumo humano.

### 3. CARACTERIZACION DE SISTEMAS ABIERTOS DE REACCION POR MEDIO DE PATRONES DE FLUJO.

La caracterización de un reactor en lo que concierne a su comportamiento de flujo y mezclado, puede hacerse convenientemente por alguna de varias técnicas existentes (Levenspiel, 1972) basadas, todas ellas, en la introducción de un trazador al sistema, el cual pueda ser medido adecuadamente a la salida de este.

La distribución de los tiempos de residencia de los elementos de fluido en un sistema será una característica propia de éste que dependerá únicamente de sus propiedades de flujo y mezclado.

Los experimentos que conducen a este tipo de caracterización de un reactor se conocen como experimentos de estímulo-respuesta y pueden llevarse a cabo de varias formas alternativas (por inyección de trazadores en pulsos aleatorios o periódicos, por inyección de un pulso continuo o por inyección de un único pulso instantáneo, dando todos ellos resultados similares.

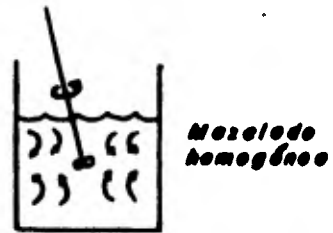
Las características que debe reunir cualquier mate-

rial para poder ser utilizado como trazador son, fundamentalmente: (1) que dicho material no reaccione con el reactor. (2) que no altere las características del sistema y (3) que pueda ser detectado en bajas concentraciones.

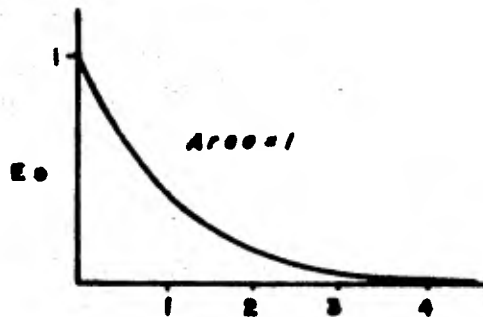
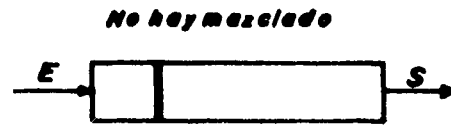
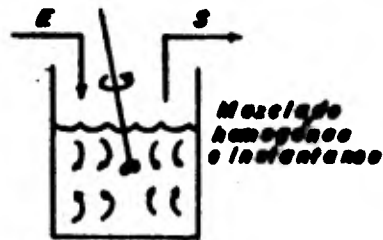
Como ejemplos de trazadores podemos citar, los colorantes, elementos radioactivos, agua caliente, agua pesada, etc, la elección de la técnica así como del trazador dependerá del sistema que se trate.

Los sistemas de reacción, cualquiera que sea su diseño, geometría y tamaño, pueden ser clasificados en dos grandes grupos, sistemas de operación en lote y sistemas continuos. Los primeros son sistemas que no operan en condiciones de equilibrio; todos los elementos de reacción son agregados al tanque permitiendo que reaccionen durante cierto período después del cual son descargados del sistema. Son sistemas donde la composición del tanque es homogénea y sólo varía como una función del tiempo (Fig. 2 a). Dentro de los sistemas continuos existen dos tipos principales de reactores: reactores continuos agitados (RAC) y reactores tubulares (RTC).

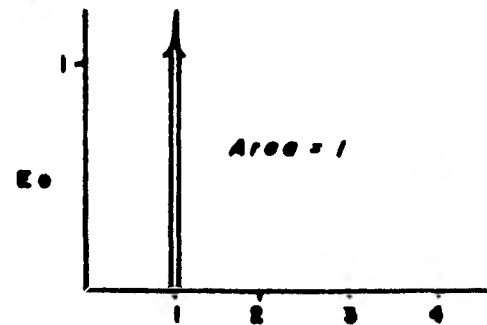
Figura 2. Tipos de reactores, (a) reactor en lote, (b) reactor continuo bien agitado (RCBA) y (c) reactor tubular continuo (RTC).



(a)



(b)



(c)

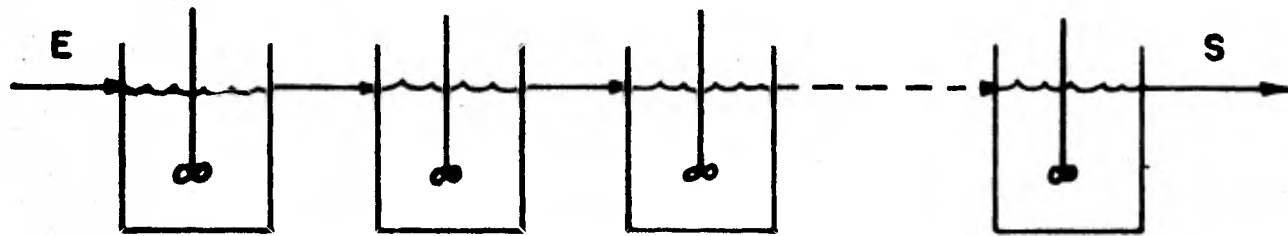
Todos los sistemas continuos operan en condiciones de régimen permanente (suponiendo un comportamiento ideal) por lo que la composición del sistema de reacción no será una función del tiempo sino del tiempo de residencia. Los reactores agitados continuos ideales, es decir, aquellos en donde el tiempo de mezclado es instantáneo, son sistemas perfectamente homogéneos, por lo que la composición del medio en cualquier punto del tanque es la misma. Los elementos de fluido tienen una distribución de tiempos de residencia de tipo exponencial (Fig. 2 b). En este sistema, una fracción de los elementos de fluido puede salir rápidamente del sistema mientras que otra permanece dentro por tiempos mayores, antes de poder abandonarlo. Esto quiere decir que la corriente de salida es una mezcla de elementos de fluido que han permanecido dentro del reactor por espacios diferentes de tiempo.

Por otro lado, en los reactores tubulares ideales (no existe mezclado y hay flujo en forma de pistón) la composición varía según la distancia que la mezcla de reacción haya recorrido dentro del reactor. Una característica importante de este sistema es que todos los elementos de fluido tienen el mismo tiempo de residencia (Fig. 2 c).

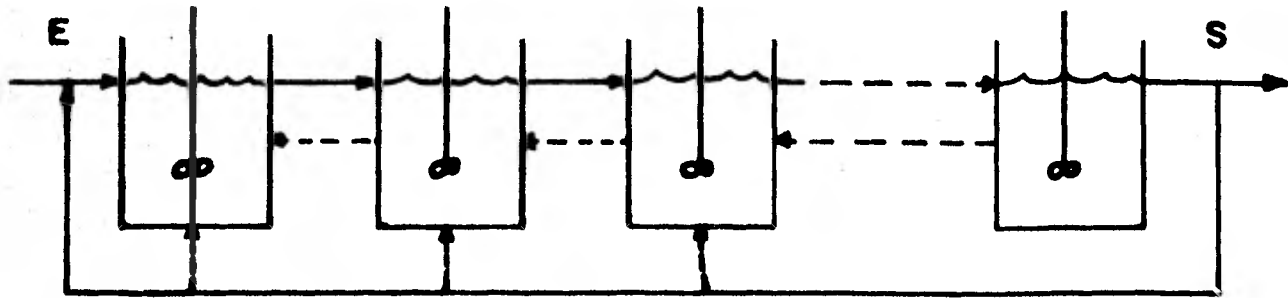


Existen, sin embargo, otros sistemas intermedios que es conveniente mencionar ya que muchos sistemas reales presentan patrones de flujo que pueden caracterizarse como sistemas de este tipo y que se encuentran entre los dos sistemas ideales ya mencionados. Estos son: el sistema de RAC en serie (Fig. 3 a ) que es un sistema de reactores interconectados donde la composición de cada tanque es homogénea pero no lo es de un tanque a otro. El sistema de RAC en serie puede aproximarse a un reactor tubular cuanto mayor sea el número de tanques. Si el número de tanques es infinito se tiene un reactor tubular. El otro es el sistema de RAC en serie con mezcla longitudinal (Fig. 3 b) cuando este mezclado, representado por el número de dispersión ( $Dn$ ), tiende a infinito se tiene el comportamiento de un reactor continuo bien agitado y, si por el contrario,  $Dn$  tiende a cero se tendrá un reactor tubular.

Cualquiera de los sistemas mencionados puede ser adecuadamente caracterizado por alguna de las técnicas de estímulo-respuesta descritas y las curvas típicas obtenidas para cada caso se muestran en la Fig. 4.



(a)



(b)

Figura 3. Sistemas intermedios de reacción, (a) reactores continuos bien agitados en serie (RCBA) y (b) reactores continuos bien agitados en serie con mezclado longitudinal.

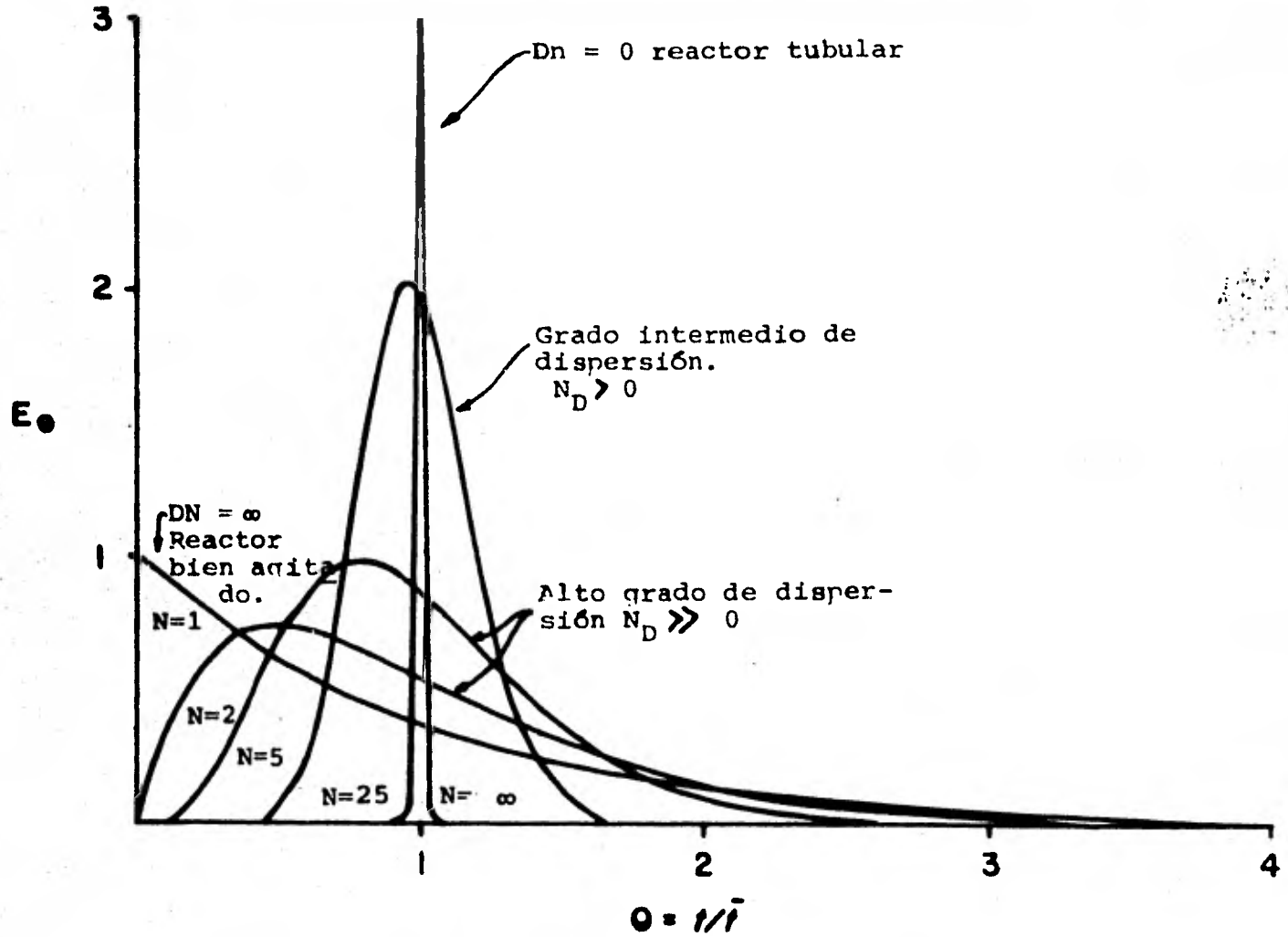


Figura 4. Representación gráfica de la respuesta a trazadores de diferentes sistemas de reacción.

