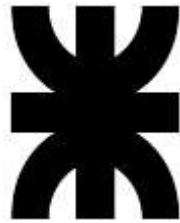


Universidad Tecnológica Nacional
Facultad Regional Villa María



PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

PROYECTO FINAL PARA OBTENER EL GRADO EN INGENIERÍA
QUÍMICA

ALLASIA, Mariana
SARMIENTO, Paula Victoria

2016

FIRMA DE LAS ALUMNAS

ALLASIA, Mariana

Firma:

.....

DNI: 35.556.190

SARMIENTO, Paula Victoria

Firma:

.....

DNI: 34.596.525

Aceptado por la Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María el día ____
del mes de _____ del año 2016.

ACEPTADA POR SU CONTENIDO Y ESTILO

Presidente del Tribunal:

Ing. Roger H. Illanes

Firma:

.....

Primer Miembro Vocal

Ing. Miguel A. Rosa

Firma:

.....

Segundo Miembro Vocal

Ing. Rubén Baccifava

Firma:

.....

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de este proyecto están dedicados a todas aquellas personas que, de alguna forma, son parte de su culminación.

Nuestros más sinceros agradecimientos están dirigidos hacia nuestros padres, quienes a lo largo de nuestra vida han velado por nuestro bienestar y educación siendo nuestro apoyo en todo momento y demostrando su entera confianza en nosotras.

A nuestros familiares que de alguna forma nos ayudaron a alcanzar nuestro objetivo, nos apoyaron y nos dieron fuerza para terminar.

A nuestros compañeros de estudio y amigos, quienes nos acompañaron a lo largo de la carrera, apoyándonos en cada paso.

A nuestros profesores que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario y a quienes les debemos gran parte de nuestro conocimiento y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad la cual abre sus puertas a jóvenes como nosotras, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

A todos ellos se lo agradecemos desde el fondo de nuestra alma. Para todos ellos hacemos esta dedicatoria.

INDICE GENERAL

Página del Jurado/Aprobación del tutor	I
Agradecimientos.....	II
Índice general	III

CAPÍTULO 1

1. OBJETIVOS Y FUNDAMENTOS DEL PROYECTO	1
1.1. Objetivo general del proyecto	2
1.2. Objetivos específicos del proyecto	2
1.3. Fundamentos del proyecto.....	2

CAPÍTULO 2

2. INTRODUCCIÓN – GENERALIDADES	5
2.1. Descripción del Producto	5
2.2. Propiedades.....	5
2.2.1.Especificaciones.....	6
2.3. Usos.....	7
2.3.1.Aplicación del HA lineal.....	7
2.3.2.Aplicación de HA reticulado	9
2.3.3.Aplicación de derivados del HA	9
2.4. Aplicación de Inyectables como Producto Estético	9
2.5. Definición del Producto.....	10
2.6. Materias Primas e Insumos	10
2.6.1.Microorganismo	10
2.6.2.Principales sustratos	10
2.6.3.Insumos.....	12

CAPÍTULO 3

3. ESTUDIO DE MERCADO	15
3.1. Introducción.....	15
3.2. Ácido Hialurónico en el Mundo	15
3.3. Cosméticos con Ácido Hialurónico en América del Sur.....	17
3.4. Mercado de Cosméticos en Argentina	20

3.5. Mercado de Cosméticos con Ácido Hialurónico en Argentina	22
3.5.1. Cremas con HA	23
3.5.2. Inyectables con HA	25
3.5.3. Demanda de HA.....	26
3.6. Producción y Consumo de Materias Primas en Argentina	28
3.6.1. Sacarosa	29
3.6.2. Otras materias primas	32
3.7. Análisis FODA.....	33
3.8. Conclusiones.....	35

CAPÍTULO 4

4. LOCALIZACIÓN DE LA PLANTA	37
4.1. Introducción.....	37
4.2. Macrolocalización	37
4.3. Microlocalización	40
4.3.1. Análisis de alternativas	43
4.4. Conclusión	44

CAPÍTULO 5

5. CAPACIDAD DE PLANTA	47
5.1. Introducción.....	47
5.2. Factores que influyen en el tamaño de la planta.....	47
5.3. Selección de la capacidad	48
5.3.1. Proyección de la demanda.....	48
5.3.2. Cálculo de la capacidad.....	49
5.4. Conclusión	51

CAPÍTULO 6

6. PROCESOS DE PRODUCCIÓN Y SELECCIÓN DE PROCESO	53
6.1. Introducción.....	53
6.2. Procesos de producción	53
6.2.1. Extracción del tejido animal.....	53
6.2.1.1. Obtención a partir del cordón umbilical humano y de la cresta de gallo ..	54
6.2.1.2. Obtención a partir del humor vítreo de peces	59

6.2.2. Producción por fermentación microbiana	60
6.2.2.1. Obtención a partir de cepas de <i>Streptococcus</i>	61
6.2.2.2. Obtención a partir de microorganismos recombinantes no patógenos	64
6.3. Selección del método de producción	67
6.4. Descripción detallada del proceso	68
6.4.1. Fermentación	69
6.4.1.1. Tratamiento de la materia prima.....	69
6.4.1.2. Cinética microbiana	70
6.4.1.3. Modo de operación.....	70
6.4.2. Purificación.....	72
6.4.3. Entrecruzamiento	74
6.4.3.1. Método de entrecruzamiento con DVS	75
6.4.3.2. Obtención del hidrogel de HA reticulado.....	76
6.4.3.3. Características y propiedades reológicas y mecánicas del hidrogel	81

CAPÍTULO 7

7. BALANCE DE MASA Y ENERGÍA	85
7.1. Introducción.....	85
7.2. Balance de masa	89
7.2.1. Determinación del volumen del fermentador	89
7.2.2. Preparación del inóculo	90
7.2.3. Fermentación	92
7.2.4. Clarificación y Precipitación	97
7.2.5. Purificación.....	100
7.2.6. Concentración y secado	103
7.2.7. Entrecruzamiento	104
7.2.8. Fraccionamiento.....	107
7.3. Balance de energía.....	108
7.3.1. Esterilización del medio de cultivo del inóculo	109
7.3.2. Esterilización del medio de cultivo para la fermentación	110
7.3.3. Mantenimiento de la temperatura durante la fermentación.....	112
7.3.3.1. Calor de fermentación	112
7.3.3.2. Balance de energía fermentador	113
7.3.4. Secado.....	114

7.3.5. Calentamiento y Reposo	115
7.3.6. Esterilización de las jeringas precargadas.....	116
7.4. Resumen de balance de materia y energía	118

CAPÍTULO 8

8. DISEÑO Y ADOPCIÓN DE EQUIPOS	121
8.1. Introducción.....	121
8.2. Diagrama del proceso.....	121
8.3. Equipos diseñados.....	125
8.3.1. Teoría de diseño	125
8.3.1.1. Tanques	125
8.3.1.2. Agitadores	126
8.3.1.3. Camisas calefactoras.....	128
8.3.1.4. Tiempo de esterilización para el medio de cultivo	129
8.3.1.5. Fermentador.....	130
8.3.1.5.1. Selección del material de construcción, determinación de las dimensiones y del espesor	131
8.3.1.5.2. Criterio de cambio de escala	132
8.3.1.5.3. Determinación de la potencia de agitación.....	134
8.3.1.5.4. Diseño del sistema de enfriamiento	134
8.3.1.5.5. Diseño del sistema de enfriamiento	135
8.3.1.6. Reactor de entrecruzamiento.....	135
8.3.2. Resultados	135
8.4. Equipos adoptados.....	148
8.4.1. Autoclave D-01	148
8.4.2. Estufa H-01	149
8.4.3. Compresor L-01	149
8.4.4. Filtro F-04	151
8.4.5. Centrífugas	153
8.4.6. Filtro F-05	155
8.4.7. Homogeneizador	156
8.4.8. Filtro F-01	158
8.4.9. Filtro F-02	159
8.4.10. Estufa H-02.....	161

8.4.11. Molino Z-01.....	162
8.4.12. Envasadora E-01.....	163
8.4.13. Filtro F-03.....	164
8.4.14. Baño termostático H-03	166
8.4.15. Equipo E-02.....	167
8.4.16. Autoclave D-02.....	168
8.4.17. Equipo E-03.....	170
8.4.18. Motores para Agitadores.....	170
8.4.19. Cámara para descontaminación A-01	172
8.4.20. Acondicionadores de aire A-02 y A-03	173
8.4.21. Bombas	174
8.4.21.1. Cálculo de las bombas	176
8.4.21.2. Adopción de bombas.....	177

CAPÍTULO 9

9. OBRAS CIVILES	193
9.1. Introducción.....	193
9.2. Requisitos de espacio.....	193
9.3. Descripción de áreas requeridas.....	194
9.4. Distribución física detallada.....	194
9.5. Características edilicias generales.....	197
9.5.1.Mampostería y techo.....	197
9.5.2.Pisos	197
9.5.3.Aberturas	197
9.5.4.Ventilación	198
9.5.5.Superficies y equipamiento.....	198
9.5.6.Depósito IPA.....	199
9.5.7.Antesala de descontaminación	199

CAPÍTULO 10

10. SERVICIOS AUXILIARES	201
10.1. Introducción	201
10.2. Agua.....	201
10.3. Agua desionizada y libre de pirógenos	202

10.4. Solución de glutaraldehído al 2%	202
10.5. Vapor	203
10.6. Gas	203
10.7. Energía eléctrica	203
10.7.1. Fuerza motriz	204
10.7.2. Iluminación	206
10.7.3. Descripción de la instalación eléctrica	208
10.7.3.1. Transformador	208
10.7.3.2. Tablero principal y tablero general	208
10.7.3.3. Tableros secundarios y tomacorrientes	208
10.7.3.4. Líneas de distribución	208
10.7.3.5. Conductores eléctricos	209
10.7.3.6. Elementos de protección	209
10.7.3.7. Puesta a tierra de máquinas	209
10.7.3.8. Pararrayos	209
10.7.3.9. Corrección del factor de potencia	210
10.8. Efluentes	210

CAPÍTULO 11

11. CONTROL DE CALIDAD	213
11.1. Introducción	213
11.2. Buenas Prácticas de Manufactura en Productos Farmacéuticos	214
11.2.1. Control de Calidad	214
11.2.2. Saneamiento e Higiene	215
11.2.3. Validación, Reclamos y Retiro de productos del mercado	215
11.2.4. Personal	216
11.2.5. Instalaciones	217
11.2.5.1. Áreas Auxiliares	217
11.2.5.2. Almacenamiento	217
11.2.5.3. Producción	217
11.2.5.4. Equipos	218
11.2.5.5. Materiales	219
11.3. Aseguramiento y Control de Calidad	220
11.3.1. Materias primas e insumos	220

11.3.2. Controles de Proceso.....	220
11.3.3. Producto terminado	220
11.3.4. Registros	231

CAPÍTULO 12

12. ORGANIZACIÓN DE LA EMPRESA	234
12.1. Introducción	234
12.2. Naturaleza jurídica de la empresa y estudio legal.....	234
12.3. Estructura organizacional	235
12.3.1. Organigrama de la empresa.....	235
12.3.2. Descripción de los puestos de trabajo	238
12.3.2.1. Gerente del departamento de producción.....	239
12.3.2.2. Director Técnico de la línea Efyderma.....	239
12.3.2.3. Jefe de Laboratorio y Control de Calidad	239
12.3.2.4. Jefe de Planta	239
12.3.2.5. Operarios de planta.....	240
12.3.2.6. Analista de laboratorio	240
12.3.2.7. Auxiliares de otras áreas.....	240
12.4. Programación de producción	240
12.5. Turnos de trabajos.....	244

CAPÍTULO 13

13. ESTUDIO ECONÓMICO-FINANCIERO	247
13.1. Introducción	247
SECCIÓN I: ESTUDIO ECONÓMICO	
13.2. Inversión total	247
13.2.1. Activos Fijos	249
13.2.1.1. Obras civiles	250
13.2.1.2. Equipos y Accesorios de Proceso	250
13.2.1.3. Muebles y Útiles.....	253
13.2.1.4. Accesorios Industriales	253
13.2.1.5. Resumen de Activos Fijos	255
13.2.2. Activos Intangibles	256
13.2.2.1. Ingeniería de Proyecto.....	256

13.2.2.2. Supervisión de Montaje de la Planta y Puesta en Marcha	256
13.2.2.3. Capacitación de Personal.....	257
13.2.2.4. Automatización	257
13.2.2.5. Imprevistos	258
13.2.2.6. Resumen de Activos Intangibles	258
13.2.3. Capital de Trabajo	259
13.2.4. Resumen de la Inversión Total del Proyecto	259
13.3. Costos totales de producción.....	260
13.3.1. Costos de Fabricación.....	261
13.3.1.1. Costos Directos	261
13.3.1.1.1. Materia prima	261
13.3.1.1.2. Insumos para producción	262
13.3.1.1.3. Insumos para Control de Calidad	263
13.3.1.1.4. Envases	263
13.3.1.1.5. Servicios Auxiliares	264
13.3.1.1.6. Mano de obra directa	265
13.3.1.1.7. Resumen de costos directos	266
13.3.1.2. Gastos Generales.....	266
13.3.1.2.1. Mano de obra indirecta	267
13.3.1.2.2. Mantenimiento de equipos	267
13.3.1.2.3. Funciones Tercerizadas.....	268
13.3.1.2.4. Resumen de Gastos generales	269
13.3.1.3. Gastos Fijos	269
13.3.1.3.1. Seguros e impuestos.....	269
13.3.1.3.2. Amortizaciones y Depreciaciones.....	270
13.3.1.4. Resumen de los Costos de Fabricación.....	271
13.3.2. Gastos Generales	271
13.3.2.1. Gastos de administración, distribución y marketing.....	271
13.3.3. Resumen de costos totales de producción	273
13.3.4. Composición de los costos.....	274
13.3.5. Costo unitario.....	274
13.4. Ingresos por ventas	275
13.5. Financiamiento del proyecto	276
13.5.1. Determinación de la tasa mínima aceptable de rendimiento (TMAR).....	277

13.6. Estado de resultados	277
SECCIÓN II: EVALUACIÓN ECONÓMICA – INDICADORES DEL PROYECTO	
13.7. Valor Actual Neto	280
13.8. Tasa Interna de Retorno	280
13.9. Periodo de Recupero de la Inversión.....	281
13.10. Relación Beneficio/Costo	281
SECCIÓN III: ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD	
13.11. Introducción	282
13.12. Conclusiones	287

CAPÍTULO 14

14. CONCLUSIONES	289
-------------------------------	-----

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS	292
Anexo I – Fichas de datos de seguridad	301
Anexo II – Técnicas para análisis y control de calidad	330
Anexo III – Planos.....	381

Capítulo 1

*Objetivos y Fundamentos del
Proyecto*

1. OBJETIVOS Y FUNDAMENTOS DEL PROYECTO

1.1. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

- Comprobar la viabilidad técnico-económica de llevar a cabo la instalación de una planta productora de ácido hialurónico (HA) a partir de una fermentación microbiana.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO

- Definir las características del mercado consumidor de HA lineal en polvo y de jeringas precargadas y el de los proveedores de materias primas, en base a un estudio de mercado que permita tomar decisiones acertadas a partir de la anticipación de su evolución a partir del tiempo, teniendo en cuenta la competencia extranjera existente para dichos productos.
- Determinar la capacidad de producción de la planta y su ubicación óptima.
- Analizar los diferentes procesos de producción a fin de seleccionar el método más conveniente.
- Diseñar, haciendo uso de la ingeniería básica, los equipos e instalaciones requeridas en el proceso de producción del HA.
- Realizar un análisis técnico que avale la posibilidad de llevar a cabo el proyecto propuesto.
- Realizar un estudio económico-financiero para evaluar la viabilidad económica de una planta elaboradora de HA.

1.3. FUNDAMENTOS DEL PROYECTO

Dentro de la categoría de productos *Anti-Age*, aquellos que poseen Ácido hialurónico (HA) en su formulación presentan un mercado creciente debido principalmente a las características y beneficios que este muestra frente a otros materiales utilizados con el mismo fin.

Actualmente el HA ha comenzado a utilizarse como un sustituto del bótox (toxina botulínica) debido a que se encuentra naturalmente en la piel, no modifica el aspecto natural o los rasgos del rostro y con el tiempo es reabsorbido por el cuerpo.

Otras grandes ventajas que el HA presenta es que puede obtenerse de diversas fuentes como por ejemplo, el cordón umbilical humano, tejidos animales (humor vítreo de peces, cresta de gallo, líquido sinovial de bovinos) o a partir de la fermentación microbiana; tiene aplicaciones en diversos rubros además de los cosméticos, tales como en el tratamiento de la osteoartritis, en oftalmología, en medicina estética, en cirugías y cicatrización de heridas, entre otros; y

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Objetivos y fundamentos del proyecto



dentro de la cosmética se puede utilizar en diferentes presentaciones (cremas con HA lineal o inyecciones de HA entrecruzado) lo cual permite llegar a mas consumidores debido a que muchos de estos prefieren utilizar métodos no invasivos y más económicos que los tratamientos inyectables.

El consumo de HA en Argentina inició cerca del año 2005 y no se cuenta con una producción nacional del mismo, por lo que las cantidades demandadas de este son totalmente importadas desde países como Suiza, Francia y Estados Unidos entre otros.

Capítulo 2

Introducción - Generalidades

2. INTRODUCCION – GENERALIDADES

2.1. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El ácido hialurónico (HA) es un polímero natural y lineal compuesto por repeticiones de unidades de disacárido N-acetil glucosamina y ácido glucurónico unidos alternativamente por enlaces β -1,3 y β -1,4 con un peso molecular de hasta 6 millones de Dalton (Figura 2.1).

Su nombre proviene de su aislamiento histórico, a partir del humor vítreo del ojo bovino por Meyer y Palmer en 1934, derivando del nombre del tejido donde fue descubierto (hyalos – vidrio) y de uno de sus azúcares constituyentes, el ácido urónico. (CIFUENTES MIMOSO & SIGNES SOLER, 2009)

Este biopolímero, también conocido como Hialuronan o Hialuronato, se encuentra muy extendido en la naturaleza, habiendo sido identificado en los tejidos blandos de vertebrados (articulaciones, líquido sinovial, piel, humor vítreo del ojo y cordones umbilicales) como así también en las algas, moluscos e incluso en las cápsulas de ciertas cepas microbianas como por ejemplo en los estreptococos. El HA posee importancia en funciones estructurales, reológicas, fisiológicas y biológicas. (LIU, et al., 2011)

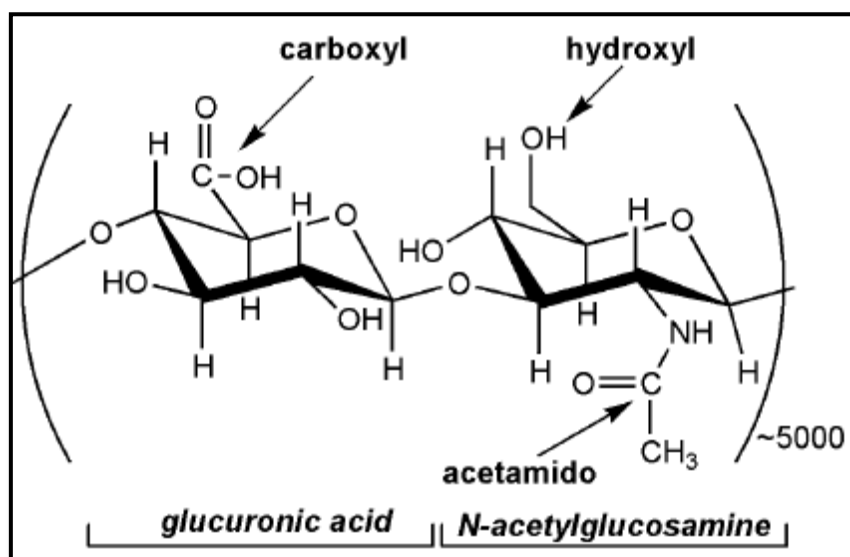


Figura 2.1 - Estructura de las unidades de disacáridos que forman el HA.

2.2. PROPIEDADES

El HA presenta una amplia gama de aplicaciones en las industrias de cosméticos, medicina y farmacéuticos debido a una combinación única de propiedades, tales como:

Alta higroscopicidad: La gran capacidad del polímero para retener agua está relacionada con su naturaleza hidrófila. Debido a la presencia de grupos carboxílicos en las cadenas, se comporta

como un polielectrolito a pH fisiológico (HA pKa = 2,9) y en presencia de agua sus moléculas expanden su volumen hasta 1.000 veces formando matrices hidratadas.

Naturaleza viscoelástica: las soluciones acuosas de HA poseen un comportamiento reológico que exhibe la elasticidad de un gel en combinación con la viscosidad de un fluido. Es decir, las soluciones de HA se comportan como materiales de pseudo-plástico, su viscosidad disminuye al aumentar el esfuerzo de corte. Muchos de los usos médicos de HA se basan en este comportamiento de fluidificación por cizalla. Dichas propiedades reológicas son función del peso molecular del polímero, ya que la viscosidad se incrementa con el aumento de éste debido a la formación de entrecruzamiento en su molécula.

Alta biocompatibilidad, no presenta inmunogenicidad: esta propiedad se debe a que las moléculas del HA poseen la misma estructura en todas las especies y todos los tejidos y por lo tanto no alteran el sistema inmunológico.

Capacidad para degradarse en productos seguros: el HA es degradado in vivo, principalmente a través de la hidrólisis catalizada por las enzimas hialuronidasas dando productos seguros. Se ha estimado que la vida media de HA en la piel es de aproximadamente 24 horas, en el ojo 24-36h, en el cartílago 1-3 semanas y en el humor vítreo 70 días (SCHIRALDI, et al., 2010).

2.2.1. Especificaciones

Las propiedades fisicoquímicas del ácido hialurónico dependen del tamaño de la molécula, ya que el mismo puede ser muy variable. En el mercado se puede encontrar HA de grado médico o farmacológico y de grado cosmético, los cuales difieren en la calidad del producto. También pueden encontrarse en grado laboratorio y grado técnico, en este caso la diferencia es en la pureza. En general, las propiedades son las siguientes (CONTIPRO, 2011):

Tabla 2.1 - Ácido Hialurónico	
Fórmula Química	$(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$
Estado físico, aspecto	Polvo blanco, sin olor
pH	5,0 – 8,5 (solución acuosa al 0,5%)
Pureza	> 93 - 95%
Recuento Total Microbiano	≤ 10 UFC/g
Endotoxinas Bacterianas	$\leq 0,05$ UI/mg
Peso Molecular	8 – 2400 kDa
Solubilidad	Soluble en agua y mezclas de agua y solventes orgánicos miscibles en agua (ej. alcoholes). Insoluble en grasas y solventes orgánicos anhídridos.
Principales Características	Higroscópico, poco inflamable

2.3. USOS

Debido a las propiedades anteriormente resaltadas, el desarrollo y la comercialización de productos a base de HA están en continuo crecimiento. El HA se utiliza principalmente en el tratamiento de la osteoartritis, en cosméticos, en oftalmología, en medicina estética, en cirugías y cicatrización de heridas, en la administración de fármacos tópicos, y en la ingeniería de tejidos.

Existen tres formulaciones comerciales del HA: en forma lineal, derivatizado y reticulado (Figura 2.2). El HA se encuentra naturalmente en su forma lineal, sin embargo generalmente se lo somete a procesos de reticulación (formación de enlaces covalentes entre las cadenas de HA para obtener redes de HA tridimensionales) o procesos de derivatización (modificación de la cadena lineal) ya que de esta forma es menos susceptible a la hidrólisis química y enzimática, muestra una prolongada persistencia in vivo y se mejoran las propiedades mecánicas específicas del material.

Dichas modificaciones químicas de HA implican el hidroxilo o los grupos carboxilo del polímero, e incluyen procesos de esterificación y sulfatación (SCHIRALDI, et al., 2010).

2.3.1. Aplicación del HA lineal

En cosmética se utiliza como un componente hidratante debido a su naturaleza hidrofílica. El uso de productos de belleza, como cremas, que contienen HA ayuda a hidratar la piel, a restaurar la elasticidad reduciendo la profundidad de arrugas y a proteger la piel contra la radiación UV.

En la medicina estética se utiliza como un tratamiento biorevitalizante. El HA se inyecta en la piel en pequeñas dosis para ayudar, restaurar y preservar su elasticidad y aspecto saludable. Se aplica a las líneas de expresión, patas de gallo y las líneas de marioneta obteniendo como resultado una piel más suave, compacta y luminosa.

Su aplicación como fármaco tópico mejora de manera significativa la penetración de ciertas drogas como el Diclofenac a través de la capa córnea, y mejora también la retención y localización de esta droga en la epidermis, con respecto a otros portadores.

Algunas preparaciones a base de HA lineal se utilizan para favorecer la curación en el tratamiento general de irritaciones y lesiones de la piel, a través de una cicatrización y recuperación más rápida. Por ejemplo, se utiliza en heridas crónicas y agudas tales como abrasiones, zonas de injertos de piel, incisiones post-quirúrgicas, quemaduras de primer y segundo grado, úlceras vasculares y úlceras de decúbito (SCHIRALDI, et al., 2010).

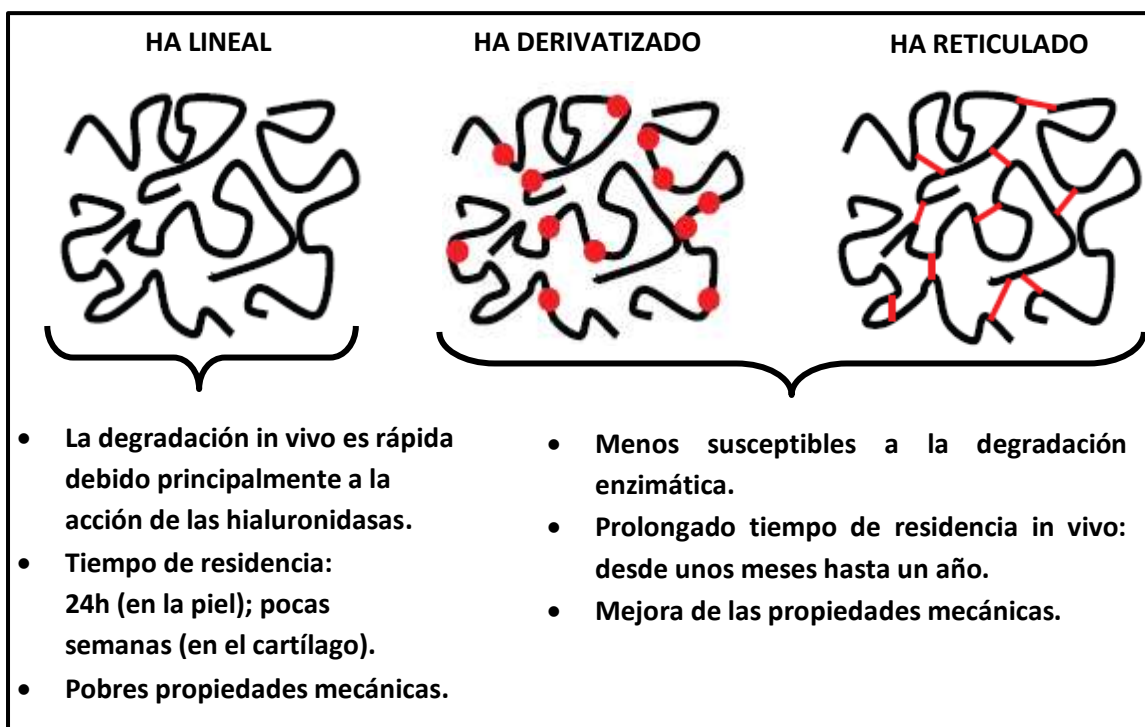


Figura 2.2: Representación esquemática del HA lineal, derivatizado y reticulado.

En la cirugía oftalmológica las soluciones fisiológicas HA lineales se utilizan para proteger los delicados tejidos del ojo y para proporcionar espacio durante las manipulaciones quirúrgicas. La viscoelasticidad del HA es la característica responsable para esta aplicación ya que protege a las células oculares de instrumentos quirúrgicos e implantes y permite realizar con mayor facilidad la inyección, la extracción por empuje y la succión a través de una cánula. Por ejemplo, el hialuronato de sodio de alto peso molecular es utilizado como ayuda quirúrgica en: extracción de cataratas, lente intraocular, trasplante de córnea, filtración de glaucoma y cirugía de fijación de la retina.

En oftalmología se utiliza como el ingrediente activo de muchas formulaciones de lavado de ojos, estabilización de la película lagrimal y para la hidratación y lubricación de la córnea. También es útil para aumentar la comodidad durante la aplicación de lentes de contacto.

En urología, la instilación intravesical de HA lineal se ha utilizado recientemente como tratamiento alternativo eficaz para la cistitis intersticial, infecciones recurrentes del tracto urinario, y cistitis hemorrágica. De hecho HA es una barrera protectora del urotelio. Sin embargo, los datos clínicos disponibles sobre la eficacia de HA como un potencial tratamiento para en estos tratamientos son hasta ahora limitadas (SCHIRALDI, et al., 2010).

2.3.2. Aplicación de HA reticulado

El uso de AH reticulado en la medicina estética ha aumentado considerablemente en la última década. Los rellenos dérmicos basados en el HA se han convertido en la respuesta más acertada a la actual demanda del aumento de volumen de forma no quirúrgica de tejidos blandos, tales como labios y mama. Otro uso que presentan las inyecciones intradérmicas, es el de rellenar arrugas faciales. Estos rellenos se hacen generalmente de partículas micrométricas del HA reticulado que se encuentra en suspensión en una solución fisiológica. A menudo, también contienen HA lineal para facilitar la capacidad de inyección. En el mercado, estos productos se diferencian por la concentración del HA, el agente de reticulación usado, el grado de reticulación, el tamaño de partícula, la capacidad de hinchamiento, la cantidad de HA soluble presente en la formulación y el módulo elástico. Estas propiedades afectan estrictamente su desempeño clínico final.

Para el tratamiento de la osteoartritis, el HA reticulado se aplica en forma de inyecciones intraarticulares ya que posee efectos terapéuticos en las patologías artrósicas. Actúa suprimiendo la degeneración del cartílago, protegiendo las superficies de los tejidos blandos de las articulaciones, normalizando las propiedades reológicas del líquido sinovial y reduciendo la percepción del dolor (SCHIRALDI, et al., 2010).

2.3.3. Aplicación de derivados del HA

Dentro de los derivados del HA los más utilizados son los ésteres. Estos se aplican especialmente en la ingeniería médica, para la reparación de tejidos, liberación controlada de fármacos, regeneración del nervio y cartílagos, vendaje de la herida. Un ejemplo es el éster bencílico de hialuronano, el cual está disponible como películas, gasas, esponjas, tubos y microesferas (SCHIRALDI, et al., 2010).

2.4. APLICACIÓN DE INYECTABLES COMO PRODUCTO ESTÉTICO

El Ácido Hialurónico se inyecta en la dermis con pequeñas infiltraciones en una o varias sesiones (con un valor promedio de 3 aplicaciones) dependiendo de las características de la paciente (estado de la piel, profundidad de las arrugas, flacidez, etc.) y el resultado deseado. Este tratamiento está especialmente indicado para aumentar volumen y rellenar pequeñas arrugas y surcos.

La aplicación se realiza con distintas técnicas, siendo estas de fácil aplicación y no presentan irregularidades:

- Trazado lineal
- Trazado radial

- Punto a punto
- Multipunturas

Zonas de infiltración:

- Para el relleno de pequeños arrugas y surcos se aplica en las siguientes zonas: marcas paranasales, surcos nasogenianos, entrecejos y frente. En este caso se utiliza la técnica de multipunción. Requiere de tres sesiones con una periodicidad quincenal, obteniendo resultados con una duración aproximada de entre 9 a 12 meses.
- Para restaurar los volúmenes del rostro se aplica en la zona de pómulos y el mentón. La infiltración se realiza mediante la técnica de abanico en la dermis profunda. Requiere una sesión anual, con o sin retoques para mantener el resultado, con una duración aproximada de 12 a 18 meses.
- Para obtener volumen y redibujar líneas perdidas se aplica en la zona del labio. Se utiliza la técnica de multipunción. Se realizan tres sesiones con una periodicidad quincenal obteniendo resultados que duran de 9 a 12 meses. Puede ser necesario sesiones de retoque para mantener el resultado (CANET, 2014).

2.5. DEFINICIÓN DEL PRODUCTO

Se proyecta elaborar dos tipos de HA de grado cosmético:

- Uno de tipo lineal, con aplicación como componente para cremas de belleza.
- Otro parcialmente entrecruzado, aplicable como relleno dérmico.

La diferencia de obtención consiste en que este último requiere al final del proceso una etapa de entrecruzamiento.

2.6. MATERIAS PRIMAS E INSUMOS

La producción de ácido hialurónico se realiza mediante fermentación microbiana, seguido por una serie de etapas de purificación.

2.6.1. Microorganismo

Se conocen bacterias capaces de sintetizar HA, tales como *Pasteurella multocida* y *Streptococcus* pertenecientes a los grupos A y C, como *Streptococcus pyogenes*, el cual es patógeno en humanos, *Streptococcus equi* y *Streptococcus uberis*, patógenos en animales. Estos microorganismos utilizan el HA para encapsular sus células y de esta forma pasar desapercibidos frente al sistema inmunológico del animal, facilitando la adhesión y colonización de sus células. (BOERIU, et al., 2013)

Los *Streptococcus* del grupo C tienen una productividad de HA superior a los del grupo A, y es por esto que son los más utilizados en su producción. La cepa más comúnmente utilizada en la producción industrial de HA es *S. equi* subsp *zooepidemicus*, el cual puede producir hasta 6-7 g/L de ácido bajo las condiciones apropiadas. Debido a que este microorganismo es patógeno en equinos, frecuentemente se utilizan cepas modificadas genéticamente para producir el HA. Algunas empresas están desarrollando nuevas cepas de microorganismos no patógenos que produzcan HA, como por ejemplo *Bacillus Subtilis* recombinante desarrollado por Novozymes. A diferencia de los estreptococos, esta cepa presenta la ventaja de liberar del HA al medio de cultivo, por lo que la etapa de purificación es más simple, y no existe riesgo de contaminar el HA con toxinas (NOVOZYMES, 2011). Este método de producción mejorado es muy reciente, por lo que se vuelve muy difícil la obtención de datos de proceso.

