



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES**

CARRERA DE AGROINDUSTRIAS

MODALIDAD PRESENCIAL

**PLAN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR TEMA:
“EVALUACIÓN DEL USO DE VAPOR COMO PRETRATAMIENTO EN
LUFFA PARA SU APLICACIÓN COMO MEDIO DE SOPORTE EN
CATALIZADORES”**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial

Línea de investigación: Gestión, Producción, Productividad, Innovación y Desarrollo socioeconómico.

Autor: Mirka Alejandra Huera Imbaquingo

Director: Marco Vinicio Lara Fiallos



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

I. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	DE	0401687520	
APELLIDOS Y NOMBRES:	Y	Huera Imbaquingo Mirka Alejandra	
DIRECCIÓN:		Los Arrayanes y Fernando Pozo – San Gabriel	
EMAIL:		mahuerai@utn.edu.ec	
TELÉFONO FIJO:	-	TELÉFONO MÓVIL:	0960109770

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Evaluación del uso de vapor como pretratamiento en Luffa para su aplicación como medio de soporte en catalizadores
AUTOR (ES):	Huera Imbaquingo Mirka Alejandra
FECHA: DD/MM/AAAA	7/2/2024
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera Agroindustrial
ASESOR /DIRECTOR:	Ing. Marco Vinicio Lara Fiallos, PhD.

2. CONSTANCIAS

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los siete días del mes de febrero de 2024

EL AUTOR:

(Firma).....
Mirka Alejandra Huera Imbaquingo

**CERTIFICACIÓN DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR**


Ibarra, al primer día del mes de febrero de 2024

Ing. Marco Lara, PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final del trabajo de Integración Curricular, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Universidad Técnica del Norte; en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

(f) 
Ing. Marco Lara, PhD.

C.C: 1717227761

APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR

El Comité Calificador del trabajo de Integración Curricular “Evaluación del uso de vapor como pretratamiento en Luffa para su aplicación como medio de soporte en catalizadores” elaborado por Mirka Alejandra Huera Imbaquingo, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Universidad Técnica del Norte:

(f).....

Ing. Marco Lara, PhD.

C.C: 1717227761

(f).....

Ing. José País, PhD.

C.C: 0959747320

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero dedicar este logro a Dios quien me ha brindado el coraje y la inspiración necesarios para alcanzar un nuevo objetivo en mi vida.

A mis padres María y Luis, quienes han sido mi mayor fuente de apoyo, inspiración y amor a lo largo de este arduo pero gratificante viaje académico. A mis hermanos, por su inquebrantable aliento y comprensión en cada paso del camino; a mis amigos/as, por llenar mis días de risas y alegrías, recordándome que el equilibrio es clave.

Dedico este trabajo a todos ustedes, con profundo agradecimiento y humildad, pues sin su aliento y confianza en mí, este logro no habría sido posible.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por ser mi guía y fortaleza a lo largo de este emocionante camino, brindándome confianza para superar desafíos y lograr las metas propuestas.

A mis padres María y Luis, les agradezco infinitamente por su amor incondicional, apoyo inquebrantable y sacrificio durante toda en mi formación académica y desarrollo personal. Gracias por estar siempre a mi lado, alentándome y brindándome el apoyo necesario para llegar hasta aquí.

Agradezco también a mis directores Dr. Marco Lara y José País, por su inestimable orientación, sabiduría y dedicación en la dirección de mi tesis.

Este logro no hubiera sido posible sin el respaldo incondicional de cada uno de ustedes. Gracias por creer en mí y por ser parte esencial de este emocionante proyecto de titulación. Estoy profundamente agradecida por contar con su presencia en mi vida.

RESUMEN EJECUTIVO

Una de las técnicas físicas empleadas para inmovilizar enzimas, es conocida como "atrapamiento por brazo espaciador" la cual es llevada a cabo por medio de soportes de tipo gel o fibras vegetales. Este método de fijación, brinda beneficios para la eficiencia enzimática, dado que posibilita su reutilización, simplifica el manejo y la ejecución del procedimiento al operar en condiciones menos rigurosas. Una de ellas, es la esterilización, la cual permite mayor cantidad de enzima conservada mediante el uso de vapor de agua a diversas condiciones de tratamiento.

El presente proyecto de investigación busca reemplazar el uso de autoclave como medio de pretratamiento de materias orgánicas (*Luffa cylindrica*) por el empleo de vapor el cual se realizó a condiciones definidas como lo son temperatura (80 °C, 100 °C, 121 °C) y tiempo (15 min, 35 min, 55 min). Para alcanzar estos estados se empleó un autoclave y cultivos microbiológicos para definir el mejor tratamiento mismo que se logró a condiciones de 121 °C y 15 min de esterilización siendo replicando en el proceso de inyección directa de vapor. Con la ayuda de un reactor tipo *batch* se logró definir que la esterilización afecta directamente en la retención enzimática y determina el mejor estado de desinfección. Además, busca obtener puntos críticos de retención para mejorar su desempeño y lograr un mayor aprovechamiento en medios de retención de catalizadores orgánicos activos.

Palabras Clave: esterilización, vapor, retención enzimática, productividad.

ABSTRACT

One of the physical techniques used to immobilize enzymes is known as "entrapment by spacer arm," which is carried out through gel supports or plant fibers. This fixation method provides benefits for enzymatic efficiency, as it enables reusability, simplifies handling, and facilitates the procedure by operating under less stringent conditions. One of these benefits is sterilization, which allows for a greater amount of preserved enzyme through the use of steam at various treatment conditions.

The present research project aims to replace the use of an autoclave as a means of pre-treating organic materials (*Luffa cylindrica*) with the use of steam, which was conducted at defined conditions such as temperature (80°C, 100°C, 121°C) and time (15 min, 35 min, 55 min). To achieve these states, an autoclave and microbiological cultures were used to define the best treatment, which was achieved at conditions of 121°C and 15 min of sterilization, replicated in the direct steam injection process. With the help of a batch reactor, it was determined that sterilization directly affects enzymatic retention and determines the optimal disinfection state. Additionally, it aims to obtain critical retention points to improve performance and achieve greater utilization in media for retaining active organic catalysts.

Keywords: sterilization, steam, enzymatic retention, productivity

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	15
Problema	15
Justificación	16
Objetivos	17
<i>Objetivo General</i>	<i>17</i>
<i>Objetivos Específicos</i>	<i>17</i>
Hipótesis	17
<i>Hipótesis Alternativa (Hi)</i>	<i>17</i>
<i>Hipótesis Nula (Ho)</i>	<i>17</i>
CAPÍTULO I.....	18
MARCO TEÓRICO	18
1.1. Vapor de Agua	18
1.2. Tipos de Vapor.....	18
<i>1.2.1. Vapor Saturado.....</i>	<i>19</i>
<i>1.2.2. Vapor Saturado Húmedo (Mezcla Saturada).....</i>	<i>19</i>
<i>1.2.3. Vapor Saturado Seco</i>	<i>19</i>
<i>1.2.4. Vapor Flash</i>	<i>19</i>
1.3. Esterilización.....	19
<i>1.3.1. Factores que influyen en la esterilización</i>	<i>20</i>
1.4. Materia Orgánica	22

	10
1.4.1. Materia Orgánica como Medio de Soporte	22
1.5. Catalizadores	23
1.6. Retención Enzimática	24
1.7. Métodos de Inmovilización Enzimática	24
1.7.1. Inmovilización por Atrapamiento en Fibras	25
1.8. Luffa cylindrica	26
1.9. Microorganismos Presentes en Luffa cylindrica	27
1.10. Inulina	28
1.11. Inulinasa	28
1.12. Fructosa	29
1.13. Reactor	30
1.13.1. Reactor Tipo Batch	31
1.13.1.1. Ecuación para Desarrollar un Reactor Tipo Batch	32
CAPÍTULO II	33
MARCO METODOLÓGICO	33
2.1. Caracterización del Área de Estudio	33
3.1.1. Ubicación	33
3.2. Localización del Experimento	33
3.2.1. Características Climatológicas	34
3.3. Materiales y Equipos	34
3.3.1. Instrumentos	34

	11
3.3.2. <i>Equipos</i>	35
3.3.3. <i>Materiales e Insumos</i>	35
3.4. Métodos	36
3.4.1. <i>Determinación de las Condiciones Iniciales del Pretratamiento para Materia Orgánica</i>	36
3.4.2. <i>Valoración de las Condiciones de Vapor para la Retención Enzimática</i>	43
3.4.3. <i>Evaluación de la Cantidad de Retención Enzimática que presenta la Materia Orgánica (Luffa cylindrica)</i>	46
CAPÍTULO III	48
RESULTADOS Y DISCUSIONES	48
3.1. Determinación de las Condiciones Iniciales del Pretratamiento para Materia Orgánica	48
3.2. Valoración de las Condiciones de Vapor para la Retención Enzimática	53
3.3. Evaluación de la Cantidad de Retención Enzimática que Presenta la Materia Orgánica (Luffa cylindrica)	58
CAPÍTULO IV	60
4.1. Conclusiones	60
4.2. Recomendaciones	61
CAPÍTULO V	62
5.1. Bibliografía	62
ANEXOS	67

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Fases del Agua.....	18
Figura 2 Grados de resistencia de los microorganismos.....	20
Figura 3 Enzima inmovilizada por atrapamiento. A la izquierda (A) un atrapamiento en gel y a la derecha (B) un atrapamiento en fibras.	23
Figura 4 Representaciones esquematizadas comparando un catalizador en solución y un catalizador de un metal soportado.....	24
Figura 5 Técnicas de inmovilización para células microbianas (a) foliculación, (b) unión a soporte, (c) entrecruzamiento, (d) atrapamiento en una matriz porosa y (e) encapsulación ...	25
Figura 6 Algas de género <i>Chlorella sorokiniana</i> inmovilizadas adheridas a la fibra (<i>Luffa cylindrica</i>).....	27
Figura 7 Estructura de la fructosa	30
Figura 8 Tipos de Reactor.....	31
Figura 9 Observación de microorganismos	42
Figura 10 Clarificación de medios de cultivo; A) Agar PDA. B) Agar Nutriente.....	42
Figura 11 Procedimiento para el análisis de agentes patógenos; A) Colocación de luffa en agua peptona, B) Reposo de Luffa en agua peptona (120 min), C) Diluciones 10^{-5} , D) Siembra de microorganismos, E) Conteo de agentes microbianos.....	43
Figura 12 Inyección de vapor al material orgánico	44
Figura 13 Curva patrón de Fructosa	47
Figura 14 Microorganismos presentes en <i>Luffa Cylindrica</i> sin tratamiento térmico; A) Levaduras, B) Hongos, C) Bacterias.....	49
Figura 15 Decrecimiento Exponencial de Bacterias.....	51
Figura 16 Decrecimiento Exponencial de Levaduras	52
Figura 17 Decrecimiento exponencial en hongos.....	53

Figura 18 Volumen de vapor condensado	55
Figura 19 Resultados Productividad/Temperatura.....	59

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1 Curva de muerte microbiana	21
Tabla 2 Datos geográficos de Ibarra.....	33
Tabla 3 Características Climatológicas	34
Tabla 4 Condiciones de esterilización aplicado en materias orgánicas.....	36
Tabla 5 Factor A: Temperatura.....	39
Tabla 6 Factor B: Tiempo.....	40
Tabla 7 Tratamientos.....	40
Tabla 8 Tablas termodinámicas de Cengel.....	43
Tabla 9 Presencia de microorganismos sin tratamiento térmico	49
Tabla 10 ANOVA decrecimiento de microorganismos	50
Tabla 11 Tablas termodinámicas	54
Tabla 12 Resultados comparativos de crecimiento microbiano a los que fue sometido el medio de soporte (Luffa Cylindrica); ST (Sin tratamiento), LV (Línea de vapor), A (Autoclave).....	58

INTRODUCCIÓN

Problema

Las enzimas son reconocidas como un conjunto de moléculas altamente capacitadas, que exhiben una notable actividad biológica superior a la de los catalizadores inorgánicos (Salazar et al., 2013) además, cuentan con una extensa gama de aplicaciones en diversos sectores industriales, por lo tanto, es crucial buscar métodos para mejorar su rendimiento.

El empleo de estas estructuras proteicas no se ha generalizado en los procesos químicos industriales los cuales cuentan con reactores de lecho empacado, debido a que no se alcanza las condiciones de estabilidad del reactor. De forma particular las condiciones de trabajo de un reactor con soporte orgánico implican la esterilización de *Luffa cylindrica* a través del autoclave (Montalvo, 2020), lo que conlleva a la regulación de condiciones de temperatura, tiempo y con ello presión. Además, debido a su solubilidad en agua, resulta complicado separarlas de los sustratos y productos, lo que impide su reutilización. Sin embargo, mediante la retención, se ha logrado superar estos desafíos, posibilitando que el proceso sea económicamente viable proporcionando importantes ventajas a la industria alimentaria.