Suponiendo que en un reactor cualquiera se inyecta un pulso continuo de colorante a  $t=0$  y que se mantiene la alimentación de éste por un tiempo mayor de cero a una concentración  $C^*$ , se obtendrá una respuesta típica dada por la concentración del trazador,  $C(t)$ , en el efluente. Dividiendo la concentración del trazador en el efluente  $C(t)$ , entre la concentración del trazador alimentado  $C^*$ , se obtiene la llamada función  $F$ , definida como:

$$F(t) = \frac{C(t)}{C} = \text{Respuesta a la entrada del trazador.}$$

Sin embargo, lo que en la mayoría de los casos se requiere no es la función  $F$  sino la función de distribución de tiempos de residencia  $E(t)$ , la cual se define como:

$$E(t) = \text{Fracción de fluido en efluente que permanecido en el reactor por un tiempo entre } t \text{ y } t+dt.$$

La fracción en el efluente que ha permanecido por tiempos menores que  $t$  está dada por:

$$\int_0^t E(t) dt \quad (2)$$

La relación entre F y E puede ser comprendida si se piensa en un reactor dentro del cual existen dos diferentes fluidos, A y B. El fluido A tiene una concentración  $C^*$  de trazador, mientras que el fluido B no lo contiene. En consecuencia, todos los elementos del fluido A han entrado al reactor en tiempos mayores a cero. Entonces cualquier elemento del fluido A en el efluente a tiempo  $t$  ha estado en el sistema por un tiempo menor a  $t$ .

Por otro lado, el fluido B ha estado en el reactor a  $t = 0$  ya que sólo el fluido A ha entrado desde entonces, por lo tanto, todos los elementos del fluido B en el efluente a tiempo  $t$  han tenido tiempos de residencia mayores a  $t$ . Suponiendo que se conoce la función E, se puede escribir la concentración del trazador a la salida  $C(t)$ , como la suma de las contribuciones de los fluidos A y B:

$$C(t) = C^* \cdot \int_0^t E(t) dt + 0 \cdot \int_t^{\infty} E(t) dt \quad (3)$$

Concen- tración de A	Fracción de A	Concen- tración de B	Fracción de B
----------------------------	------------------	----------------------------	------------------

Combinando las ecuaciones (1) y (3) se tiene la relación deseada:

$$F(t) = \int_0^t E(t) dt \quad (4)$$

y diferenciando con respecto a  $t$  puede encontrarse una forma alternativa:

$$\frac{dF(t)}{dt} = E(t) \quad (5)$$

En la ecuación (5),  $E(t)$  puede ser obtenida por diferenciación de la curva  $F$  determinada experimentalmente. La teoría de sistemas lineales establece que la derivada con respecto al tiempo de una respuesta de un pulso constante es una respuesta de pulso único lo que revela que  $E(t)$  puede ser interpretada como la respuesta a un pul-

so de trazador dado a  $t = 0$ . Aunque un pulso es una idealización matemática, puede aproximarse experimentalmente introduciendo una cantidad dada de trazador en el reactor mediante un pulso corto de alta concentración.

Generalmente, es recomendable caracterizar una distribución por pocos valores numéricos que sean representativos de ésta; de éstos los de mayor importancia son: la media de la distribución y su varianza.

Cuando el trazador se inyecta en un pulso único de alta concentración,  $E(t) = C(t) dt$ . Para una curva de  $C$  vs.  $t$ , la media está dada por:

$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} t C dt}{\int_0^{\infty} C dt} \quad (7)$$

si la distribución es conocida para un número discreto de valores,  $t_i$ , entonces :

$$\bar{t} = \frac{\sum t_i C_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i} \quad (8)$$

y la varianza está definida por:

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 C dt}{\int_0^{\infty} C dt} = \frac{\int_0^{\infty} t^2 C dt}{\int_0^{\infty} C dt} - \bar{t}^2 \quad (9)$$

y para el caso discreto:

$$\sigma^2 \approx \frac{\sum t_i^2 C_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i} - \bar{t}^2 \quad (10)$$

la varianza representa el cuadrado de la amplitud de la distribución y es muy utilizada para comparar curvas experimentales a familias de curvas teóricas.

La varianza está relacionada al número de dispersión ( $D_n$ ) por la ecuación:

$$\sigma_0^2 = \frac{\sigma^2}{\bar{t}^2} = 2 D_n - 2 D_n^2 (1 - e^{-1/D_n}) \quad (11)$$

En esta ecuación se ha introducido la varianza adimensional ( $\sigma_0^2$ ) que resulta del cociente de la varianza de la curva y el tiempo de residencia al cuadrado ( $\bar{t}^2$ ) obtenidos de las ecuaciones (8) y (10) respectivamente.



El número de dispersión ( $D_n$ ) sirve para caracterizar el grado de retromezclado de un fluido dentro de un reactor:

$D_n = 0$  REACTOR TUBULAR IDEAL (Dispersión despreciable)

$D_n = \infty$  REACTOR AGITADO IDEAL (Gran Dispersión)

para un sistema de tanques en serie puede escribirse:

$$E\theta = \frac{N (N\theta)^{N-1}}{(N-1)!} e^{-N\theta} \times$$

donde:

$N$  = Número de tanques en el sistema

$\theta$  = Tiempo de residencia adimensional ( $t/\bar{t}$ )

$E\theta$  = Función de distribución de los tiempos de residencia.

si  $N=1$  la ecuación (12) se transforma en:

$$E\theta = e^{-\theta} \quad (13)$$

ecuación que describe el comportamiento de un tanque bien mezclado continuo. Si ahora,  $N = \infty$  entonces:

$$E\theta = \infty \quad y \quad \theta = 1$$

ya que el trazador tardará un tiempo (el de residencia) en salir del sistema.

Para una cinética de primer orden, la liberación de proteína es directamente proporcional a la cantidad de proteína no liberada ( $P$ , Kg de proteína/Kg levadura).

$$-\frac{dP}{dt} \propto P$$

rearrreglando:

$$-\frac{dP}{P} = kdt$$

y de manera integrada

$$\ln \frac{P_0}{P} = kt \quad (14)$$

Si  $P_0 = R_m$  y  $P = R_m - R$

entonces:

$$\ln \frac{R_m}{R_m - R} = kt \quad (15)$$

$$\ln \frac{R_m}{R_m - R} = \ln D = kt$$

donde:

$R_m$  = Proteína máxima capaz de ser liberada  
(Kg proteína/Kg Levadura seca)

$R$  = Proteína liberada en un momento determinado  
(Kg proteína/Kg Levadura seca)

$k$  = Constante de velocidad de primer orden en  
(s<sup>-1</sup>)

$t$  = tiempo (s)

$D$  = Recíproco de la fracción de proteína no liberada.

Se ha encontrado que la cinética de rompimiento en el DYNO-MILL es de primer orden (Limón, J.L. et al, 1979) con esférulas de vidrio tanto en lote como de manera continua, la cinética de liberación de proteína en forma continua puede ser convenientemente seguida por un rearrreglo de la ecuación (15):

$$\ln \frac{R_m}{R_m - R} = k \frac{1}{Q} \quad (16)$$

donde:

$$K = k v$$

$k$  = Constante de velocidad de primer orden ( $s^{-1}$ ).

$Q$  = Velocidad de flujo de la suspensión ( $m^3 h^{-1}$ ).

$v$  = Volúmen de la suspensión en la cámara ( $m^3$ )

En la ecuación (16) se ha sustituido el tiempo ( $t$ ) por el tiempo de residencia ( $t$ ), y como  $t = v/Q$  (volúmen de la suspensión/velocidad de flujo); la constante de velocidad ( $k$ ) es ahora sustituida por ( $K$ ).

### III. MATERIAL Y METODOS.

#### 1. Descripción del equipo.

El Dyno-mill (Willy A. Bachofen Maschinen-Fabrik CH 4000 Basel, Utengasse 15-17) es un molino horizontal de esférulas, de velocidad variable y disponible en diferentes capacidades. Algunos detalles del modelo KDL, empleado en este trabajo, se presentan en la Tabla II.

TABLA II

---

DATOS DEL DYNO-MILL TIPO KDL

---

Capacidad de la cámara de desintegración	600 ml
Carga de esférulas	500 ml
Volumen máximo de suspensión	360 ml
Diámetro de los discos	64 mm
Rango de velocidad de agitación	2000-6000 rpm
Rango de velocidad lineal*	6.7-20 ms <sup>-1</sup>

---

\*Velocidad obtenida por conversión de la velocidad angular a velocidad tangencial o lineal.

Está provisto de una microrranura cuyo espesor es variable dependiendo del diámetro de las esférulas, diseñado de tal forma que permite la salida de la suspensión procesada e impide la pérdida de las esférulas durante la operación continua, además de impedir los taponamiento como los que se presentan en los homogenizadores de alta presión.

El desintegrador consiste de cuatro discos o impulsores (de acero inoxidable o poliuretano) que se ilustran en la Fig. 5, montados sobre un eje horizontal dentro de un cilindro enchaquetado.

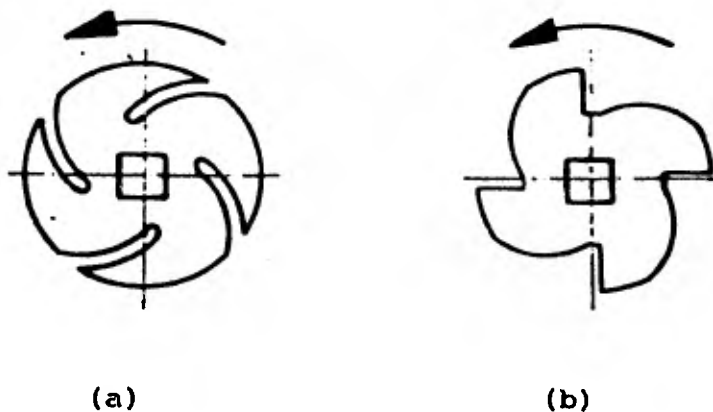


FIGURA 5.- Impulsores del Dyno-Mill tipo KDL de acero inoxidable (a) y de poliuretano (b).

En la Fig. 6 se muestra una vista general del aparato Dyno-mill tipo KDL y en la Fig. 7 un diagrama simplificado de la cámara de desintegración.