Por estas razones, el microorganismo a utilizar será *S. zooepidemicus*.

2.6.2. Principales sustratos

Los *Streptococcus* se encuentran entre las bacterias más exigentes desde un punto de vista nutricional. Generalmente, se utiliza glucosa o sacarosa como fuente de carbono, mientras que la fuente de nitrógeno puede ser orgánica o inorgánica, como peptona, extracto de levadura, productos de caseína hidrolizada, aminoácidos, sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, urea, etc. También requieren medios que contengan sales inorgánicas de iones divalentes, como magnesio o manganeso. Comercialmente se encuentran medios nutritivos específicos para *Streptococcus*, pero estos no son ventajosos ya que requieren componentes costosos, y el HA obtenido no será competitivo económicamente con el producido a partir de otras fuentes (CAZZOLA, et al., 1996).

Los principales sustratos del medio de cultivo específico a utilizar son (MERCK MILLIPORE, 2014):

Tabla 2.2 - Extracto de Levadura	
Densidad	0,49 g/cm ³
pH	7,0 (10 g/l, H ₂ O, 20°C)
Punto de Ebullición	>200°C
Solubilidad en agua	410 g/l (20 °C)

Tabla 2.3 – Sacarosa

Fórmula Química	$C_{12}H_{22}O_{11}$
Estado físico, aspecto	Sólido color crema, inodoro
Densidad aparente	Aprox. 800-950 kg/m ³
pH	Aprox. 7
Masa Molar	242.29 g/mol
Punto de Fusión	169-170°C
Solubilidad en agua	Soluble (20°C)
Temperatura de descomposición	>169°C

2.6.3. Insumos

Tabla 2.4 – Alcohol isopropílico

Fórmula Química	$(CH_3)_2CHOH$
Estado físico, aspecto	Líquido incoloro
Densidad relativa	0.79
Masa Molar	60.1 g/mol
Punto de Fusión	-90°C
Punto de Ebullición	83°C
Solubilidad en agua	Miscible
Presión de vapor	4.4 kPa (20°C)

Tabla 2.5 - Hidróxido de sodio

Fórmula Química	NaOH
Estado físico, aspecto	Sólido blanco, higroscópico
Densidad	2,13 g/cm ³
Masa Molar	40,01 g/mol
Punto de Fusión	318 °C
Punto de Ebullición	1388 °C
Solubilidad en agua	109g/100ml (20°C)
Principales Características	Soluble en agua (reacción exotérmica), muy higroscópico y corrosivo.

Tabla 2.6 – Carbón activado

Fórmula Química	C
Estado físico, aspecto	Polvo o gránulos finos negros, sin olor
Densidad relativa	1,5
Masa Molar	12.01 g/mol
Punto de Fusión	3550°C
Punto de Ebullición	4827°C
Solubilidad en agua	Insoluble

Tabla 2.7 – Acetato de sodio

Fórmula Química	$C_2H_3NaO_2$
Estado físico, aspecto	Polvo cristalino higroscópico, blanco
Densidad	1.5 g/cm ³
Masa Molar	82 g/mol
Punto de Fusión	324°C
Punto de Inflamabilidad	>250°C
Solubilidad en agua	365 g/L a 20°C
pH	7.5-9.2 (30 g/L, H ₂ O, 20°C)

Tabla 2.8 – Clorhidrato de lidocaína

Fórmula Química	$C_{14}H_{23}ClN_2O \cdot H_2O$
Estado físico, aspecto	Polvo cristalino, blanco, inodoro, ligero sabor amargo.
Clase terapéutica	Anestésico local
Masa Molar	288,8 g/mol (forma monohidratada)
Punto de Fusión	74-79 °C
Solubilidad en agua	Muy soluble
pH	4,0 - 5,5 (en solución acuosa al 0,5 %)
Otra características	Puede esterilizarse en autoclave o por filtración

Tabla 2.9 – Divinil Sulfona

Fórmula Química	$C_4H_6O_2S$
Estado físico, aspecto	Líquido incoloro, soluble en agua
Masa Molar	118.16 g/mol
Punto de Fusión	-15 °F
Punto de Ebullición	453 °F
Punto de inflamabilidad	217 °F
Inhibidor	Hidroquinona

Tabla 2.10 – Buffer fosfato salino

Composición Química	NaCl	8 gr/L
	KCl	0.2 gr/L
	Na ₂ HPO ₄	1.15 gr/L
	KH ₂ PO ₄	0.2 gr/L
	H ₂ O	1 L
Estado físico, aspecto	Solución incolora, inodora	
Peso específico	Aproximadamente 1	
Punto de Fusión	-6 °C	
Punto de Ebullición	100.1 °C	
Solubilidad en agua	Infinita	
pH	7-7.3	

En el ANEXO I se adjuntan las fichas técnicas completas de cada sustrato e insumo.

Capítulo 3

Estudio de Mercado

3. ESTUDIO DE MERCADO

3.1. INTRODUCCIÓN

Dentro del sector de los cosméticos, el mercado de productos Anti-Age se encuentra en auge, principalmente aquellos productos que poseen como droga activa al ácido hialurónico (en adelante, HA) debido que, a diferencia de otros métodos, no modifica el aspecto natural o los rasgos del rostro y se encuentra naturalmente en la piel, entre otros beneficios.

Debido a la complejidad para localizar cifras actualizadas y comparables, se han utilizado diversas fuentes que nos permiten tener la idea más clara posible del mercado de cosméticos con HA.

En el presente capítulo se analiza el mercado global de este producto en forma general y en detalle el mercado nacional. Además se evalúa el mercado de cosméticos en Argentina y el mercado de la materia prima principal, la sacarosa.

3.2. ÁCIDO HIALURÓNICO EN EL MUNDO

Debido a sus diversas funciones naturales, el ácido hialurónico ha encontrado numerosas aplicaciones en medicina, cosméticos y alimentos especiales. El mercado abarca los países de la Unión Europea, Estados Unidos, algunos países de Asia como Japón, y recientemente China e India. El HA es un sustituto del colágeno y de otros materiales utilizados como rellenos dérmicos en cosmética y cirugía reconstructiva (por ejemplo, toxina botulínica) y también se puede aplicar en productos cosméticos de aplicación tópica, dadas sus propiedades como humectante natural. El impulso en el mercado de este producto se dio cuando surgió como alternativa a los productos derivados de animales, como el colágeno bovino. El mercado ofrece casi 100 tipos diferentes de rellenos dérmicos, de los cuales cerca de la mitad están basados en HA (CHONG, et al., 2005).

Durante el año 2010 se consumieron aproximadamente 10.2 toneladas de HA en sus diferentes aplicaciones, con un rango de precios que varía de 10 a 100 dólares/g dependiendo de la misma. Esto constituye un mercado global anual de aproximadamente 200 millones de dólares. Del volumen total consumido, el 54% corresponde a aplicaciones cosméticas (cuidado facial y rellenos dérmicos), lo cual equivale a 5500 kg de HA (NOVOZYMES, 2011).

El mercado de los rellenos dérmicos se expande a una tasa anual de más del 25% en EEUU, y alrededor del 20% en el resto del mundo. El lanzamiento de productos NASHA (Non-animal stabilized HA, HA estabilizado no animal) marcó el comienzo de una nueva era en este mercado, ya que ofrecen una alternativa al colágeno bovino, son más resistentes a la

degradación, por lo que duran más tiempo una vez aplicados, y no requieren pruebas de alergia (LIU, et al., 2011).

Dentro del mercado global, las empresas líderes en calidad son Shiseido (Japón) y Lifecore (EEUU), ofrecen un producto de elevada calidad a elevados costos. Contipro (República Checa) y Shandong Freda (China) son líderes en costos, a expensas de calidad del producto, mientras que existen pequeños competidores como HTL (Francia) y Fidia (Italia), quienes ofrecen un producto de calidad media a precios moderados. La empresa Novozymes (Dinamarca) ha desarrollado el primer HA comercial recombinante, y cuenta con la tecnología para producirlo, por lo que se espera que abarque una porción importante del mercado. Todas estas empresas tienden a un enfoque globalizado, buscan extender su mercado fuera de sus propias regiones geográficas (NOVOZYMES, 2011).

Respecto a las medidas sanitarias para su producción, importación y venta, cada país cuenta con sus propias regulaciones internas (BPM, Buenas prácticas de manufactura), pero estos criterios se vuelven cada día más homogéneos gracias a diversas entidades cuyas regulaciones y normativas son exigidas en cada vez más países. Dentro de estas entidades se encuentran la FDA (Food and Drug Administration) y la European Pharmacopeia (CEP). Además, las principales empresas que producen HA cumplen con una o varias de las normas ISO, respectivas a la calidad de productos y a la fabricación de cosméticos.

La Sociedad Internacional de Cirujanos Plásticos Estéticos (ISAPS por sus siglas en inglés) realiza una estadística anual de procedimientos cosméticos quirúrgicos y no quirúrgicos, cuyos resultados respecto al HA se muestran a continuación:

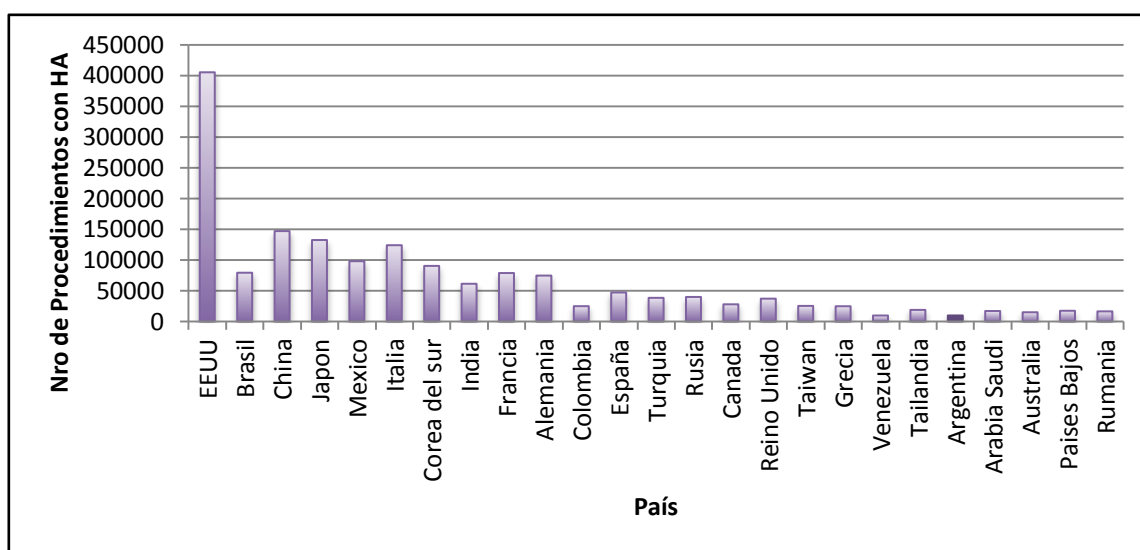


Gráfico 3.1 – Procedimientos no quirúrgicos con HA en el mundo. Fuente: ISAPS 2011

En el gráfico 3.1 se observan los principales países consumidores de HA como relleno dérmico, siendo Estados Unidos el país donde se registra el mayor número de aplicaciones del producto, mientras que de los países que integran el Mercosur, Brasil es donde más se aplica. Los demás países de América Latina que aparecen en la encuesta (Argentina entre ellos), presentan un consumo intermedio del producto respecto de aquellos países que no fueron encuestados (ISAPS, 2011).

De la misma encuesta también se desprende el gráfico 3.2, el cual compara el consumo del HA respecto al de otros rellenos dérmicos, siendo este el segundo más consumido luego del Bótox. El consumo del HA como relleno dérmico presentó un incremento del 16% de 2010 a 2011, mientras que el crecimiento del Bótox fue del 11%, lo cual muestra una tendencia al desplazamiento de la toxina por productos más naturales (ISAPS, 2010).

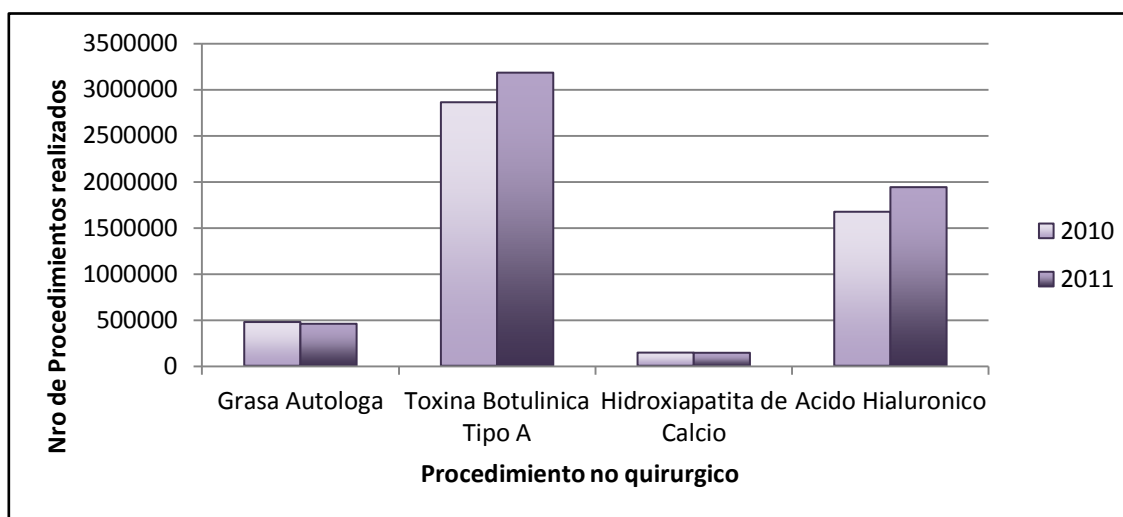


Gráfico 3.2 – Aplicación mundial de rellenos dérmicos inyectables. Fuente: ISAPS 2010 y 2011

El mercado del HA continúa en crecimiento, ya que se han obtenido nuevos conocimientos acerca del rol biológico que cumple esta sustancia en el cuerpo. Se busca continuamente mejorar el desempeño de los productos existentes, haciendo hincapié en la obtención a partir de fuentes no animales y en la seguridad del producto, principales áreas de enfoque de las regulaciones legislativas y demandas del mercado actual.

3.3. COSMÉTICOS CON ÁCIDO HIALURÓNICO EN AMÉRICA DEL SUR

Como reflejo del mercado global, las fórmulas que principalmente influyen en el crecimiento del sector cosmético son los productos anti-age. En la región Sur de América, pese a los bajos ingresos de la población las ventas de productos para cuidado de la piel, especialmente de humectantes faciales con propiedades reafirmantes o antienvjecimiento, se encuentran en

alza. Brasil, que es el mercado dominante en la región, ha mostrado un fuerte crecimiento en el cuidado de la piel desde el 2002 hasta la actualidad. Argentina presenta una tendencia similar, dentro del sector cosmético prevalece el mercado de productos para el cuidado facial, seguido por el cuidado del cuerpo quedando las manos en último lugar. En el caso de Chile, Colombia y Venezuela ha crecido el interés de los habitantes por mantener el aspecto de la piel joven y firme, lo que aseguró que las ventas de productos para el cuidado de la piel se incrementen, aunque estos países representen solo pequeños mercados en la región.

En todos los países, el cuidado de la piel ha experimentado un alto índice de lanzamientos de nuevos productos debido a los avances en la tecnología del cuidado de la piel y al descubrimiento de nuevos ingredientes que ofrecen un mejor desempeño. Estos nuevos productos tienden a ser más costosos que los tradicionales del cuidado de la piel, lo que ha llevado a que el crecimiento del valor sobrepase al crecimiento del volumen. También ha aumentado el nivel de conocimiento de los consumidores acerca de los avances en el sector a través de la publicidad y de artículos en la prensa, por lo que están dispuestos a gastar más para obtener mejores resultados.

Tradicionalmente las mujeres no comenzaban a preocuparse por usar productos anti-age hasta que llegaban a los 50 años de edad. Sin embargo, la creciente conciencia del consumidor las ha llevado a comenzar a usar estas cremas a una edad más temprana para la prevención de arrugas, así como para tratar las ya existentes. A partir del 2004 se hizo relativamente común para las mujeres de entre 25 y 30 años preocuparse por el cuidado de la piel, y es este grupo etario el responsable del fuerte incremento de las ventas de estos productos en la región.

Se espera que el interés del hombre por el cuidado de la piel cobre fuerza, conforme disminuyan los prejuicios sociales y se incrementen las campañas de comunicación enfocadas hacia ambos sexos (BRINEY, 2005).

De acuerdo a los estudios realizados en 2011 por la ISAPS sobre los tratamientos de belleza a través de procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos llevados a cabo por cirujanos plásticos, de la totalidad de los tratamientos realizados el 90% corresponde a mujeres y el 10% a hombres, tendencia que continúa en aumento. Dentro de los procedimientos no quirúrgicos la aplicación HA es el segunda más realizada alcanzando las aproximadamente 2 millones de aplicaciones, representando el 23,2% del total de los mismos (Gráfico 3.2).

En el ranking que realizó la ISAPS con los 25 países con más cirujanos plásticos y procedimientos realizados en el mundo Brasil aparece en la segunda posición, seguido por Colombia en el puesto 10, Venezuela en el 17 y Argentina en el 19 como se muestra en la tabla 3.1. El resto de los países sudamericanos no se encontraban dentro de dicho ranking, sin

embargo los valores obtenidos en la encuesta ubican a Sudamérica en el cuarto puesto, de acuerdo a la cantidad de procedimientos realizados respecto a los demás continentes (ISAPS, 2011). El gráfico 3.3 muestra el número de procedimientos con HA por millón de habitantes realizados en los países de Sudamérica en 2011. Este grafico permite visualizar que, si bien en Brasil es donde se realizaron más procedimientos, Colombia es el país que más consume este producto por habitante.

De acuerdo a este estudio y al continuo crecimiento del sector cosmético, las empresas productoras de HA cuyo objetivo sea expandirse en el futuro deberían considerar los países sudamericanos como potenciales consumidores del mismo.

Tabla 3.1 – Consumo de HA inyectable en América del Sur. Fuente: ISAPS 2011

Ubicación en el Ranking	País	N° de Cirujanos Plásticos	Total de Procedimientos	N° de Procedimientos no Quirúrgicos	Aplicaciones de HA
2	Brasil	5024	1447213	542090	79028
10	Colombia	950	317507	159629	24663
17	Venezuela	383	142185	61027	9518
19	Argentina	347	133300	59594	9553

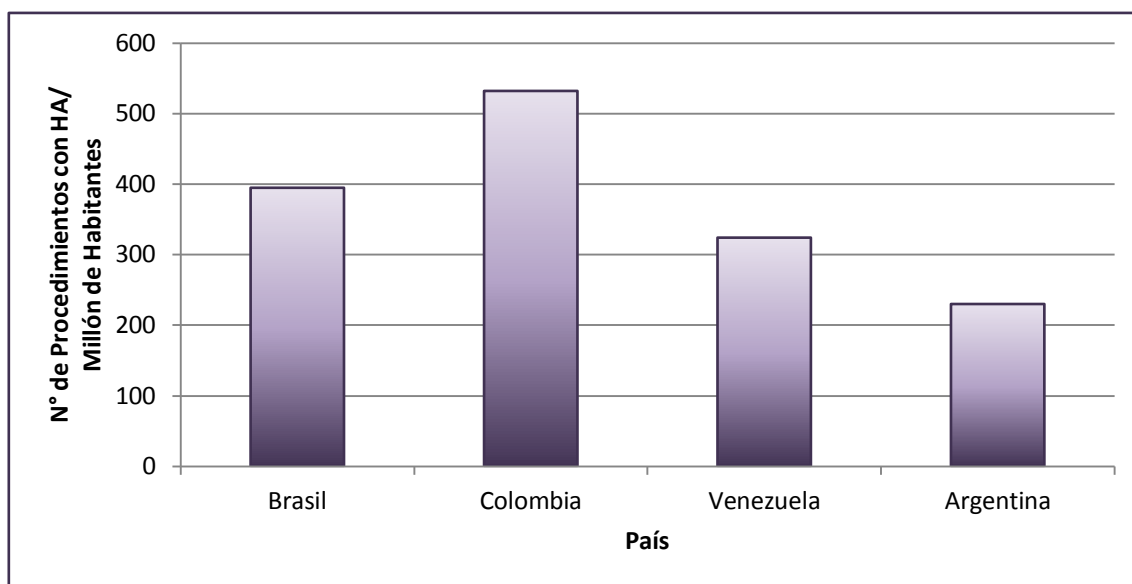


Gráfico 3.3 – Procedimientos con HA por millón de habitantes en América del Sur. Fuente: ISAPS 2011

3.4. MERCADO DE COSMÉTICOS EN ARGENTINA

El sector de tocador, cosméticos y perfumería se caracteriza por producir y/o comercializar bienes de consumo final que, pese a presentar una demanda sensible al ingreso de los individuos, han ido ocupando un espacio cada vez mayor en la vida cotidiana.

Para lograr un mejor posicionamiento en el mercado, las firmas destinan cuantiosos recursos al desarrollo de productos, marcas, marketing y gestión de calidad, delegando muchas veces las tareas específicas de la fabricación industrial de sus productos en empresas especializadas en esta actividad, denominadas terceristas. Este último aspecto constituye un rasgo distintivo de esta cadena, en donde prima la externalización de la producción.

Otra característica propia de este sector es la diversidad de vías de acceso al consumidor. Los canales de distribución más importantes son: supermercados, farmacias, perfumerías, mayoristas, venta directa, locales propios y venta a profesionales (peluquerías, centros de estética y belleza, etc.), que tiene su propia modalidad de comercialización.

Las principales materias primas utilizadas por el sector provienen de la industria química. La gran mayoría son de origen importado, provenientes principalmente de Estados Unidos, Alemania y Suiza, ya que Argentina cuenta con una escasa oferta local. Los otros insumos fundamentales son los materiales de empaque, principalmente envases de plástico, vidrio y hojalata, para los que sí existe una numerosa red de productores nacionales (CEP, 2005).

El universo de productos que integran esta industria puede ser dividido en nueve grandes grupos. Teniendo en cuenta su magnitud (en monto), pueden ser ordenados de la siguiente manera:

1. Productos capilares: champús, enjuagues y acondicionadores, tratamientos intensivos, tinturas y oxidantes, permanentes, fijadores.
2. Artículos de tocador: desodorantes, cremas y espuma de afeitar, talcos, jabones de tocador, depilatorios (en cera, crema y otros).
3. Artículos de higiene descartable: pañales descartables, protección femenina y toallitas humedecidas.
4. Cremas: cremas para manos y cuerpo, productos para el sol.
5. Fragancias: perfumes, extractos, aguas de perfumes, lociones, colonias, aguas de colonia.
6. Artículos de higiene oral: cremas dentales, cepillos dentales, enjuagues bucales, hilos o cintas dentales.
7. Maquillajes: bases, maquillajes fluidos o semi sólidos, sombras, máscaras para pestañas, delineadores, lápices, esmaltes, quitaesmaltes, endurecedores.

8. Productos para niños y bebés: colonias, aceites, talcos, champúes y cremas de enjuague, cremas, pastas dentales, jabones.
9. Hojas y sistemas de afeitar: máquinas de afeitar, hojas, cartuchos.

El sector de artículos de tocador, cosméticos y perfumería está compuesto por un conjunto grande y heterogéneo de pequeñas y medianas empresas (Pymes), y un reducido núcleo de empresas grandes que tienen una importante participación de mercado, sobretudo en el segmento de productos de consumo masivo tales como los artículos de tocador, capilares, higiene descartable e higiene oral. En estas ramas es donde las grandes firmas pueden desplegar sus ventajas competitivas, como las fuertes inversiones en publicidad, desarrollo de productos novedosos o su capacidad de negociación con las vías de comercialización. Por su parte, las Pymes (locales y extranjeras) tienen mayor presencia en maquillajes, tratamientos para la piel y el cabello y en fragancias.

Según el último reporte del Centro de Estudios para la Producción (CEP) existe un 21% de empresas de gran tamaño, de las cuales casi el 70% están controladas total o parcialmente por capitales extranjeros. En cuanto a las zonas de localización, la mayor parte de las firmas se concentra en Capital Federal 66%, Gran Buenos Aires 3% y provincia de Buenos Aires 25%, dejando solo un 6% en resto del país (CEP, 2008).

En 2004 se calculó que en el país existían entre 400 y 450 empresas que fabrican y/o comercializan productos (de las cuales entre el 25% y 30% son terceristas) que emplean alrededor de 5000 personas. Por su parte, la Cámara Argentina de la Industria Cosmética y Perfumería (CAPA), entidad que representa las firmas del sector, cuenta actualmente con 125 asociados, incluyendo 33 integrantes que producen artículos para terceros.

En el gráfico 3.4 se presenta la evolución seguida por las principales variables, exportaciones (E), importaciones (I), producción nacional (PN) y consumo aparente (CA), que es una aproximación de las ventas totales (nacionales más importados) en el mercado interno, calculado según la Ec. (1).

$$CA = PN + I - E \quad [3.1]$$

En 2012 el consumo aparente de cosméticos fue de 3400.81 millones de dólares representando un aumento del 244% respecto al año 2004 con una tasa de crecimiento promedio anual de aproximadamente 17.45%, a excepción del año 2008 que si bien presentó una tasa mayor de crecimiento al año siguiente no se mantuvo, al contrario, se produjo una disminución del 1.99%. A partir de ese año la tasa de crecimiento vuelve a aumentar hasta alcanzar el valor promedio de 17.45% (CAPA, 2014).

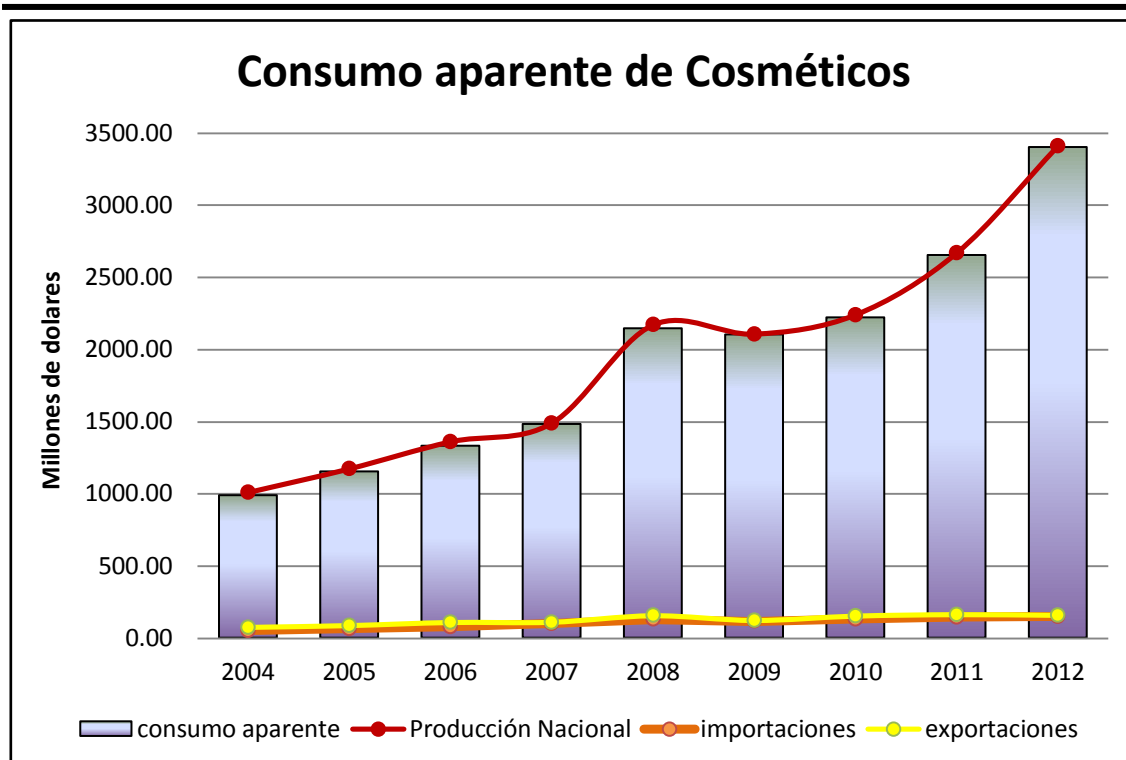


Gráfico 3.4 – Producción y Consumo Nacional Aparente de Cosméticos. Fuentes: CEP y CAPA 2012

Tabla 3.2 – Mercado de cosméticos en Argentina. FUENTE: CEP y CAPA 2012

Período	Producción Nacional	Importaciones (\$)	Exportaciones (\$)	Consumo Aparente (\$)
2005	3436	574	754	3256
2006	4189	745	1036	3898
2007	4647	998	1081	4564
2008	6909	1316	1579	6645
2009	7901	1645	1726	7821
2010	8792	2050	2364	8478
2011	11064	2523	2811	10777
2012	15593	3127	3313	15407

3.5. MERCADO DE COSMÉTICOS CON ÁCIDO HIALURÓNICO EN ARGENTINA

Existe evidencia de la tendencia del mercado respecto de producir cosméticos con componentes biológicamente compatibles, tales como el HA, y entre las grandes empresas y marcas tradicionales puede observarse que vienen introduciendo dentro de sus líneas de productos este compuesto. El HA adquirió una posición fuerte en el mercado internacional cerca del año 2000; en Argentina su consumo inició cerca del año 2005, por lo que al ser un

producto relativamente reciente, la estimación del mercado potencial y demás indicadores relevantes del análisis de mercado no son de fácil medición.

En nuestro país, el HA encuentra aplicaciones en los campos de la industria cosmética y la industria farmacéutica, ya sea en forma de cremas cosméticas, rellenos dérmicos, gotas oftálmicas y productos antiartrósicos. Los datos de mercado acerca de productos cosméticos son proporcionados por CAPA, pero se desconoce la información específica acerca de productos con HA. Por otro lado, dentro del Nomenclador Común del Mercosur (NCM), se puede encontrar al HA dentro de la posición arancelaria 3304.99.90.300J, definida como preparaciones de belleza en forma de gel inyectable. No se encontraron datos de mercado a nivel nacional de gotas oftálmicas ni productos antiartrósicos, por lo tanto el presente análisis se enfocará en el HA de uso cosmético.

3.5.1. Cremas con HA

Las cremas que contienen HA son muy difundidas ya que muchas personas consideran el tratamiento inyectable como una alternativa demasiado invasiva, y prefieren la aplicación tópica a pesar de requerir mayor frecuencia de aplicación, y con resultados menos duraderos. Con el objeto de determinar la porción del mercado de cremas faciales ocupada por las cremas que contienen HA, y el contenido de HA de las mismas, se recurre a fuentes primarias de información para formar una tendencia y asumir que la misma se cumple a nivel nacional (BACA URBINA, 2001). Por tal motivo, se realizó un relevamiento en el rubro cosmético, específicamente cremas de belleza, en las ciudades de Villa María y Villa Nueva en las principales farmacias y perfumerías. Estos comercios se seleccionaron de acuerdo a la diversidad y cantidad de productos que ofrecen al consumidor. Se visitaron 4 perfumerías y 25 farmacias, y se obtuvieron datos de ventas de 3 años, 2012, 2013, y el periodo transcurrido de 2014 (Enero-Abril).

Con los datos obtenidos se realizó una extrapolación a nivel ciudad, en base al total de farmacias y perfumerías, con lo cual se obtuvo el total de cremas que contienen HA que se comercializaron en Villa María y Villa Nueva en dicho periodo. Para el año 2014 se realizó una comparación a igual periodo con el año 2013, se calculó el incremento anual y considerando que el mismo se mantendrá constante durante todo el año, el total de cremas estimado para este año. Este tratamiento se realizó de la misma manera para todos los datos recopilados correspondientes a este año.

Conocidos los totales de cremas con HA para cada año, se calculó un consumo promedio anual de cremas por persona. Para dicho promedio, se utilizó el segmento poblacional que

comprende personas de sexo femenino dentro de un rango de edades de 25 a 64 años, ya que este es el principal consumidor de este tipo de producto. Este segmento se seleccionó en base a la bibliografía consultada (LONDOÑO BARRERA & SOSSA ATEHORTUA, 2013) y se corroboró durante el relevamiento realizado. Con el consumo promedio por persona se extrapoló al total del país, considerando como población total este mismo segmento pero a nivel país (Datos Censo 2010 INDEC).

Según CAPA, el consumo de cremas del año 2012 fue de 78 millones de unidades. De acuerdo al relevamiento realizado, 130171 unidades corresponden a cremas que contienen HA, y por lo tanto, ocupan un 0,17% del mercado total de cremas. El conocimiento de este valor permite calcular el mercado de cremas con HA para años anteriores, a partir de los datos de CAPA como se puede apreciar en el gráfico 3.5.

El punto señalado fue corregido ya que el valor original se desviaba de la tendencia de los datos, no por factores intrínsecos al mercado de cremas, sino debido a factores externos. Esta corrección del punto cuya causa de desviación se conoce da como resultado una curva que refleja un comportamiento que representa mejor la realidad del mercado, lo que permitirá reducir el error en proyecciones futuras.