Uno de los métodos físicos de retención de enzimas es el de atrapamiento por brazo espaciador de carácter químico, donde las sustancias que sirven como medio de reserva son generalmente geles o en fibras vegetales (Salazar et al., 2013) en el caso de la *Luffa cylindrica*; a pesar de los avances tecnológicos de retención enzimática, no existe en la actualidad datos precisos de la preparación del medio orgánico como soporte, lo que implica una desventaja para la industria de biorreactores de este tipo, ya que el proceso actual investigado (Montalvo, 2020b) no muestra una técnica de reutilización del medio de soporte sin sacarlo del reactor, lo que provoca desventajas operativas, impidiendo aprovechar las características totales de retención enzimática, llegando a afectar la continuidad del proceso de hidrólisis en el reactor

Justificación

La técnica de inmovilización mediante atrapamiento se distingue de la adsorción y la unión covalente en el sentido de que las moléculas de enzima se encuentran libres en la mezcla, aunque su movilidad se encuentra limitado por una estructura tipo "enrejado" creada por un gel. En la mayoría de los casos, se emplean polímeros orgánicos para la creación de estas estructuras entramadas (Salazar et al., 2013). Estos favorecen la productividad enzimática por la capacidad de reutilización, aumentando la comodidad en la gestión y control de operaciones al emplearse en condiciones más suaves, entre otras ventajas.

En la industria alimentaria, una de las actividades catalíticas es la retención de enzimas la cual se utiliza con el fin de restaurar derivados, simplificando los procesos de elaboración, potenciar el aroma y/o mantener la estabilidad de la calidad alimenticia. Según (A. Castillo & Chamy, 2010) en su artículo indica que, la inulinasa es un catalizador biológico conocida por su capacidad para descomponer la inulina en fructosa casi pura, consideradamente empleada en el sector alimentario considerada como sustituto del azúcar refinado en dietas, con una capacidad de dulzura de 1.5 a 2 veces superior a la sacarosa. Por esta razón, existe un interés significativo en investigar y desarrollar métodos para su producción, purificación y caracterización mediante técnicas de inmovilización enzimática.

El presente proyecto de investigación busca reemplazar el uso de autoclave como medio de pretratamiento de materias orgánicas (*Luffa cylindrica*) por el empleo de vapor. Estudios demuestran que este mecanismo logra esterilizar y eliminar sustancias ajenas a la estructura propia de la fibra, mismo que se lo realizará a condiciones definidas de vapor como lo son temperatura y tiempo, las cuales permitirán la retención de biocatalizadores en un medio orgánico, con el fin de que la industria alimentaria tenga mejores condiciones de operación sin la necesidad de desarmar el equipo lo cual facilita la obtención de datos referentes a la inmovilización. Además, busca obtener puntos críticos de retención para mejorar su desempeño

y lograr un mayor aprovechamiento en beneficio de la agroindustria como a su vez el aporte a la matriz productiva.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el uso de vapor como medio de pretratamiento de materia orgánica, a ser utilizada como medio de soporte para catalizadores.

Objetivos Específicos

- Determinar las condiciones iniciales del pretratamiento para materia orgánica.
- Valorar las condiciones de vapor para la retención enzimática.
- Evaluar la cantidad de retención enzimática que presenta la materia orgánica (*Luffa cylindrica*).

Hipótesis

Hipótesis Alternativa (Hi)

- El uso de vapor a condiciones definidas como pretratamiento de la materia orgánica (temperatura y tiempo) permiten retención de catalizadores en un medio orgánico.

Hipótesis Nula (Ho)

- El uso de vapor a condiciones definidas como pretratamiento de la materia orgánica (temperatura y tiempo) no permiten retención de catalizadores en un medio orgánico.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Vapor de Agua

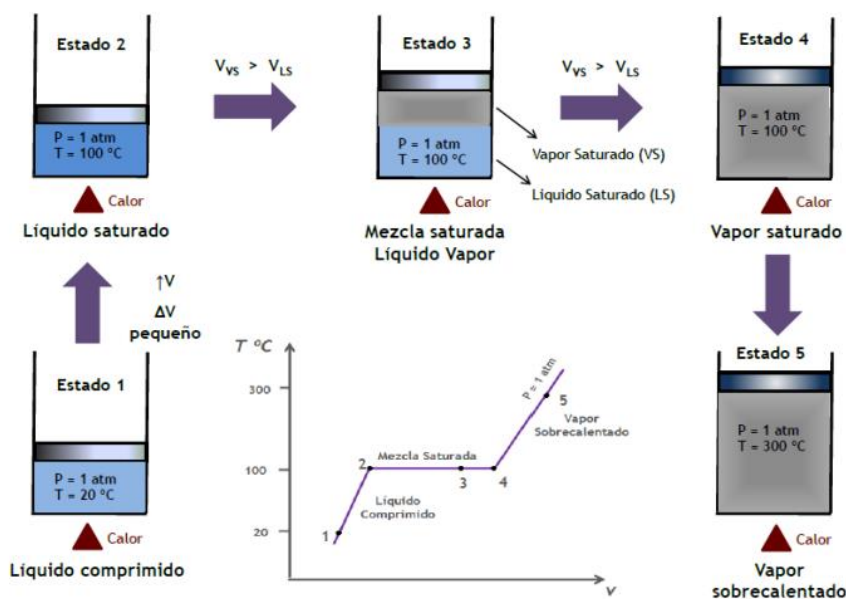
El vapor se configura en forma de gas no visible que aumenta al agregar energía (calor) al agua dentro de una caldera. Es necesario suministrar suficiente calor para incrementar la temperatura del agua hasta llegar al momento en que comienza a ebullición. A partir de este punto, si se sigue aportando energía, no se alterará la temperatura, sino que el agua se transformará en vapor. El vapor representa un medio altamente eficiente y fácilmente regulable para el transporte de energía (Sincal, 2018).

1.2. Tipos de Vapor

Al suministrar calor a partir de cualquier fuente de energía, el agua experimenta cambios en su estado físico, contenido energético y propiedades fisicoquímicas. El agua atraviesa diversas fases hasta alcanzar la condición final de vapor. A medida que se agrega calor, llega a la fase de vapor saturado o vapor saturado seco, también conocido como vapor sobrecalentado, figura 1.

Figura 1.

Fases del Agua



Tomado de: (Romel et al., 2011)

1.2.1. Vapor Saturado

Vapor que se caracteriza por estar a temperatura de ebullición del líquido o en otras palabras es el gas liberado durante el proceso de hervor del agua, tal como se indica en la figura 1. Es el más eficaz y económico para llevar a cabo la esterilización utilizado generalmente en autoclaves.

1.2.2. Vapor Saturado Húmedo (Mezcla Saturada)

Según (Romel et al., 2011) indica que, el vapor saturado húmedo se refiere al vapor que incluye partículas de agua en estado líquido, las cuales están presentes dentro del vapor. Estas diminutas partículas se originan a partir de estados específicos de temperatura y presión, o bien, a pérdidas de energía durante el transporte.

1.2.3. Vapor Saturado Seco

Cuando se suministra calor al vapor saturado, este pierde las partículas en fase líquida que definen al vapor saturado húmedo, transformándose en saturado seco al elevar la temperatura más allá del punto de saturación, tal como se muestra en la figura 1 (Romel et al., 2011).

1.2.4. Vapor Flash

Ocurre cuando hay líquido bajo presión en condiciones de saturación y, al producirse una caída brusca en la presión, su volumen experimenta una combinación saturada a baja presión. En consecuencia, parte de dicho volumen se convierte en vapor, mientras que el resto se transforma en condensado (Romel et al., 2011).

1.3. Esterilización

El término esterilización se refiere al procedimiento mediante el cual, además de eliminar impurezas, se logra la eliminar toda forma de vida microbiológica, abarcando virus, bacterias, hongos y protozoos.

La OMS define la esterilización como:

El método de desinfección que busca eliminar completamente cualquier variedad de vida microbiana, erradicando tanto organismos patógenos como no patógenos, incluso sus formas esporuladas mismas que son resistentes (*Esterilización Procedimientos Relacionados*, 2015).

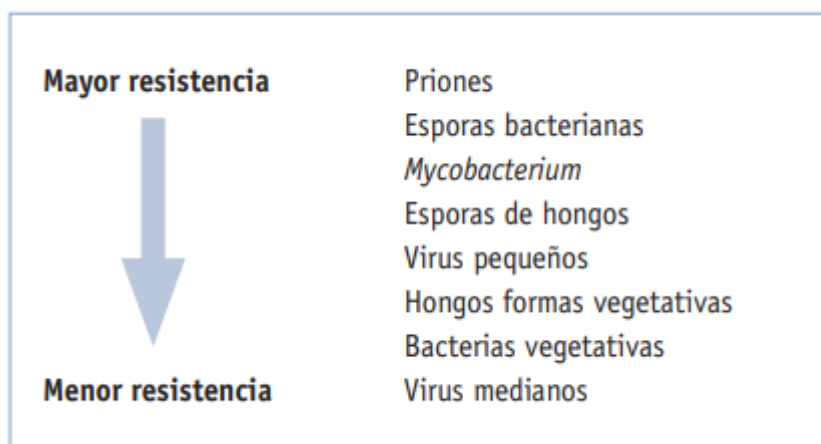
1.3.1. Factores que influyen en la esterilización

La capacidad de resistencia de los microorganismos varía en distintos y se vincula con su estructura, su habilidad para generar esporas, así como la existencia de algunos elementos en su pared celular, tales como lípidos y proteínas, o la medida de su espesor (*Esterilización Procedimientos Relacionados*, 2015). Además, existen otros factores que afectan la resistencia ante los métodos de esterilización, los cuales son los siguientes:

- La concentración total de bacterias.
- El contenido orgánico.
- El contenido mineral.
- El pH.
- La temperatura.

Figura 2

Grados de resistencia de los microorganismos



Tomado de: (*Esterilización Procedimientos Relacionados*, 2015)

Cuando se expone una concentración de microorganismos a un proceso de esterilización, la tasa de mortalidad de los microorganismos guarda una relación directa con la intensidad y duración del método empleado. Con base en este principio, se construyen experimentalmente gráficos de la mortalidad de los microorganismos, los cuales evidencian la eficacia de diversos métodos de esterilización, tal como se representa en la Tabla 1.

Tabla 1*Curva de muerte microbiana*

Tiempo exposición (min.)	Microorganismos supervivientes al principio de cada período de exposición	Microorganismos muertos en cada período de exposición (1 min.)	Microorganismos supervivientes al final de cada período de exposición (1 min.)
1	1000000 (10^6)	900000 (90%)	100000
2	100000 (10^5)	90000	10000
3	10000 (10^4)	9000	1000
4	1000 (10^3)	900	100
5	100 (10^2)	90	10
6	10 (10^1)	9	1
7	1 (10^0)	0,9	0.1
8	0.1 (10^{-1})	0,09	0.01
9	0.01 (10^{-2})	0,009	0.001
10	0.001 (10^{-3})	0,0009	0.0001
11	0.0001 (10^{-4})	0,00009	0.00001
12	0.00001 (10^{-5})	0,000009	0.000001
13	0.000001 (10^{-6})	0,0000009	0.0000001

Tomado de: (*Esterilización Procedimientos Relacionados*, 2015)

1.4. Materia Orgánica

Según (Sadeghian Khalajabadi, 2017), la materia orgánica representa uno de los elementos esenciales en la naturaleza, ya que sostiene la vida en el planeta. Por lo tanto, es crucial profundizar en su comprensión para fomentar acciones orientadas a su conservación y mejora mediante prácticas de manejo apropiadas. Debido a su estructura y a la facilidad de acceso, existe la posibilidad de que una gran variedad de esta materia orgánica sea utilizada o en su efecto reutilizada con beneficio a la industria alimentaria, para el mejoramiento y rendimiento de procesos, reduciendo costos y aportando a la matriz productiva.

1.4.1. Materia Orgánica como Medio de Soporte

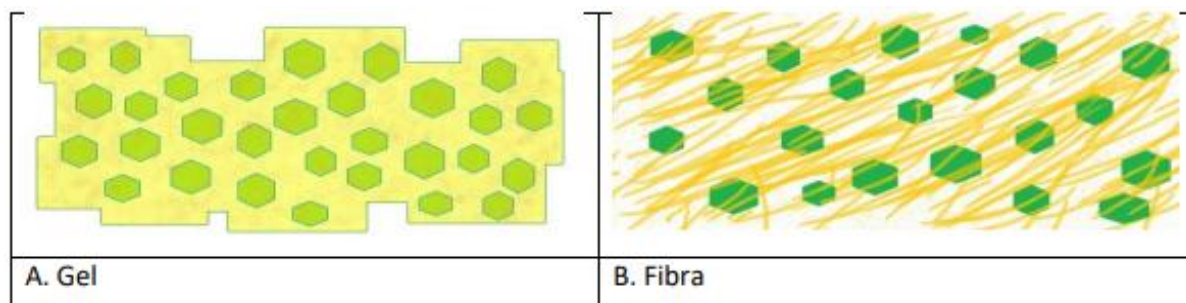
Frecuentemente, el material orgánico utilizado como medio de soporte exhibe una característica distintiva ya que su estructura adopta la forma de una matriz fibrosa sólida y porosa. Las fibras, debido a su configuración, resultan ser considerablemente más robustas en comparación con el gel. En estos últimos, la enzima permanece encapsulada dentro de su propia estructura, mientras que, en el caso de la fibra, se encuentra en el interior de las microcavidades sintéticas. Su ventaja más destacada radica en el rendimiento del proceso, ya que el bioctilizador no experimenta modificación en su estructura, ya que la unión se realiza mediante un método físico. Asegurar el atrapamiento implica supervisar cuidadosamente las condiciones durante la polimerización.