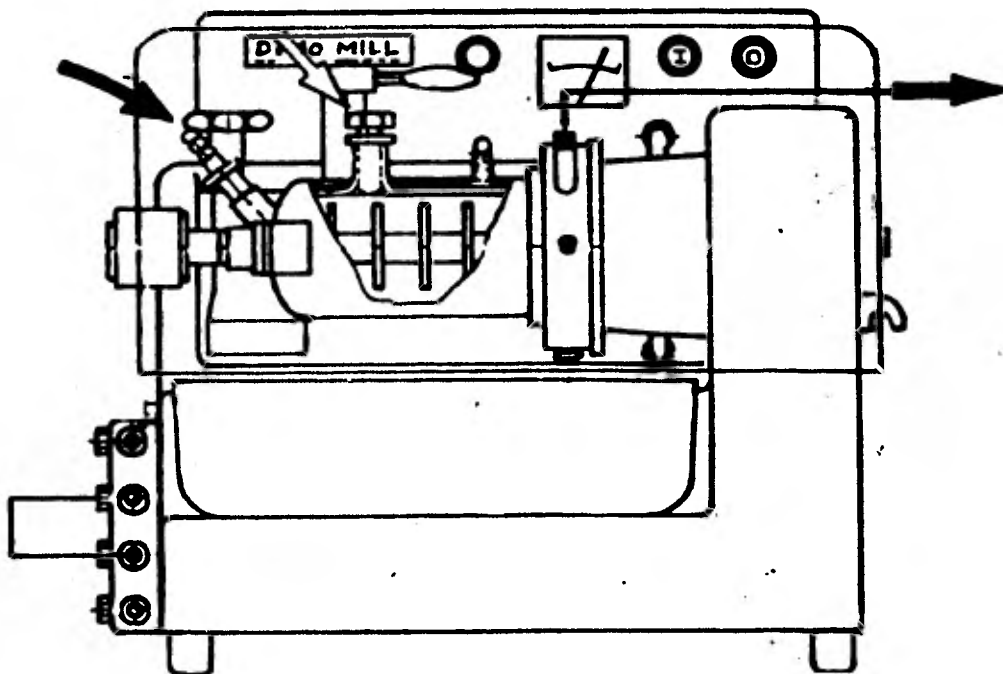


Figura 6. Vista general del Dyno-mill tipo KDL de 0.6 litros.

Las esférulas, cuyo diámetro oscila entre 0.4 y 2.0 mm, pueden ser de vidrio, acero inoxidable o plástico, siendo las de este último material las empleadas en el

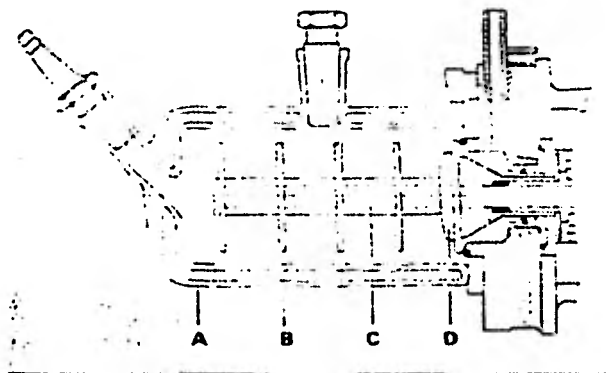


Figura 7. Diagrama de la cámara de desintegración donde se muestra: (A) La entrada de la suspensión celular, (B) Los impulsores, (C) El eje de agitación y (D) El separador para graduar el espesor de la microranura de salida de la suspensión tratada.

presente trabajo y cuyas características serán descritas más adelante.

Como microorganismo de prueba se utilizó levadura



de panificación (Saccharomyces cerevisiae). La elección de este microorganismo fué hecha en base a las siguientes características:

- Amplia disponibilidad comercial
- Relativo bajo costo
- Fácil obtención
- Por presentar una calidad consistente, y
- Por su dificultad de rompimiento

La levadura fué obtenida de la fábrica de levadura Leviatan y Flor, México, D.F.

La levadura fué almacenada, antes de su uso en el proceso de rompimiento, en un cuarto de temperatura a +4°C o bajo congelación. Se evaluó así el efecto de las condiciones de almacenamiento del microorganismo, en comparación a la levadura fresca, sometiendo varios lotes a: almacenamiento a + 4°C durante 7 y 14 días y, almacenamiento bajo congelación durante los mismos períodos. Posteriormente, se tomaron muestras de los diferentes lotes, se suspendieron en agua destilada (0.45 g de levadura/ml), se centrifugaron a 30,000 x g durante 30 min. y se midió la concentración de proteína en el sobrenadante acuoso. No se observó ningún efecto de las condiciones de almacenamiento sobre las células durante los períodos medidos.

## 2. PROCEDIMIENTOS ANALITICOS

Experimentos de rompimiento en lote.

Para cada lote de desintegración se prepararon 500 ml de suspensión de levadura al 45% (P/V) en solución reguladora de NaCl-150mM-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4mM y se llevó a una temperatura de 0-5°C. Un volumen de 360 ml fué cargado a la cámara de desintegración, agitando los impulsores del aparato para garantizar una distribución homogénea de la suspensión. Se tomaron muestras a diferentes tiempos y se midió la proteína liberada al sobrenadante.

Las muestras tomadas, aproximadamente 10 por lote, fueron centrifugadas a 30,000 x g, en una centrifuga Sorval RC-5 Super Speed Refrigerated Centrifuge, Dupont Instruments, U.S.A., durante 30 min. a + 4°C, el sobrenadante claro, diluido 1,100, se sometió a la determinación de proteína por el método de Lowry et al (1951), usando albúmina sérica bovina como patrón de referencia.

Durante el período de rompimiento, una mezcla de alcohol etílico-agua al 50% (v/v) fué bombeada por medio de un circulador de baja temperatura Modelo KT 33 (Gebruder Haake, Germany), a la chaqueta del aparato, a una temperatura de  $-15^{\circ}\text{C}$ , para controlar la temperatura de la cámara, ya que durante la operación la temperatura aumenta.

Experimentos de rompimiento en forma continua.

Para cada uno de los experimentos continuos, fueron preparados 20 l de suspensión en las mismas condiciones que para los experimentos en lote. La suspensión, enfriada de  $0-5^{\circ}\text{C}$ , se bombeó al aparato por medio de una bomba peristáltica ULTRAMASTERFLEX (Cole Parmer Instruments Co., Chicago, Ill.) en un intervalo de velocidad de flujo de  $3.6 - 30 \text{ l h}^{-1}$  ( $0.36 \times 10^{-2} - 3.0 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ).

Las muestras fueron tomadas del efluente, a la salida del aparato, a diferentes intervalos, y se procesaron de la misma manera que las muestras obtenidas de los experimentos en lote.

Las esférulas utilizadas en el presente trabajo fueron proporcionadas por BASF MEXICANA, S.A. y son de un material plástico denominado STYROPOR.

Estas esferulas fueron utilizadas ya que, las esferulas de vidrio, son inaceptables en el procesamiento de productos relacionados con alimentos de consumo humano. En todos los casos se utilizaron esferulas de 0.4-0.7 mm de diámetro, salvo cuando se mencionen otras dimensiones.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

##### 1. EXPERIMENTOS DE ROMPIMIENTO EN LOTE.

Los resultados obtenidos muestran que el proceso de rompimiento puede ser ajustado a una cinética de primer orden que se describe convenientemente por la ecuación (15). Los resultados se muestran en la Fig. 8a, donde, graficando  $\ln D$  vs  $t$  se obtiene una línea recta dependiente  $k$  para las cuatro velocidades de operación (6.7, 10, 15 y 20  $\text{ms}^{-1}$ ) lo que demuestra que el proceso de rompimiento con esférulas de STYROPOR es un proceso de primer orden como en el caso de las esférulas de vidrio, aunque el fenómeno es menos claro a altas velocidades de impulsor (15 y 20  $\text{ms}^{-1}$ ) ver Fig. 8 b.

Los valores de  $R_m$  obtenidos fueron de 0.08909 Kg de proteína/Kg de levadura (valores de  $R_m$  de 0.096 y de 0.09-0.12 Kg de proteína/Kg levadura han sido reportados por Hetherington et al, 1971 y Limón Lason et al 1979).

Las constantes de velocidad ( $k$ ) para las distintas velocidades así como los incrementos de temperatura obtenidos se muestran en la Tabla IV.

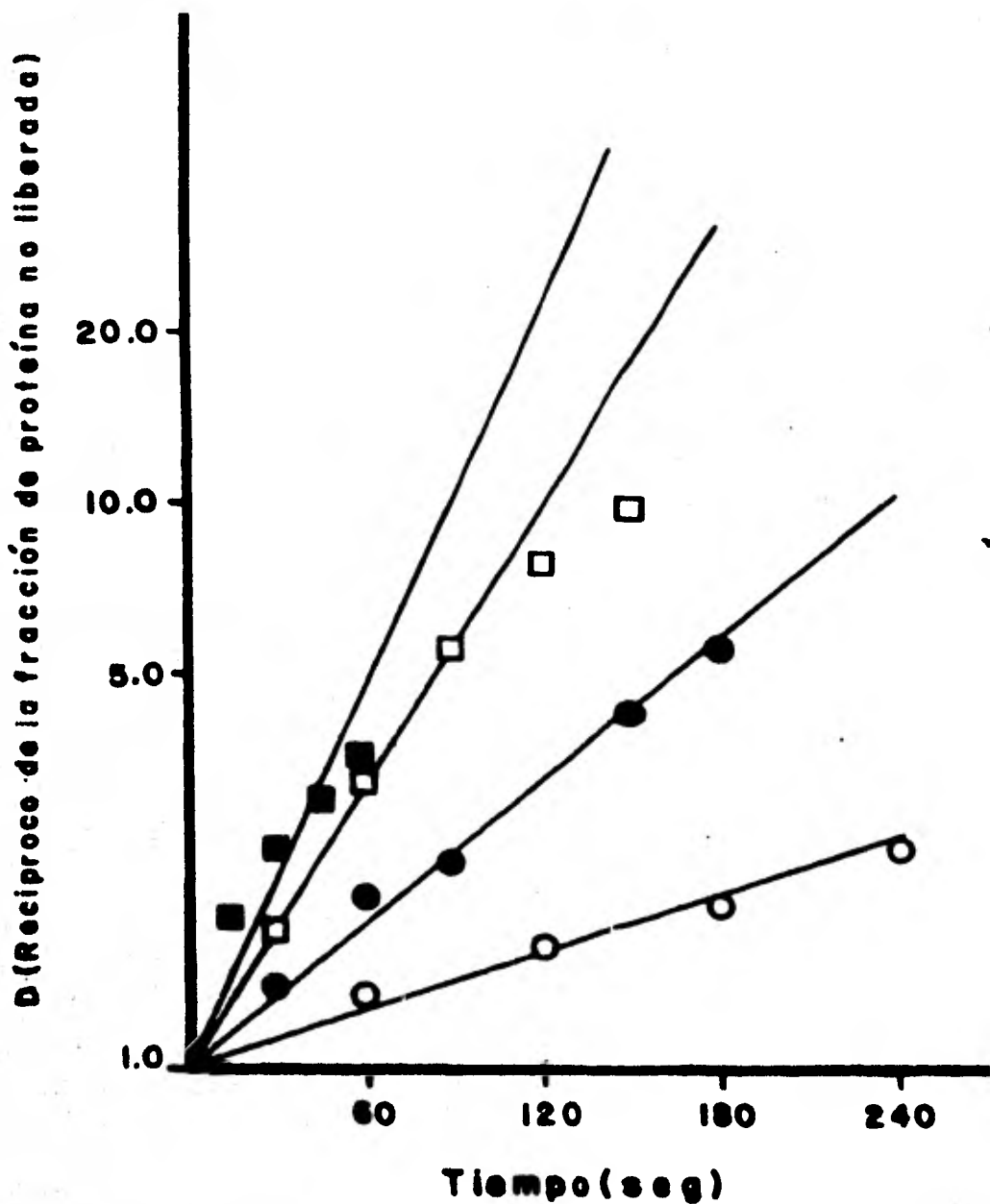


Figura 8 (a). Rompimiento de levadura en lote en el DYNOMILL con esférulas de STYROPOR (0.4-0.7 mm de diámetro). ( $\circ$ ) 6.7 m sec<sup>-1</sup>, ( $\bullet$ ) 10.0 m sec<sup>-1</sup>, ( $\square$ ) 15 m sec<sup>-1</sup>, y ( $\blacksquare$ ) 20 m sec<sup>-1</sup>.