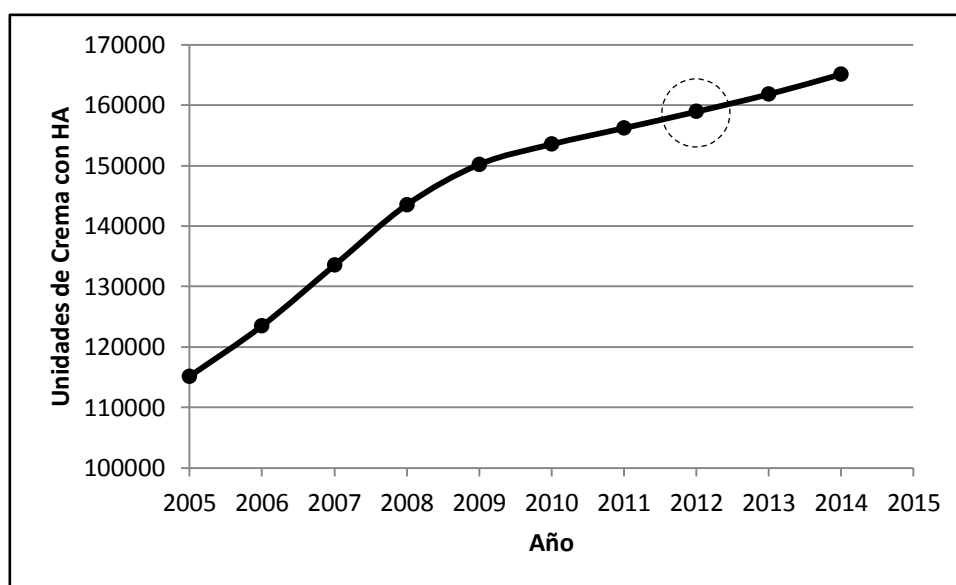


Gráfico 3.5 – Consumo Nacional de Cremas que contienen HA. Fuente: CAPA, Elaboración propia.

En el año 2012 Argentina sufrió un enfriamiento económico importante, convirtiéndose en el país que más desaceleró su tasa de crecimiento dentro de América Latina. Además del efecto de la crisis mundial, diversos factores domésticos estuvieron involucrados:

- Disminución de las inversiones debido a trabas en las importaciones, cepo cambiario, elevada incertidumbre y pérdida de competitividad externa.
- El consumo fue el principal y único motor de la economía.
- Aceleración de la inflación, debido a la liberación de las tarifas de los servicios públicos y el tipo de cambio nominal, además de la emisión de divisas.

Todos estos factores influyeron directamente en todos los aspectos del mercado considerados, por lo cual para este año se realizaran las correcciones correspondientes sin exponer nuevamente los motivos por los cuales fueron corregidos.

El relevamiento de datos también permitió determinar el contenido de HA de las cremas presentes en el mercado. Se puede establecer lo siguiente:

- Las marcas comerciales más reconocidas cuentan con líneas cosméticas que contienen HA, compuestas principalmente por productos anti-edad y humectantes corporales y faciales.
- Algunos productos de líneas convencionales contienen HA como agente humectante, por ejemplo algunos protectores solares.
- El rango de composiciones es muy variable, con un mínimo de 0,03% para emulsiones y un máximo de 1% para serum concentrados.
- Las cremas se presentan en cantidades desde 15 g hasta 200 g Disminuyendo el porcentaje de HA conforme aumenta el volumen.
- En promedio, una unidad de crema contiene 32 mg de HA.

A los datos obtenidos acerca de las cantidades de HA en cada producto se aplicó el mismo tratamiento que el realizado para las unidades de cremas, con lo cual se obtuvieron las cantidades totales de HA consumido en cremas para el periodo relevado. Con el valor de contenido promedio y los datos de CAPA para unidades de cremas de los años anteriores, se determinó el consumo de HA para el periodo desde 2005 hasta la actualidad. Los resultados se resumen en la tabla 3.3.

3.5.2. Inyectables con HA

El consumo de rellenos dérmicos con HA se determinó en base a datos de Scavage, página de internet que recopila datos del comercio exterior Argentino. Esto se realizó de esta manera ya que este tipo de productos no se elaboran en el país, por lo tanto todos los productos consumidos son importados.

El sitio registra datos de exportaciones de rellenos; debido a que el país no los fabrica se deben a productos que ingresan pero no son comercializados aquí, sino que se trasladan a otros países.

Tabla 3.3 – Consumo Nacional de Inyectables con HA. Fuente: scavage.com (08/06/14)

Periodo	Importaciones	Exportaciones	Consumo Nacional		
			Cantidad (gr)		
Años			Entrecruzado	Lineal	Total
2005	602,4	0,50	481,52	120,38	601,9
2006	362,29	18,06	275,38	68,85	344,23
2007	1189,11	44,90	915,37	228,84	1144,21
2008	1385,97	91,28	1035,75	258,94	1294,69
2009	1341,84	190,35	921,19	230,30	1151,49
2010	1691,88	487,00	963,90	240,98	1204,88
2011	3104,04	891,26	1770,22	442,56	2212,78
2012*	3738,21	179,27	2847,15	711,79	3558,94
2013	4372,38	423,65	3158,98	789,75	3948,73
2014**	5114,13	775,32	3471,05	867,76	4338,81

*Valor Corregido - **Valor Estimado

La posición arancelaria analizada es la siguiente (SCAVAGE, 2014):

3304.99.90.300J: Preparación de belleza en forma de gel inyectable (por ejemplo: ácido hialurónico en solución salina), de los tipos utilizados para corregir arrugas, pliegues y cicatrices de la piel o aumentar los labios, acondicionada para la venta al por menor en su jeringa de aplicación junto con agujas.

Estos productos no se adquieren en farmacias, sino que se comercializan directamente desde el distribuidor mayorista al profesional médico capacitado para aplicarlo. Los datos se resumen en la tabla 3.3, donde se hace distinción respecto a las cantidades de HA entrecruzado y lineal contenido en las jeringas, ya que se utiliza una proporción 80:20, respectivamente.

3.5.3. Demanda de HA

La tabla 3.4 agrupa los datos obtenidos para unidades de cremas y cantidades de HA, tanto de cremas como inyectables. La última columna corresponde a la demanda total de HA durante el periodo estudiado.

Tabla 3.4 – Demanda y Consumo de HA. Fuente: Elaboración propia, CAPA, scavage.com.

(08/06/14)

Período	Consumo Total Nacional						Demanda de HA (kg)
	Unidades de crema	Unidades de crema con HA	HA lineal en cremas (kg)	HA en Inyectables (kg)		Total HA lineal (kg)	
				Entrecruzado	Lineal		
2005	69000000	115152	3,68	0,48	0,12	3,80	4,28
2006	74000000	123496	3,95	0,28	0,07	4,01	4,29
2007	80000000	133509	4,27	0,92	0,23	4,49	5,41
2008	86000000	143522	4,59	1,04	0,26	4,84	5,88
2009	90000000	150198	4,80	0,92	0,23	5,03	5,95
2010	92000000	153536	4,91	0,96	0,24	5,15	6,11
2011	93600000	156206	4,99	1,77	0,44	5,43	7,20
2012*	78000000	158922	5,08	2,85	0,71	5,79	8,64
2013	-	161802	5,17	3,16	0,79	5,96	9,12
2014**	-	165104	5,28	3,47	0,87	6,14	9,61

*Valor Corregido - **Valor Estimado

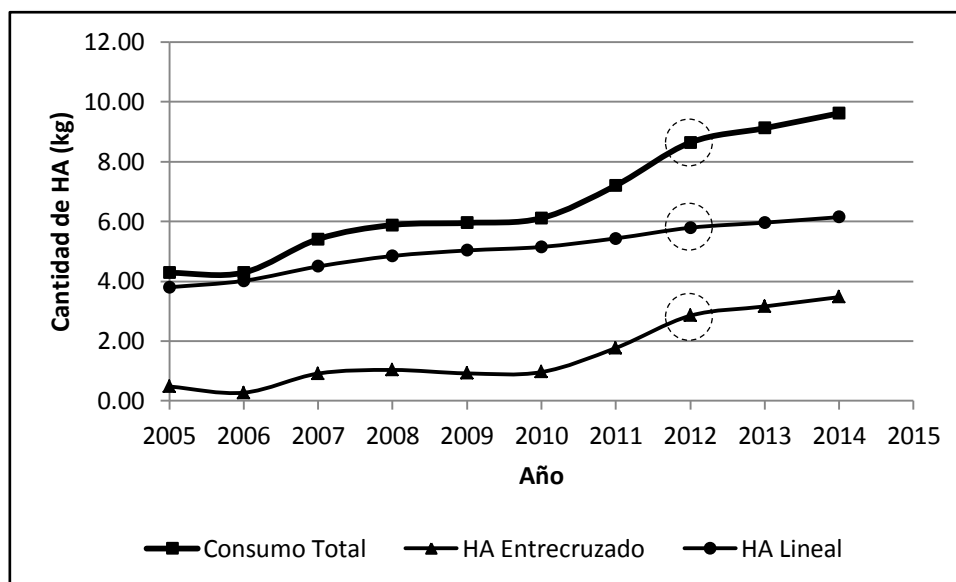


Gráfico 3.6 - Consumo de HA por tipo.

El gráfico 3.6 muestra el consumo total de HA, el cual se obtuvo de la suma del contenido total del mismo en cremas e inyectables. La curva correspondiente al HA lineal engloba el

consumido en cremas y la proporción de lineal contenida en los inyectables, mientras que la curva para HA entrecruzado corresponde a la cantidad utilizada en inyectables.

La curva referida al HA lineal muestra un crecimiento del consumo no tan pronunciado, mientras que la curva correspondiente al HA entrecruzado presenta una tendencia creciente más marcada a lo largo de los años, debido al incremento de difusión acerca de los inyectables dérmicos conteniendo este producto.

El gráfico 3.7 muestra que la demanda presenta una tendencia creciente, se realiza una regresión lineal para estimar la demanda futura de los próximos años. Para realizar esta estimación, se suponen constantes las condiciones de mercado actual.

El producto no se elabora en el país, por lo tanto todos los consumidores deben importarlo, y dado que presenta un consumo apreciable y creciente, la inversión en una planta que produzca HA es factible.

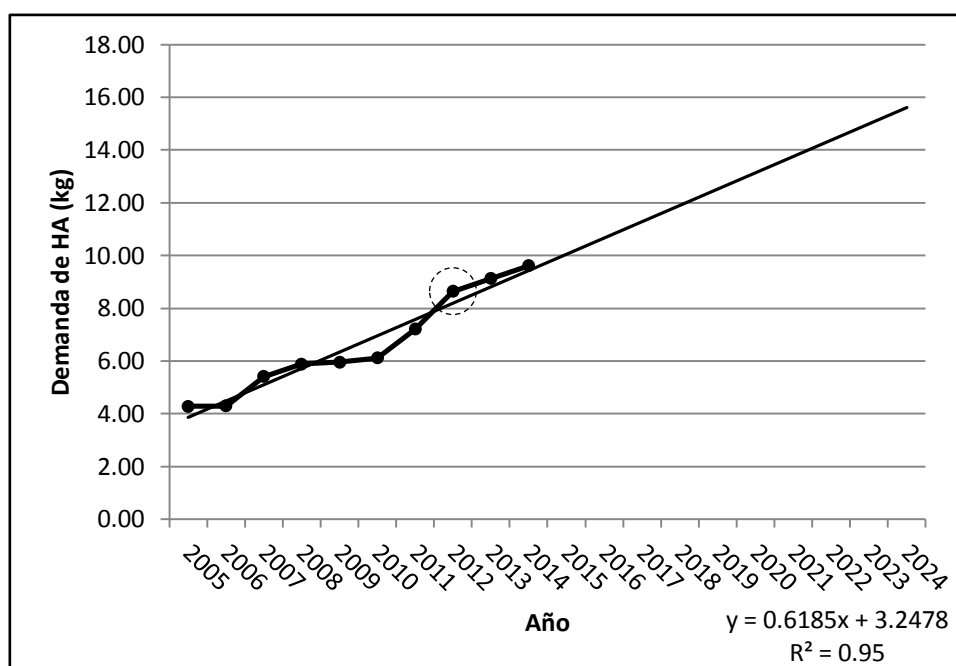


Gráfico 3.7 – Demanda Total y Estimada de HA.

3.6. PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE MATERIAS PRIMAS EN ARGENTINA

Las principales materias primas requeridas para la producción de HA son los sustratos y nutrientes que se aportaran al medio de cultivo como fuentes de carbono y nitrógeno. El principal sustrato es la sacarosa, debido a las cantidades requeridas, mientras que en menor medida se utiliza extracto de levadura y sales. A continuación se reúne la información de mercado disponible de estos.

3.6.1. Sacarosa

La producción de azúcar en Argentina se obtiene de la caña de azúcar. Las principales provincias productoras son Tucumán, Salta y Jujuy, y en menor medida Misiones y Santa Fe. Más del 85 % del azúcar se procesa como azúcar blanco, quedando el 15 % restante como azúcar crudo destinado principalmente a la exportación. (SECRETARÍA DE POLÍTICA ECONÓMICA - MECON, 2011)

Son 8 los principales grupos económicos que representan el 85 % de la producción azucarera. En la tabla 3.5 se resumen las principales empresas productoras y sus actividades.

Tabla 3.5 – Principales empresas dedicadas a la producción azucarera. Fuente: MECON (2011)

Empresa	Plantas industriales	Productos	% Producción nacional
ATANOR	3 ingenios en Tucumán	Azúcar común tipo A, Blanco refinado	17.4
LEDESMA	1 ingenio en Jujuy	Azúcar común tipo A, blanco refinado, azúcar farmacoepa	17.3
AZUCARERA JUAN M. TERÁN	2 ingenios en Tucumán, 1 ingenio en Jujuy	Azúcar común tipo A	10.4
CIA AZUCARERA LOS BALKANES	3 ingenios en Tucumán	Azúcar	10.0
SAN MARTIN DE TABACAL	1 ingenio en Salta	Azúcar común tipo A, azúcar refinada	10.0
JOSÉ MINETTI Y CIA	2 ingenios en Tucumán	Azúcar común tipo A, azúcar refinada, melaza	8.7
LA TRINIDAD	1 ingenio en Tucumán	Azúcar común tipo A	5.9
ARCOR	1 ingenio en Tucumán	Azúcar para consumo propio	5.7
RESTO	1 ingenio en Jujuy, 2 ingenios en Tucumán	Azúcar común tipo A, azúcar crudo de exportación	14.6

El azúcar requerido como materia prima será azúcar blanco refinado de primera calidad ya que este cumple con los requisitos de pureza, y los estándares microbiológicos se alcanzan mediante la esterilización del medio de cultivo previa al inicio de la fermentación. Además de estas empresas productoras, se analiza la posibilidad de adquirir la materia prima de proveedores de reactivos para laboratorio, ya que pueden certificar la calidad del producto. Para la selección de un proveedor se considera la distancia hasta la planta de producción, los costos, la calidad del producto y las cantidades requeridas.

Tabla 3.6 – Mercado de Sacarosa en Argentina. (CENTRO AZUCARERO ARGENTINO, s.f.)

Año	Sacarosa (Tn)			
	Producción	Exportaciones	Importaciones	Consumo
2004	1616226	150129	7672	1473769
2005	1545323	230675	2599	1317247
2006	1808268	325785	3	1482486
2007	1727314	205249	3	1522068
2008	1852485	186804	26716	1692397
2009	1755011	376541	2809	1607909
2010	1657536	163188	29072	1523420
2011	1716224	23134	43291	1736381
2012	1768191	131309	399	1637281
2013	1821732	166225	17	1655524
2014	1878195	59104	7	1819098

La producción argentina de azúcar muestra una tendencia creciente a pesar de haberse mantenido estable la superficie cultivada, esto se debe a las inversiones realizadas en materia tecnológica, genética y agronómica. Las caídas interanuales se deben fundamentalmente a factores climáticos, por ejemplo en 2013 la sequía y heladas provocaron que la producción fuera mucho menor respecto a la del año anterior. La demanda interna de azúcar es estable, mientras que la producción presenta una tendencia creciente, lo cual tiende a generar excedentes de producción.

Las exportaciones presentan un incremento cuantitativo creciente, siendo Chile el principal país exportador aunque también se exporta a otros países.

Las importaciones provienen casi exclusivamente de Brasil, son poco significativas y presentan un volumen decreciente. (ANTUÑA, 2010)

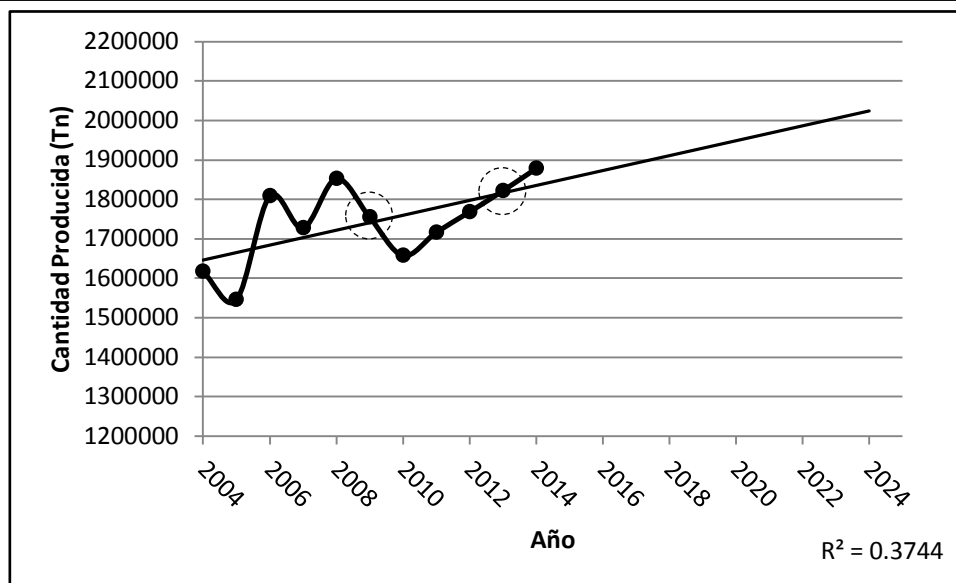


Gráfico 3.8 – Producción Nacional de Sacarosa y su tendencia. Fuente: CAA (2015)

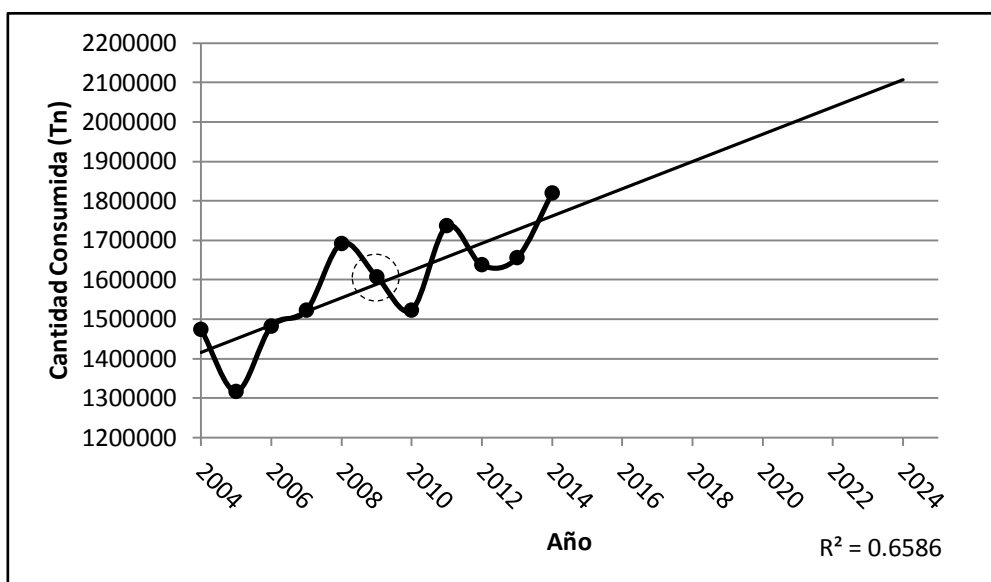


Gráfico 3.9 – Consumo Nacional de Sacarosa y su tendencia. Fuente: CAA (2015)

El punto correspondiente al año 2009 fue corregido, ya que en estos años la economía global y Argentina se vieron afectadas por la crisis financiera internacional de 2008 en Estados Unidos, y los valores registrados se alejan de la tendencia general. El punto correspondiente al año 2013 fue corregido ya que ese año los factores climáticos produjeron un desvío importante de los valores generales.

En los gráficos 3.8 y 3.9 se puede apreciar que tanto la producción como el consumo de la sacarosa presentan una tendencia de crecimiento lineal. La comparación de los valores estimados para el periodo 2014-2024 indica que la diferencia entre la producción y el consumo

representa en promedio un 9.5% de la producción nacional, lo que permite asegurar que habrá un exceso de producción suficiente para emplearse como materia prima en la producción de ácido hialurónico.

3.6.2. Otras materias primas

Acercas de las demás materias primas necesarias para la producción de HA no se cuenta con datos específicos de mercado, por lo que se describirán brevemente los proveedores en el país y las presentaciones comercializadas.

- **Extracto de levadura:** se obtiene por la inactivación, plasmólisis, autólisis o hidrólisis de levaduras alimenticias (*Saccharomyces cerevisiae*). Se comercializa por su valor nutricional y por sus cualidades saborizantes, y se incorpora en las formulaciones industriales de alimentos para mejorar su sabor. Además se utiliza como fuente de nitrógeno, vitaminas y otros factores de crecimiento en la preparación de medios de cultivo para el desarrollo de microorganismos (LEZCANO, 2012).

La única empresa que fabrica extracto de levadura en Argentina es la Compañía Argentina de Levaduras S.A. (CALSA), quienes abarcan un 85% del mercado de levaduras del país. Esta empresa produce extracto en su planta ubicada en San Miguel de Tucumán, Tucumán. En la tabla 3.7 se listan los laboratorios que proveen este compuesto para medios de cultivo; estos laboratorios también son proveedores de las demás sales requeridas para el cultivo del microorganismo.

Tabla 3.7 – Laboratorios proveedores de componentes para medios de cultivo. Fuente: Elaboración propia en base a datos de páginas web de cada laboratorio.

Laboratorio	Ubicación	Extracto de levadura	Sacarosa
Laboratorios Britania S.A.	Ciudad Autónoma de Buenos Aires	500 g 25 kg	-
Merck Millipore	Carlos Spegazzini, Buenos Aires	500 g 1 - 25 kg	250 g 1-5-25-50 kg
Neolab Argentina	Capital Federal, Buenos Aires	100 – 500 g	1-5-25 kg
Reagents S.A.	San Lorenzo, Santa Fe	500 g 5 – 25 kg	100-250-500 1-5-20 g

3.7. ANÁLISIS FODA

Fortalezas	<ul style="list-style-type: none">• Numerosas aplicaciones en diversas áreas: cosmética, farmacéutica, alimenticia.• Mercado ampliamente difundido en Europa, América del Norte y algunos países de Asia.• Rápido crecimiento del mercado debido al incremento del conocimiento de los consumidores.• Se encuentra naturalmente en el cuerpo humano.• Producto alternativo respecto a aquellos de origen animal, más seguro, más resistente a la degradación, no requiere pruebas de alergia.• Obtención biotecnológica, proceso más simple respecto al necesario para otras materias primas.• Múltiples formas de aplicación, con diversas funciones.• BPM para la fabricación de ingredientes cosméticos de calidad.• Es el segundo relleno más utilizado luego del Bótox, y la tendencia general del mercado es desplazar la toxina por productos más naturales.• Conjunto grande de consumidores conformado por pequeñas y medianas empresas.• El sustrato principal presenta un mercado creciente, con un exceso de producción.• Disponibilidad de mano de obra.• Recursos humanos capacitados.• Innovación y calidad en los diferentes productos cosméticos.
Oportunidades	<ul style="list-style-type: none">• Auge del consumo de productos anti-age.• Producto no fabricado en el país ni en la región Mercosur.• Existe un gran consumo del producto en países cercanos a Argentina, especialmente de Brasil, que forma parte del MERCOSUR, lo que facilita el comercio.• Mercado potencial en Sudamérica.• Mercado potencial masculino.• Producto tópico de venta libre en farmacias.• Externalización de la producción de cosméticos.

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Estudio de Mercado



	<ul style="list-style-type: none">• Materias primas para productos cosméticos mayoritariamente importadas.
Debilidades	<ul style="list-style-type: none">• Producto incipiente en el mercado cosmético, requiere inversión en marketing.• Se requiere en bajos volúmenes.• MO patógeno en animales.• No es un producto indispensable.• Producto inyectable requiere la aplicación por parte de un especialista.• El mercado de cremas con HA representa una porción muy pequeña del mercado total de cremas.• MO nutricionalmente exigente.
Amenazas	<ul style="list-style-type: none">• Posibilidad de producción para otras empresas a partir de MO recombinantes, no patógenos.• Inestabilidad de la situación económica financiera nacional.• Materias primas requeridas para la producción elaboradas por un pequeño número de laboratorios.

3.8. CONCLUSIONES

En base al estudio anterior se puede concluir que el HA es un producto con demanda creciente en nuestro país, y no existe ningún competidor en el mercado nacional. En el análisis FODA no se presenta ninguna debilidad o amenaza sobresaliente que imposibilite la realización del proyecto. Se debe hacer hincapié en las fortalezas y oportunidades evaluadas para lograr llegar al mercado y sobrellevar las posibles adversidades que se presenten.

La falta de producción del mismo en el país, lo cual obliga a importarlo, permite concluir que la instalación de una planta elaboradora del producto sería una buena alternativa.

El principal sustrato requerido para el medio de cultivo, la sacarosa, presenta una tendencia de mercado creciente, con un exceso estimado de producción que se mantiene en el futuro, por lo cual se puede asegurar que su adquisición no será un problema.

Pese a las dificultades para establecer el mercado potencial debido a la falta de registros históricos, utilizando las fuentes primarias de información fue posible estimar que este mercado existe y presenta una tendencia creciente.

Si bien el consumo anual nacional de HA parece un volumen pequeño, se corresponde a las pequeñas cantidades de HA requeridas para alcanzar los resultados esperados de las cremas e inyectables. Se estima que la capacidad de la planta a instalar será pequeña, por lo tanto se evaluará la alternativa de anexarla a un laboratorio productor de cosméticos ya existente.

Debido a las aplicaciones de este producto, se requieren diversos niveles de calidad, por lo tanto este presenta un amplio rango de precios. Para aumentar la calidad se precisan más etapas en el proceso de producción, que se traduce en un aumento del precio de venta final.

Las ventajas competitivas de este producto respecto a otros cuyas funciones son similares plantean un crecimiento futuro en el mercado, marcado por el desplazamiento de productos actualmente más comercializados, como el Bótox.

Respecto a las amenazas que representan los desequilibrios económicos-financieros que afectan al mercado nacional, estos afectaran a cualquier proyecto que se plantee y deberán superarse en cualquier rubro, ya que constituyen parte de los riesgos que se deben afrontar al realizar una inversión.

Como conclusión general, llevar a cabo la instalación de una planta productora de ácido hialurónico en nuestro país constituye una buena alternativa.

Capítulo 4

Localización de la Planta

4. LOCALIZACIÓN DE LA PLANTA

4.1. INTRODUCCIÓN

La adecuada ubicación de la planta industrial es tan importante para su éxito posterior como lo es la elección del proceso mismo, por lo tanto para lograr esto, se realiza un análisis tan amplio como sea posible sobre diversos factores que pueden influir en la ubicación de la misma.

El objetivo de este capítulo es determinar la macro y micro ubicación de la planta de forma que la elección del lugar permita reunir los materiales necesarios, realizar los procesos de fabricación y entregar el producto a los clientes con el costo total más bajo posible (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 2008).

4.2. MACROLOCALIZACIÓN

El análisis de la ubicación del proyecto debe realizarse en distintos grados de profundidad, dependiendo de las consideraciones de distintos conjuntos de factores. La macrolocalización es un análisis preliminar que de forma general define una región o macrozona apropiada para la localización. Esto permite reducir el número de soluciones posibles al descartar los sectores geográficos que no responden a las condiciones requeridas por el proyecto, facilitando la posterior selección de la microlocalización definitiva (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 2008).

Este análisis se llevara a cabo utilizando el procedimiento de cribado a partir de dos factores principales:

- Cercanía a la materia prima

En la figura 4.1 se puede observar la ubicación de las cuatro empresas que proporcionan la mayor parte de productos que se requieren en la formulación del medio de cultivo. De estos, tres se concentran en una pequeña zona de la provincia de Buenos Aires.

- Cercanía a los consumidores

Los consumidores del HA se pueden dividir de acuerdo a la aplicación del mismo. Por un lado se encuentran los laboratorios de cosméticos que producen, entre otros productos, cremas antiage con HA lineal en su formulación.

Como puede observarse en la figura 4.2 estos se concentran en una pequeña zona dentro de la provincia de Buenos Aires. Por otro lado, los consumidores del ácido como inyectable dérmico se encuentran distribuidos por todo el país. Si bien las aplicaciones de estas inyecciones son consideradas un procedimiento estético no quirúrgico, deben ser aplicadas en lugares habilitados y por cirujanos plásticos.

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Localización de la Planta

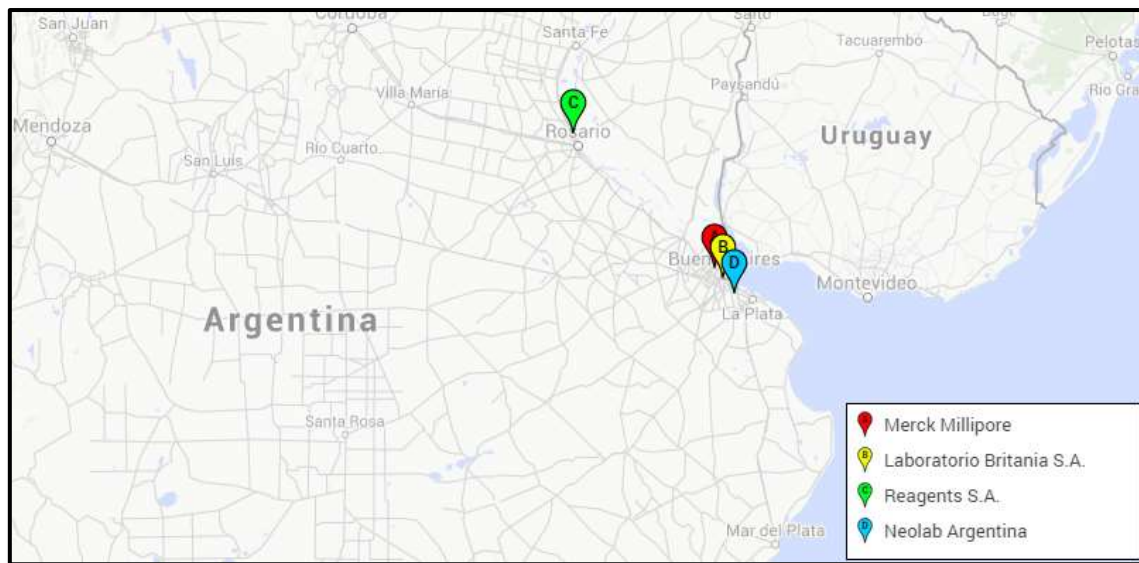


Figura 4.1 – Ubicación de las empresas productoras de las principales materias primas. Fuente: Elaboración propia en base a los datos de las páginas web de cada empresa.

En base a datos aportados por la Sociedad Argentina de Cirujías Plásticas, Estéticas y Reparadoras (S.A.C.P.E.R., 2014) se realizó una distribución por provincia de los cirujanos Plásticos (figura 4.3) a partir de la cual se puede decir que la mayor parte de estos se encuentran concentrados en la provincia de Buenos Aires, seguido por la región centro del país.



Figura 4.2 – Ubicación de los laboratorios consumidores de HA. Elaboración propia en base a datos de las páginas web de cada laboratorio.

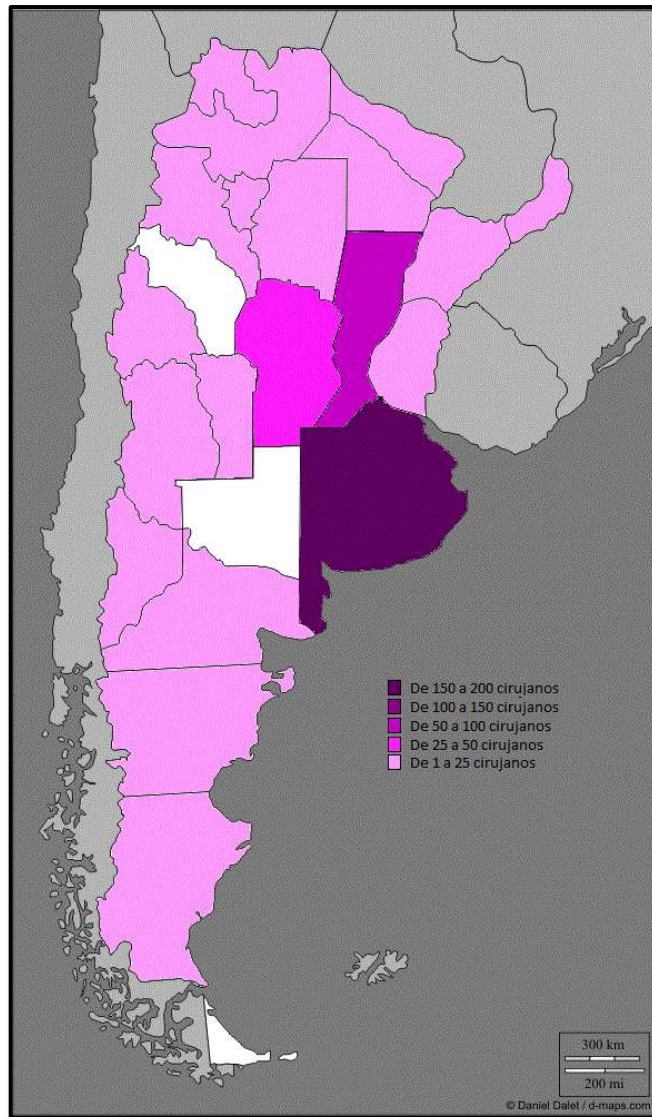


Figura 4.3 – Distribución por provincia de cirujanos registrados en SACPER. Fuente:
Elaboración propia en base a datos de la página web de SACPER.