Según (Cebrián, 2020), en su investigación explica que:

El método para la producción implica crear una suspensión de la enzima en una mezcla. Luego empieza la polimerización mediante la alteración la temperatura o por la introducción de una sustancia química. En la Figura 3 se ilustran dos casos de enzimas capturadas en los sustratos: en la parte izquierda (A), se muestra una retención en gel, mientras que en la parte derecha (B), se presenta una retención en fibras.

Figura 3

Enzima inmovilizada por atrapamiento. A la izquierda (A) un atrapamiento en gel y a la derecha (B) un atrapamiento en fibras.



Tomado de: (Cebrián, 2020)

De acuerdo con lo expuesto por (Soto-Arteaga et al., 2023) en su estudio se describe que un soporte de catalizadores debe ser un sólido inerte y poroso con características como una elevada área superficial, lo que le confiere la capacidad de cargar fases activas. La porosidad debe ser controlada, ya que es esencial para facilitar la difusión de los reactivos. Además, se requiere estabilidad térmica y química para asegurar la durabilidad del catalizador y la actividad prolongada de las fases activas. Es importante que el soporte sea de baja toxicidad, esté fácilmente disponible y tenga un costo reducido. La elección adecuada del soporte juega un papel crucial en el rendimiento y eficacia del catalizador al aplicarse en una reacción específica.

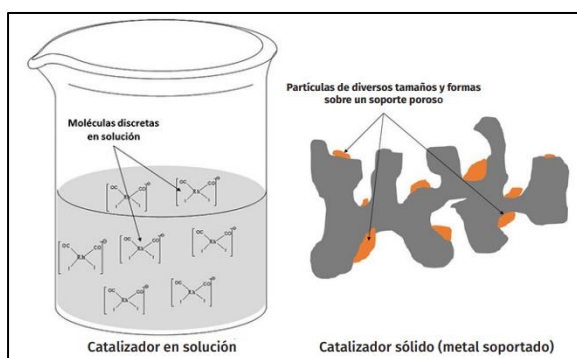
1.5. Catalizadores

Conforme al estudio de (Fierro, 2020), se detalla en su artículo que la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, establece a los catalizadores como compuestos que aumentan la velocidad de una transformación química sin modificar la variación en la energía libre. Cuando el catalizador comparte fase común que los reactivos y productos, se conoce como catálisis homogénea. En contraste, la catálisis heterogénea ocurre cuando el catalizador está presente en una etapa distinta a la de los reactivos y productos. En esta situación, el agente

catalítico generalmente adopta la forma de un sólido, lo que simplifica su extracción del entorno de reacción de manera más sencilla y económica en comparación con los procesos homogéneos. Los procesos heterogéneos presentan ventajas adicionales, como la viabilidad de llevarlos a cabo de manera interrumpida y la habilidad de realizarlos a elevadas temperaturas sin las limitaciones impuestas por los disolventes utilizados en los procedimientos homogéneos. Estas explicaciones indican por qué las operaciones variadas son más comunes en la industria en comparativa con los procedimientos de catálisis homogénea.

Figura 4

Representaciones esquematizadas comparando un catalizador en solución y un catalizador de un metal soportado



Tomado de: (Fierro, 2020)

1.6. Retención Enzimática

El procedimiento de retención restringe o coloca la enzima en una ubicación particular en el espacio. Esto se logra mayormente mediante la relación de la enzima con un soporte, dando lugar a estructuras insolubles que mantienen su capacidad catalítica y tienen la habilidad de ser utilizadas de forma reiterada, siendo así eficaces y amigables con el medio ambiente (Salazar et al., 2013).

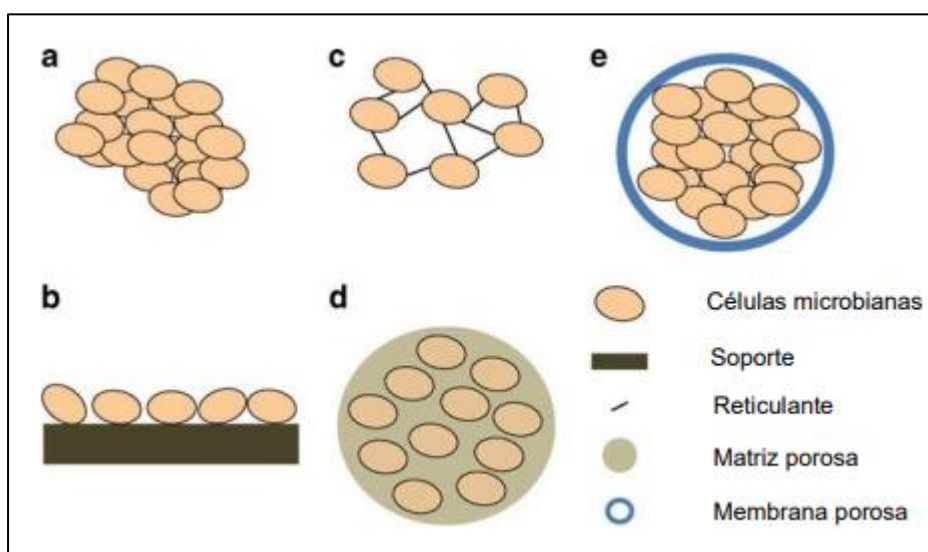
1.7. Métodos de Inmovilización Enzimática

Los procedimientos para la inmovilización de enzimas se dividen en categorías físicas y químicas. La distinción entre ellas reside en que, en los métodos físicos, las conexiones entre

el soporte y la enzima son débiles, no obstante, en los métodos químicos, el soporte y la enzima establecen vínculos a través de enlaces covalentes., como se indica en la figura 5 (Salazar et al., 2013).

Figura 5

Técnicas de inmovilización para células microbianas (a) foliculación, (b) unión a soporte, (c) entrecruzamiento, (d) atrapamiento en una matriz porosa y (e) encapsulación



Tomado de: (López, 2015)

A lo largo del tiempo, se han desarrollado diversas estrategias para inmovilizar enzimas. No obstante, es crucial destacar que no existe un procedimiento único de fijación, ya que para una situación particular es necesario examinar diversas tácticas según la enzima que se va a fijar y el desarrollo en el que se proyecta emplear el sistema catalítico. Incluso cuando los diversos procesos de inmovilización son conceptualmente diferentes, a menudo se superponen entre sí, dando lugar en algunos casos a la utilización de sistemas de inmovilización múltiples (Salazar et al., 2013).

1.7.1. Inmovilización por Atrapamiento en Fibras

Los métodos más comúnmente empleados para inmovilizar células viables suelen implicar algún tipo de atrapamiento utilizando una matriz porosa. Entre los materiales más

frecuentemente utilizados para retención se encuentran el colágeno, la gelatina, el agar, el triacetato de celulosa, el alginato, la poliacrilamida y el poliestireno (López, 2015).

El proceso de inmovilización se ejecuta al dispersar el biocatalizador en una solución del monómero, seguido por el inicio de la polimerización a través de la modificación de la temperatura o la introducción de una sustancia química reactante. Una ventaja clave es que la estructura de la enzima permanece sin alteraciones. Sin embargo, se requiere una supervisión rigurosa de las condiciones de polimerización para garantizar el éxito del atrapamiento, además de asegurarse de que la composición química del procedimiento no altere los grupos reactivos de la proteína (Salazar et al., 2013). Entre los métodos más investigados para la retención se encuentra el uso de fibras de celulosa, demostrando ser un enfoque altamente estable.

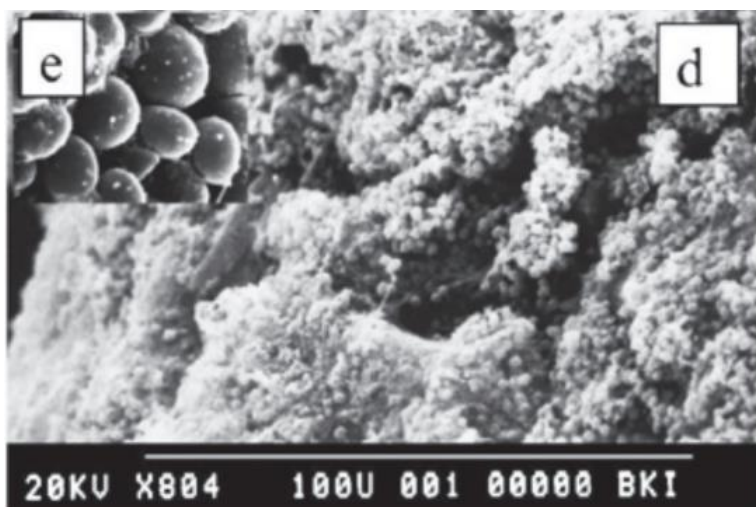
1.8. Luffa cylindrica

El estropajo, también llamado *Luffa cylindrica*, forma parte de la familia de las cucurbitáceas. Este vegetal es susceptible a los efectos de la salinidad y se desaconseja su plantación en las proximidades del océano. Requiere tierras con un buen sistema de drenaje, con abundante material orgánico, nitrógeno y fósforo. Prefiere temperaturas elevadas para su cultivo, pero también puede adaptarse a climas templados, lo que impacta en las características y atributos de la fibra, al igual que su elasticidad y fortaleza (Navarrete et al., 2009).

El material utilizado en este estudio como medio de soporte experimental es el estropajo (*Luffa cylindrica*). Según la investigación titulada "Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5" de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá, Colombia, se ha demostrado que es el medio de soporte más eficaz para la retención, destacándose por ser un material natural con características biodegradables, así como por su elevado contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa

Figura 6

Algas de género Chlorella sorokiniana inmovilizadas adheridas a la fibra (Luffa cylindrica)



Tomado de: (Pereira et al., 2017)

1.9. Microorganismos Presentes en *Luffa cylindrica*

Según (Pereira et al., 2017) afirman en su artículo que:

Dada la naturaleza fibrosa y porosa de las fibras, las esponjas tienen una tendencia innata a captar impurezas del entorno de manera sencilla. Igualmente, su textura rugosa y escamosa simplifica la captura de iones metálicos. Estas atribuciones son las que generan las propiedades de adsorción que hacen que las esponjas sean útiles en pruebas de eliminación e inmovilización microbiana. En general, los resultados de las investigaciones revisadas indican que las hebras de la *Luffa cylindrica* poseen una capacidad elevada y comprobada para retener sustancias contaminantes (pag. 208).

Con relación a los microorganismos hallados en este material, es crucial considerar que las plantas, así como el entorno que las rodea, pueden albergar diversos microorganismos, tanto aquellos que son beneficiosos como los potencialmente patógenos.

La presencia de microorganismos puede cambiar según el ambiente en el cual se cultive, así como la higiene durante su cultivo y la manipulación posterior a la cosecha. Algunos de los microorganismos que podrían encontrarse en la *Luffa cylindrica* abarcan:

- Bacterias: Existen diferentes tipos de bacterias que pueden contaminar la *Luffa cylindrica* durante la cosecha y el almacenamiento, provenientes del suelo, agua de riego u otros medios de contacto.
- Mohos: Son microorganismos comunes en el ambiente, pueden colonizar la el material orgánico, bajo condiciones propicias, como alta humedad y temperaturas moderadas.
- Levaduras: Organismos patógenos que también pueden estar presentes en este vegetal, incluyen especies beneficiosas y otras que pueden causar descomposición y deterioro.
- Hongos: Aparte de los mohos mencionados previamente, otros tipos de hongos pueden también estar presentes en la *Luffa cylindrica* durante la cosecha y el almacenamiento.

1.10. Inulina

Según (Lara et al., 2017) en su artículo se expone que el termino inulina es el nombre dado a un grupo de carbohidratos complejos, también conocidos como polisacáridos, que se encuentran formados por estructuras moleculares de levulosa, siguiendo la fórmula general $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$. Su estructura consta de una cadena lineal con enlaces β (2-1) de fructosil-fructosa; en el extremo de la cadena se halla una unidad de glucosa unida por un enlace similar al de la sacarosa. El término fructano es más amplio y se emplea para describir cualquier sustancia en la cual uno o más enlaces de fructosil-fructosa forman parte de su composición, incluyendo la inulina como el levano. Al definir la inulina, se señala que la unidad inicial en la cadena (extremo no reductor) puede ser un grupo β -D-glucopiranosil o β -D-fructopiranosil.

1.11. Inulinasa

Es un catalizador que actúa sobre los enlaces β -(2→1) de fructano existentes en la inulina, un compuesto presente en varios vegetales. La utilización de la actividad catalítica de estas enzimas es importante en diversos usos biotecnológicos, como la producción de fructosa, fructooligosacáridos, bioetanol, 2,3-butanodiol, ácido láctico, jarabe de sorbitol, entre otros productos. Los microorganismos son las fuentes más adecuadas para la generación de

inulinasas, ya que son fácilmente cultivables y producen enzimas en cantidades superiores a las obtenidas de los vegetales. El género *Aspergillus* se ha observado que es uno de los principales productores de inulina. En términos generales, estos microorganismos que generan proteínas de importancia en el ámbito industrial lo hacen en cantidades muy limitadas, por ende, es esencial incrementar esta producción con el fin de aumentar la rentabilidad en los procedimientos (Chenesi, 2020).