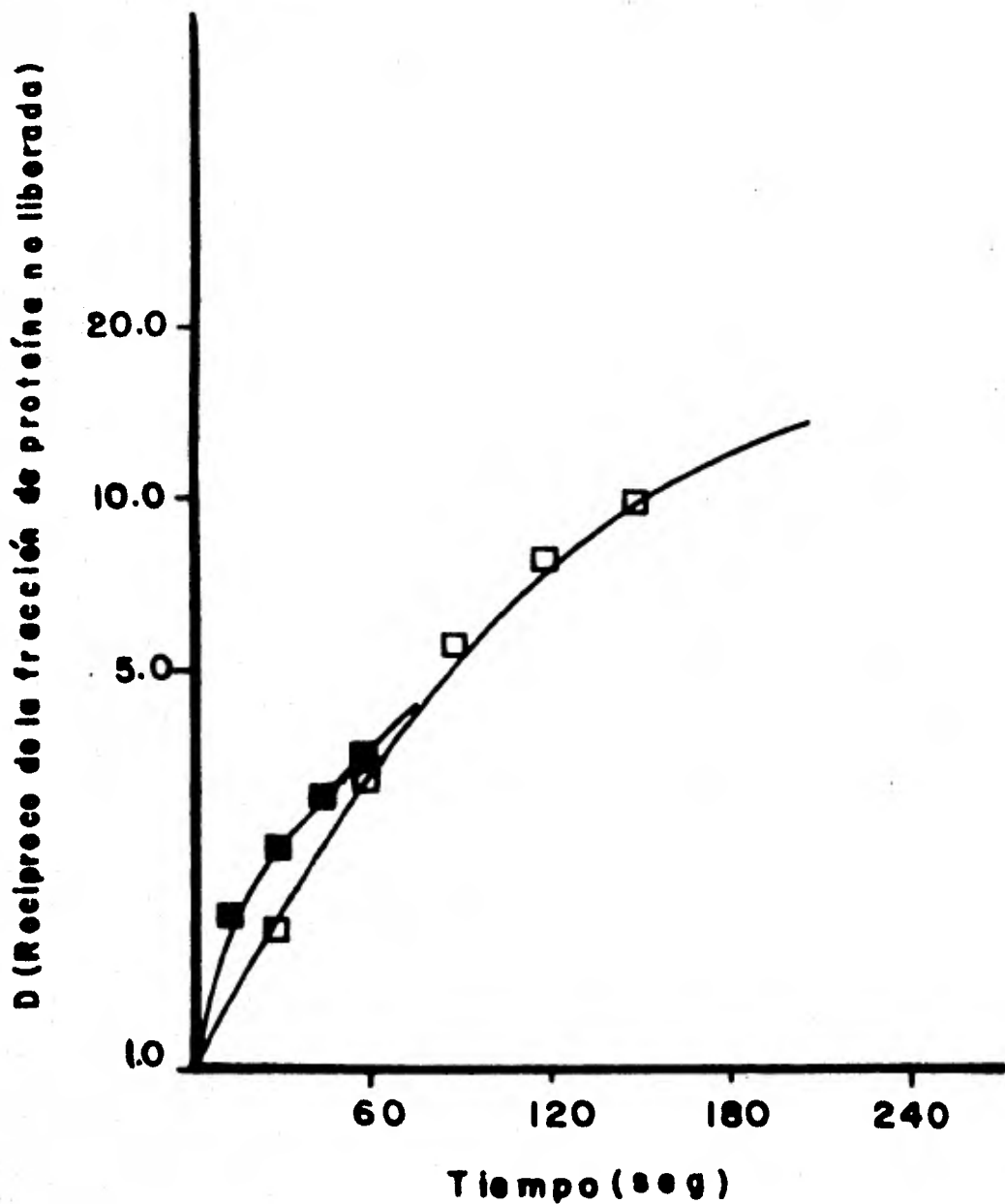


Figura 8 (b). Rompimiento de levadura en lote se observa una desviación de la cinética de primer orden. (□) 15 m seg<sup>-1</sup>, y (■) 20.0 m seg<sup>-1</sup>.

TABLA IV

CONSTANTES DE VELOCIDAD E INCREMENTOS DE TEMPERATURA  
PARA EL DYNO-MILL TIPO KDL\* 0.6 l.

VELOCIDAD DE IMPULSORES $m s^{-1}$	$k (s^{-1})$	$T (^{\circ}C min^{-1})$
6.7	$0.003838 \pm 0.0001$ (a)	0.2
10.0	$0.009721 \pm 0.00043$ (a)	2.3
15.0	$0.019120 \pm 0.00014$ (a)	5.4
20.0	$0.026230 \pm 0.00042$ (a)	20.5

\* La temperatura del medio de enfriamiento fué mantenida a  $-15^{\circ}C$ .

(a), Error estandar calculado de cinco experimentos para cada velocidad de impulsor.



## 2.. EFECTO DEL DIAMETRO DE LAS ESFERULAS SOBRE EL GRADO DE ROMPIMIENTO.

Dado que con esférulas de plástico (STYROPOR), las constantes cinéticas resultan inferiores a aquéllas obtenidas con esférulas de vidrio, en las mismas condiciones, Fig. 9, se hizo un intento por mejorar el proceso variando el diámetro de éstas. Los resultados se muestran en las Figuras 10 y 11. Sin embargo, sólo en un caso se observa el incremento en la constante de velocidad, que, si bien, resulta de cerca de un 25%, no es consistente y carece de significado práctico ya que es limitante para otras velocidades de impulsor e implica discontinuidad en la operación si se desea operar a otras velocidades.

## 3. EXPERIMENTOS DE ROMPIMIENTO EN FORMA CONTINUA.

Los experimentos continuos fueron realizados como se describe en la selección de métodos y los resultados se encuentran en la fig. 12. Como se esperaba, el proceso puede ajustarse a una cinética de primer orden descrita por la ecuación (16). En todos los casos (6.7, 10 y 15 ms<sup>-1</sup>) se puede observar que a bajas velocidades de flujo (grandes tiempos de residencia) los valores obtenidos parecen alcanzar un valor constante. Las constantes de velocidad de rompimiento se evaluaron utilizando una ecuación descrita por

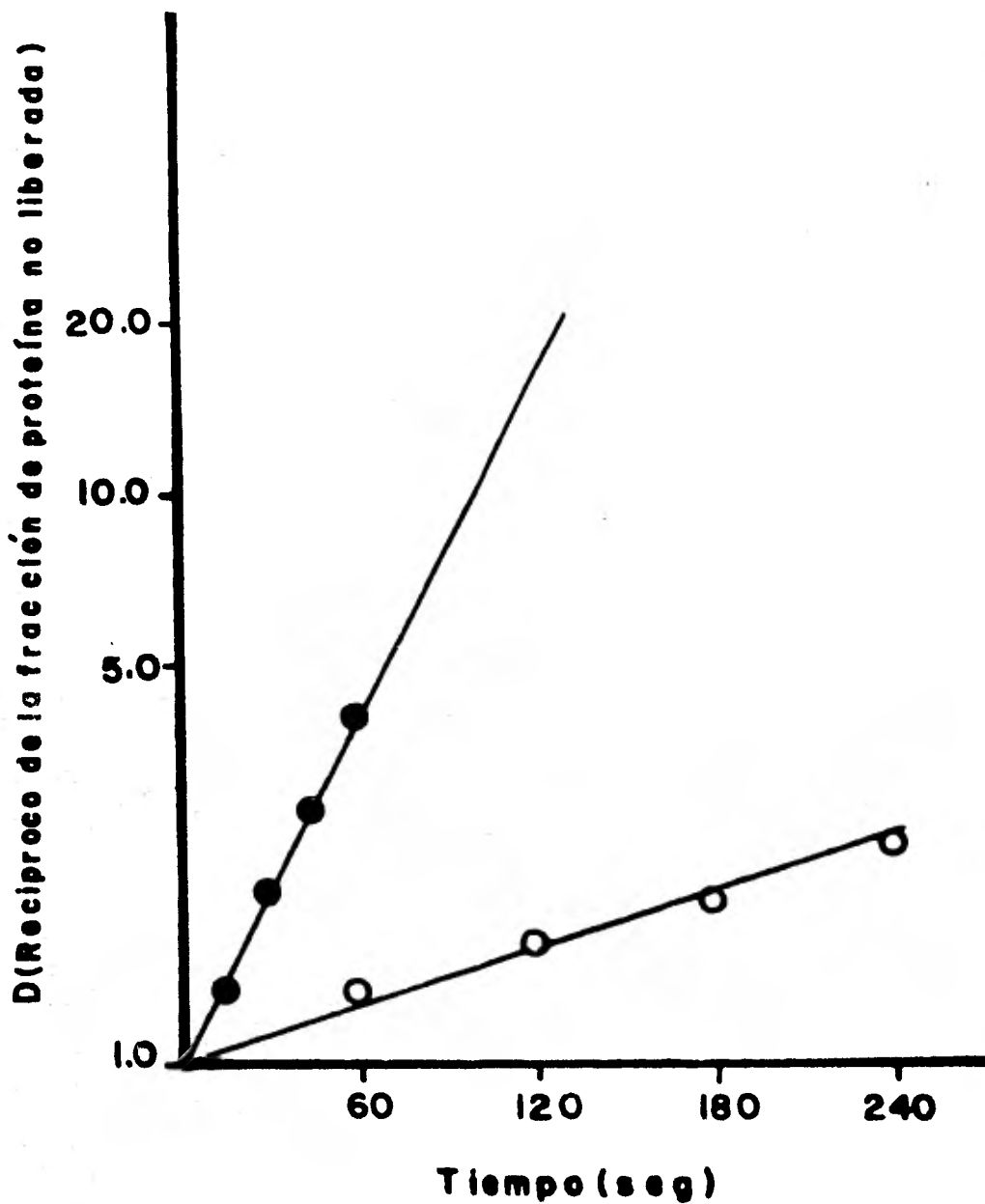


Figura 9. Comparación de las constantes cinéticas del rompimiento de levadura en lote con esferulas de 0.4-0.7 mm de diámetro; (●) esferulas de STYROPOR ( $k=0.003838 \text{ seg}^{-1}$ ) y (○) esferulas de vidrio ( $k=0.0223 \text{ seg}^{-1}$ ). En ambos casos la velocidad de impulsores es de  $6.7 \text{ m seg}^{-1}$ .