En base a estos datos podemos suponer que estas son las zonas de mayor aplicación y consumo debido a que presentan un mayor número de cirujanos habilitados, sin embargo, aún no existe un marco legal que regule las actividades de los centros cosméticos por lo que existen lugares donde quien realiza estas aplicaciones no posee habilitación. Las provincias que no presentan color se debe a la falta de información por parte del SACPER.

De acuerdo al análisis de estos dos factores, se puede concluir que la zona más apropiada para la planta es en la provincia de Buenos Aires, ya que en esta se encuentran localizadas la mayor parte de las fuentes de materia prima y de consumidores para ambos productos.

4.3. MICROLOCALIZACIÓN

Para determinar la microlocalización dentro de la macrozona ya definida se realiza un análisis más detallado de los distintos factores que influyen sobre ésta, con el objetivo de definir el lugar exacto más adecuado donde se podría instalar la planta industrial, de modo que este permita cumplir con los objetivos de lograr la más alta rentabilidad o producir el mínimo costo unitario (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 2008).

Como se menciona en el capítulo 3, la planta para producir el HA no requiere una gran capacidad por lo que se plantea ubicarla como un anexo en la sede de algún laboratorio cosmético ya establecido. Para ello se analizaran cada uno de los laboratorios consumidores de este producto (figura 4.2) a través del método de puntuaciones ponderadas. Este consiste en ponderar de acuerdo a su importancia los distintos factores que se deben tener en cuenta para la ubicación de la planta. Luego se le asigna una puntuación porcentual a cada laboratorio para cada uno de los factores según la perfección con relación al factor considerado. Estos porcentajes se multiplican por las ponderaciones correspondientes dando como resultado el grado de perfección. Finalmente la sumatoria de los grados de perfección de todos los factores para cada laboratorio da un valor, el mayor de ellos indica el lugar más adecuado (BACCIFAVA & ILLANES, 2014). Los factores a considerar son:

- Capacidad de los laboratorios

La capacidad del laboratorio es uno de los factores más importantes para determinar la ubicación. Sin embargo estos datos no están disponibles ya que si bien se conoce la capacidad total de algunos laboratorios, estos no especifican cuanto de ese total representa a la producción de cremas antiage con HA. Es por ello que en su lugar se utiliza para ponderar este factor la cantidad de diferentes productos con HA en su formulación que produce cada laboratorio (tabla 4.1).

Tabla 4.1 - Cantidad de productos con HA en su formulación. Fuente: Elaboración propia en base a datos de las páginas web de cada laboratorio.

Laboratorio	Cantidad de productos con HA	
	Cremas	Relleno dérmico
Andrómaco	1	-
L. Bagó	5	1
L. Pablo Cassara	2	-
L. Dr. Madaus	1	-

Tabla 4.1 – (continuación)

Laboratorio	Cantidad de productos con HA	
	Cremas	Relleno dérmico
L. Finadiet	2	1
L. Internacional Arg. S.A.	2	-
Lagos L. Arg. S.A.	1	-
Maigal S.A.	2	-
Microsules Arg. S.A.	2	-
Pharmatrix S.A.	4	-
Cosméticos AVON S.A.C.I	2	-

- Disponibilidad de terreno

Si bien la planta no presenta un gran tamaño, la disponibilidad de terreno que posea cada laboratorio es esencial debido a que no solo se requiere un lugar físico para la planta de producción sino también se necesita un lugar para el tratamiento de los efluentes. Algunos laboratorios tienen sus sedes ubicadas dentro de barrios urbanos y con el total de su terreno ocupado por lo que se considera que estos no presentan espacio suficiente, mientras que otros cuentan con superficie libre en sus terrenos y se ubican en barrios apartados de la ciudad o en parques industriales.

- Distancia a consumidores

Para analizar este factor solo se consideraron los laboratorios de cosméticos consumidores del HA lineal ya que, como se menciona anteriormente, estos se ubican en una pequeña zona de la provincia de Buenos Aires por lo que la distancia a los consumidores de HA inyectable, ubicados en todo el país, es aproximadamente la misma para cada laboratorio.

Como se muestra en la figura 4.5, del total de los laboratorios seis se ubican dentro de un radio de 20 km, dos en un radio de 30 km y tres en un radio de 50 km. Para ubicar el punto central de estas zonas se utiliza el valor medio de la distancia existente entre los dos laboratorios más alejados.

Los tres marcadores sin referencia presentes en la figura 4.5 son los laboratorios proveedores de materia prima que se encuentran dentro de esta zona delimitada. Como puede apreciarse los tres se ubican aproximadamente dentro del radio de 30 km.

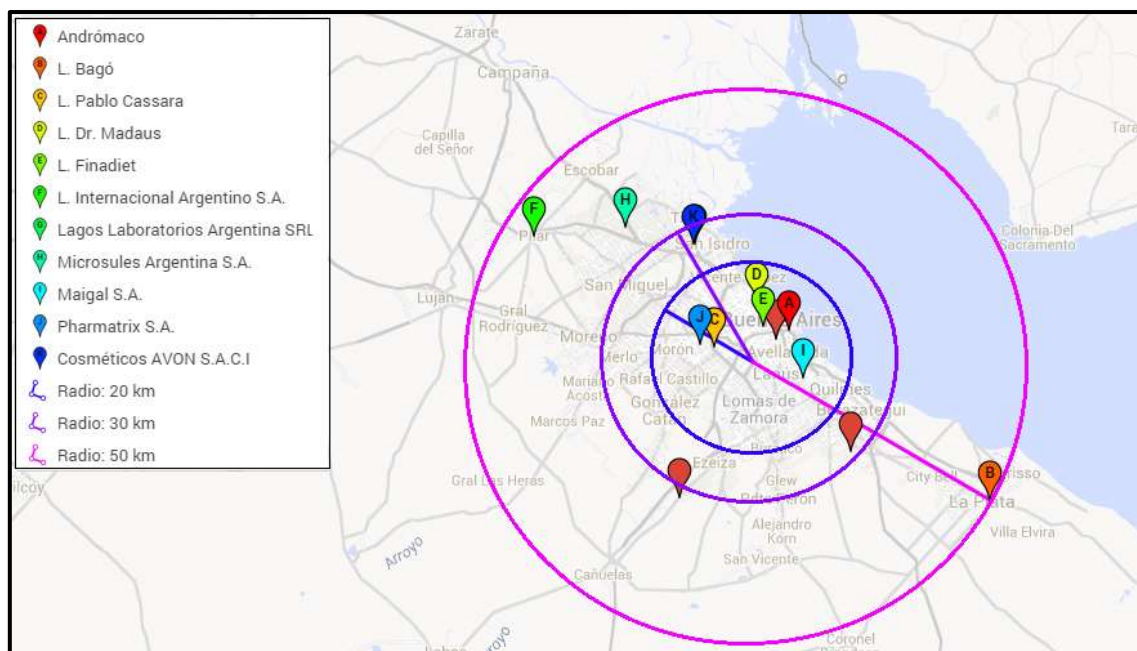


Figura 4.5 - Distribución de los laboratorios consumidores de HA lineal. Fuente: Elaboración propia en base a datos de las páginas web de cada laboratorio.

- Medio y costo de transporte

Este suele ser un factor importante para cualquier proyecto, sin embargo, en este caso se puede considerar que la influencia es mínima dado que todos los laboratorios cosméticos donde es posible ubicar la planta se encuentran concentrados en una pequeña zona de la provincia de Buenos Aires, por lo que las distancias a los consumidores y a las materias primas no difieren en gran medida de uno respecto de otro. También se debe considerar que no se manejan grandes volúmenes y es posible que los laboratorios posean un medio de distribución propio para el resto de sus productos.

- Disponibilidad de mano de obra

La planta requiere de mano de obra capacitada para realizar el trabajo debido a que durante la producción de HA se emplea un microorganismo patógeno para animales, haciendo de este un factor importante a tener en cuenta.

Los laboratorios se encuentran ubicados en la cercanía de diversas universidades, ya que la provincia de Bs.As. cuenta con un total de 29 universidades públicas y privadas (UNIVERSIDADES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, 2014). Por lo tanto, se concluye que si bien este es un factor importante, no influye demasiado en la decisión de la

ubicación debido a que la provincia posee mano de obra calificada en cantidad y calidad.

- Disponibilidad de servicios auxiliares

La influencia de este factor se considera mínima ya que todos los laboratorios cuentan con las prestaciones de servicios básicas tales como gas, agua y electricidad.

4.3.1. Análisis de alternativas

En la tabla 4.2 se detallan los valores ponderados para cada factor y la puntuación porcentual correspondiente a cada laboratorio con el fin de comparar y determinar el lugar más adecuado.

Tabla 4.2 – Análisis por valores ponderados

Factor de localización	Ponderación	Andrómaco		L. Bagó		L. Pablo Cassara	
		%	Grado	%	Grado	%	Grado
Capacidad del laboratorio	300	10	30	80	240	40	120
Disponibilidad de terreno	500	10	50	10	50	10	50
Distancia a consumidores	200	70	140	40	80	70	140
Total	1000		220		370		310

Tabla 4.2 – (continuación)

Factor de localización	Ponderación	L. Dr. Madaus		L. Finadiet		L. Internacional Arg. S.A.	
		%	Grado	%	Grado	%	Grado
Capacidad del laboratorio	300	10	30	50	150	40	120
Disponibilidad de terreno	500	10	50	10	50	80	400
Distancia a consumidores	200	70	140	70	140	40	80
Total	1000		220		340		600

Tabla 4.2 – (continuación)

Factor de localización	Ponderación	Lagos L. Arg. S.A.		Maigal S.A.		Microsules Arg. S.A.	
		%	Grado	%	Grado	%	Grado
Capacidad del laboratorio	300	10	30	40	120	40	120
Disponibilidad de terreno	500	10	50	10	50	70	350
Distancia a consumidores	200	60	120	70	140	40	80
Total	1000		200		310		550

Tabla 4.2 – (continuación)

Factor de localización	Ponderación	Pharmatrix S.A.		Cosméticos AVON S.A.C.I	
		%	Grado	%	Grado
Capacidad del laboratorio	300	60	180	40	120
Disponibilidad de terreno	500	10	50	60	300
Distancia a consumidores	200	60	120	60	120
Total	1000		350		540



Figura 4.6 – Ubicación del Laboratorio Internacional Argentino. Fuente: Google Maps.

4.4. CONCLUSIÓN

En base al resultado de este análisis se puede concluir que el lugar más adecuado para la instalación de la planta es la sede de la firma Laboratorio Internacional Argentino S.A. con planta sita en calle Nº 8 esquina Nº 7, Parque Industrial Pilar en la ciudad de Pilar, provincia de Buenos Aires (figura 4.6). El laboratorio está habilitado por ANMAT y se desempeña como una planta elaboradora de especialidades medicinales en las formas farmacéuticas de inyectables en solución, suspensión y liofilizados. Con principios activos citostáticos y hormonales antineoplásticos, incluyendo presentaciones de gran volumen (ANMAT, 2012).

El Parque Industrial Pilar se ubica en la Ruta Nacional Nº 8 km 60, posee aproximadamente 850 hectáreas divididas en 255 lotes y 166 empresas en operación. Cuenta con infraestructura y equipamientos comunes tales como: aduana interior, área comercial, áreas verdes, bancos,

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Localización de la Planta



calles internas, correos, desagüe pluvial, desagüe sanitario, energía eléctrica, estación de servicio, estacionamiento para automóviles, internet, mantenimiento de áreas comunes, nomenclatura de calles, oficinas administrativas, red de gas, seguridad privada, señalización, sistema contra incendio, subestación eléctrica, teléfonos y transporte urbano (MINISTERIO DE INDUSTRIA, 2014).

Capítulo 5

Capacidad de Planta

5. CAPACIDAD DE PLANTA

5.1. INTRODUCCIÓN

El tamaño de un proyecto es su capacidad instalada, y se expresa en unidades de producción por año. La importancia de las inversiones en capacidad de producción plantea el reto de cómo utilizar la capacidad máxima disponible en las instalaciones. Adecuar esta capacidad al comportamiento de la demanda exige prever la evolución de ésta tanto a corto como a largo plazo, así como valorar el riesgo que puede ocasionar a la empresa el exceso de capacidad. El tamaño de la planta debe ser tal que pueda satisfacer la demanda actual y futura, de otra manera, la organización perdería oportunidades de crecimiento y de ganar beneficios. (CARRO PAZ & GONZÁLEZ GÓMEZ, 2012)

5.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TAMAÑO DE LA PLANTA

La selección del tamaño adecuado requiere del análisis de diversas variables de proyecto, como por ejemplo la demanda del producto, la disponibilidad de insumos, localización de la planta, tecnología disponible, plan estratégico comercial y opciones de financiamiento (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 2008). A continuación se detallan las variables más importantes respecto al presente proyecto.

- *Demanda proyectada*: este es el factor condicionante más importante. En un mercado creciente, el tamaño debe estar en condiciones de enfrentar el aumento esperado de la demanda actual. Esto hace recomendable definir una capacidad superior a la necesaria para cubrir la demanda actual, pero adecuada a las expectativas de su crecimiento. Se debe considerar además que se plantea la sustitución de un producto ya existente que en la actualidad se importa. En conclusión, el tamaño elegido debe responder a la situación a corto plazo y optimizarse frente al dinamismo de la demanda.
- *Distribución geográfica del mercado*: los principales consumidores de HA lineal son los laboratorios productores de cosméticos, mientras que el HA entrecruzado se comercializa en todo el país, mediante la venta directa a los especialistas encargados de su aplicación, los cirujanos plásticos. La mayoría de las clínicas de cirugía estética y los laboratorios productores de cosméticos se localizan en la provincia de Buenos Aires, por lo tanto se define una única planta productora de HA ubicada en esta provincia, que funcionará como punto de distribución a todo el país.
- *Localización de la planta*: la cercanía de la planta respecto a los establecimientos elaboradores de materias primas y a los posibles consumidores del producto final

permite una disminución en los costos de transporte, favoreciendo las economías de escala, ya que a mayor nivel de operación, menor costo unitario de insumos. Esto refuerza la idea de una sola planta que abarque todo el tamaño.

- *Tecnología disponible:* en algunos casos permite la ampliación de la capacidad productiva en tramos fijos, mientras que en otros el crecimiento paulatino de la capacidad se torna imposible, lo que obliga a invertir en una capacidad inicial superior a la requerida en una primera etapa.

5.3. SELECCIÓN DE LA CAPACIDAD

La selección del tamaño de la planta se realiza en base a la proyección de la demanda, y de su tasa estimada de crecimiento. El análisis de la demanda se realiza tanto para la producción total de HA como para cada uno de los productos a realizar, HA lineal y HA entrecruzado, ya que este último requiere más etapas de procesamiento que el primero, y debe definirse la capacidad para las mismas. Se debe tener en cuenta además la formulación de las jeringas que contienen HA entrecruzado, ya que se plantea la utilización de una proporción 80:20 entrecruzado:lineal, relación utilizada en la mayoría de estos productos para mejorar las propiedades de la aplicación.

5.3.1. Proyección de la demanda

El gráfico 5.1 muestra las líneas de tendencia y las ecuaciones de ajuste para la demanda de los dos productos y del total de HA. El ajuste correspondiente al HA lineal comprende tanto el ácido empleado en cremas como el utilizado en inyectables.

En la tabla 5.1 se aplicaron estas ecuaciones para calcular la demanda esperada para cada año, para un periodo de 10 años. Luego se calcula el porcentaje de crecimiento esperado de un año al siguiente, para obtener la tasa estimada de crecimiento de la demanda para cada producto durante el periodo considerado.

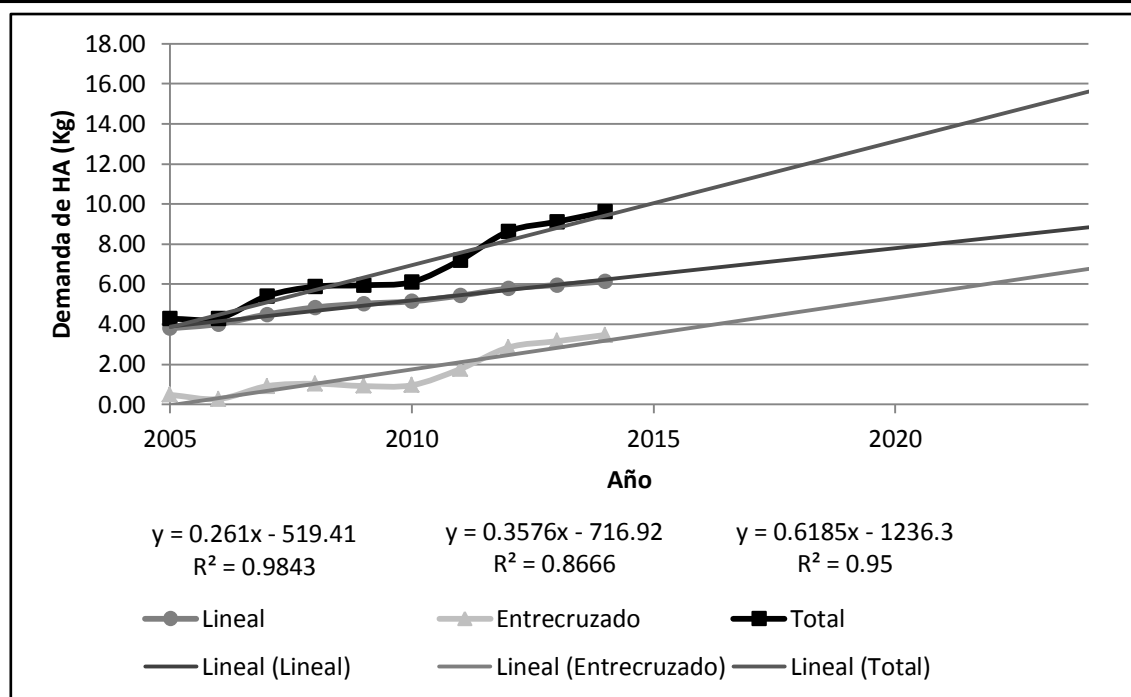


Gráfico 5.1 – Proyección de la demanda

Tabla 5.1 - Proyección de la demanda. Fuente: Elaboración propia en base a datos del estudio de mercado

Período	Demanda de HA (Kg)			% Crecimiento		
	Lineal	Entrecruzado	Total	Lineal	Entrecruzado	Total
2014	6,14	3,47	9,61			
2015	6,51	3,64	9,98	6%	5%	4%
2016	6,77	4,00	10,60	4%	10%	6%
2017	7,03	4,36	11,21	4%	9%	6%
2018	7,29	4,72	11,83	4%	8%	6%
2019	7,55	5,07	12,45	4%	8%	5%
2020	7,81	5,43	13,07	3%	7%	5%
2021	8,07	5,79	13,69	3%	7%	5%
2022	8,33	6,15	14,31	3%	6%	5%
2023	8,59	6,50	14,93	3%	6%	4%
2024	8,85	6,86	15,54	3%	5%	4%
Tasa de crecimiento esperada				4%	7%	5%

5.3.2. Cálculo de la capacidad

De acuerdo a Sapag Chain, el tamaño óptimo de un proyecto será aquel que permita mantener al mínimo los costos totales durante la vida útil estimada de los equipos a utilizar. Cuando se

enfrenta una demanda creciente, como en este caso, no existe un tamaño óptimo de la planta, sino una estrategia óptima de ampliación que puede definirse con anticipación (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 2008).

Se calcula el tamaño de la planta con demanda creciente empleando las ecuaciones [5.1] y [5.2], las cuales determinan el número de años en que se desarrolla el mercado desde que inicia la producción de la empresa. La demanda que se observa en el periodo en que el mercado llega a su desarrollo óptimo es la que determina el tamaño (SAPAG CHAIN & SAPAG CHAIN, 1991).

$$\frac{1}{R^n} = 1 - 2 \cdot \left[\frac{1 - \alpha}{\alpha} \right] \cdot \left[\frac{R - 1}{R + 1} \right]^{N-n} \quad [5.1]$$

$$R = (1 + r) \quad [5.2]$$

R = Desarrollo porcentual de la demanda

α = Exponente del factor de escala

N = Vida útil del equipo

n = Período óptimo

r = Tasa de crecimiento estimada del mercado

Una vez calculado el período óptimo, se incorpora en la ecuación [5.3] para determinar la capacidad de la planta.

$$D_n = D_0(1 + r)^n \quad [5.3]$$

D_0 = Magnitud del mercado actual

D_n = Tamaño de la planta

Este procedimiento solo considera la restricción del mercado, por lo que en la decisión final también deben considerarse los demás factores. La tabla 5.2 resume los valores de las variables utilizados y los resultados calculados para cada producto.

Tabla 5.2 – Cálculo de Capacidad

Variable	Producto		
	Lineal	Entrecruzado	Total
α	0.65		
N	10 años		
r	4%	7%	5%
R	1,04	1,07	1,05
n	9,688	9,765	9,715
D ₀	6,14	3,47	9,61
D _n	9,28	6,72	15,44

5.4. CONCLUSIÓN

La capacidad total de la planta a instalar será de 16 kg, los cuales se dividirán en dos líneas de proceso, una de 9,3 kg de HA lineal para uso en cremas e inyectables, y otra de 6,7 kg de HA entrecruzado solo para producción de inyectables.

Capítulo 6

*Procesos de Producción y Selección
del Proceso*

6. PROCESOS DE PRODUCCIÓN Y SELECCIÓN DE PROCESO

6.1. INTRODUCCIÓN

La fabricación industrial del ácido hialurónico se basa principalmente en dos procesos, la extracción de tejidos animales y la fermentación microbiana utilizando cepas bacterianas. Con ambos procesos se obtiene un ácido de alto peso molecular promedio ($\geq 1 \times 10^6$ Da) con un rango de polidispersión entre 1.2 a 2.3, para aplicaciones biomédicas y cosméticas. (BOERIU, et al., 2013)

6.2. PROCESOS DE PRODUCCIÓN

6.2.1. Extracción del tejido animal

El primer proceso llevado a cabo a escala industrial, fue la extracción del HA a partir de residuos animales. Si bien aún se aplica como una tecnología importante para la obtención de varios de los productos comerciales, su uso se ve disminuido debido a que presenta algunos inconvenientes durante el proceso de extracción, tal como la inevitable degradación del HA causada principalmente por:

- La actividad de la enzima hialuronidasa presente en los tejidos animales, la cual rompe la cadena del polímero a través de la hidrólisis enzimática.
- Las duras condiciones de extracción.

Si bien los métodos de extracción se han mejorado con los años, la obtención a partir de tejidos animales aún presenta bajos rendimientos debido a la baja concentración intrínseca del HA en el tejido, y a la alta polidispersión de polímeros causada tanto por las variaciones naturales en el peso molecular del ácido como la degradación no controlada durante la extracción.

Otra desventaja de este método es que como proviene de fuente animal existe un riesgo potencial de contaminación con proteínas y virus. Esto puede controlarse utilizando el tejido de animales sanos y realizando una extensa purificación. (BOERIU, et al., 2013)

Las principales fuentes para su extracción a nivel industrial son el cordón umbilical humano, el humor vítreo de peces y la cresta de gallo, aunque también puede utilizarse el líquido sinovial de bovinos. El contenido natural de HA que poseen estas fuentes es muy variable, como puede observarse en la tabla 6.1. Si bien algunos contienen grandes cantidades se debe considerar que no es posible recuperar todo el ácido debido al rendimiento de las etapas de purificación y la degradación que sufre la molécula durante su procesamiento. (MURADO GARCÍA, et al., 2005)

Tabla 6.1 - Contenido de HA en diversas fuentes

Fuente	HA (g por litro o kg)
Cresta de gallo	8 – 45*
Líquido sinovial vacuno	15 - 40
Humor vítreo de peces	0.06 - 0.3
Cordón umbilical humano	0.4

*este valor varía de acuerdo a la madurez sexual del gallo

6.2.1.1. Obtención a partir del cordón umbilical humano y de la cresta de gallo

En el cordón umbilical humano, el HA se localiza principalmente en la llamada gelatina de Warton, que es el tejido conectivo perivascular que protege al cordón umbilical y evita que éste se tuerza durante el embarazo. Existen 2 métodos físicos que permiten obtener el HA de esta fuente, el más reciente es el método ultrasónico combinado con la adición de hipoclorito de sodio, sin embargo este no se utiliza comercialmente ya que el empleo de ultrasonido encarece la obtención del producto por el elevado consumo de energía. (LAGO MENDOZA, 2007)

Por otro lado, el método más conocido y usado es el propuesto por Balazs, el cual también se utiliza para la extracción a partir de crestas de gallos. La diferencia se encuentra en la forma de tratar la materia prima durante el proceso de obtención. Este procedimiento consta aproximadamente de 35 pasos, englobados en 5 etapas principales, detalladas en los gráficos 6.1, 6.2, 6.3, 6.4 y 6.5: obtención y acondicionamiento de la materia prima, extracción, desproteinización, eliminación de impurezas y esterilización, los cuales se llevan a cabo en un período de 15 días por cada lote productivo. (LAGO MENDOZA, 2007)

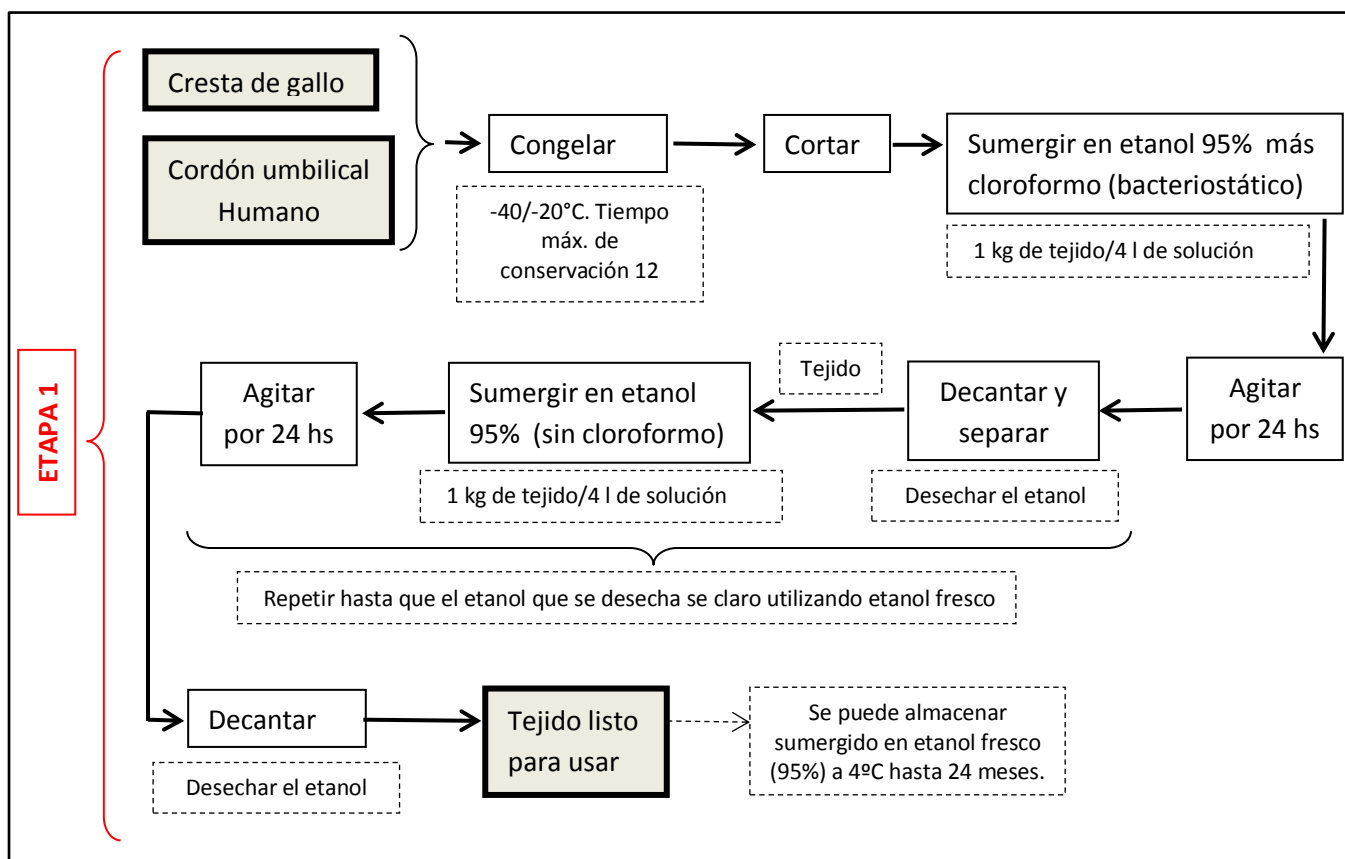


Gráfico 6.1 – Etapa 1: Obtención y acondicionamiento de la materia prima

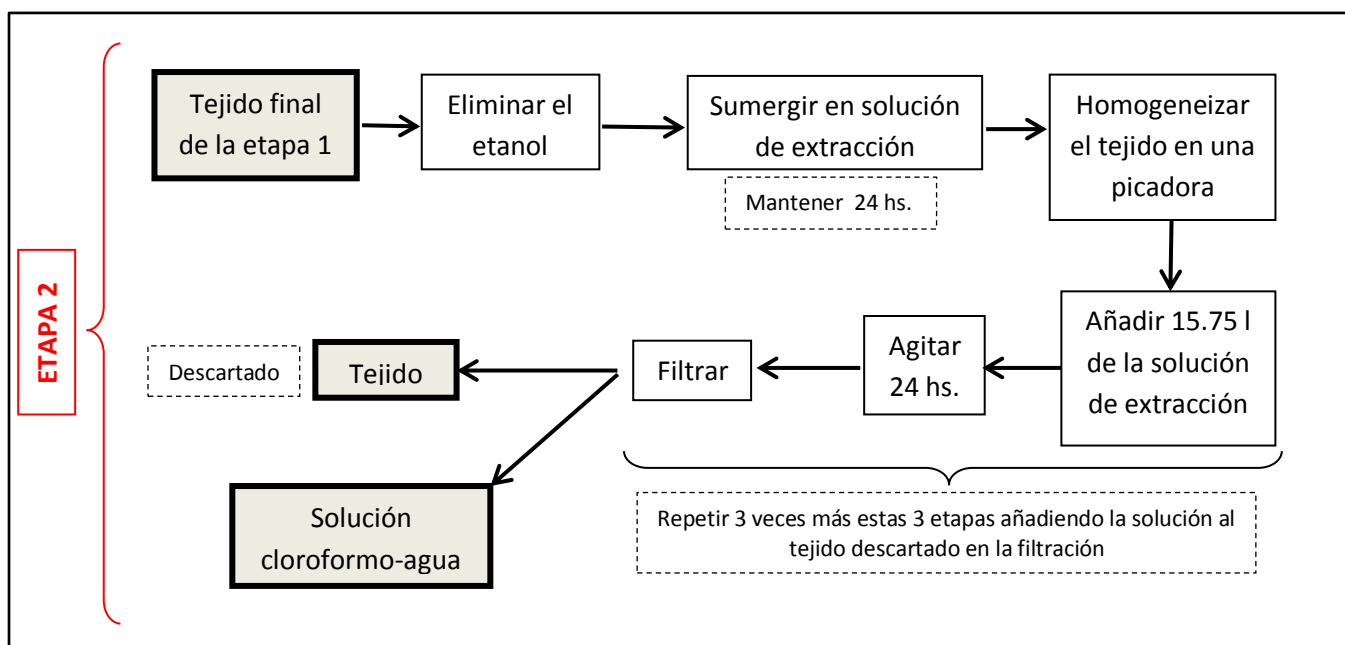


Gráfico 6.2 – Etapa 2: Extracción de HA

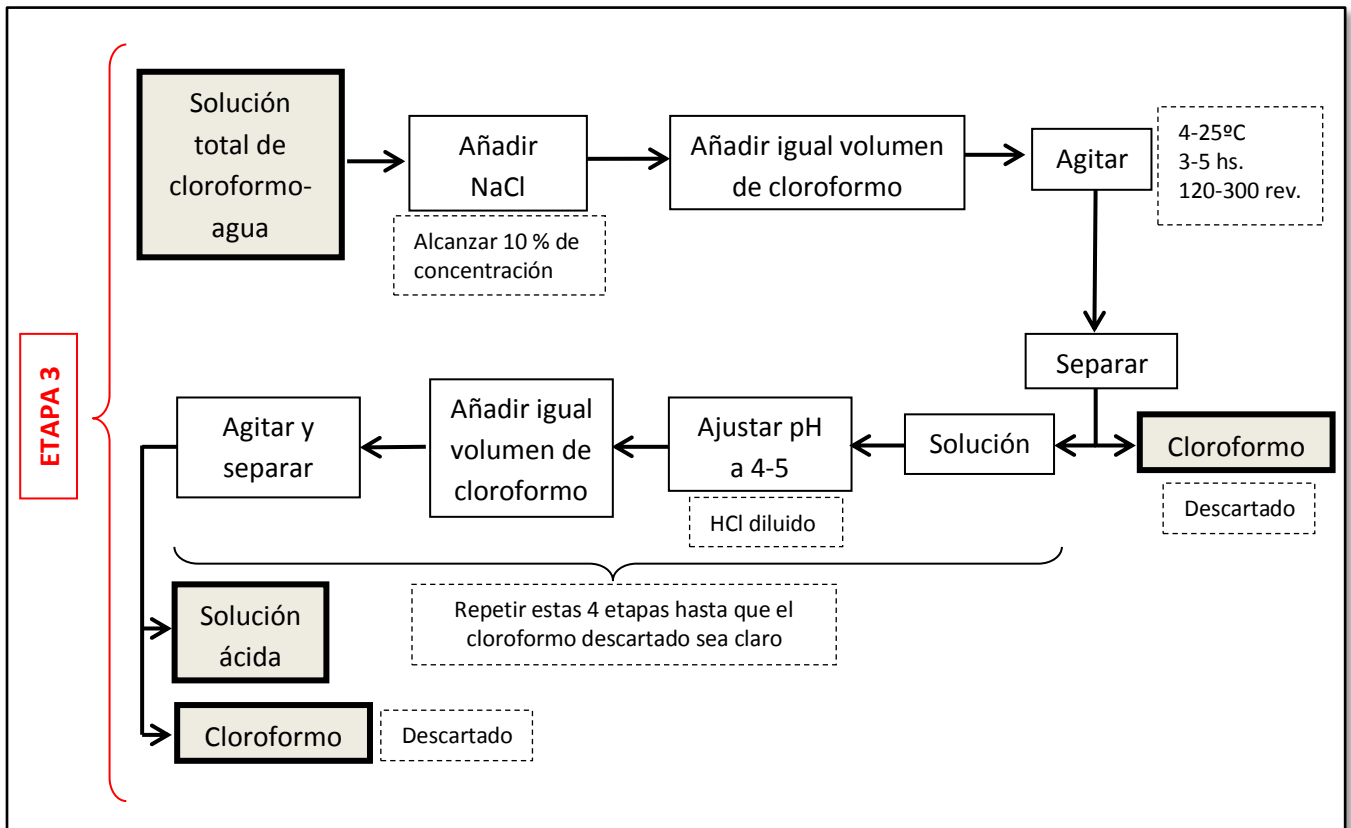


Gráfico 6.3 – Etapa 3: Desproteinización del extracto

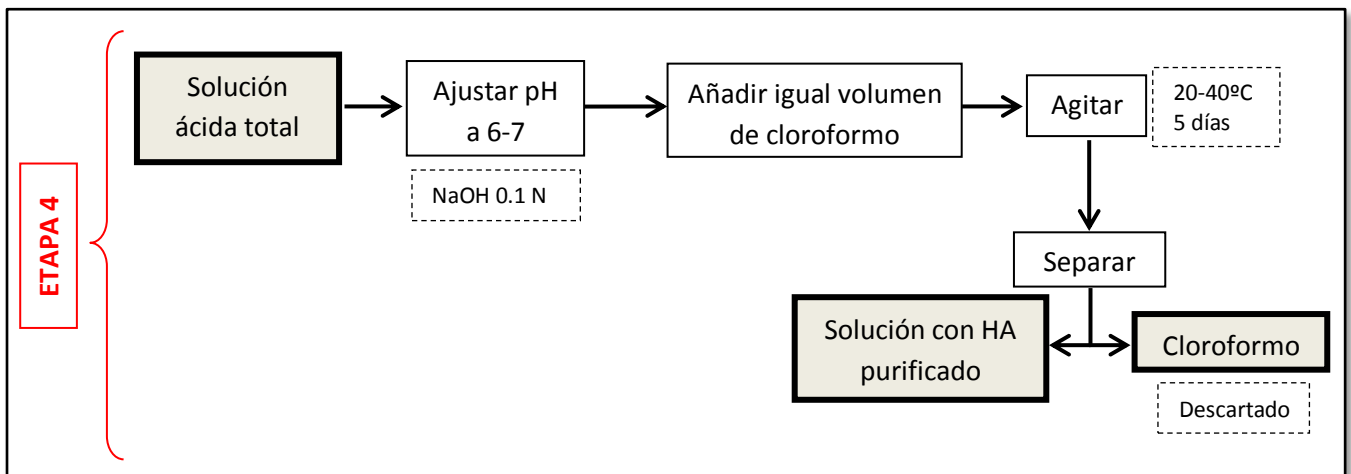


Gráfico 6.4 – Etapa 4: Eliminación de impurezas que provocan reacciones biológicas