1.12. Fructosa

Según (Pérez Cruz et al., 2007) afirman que la levulosa es un azúcar simple con fórmula química $C_6H_{12}O_6$, la cual presenta similitudes con la glucosa y puede reducirse a sorbitol tanto en entornos de laboratorio como en organismos vivos. La diferencia clave radica en que la molécula de fructosa presenta un grupo ceto unido al carbono 2, a diferencia de la glucosa, que tiene un grupo aldehído en el carbono 1. En la vía glucolítica, los productos principales de su metabolismo abarcan glucosa, glucógeno, lactato y piruvato. Además, algunos de estos productos se oxidan en menor medida, dando lugar a la formación de dióxido de carbono, cuerpos cetónicos o se convierten en triacilglicéridos.

En la industria, la fructosa desempeña un papel fundamental debido a su versatilidad, utilizándose en diversos procesos de producción de alimentos como bebidas, frutas confitadas, repostería y como endulzante en varios productos.

De acuerdo con la investigación de (Riveros et al., 2014), la fructosa es un tipo de azúcar simple que se halla de forma natural en frutas, vegetales y miel. Además, se incorpora a productos identificados como alimentos dietéticos, bebidas y néctares.

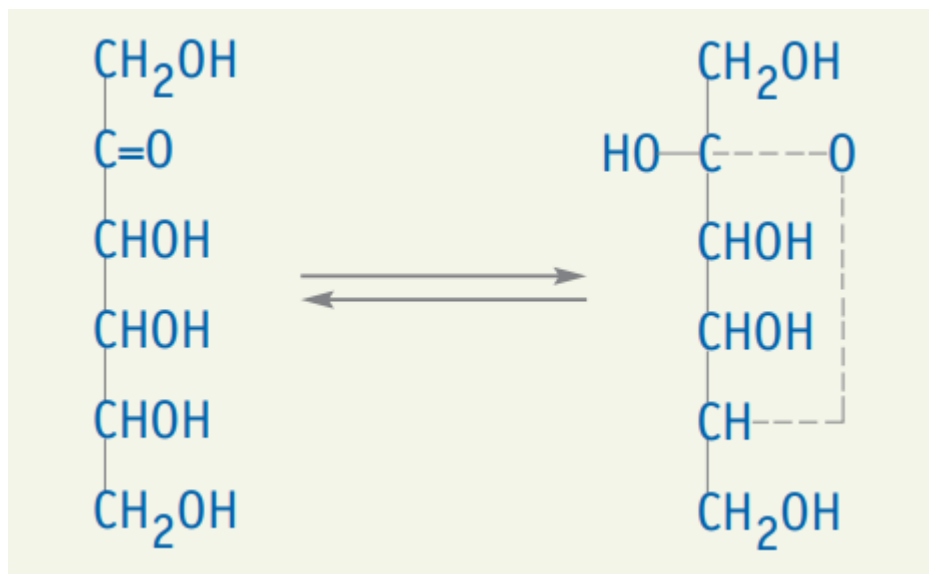
(Riveros et al., 2014) señalan que:

Aunque la nomenclatura de la levulosa es parecida a la de la glucosa, existen disparidades en su proceso metabólico. Como ejemplo, su absorción ocurre de manera más lenta en comparación con la glucosa; sin embargo, el hígado la capta y metaboliza

con mayor rapidez. Además, su capacidad para estimular la secreción de insulina es inferior a la de la glucosa, y la absorción de insulina no está vinculada a la absorción de glucosa.

Figura 7

Estructura de la fructosa



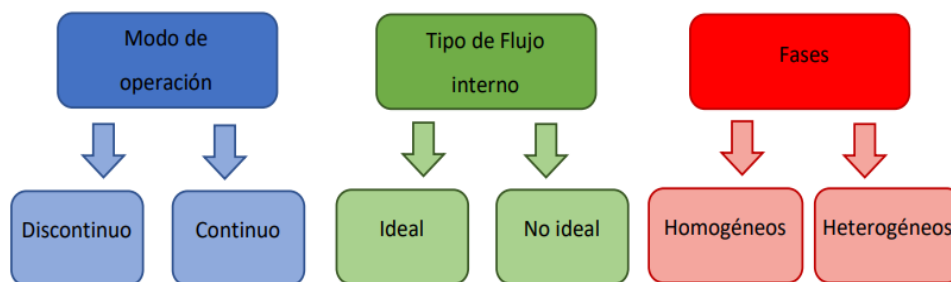
Tomado de: (Castillo et al., 2003)

1.13. Reactor

De acuerdo con (Ibáñez, 2020) explica en su investigación que un reactor es un dispositivo diseñado para facilitar de manera segura y eficiente una o más reacciones químicas en su interior. Dependiendo del reactor químico, éste se debe ajustar de acuerdo a las operaciones químicas que se pretenden realizar en su interior. Por lo tanto, la configuración del reactor puede cambiar debido a razones químicas o de seguridad. La elección de los materiales para el reactor y sus partes se determina según las reacciones planeadas y las propiedades químicas de los reactivos, tales como su susceptibilidad a la corrosión.

Figura 8

Tipos de Reactor



Tomado de: (Ibáñez, 2020)

Siguiendo la referencia previa, se indica la presencia de distintos tipos de reactores fabricados con diversos materiales, tales como acero inoxidable, cerámica, esmalte o vidrio. El componente central de este equipo es un contenedor sellado donde ocurren las reacciones, dotado de puntos de entrada y salida diseñados para las sustancias, su operación se encuentra supervisada por un procedimiento de gestión.

1.13.1. Reactor Tipo Batch

Son recipientes con agitación utilizados para incorporar los reactivos y extraerlos al finalizar la reacción. Se caracterizan por no trabajar en parámetros estacionarios, presentando fluctuaciones continuas tanto en temperatura como en composiciones (Ibáñez, 2020). Su característica destacada es su flexibilidad, lo cual lo convierte en el reactor más común en la industria, ya que puede adaptarse a diversas líneas de producción, satisfaciendo así la creciente demanda de las industrias de fabricar una amplia variedad de productos

Según (Coronel, 2014) en su investigación indica que, los reactores tipo *batch* son utilizados en operaciones a pequeña escala, para realizar ensayos con procesos innovadores en entornos de laboratorio y fabricar productos que sean costosos o requieran una elaboración compleja. Su construcción implica un nivel de complejidad menor en comparación con otros tipos de contenedores de reacción. Un aspecto crucial es que comúnmente se emplean para realizar transformaciones más complejas, especialmente aquellas que son exotérmicas o de dos

fases (gas-líquido). En estas operaciones, se utiliza frecuentemente un enfoque de semi-continuidad, donde se carga inicialmente un reactivo y se dosifican los demás reactivos de manera gradual para obtener un mayor regulación.

1.13.1.1. Ecuación para Desarrollar un Reactor Tipo Batch

Según la información proporcionada por (Coronel, 2014), es esencial realizar un balance de materiales como paso inicial. En este contexto, es importante tener en cuenta que en un reactor de tipo por lotes, al ser intermitente, no cuenta con flujos constantes de entradas y salidas. En un reactor de este tipo, se ingresan los reactivos y se aguarda hasta que la reacción finalice en un lapso determinado. El escritor resalta la relevancia de entender dos conceptos junto con sus respectivas expresiones matemáticas. El primero de estos conceptos es la "Velocidad de consumo o pérdida de un reactivo al reaccionar dentro del volumen del reactor", la cual se expresa como $(-r_A) V$. Aquí, $(-r_A)$ denota la rapidez de reacción de la especie A, mientras que V representa el volumen en el cual tiene lugar la reacción.

La segunda idea se refiere a la "Rapidez con la que se acumula el reactivo dentro del espacio del reactor", que se expone de la siguiente manera:

$$\frac{dN_A}{dt} = \frac{d[N_{A0}(1-X_A)]}{dt} = N_{A0} \frac{dX_A}{dt} \quad (1)$$

Tomando en cuenta N_{A0} como la cantidad inicial de moles de la especie X_A , A como la tasa de conversión y t como el tiempo de residencia, al fusionar estos conceptos en una ecuación, (Coronel, 2014) presenta la siguiente igualdad.

$$(-r_A)V = N_{A0} \frac{dX_A}{dt} \quad (2)$$

La formulación resultante después de realizar la integración es la siguiente:

$$t = N_{A0} \int_0^{X_A} \frac{dX_A}{(-r_A)V} \quad (3)$$

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Caracterización del Área de Estudio

La investigación experimental se llevó a cabo en la ciudad de Ibarra, específicamente en los laboratorios de Análisis fisicoquímicos del Antiguo Hospital San Vicente de Paúl. Estos laboratorios están disponibles para la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte.

3.1.1. Ubicación

En la tabla 2 se detalla la localización del espacio de investigación donde se ejecutó la realización de este proyecto.

Tabla 2

Datos geográficos de Ibarra

Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Parroquia:	El sagrario
Lugar:	Laboratorio de las Unidades Edu-productivas de la carrera de Ingeniería Agroindustrial

Tomado de: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal San Miguel de Ibarra

3.2. Localización del Experimento

La fase experimental de este estudio se llevó a cabo en el laboratorio del antiguo Hospital San Vicente de Paúl, de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA). Este laboratorio se encuentra ubicado entre la avenida Ulpiano de la Torre y Obispo Jesús Yerovi, en Ibarra, Imbabura, con el código postal 100110, en Ecuador.

3.2.1. Características Climatológicas

La tabla 3 proporciona información sobre las condiciones climáticas en la zona donde tuvo lugar la ejecución de este proyecto.

Tabla 3

Características Climatológicas

Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Ubicación:	0°17'30"y 0°22'30" de latitud norte y sur 78°05'00"y 78°09'00" de longitud este y oeste.
Altitud:	2225 m.s.n.m.
Clima:	Se caracteriza por un clima templado seco con una temperatura promedio de 18°C
Precipitación:	623mm/año

Tomado de: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal San Miguel de Ibarra

3.3. Materiales y Equipos

Se emplearon diversos materiales, herramientas, dispositivos y suministros durante la ejecución de este proyecto, los cuales formaron parte integral de los procedimientos llevados a cabo para alcanzar los objetivos establecidos.

3.3.1. Instrumentos

- Probeta (Vol. 50 ml); (Ap.= ± 1 ml)
- Micropipeta (Vol. 100 - 1000 µl); (Ap.= ± 0.5 µl)
- Vasos de precipitación (Vol. 500 ml); (Ap.= ± 100 ml)
- Tubos de ensayo (Vol. 20 ml); (Ap.= no calibrado)
- Frascos de vidrio (Vol. 500 ml); (Ap.= ± 50 ml)
- Erlenmeyer (Vol. 500 ml); (Ap.= ± 50 ml)

- Pipeta (Vol. 5 ml); (Ap.= ± 0.05 ml)
- Pipeta (Vol. 1 ml); (Ap.= ± 0.01 ml)
- Cubetas para espectrofotómetro
- Porta y cubre objetos
- Cajas Petri

3.3.2. Equipos

- Balanza analítica (Ap.= ± 0.01 g)
- Termómetro de mercurio (Ap.= ± °C); Ran = [-20 a +100]°C
- Autoclave (Marca: PHCBI)
- Espectrofotómetro (Marca: Jenway)
- Estufa (Marca: BIOBASE)
- Agitador magnético (Ran:[100 rpm-2200 rpm])
- Microscopio óptico

3.3.3. Materiales e Insumos

- Inulina comercial (Marca: SIGMA)
- Luffa (*Luffa cylindrica*)
- Inulinasa
- Etanol [C_2H_5OH]; (C % 70% a 90 %)
- Papel empaque
- Ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS)
- Cloruro de calcio [$CaCl_2$]; (C % 10%)
- Ácido Cítrico [$C_6H_8O_7$]; (C: 0.2 M)
- Agar PDA
- Agar Nutriente
- Agua Peptona

- Safranina
- Lugol
- Azul de metileno
- Alcohol cetona

3.4. Métodos

Se detalla a continuación los métodos por el cual se desarrolló los objetivos planteados en este documento.

3.4.1. *Determinación de las Condiciones Iniciales del Pretratamiento para Materia Orgánica.*

Para la obtención de las condiciones iniciales de vapor con las que se analizó el pretratamiento en *Luffa cylindrica*, se obtuvo de diferentes investigaciones las cuales se representan en la Tabla 4.

Tabla 4

Condiciones de esterilización aplicado en materias orgánicas

LITERATURA	TIEMPO	TEMPERATURA	PRESIÓN	BIBLIOGRAFÍA
“Efecto del sistema de esterilización orgánica (OSS) en las propiedades nutricionales y funcionales del yacón (<i>Smallantus sonchifolius</i> Poepp. & Endl.)”	1-2 min	100-105 °C	-	(Guevara Pérez et al., 2017)

<p>“Evaluación del proceso de encapsulación por unión química enzimática de inulinasa para la conversión de sustratos de inulina a sirope de fructosa a partir de tuna blanca <i>Opuntia ficus- indica</i>”</p>	35 min	121 °C	103 kPa	(Montalvo, 2020b)
<p>“Estudio clínico comparativo con el uso de malla de polipropileno nueva y re-esterilizada para la reparación de hernias inguinales. ¿Hay diferencia?”</p>	30 min	121 °C	115 kPa	(Cisneros Muñoz, 2005)
<p>“Descontaminación microbiana de la maca (<i>Lepidium meyenii</i>)”</p>	6-8 min	100-105 °C	-	(Guevara et al., 2016)

)
 aplicando el
 sistema de
 esterilización
 orgánica (OSS)
 para
 preservar sus
 propiedades
 nutricionales y
 sensoriales”

“Efecto de la	2-3 min	100-105 °C	20-25 kPa	(Guevara Pérez
aplicación de vapor				et al., 2021)
saturado como				
Sistema de				
Esterilización				
Orgánica (OSS) en				
el ají mirasol				
(Capsicum				
baccatum var.				
pendulum) y en el				
ají panca				
(Capsicum				
chinense Jacq.)”				