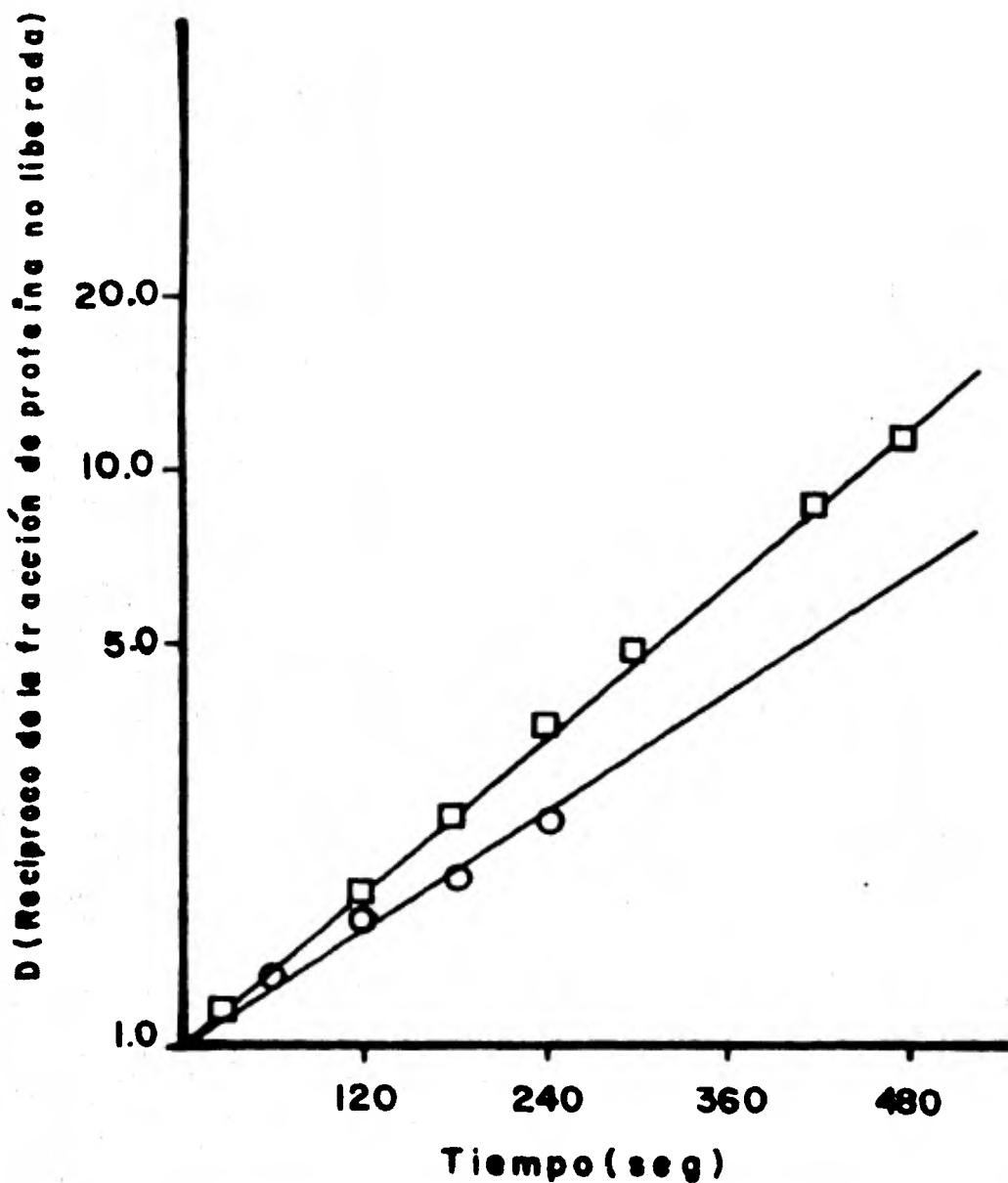


Figura 10. Efecto del diámetro de las esferulas sobre las constantes de velocidad de rompimiento. ( ● ) esferulas de 0.4-0.7 mm de diámetro ( $k=0.003838 \text{ seg}^{-1}$ ) y ( ■ ) esferulas de 1.0-1.5 mm de diámetro ( $k=0.005119 \text{ seg}^{-1}$ ). En ambos casos se usaron esferulas de STYROPOR y  $6.7 \text{ mseg}^{-1}$  como velocidad de operación.

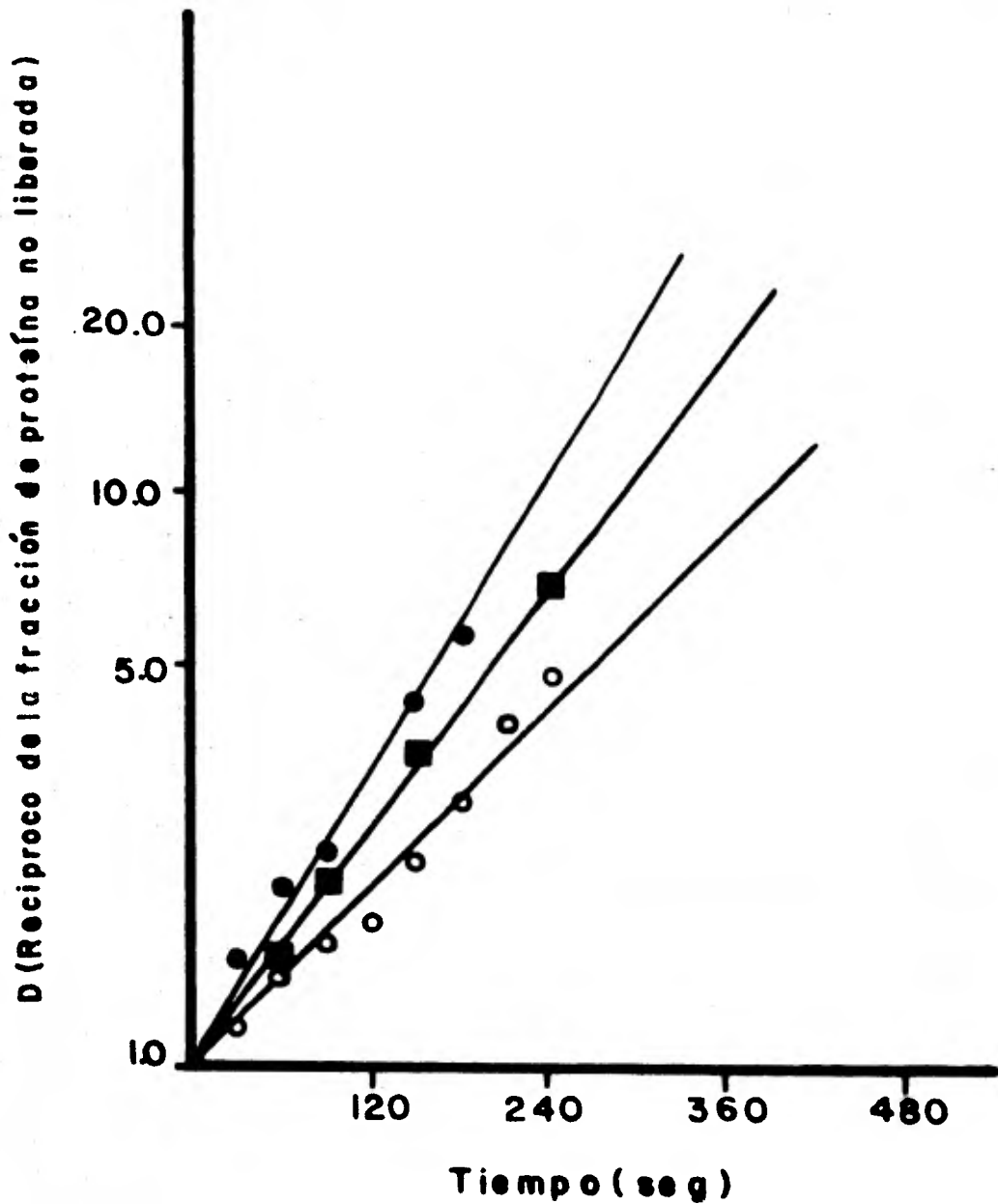


Figura 11. Efecto del diámetro de las esféculas  
 ( ● ) diámetro 1.0-1.5 mm ( $k=0.005973 \text{ seg}^{-1}$ ),  
 ( ■ ) diámetro 1.5-2.0 mm ( $k=0.007993 \text{ seg}^{-1}$ ) y  
 ( ● ) diámetro 0.4-0.7 mm ( $k=0.009721 \text{ seg}^{-1}$ ).  
 En todos los casos la velocidad fué de 10  
 m  $\text{seg}^{-1}$ ).

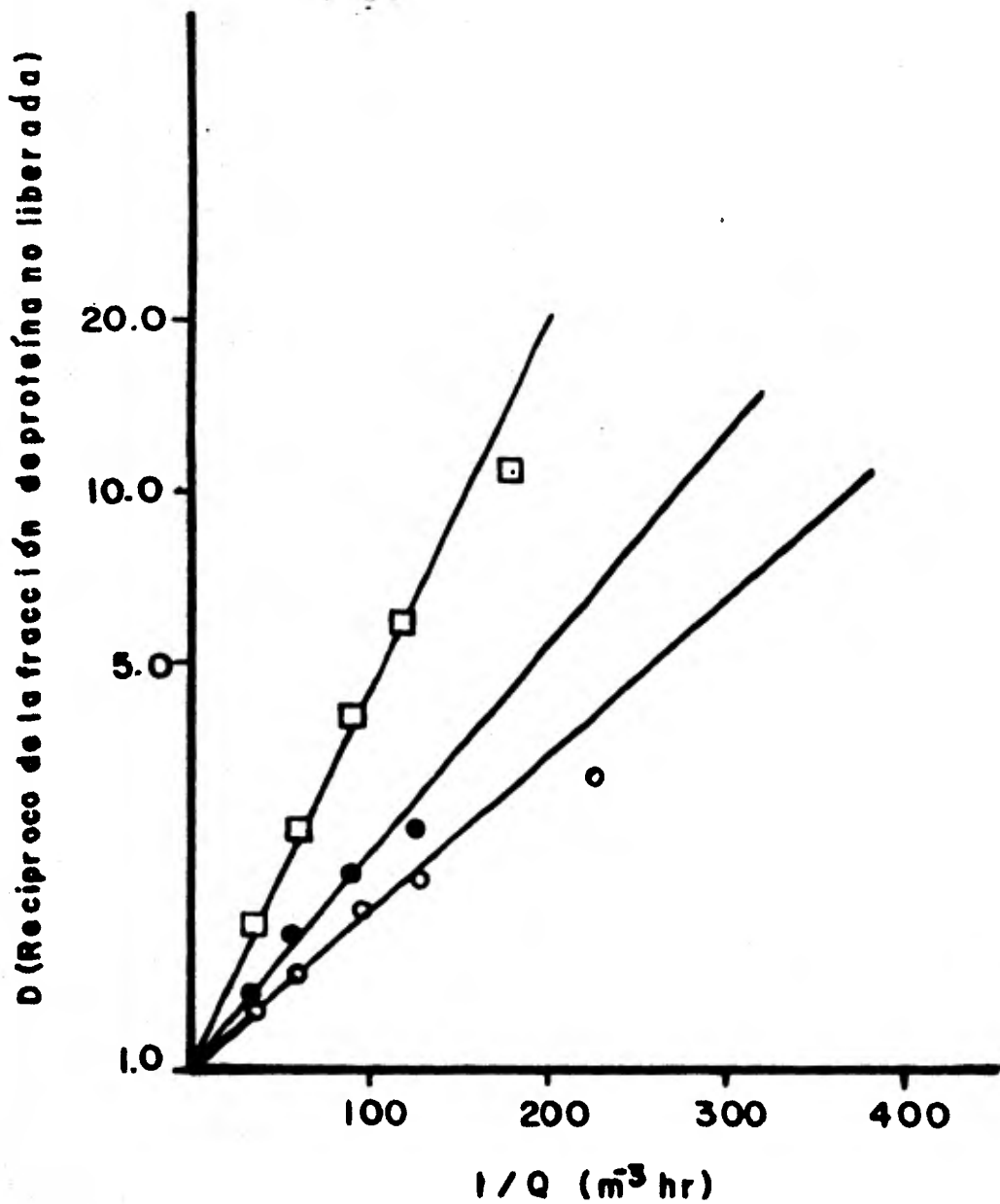


Figura 12. Rompimiento continuo de levadura en el DYNO-MILL con esferulas de STYROPOP de 0.4-0.7 mm de diámetro. ( $\odot$ ) velocidad  $6.7 \text{ m seg}^{-1}$  ( $k=0.0053 \text{ seg}^{-1}$ ), ( $\bullet$ ) velocidad  $10 \text{ m seg}^{-1}$  ( $k=0.0070 \text{ seg}^{-1}$ ) y ( $\square$ )  $15 \text{ m seg}^{-1}$  ( $k=0.01915 \text{ seg}^{-1}$ ).