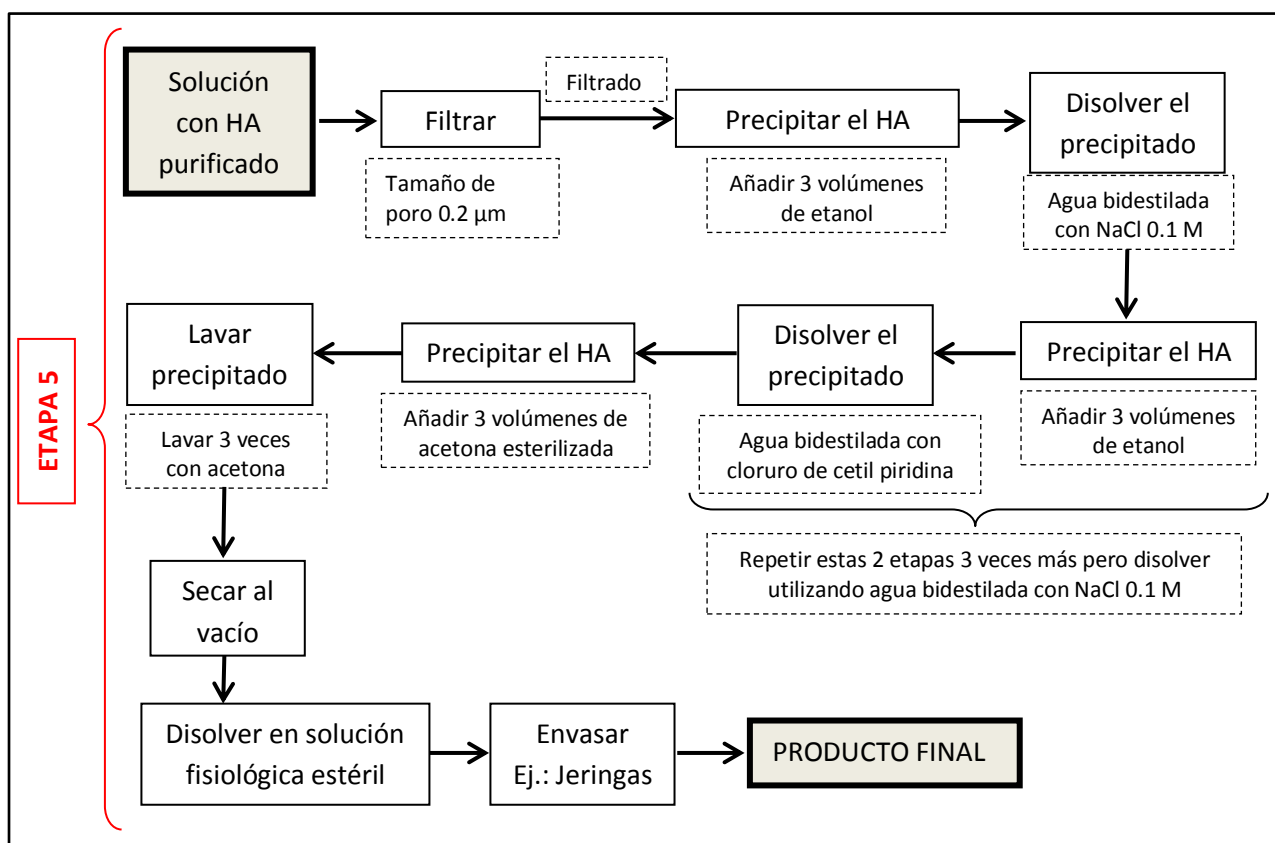


Gráfico 6.5 – Etapa 5: Esterilización

Etapa 1 - Obtención y acondicionamiento de la materia prima

La obtención depende de la fuente:

- Cresta de gallo: se debe obtener de animales de seis meses a tres años durante la etapa de desangrado que se realiza cuando se sacrifica al animal. Se le retira la cresta, se la lava con agua pura para eliminar contaminantes superficiales y se recortan las puntas. (BALAZS, 1979)

Según los datos presentados por el INTI, en nuestro país la industria avícola faena los pollos aproximadamente a los dos meses de edad, cuando aún no alcanzaron la madurez sexual. En consecuencia, la cresta de estos animales contiene una menor proporción de HA, ya que éste aumenta su concentración en respuesta a la testosterona. (INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL (INTI), 2008)

- Codón umbilical Humano: se debe obtener solo de embarazos sanos y acondicionarlo o congelarlo hasta 10 minutos después del parto. Se lavan con agua pura para eliminar la mayor parte de la sangre presionando los vasos hacia afuera. (BALAZS, 1979)

El aspecto más significativo durante el acondicionamiento, es el corte del tejido en trozos pequeños y las extracciones repetidas con etanol fresco 95%. Esto permite la exposición eficiente del tejido a la solución de extracción de etanol. La razón de esto es que el tejido contiene productos de la sangre que, en combinación con el oxígeno, pueden causar la degradación del HA en los pasos subsiguientes de extracción.

Etapa 2 - Extracción del HA

El principal objetivo de esta fase es obtener el mayor rendimiento posible de HA del tejido sin degradar la macromolécula a un peso molecular más bajo. El HA es extraordinariamente sensible a la degradación debido a la cizalladura y la oxidación catalizada por impurezas o iones metálicos. El uso de múltiples etapas en serie de extracción mantiene altos rendimientos y disminuye la probabilidad de degradación en la producción a gran escala. La solución de extracción contiene 20 partes de agua destilada y 1 parte de cloroformo y se utiliza 10.5 l de esta por cada 2.5 kg de tejido.

Etapa 3 - Desproteinización del extracto

El principal objetivo es eliminar ciertas impurezas de los tejidos, tales como proteínas y nucleótidos, en condiciones de pH ácido sin degradación significativa de las macromoléculas HA. El número de extracciones repetidas con cloroformo variará con la eficiencia de la mezcla y por lo tanto con el tipo de mezclador utilizado y el volumen de la mezcla. Como una alternativa, la solución acuosa puede ser tratada con enzimas para ayudar en la eliminación de impurezas. Después de la segunda extracción con cloroformo ácido se puede añadir entre 50-100 mg de DNasa y RNasa a la fase acuosa, se agita la solución durante 24 hs, por último se eleva el pH a 6.0 -7.0, se añade 50-100 mg Pronasa y se agita durante 48 hs.

Etapa 4 - Eliminación de impurezas que provocan reacciones biológicas

El paso más crítico en esta etapa, y de hecho, en todo el proceso, es la eficiente pero no excesiva mezcla entre las fases de cloroformo y de HA purificado, ya que este debe asegurar la eliminación completa de agentes inflamatorios desconocidos. Como alternativa, además de la extracción con cloroformo, la separación de las impurezas puede ser asistida por centrifugación a alta velocidad (70.000 a 110.000 fuerza g durante unas 4 horas).

Etapa 5 – Esterilización

Durante esta etapa es importante mantener la esterilidad. El agua que se añade debe ser bidestilada y libre de pirógenos. La solución fisiológica y el acetato que se utilizan también deben ser estériles. (BALAZS, 1979)

6.2.1.2. Obtención a partir del humor vítreo de peces

El humor vítreo de distintas especies de pescados, como tiburón, atún o gallineta pueden ser utilizados como fuente alternativa para la obtención del HA (Gráfico 6.6). Una vez extraído del ojo del pescado, el humor vítreo es tratado en una serie de 5 etapas para obtener HA de alta pureza (superior al 99.5 %), apto para la aplicación en clínica y cosmética.

Preparación del ojo para obtener el humor vítreo

Los ojos, congelados a -20°C, se someten a dos o tres cortes seriados, luego se descongelan los fragmentos sobre una urdimbre de hilos de nylon paralelos (las mallas con nudos elevan las pérdidas y el tiempo de proceso), que permite el goteo del humor vítreo y retiene los restos de la cápsula óptica, incluidos los cristalinos. Se obtiene un líquido viscoso y homogéneo que se clarifica por decantación centrífuga. (MURADO GARCÍA, et al., 2005)

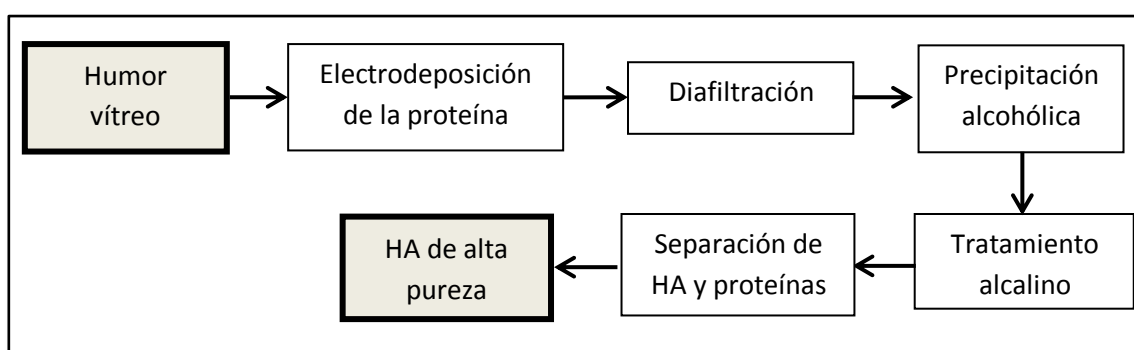


Gráfico 6.6 – Obtención de HA a partir del humor vítreo de peces

Las etapas para purificar el HA son:

Etapa 1 - Electrodeposición proteica

Se utilizan electrodos de platino estableciendo entre ellos una corriente de 10 mA o superior. En esta etapa se eliminan componentes insolubles de alto peso molecular.

Etapa 2 – Diafiltración

Permite obtener fracciones de distintas masas moleculares medias, concentrando el HA y reduciendo el consumo de etanol en la etapa siguiente. También elimina parte importante del material proteico remanente de la electrodeposición y facilita la ulterior eliminación del que aún permanece en solución en los correspondientes retenidos.

Etapa 3 - Precipitación alcohólica

Se agrega cloruro de sodio y etanol al 99% para precipitar. Luego se realiza una resuspensión selectiva del sedimento obtenido y se centrifuga descartándose el sedimento que contiene proteínas insolubles.

Etapa 4 - Tratamiento alcalino

Esta etapa permite la precipitación del HA en forma de sal sódica (junto con otras proteínas), con descensos mínimos de su masa molecular media.

Etapa 5 – Separación

Es una etapa simple y económica que reemplaza los tratamientos con enzimas. Se realiza una redisolución selectiva con fosfato monosódico que disuelve el HA y ajusta el pH. Por último, se centrifuga para recuperar el HA en el sobrenadante. Puede concentrarse aún más el ácido realizando una nueva diafiltración. (MURADO GARCÍA, et al., 2005)

6.2.2. Producción por fermentación microbiana

El desarrollo de la producción de HA a través de fermentación microbiana comenzó en los años 60, cuando se descubrió que el HA derivado de fuentes animales podía contener proteínas indeseadas causantes de posibles respuestas inflamatorias alérgicas. El polímero producido en bacterias es idéntico al producido en animales, y al ser no inmunógeno es una excelente fuente para HA de grado medicinal.

La industria ha adoptado los procesos de fermentación microbiana con el objeto de obtener un polímero viable técnicamente. La extracción de HA de los cultivos de fermentación microbiana es un proceso relativamente simple, y presenta elevados rendimientos. Una ventaja adicional e importante es que las células microbianas pueden ser adaptadas fisiológica y/o metabólicamente para producir mayor cantidad de HA con alto peso molecular.

Este tipo de producción, ya sea utilizando estreptococos patógenos o huéspedes recombinantes seguros, que contienen la enzima HA sintasa, es el preferido en la actualidad (BOERIU, et al., 2013). Los estreptococos producen el HA con el objetivo de encapsular sus células, esto dificulta su separación y posterior purificación. En el caso de los bacilos

genéticamente modificados, liberan el HA al medio, simplificando el proceso de purificación (Figura 6.1)

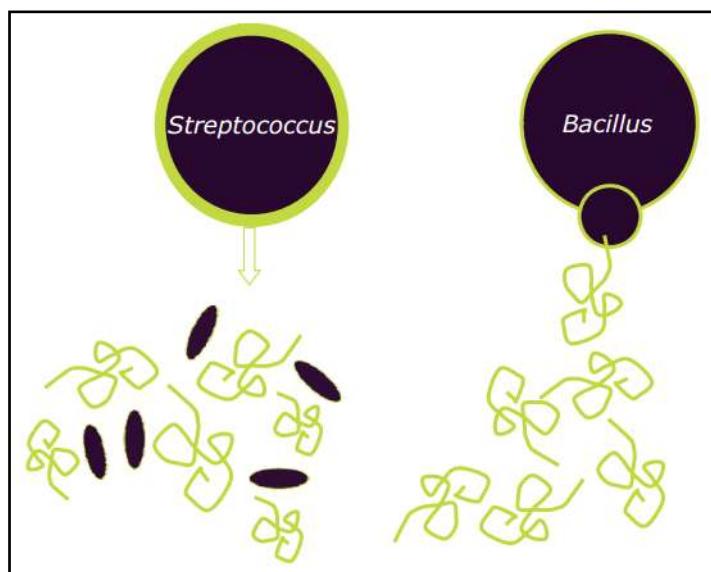


Figura 6.1 – Producción de HA según la cepa bacteriana

6.2.2.1. Obtención a partir de cepas de estreptococos

El ácido hialurónico se encuentra presente en la capsula que rodea un pequeño número de microorganismos patógenos, tales como *Pasteurella multocida* y los grupos A y C de estreptococos, entre los cuales se encuentran *Streptococcus pyogenes* (patógeno en humanos), y los patógenos en animales *Streptococcus equi* y *Streptococcus uberis*. Estos MO usan el HA para encapsular sus células, formando un disfraz perfecto contra el sistema inmunológico del animal y facilitando la adhesión y colonización de las células bacterianas.

Los *Streptococcus* del grupo C, los cuales no son patógenos en humanos, presentan una productividad de HA superior a los del grupo A, por lo tanto son los más utilizados en su síntesis. Las cepas más utilizadas son *S. equi sp. Equi* y *S. equi sp. Zooepidemicus*. Estos microorganismos son nutricionalmente fastidiosos, anaerobios facultativos y producen ácido láctico como subproducto del catabolismo de la glucosa. Los estrictos requerimientos nutricionales para la fermentación influyen en la economía, prohibiendo el uso de un medio químicamente definido para la producción de fermentadores a escala, limitando la elección al empleo de un medio de cultivo complejo. (BOERIU, et al., 2013)

Se han probado varios medios de cultivo con diferentes fuentes de carbono, y se ha demostrado que el tipo de fuente de carbono influye en el peso molecular del HA obtenido. Mientras que el crecimiento celular permanece casi invariable para las mismas

concentraciones de diversas fuentes, medios con lactosa y sacarosa producen HA de mayor peso molecular, respecto a medios que contienen glucosa como fuente de carbono.

El peso molecular es el parámetro que más afecta las propiedades físicas de los productos basados en HA. En particular, las soluciones que requieren una viscosidad dada para proveer ciertas ventajas requieren menores concentraciones de ácido mientras mayor sea su PM. Ciertos parámetros durante la fermentación afectan el PM del ácido producido: factores como temperatura, aireación y concentración inicial de sustrato influyen sobre el PM del polímero obtenido, mientras que el pH y la agitación no lo hacen. En particular, el cultivo a bajas temperaturas en presencia de aireación y altas concentraciones iniciales de sustrato favorecen un PM alto. (RANGASWAMY, et al., 2011)

El proceso productivo del ácido hialurónico de elevado peso molecular y grado medicinal a partir de *Streptococcus Zooepidemicus* consiste en tres etapas generales:

- a) Preparación de HA por fermentación
- b) Remoción de impurezas proteicas
- c) Diafiltración

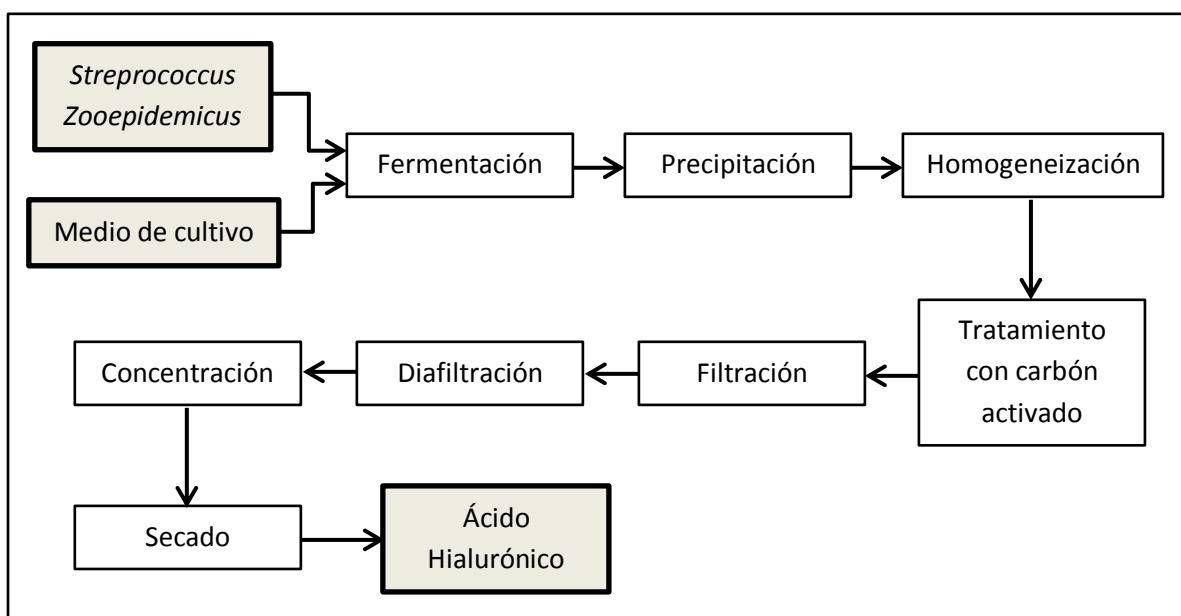


Gráfico 6.7 – Proceso de obtención de HA a partir de *Streptococcus Zooepidemicus*

En el gráfico 6.7 se esquematiza el diagrama de flujo de este proceso. El medio de cultivo para la fermentación comprende una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, elementos trazas tales como sales inorgánicas, etc. Como fuente de carbono se puede utilizar almidón, glucosa, sacarosa, galactosa, fructosa y similares. En este caso se utilizará sacarosa, ya que se obtienen mejores rendimientos y un producto de mayor peso molecular respecto a otros carbohidratos. Como fuente de nitrógeno se puede utilizar sulfato de amonio, nitrato de amonio, nitrato de

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Procesos de Producción y Selección del Proceso



sodio, extracto de levadura, peptona, triptona, etc. Además se puede añadir cloruro de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de sodio, sulfato ferroso, cloruro de potasio, sulfato de magnesio, etc. El peso molecular del HA producido se incrementa al añadir una sal de Zn^{+2} al medio. (RANGASWAMY, et al., 2011)

Se utiliza un fermentador con un volumen de trabajo del 60%, con el medio de cultivo detallado en la tabla 6.5. Existen diferentes modos de realizar el cultivo, pero el más utilizado es el batch, que es el adoptado en este caso. Las condiciones de cultivo son pH 7.0, regulado mediante la adición de NaOH, temperatura 37°C, velocidad de aireación 0.5 VVM y agitación 200 rpm, mantenidas durante 16 horas. (LIU, et al., 2008 (2))

Luego de la incubación, el caldo de cultivo se clarifica mediante centrifugación para separar las células microbianas. El HA presente en el líquido clarificado se precipita con la adición de solvente (isopropanol, etanol o acetona); el precipitado se separa por centrifugación y luego se redisuelve en solución de acetato de sodio al 3% utilizando un homogeneizador mecánico.

La suspensión homogeneizada se trata en modo batch con carbón activado al 2% para lograr la adsorción de proteínas. El carbón es separado de la solución de hialuronato por centrifugación. La siguiente etapa consiste en hacer pasar la solución de hialuronato a través de un conjunto de filtros con tamaño de poro de 0.45 μm , con este paso se remueve parte de la proteína remanente por adsorción.

Se realiza una ultrafiltración en modo diafiltración a volumen constante, esto es, se adiciona agua libre de pirógenos a la solución de HA a medida que esta se hace circular en flujo cruzado a un soporte de filtro equipado con un casete de polietersulfona de 100 kDa. La adición de solvente se realiza a la misma velocidad a la que fluye el permeado con impurezas. La presión de entrada del flujo cruzado al filtro se mantiene entre 0.5-1.5 Bar. Al final de la operación se recogen por separado el permeado y el retenido, este último contiene el HA que continúa hacia posteriores etapas de purificación, mientras que el permeado es descartado.

La solución de HA proveniente de la diafiltración se concentra nuevamente con isopropanol, se centrifuga y se seca para obtener hialuronato de sodio de elevado peso molecular y grado medicinal.

Este proceso de purificación tiene un rendimiento de HA del 73%, y la proteína remanente en el producto es de aproximadamente 0.3%. (REDDY KANALA, et al., 2011)

6.2.2.2. Obtención a partir de microorganismos recombinantes no patógenos

Se han modificado genéticamente microorganismos seguros para volverlos productores de HA, mediante la introducción del código genético encargado de la producción de enzimas HA sintetas, obtenido de cepas de *Streptococcus*. Esto constituye una mejora en el producto obtenido, ya que se evita el riesgo de contaminación con exotoxinas secretadas por los microorganismos patógenos.

La empresa biofarmacéutica Novozymes ha desarrollado un proceso de producción de hialuronato de sodio ultra puro por fermentación con una nueva cepa recombinante no patógena de *Bacillus Subtilis*. Las ventajas de la utilización de este microorganismo son las siguientes (NOVOZYMES, 2011):

- Permite el cultivo económico a gran escala.
- MO no exigente en cuanto a nutrientes.
- MO reconocido como GRAS (Generally Recognized as Safe).
- No produce exo- ni endotoxinas.
- No produce la enzima hialuronidasa.

Las células huésped de *Bacillus subtilis* se cultivan mediante fermentación fed-batch en un medio nutritivo apropiado conteniendo fuentes de carbono, nitrógeno y sales minerales (Tabla 6.2), en tanques agitados con capacidad de 3 L y un volumen inicial de 1.5 L.

Tabla 6.2 - Composición del medio de cultivo *Bacillus Subtilis*

Compuesto	Cantidad (por litro de medio)
KH_2PO_4	6.5 g
Na_2HPO_4	4.5 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.0 g
Na-citrato- $2\text{H}_2\text{O}$	2.0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.0 g
Mikrosoy-2	6 ml
Biotina	0.15 mg
Sacarosa	15.0 g
Polipropilenglicol (antiespumante)	2.0 ml
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5 g

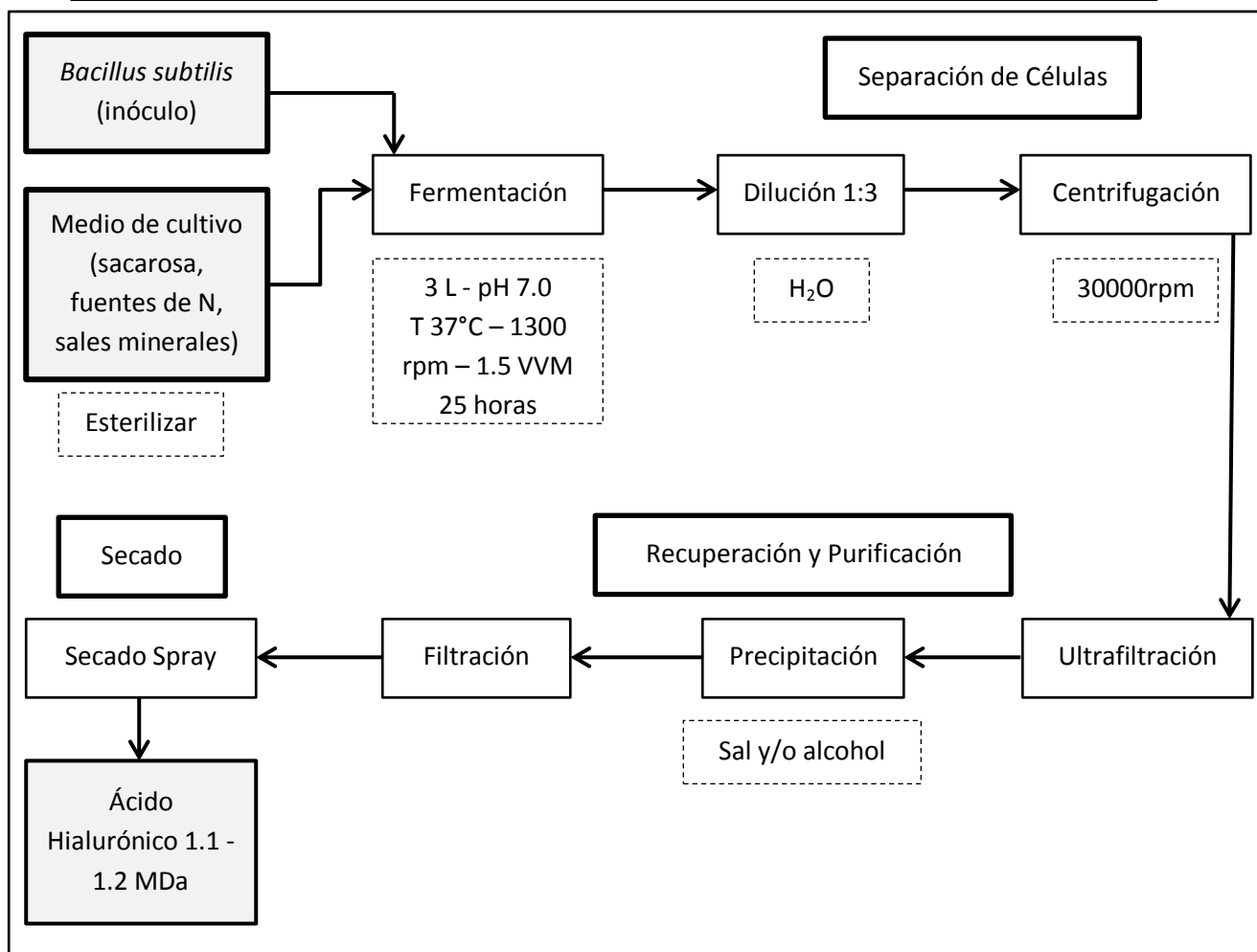


Gráfico 6.8 – Proceso de obtención de HA con *Bacillus subtilis*

El cloruro de calcio se debe agregar luego de autoclavar. El pH antes de autoclavar es de 6.3 – 6.4, y se ajusta antes de inocular a 6.8-7.0 utilizando amoníaco; luego se mantiene a 7.0 ± 0.2 con amoníaco y ácido fosfórico. La temperatura de operación es de 37°C. La agitación se mantiene en 1300 rpm usando dos impulsores Rushton de seis palas de 6 cm de diámetro, con un volumen inicial del reactor de 1.5 L. La aireación presenta un máximo de 1.5 VVM (L de aire/L de cultivo/minuto). En el gráfico 6.8 se muestra el diagrama de flujo de este proceso.

El HA se produce en una célula huésped no encapsulada y se libera al medio de cultivo, es decir, no está asociado a ninguna capsula envolvente de la bacteria. Esto simplifica mucho su separación posterior, y permite el uso de disolventes acuosos.

La alimentación al reactor consiste en solución simple de sacarosa, se inicia cuatro horas después de la inoculación, en el momento donde el oxígeno disuelto comienza a disminuir (reducción en la concentración de sacarosa). El flujo de alimentación se va elevando

linealmente desde 0 hasta 2 g de sacarosa por litro y por hora, durante un lapso de tiempo de 7 horas.

La viscosidad del medio se vuelve significativa luego de 10 horas de cultivo, mientras que después de 24 horas alcanza 3220 cP, causando un descenso brusco en la concentración del oxígeno disuelto. El crecimiento celular se acerca a su máximo (12 a 15 g/L) luego de 20 horas. La figura 6.2 muestra como varían la viscosidad, la concentración de oxígeno disuelto y la producción de HA a lo largo de la fermentación. El máximo rendimiento de HA es de 5 g/L y se logra luego de 25 horas de cultivo. El peso molecular del polímero es de 1.1 – 1.2 MDa, con un índice de polidispersidad de 1.5. (WIDNER, et al., 2005)

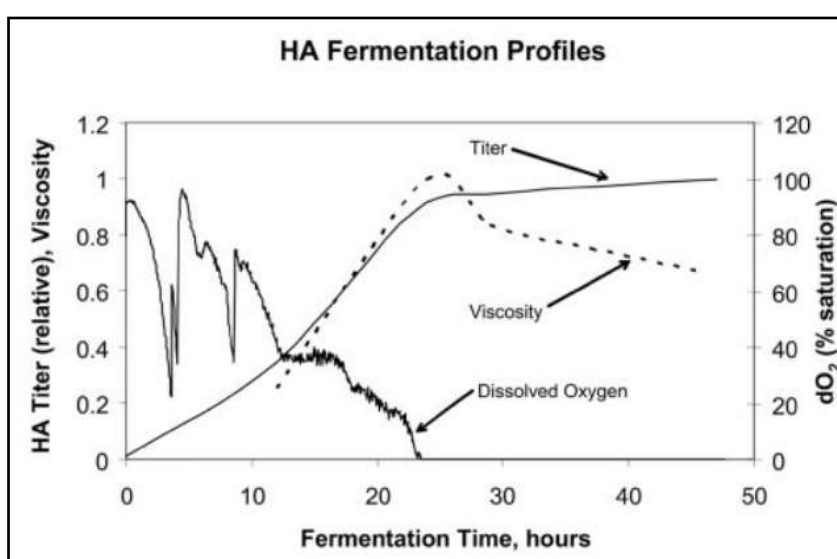


Figura 6.2 – Perfiles de fermentación

El medio de cultivo se diluye con agua para reducir su viscosidad en una relación 1:3, y luego las células de *Bacillus* y las fibras celulares se remueven por centrifugación a 30000 rpm. El sobrenadante remanente se somete a ultrafiltración para concentrar el HA y remover pequeñas moléculas de contaminantes.