Tomado de: Autor

Factor de estudio: Capacidad de retención enzimática en un medio orgánico

(Luffa cylindrica)

Una vez revisada las referencias bibliográficas las condiciones de esterilización de vapor de varias investigaciones muestran variabilidad; sin embargo, para el caso de la *Luffa cylindrica* se tomó como referencia la investigación realizada por (Montalvo, 2020), los parámetros empleados de manera más frecuente se reportan en la Tabla 4.

3.4.1.1. Factores de Estudio

En este estudio, se examinaron los factores de tiempo y temperatura, conforme se describe en las tablas 5 y 6, con el objetivo de identificar la combinación óptima que garantice el tratamiento adecuado.

Los factores de tiempo y temperatura, así como el medio de soporte se tomaron de investigaciones anteriores realizadas en la Universidad Técnica del Norte por (Montalvo, 2020).

Tabla 5

Factor A: Temperatura

NIVEL	TEMPERATURA (°C)
T1:	80
T2:	100
T3:	121

Tomado de: Autor

Tabla 6*Factor B: Tiempo*

NIVEL	TIEMPO (min)
S1:	15
S2:	35
S3:	55

Tomado de: Autor

Así mismo se representa las combinaciones de estos factores, dando un total de nueve combinaciones, mismos que se ilustran en la tabla 7.

Tabla 7*Tratamientos*

N°. de tratamientos	Factor A	Factor B	Combinaciones
1	S1	T1	S1T1
			S1T2
			S1T3
2	S2	T2	S2T1
			S2T2
			S2T3
3	S3	T3	S3T1
			S3T2
			S3T3

Tomado de: Autor

Para el presente trabajo de investigación se estableció nueve tratamientos con tres repeticiones cada uno dando un total de veintisiete unidades experimentales.

3.4.1.2. Análisis de Microorganismos Presentes en *Luffa Cylindrica*

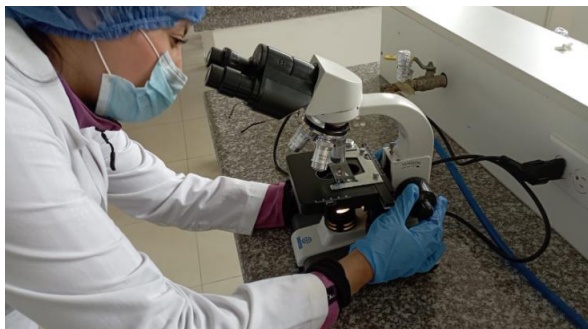
Debido a su estructura fibrosa y porosa, las esponjas tienden naturalmente a absorber impurezas ambientales, incluyendo mohos, levaduras, hongos y bacterias, además de retener iones metálicos en su superficie rugosa y escamosa. Estas características les otorgan propiedades adsorbentes beneficiosas en pruebas para la eliminación e inmovilización de microorganismos (Pereira et al., 2017). En resumen, investigaciones revisadas confirman que las fibras de la *Luffa cylindrica* tienen una alta capacidad demostrada para retener sustancias contaminantes.

Para verificar que la *Luffa cylindrica* se encuentre totalmente estéril, se realizaron análisis microbiológicos, los cuales indicaron la presencia o ausencia de microorganismos ya sean estos hongos, bacterias o levaduras. Para ello se utilizó un microscopio óptico y dos tipos de medio de cultivo, como se indica en las figuras 9 y 10.

El medio de cultivo que se utilizó para detectar organismos fúngicos fue agar PDA, el cual es rico en dextrosa, un tipo de azúcar que permite el crecimiento de dichos agentes patógenos. Además, se empleó agar nutriente, el cual contiene extracto de carne, peptona y otros nutrientes que proporcionan una fuente rica de alimentos esenciales para el desarrollo bacteriano. Cada sustrato se realizó con una relación de 39 g y 28 g en 1000 ml de agua, respectivamente.

Figura 9

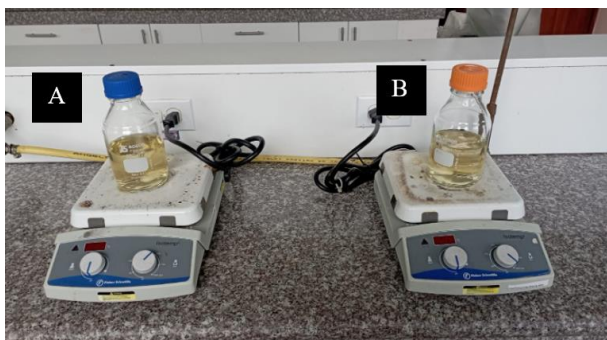
Observación de microorganismos



Tomado de: Autor

Figura 10

Clarificación de medios de cultivo; A) Agar PDA. B) Agar Nutriente.



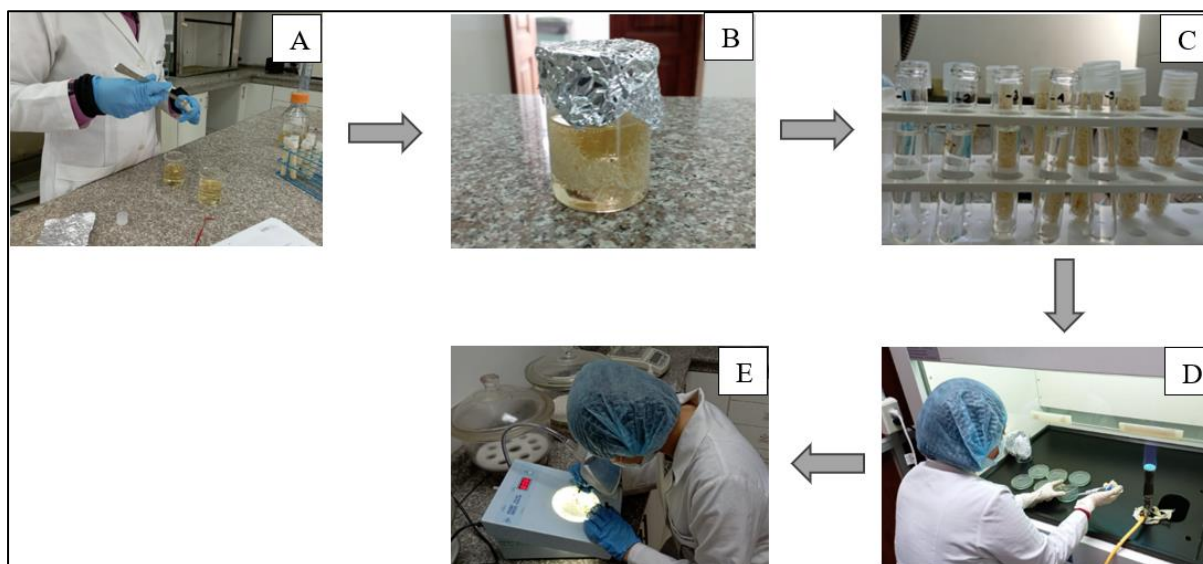
Tomado de: Autor

Los cultivos se realizaron con *Luffa cylindrica* estéril y no estéril, con el fin de comprobar cuál de las condiciones iniciales de pretratamiento establecidas es la indicada para la retención enzimática.

Una vez que se estableció la presencia de microorganismos en el material orgánico se realizó la siembra en cajas Petri colocando *Luffa cylindrica* en agua peptona dejando reposar 120 min, con diluciones de 10^{-5} para facilitar el conteo de microorganismos, como se indica en la figura 11. Además, se llevó a incubación con una temperatura de 37 °C por un tiempo de 48 h para agar nutriente y 72 h agar PDA.

Figura 11

Procedimiento para el análisis de agentes patógenos; A) Colocación de luffa en agua peptona, B) Reposo de Luffa en agua peptona (120 min), C) Diluciones 10^{-5} , D) Siembra de microorganismos, E) Conteo de agentes microbianos.



3.4.2. Valoración de las Condiciones de Vapor para la Retención Enzimática.

Se escogió la mejor condición de vapor, la cual fue evaluada en la determinación de las condiciones iniciales de pretratamiento para la materia orgánica. Con la ayuda de tablas termodinámicas (tabla 8), se inyectó directamente al recipiente que contenía el soporte orgánico, el tipo de vapor que indicó el tablero, como se muestra en la figura 12.

Tabla 8

Tablas termodinámicas de Cengel

Agua Saturada (Tablas termodinámicas de Cengel)			
Presión.,	Temperatura Sat.	Líquido Saturado	Vapor Saturado
P kPa	Tsat °C	Vf (m ³ / kg)	Vg (m ³ / kg)
150	111.35	0.001053	1.1594

Tomado de:

Figura 12*Inyección de vapor al material orgánico***Tomado de:** Autor

Uno de los factores que influyó directamente en el pretratamiento del material orgánico para la inyección de vapor, fue la presión, debido a que las condiciones adecuadas que se tomaron en los ensayos con autoclave fueron de 15 min a 120 °C con una presión de 0.15 MPa.

Con este último dato referencial, el resultado de la introducción de vapor y la ayuda de tablas termodinámicas, se obtuvo la información necesaria para evaluar la calidad de vapor que expulsa la caldera, ubicada en las Unidades Eduproductivas de la Universidad Técnica del Norte, determinando si es o no factible su uso para la esterilización y a su vez la retención enzimática.

Para la valoración de la calidad de vapor se utilizó las siguientes ecuaciones:

- **Masa de un vapor**

$$m = n \times M \tag{4}$$

Donde:

m : es la masa del vapor

n : es el número de moles

M : es la masa molar del vapor

- **Ecuación de gases ideales**

$$PV = nRT \quad (5)$$

$$n = \frac{PV}{RT} \quad (6)$$

Donde:

n: es el número de moles

P: es la presión del vapor

V: volumen ocupado por el vapor condensado

R: es la constante de los gases

T: temperatura del vapor

- **Masa molar**

$$M = \sum \text{Masas atómicas de los átomos de una molécula o fórmula química} \quad (7)$$

- **Masa de un líquido**

$$m_L = \rho_L \times V_L \quad (8)$$

Donde:

m_L : masa del líquido

ρ_L : densidad del líquido

V_L : volumen del líquido

- **Ecuación de la conservación de la masa en un estado vapor-líquido**

$$m_T = m_V + m_L \quad (9)$$

Donde:

m_T : es la masa total

m_V : masa del vapor

m_L : masa del líquido

- **Ecuación título de vapor**

$$x = \frac{m_v}{m_T} \quad (10)$$

Donde:

x : es el título o calidad de vapor

m_v : masa del vapor

m_L : masa del líquido

- **Ecuación de Interpolación lineal**

$$Y = Y_0 + \frac{Y_1 - Y_0}{x_1 - x_0} (x - x_0) \quad (11)$$

Donde:

X : es el valor para el cual se quiere interpolar Y

X_1 y X_0 : son las coordenadas X de los dos puntos conocidos

Y_1 y Y_0 : son las coordenadas Y de los dos puntos conocidos

3.4.3. Evaluación de la Cantidad de Retención Enzimática que presenta la Materia Orgánica (*Luffa cylindrica*)

Según (Cebrián, 2020) la preservación de enzimas desempeña un papel crucial en el fortalecimiento de su estabilidad, facilitando su aplicación en distintos sectores industriales como la fabricación de productos químicos, fármacos y alimentos, así como en la gestión de residuos, el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, y otras aplicaciones.

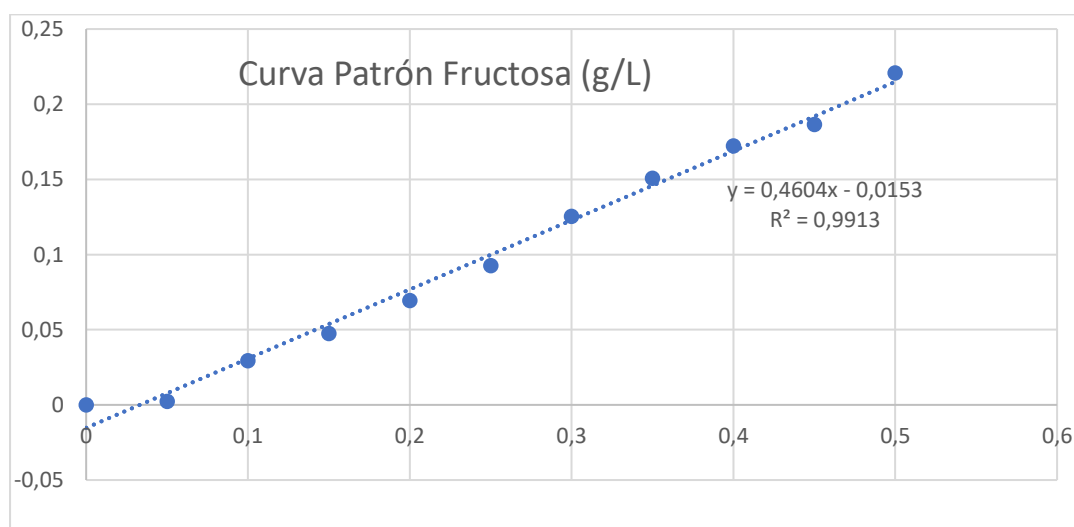
Se llevó a cabo la inmovilización de la enzima mediante un proceso que involucró la esterilización previa del medio orgánico. Posteriormente, se procedió a cortar el medio en fragmentos de 1 cm de ancho por 10 cm de largo. Estos fragmentos fueron sumergidos en una solución de ácido cítrico 0.2 M con una proporción de 1:50 (m/v). La mezcla se agitó durante 30 minutos utilizando una placa magnética. Luego, los fragmentos fueron transferidos a una estufa a 100 °C durante 60 minutos. Finalmente, se eliminó el exceso de ácido cítrico mediante un lavado con agua destilada, y los fragmentos se secaron nuevamente en la estufa.