Gibilaro (1969) mediante la cual es posible evaluar las constantes de velocidad así como el número de tanques continuos agitados en serie, correspondientes al comportamiento del DYNO-MILL en operación continua. La ecuación es:

$$\frac{R_m}{R_m - R} = D = \left(1 + \frac{k \mathcal{T}}{j}\right)^j \quad (17)$$

donde:

D = Recíproco de la fracción de proteína no liberada

k = Constante de velocidad ( $s^{-1}$ )

$\mathcal{T}$  = Tiempo de residencia (s)

j = número de tanques

Tomando logaritmos en ambos lados de la ecuación, nos queda:

$$\log D = j \left( \log \left(1 + \frac{k \mathcal{T}}{j}\right) \right)$$

que es la ecuación de una línea recta dependiente j.

Esta ecuación puede ser resuelta variando simultáneamente los valores de k y j, hasta encontrar el coeficiente de regresión más alto para una pareja dada de

valores. Las constantes así obtenidas son 0.0053, 0.007 y  $0.01915 \text{ s}^{-1}$  para 6.7, 10 y  $15 \text{ ms}^{-1}$  respectivamente, y el número de tanques correspondiente a este comportamiento fué de 1.9 para las tres velocidades (Fig. 13), donde puede observarse que los datos experimentales se ajustan a la curva teórica para 1.9 tanques en serie según la ecuación (17).

Los incrementos de temperatura registrados fueron de  $1.2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  para  $10 \text{ ms}^{-1}$  y  $4.2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  para  $15 \text{ ms}^{-1}$ , a  $6.7 \text{ ms}^{-1}$  no se registró ningún cambio en la temperatura.

#### 4. PATRONES DE FLUJO DEL SISTEMA.

Los experimentos con trazadores fueron realizados con objeto de conocer el tipo de mezclado así como los patrones de flujo en el DYNO-MILL utilizando esferulas de plástico. Los resultados obtenidos se muestran en las Figs. 14, 15 y 16. Las curvas obtenidas se aproximan a la curva teórica para un tanque agitado, en el caso de 6.7 y  $10 \text{ ms}^{-1}$ , y a 2.0 tanques agitados en serie, para  $15 \text{ ms}^{-1}$ . Estos resultados no van de acuerdo a lo obtenido en los experimentos continuos donde se encontró que el sistema podía ser representado por una serie de 1.9 tanques. Esta discrepancia puede ser explicada si se piensa en la dife-

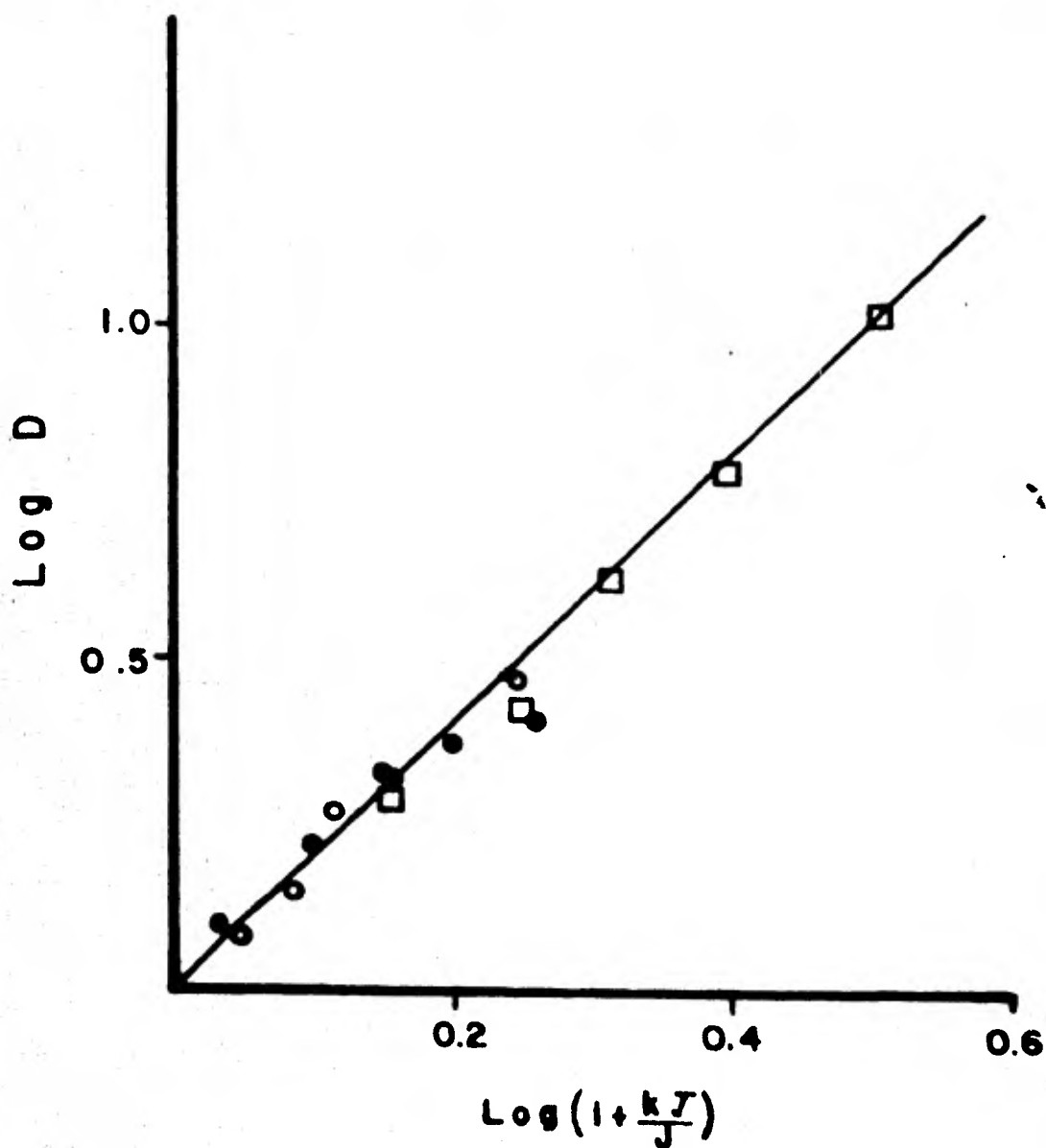


Figura 13. Rompimiento continuo de levadura en el DINO-MILL con esferulas de 0.4-0.7 mm de diámetro. (○) velocidad 6.7 m seq<sup>-1</sup>, (●) velocidad 10 m seq<sup>-1</sup>, (◻) velocidad 15 m seq<sup>-1</sup>, (—) línea teórica para un sistema de 1.9 tanques bien agitados en serie.



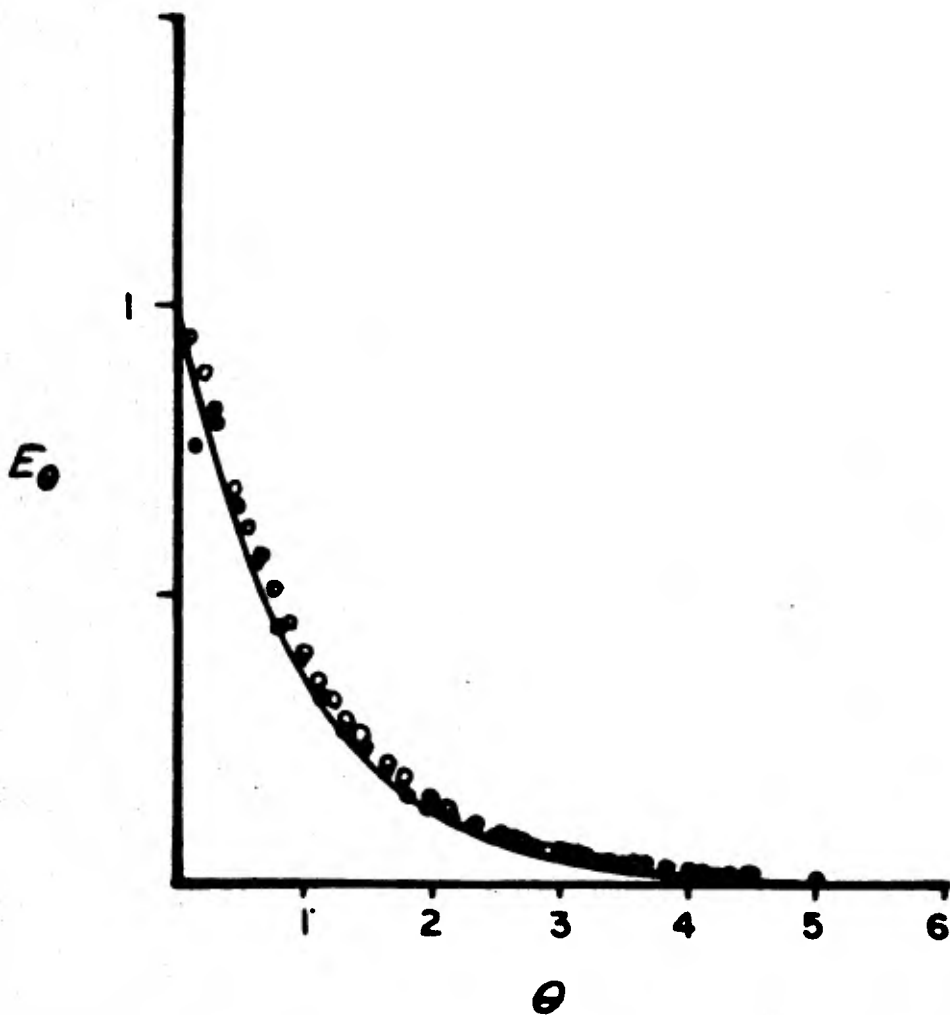


Figura 14. Estudios con trazadores en el DYNO-MILL con esféculas de 0.4-0.7 mm de diámetro. (○) velocidad 10 m seg<sup>-1</sup>, ● = 4.8 x 10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup> hr<sup>-1</sup> y (●) velocidad 6.7 m seg<sup>-1</sup>, ● = 7.2 x 10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup> hr<sup>-1</sup> (---) curva teórica para 1 RAC.