El HA se separa del líquido sobrenadante por precipitación simple utilizando una sal, alcohol o una combinación de los mismos. Una vez precipitado se filtra, se concentra y se seca en una cámara de secado por aspersion. (SLOMA, et al., 2012)

6.3. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE PRODUCCIÓN

En el siguiente cuadro se resumen las ventajas y desventajas de cada método de producción.

Tabla 6.3 – Comparación de procesos productivos

Proceso		Ventajas	Desventajas
Extracción de tejidos animales		Tecnología consolidada	Variación en la calidad del producto
		Disponibilidad de materias primas a bajos costos	Riesgo de degradación del polímero
		Producto de muy elevado peso molecular, hasta 20 MDa	Riesgo de contaminación con proteínas, ácidos nucleicos y virus
		Producto natural	Requiere extensa purificación Bajos rendimientos
Fermentación microbiana	<i>S. Zooepidemicus</i>	Tecnología establecida	Riesgo de contaminación con endotoxinas bacterianas, proteínas, ácidos nucleicos y metales pesados
		Elevado rendimiento	MO patógeno en animales
		Producto con elevado peso molecular (1-4 MDa)	MO exigente nutricionalmente
	<i>B. Subtilis</i>	Fácil cultivo a gran escala	Uso de MO genéticamente modificado
		MO seguro, no libera toxinas, no produce hialuronidasa	Información y patentes pertenecientes a una única empresa
		Método de purificación simple	Relativamente bajo peso molecular (1 MDa)

Debido a las numerosas desventajas del proceso a partir de tejidos animales, se prefiere la fermentación microbiana como método de producción para el HA.

Si bien la producción a partir de *Bacillus subtilis* presenta muchas ventajas, sus desventajas tienen un peso mayor, principalmente la falta de información de proceso. Por lo tanto, se considera que la obtención a partir de *Streptococcus zooepidemicus* es el proceso de producción óptimo.

6.4. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCESO

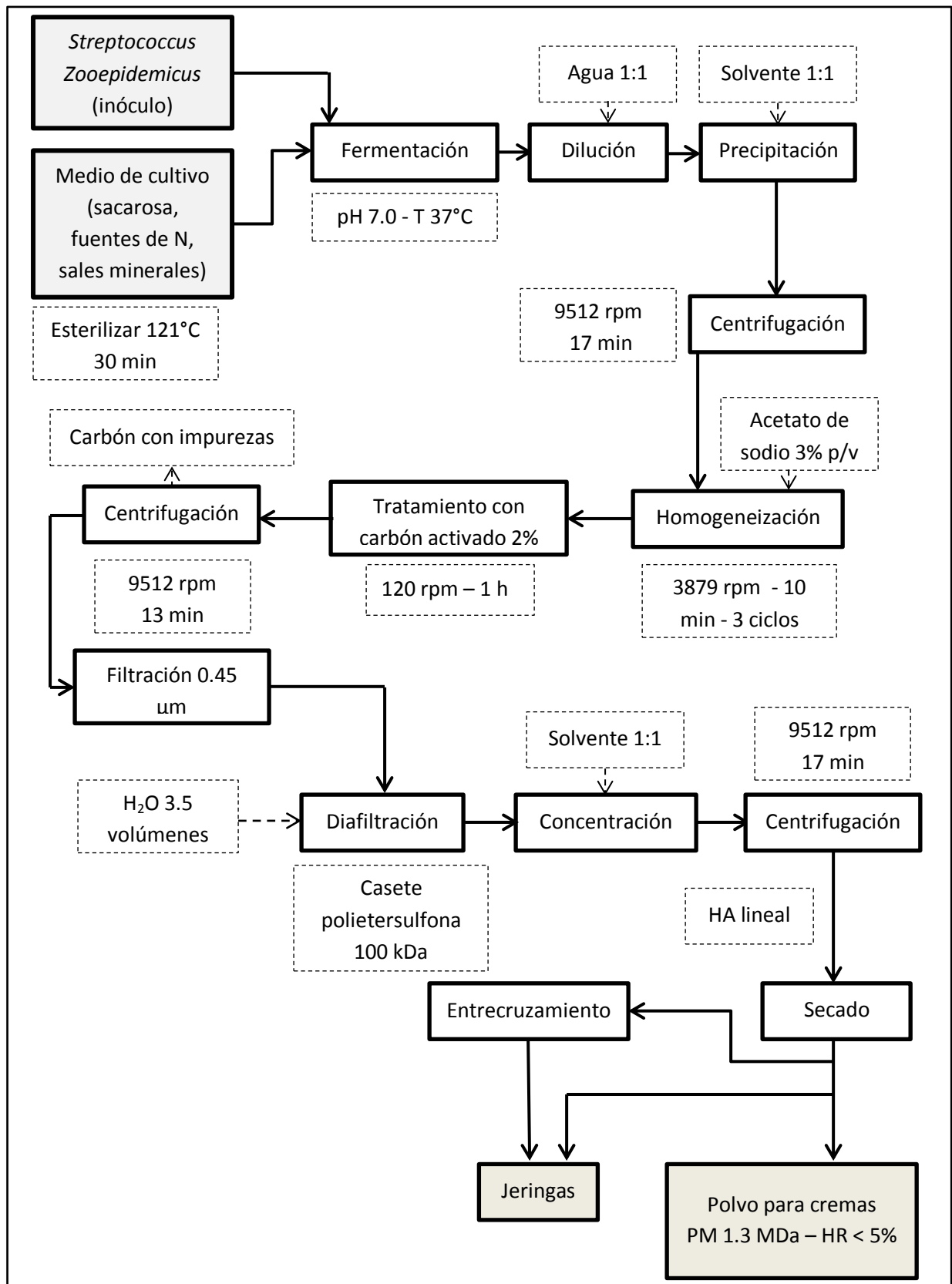


Gráfico 6.9 – Proceso de obtención de HA con *Streptococcus Zooepidemicus*

6.4.1. Fermentación

6.4.1.1. Tratamiento de la materia prima

El microorganismo que se utiliza en este proceso es *Streptococcus zooepidemicus* WSH-24. Se prepara el inóculo con el cual se siembra el fermentador en el medio de cultivo detallado en la tabla 6.4. Se cultiva un volumen equivalente al 10% del volumen del caldo de fermentación con una agitación de 200 rpm a 37°C durante 12 horas. El medio de cultivo del fermentador es el presentado en la tabla 6.5. Tanto el medio de cultivo del inóculo como el del fermentador son esterilizados a 121°C, el tiempo depende del volumen esterilizado y del método empleado. Durante la esterilización, debe tenerse en cuenta lo siguiente (ERTOLA, et al., 1994):

- La sacarosa debe esterilizarse aparte de los compuestos nitrogenados, ya que de otra manera puede hidrolizarse y/o caramelizarse, disminuyendo la cantidad disponible en el medio.
- Los fosfatos deben esterilizarse separados de sales de magnesio y calcio, ya que los fosfatos de estos elementos pueden precipitar.

Por lo tanto, se esteriliza el extracto de levadura y los fosfatos por un lado, y la sacarosa junto con las sales, por el otro. El método de esterilización es por calor húmedo, con vapor a presión.

Tabla 6.4 – Composición inóculo

Compuesto	Cantidad (g/L)
Sacarosa	20.0
Extracto de levadura	20.0
KH ₂ PO ₄	2.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.1
CaCO ₃	0.02
Solución elementos traza (CaCl ₂ , ZnCl ₂ , CuSO ₄ ·5H ₂ O)	1 mL

Tabla 6.5 - Composición del medio de cultivo *Streptococcus Zooepidemicus*

Compuesto	Cantidad (gramos por litro de medio)
Sacarosa	70.0
Extracto de Levadura	25.0
K ₂ SO ₄	1.3
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	6.2
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.005
Solución elementos traza (CaCl ₂ , ZnCl ₂ , CuSO ₄ ·5H ₂ O)	2.5 mL

Tabla 6.6 – Solución de elementos traza

Compuesto	Cantidad (g/L)
CaCl ₂	2.0
ZnCl ₂	0.046
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.019

6.4.1.2. Cinética microbiana

La fermentación batch es el método usual para la producción de HA, sin embargo, se presentan ciertas desventajas, tales como la inhibición por sustrato cuando la concentración de sacarosa es muy elevada, la inhibición por producto a elevadas concentraciones de ácido láctico, y la limitada transferencia de oxígeno debido a la elevada viscosidad del cultivo. Este último es el principal cuello de botella en la producción del polímero. Por otro lado, a bajas concentraciones de sustrato el crecimiento celular compite con la producción de HA por la fuente de carbono, disminuyendo la producción de este último (LIU, et al., 2008 (1)). Dentro de las ventajas de este tipo de fermentador se encuentra la facilidad de esterilización apropiada, disminuyendo los riesgos de infección y mutaciones, así como la posibilidad de obtener la conversión completa del sustrato.

El cultivo continuo es una alternativa atractiva, ya que reduce los tiempos muertos del reactor, y permite mantener el crecimiento celular en la fase exponencial evitando la contaminación con proteínas de la pared celular. Sin embargo, este modo de operación no es conveniente para obtener HA, ya que la producción del mismo en las cepas de estreptococos se vuelve inestable a velocidades de dilución elevadas. (LIU, et al., 2008 (1))

6.4.1.3. Modo de operación

Los principales cuellos de botella durante la producción microbiana de HA son el rendimiento de mezclado deficiente y la baja velocidad de transferencia de oxígeno al medio de cultivo.

La fermentación para obtener HA corresponde a un tipo de cultivo de elevada viscosidad donde el nivel de oxígeno disuelto (OD) disminuye hasta valores cercanos a cero durante la fase exponencial de crecimiento, como puede observarse en la figura 6.3. Existe un nivel crítico de oxígeno disuelto para la síntesis de HA de 5% de saturación de aire, valores inferiores a este disminuyen la producción de HA. Generalmente durante la fermentación batch, el OD disminuye hasta 0-1% luego de 8-16 horas de cultivo, lo cual se traduce en un pobre rendimiento de HA.

Los enfoques convencionales para incrementar la velocidad de transferencia de oxígeno generalmente incluyen aumentar la velocidad de agitación o la velocidad de aireación, elevar la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa, o mejorar el diseño del reactor.

Luego de un tiempo de cultivo el fluido presenta comportamiento no newtoniano, debido a la concentración de HA, y la viscosidad del medio de cultivo alcanza su máximo valor de 372 ± 5.0 mPaS luego de 16 horas. Existe un límite técnico máximo alcanzable cercano a 7 g/L de HA, ya que a concentraciones mayores la viscosidad es tan elevada que limita la transferencia de masa en el cultivo.

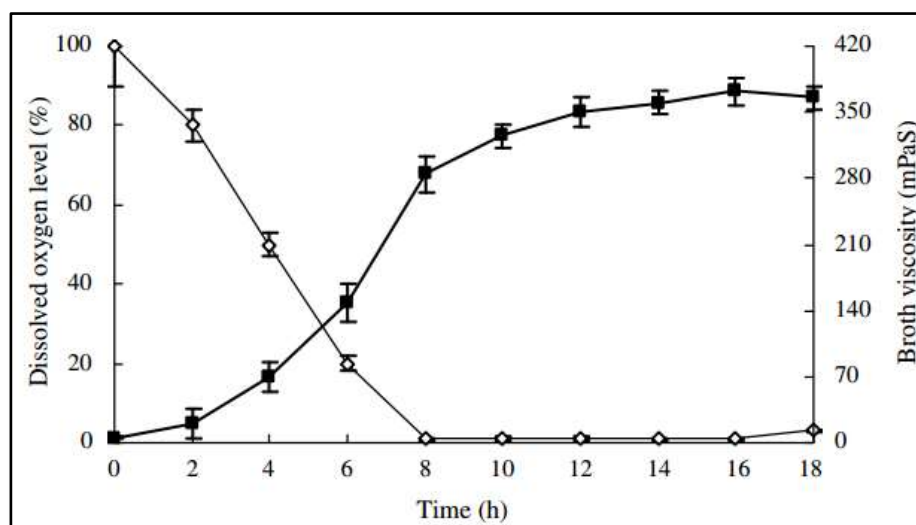


Figura 6.3 - Variación en el tiempo del nivel de oxígeno disuelto y la viscosidad del medio de cultivo durante la fermentación de HA. \diamond Oxígeno disuelto - \blacksquare Viscosidad del cultivo.

Las soluciones de HA en agua presentan el comportamiento de fluidos pseudoplásticos, esto es, la viscosidad aparente del fluido es baja frente a elevados esfuerzos cortantes. El sistema de cultivo completo puede dividirse en dos partes: el área perfectamente mezclada alrededor del impulsor, denominada “caverna”, y el área pobremente mezclada cercana a las paredes del tanque, o zona estancada. A medida que aumenta la cantidad de HA en el cultivo el volumen de la caverna disminuye mientras que se incrementa la zona estancada, disminuyendo la eficiencia en la transferencia de masa y calor.

Liu (LIU, et al., 2010) propone un modelo de cultivo donde se controla el volumen de la caverna mediante el control dinámico de la velocidad de agitación, basándose en la ley de potencia para la viscosidad de fluidos no newtonianos y en el modelo de caverna cilíndrico. De esta manera, el sistema de cultivo permanece en un estado de mezcla completa durante toda la fermentación.

El coeficiente K_La aumenta cuando se incrementan la velocidad de agitación y el flujo de aire, mientras que si estos parámetros se mantienen constantes, el coeficiente decrece con el tiempo debido al aumento de la viscosidad del cultivo. El modelo de control de velocidad de agitación propuesto logra que K_La se incremente a lo largo del periodo de fermentación, manteniendo el OD por encima del nivel crítico durante todo el cultivo. Estas mejoras no tienen un impacto significativo en el crecimiento celular pero si lo tienen en la producción de HA alcanzada, lo cual puede atribuirse a la absorción de oxígeno lograda y a la disminución en la cantidad de ácido láctico producido. Por lo tanto, este modo de operación es efectivo ya que mejora el rendimiento de agitación y la eficiencia en la transferencia de oxígeno, logrando una mayor productividad de HA.

En función de lo expuesto anteriormente, el fermentador se opera de la siguiente manera: el volumen de trabajo corresponde al 75% del reactor, el pH se mantiene controlado durante todo el proceso en 7.0 y la temperatura en 37°C. La agitación se realiza mediante tres turbinas de disco de 6 palas, y se aplica el control dinámico de la velocidad de manera tal de mantener el volumen de la caverna igual al volumen del fermentador. Para mantener el coeficiente K_La igual al logrado a escala laboratorio, se trabaja con un caudal volumétrico de aire variable a lo largo de tres periodos. El tiempo total de cultivo es de 16 horas en el cual se obtiene una cantidad de HA de 6.4 g/L, con un rendimiento de 0.091 g HA/g sacarosa, un peso molecular de 1.3 MDa y un índice de polidispersión de 1.8.

6.4.2. Purificación

Los métodos de purificación comúnmente utilizados incluyen al menos tres etapas sucesivas de precipitación con solventes, resultando así en un incremento en el número de etapas del proceso y un exceso de humedad en la corriente de ingreso a la etapa de secado. Estos métodos también incluyen el uso de surfactantes o detergentes como agentes precipitantes del medio de cultivo. La remoción del detergente o surfactante residual incrementa el número de etapas de proceso requeridas, así como su complejidad y costo. Además, algunas etapas de la purificación, como la diafiltración para obtener HA de alto peso molecular requieren grandes volúmenes de solvente orgánico. El uso de estos solventes crea problemas de maniobrabilidad cuando se incrementa la escala de las operaciones y resulta en problemas medioambientales. A continuación se describe un método de purificación eficiente y rentable que no emplea detergentes o surfactantes, ni tampoco condiciones de pH ácidas. La remoción de proteínas no requiere químicos peligrosos, y emplea diluciones menores, reduciendo los volúmenes

manipulados. El HA obtenido es apto para aplicaciones biomédicas. (RANGASWAMY, et al., 2011)

Clarificación

Luego de la incubación, el medio de cultivo altamente viscoso se diluye en una relación 1:1 con agua libre de pirógenos. Luego se centrifuga a 9512 rpm durante 17 minutos para remover la mayor parte de las células bacterianas.

Precipitación

El HA presente en el líquido clarificado se precipita mediante la adición de isopropanol en relación 1:1 v/v; el precipitado se separa por centrifugación a 9512 rpm durante 17 minutos a y luego se redisuelve en solución de acetato de sodio al 3% p/v hasta el volumen original, utilizando un homogeneizador mecánico a 3879 rpm durante 10 minutos por 3 ciclos. En este paso se obtiene el hialuronato sódico y se reduce la viscosidad de la solución.

Tratamiento con carbón activado

La suspensión homogeneizada se trata con carbón activado al 2% en modo batch durante 1 hora con una agitación de 120 rpm para lograr la adsorción de proteínas y ácidos nucleicos. El carbón activado con impurezas se separa de la solución de hialuronato por centrifugación a 9512 rpm durante 13 min.

Filtración

La solución tratada con carbón activado se diluye con agua libre de pirógenos en una relación 1:1 v/v para reducir la concentración y la viscosidad de la corriente que alimenta un filtro de profundidad con tamaño de poro de 0.45 μm , el cual tiene la función de remover restos celulares y proteínas.

Diafiltración

La solución proveniente del filtro se trata por ultrafiltración en modo diafiltración a volumen constante. Se realiza la dilución continua en el tanque de alimentación mediante la adición de 3.5 volúmenes de agua libre de pirógenos, a la misma velocidad de flujo a la que se extrae el permeado. La solución se bombea en flujo cruzado a un soporte de filtro equipado con un casete de polietersulfona de 100 kDa. Al inicio de la operación la válvula de permeado se mantiene cerrada para recircular el caldo acuoso varias veces hasta que el sistema sea estable y no se observen burbujas en el retenido. La válvula de permeado se abre luego de 10 minutos y el caldo acuoso se recircula al tanque de alimentación por 10 minutos más para asegurar que

no se producen fugas de HA a través de la válvula de permeado. La presión diferencial entre el punto de alimentación y el retenido se mantiene en 1 Bar, y tanto permeado como retenido se recogen por separado durante 2 horas de operación. El retenido contiene el HA que continúa hacia la siguiente etapa mientras que el permeado es descartado.

Concentración y Secado

El HA retenido proveniente de la diafiltración se precipita mediante la adición de alcohol isopropílico (1:1 v/v) en forma de agregados de fibras blancas. El producto así formado se centrifuga para separar el sólido, y luego se trata en un horno de bandejas al vacío. La pasta proveniente de la centrifuga se distribuye uniformemente sobre bandejas de aluminio en capas de 3 mm de espesor. La temperatura de operación es de 60°C, y se mantiene durante 3 horas y media. En un momento de la operación, se detiene el equipo y se remueve el material para lograr una mejor distribución del calor. El tratamiento térmico provoca una pérdida del 15% del peso molecular. (TOEMMERAAS & BACH, 2014)

El producto granulado con un 5% de humedad proveniente del horno se trata en un molino pulverizador para obtener un diámetro de partícula menor y mejorar así su solubilidad en agua. El tamaño final se encuentra entre 100-200 µm, y solubiliza en 2 minutos en agua a 25°C. (BACH & THWAITES, 2013)

Parte del polvo obtenido se fracciona en bolsas de 1, 5 y 10 g y se comercializa en esta forma, destinado al uso en cremas cosméticas mientras que el restante continúa hacia la línea de entrecruzamiento para su formulación como inyectables dérmicos.

La purificación logra un rendimiento del 73%, y un hialuronato de sodio con una pureza del 99,7 % (REDDY KANALA, et al., 2011). La siguiente tabla resume los porcentajes de recuperación de HA y remoción de proteínas de cada etapa.

Tabla 6.7 – Porcentajes recuperación de HA y proteína remanente por etapa

Etapas	% HA	% Proteínas
Fermentación	100	100
Clarificación	98	15
Carbón activado	83	1.65
Filtración	78	1.5
Diafiltración	73	0.05

6.4.3. Entrecruzamiento

Como se menciona en el capítulo 2, existen tres formulaciones comerciales del HA, el lineal, el derivatizado y el reticulado. El uso de HA, en algunos casos, se ve limitado ya que es soluble en

agua a temperatura ambiente (25°C) y se degrada rápidamente por acción de la hialuronidasa en el cuerpo. Con el fin de mejorar sus propiedades físicas y mecánicas y su tiempo de residencia in vivo, pero manteniendo su biocompatibilidad y su actividad biológica, se lleva a cabo la reticulación o entrecruzamiento del mismo (LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013). De esta forma se le proporciona al producto la capacidad para levantar y rellenar las arrugas en la piel. (KABLIK, et al., 2009)

Existen diversos tipos de agente entrecruzantes disponibles en el mercado, los cuales reaccionan con los grupos carboxilos (-COOH) e hidroxilos (-OH) del HA, formando diversos tipos de enlaces. Estos se resumen en la tabla 6.8. (SCHIRALDI, et al., 2010)

Tabla 6.8 - Agentes entrecruzantes disponibles en el mercado

Grupo del HA Implicado	Agente entrecruzante	Enlace formado
Grupo Carboxilo	Bis-carbodiimida	HA reticulado a través de grupos urea N-glucuronil o isourea O-glucuronil
	Hidrazida polivalente junto con carbodiimida y un coactivador	HA reticulado por medio de enlaces de hidrazida
	Carbodiimida + coactivadores (sulfo NHS / HOBt) o CMPI	HA auto-reticulado a través de enlaces éster
	Ditiobishidrazida junto con Carbodiimida	HA reticulado por enlaces disulfuro a través de la oxidación del aire
	Metacrilato junto con carbodiimida	HA fotoentrecruzado después de exposición a la luz
Grupo Hidroxilo	Di-epóxido	HA reticulado a través de enlaces éter
	Divinil Sulfona (DVS)	HA reticulado a través de enlaces éter

De estas opciones, el proceso que se adopta para entrecruzar el HA es el que utiliza DVS debido a que el proceso es nuevo y sencillo, no precisa un agente coactivador, consume pequeñas cantidades del reactivo y requiere una sola reacción que no origina subproductos indeseados. A continuación se explica con mayor detalle dicho método.

6.4.3.1. Método de entrecruzamiento con DVS

El agente reticulante DVS reacciona con los grupos hidroxilo del HA, formando un enlace éter (Figura 6.4). La reacción es simple y rápida, se lleva a cabo en soluciones alcalinas a temperatura ambiente obteniendo geles fuertes en cuestión de minutos. La reticulación con DVS no implica otros grupos funcionales biológicamente reactivos de la molécula de HA, por lo tanto los geles preparados conservan en gran medida las propiedades biológicas del HA nativo.

El gel producto del entrecruzamiento del HA con DVS se lo conoce como “hilanos”, “hylan b” o “hylaform”. (SVIDROŇOVÁ, 2014)

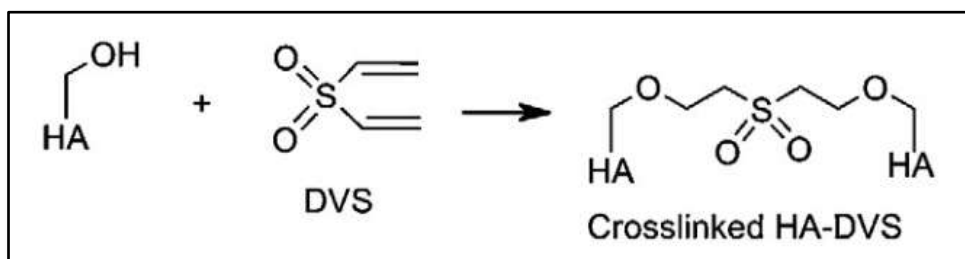


Figura 6.4 – Reacción del DVS con el grupo OH del HA

Al evaluar el grado de modificación, se debe considerar que la DVS es un agente reticulante bifuncional. Este, no necesariamente reacciona con sus dos grupos funcionales para entrelazar dos hebras de HA diferentes. A menudo, el reticulante se une sólo en un extremo, dejando el otro extremo colgante o pendiente (Figura 6.5). Así, el grado total de modificación queda definido por la ecuación [6.1]:

$$\text{Grado total de modificación (\%)} = \% \text{ entrecruzado} + \% \text{ pendiente} \quad [6.1]$$

El grado de modificación tiene un efecto significativo sobre las propiedades del material de relleno. A medida que este aumenta, la distancia entre los segmentos reticulados se hace más corto, por lo tanto aumenta la dureza o rigidez del gel. Los grupos pendientes disminuyen la rigidez del gel otorgándole mayor suavidad. La relación de reticulación se define como la relación entre el porcentaje de reticulación y el grado total de modificación. (KABLIK, et al., 2009)



Figura 6.5 - A: representación del HA lineal. B: HA entrecruzado con DVS el cual se encuentra unido con sus dos grupos funcionales. C: DVS unido a la molécula de HA a través de un solo enlace originando los grupos pendientes

6.4.3.2. Obtención del hidrogel de HA reticulado

En el gráfico 6.10 se muestra el diagrama de proceso y a continuación se detallan las etapas.

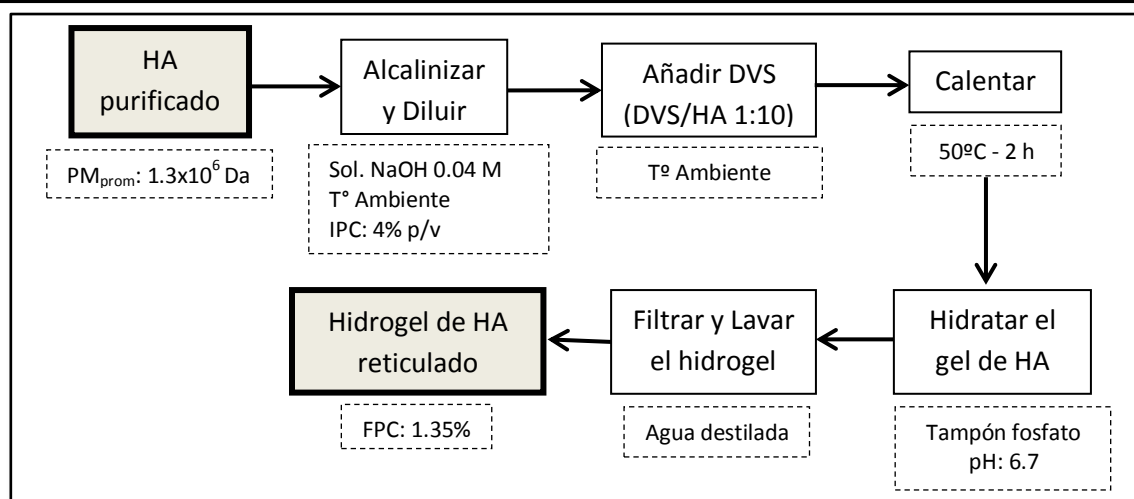


Gráfico 6.10 - Diagrama para la obtención del hidrogel de HA reticulado

Alcalinización

Esta consiste en elevar el pH y diluir el HA lineal en polvo proveniente de la etapa de purificación antes mencionadas. El HA presenta un peso molecular promedio de 1.3×10^6 Da, el cual influye en las propiedades del hidrogel de HA entrecruzado formado posteriormente. La dilución del ácido se realiza con una solución de NaOH 0.04M hasta obtener una concentración inicial del polímero (IPC, Initial Polymer Concentration) de 4% p/v. Durante la adición se agita la solución a temperatura ambiente (20-30°C) durante aproximadamente una hora, para asegurar la homogeneidad (LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013).

Adición del DVS

Esta etapa es la más importante debido a que la concentración del agente reticulante tiene un profundo impacto en los geles resultantes. La proporción en peso más adecuada que se utiliza para conseguir los resultados deseados es 1:10 de DVS/HA (peso seco). El rendimiento de la reacción se determina por la relación entre la cantidad de HA modificado obtenido (entrecruzado y grupos pendientes) y la cantidad de DVS utilizada, siendo para estas condiciones $0.372 \text{ gHA}_{\text{modificado}}/\text{gDVS}_{\text{consumido}}$. La cantidad de HA modificado representa el 3.72% del ácido total alimentado. Luego de la adición se realiza una agitación continua a temperatura ambiente (20-30°C) durante unos 15 minutos. (LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013)

La reacción de reticulación es relativamente rápida y geles fuertes se forman generalmente en varios minutos cuando la concentración de HA es lo suficientemente alta y la concentración de DVS es baja. Por lo general la formación de gel se inicia a 5-10 minutos después de la adición del DVS, y en la mayoría de casos, una hora es suficiente para completar la reacción de reticulación (BALAZS & LESHCHINER, 1986). Bajos grados de sustitución o de reticulación son

suficientes para obtener el efecto deseado en el gel final, esto permite utilizar bajas concentraciones del agente entrecruzante con lo cual se asegura su reacción total (SCHANTÉ, et al., 2011).

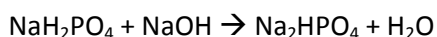
Calentamiento

Una vez formado el gel se procede a calentar a 50°C, manteniendo la temperatura hasta un máximo de 2 horas. Luego se deja reposar unas 16 horas a temperatura ambiente.

El objetivo de esta etapa es mejorar la homogenización del hidrogel final mejorando así su inyectabilidad. El calentamiento ayuda a obtener, en la etapa posterior, una relación de hinchamiento más alta y una mayor suavidad en comparación con un hidrogel obtenido sin tratamiento térmico. De esta manera se evita la homogeneización mecánica que da como resultado un amplio rango de diámetros de partículas, resultando en un perfil de inyección muy irregular durante la aplicación del hidrogel final. Cabe destacar que la fuerza de inyección aumenta al aumentar el grado de reticulación debido a la formación de un gel fuerte (LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013).

Hidratación del gel

En esta etapa se utiliza una solución tampón debido a que no solo produce la hidratación del gel reticulado, sino también la neutralización del mismo ya que el gel presenta un pH elevado luego de la reacción. El NaOH proveniente de la etapa de alcalinización reacciona con las sales del buffer según la siguiente reacción:



La cantidad de agua que se produce al neutralizar el hidróxido mediante esta reacción es despreciable frente a los volúmenes manejados para la hidratación. Se utilizara un volumen de solución buffer 3 veces mayor al del gel proveniente de la etapa anterior ya que se debe considerar que el volumen del buffer sea el suficiente para dar cabida a la total hinchazón del gel. La hidratación se realiza por 24 horas a temperatura ambiente con un tampón fosfato a pH 6.7 de manera que el pH final del gel totalmente hidratado sea próximo a 7.1 y contenga una concentración final del polímero (FPC, Final Polymer Concentration) de 1.4% p/v.

Durante el proceso de hinchamiento el HA entrecruzado absorbe grandes cantidades de agua dando como resultado grandes volúmenes del hidrogel, lo cual es posible dado que el HA se enlaza con parte del agua de hidratación. Por lo tanto se puede agrupar el agua contenida en estos hidrogeles en dos grandes grupos: por un lado se encuentra la fracción conocida como

agua libre o no enlazada, que es aquella que permanece retenida por la estructura del gel y que posee la misma entalpía y temperatura de fusión/cristalización que el agua pura. Por otro lado está la fracción de agua que se encuentra enlazada o asociada al HA, la cual se subdivide en dos grupos de acuerdo a su capacidad para congelarse o no. El agua enlazada-no congelable es aquella que se encuentra estrechamente asociada con la matriz del polímero, mientras que la fracción de agua enlazada-congelable se encuentra débilmente asociada, posee un punto de fusión/cristalización y una entalpía significativamente menor a la del agua pura.

La técnica de análisis térmico más comúnmente empleada en la caracterización del contenido de agua, es la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), la cual permite distinguir las fracciones de agua libre y enlazada-congelable que presenta el hidrogel. La fracción enlazada-no congelable no puede obtenerse con dicho análisis por lo que se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$W_c = W_f + W_{fb} + W_{nf} \quad [6.2]$$

Donde W_f es la cantidad de agua libre, W_{fb} es la cantidad de agua enlazada-congelable, W_{nf} es la cantidad de agua enlazada-no congelable. W_c es el contenido total de agua presente en el hidrogel y se define según la siguiente ecuación:

$$W_c = \frac{\text{masa de agua (g)}}{\text{masa de HA seco (g)}} \quad [6.3]$$

Los valores determinados por Liu y Colman (2000) para soluciones semidiluidas de HA fueron, W_{nf} : 0.6 gH₂O/gHA y W_{fb} : 44 gH₂O/gHA. El valor de W_c depende de proceso utilizado para obtención del hidrogel. (PRŮŠOVÁ, 2013)

Filtración y lavado

El hidrogel se filtra para separar el agua de hidratación no absorbida y se lava con igual volumen de agua destilada para eliminar restos de la solución tampón de la etapa anterior, como así también cualquier resto de agente entrecruzante y de NaOH que no hayan reaccionado. El FPC del producto terminado es de 1.35% (LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013).

El gel hidratado tiene un diámetro de partícula comprendido entre 200 y 700 μm . Si bien el calentamiento reduce este rango, pueden quedar partículas de gel pequeñas, por lo que se utiliza un filtro con un diámetro de corte de 200 μm para evitar la pérdida de estas partículas.