La descripción anterior se extrae de Montalvo (2020), quien detalla los requisitos necesarios para activar la estructura vegetal y la función del brazo espaciador con el fin de emplearla en la inmovilización de la enzima inulinasa. Además, se aplicó una dilución de 250 μl de enzima en 750 μl de agua destilada, y se introdujo en un tubo de ensayo de 15 ml con medio de soporte orgánico ya activado, preparando así el reactor batch para el proceso de hidrólisis.

En relación con la eficiencia del experimento, se empleó el método de Miller o el método del ácido 3.5-dinitrosalicílico (DNS). Para llevar a cabo esto, se siguió una dilución según las indicaciones de Díaz (2020). Para el procedimiento, se disolvieron 0.8 g de NaOH en agua destilada, luego se añadieron 15 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado, junto con 0.5 g de DNS, y la mezcla se completó a 50 ml con agua destilada. Es fundamental almacenar esta solución en un frasco ámbar a una temperatura de 4°C. Además, fue necesario llevar a cabo una curva de calibración para la fructosa (figura 13). En los procesos de conversión enzimática o hidrólisis de la misma, se utilizó un espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm como referencia.

Figura 13

Curva patrón de Fructosa



Tomado de: Autor

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se exponen minuciosamente los resultados alcanzados durante la investigación con el propósito de cumplir con los objetivos establecidos. La mayoría de los datos presentados fueron recopilados mediante el uso del programa Excel en su versión 2010, así como a través del programa RStudio.

3.1. Determinación de las Condiciones Iniciales del Pretratamiento para Materia Orgánica.

Según (Pereira, Muñoz, & Peluffo, 2017) debido a la composición fibrosa y porosa de las fibras, las esponjas tienden a absorber fácilmente impurezas del entorno. Así mismo, su superficie áspera y escamosa favorece la retención de iones metálicos. Estas atribuciones son las causantes de las propiedades de adsorción que hacen que sean útiles en pruebas de remoción e inmovilización de microorganismos.

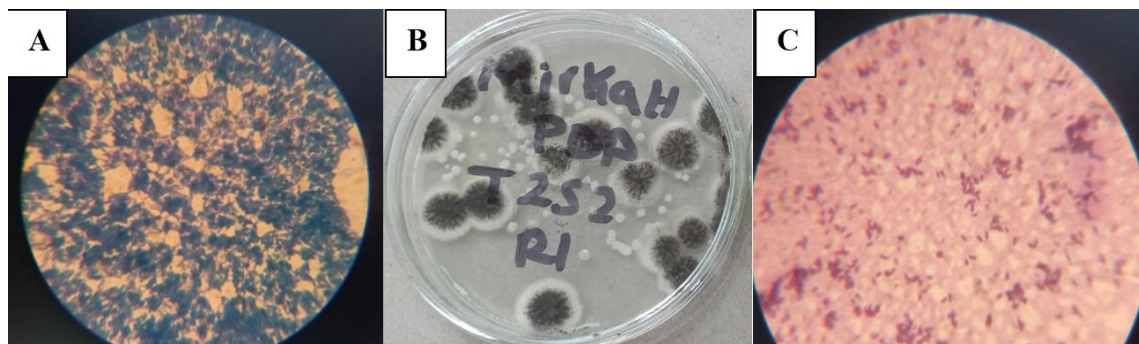
Autores como (Pérez et al., 2018) garantizan que el autoclave a una presión de 1.5 bar (alcanzando 121 °C) durante 20 a 30 min, asegura la muerte de numerosos microorganismos. La inactivación de formas vegetativas, bacteriófagos y streptofagos puede ocurrir entre los 60 y 100 °C en pocos minutos, mientras que los virus requieren temperaturas entre 60 y 80 °C. La resistencia de las esporas es variable, algunas pueden inactivarse a temperaturas entre 100 y 105 °C, pero otras, como las del género *Clostridium* y *Bacillus*, pueden necesitar tratamientos a 140 °C.

Por lo que, en la presente investigación, se analiza los microorganismos existentes en el material orgánico y las condiciones de tiempo y temperatura a las que debe ser sometido para su esterilidad, por lo cual se realizaron ensayos en autoclave para que dichos parámetros puedan ser replicados por medio de inyección directa de vapor.

La cantidad de microorganismos en *Luffa cylindrica* puede cambiar según el entorno de cultivo, la higiene durante el proceso de cultivo y la manipulación después de la cosecha. Diversos microorganismos que podrían estar presentes en la *Luffa cylindrica*, son: mohos levaduras, bacterias y hongos. Por lo cual, con el propósito de establecer un punto de partida, se llevó a cabo la inoculación de 1 ml de solución peptona que contenía material orgánico no esterilizado, en cajas de Petri con sustratos como Agar PDA y Agar Nutriente con el objetivo de obtener datos fundamentales acerca de la cantidad de bacterias, hongos y levaduras presentes en la Luffa, sin aplicar ningún tratamiento térmico como lo indica la figura 14. Todos los detalles de esta recopilación de información se encuentran detallados en la Tabla 9.

Figura 14

Microorganismos presentes en Luffa Cylindrica sin tratamiento térmico; A) Levaduras, B) Hongos, C) Bacterias



Tomado de: Autor

Tabla 9

Presencia de microorganismos sin tratamiento térmico

Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio de
Térmico – T° (295.15 K)	(UFC/g)	(UFC/g)	(UFC/g)	las tres Réplicas (UFC/g)
Bacterias	4677	4526	5002	4735

Hongos	6	8	7	7
Levaduras	456	506	487	483

Tomado de: Autor

Tras disponer de una amplia base de datos, se procedió a llevar a cabo un minucioso conteo de colonias en condiciones variadas de temperatura y tiempo. Todos estos datos se encuentran detallados en el Anexo I.

Luego de completar el análisis, se pudo demostrar inequívocamente que el tratamiento más efectivo en términos generales consistió en someter las muestras a 121°C durante 15 minutos.

Con la ayuda del programa RStudio, se realizó un análisis estadístico (ANOVA) para evaluar las diferencias entre el factor de la temperatura y el factor del tiempo. Los resultados revelan claramente que la temperatura juega un papel fundamental en comparación con el tiempo. Específicamente, se constató que cuando la temperatura alcanza los 121°C, todos los microorganismos sufren una notable disminución en su ritmo de crecimiento, además de demostrar que el tiempo no tiene un efecto significativo en este proceso. Dichos resultados se muestran en la tabla 10.

Tabla 10

ANOVA decrecimiento de microorganismos

Fuente	Suma de Cadrados	GL	Cuadrados medios	F-value	P-value	
Microorganismos	37803350	2	18901675	289.78	< 2e-16	significativo
Temperatura	2646759	1	2646759	40.58	1.32e-08	significativo
Tiempo	148733	1	148733	2.28	0.135	

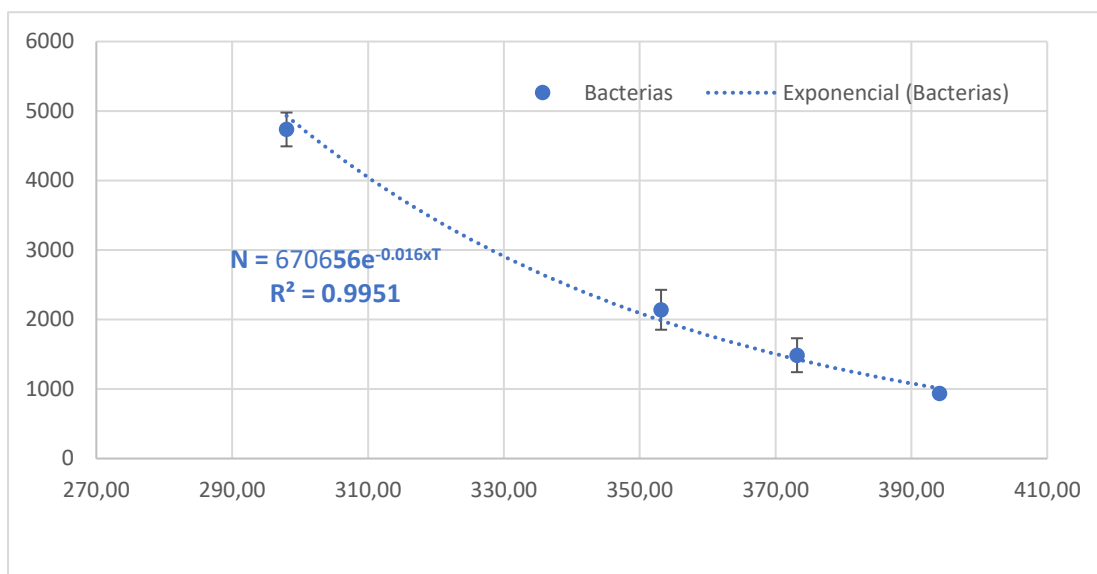
Residual 4957342 76 65228

Tomado de: Autor

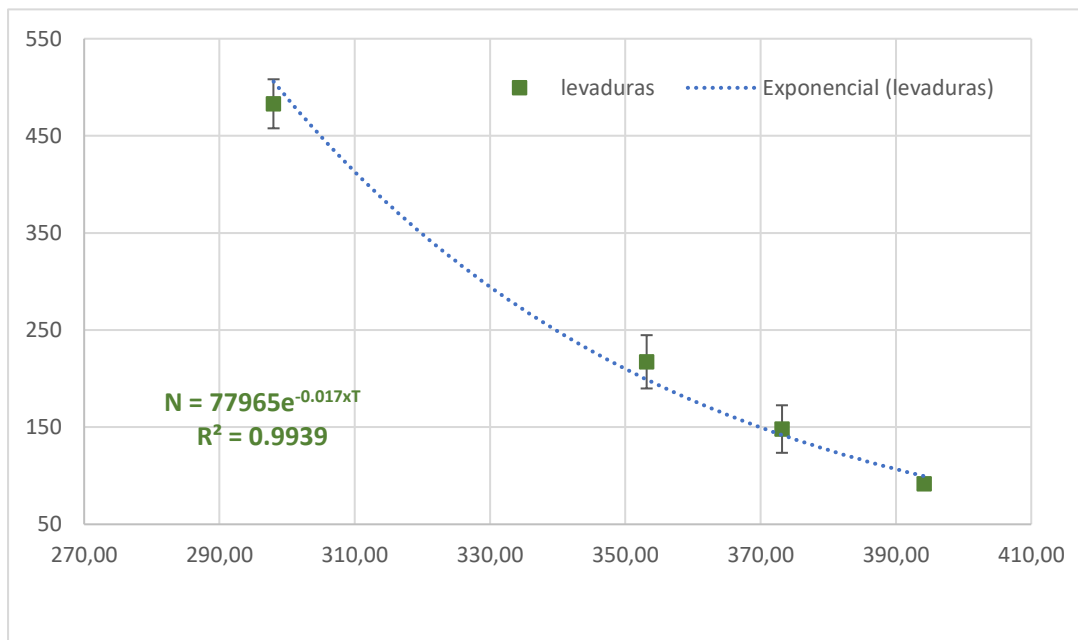
En Las figuras 15 y 16 se puede observar la disminución de crecimiento de las poblaciones de bacterias y levaduras observando un declive más pronunciado.