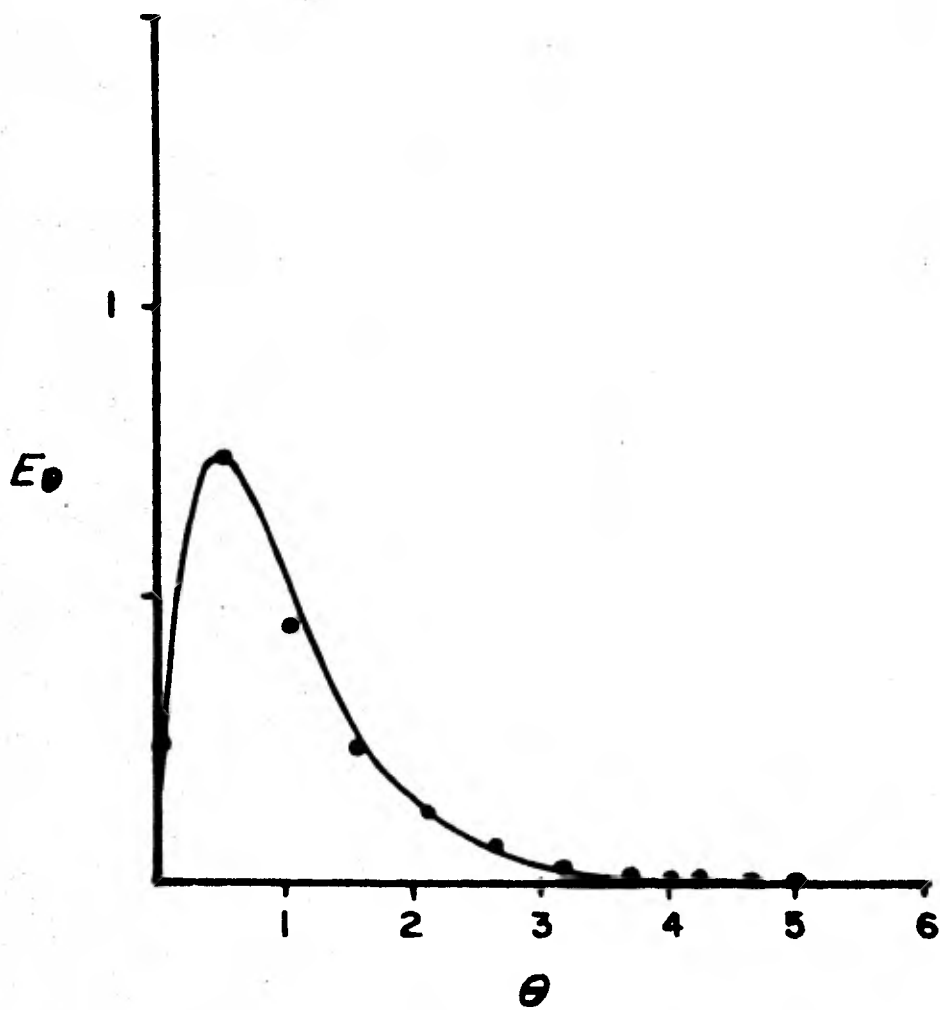


Figura 15. Estudios con trazadores en DYNO-MILL con esferulas de 0.4-0,7 mm de diámetro. (●) velocidad  $15 \text{ mseg}^{-1}$ ,  $Q=2.28 \times 10^{-2} \text{ m}^3 \text{ hr}^{-1}$ . (—) curva teórica para 2 RACs).

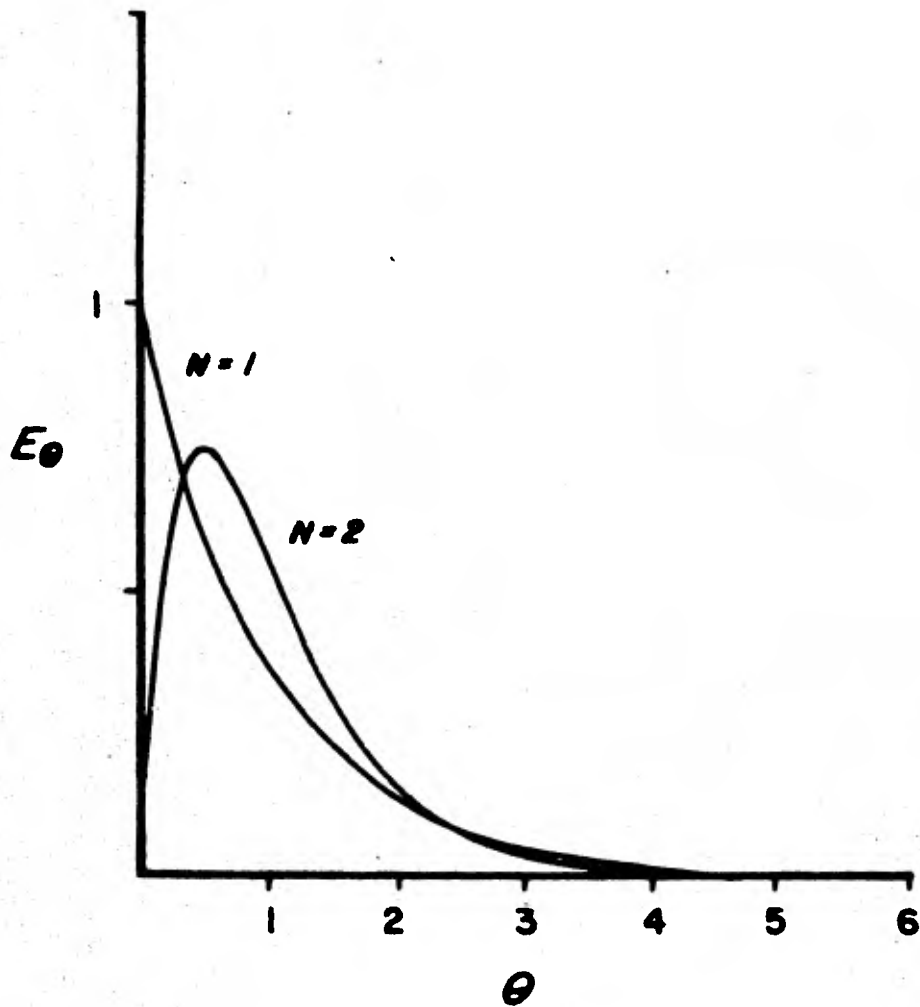


Figura 16. Curvas teóricas para 1 y 2 reactores continuos bien agitados en serie (RACs).

rencia en densidad entre el medio y las esférulas. En todos los experimentos con trazadores, se utilizó agua y la relación de densidad es muy cercana a uno (1.008). Esto permite una mejor distribución de las esférulas dentro de la cámara de rompimiento, efecto que no se observa a altas velocidades de impulsores ya que para estos casos sí existe una distribución heterogénea, como en el caso de usar suspensión de levadura, esto se hace evidente en el caso de los experimentos con trazadores donde se observa una segregación real en dos cámaras bien definidas a manera de dos tanques bien agitados en serie. Este efecto es similar al que se presenta cuando se utiliza levadura aunque aquí no es posible captar una evidencia visual objetiva del fenómeno el cual se evaluó para estos casos de manera indirecta, por medio de parámetros cinéticos. Se observó que en la segregación en dos cámaras existe una concentración mayor de esférulas que se localiza en el extremo distal a la entrada del fluido al sistema. Esto modifica el comportamiento cinético del sistema dando como resultado un incremento en el número de tanques de acuerdo a lo obtenido por medio de trazadores a bajas velocidades de impulsores (6.7 y 10.0).

## 5. EFICIENCIA DE ROMPIMIENTO.

La eficiencia de rompimiento para el DYNO-MILL puede ser calculada de acuerdo a la ecuación:

$$e = \frac{R Y Q}{P} \quad (18)$$

donde:

R = Cantidad de proteína liberada (Kg proteína/Kg de Levadura)

Y = Concentración de levadura (Kg lev/m<sup>3</sup>)

Q = Velocidad de flujo (m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>)

P = Consumo de energía (watts)

La eficiencia sólo se presenta para el DYNO-MILL ya que, comparativamente, éste es el que ocasiona un consumo mayor de energía respecto a la que se observa en el sistema de enfriamiento de la suspensión y la bomba de alimentación de la misma. En las Figuras 17 y 18 se presentan las gráficas obtenidas para la eficiencia vs concentración de proteína y para el consumo de energía vs velocidad de impulsores, respectivamente.

Como se observa en la Figura 17 la máxima eficiencia se alcanza a una velocidad de impulsores de 10 m seg<sup>-1</sup> y con un gasto de 25 x 10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>. Contrariamente a lo que se esperaba a la mayor

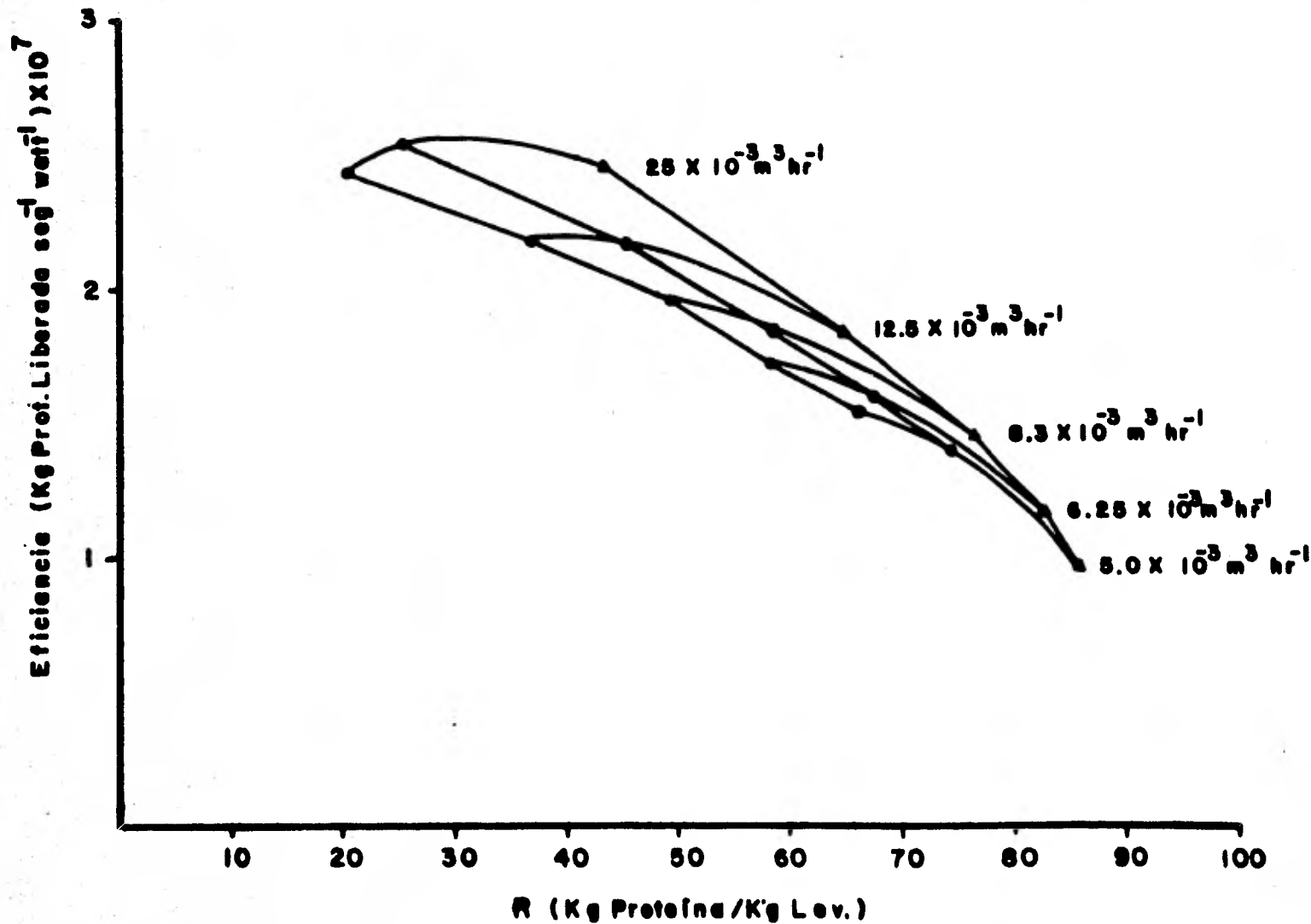


Figura 17. Eficiencia del DYNO-MILL con esferulas de STYROPOR. (⊙) velocidad 6.7 m seg<sup>-1</sup>, (●) velocidad 10 m seg<sup>-1</sup> y (▲) velocidad 15 m seg<sup>-1</sup>.