Fraccionamiento

El hidrogel obtenido ya está listo para rellenar las jeringas de un mililitro de acuerdo al diagrama que se muestra en el gráfico 6.11. En un tanque agitado se incorporan todas las materias primas, de manera que la jeringa resultante posea 15 mg/ml de HA (1.5% p/p) en una proporción entrecruzado/lineal de 80:20, 3 mg/ml de clorhidrato de lidocaína (0.3%p/p) y una cantidad de solución buffer fosfato salino (pH: 7.3) que permita alcanzar el volumen final de 1 ml. El clorhidrato de lidocaína actúa como agente anestésico previniendo el dolor durante la aplicación. Se homogeniza la solución por agitación rápida, se llenan las jeringas, y por último se esteriliza por calor húmedo a 121 °C durante 15 minutos (LESHCHINER, et al., 2013). A concentraciones mayores a 7.5 mg/ml de HA, los tratamientos térmicos no causan cambios significativos en la microestructura ni en las propiedades viscoelásticas del gel. Esto se debe a que las elevadas concentraciones de HA tienen un efecto protector en la estabilidad de la longitud de cadena de la molécula, por lo que el tratamiento térmico no desnaturaliza el hidrogel. (SZABÓ, et al., 2013)

El objetivo por el cual se añade una pequeña cantidad de HA lineal, es facilitar la extrusión del material de carga a través de agujas de calibre fino durante su aplicación. El HA lineal es fácilmente metabolizado y no contribuye a la duración prolongada ni a la eficacia del producto. Sólo el HA reticulado resiste la degradación enzimática y radical y por lo tanto se extiende su presencia en la dermis, lo que contribuye a su eficacia. Sin embargo, cuando los fabricantes expresan la concentración de una carga (usualmente en mg/mL), hacen referencia a la cantidad total de HA que se encuentra en la jeringa, es decir el presente en el gel y el lineal. (KABLIK, et al., 2009)

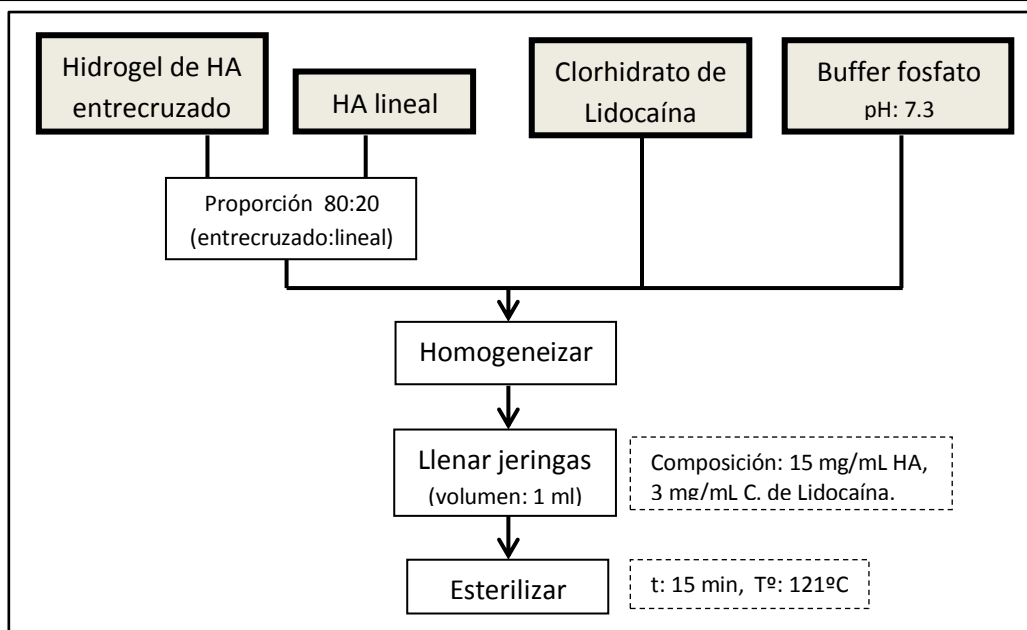


Gráfico 6.11 - Diagrama para la preparación de las jeringas prellenadas

6.4.3.3. Características y propiedades reológicas y mecánicas del hidrogel

Las propiedades mecánicas (Tabla 6.9) de estos geles dependen de las condiciones de la reacción de entrecruzamiento, la IPC y la cantidad de DVS, pero lo más importante es la relación de DVS a polímero (DVS/Pol) utilizada. Este último depende del peso molecular inicial del polímero. Con HA de bajo peso molecular se requieren mayores proporciones de DVS/Pol para conseguir propiedades similares a los geles obtenidos a partir de polímeros de alto peso molecular. El aumento de la relación DVS/Pol causa geles a ser más fuerte, menos elástica y menos cohesiva. Por otro lado, IPC bajas ($\leq 0,25\%$ w/w) resultan en geles que presentan una menor capacidad de hinchamiento que los materiales preparados a partir de los IPC más altas (LESHCHINER, et al., 2013).

El módulo complejo (G^*) es la característica reológica que describe la viscoelasticidad del relleno dérmico, define la resistencia total del material a la deformación. Este está compuesto por dos términos, el módulo elástico (G') y el módulo viscoso (G''). El módulo elástico, también denominado módulo de almacenamiento, describe el almacenamiento de energía a partir del movimiento en la estructura. La magnitud de la G' depende de la interacción elástica y la fuerza de la interacción en la muestra. Módulo viscoso, también denominado módulo de pérdida, describe la energía que se pierde en forma de disipación viscosa, es decir G'' es una medida de las propiedades de flujo para una muestra estructurada.

El módulo elástico G' es la más utilizada para caracterizar la firmeza de un gel ya que describe la interacción entre la elasticidad y la fuerza o resistencia, es decir, es una medida de la

capacidad de un material para resistir la deformación. Los geles con valores inferiores de G^* resultan ser más suaves. Por el contrario, los geles que presentan ángulos de fase bajo y altos valores de G^* resultan en geles fuertes.

La capacidad de retención de agua de los hidrogeles de HA reticulado se mide por sus propiedades de hinchamiento. A pH fisiológico el HA entrecruzado se hidrata ampliamente con agua ya que esta forma enlaces de hidrógeno con los grupos acetilo y carboxilo del HA. La capacidad de un gel de HA para hincharse depende de la concentración, la densidad de reticulación, y el proceso utilizado para hidratar el gel. Los productos totalmente hidratados no se hinchan cuando se inyecta en la dermis, proporcionando un mejor resultado en su aplicación (KABLIK, et al., 2009). La relación de hinchamiento se calcula con la ecuación siguiente:

$$S(ml/g) = \frac{100}{[HA]\%} \quad [6.4]$$

Donde $[HA]\%$ es la concentración HA porcentual en el gel hinchado expresada en g/ml. Este parámetro permite calcular el volumen del gel (ml) que se obtiene a partir de una cantidad dada de HA (g) (BALAZS & LESHCHINER, 1986). Valores altos de relación de hinchamiento corresponden a densidades de reticulación baja, por el contrario, un hidrogel firme con mayor densidad de reticulación presenta una menor capacidad de absorción de agua lo cual disminuye su relación de hinchamiento. Esta relación disminuye a medida que la cantidad de agente reticulante aumenta. (SCHANTÉ, et al., 2011)

Otro aspecto a tener en cuenta, es que los geles reticulados que constituyen los rellenos dérmicos deben ser de tamaño de partícula suficiente que permita inyectarse fácilmente a través de una aguja de tamaño apropiado. En los esfuerzos para reducir los efectos secundarios no deseados, tales como dolor, hematomas, hemorragia y edema, se emplean agujas de pequeño calibre (27-G y 30-G), por lo tanto, las partículas de gel deben ser del tamaño adecuado para ser capaz de pasar a través de estas agujas de calibre fino con una fuerza de extrusión aceptable.

Debido a que los geles presentan diferentes tamaños de partículas con rangos amplios o estrechos de distribución, se utiliza el tamaño de partícula promedio. La fuerza media de extrusión del material de carga se puede disminuir mediante la reducción del tamaño medio de partícula, pero si el gel posee partículas de gran tamaño, existe la posibilidad de que puedan provocar un flujo interrumpido o esporádico de producto a través de la aguja. La G' juega un papel importante en la forma en que los geles deben dimensionarse para un transporte fácil a través de agujas de calibre fino. Geles firmes, con una alta capacidad de

resistir la deformación, deben ser dimensionados para pequeñas partículas con una gama estrecha de distribución para que se pueda inyectar fácilmente. Por otro lado, geles suaves con bajo G' pueden tener una distribución más amplia de tamaños de partículas debido a que las estas se pueden deformar fácilmente al pasar a través de la aguja. Independientemente de que un gel es firme o suave, se prefiere la uniformidad de tamaño de partícula, lo cual se logra con la etapa de calentamiento, para evitar un flujo interrumpido durante las inyecciones permitiendo un mejor control de la colocación de gel. (KABLIK, et al., 2009)

Tabla 6.9 – Características y propiedades reológicas y mecánicas del hidrogel de HA

Características del gel	
HA contenido en el gel	0.52 %
% de Modificación total	3.72 %
% entrecruzado	1.92 %
% pendiente	1.80 %
Relación de entrecruzamiento	0.51
Tamaño de la partículas	650 μm
Relación de hinchamiento	71.43 ml gel/g HA
Propiedades reológicas y mecánicas	
Modulo complejo (G^*) medido a 1 Hz	33 Pa
Viscosidad de cizalla (η)	50-68 Pas
Angulo de fase (δ)	22°

Capítulo 7

Balance de Materia y Energía

7. BALANCE DE MATERIA Y ENERGÍA

7.1. INTRODUCCIÓN

En el presente capítulo se realizan los cálculos correspondientes a los balances de masa y la energía puesta en juego en el proceso de producción con el objetivo de sentar las bases necesarias requeridas para el diseño y la adopción de equipos.

Como se menciona en el capítulo 5 la capacidad total anual de HA lineal es de 16 kg, de los cuales 6.7 kg se entrecruzan para la elaboración de inyectables dérmicos. En base a esto se define una producción de 2 lotes semanales equivalentes a 160 g de HA lineal, obteniendo un total de 320 g por semana de los cuales 134 g se entrecruzan. Debido a la existencia de pérdidas propias de un proceso batch, los balances de masa se realizan con un sobredimensionamiento para compensar las mismas.

El proceso se puede dividir en dos etapas generales, las cuales presentan diferentes subetapas tal como se detallan a continuación:

- I. Obtención y purificación del HA lineal
 - A. Preparación del inóculo
 - B. Fermentación
 - C. Clarificación y Precipitación
 - D. Purificación
 - E. Concentración y Secado
- II. Producción del HA entrecruzado para inyección
 - A. Entrecruzamiento
 - B. Fraccionamiento

En las figuras 7.1 y 7.2 se aprecian con mayor detalle cada una de las etapas anteriores. En estas están representadas las corrientes y los equipos diferenciados por letras tal como se observa en la tabla 7.1.a y 7.1.b respectivamente. Los números en los equipos representan la cantidad de los mismos que se requieren en el proceso.

En algunos casos los equipos aparecen mencionados más de una vez debido a que, como el proceso es batch, se pueden utilizar en más de una etapa. Las líneas de proceso simbolizadas mediante líneas de trazos y puntos son corrientes ficticias que representan los cambios de composición que ocurren en un mismo equipo donde se realizan diferentes operaciones.

Tabla 7.1.a – Referencia para las corrientes presentes en las figuras 7.1 y 7.2

Corriente	Letra
Obtención y purificación del HA lineal	
Extracto de levadura y fosfatos sólidos para el inóculo	A1
Agua de dilución para A1	B1
Solución mineral de EL y fosfatos para el inóculo	C1
Solución mineral C1 estéril	C1'
Sacarosa y sales de Mg y Ca sólidas para el inóculo	A2
Agua de dilución para A2	B2
Solución mineral de sacarosa y sales para el inóculo	C2
Solución mineral C2 estéril	C2'
Cepa de MO	I ₀
Inóculo activo para fermentación	I ₁
Extracto de levadura y fosfatos sólidos para fermentación	A3
Agua de dilución para A1	B3
Solución mineral de EL y fosfatos estéril para fermentación	C3
Sacarosa y sales de Mg y Ca sólidas para fermentación	A4
Agua de dilución para A2	B4
Solución mineral de sacarosa y sales estéril para fermentación	C4
Aire estéril	E
Gases de salida	F
Caldo de cultivo al final de la fermentación	G
Agua de dilución para G	W1
Caldo de cultivo diluido	G'
Biomasa residual	J
Caldo de cultivo clarificado	H
Alcohol isopropílico (IPA)	P1
Suspensión de HA en IPA	K
IPA con impurezas	P1'
HA crudo	M
Solución de acetato de sodio al 3 %	N
Solución de HA crudo homogenizada	M'
Carbón activado sólido	C
Solución de HA + carbón activado	O
Solución de HA	Q
Carbón con impurezas	C'
Solución de HA diluida	Q'
Agua de dilución para Q	W4
Filtrado conteniendo HA	R
Torta retenida	S
Agua de diafiltración	W2
Retenido de diafiltración	T

Corriente	Letra
Permeado de diafiltración	U
IPA	P2
Suspensión de HA en IPA	V
IPA con impurezas	P2'
HA grado farmacéutico	X
Vapor de agua extraído	W3
HA granulado 5% humedad	Y
HA final en polvo	Z
Producción del HA entrecruzado para inyección	
HA lineal en polvo	A
Solución de NaOH	B
Solución básica de HA lineal	C
Divinil sulfona (líquido)	D
Solución básica con HA reticulado	E
Buffer fosfato pH:6.7	F
Solución neutra + hidrogel de HA ent.	G
Agua	H
Solución neutra	I
Hidrogel de HA entrecruzado	J
HA lineal en polvo	K
Clorhidrato de lidocaína	L
Buffer fosfato pH:7.1	M
Gel de composición final	N
Jeringas precargadas	O=O'=O''

Tabla 7.1.b – Referencia para los equipos presentes en las figuras 7.1 y 7.2

Equipo	Letra
Reactor	C
Tanque	R
Estufa, Horno de bandejas	H
Centrifuga	S
Filtro	F
Molino	Z
Envasadoras	E
Autoclave	D

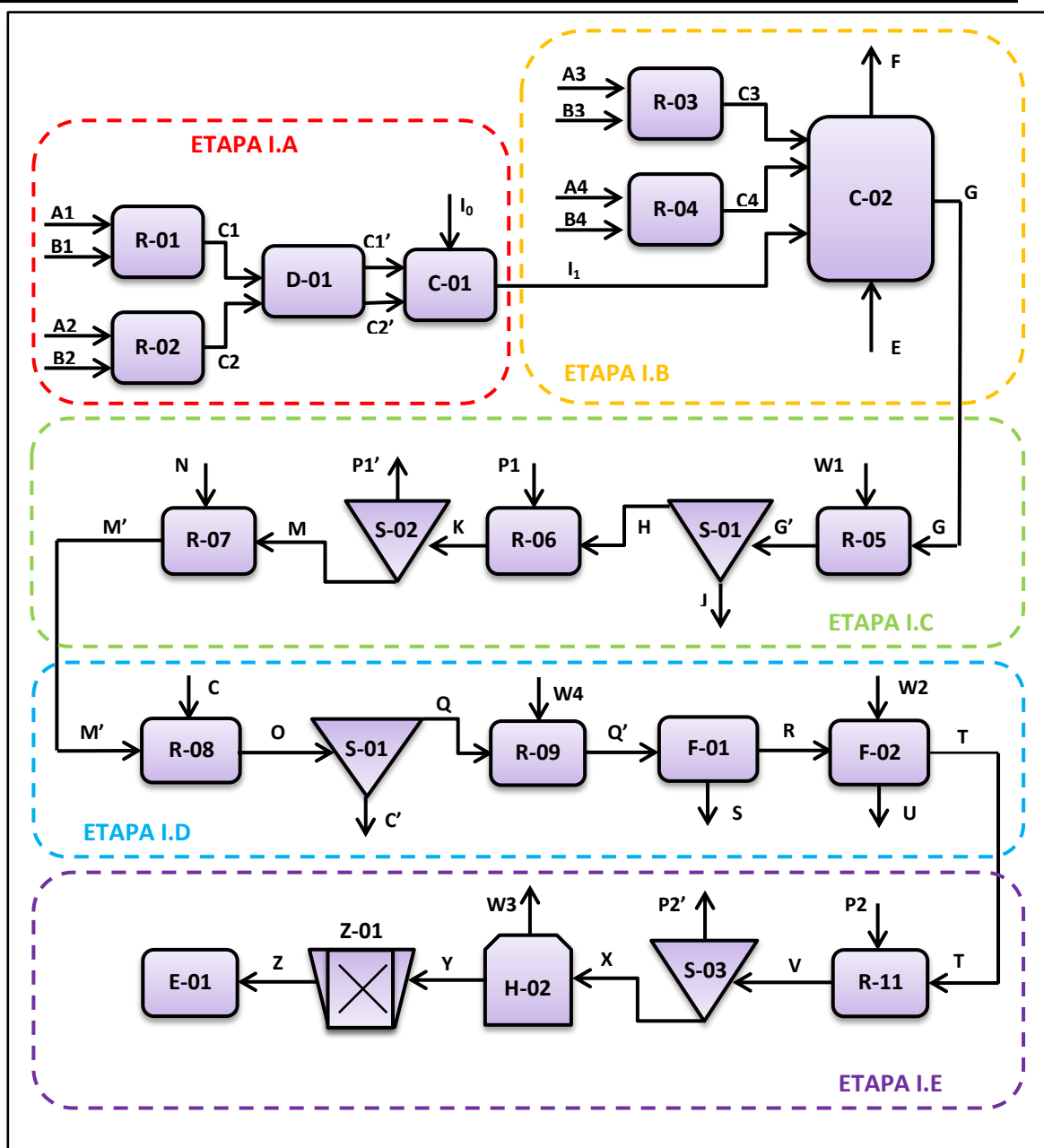


Figura 7.1 - Etapas que conforman la obtención y la purificación del HA lineal

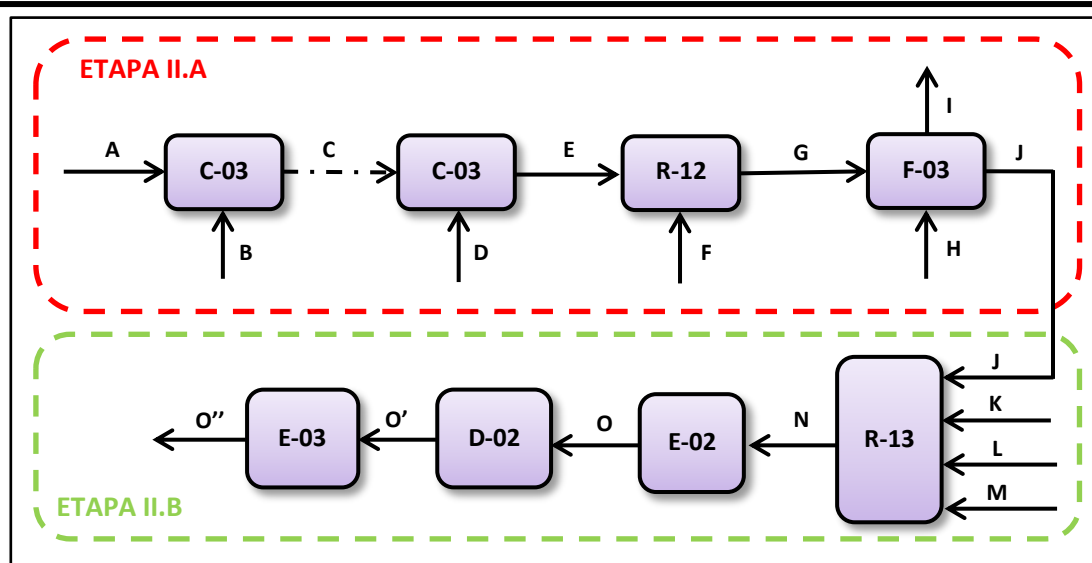


Figura 7.2 - Etapas que conforman la producción del HA entrecruzado para inyección

7.2. BALANCE DE MASA

El objetivo de este balance es obtener el caudal másico, los componentes y la densidad de cada una de las corrientes del proceso.

7.2.1. Determinación del volumen del fermentador

El volumen del reactor requerido se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$V_{Lote} = \frac{P_{HA}}{N_L \cdot \eta_{HA}} \quad [7.1]$$

Tabla 7.2 – Parámetros para el cálculo del volumen de fermentador

Capacidad anual requerida (P_{HA})	16000 g
Período laboral anual	50 semanas
Número de lotes por semana	2
Número de lotes anuales (N_L)	100
Rendimiento de HA al final de la fermentación*	6.3 g/L
Recuperación luego de la purificación	76 %
Rendimiento de HA por lote (η_{HA})	4.71 g/L
Volumen del lote	34 L
*Rendimiento basado en el volumen inicial de medio de cultivo	

Se consideran dos lotes semanales para optimizar el tiempo de funcionamiento del reactor, como consecuencia se reduce el tamaño del recipiente.

7.2.2. Preparación del inóculo

De acuerdo a diferentes autores consultados la relación inóculo/medio de cultivo debe ser del 10%, por lo tanto los balances se realizan tomando como base para los cálculos una producción de 3.4 L y un tiempo de operación de 12 hs.

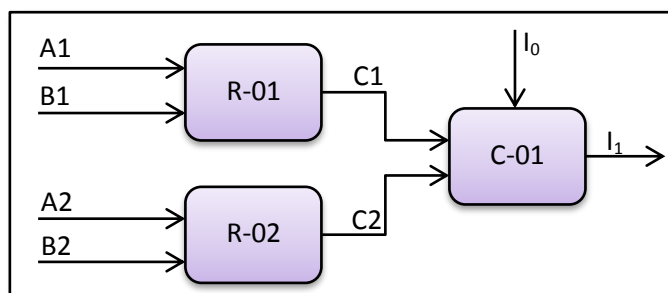


Tabla 7.3 - Ecuaciones del balance de masa para la preparación del inóculo

Balances		Ecuaciones
Globales		$A1 + B1 = C1$ $A2 + B2 = C2$ $C1 + C2 + I_0 = I_1$
Parciales	Extracto de levadura	$X_{(EL)A1} \cdot A1 = X_{(EL)C1} \cdot C1$ $X_{(EL)C1} \cdot C1 = X_{(EL)I1} \cdot I1 + Q_{(EL)} \cdot V_{R1}$
	Sacarosa	$X_{(sacarosa)A2} \cdot A2 = X_{(sacarosa)C2} \cdot C2$ $X_{(sacarosa)C2} \cdot C2 = X_{(sacarosa)I1} \cdot I1 + Q_{(sacarosa)} \cdot V_{R1}$
	KH_2PO_4	$X_{(KH_2PO_4)A1} \cdot A1 = X_{(KH_2PO_4)C1} \cdot C1$
	$CaCO_3$	$X_{(CaCO_3)A2} \cdot A2 = X_{(CaCO_3)C2} \cdot C2$
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$X_{(MgSO_4)A2} \cdot A2 = X_{(MgSO_4)C2} \cdot C2$
	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	$X_{(MnSO_4)A2} \cdot A2 = X_{(MnSO_4)C2} \cdot C2$
	Elementos traza	$X_{(trazas)A2} \cdot A2 = X_{(trazas)C2} \cdot C2$
	Sales minerales	$X_{(KH_2PO_4)C1} \cdot C1 + X_{(CaCO_3)C2} \cdot C2 + X_{(MgSO_4)C2} \cdot C2 + X_{(MnSO_4)C2} \cdot C2 +$ $X_{(trazas)C2} \cdot C2 = X_{(sales)I1} \cdot I1 + Q_{(sales)} \cdot V_{R1}$
	Biomasa	$X_{(X)I0} \cdot I_0 + Q_{(X)} \cdot V_{R1} = X_{(X)I1} \cdot I_1$
Agua	$X_{(H_2O)B1} \cdot B1 = X_{(H_2O)C1} \cdot C1$ $X_{(H_2O)B2} \cdot B2 = X_{(H_2O)C2} \cdot C2$ $X_{(H_2O)C1} \cdot C1 + X_{(H_2O)C2} \cdot C2 + Q_{(H_2O)} \cdot V_{R1} = X_{(H_2O)I1} \cdot I1$	
Donde Q representa lo que aparece o desaparece por reacción (g/L) y V_R el volumen reaccionado		

Tabla 7.4 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro		Valor adoptado	Referencia	
C-01*- Preparación del inóculo	Composición medio de cultivo para inóculo	Extracto de levadura	20 g/L	(LIU, et al., 2008 (2))	
		Sacarosa	20 g/L		
		KH ₂ PO ₄	2 g/L		
		CaCO ₃	0.02 g/L		
		MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g/L		
		MnSO ₄ .4H ₂ O	0.1 g/L		
		Sol. Elementos traza	1 mL/L		
	Composición solución de elementos traza	CaCl ₂	2 g/L		
		ZnCl ₂	0.046 g/L		
		CuSO ₄ .5H ₂ O	0.019 g/L		
	Tiempo de fermentación				12 h
	Concentración biomasa inicial				0.203 g/L
	Concentración biomasa final				3.35 g/L
	Biomasa producida				10.69 g
	Concentración de sacarosa inicial				20 g/L
	Concentración de sacarosa final				4.29 g/L
Sacarosa consumida			53.43 g		
Concentración HA inicial			0 g/L		
Concentración HA final			1.26 g/L		
Rendimiento HA/sustrato			0.08 g/g		
Rendimiento LA/sustrato			0.73 g/g		
Rendimiento biomasa/sustrato			0.2 g/g		

*la preparación del inóculo se realiza en un estufa con agitación.

Tabla 7.5 - Masa y composición de cada corriente

Componente	A1		B1		C1		A2	
	Masa (g)	Fracción p/p	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Fracción p/p
Extracto de levadura	68.00	0.909	-	-	68.00	44.44	-	-
Sacarosa	-	-	-	-	-	-	68.00	0.904
KH ₂ PO ₄	6.80	0.091	-	-	6.80	4.44	-	-
CaCO ₃	-	-	-	-	-	-	0.068	9.04E-04
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	-	-	6.800	9.04E-02
MnSO ₄ .4H ₂ O	-	-	-	-	-	-	0.340	4.52E-03
Elem. Taza	-	-	-	-	-	-	0.007	9.33E-05
Sales minerales	-	-	-	-	6.80	-	-	-
HA	-	-	-	-	-	-	-	-
LA	-	-	-	-	-	-	-	-
Biomasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Agua	-	-	1530.00	1000.00	1530.00	1000.00	-	-
Masa total (g)	74.80		1530.00		1604.80		75.215	
Volumen (L)	-		1.53		1.53		-	
Densidad (g/L)	-		1000.00		1048.89		-	

Tabla 7.5 – (Continuación)

Componente	B2		C2		I0		I1	
	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)
Extracto de levadura	-	-	-	-	-	-	40.34	11.86
Sacarosa	-	-	68.00	44.44	-	-	14.57	4.29
KH ₂ PO ₄	-	-	-	-	-	-	-	-
CaCO ₃	-	-	0.068	0.044	-	-	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	-	-	6.800	4.44	-	-	-	-
MnSO ₄ ·4H ₂ O	-	-	0.340	0.222	-	-	-	-
Elem. Traza	-	-	0.007	0.005	-	-	-	-
Sales minerales	-	-	7.22	-	-	-	13.48	3.96
HA	-	-	-	-	-	-	4.27	1.26
LA	-	-	-	-	-	-	39.00	11.47
Biomasa	-	-	-	-	0.69	2.04	11.38	3.35
Agua	1530.00	1000.00	1530.00	-	340.00	1000.00	3400.34	1000.00
Masa total (g)	1530.00		1605.22		340.69		3523.39	
Volumen (L)	1.53		1.53		0.340		3.40	
Densidad (g/L)	1000.00		1049.16		1002.04		1036.19	

Tabla 7.6 – Resumen de balances parciales para la activación del inóculo

Componente	Entrada (E)	Salida (S)	Producción (P)	Consumo (C)	E – S + P – C
H ₂ O	3400.00	3400.34	0.34	0.00	0.00
Sacarosa	68.00	14.57	0.00	53.43	0.00
Extracto Lev.	68.00	40.34	0.00	27.66	0.00
Sales	14.02	13.48	0.00	0.53	0.00
Biomasa	0.69	11.38	10.69	0.00	0.00
HA	0.00	4.27	4.27	0.00	0.00
LA	0.00	39.00	39.00	0.00	0.00

*El consumo de O₂ no se calcula porque no se controla, el objetivo es activar la cepa del inóculo.

7.2.3. Fermentación

Se parte del volumen de trabajo calculado en la sección 7.2.1, considerando un tiempo de operación de 16 horas. El rendimiento por lote empleado para calcular el volumen de fermentador requerido incluye los porcentajes de recuperación de cada etapa de purificación, además de las pérdidas propias de un proceso batch.

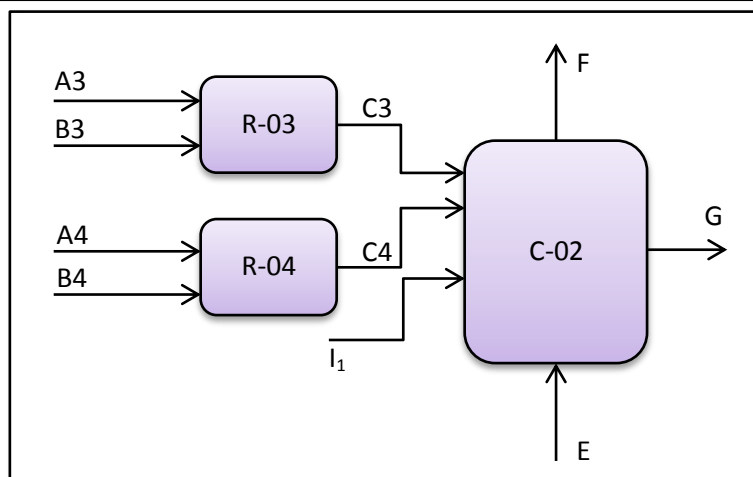


Tabla 7.7 - Ecuaciones del balance de masa para la fermentación

Balances		Ecuaciones
Globales		$A3 + B3 = C3$ $A4 + B4 = C4$ $C3 + C4 + I_1 + E = G + F$
Parciales	Extracto de levadura	$X_{(EL)A3} \cdot A3 = X_{(EL)C3} \cdot C3$ $X_{(EL)C3} \cdot C3 + X_{(EL)I1} \cdot I1 = X_{(EL)G} \cdot G + Q_{(EL)} \cdot V_{R2}$
	Sacarosa	$X_{(sacarosa)A4} \cdot A4 = X_{(sacarosa)C4} \cdot C4$ $X_{(sacarosa)C4} \cdot C4 + X_{(sacarosa)I1} \cdot I1 = X_{(sacarosa)G} \cdot G + Q_{(sacarosa)} \cdot V_{R2}$
	Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	$X_{(Na2HPO4)A3} \cdot A3 = X_{(KH2PO4)C3} \cdot C3$
	K ₂ SO ₄	$X_{(K2SO4)A4} \cdot A4 = X_{(K2SO4)C4} \cdot C4$
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	$X_{(MgSO4)A4} \cdot A4 = X_{(MgSO4)C4} \cdot C4$
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	$X_{(FeSO4)A4} \cdot A4 = X_{(FeSO4)C4} \cdot C4$
	Elementos traza	$X_{(trazas)A4} \cdot A4 = X_{(trazas)C4} \cdot C4$
	Sales minerales	$X_{(Na2HPO4)C3} \cdot C3 + X_{(K2SO4)C4} \cdot C4 + X_{(MgSO4)C4} \cdot C4 + X_{(FeSO4)C4} \cdot C4 +$ $X_{(trazas)C4} \cdot C4 + X_{(sales)I1} \cdot I1 = X_{(sales)G} \cdot G + Q_{(sales)} \cdot V_{R2}$
	Biomasa	$X_{(X)I1} \cdot I1 + Q_{(X)} \cdot V_{R2} = X_{(X)G} \cdot G$
	HA	$X_{(HA)I1} \cdot I1 + Q_{(HA)} \cdot V_{R2} = X_{(HA)G} \cdot G$
	LA	$X_{(LA)I1} \cdot I1 + Q_{(LA)} \cdot V_{R2} = X_{(LA)G} \cdot G$
	O ₂	$X_{(O2)E} \cdot E = X_{(O2)F} \cdot F + Q_{(O2)} \cdot V_{R2}$
	CO ₂	$Q_{(CO2)} \cdot V_{R2} = X_{(CO2)F} \cdot F + X_{(CO2)G} \cdot G$
	N ₂	$X_{(N2)E} \cdot E = X_{(N2)F} \cdot F$
Agua	$X_{(H2O)B3} \cdot B3 = X_{(H2O)C3} \cdot C3$ $X_{(H2O)B4} \cdot B4 = X_{(H2O)C4} \cdot C4$ $X_{(H2O)C3} \cdot C3 + X_{(H2O)C4} \cdot C4 + X_{(H2O)I1} \cdot I1 + Q_{(H2O)} \cdot V_{R2} = X_{(H2O)G} \cdot G + X_{(H2O)F} \cdot F$	

Donde Q representa lo que aparece o desaparece por reacción (g/L) y V_R el volumen reaccionado

Tabla 7.8 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia	
C-02 - Fermentador	Composición medio de cultivo para inóculo	Extracto de levadura	25 g/L	(LIU, et al., 2008)
		Sacarosa	70 g/L	
		Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	6.2 g/L	
		K ₂ SO ₄	1.3 g/L	
		MgSO ₄ ·7H ₂ O	2 g/L	
		FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.005 g/L	
		Sol. Elementos traza	2.5 mL/L	
	Composición solución de elementos traza	CaCl ₂	2 g/L	
		ZnCl ₂	0.046 g/L	
		CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.019 g/L	
	Tiempo de fermentación	16 h		
	Concentración biomasa inicial	0.33 g/L		
	Concentración biomasa final	15.06 g/L		
	Biomasa producida	498.83 g		
	Concentración de sacarosa inicial	70 g/L		
	Concentración de sacarosa final	1.55 g/L		
	Sacarosa consumida	2342 g		
	Concentración HA inicial	0.125 g/L		
	Concentración HA final	6.41 g/L		
	HA producido	213.1 g		
Rendimiento HA/sustrato	0.091 g/g			
Rendimiento biomasa/sustrato	0.213 g/g			
Rendimiento LA/sustrato	0.698 g/g			
Relación inóculo/medio de cultivo	10 % v/v		(HERNANDEZ, 2003)	

Tabla 7.9 – Alimentación y consumo de oxígeno

Periodo	0 – 5 h	6 – 11 h	12 – 16 h
Flujo de aire (VVM)	0.16	0.10	0.14
Caudal de aire (L/min)	5.44	3.40	4.76
Caudal de O ₂ (g/min)	1.63	1.02	1.43
Caudal de N ₂ (g/min)	5.37	3.36	4.70
CO ₂ producido (g)	21.78		
O ₂ consumido (g)	19.20		
Coficiente de respiración (g CO ₂ (producido)/g O ₂ (consumido))	1.13		