Figura 15

Decrecimiento Exponencial de Bacterias

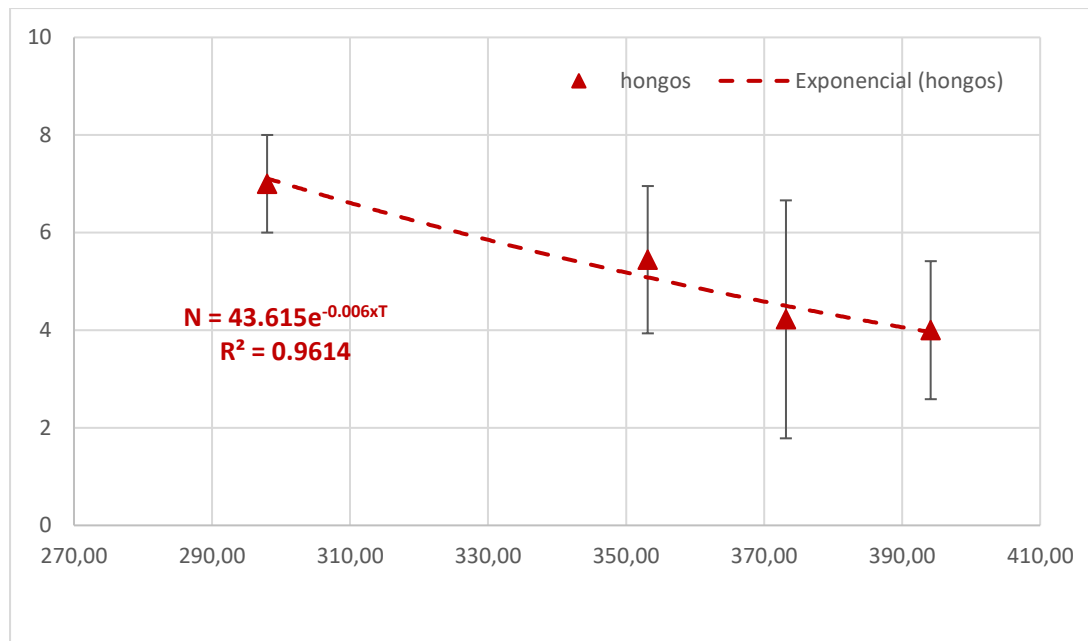


Tomado de: Autor

Figura 16*Decrecimiento Exponencial de Levaduras*

Tomado de: Autor

Los microorganismos, como hongos, requieren más temperaturas elevadas para su crecimiento, ya que su disminución no fue evidente tanto para las bacterias como levaduras. Aunque fue un proceso lento, su coeficiente de determinación (R^2) sigue siendo considerado satisfactorio. Los datos de esta aseveración se encuentran detallados en la Figura 17.

Figura 17*Decrecimiento exponencial en hongos***Tomado de:** Autor

3.2. Valoración de las Condiciones de Vapor para la Retención Enzimática.

En las últimas seis décadas, los métodos de esterilización de medios líquidos apenas han cambiado, basándose en principios de ingeniería química y transferencia de calor. Destacan la esterilización en tanques enchaquetados, la inyección directa de vapor y la esterilización en línea con intercambiadores de calor. La esterilización de vapor a gran escala es popular por su simplicidad y eficiencia, evitando superficies intermedias y sistemas de recuperación de condensados (Pérez et al., 2018).

La esterilización por inyección de vapor ofrece ventajas como la mejora de la eficiencia operativa al eliminar la necesidad de detener y reiniciar continuamente la producción. Además, contribuye a mantener de manera más efectiva las características nutricionales y sensoriales de los alimentos en contraste con ciertos procedimientos convencionales de esterilización. Es por ello por lo que se le ha dado un mayor enfoque para su estudio en este proyecto de investigación.

Por medio de la determinación de las condiciones iniciales de pretratamiento en *Luffa cylindrica* se pudo determinar la calidad de vapor misma que fue replicada por el ensayo óptimo de esterilización realizado previamente en autoclave. La línea de vapor que fue utilizada se ubica en las Unidades Eduproductivas de la Universidad Técnica del Norte.

Para obtener los datos que establecen la calidad de vapor, fue necesario el uso de un manómetro y válvula para controlar la presión a la que sale la inyección. Se decidió realizar esta replica por medio de esta última condición ya que es más fácil su control y las herramientas para llegar a la presión requerida son prácticas para su uso.

Después de realizar la inyección de vapor y la determinación de la temperatura por medio de tablas termodinámicas (tabla 11) se obtuvo la cantidad de 80 ml de vapor condensado por 15 s o lo que es igual 0.0048 m^3 por 15 min (figura 18), tiempo que se estableció en el ensayo con autoclave.

Tabla 11

Tablas termodinámicas

Agua Saturada (Tablas termodinámicas)			
Presión.,	Temperatura Sat.	Líquido Saturado	Vapor Saturado
P kPa	Tsat °C	Vf (m^3 / kg)	Vg (m^3 / kg)
150	111.35	0.001053	1.1594

Tomado de: (Cengel & Boles, 2011)

Figura 18*Volumen de vapor condensado*

Tomado de: Autor

Para el cálculo de la calidad de vapor se usó diferentes ecuaciones, como se muestra a continuación:

- Cálculo de interpolación lineal para densidad de vapor condensado

Por medio de tablas termodinámicas la densidad del agua a 111.35 °C o 384.5 K se ubica entre los valores de 111 y 112 °C con densidades de 0.853 kg/m³ y 0.880 kg/m³ respectivamente.

Sustituyendo los valores en la ecuación (11) se obtuvo:

$$Y = Y_0 + \frac{Y_1 - Y_0}{X_1 - X_0} (x - x_0)$$

$$Y = 0.880 + \frac{0.853 - 0.880}{111 - 112} (111.35 - 112)$$

$$Y = 0.862 \text{ kg/m}^3$$

- Cálculo de masa de vapor

Para el cálculo de la masa de vapor se utilizó la ecuación de los gases ideales para obtener n y sustituir en la ecuación (4). Los datos para el cálculo de n son los siguientes: P: 150 kPa (150000 Pa), V: 0.0062 m³, R: 8.314 J/mol x K, T: 111.35 °C (384.5 K).

Sustituyendo valores en la ecuación (6):

$$n = \frac{PV}{RT}$$

$$n = \frac{(150000 \text{ Pa})(0.0062 \text{ m}^3)}{(8.314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \times \text{K}})(384.5 \text{ K})}$$

$$n = \frac{(930 \text{ Pa} \times \text{m}^3)}{(8.314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \times \text{K}})(384.5 \text{ K})}$$

$$n = \frac{(930 \text{ J})}{(8.314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \times \text{K}})(384.5 \text{ K})}$$

$$n = \frac{(930 \text{ J})}{(8.314 \text{ mol}^{-1} \times \text{K}^{-1})(384.5 \text{ K})}$$

$$n = 0.290 \text{ mol}$$

Además, se realizó el cálculo de masa molar del vapor de agua. Ecuación (7).

$$M = \sum \text{Masas atómicas de los átomos de una molécula o fórmula química}$$

$$M = (2 \times \text{masa atómica de H}) + (1 \times \text{masa atómica de O})$$

$$M = (2 \times 1.01\text{u}) + (1 \times 16.00\text{u})$$

$$M = 18.02 \text{ u}$$

$$M = 18.02 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

Sustituyendo el valor de n y M en la ecuación (4) para el cálculo de la masa de vapor

$$m = n \times M$$

$$m = 0.290 \text{ mol} \times 18.02 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$m = 5.22 \text{ g}$$

$$m = 0.00522 \text{ kg}$$

- Cálculo masa del líquido de vapor condensado

Con el resultado de la interpolación de densidades y el volumen ocupado por el condensado de vapor, se obtuvo el siguiente resultado por medio de la ecuación (8).

$$m_L = \rho_L \times V_L$$

$$m_L = 0.862 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \times 0.0048 \text{ m}^3$$

$$m_L = 0.00413 \text{ kg}$$

- Ecuación de la conservación de la masa en un estado vapor-líquido, ecuación (9)

$$m_T = m_V + m_L$$

$$m_T = 0.00522 \text{ kg} + 0.00413 \text{ kg}$$

$$m_T = 0.00935 \text{ kg}$$

- Finalmente se sustituyen valor en la ecuación para el cálculo del título de vapor mediante la ecuación (10)

$$x = \frac{m_V}{m_T}$$

$$x = \frac{0.00522}{0.00935}$$

$$x = 0.55$$

$$x = 55.82 \%$$

La calidad del vapor se refiere a la cantidad o proporción de vapor presente en una combinación de vapor y líquido. Esta fracción de vapor puede oscilar entre 0 y 1. Un valor de 0 indica que la mezcla está completamente en estado líquido, mientras que un valor de 1 indica que la mezcla está completamente en estado de vapor.

En este caso, una calidad de vapor de 0.55, significa que aproximadamente la mitad de la mezcla está en forma de gas, y la otra mitad está en estado líquido. Es un indicador importante en sistemas de vapor, como en la ingeniería de procesos y la termodinámica, ya que afecta las propiedades y el comportamiento de la mezcla en términos de temperatura, presión y otras características termodinámicas.

Los resultados que se muestran en la tabla 11, indican la esterilización de los distintos microorganismos por línea de vapor (LV), esterilización en autoclave (A) y material orgánico sin tratamiento (ST) donde se observa que debido a la calidad del gas, la Luffa se encuentra

menos estéril, ya que el recipiente que contenía al soporte orgánico no estuvo totalmente sellado, provocando pérdida de vapor y acumulación de condensado y como consecuencia, se vio afectada la eficacia del proceso de esterilización.

Tabla 12

Resultados comparativos de crecimiento microbiano a los que fue sometido el medio de soporte (Luffa Cylindrica); ST (Sin tratamiento), LV (Línea de vapor), A (Autoclave)

Tratamiento	R1	R2	R3	Promedio	UFC/g; 37°C/72h
BACTERIAS					
ST	4677	4526	5002	4735	0.04735
LV	1535	1594	1667	1598.7	1.60E-02
A	945	873	987	935	9.35E-03
LEVADURAS					
ST	456	506	487	483	4.83E-03
LV	170	163	145	159.3	1.59E-03
A	93	86	90	89.7	8.97E-04
HONGOS					
ST	6	8	7	7	7.00E-05
LV	7	5	2	4.7	4.67E-05
A	2	6	3	3.7	3.67E-05

Tomado de: Autor

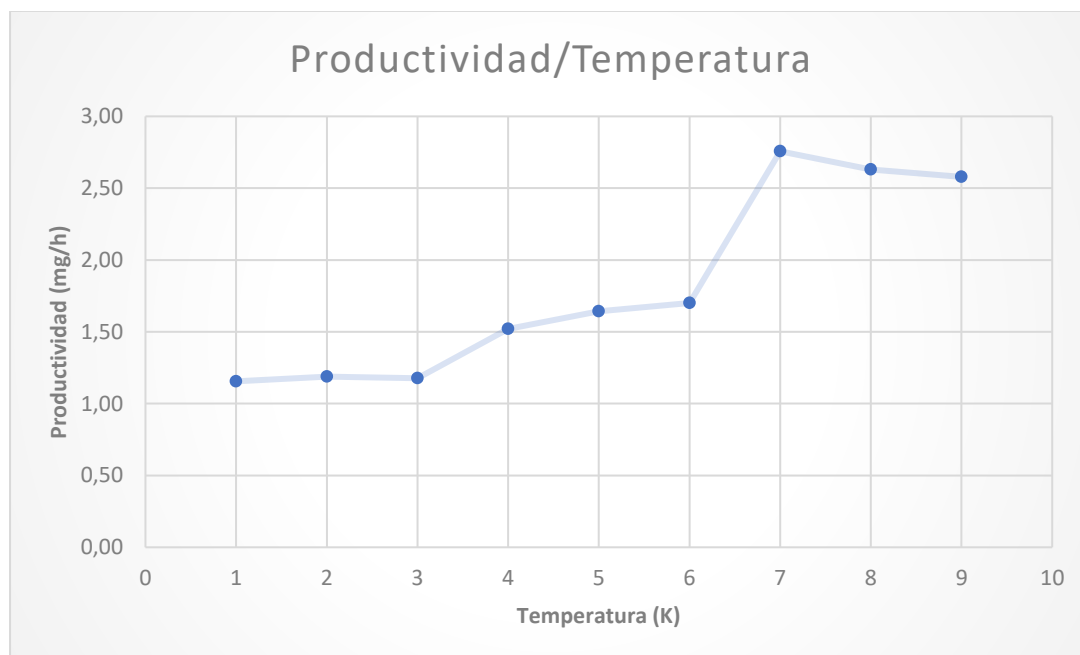
3.3. Evaluación de la Cantidad de Retención Enzimática que Presenta la Materia Orgánica (*Luffa cylindrica*)

Con el método DNS, que fue empleado por Montalvo (2020) en su estudio, se llevó a cabo la creación de una curva patrón de fructosa (ver Anexo II). Este proceso se realizó

utilizando un espectrofotómetro con una longitud de onda de 540 nm. Dicha curva patrón fue aplicada para cuantificar las muestras obtenidas durante el experimento (ver Anexo II). Los resultados del reactor tipo *batch* se detallan en la figura 19.

Figura 19

Resultados Productividad/Temperatura



Tomado de: Autor

La Figura 19 muestra cómo la productividad varía en función del tratamiento térmico aplicado. Es evidente que el tratamiento en autoclave a 394.15 K resulta en una productividad determinada más alta en comparación con los tratamientos realizados a 384.5 y 295.15 K. Estos últimos fueron realizados utilizando línea de vapor, sin aplicar ningún tratamiento térmico, respectivamente.

Es interesante notar que no hay una diferencia significativa entre el tratamiento con línea de vapor y el tratamiento a temperatura ambiente. Esto sugiere que la eficacia de retención enzimática está directamente relacionada con la esterilización a la que se somete a la *Luffa cylindrica*, debido a la formación de un brazo espaciador en su estructura la cual permite mayor retención enzimática.