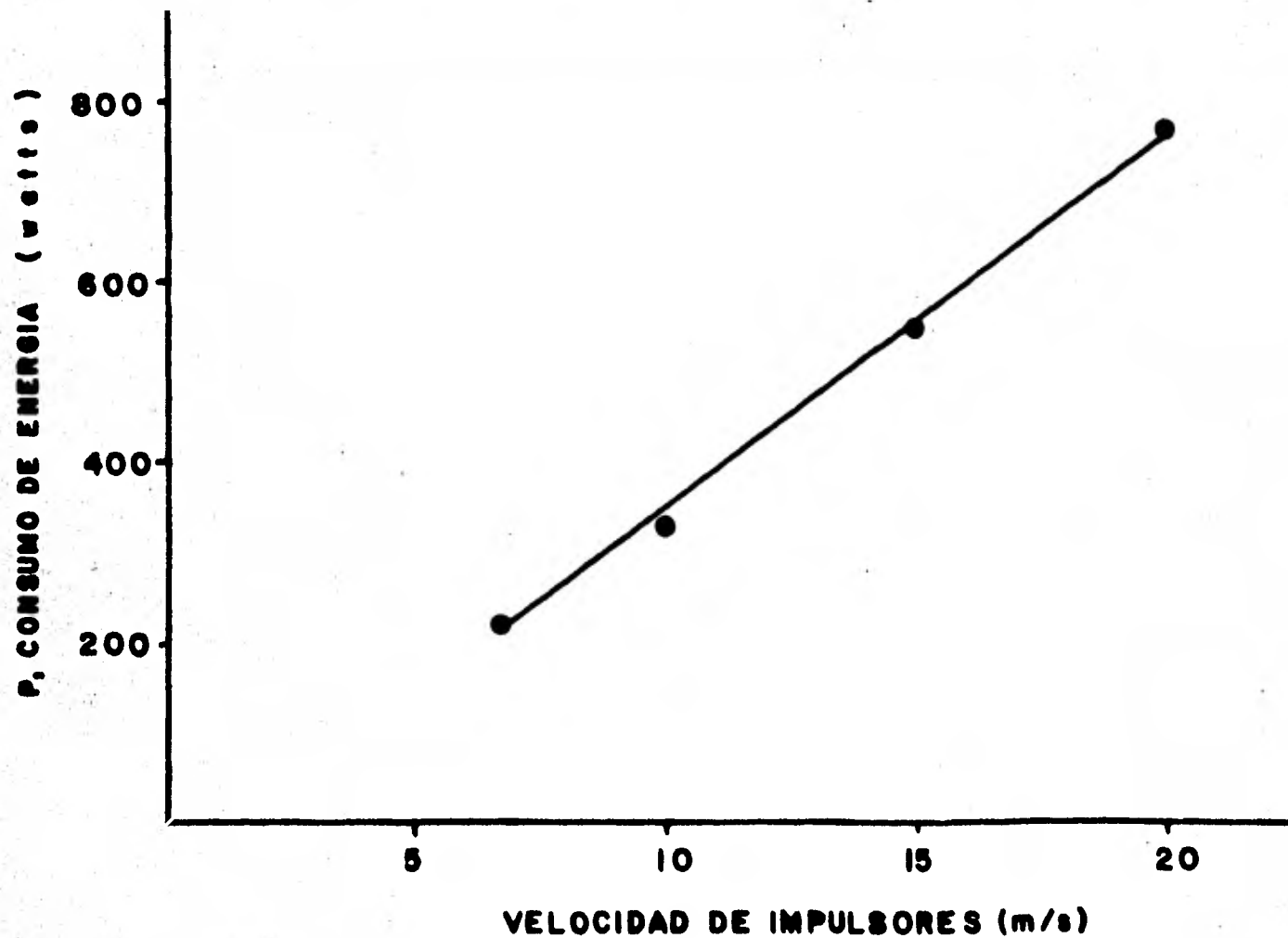


FIGURA 18. Relación entre consumo de energía y velocidad de impulsores para el DYNO-MILL tipo KDL con esférulas de STYROPOR de 0.4-0.7 mm de diámetro.

velocidad de flujo de la suspensión (menor tiempo de residencia) se obtiene una mayor eficiencia a 10 y 15 m s<sup>-1</sup> que a 6.7 m s<sup>-1</sup> en donde el consumo de energía es menor, este efecto no se presenta a otras velocidades de flujo (Figura 17). Sin embargo, la diferencia no es significativa y ésta puede ser explicada en términos de una irregularidad durante el bombeo de la suspensión el aparato, que se efectuó con una bomba peristáltica, a bajos tiempos de residencia. Puede pensarse que éste fenómeno tenga menor efecto a altas velocidades de impulsor y que, finalmente, se tenga una eficiencia menor a tiempos de residencia muy cortos.

Cuando se piensa en el escalamiento de este sistema, es necesario considerar el consumo de energía por unidad de volumen y la geometría del sistema. Estudios realizados en un molino de esférulas de 5 litros (Limón-Lason et al., 1979) demuestran que la eficiencia es menor y que esto puede deberse a que el número de impulsores por unidad de volumen de la cámara es mucho menor que en el molino de 0.6 litros, lo que ocasiona un mejor aprovechamiento de éstos para el molino pequeño. Por otro lado, el consumo de energía es considerablemente mayor en el molino de 5 litros.

Para el caso del DYNO-MILL operado con esférulas de STYROPOR, el



consumo de energía presenta una relación lineal con la velocidad de impulsores (Figura 18), relación que puede ser útil mantener para poder escalar el sistema.

## V. CONCLUSIONES.

Con este trabajo se puede evaluar el potencial de utilización de un molino continuo de alta velocidad operado con esférulas de plástico (STYROPOR) en el rompimiento celular, que, si bien, no resulta tan eficiente como en el caso de su operación con esférulas de vidrio, sí resuelve el problema de la obtención de proteína y enzimas con buenos resultados.

Se comprobó que efectivamente el proceso de rompimiento en el DYNO-MILL con esférulas de plástico sigue una cinética de primer orden tanto en experimentos en lote como continuos (Figuras 8-12).

La máxima cantidad de proteína posible de ser liberada (0.089 Kg proteína/Kg levadura) compara favorablemente con otros datos reportados en la literatura (Hetherington et al, 1971) y elimina algunos de los problemas que se presentan con otros equipos como son el desgaste de la válvula de homogenización y la presencia de vidrio coloidal en el producto final en el caso de los homogenizadores de alta presión y el DYNO-MILL operado con esférulas de vidrio respectivamente, sin que esto quiera decir que esos problemas no puedan ser resueltos.

Se evaluó el efecto del diámetro de las esférulas sobre la velocidad de liberación de proteína (Figuras 10-11), sin embargo, no se encontró una respuesta favorable cuando se utilizan esférulas de diámetro mayor, en las condiciones probadas.

Tal vez la utilización de esférulas de plástico de alta densidad pudiera dar mejores resultados pero esto sería motivo de un estudio comparativo similar a éste.

Se encontró por estudios con trazadores, que el DYNO-MILL puede ser simulado por un sistema de un RAC para  $6.7$  y  $10 \text{ m s}^{-1}$  (Figura 14) y de 2 RAC para  $15 \text{ m s}^{-1}$  (Figura 15) y que dadas las características de bajo peso específico de las esférulas de plástico, es de mayor utilidad, para efectos de la obtención de una ecuación de diseño para el rompimiento de levadura, utilizar la información generada por los estudios de rompimiento en forma continua, en donde se vio que se puede representar el aparato por un sistema de 1.9 RAC (Figura 13).

Posiblemente en el caso que se pretenda romper células bacterianas el comportamiento cinético sea diferente a aquél encontrado en levadura y dado que las suspensiones de bacterias pre-

sentan densidades menores, se puede esperar que exista coincidencia en los resultados de los estudios con trazadores y los experimentos continuos.

Los resultados de eficiencia (Figura 17) nos muestran que las esferulas de STYROPOR pueden ser utilizadas para la obtención de material intracelular y, especialmente, de enzimas de interés comercial cuya obtención se ve limitada por la falta de sistemas de extracción eficientes a escala industrial.

Por otro lado la obtención de enzimas o proteínas por cualquier método de extracción permite que el desecho celular generado durante el proceso pueda ser utilizado, mediante una operación de recuperación, para la elaboración de complementos para la alimentación animal.

Es importante señalar que el presente estudio forma parte de un estudio más extenso en el que se evaluará el rompimiento de otro tipo de microorganismos, la utilización de esferulas de otros materiales (acero inoxidable, materiales plásticos de alta densidad, etc), el efecto de la viscosidad sobre el rompimiento,

el diseño de un sistema de enfriamiento más eficiente al que actualmente se tiene y que puede conducir a la optimización y al posible escalamiento de este sistema para el rompimiento celular.

## VI. BIBLIOGRAFIA

Buffham, B.A.; Gibilaro, L.G. y Kropholler, H.W. Chem. Eng. Sci. 24:7 (1969).

Currie, J.A.; Dunnill, P.; Lilly, M.D. Biotechnol. Bioeng. 14:725 (1972).

Charm, S.E. y Matteo, C.C.; Methods in Enzymol. 22:476 (1971).

Edebo, L. Biochem. Microbiol. Tech. & Eng. 2:453 (1960).

Edebo, L. y Heden, C.G. Biochem. Microbiol. Tech. & Eng. 2:113 (1961).

Hetherington, P.J.; Follows, M.; Dunnill, P.; Lilly, M.D. Trans. Inst. Chem. Eng. 49:142 (1971).

Hughes, D.E., Brit, J. Exptl. Path. 32:97 (1951).

Hughes, D.E. y Williamson, D.H., Biochem. J. 51:45 (1952).

Hugo, W.B. Bacteriol. Revs. 18:87 (1954).

Levenspiel, O. "Chemical Reaction Engineering. 2a. ed. Wiley. (New York) Cap. 9 (1972).

Limon-Lason, J.; Hoare, M.; Orsborn, C.B.; Doyle, D.J. y Dunnill, P., Biotechnol. Bioeng. 21:745 (1979).

Lowry, O.H.; Roseborough, N.J.; Farr, N.J. y Randall, R.J. J. Bio. Chem. 193:265 (1951).

Noltingk, B.E. y Nippiras, E.A. Proc. Phys. Soc. London 64 B: 1032 (1951).

Ribi, E.; Perrime, T.; List, R.; Brown, W. y Goode, G.  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 100, 647 (1959).

Stadtman, E.R. y Barker, H.A. J. Biol. Chem. 180:1085  
(1949).

Wimpeny, W.T. Process Biochem. 2(7): 41-44 (1967).