CAPÍTULO IV

4.1. Conclusiones

- Se destaca que algunos microorganismos, como los hongos, presentan una mayor complejidad para su erradicación en comparación con bacterias y levaduras, cuyo crecimiento disminuye a bajas temperaturas. Asimismo, se señala que el factor tiempo no posee relevancia como la temperatura, ya que el análisis de varianza (ANOVA) demuestra que la esterilidad se ve influenciada por la temperatura a la que se expone el material orgánico. En otras palabras, la temperatura desempeña un papel fundamental en la esterilidad, mientras que el tiempo parece tener un efecto menos significativo en este aspecto. Es crucial considerar estos factores para asegurar la eliminación efectiva de microorganismos.
- La calidad del vapor utilizada durante el proceso de esterilización del material orgánico no es óptima, dado que se ha detectado una acumulación significativa de condensado dentro del recipiente que alberga el material. Este exceso de condensado propicia la contaminación del material orgánico, lo cual afecta negativamente el proceso de esterilización.
- Se ha identificado que la esterilización tiene un impacto directo en la retención enzimática. Al emplear una línea de vapor en lugar de autoclave, se ha observado una disminución significativa en la productividad y el aprovechamiento del material orgánico. De hecho, la inmovilización enzimática se reduce aproximadamente a la mitad, alcanzando un 50% menos de eficiencia.

4.2. Recomendaciones

- Se sugiere utilizar un método de secado con aire seco, debido a que, al tratarse de la *Luffa* un material sólido, este proceso facilita que la misma alcance el nivel de esterilidad requerido.

Este método de secado se presenta como una opción favorable para asegurar la completa esterilización de la *Luffa* dadas sus características sólidas.

- Resulta imprescindible tener en cuenta las variaciones y deficiencias que existen entre el proceso con línea de vapor y autoclave, como el material donde se contiene a la *Luffa cylindrica*, con el propósito de asegurar un rendimiento óptimo sin pérdidas de vapor y una retención enzimática más efectiva en el material orgánico. Es vital considerar estos factores para lograr un rendimiento mejorado y una mayor eficiencia en la retención de enzimas en el material orgánico.

CAPÍTULO V

5.1. Bibliografía

- Castillo, A., & Chamy, R. (2010). *Producción de inulinasa por levaduras de Kluyveromyces marxianus*. *Inulinase production by yeast Kluyveromyces marxianus*.
<https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633696007.pdf>
- Castillo, P., García, R., & Durán De Bazúa, C. (2003). El consumo de fructosa: Riesgos para la salud y la economía. *Ciencia*, 79.
https://amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/54_2/consumo_fructuosa.pdf
- Cebrián, S. (2020). *Nuevos métodos y soportes para la inmovilización de enzimas*.
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/147843/Cebri%C3%A1n%20-%20Nuevos%20m%C3%A9todos%20y%20soportes%20para%20la%20inmovilizaci%C3%B3n%20de%20enzimas.pdf?sequence=1>
- Cengel, Y., & Boles, M. (2011). *Termodinámica* (P. Vázquez & A. L. Delgado, Eds.; Séptima Edición). McGraw Hill.
https://www.academia.edu/39821820/Termodin%C3%A1mica_Cengel_and_Boles_7ma_edici%C3%B3n
- Chenesi, M. (2020). *Inulinasa de Aspergillus kawachii IFO 4308: caracterización, clonado, sobreexpresión, y aplicación en procesos biotecnológicos*.
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/112959/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Cisneros Muñoz, H. (2005). *Estudio clínico comparativo con el uso de malla de polipropileno nueva y re-esterilizada para la reparación de hernias inguinales. ¿Hay diferencia?* (Vol. 27). <https://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2005/cg054d.pdf>

- Coronel, J. (2014). “*Diseño y construcción de un reactor tipo batch, Universidad Internacional SEK*” [Universidad Internacional SEK].
<https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/1006/1/%E2%80%9CDise%C3%B1o%20y%20construcci%C3%B3n%20de%20un%20reactor%20tipo%20batch%2C%20Universidad%20Internacional%20SEK%E2%80%9D.pdf>
- Esterilización Procedimientos Relacionados.* (2015).
<https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448164180.pdf>
- Fierro, J. C. (2020). Entre la comprensión y la predicción del funcionamiento de catalizadores sólidos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 14(26), 2e–3e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2021.26.69645>
- Guevara, A., Nolzco, D., Cancino, K., & Oliva, C. (2016). Microbial decontamination of maca (*Lepidium meyenii*) applying organic sterilization system (OSS) to preserve its nutritional and sensory properties. *Scientia agropecuaria*, 7(1), 59–66.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.01.06>
- Guevara Pérez, A., Cancino Chávez, K., & Llontop, G. (2017). *Efecto del sistema de esterilización orgánica (OSS) en las propiedades nutricionales y funcionales del yacón (Smallantus sonchifolius Poepp. & Endl.)* (Vol. 83, Número 3).
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n3/a06v83n3.pdf>
- Guevara Pérez, A., Villanueva-Quejia, E., Nolzco Cama, D., Llontop, G., & Cancino Chávez, K. (2021). Efecto de la aplicación de vapor saturado como Sistema de Esterilización Orgánica (OSS) en el ají mirasol (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*) y en el ají panca (*Capsicum chinense* Jacq.). *Enfoque UTE*, 12(3), 1–10.
<https://doi.org/10.29019/enfoqueute.675>

- Ibáñez, S. (2020). *SISTEMAS DE CONTROL “ON LINE” DE REACTORES QUIMICOS BATCH*. <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/185196/Memoria.pdf>
- Lara, M., Julián, M., Pérez, A., Benites, I., & Lara, P. (2017). Avances en la Producción de Inulina. *Tecnología Química*, 37, 222. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445551175005>
- López, M. (2015). *Degradación de Limonina por Células de Rhodococcus fascians Inmovilizadas por Atrapamiento en Criogeles de Alcohol Polivinílico y Perlas Huecas de Alginato de Calcio. Aplicación en Zumos*. https://riubu.ubu.es/bitstream/handle/10259/5115/L%c3%b3pez_Fouz.pdf?sequence=6&isAllowed=y
- Montalvo, D. (2020a). “*Evaluación del proceso de encapsulación por unión química enzimática de inulinasa para la conversión de sustratos de inulina a sirope de fructosa a partir de tuna blanca Opuntia ficus- indica*” [Título Profesional]. Universidad Técnica del Norte.
- Montalvo, D. (2020b). *Evaluación del proceso de encapsulación por unión química enzimática de inulinasa para la conversión de sustratos de inulina a sirope de fructosa a partir de tuna blanca Opuntia ficus-indica*.
- Navarrete, L., Martínez, D., & Duarte, E. (2009). *Caracterización Preliminar del Estropajo “Luffa Cylindrica” como Posible Materia Prima para Construcción*. www.plantopiagifts.com/images/img_luffa
- Pereira, R., Muñoz, J. F., & Peluffo, D. (2017). Empleo del estropajo común (*Luffa cylindrica*) en remoción de contaminantes. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* , 8, 208. <file:///C:/Users/Mar%C3%ADa%20Ang%C3%A9lica/Downloads/Dialnet-EmpleoDelEstropajoComunLuffaCylindricaEnLaRemocion-6285714.pdf>

- Pérez Cruz, E., Elizabeth Serralde Zúñiga, A., & Meléndez Mier, G. (2007). Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 15(2), 68. <https://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2007/er072b.pdf>
- Perez, C., Gonzáles, N., Pérez, E., Moreira, A., & Salazar, E. (2018). *Cálculos para la esterilización por inyección directa de vapor del medio de cultivo empleado en la producción de HeberNem*. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v37n3/rtq10317.pdf>
- Riveros, M. J., Parada, A., & Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud; malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutricion Hospitalaria*, 29(3), 492. <https://doi.org/10.3305/NH.2014.29.3.7178>
- Romel, M., Apunte, G. C., Mauricio, Á., & Arcos, T. (2011). *Reingeniería del Sistema de Distribución de Vapor al Área de Lavandería y Cocina del Hospital Gineco Obstétrico "Isidro Ayora"*. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4421/1/CD-4016.pdf>
- Sadeghian Khalajabadi, S. (2017). *LA MATERIA ORGÁNICA*. <https://biblioteca.cenicafe.org/jspui/bitstream/10778/1113/3/libroMO.pdf>
- Salazar, J., Lizardi, J., Ramírez, J., García, G., Ezquerro, J., Valenzuela, E., Carvallo, M., Lugo, M., & Pacheco, R. (2013). *Utilización de Materiales a Base de Quitina y Quitosano en la Inmovilización de Proteasas: Efectos en su Estabilización y Aplicaciones*. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n1/v13n1a11.pdf>
- Sincal. (2018). Conceptos Básicos de Vapor. *Sistemas Industriales de Calderas, S.L.* , 2–2. <https://sincal.es/descargas/conceptos-basicos.pdf>
- Soto-Arteaga, C. E., Gutiérrez-López, E. D., Esqueda-Barrón, Y., & Díaz de León, J. N. (2023). Breve revisión sobre la síntesis de los nanomateriales más usados como soportes y catalizadores en diversas aplicaciones. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en*

Nanociencias y Nanotecnología, 16(31), 2e.

<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.31.69777>

ANEXOS

Anexo I.

Aplicación de tratamiento térmico a los diferentes m/o

m/o	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Promedio UFC/g; 37°C/72h
Bacterias	80	15	2677
Bacterias	80	15	2576
Bacterias	80	15	2002
Bacterias	80	35	1987
Bacterias	80	35	2021
Bacterias	80	35	2103
Bacterias	80	55	1834
Bacterias	80	55	2092
Bacterias	80	55	1974
Bacterias	100	15	1687
Bacterias	100	15	1764
Bacterias	100	15	1634
Bacterias	100	35	1378
Bacterias	100	35	1437
Bacterias	100	35	1645
Bacterias	100	55	1187
Bacterias	100	55	1045
Bacterias	100	55	1606
Bacterias	121	15	945

Bacterias	121	15	873
Bacterias	121	15	987
Bacterias	121	35	967
Bacterias	121	35	958
Bacterias	121	35	898
Bacterias	121	55	975
Bacterias	121	55	914
Bacterias	121	55	928
Hongos	80	15	6
Hongos	80	15	5
Hongos	80	15	8
Hongos	80	35	7
Hongos	80	35	3
Hongos	80	35	5
Hongos	80	55	5
Hongos	80	55	6
Hongos	80	55	4
Hongos	100	15	8
Hongos	100	15	0
Hongos	100	15	3
Hongos	100	35	5
Hongos	100	35	7
Hongos	100	35	4
Hongos	100	55	5

Hongos	100	55	4
Hongos	100	55	2
Hongos	121	15	2
Hongos	121	15	6
Hongos	121	15	3
Hongos	121	35	4
Hongos	121	35	5
Hongos	121	35	3
Hongos	121	55	4
Hongos	121	55	3
Hongos	121	55	6
Levaduras	80	15	257
Levaduras	80	15	237
Levaduras	80	15	210
Levaduras	80	35	188
Levaduras	80	35	232
Levaduras	80	35	250
Levaduras	80	55	182
Levaduras	80	55	203
Levaduras	80	55	197
Levaduras	100	15	168
Levaduras	100	15	176
Levaduras	100	15	163
Levaduras	100	35	137

Levaduras	100	35	143
Levaduras	100	35	164
Levaduras	100	55	118
Levaduras	100	55	104
Levaduras	100	55	160
Levaduras	121	15	93
Levaduras	121	15	86
Levaduras	121	15	90
Levaduras	121	35	98
Levaduras	121	35	95
Levaduras	121	35	89
Levaduras	121	55	96
Levaduras	121	55	92
Levaduras	121	55	86

Anexo II.

Productividad

Tipo de Esterilización	Abs R1	Abs R2	Abs R3	Promedio Absorbancia (540 nm)	Tiempo de Esterilización (min)	Presión (bar)	Temperatura de Esterilización (°C)	Tiempo de transformación (min)	Temperatura (°C)	pH	Concentración (g/L)	Concentración (mg/L)	Volumen sol. Inulina (L)	Productividad (mg/h)
V1	0,0686	0,0687	0,0687	0,0687	15	1,5	111,35	90	37	3,4	0,1824	182,38	0,0125	1,52
V2	0,0754	0,0754	0,0754	0,0754	15	1,5	111,35	90	37	3,4	0,1970	197,00	0,0125	1,64
V3	0,0789	0,0785	0,0785	0,0786	15	1,5	111,35	90	37	3,4	0,2040	204,03	0,0125	1,70
A1	0,137	0,137	0,137	0,137	15	1,5	121	90	37	3,4	0,3308	330,80	0,0125	2,76
A2	0,13	0,1301	0,13	0,1300	15	1,5	121	90	37	3,4	0,3157	315,67	0,0125	2,63
A3	0,1272	0,1272	0,1272	0,1272	15	1,5	121	90	37	3,4	0,3095	309,51	0,0125	2,58
ST	0,0486	0,0484	0,0486	0,048533333	*	*	22	90	37	3,4	0,1386	138,65	0,0125	1,16
ST	0,051	0,051	0,049	0,050333333	*	*	22	90	37	3,4	0,1426	142,56	0,0125	1,19
ST	0,0503	0,0501	0,0503	0,050233333	*	*	22	90	37	3,4	0,1412	141,24	0,0125	1,18