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



Tabla 7.10 - Masa y composición de cada corriente

Componente	A3		B3		C3	
	Masa (g)	Fracción p/p	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)
Extracto de levadura	850.00	0.80	-	-	850.00	55.56
Sacarosa	-	-	-	-	-	-
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	210.80	0.20	-	-	210.80	13.78
K ₂ SO ₄	-	-	-	-	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	-	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	-	-
Elem. Traza	-	-	-	-	-	-
Sales minerales	-	-	-	-	210.80	-
HA	-	-	-	-	-	-
LA	-	-	-	-	-	-
O ₂	-	-	-	-	-	-
CO ₂	-	-	-	-	-	-
N ₂	-	-	-	-	-	-
Biomasa	-	-	-	-	-	-
Agua	-	-	15269.40	998.00	15269.40	998.00
Masa total (g)	1060.80		15269.40		16330.20	
Volumen (L)			15.30		15.30	
Densidad (g/L)			998.00		1067.33	

Tabla 7.10 – (Continuación)

Componente	A4		B4		C4		I1	
	Masa (g)	Fracción p/p	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)	Masa (g)	Conc. (g/L)
Extracto de levadura	-	-	-	-	-	-	40.34	11.86
Sacarosa	2380.00	0.955	-	-	2380.00	155.56	14.57	4.29
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	-	-	-	-	-	-	-	-
K ₂ SO ₄	44.20	0.018	-	-	44.20	2.89	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	68.00	0.027	-	-	68.00	4.44	-	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.170	6.82E-05	-	-	0.170	0.011	-	-
Elem. Traza	0.176	7.04E-05	-	-	0.176	0.011	-	-
Sales minerales	-	-	-	-	112.55	-	13.48	3.96
HA	-	-	-	-	-	-	4.27	1.26
LA	-	-	-	-	-	-	39.00	11.47
O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-
CO ₂	-	-	-	-	-	-	-	-
N ₂	-	-	-	-	-	-	-	-
Biomasa	-	-	-	-	-	-	11.38	3.35
Agua	-	-	15269.4	998.0	15269.4	998.0	3400.34	1000.1
Masa total (g)	2492.55		15269.40		17761.95		3523.39	
Volumen (L)			15.30		15.30		3.40	
Densidad (g/L)			998.00		1160.91		1036.29	

Tabla 7.10 – (Continuación)

Componente	E		F		G	
	Masa (g)	Fracción p/p	Masa (g)	Fracción p/p	Masa (g)	Conc. (g/L)
Extracto de levadura	-	-	-	-	159.83	4.72
Sacarosa	-	-	-	-	52.65	1.55
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	-	-	-	-	-	-
K ₂ SO ₄	-	-	-	-	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	-	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	-	-
Elem. Traza	-	-	-	-	-	-
Sales minerales	-	-	-	-	311.88	9.20
HA	-	-	-	-	217.39	6.41
LA	-	-	-	-	1673.66	49.39
O ₂	1297.83	0.233	1278.63	0.220	-	-
CO ₂	-	-	21.78	0.004	-	-
N ₂	4272.79	0.766	4272.79	0.736	-	-
Biomasa	-	-	-	-	510.21	15.06
Agua	5.57	0.001	233.73	0.040	33820.63	998.00
Masa total (g)	5576.19		5806.93		36746.26	
Volumen (L)	4324.80		4670.64		33.89	
Densidad (g/L)	1.29		1.24		1084.33	

Tabla 7.11 – Resumen de balances parciales en el reactor

Componente	Entrada (E)	Salida (S)	Producción (P)	Consumo (C)	E – S + P – C
H ₂ O	33939.14	34054.36	115.22	0.00	0.00
Sacarosa	2394.57	52.65	0.00	2341.92	0.00
O ₂	1297.83	1278.63	0.00	19.20	0.00
CO ₂	0.00	21.78	21.78	0.00	0.00
Sales	336.83	311.88	0.00	24.94	0.00
Biomasa	11.38	510.21	498.83	0.00	0.00
HA	4.27	217.39	213.11	0.00	0.00

7.2.4. Clarificación y Precipitación

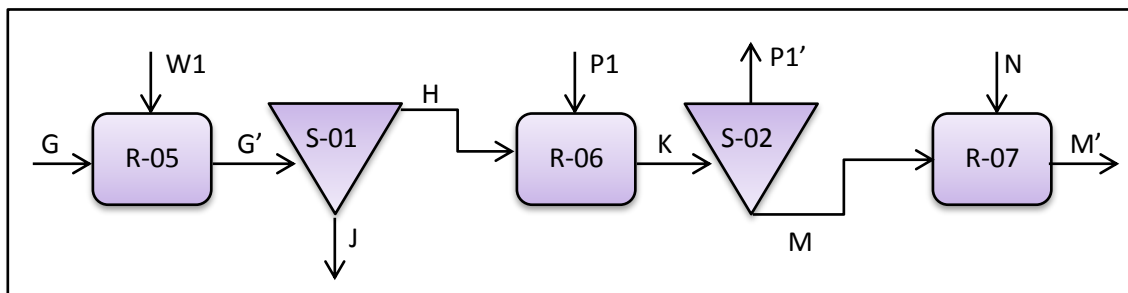


Tabla 7.12 - Ecuaciones del balance de masa para la clarificación y la precipitación

Balances		Ecuaciones
Globales		$G + W1 = G'$ $G' = H + J$ $H + P1 = K$ $K = P1' + M$ $M + N = M'$
Parciales	H₂O	$X_{(H_2O)G} \cdot G + X_{(H_2O)W1} \cdot W1 = X_{(H_2O)G'} \cdot G'$ $X_{(H_2O)G'} \cdot G' = X_{(H_2O)H} \cdot H + X_{(H_2O)J} \cdot J$ $X_{(H_2O)H} \cdot H = X_{(H_2O)K} \cdot K$ $X_{(H_2O)K} \cdot K = X_{(H_2O)P1'} \cdot P1' + X_{(H_2O)M} \cdot M$ $X_{(H_2O)M} \cdot M + X_{(H_2O)N} \cdot N = X_{(H_2O)M'} \cdot M'$
	HA	$X_{(HA)G} \cdot G = X_{(HA)G'} \cdot G'$ $X_{(HA)G'} \cdot G' = X_{(HA)H} \cdot H + X_{(HA)J} \cdot J$ $X_{(HA)H} \cdot H = X_{(HA)K} \cdot K$ $X_{(HA)K} \cdot K = X_{(HA)M} \cdot M$ $X_{(HA)M} \cdot M = X_{(HA)M'} \cdot M'$
	LA	$X_{(LA)G} \cdot G = X_{(LA)G'} \cdot G'$ $X_{(LA)G'} \cdot G' = X_{(LA)H} \cdot H + X_{(LA)J} \cdot J$ $X_{(LA)H} \cdot H = X_{(LA)K} \cdot K$ $X_{(LA)K} \cdot K = X_{(LA)P1'} \cdot P1'$
	Biomasa	$X_{(X)G} \cdot G = X_{(X)G'} \cdot G'$ $X_{(X)G'} \cdot G' = X_{(X)H} \cdot H + X_{(X)J} \cdot J$ $X_{(X)H} \cdot H = X_{(X)K} \cdot K$ $X_{(X)K} \cdot K = X_{(X)M} \cdot M$ $X_{(X)M} \cdot M = X_{(X)M'} \cdot M'$
	Sales y nutrientes	$X_{(sales)G} \cdot G = X_{(sales)G'} \cdot G'$ $X_{(sales)G'} \cdot G' = X_{(sales)H} \cdot H + X_{(sales)J} \cdot J$ $X_{(sales)H} \cdot H = X_{(sales)K} \cdot K$ $X_{(sales)K} \cdot K = X_{(sales)P1'} \cdot P1'$
	Isopropanol	$X_{(IPA)P1} \cdot P1 = X_{(IPA)K} \cdot K$ $X_{(IPA)K} \cdot K = X_{(IPA)P1'} \cdot P1'$
	NaAc	$X_{(NaAc)N} \cdot N = X_{(NaAc)M'} \cdot M'$

Tabla 7.13 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
R-05 - Dilución	Relación volumen G:W1	1:1	(RANGASWAMY, et al., 2011)
S-01 - Clarificación	Recuperación HA	98 %	
	Biomasa residual	15 %	
R-06 - Precipitación	Relación IPA v/v	1:1	
S-02 - Centrifugación	Agua retenida	1 %	
R-07 - Homogeneización	Concentración solución NaAc	3 % p/v	

Tabla 7.14 - Masa y composición de cada corriente

Componente	G		W1		G'	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
Sales y nutrientes	0.524	15.47	-	-	0.524	7.74
HA	0.217	6.41	-	-	0.217	3.21
LA	1.674	49.39	-	-	1.674	24.69
Biomasa	0.510	15.06	-	-	0.510	7.53
Agua	33.821	998.00	33.821	998.00	67.641	998.00
Masa total (kg)	36.746		33.821		70.567	
Volumen (m³)	0.034		0.034		0.068	
Densidad (kg/m³)	1084		998		1041	

Tabla 7.14 – (Continuación)

Componente	G'		H		J	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
Sales y nutrientes	0.524	7.74	0.105	1.72	0.419	61.89
HA	0.217	3.21	0.213	3.49	4.35E-03	0.64
LA	1.674	24.69	1.339	21.95	0.335	49.39
Biomasa	0.510	7.53	0.077	1.25	0.383	56.46
Agua	67.641	998.00	60.877	998.00	6.764	998.00
Masa total (kg)	70.567		62.611		7.905	
Volumen (m³)	0.068		0.061		0.007	
Densidad (kg/m³)	1041		1026		1166	

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



Tabla 7.14 – (Continuación)

Componente	H		P1		K	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
Sales y nutrientes	0.105	1.72	-	-	0.105	0.86
HA	0.213	3.49	-	-	0.213	1.75
LA	1.339	21.95	-	-	1.339	10.97
Isopropanol	-	-	48.189	790.00	48.189	395.00
Proteínas	0.077	1.25	-	-	0.077	0.63
Agua	60.877	998.00	-	-	60.877	499.00
Masa total (kg)	62.611		48.189		110.800	
Volumen (m³)	0.061		0.061		0.122	
Densidad (kg/m³)	1026		790		908	

Tabla 7.14 – (Continuación)

Componente	K		P1'		M	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Fracción p/p
Sales y nutrientes	0.105	0.86	0.105	0.86	-	-
HA	0.213	1.75	-	-	0.213	0.24
LA	1.339	10.97	1.339	11.03	-	-
Isopropanol	48.189	395.00	48.189	396.98	-	-
Proteínas	0.077	0.63	-	-	0.077	0.09
Agua	60.877	499.00	60.268	496.49	0.609	0.68
Masa total (kg)	110.800		109.901		0.898	
Volumen (m³)	0.122		0.121			
Densidad (kg/m³)	908		905			

Tabla 7.14 – (Continuación)

Componente	M		N		M'	
	Masa (kg)	Fracción p/p	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.213	0.24	-	-	0.213	6.29
Proteínas	0.077	0.09	-	-	0.077	2.26
NaAc	-	-	0.998	30.00	0.998	29.46
Agua	0.609	0.68	33.212	998.00	33.821	998.00
Masa total (kg)	0.898		34.210		35.109	
Volumen (m³)			0.033		0.034	
Densidad (kg/m³)			1028		1036	

7.2.5. Purificación

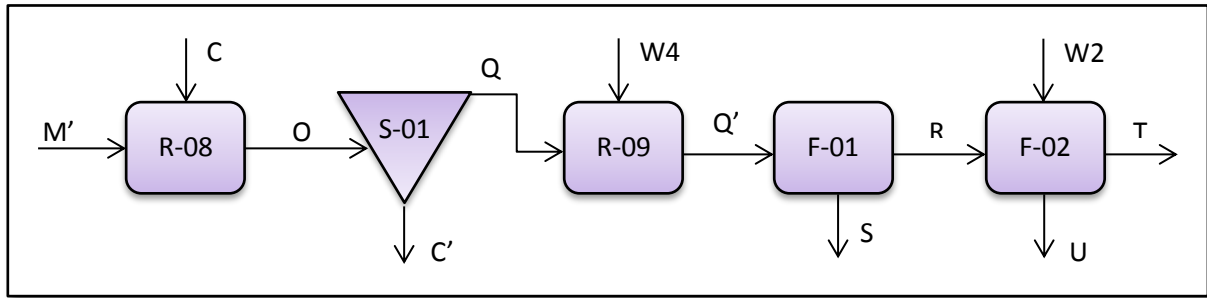


Tabla 7.15 - Ecuaciones del balance de masa para la purificación

Balances		Ecuaciones
Globales		$M' + C = O$ $O = Q + C'$ $Q + W4 = Q'$ $Q' = R + S$ $R + W2 = T + U$
Parciales	H₂O	$X_{(H_2O)M'} \cdot M' = X_{(H_2O)O} \cdot O$ $X_{(H_2O)O} \cdot O = X_{(H_2O)Q} \cdot Q + X_{(H_2O)C'} \cdot C'$ $X_{(H_2O)Q} \cdot Q + X_{(H_2O)W4} \cdot W4 = X_{(H_2O)Q'} \cdot Q'$ $X_{(H_2O)Q'} \cdot Q' = X_{(H_2O)R} \cdot R + X_{(H_2O)S} \cdot S$ $X_{(H_2O)R} \cdot R + X_{(H_2O)W2} \cdot W2 = X_{(H_2O)T} \cdot T + X_{(H_2O)U} \cdot U$
	HA	$X_{(HA)M'} \cdot M' = X_{(HA)O} \cdot O$ $X_{(HA)O} \cdot O = X_{(HA)Q} \cdot Q + X_{(HA)C'} \cdot C'$ $X_{(HA)Q} \cdot Q = X_{(HA)Q'} \cdot Q'$ $X_{(HA)Q'} \cdot Q' = X_{(HA)R} \cdot R + X_{(HA)S} \cdot S$ $X_{(HA)R} \cdot R = X_{(HA)T} \cdot T + X_{(HA)U} \cdot U$
	Biomasa	$X_{(X)M'} \cdot M' = X_{(X)O} \cdot O$ $X_{(X)O} \cdot O = X_{(X)Q} \cdot Q + X_{(X)C'} \cdot C'$ $X_{(X)Q} \cdot Q = X_{(X)Q'} \cdot Q'$ $X_{(X)Q'} \cdot Q' = X_{(X)R} \cdot R + X_{(X)S} \cdot S$ $X_{(X)R} \cdot R = X_{(X)T} \cdot T + X_{(X)U} \cdot U$
	NaAc	$X_{(NaAc)M'} \cdot M' = X_{(NaAc)O} \cdot O$ $X_{(NaAc)O} \cdot O = X_{(NaAc)Q} \cdot Q + X_{(NaAc)C'} \cdot C'$ $X_{(NaAc)Q} \cdot Q = X_{(NaAc)Q'} \cdot Q'$ $X_{(NaAc)Q'} \cdot Q' = X_{(NaAc)R} \cdot R + X_{(NaAc)S} \cdot S$ $X_{(NaAc)R} \cdot R = X_{(NaAc)U} \cdot U$
	Carbón activado	$X_{(CA)C} \cdot C = X_{(CA)O} \cdot O$ $X_{(CA)O} \cdot O = X_{(CA)C'} \cdot C'$

Tabla 7.16 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
R-08 - Concentración	Concentración Carbón requerida	2 % p/v	(REDDY KANALA, et al., 2011)
S-01 - Centrifugación	Proteína residual	11 %	
	Recuperación HA	85 %	
	Humedad residuo	1 %	
R-09 - Dilución prefiltrado	Relación volumen Q:W4	1:1	
F-01 – Filtración	Proteína residual	90 %	
	Recuperación HA	93 %	
	Humedad torta	1 %	
F-02 – Diafiltración	Proteína residual	3 %	
	Recuperación HA	94 %	
	Relación diafiltración R:W2	1:5	

Tabla 7.17 - Masa y composición de cada corriente

Componente	M'		C		O	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Fracción p/p	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.213	6.29	-	-	0.213	6.29
Proteínas	0.077	2.26	-	-	0.077	2.26
NaAc	0.998	29.46	-	-	0.998	29.46
Agua	33.821	998.00	-	-	33.821	998.00
Carbón	-	-	0.678	1.00	0.678	20.00
Masa total (kg)	35.109		0.678		35.79	
Volumen (m³)	0.034		0.003		0.034	
Densidad (kg/m³)	1036		250		1056	

Tabla 7.17 – (Continuación)

Componente	O		Q		C'	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.213	6.29	0.181	5.40	0.032	0.04
Proteínas	0.077	2.26	0.008	0.25	0.068	0.09
NaAc	0.998	29.46	0.988	29.46	0.010	0.01
Agua	33.821	998.00	33.482	998.00	0.338	
Carbón	0.678	20.00	-	-	0.678	0.86
Masa total (kg)	35.786		34.660		1.126	
Volumen (m³)	0.034		0.034		0.003	
Densidad (kg/m³)	1056		1033		369	

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



Tabla 7.17 – (Continuación)

Componente	Q		W4		Q'	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.181	5.40	-	-	0.181	2.70
Proteínas	0.008	0.25	-	-	0.008	0.13
NaAc	0.988	29.46	-	-	0.988	14.73
Agua	33.482	998.00	33.482	998.00	66.965	998.00
Masa total (kg)	34.660		33.482		68.143	
Volumen (m³)	0.0335		0.0335		0.067	
Densidad (kg/m³)	1033		998		1016	

Tabla 7.17 – (Continuación)

Componente	Q'		R		S*	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.181	2.70	0.169	2.54	0.012	0.53
Proteínas	0.008	0.13	0.008	0.11	8.42E-04	0.04
NaAc	0.988	14.73	0.978	14.73	0.010	0.43
Agua	66.965	998.00	66.295	998.00	0.670	
Masa total (kg)	68.143		67.450		0.693	
Volumen (m³)	0.067		0.066		6.71E-04	
Densidad (kg/m³)	1015.554		1015		1032	

*La corriente S contiene restos celulares retenidos en el medio filtrante, por lo tanto su masa es relativamente pequeña

Tabla 7.17 – (Continuación)

Componente	R		W2		T		U	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.169	2.54	-	-	0.159	2.39	0.010	4.41E-02
Proteínas	0.008	0.11	-	-	2.27E-04	3.42E-03	0.007	3.20E-02
NaAc	0.978	14.73	-	-	-	-	0.978	4.26
Agua	66.295	998.00	229.381	998.00	66.295	998.00	229.381	998.00
Masa total (kg)	67.450		229.381		66.454		230.377	
Volumen (m³)	0.066		0.230		0.066		0.230	
Densidad (kg/m³)	1015		998		1000		1002	

7.2.6. Concentración y secado

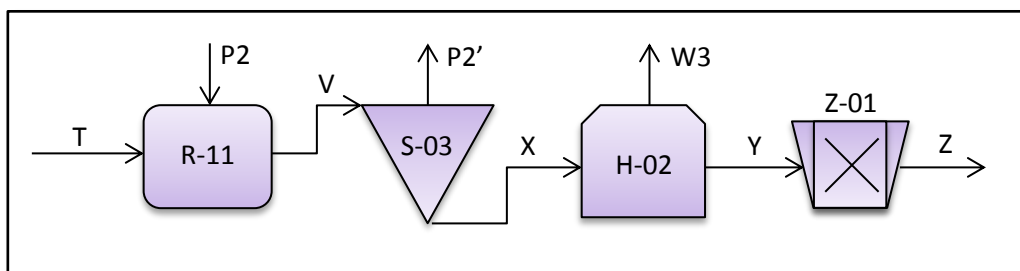


Tabla 7.18 - Ecuaciones del balance de masa para la concentración y el secado

Balances		Ecuaciones
Globales		$T + P2 = V$
		$V = P2' + X$
		$X = W3 + Y$
		$Y = Z$
Parciales	H₂O	$X_{(H_2O)T} \cdot T = X_{(H_2O)V} \cdot V$ $X_{(H_2O)V} \cdot V = X_{(H_2O)X} \cdot X + X_{(H_2O)P2'} \cdot P2'$ $X_{(H_2O)X} \cdot X = X_{(H_2O)W3} \cdot W3 + X_{(H_2O)Y} \cdot Y$ $X_{(H_2O)Y} \cdot Y = X_{(H_2O)Z} \cdot Z$
	HA	$X_{(HA)T} \cdot T = X_{(HA)V} \cdot V$ $X_{(HA)V} \cdot V = X_{(HA)X} \cdot X$ $X_{(HA)X} \cdot X = X_{(HA)Y} \cdot Y$ $X_{(HA)Y} \cdot Y = X_{(HA)Z} \cdot Z$
	Biomasa	$X_{(X)T} \cdot T = X_{(X)V} \cdot V$ $X_{(X)V} \cdot V = X_{(X)X} \cdot X$
	Isopropanol	$X_{(IPA)P2} \cdot P2 = X_{(IPA)V} \cdot V$ $X_{(IPA)V} \cdot V = X_{(IPA)P2'} \cdot P2'$
	Proteína residual	$X_{(X)X} \cdot X = X_{(X)Y} \cdot Y$ $X_{(X)Y} \cdot Y = X_{(X)Z} \cdot Z$

Tabla 7.19 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
R-11 - Precipitación	Relación IPA v/v	1:1	(RANGASWAMY, et al., 2011)
S-03 - Centrifugación	Agua retenida	1 %	
H-02 - Secado	Humedad inicial	4.17 g H ₂ O/g HA	
	Humedad final	0.05 g H ₂ O/g HA	
	Temperatura de secado	60 °C	
Z-01 - Molienda	Tamaño de partícula final	100-200 μm	(TOEMMERAAS & BACH, 2014)

Tabla 7.20 - Masa y composición de cada corriente

Componente	T		P2		V	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.159	2.391	-	-	0.159	1.200
Proteínas	2.27E-04	3.42E-03	-	-	2.27E-04	1.71E-03
IPA	-	-	52.478	790	52.478	395
Agua	66.295	998	-	-	66.295	499
Masa total (kg)	66.454		52.478		118.932	
Volumen (m³)	0.066		0.066		0.133	
Densidad (kg/m³)	1000		790		895	

Tabla 7.20 – (Continuación)

Componente	V		P2'		X	
	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Conc. (g/L)
HA	0.159	1.20	-	-	0.159	0.190
Proteínas	2.27E-04	1.71E-03	-	-	2.27E-04	2.77E-04
IPA	52.478	395	52.478	396.98	-	-
Agua	66.295	499	65.632	496.49	0.663	0.810
Masa total (kg)	118.932		118.110		0.822	
Volumen (m³)	0.133		0.132			
Densidad (kg/m³)	895		893			

Tabla 7.20 – (Continuación)

Componente	X		W3		Y = Z	
	Masa (kg)	Fracción p/p	Masa (kg)	Conc. (g/L)	Masa (kg)	Fracción p/p
HA	0.159	0.190	-	-	0.159	0.95
Proteínas	2.27E-04	2.77E-04	-	-	2.27E-04	1.36E-03
Agua	0.663	0.810	0.655	1.00	0.008	0.05
Masa total (kg)	0.822		0.655		0.167	

7.2.7. Entrecruzamiento

Los balances de las etapas de entrecruzamiento y fraccionamiento se realizaron tomando como base para los cálculos la producción de 137 g de hidrogel de HA entrecruzado para la obtención final de 134 g del mismo fraccionados en jeringas de 1 ml.

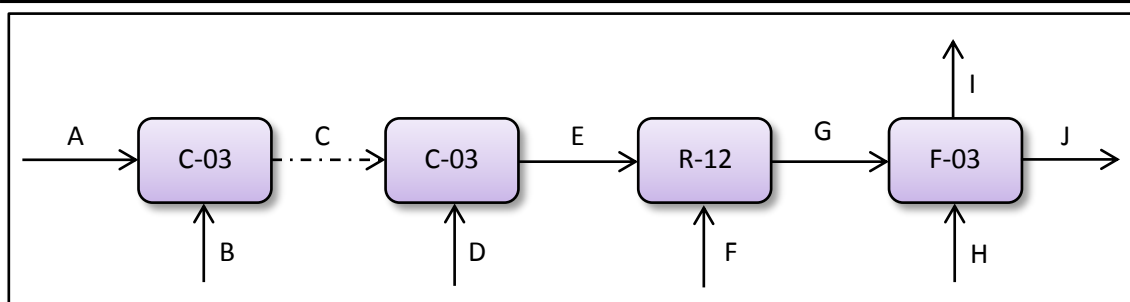


Tabla 7.21 - Ecuaciones del balance de masa del entrecruzamiento

Balances		Ecuaciones
Globales		$A + B = C$
		$C + D = E$
		$E + F = G$
		$G + H = J$
Parciales	HA	$X_{(HA)A} \cdot A = X_{(HA)C} \cdot C$ $X_{(HA)C} \cdot C = X_{(HA-lineal)E} \cdot E + X_{(HA-modificado)E} \cdot E = X_{(HA-lineal)E} \cdot E + Q_{(HA)} \cdot \eta \cdot V_R$ $X_{(HA)E} \cdot E = X_{(HA)G} \cdot G$ $X_{(HA)G} \cdot G = X_{(HA)J} \cdot J$
	NaOH	$X_{(NaOH)B} \cdot B = X_{(NaOH)C} \cdot C$ $X_{(NaOH)C} \cdot C = X_{(NaOH)E} \cdot E$ $X_{(NaOH)E} \cdot E = Q_{(NaOH)} \cdot V_E$
	NaH ₂ PO ₄	$X_{(NaH_2PO_4)F} \cdot F = X_{(NaH_2PO_4)G} \cdot G + Q_{(NaH_2PO_4)} \cdot V_E$ $X_{(NaH_2PO_4)G} \cdot G = X_{(NaH_2PO_4-Libre)G} \cdot G + X_{(NaH_2PO_4-gel)G} \cdot G$ $X_{(NaH_2PO_4-libre)G} \cdot G = X_{(NaH_2PO_4)I} \cdot I$ $X_{(NaH_2PO_4-gel)G} \cdot G = X_{(NaH_2PO_4)J} \cdot J$
	Na ₂ HPO ₄	$X_{(Na_2HPO_4)F} \cdot F + Q_{(Na_2HPO_4)} \cdot V_E = X_{(Na_2HPO_4)G} \cdot G$ $X_{(Na_2HPO_4)G} \cdot G = X_{(Na_2HPO_4-Libre)G} \cdot G + X_{(Na_2HPO_4-gel)G} \cdot G$ $X_{(Na_2HPO_4-libre)G} \cdot G = X_{(Na_2HPO_4)I} \cdot I$ $X_{(Na_2HPO_4-gel)G} \cdot G = X_{(Na_2HPO_4)J} \cdot J$
	H ₂ O	$X_{(H_2O)B} \cdot B = X_{(H_2O)C} \cdot C$ $X_{(H_2O)C} \cdot C = X_{(H_2O)E} \cdot E$ $X_{(H_2O)E} \cdot E + X_{(H_2O)F} \cdot F = X_{(H_2O)G} \cdot G$ $X_{(H_2O)G} \cdot G = X_{(H_2O-Libre)G} \cdot G + X_{(H_2O-gel)G} \cdot G$ $X_{(H_2O-gel)G} \cdot G = [X_{(H_2O-Libre)gel} + X_{(H_2O-enlazada)gel}] \cdot X_{(H_2O-gel)G} \cdot G$ $X_{(H_2O-Libre)G} \cdot G + X_{(H_2O)H} \cdot H = X_{(H_2O)I} \cdot I$ $X_{(H_2O-gel)G} \cdot G = X_{(H_2O-gel)J} \cdot J$
Donde η representa rendimiento, Q representa lo que aparece/desaparece por reacción (g/L) y V_R el volumen reaccionado		

Tabla 7.22 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
C-03 - Alcalinización	Concentración del NaOH	0.04 M	(LONGIN & SCHWACH- ABDELLAOUI, 2013)
	IPC	4 % p/v	
C-03 - Reacción	DVS:HA	1:10 (peso en seco)	(LONGIN & SCHWACH- ABDELLAOUI, 2013)
	δ_{DVS}	1.177 g/cm ³ (25°C)	Ficha de datos de seguridad
	$HA_{\text{modificado}}/DVS_{\text{consumido}}$	0.372 gHA/gDVS	(LESHCHINER, et al., 2013)
	% de modificación total	3.72 %	
	% de entrecruzamiento	1.92 %	
% de grupos pendientes	1.80 %		
R-12 - Hidratación del gel	$V_{\text{buffer}}/V_{\text{gel}}$	3	(LONGIN & SCHWACH- ABDELLAOUI, 2013)
	FPC	1.4 % p/v	
	pH final	7.1	
	Buffer	pH	
		NaH ₂ PO ₄	6.39 g/L
	Na ₂ HPO ₄	2.84 g/L	
	Relación de hinchamiento	71.43 ml _{gel} /g _{HA}	(PRŮŠOVÁ,(PRŮŠO
Agua enlazada congelable en gel	0.6 g _{H2O} /g _{HA}		
Agua enlazada no congelable en gel	44 g _{H2O} /g _{HA}		
F-03 - Filtración y lavado	$V_{H_2O \text{ lavado}}/V_{\text{gel}}$	1	(LONGIN & SCHWACH- ABDELLAOUI, 2013)

Tabla 7.23 – Masa y composición de las corrientes

Corriente	Componentes	Cantidades	Masa total (g)	Densidad (g/L)
A	HA lineal en polvo	137 g	137	-
B	NaOH	5.48 g	3425.48	1001.6
	H ₂ O	3.42 L		
C	HA lineal	137 g	3562.48	1041.6
	NaOH	5.48 g		
	H ₂ O	3.42 L		
D	DVS	11.64 mL	13.70	1177
E	HA total	137 g	3562.48	1041.6
	HA reticulado	2.63 g		
	HA pendiente	2.46 g		
	NaOH	5.48 g		
	H ₂ O	3.42 L		
F	NaH ₂ PO ₄	66.26 g	10455.66	1009.2
	Na ₂ HPO ₄	29.40 g		
	H ₂ O	10.36 L		

Tabla 7.23 – (Continuación)

Corriente	Componentes		Cantidades	Masa total (g)	Densidad (g/L)
G	Hidrogel	HA total	137 g	14045.63	1017.1
		H ₂ O total	9.79 L		
		H ₂ O libre	3.67 L		
		NaH ₂ PO ₄	23.71 g		
		Na ₂ HPO ₄	23.38 g		
	NaH ₂ PO ₄	25.95 g			
	Na ₂ HPO ₄	25.59 g			
	H ₂ O	4.02 L			
H	H ₂ O		9.79 L	9790	1000
I	NaH ₂ PO ₄		25.95 g	13861.54	1003.7
	Na ₂ HPO ₄		25.59 g		
	H ₂ O		13.40 L		
J	Hidrogel de HA	HA total	134 g	9750.4	1018.8
		H ₂ O total	9.57 L		
		NaH ₂ PO ₄	23.32 g		
		Na ₂ HPO ₄	22.78 g		

7.2.8. Fraccionamiento

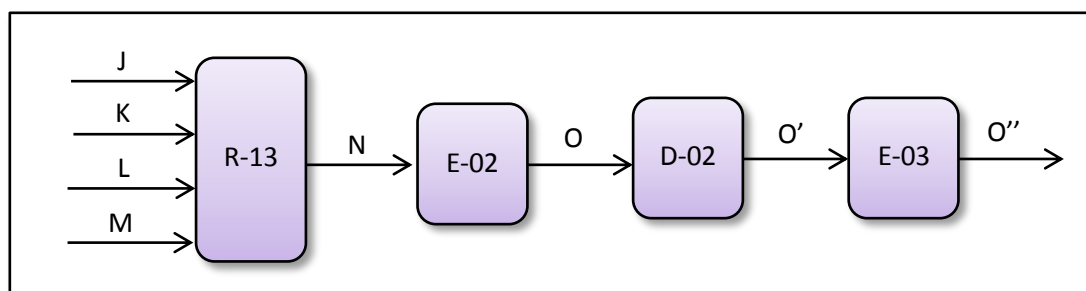


Tabla 7.24 - Ecuaciones del balance de masa para el fraccionamiento

Balances		Ecuaciones
Global		J+K+L+M=N N/n=O O=O'=O''
Parcial	Hidrogel	$X_{(HG)J} \cdot J = X_{(HG)N} \cdot N$ $[X_{(HG)N} \cdot N] / n = X_{(HG)O} \cdot O$
	HA	$X_{(HA)J} \cdot J + X_{(HA)K} \cdot K = X_{(HA)N} \cdot N$ $[X_{(HA)N} \cdot N] / n = X_{(HA)O} \cdot O$
	Clorhidrato de Lidocaína	$X_{(CL)L} \cdot L = X_{(CL)N} \cdot N$ $[X_{(CL)N} \cdot N] / n = X_{(CL)O} \cdot O$
	NaH ₂ PO ₄	$X_{(NaH_2PO_4)J-gel} \cdot J + X_{(NaH_2PO_4)M} \cdot M = X_{(NaH_2PO_4)N} \cdot N$ $[X_{(NaH_2PO_4)N} \cdot N] / n = X_{(NaH_2PO_4)O} \cdot O$
	Na ₂ HPO ₄	$X_{(Na_2HPO_4)J-gel} \cdot J + X_{(Na_2HPO_4)M} \cdot M = X_{(Na_2HPO_4)N} \cdot N$ $[X_{(Na_2HPO_4)N} \cdot N] / n = X_{(Na_2HPO_4)O} \cdot O$
H ₂ O		$X_{(H_2O)M} \cdot M = X_{(H_2O)O} \cdot O$ $[X_{(H_2O)N} \cdot N] / n = X_{(H_2O)O} \cdot O$

Donde n es el número de jeringas producidas (11167 unidades/semana)

Tabla 7.25 – Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
R-13 - Homogenización	Proporción de HA entrecruzado/lineal	80:20	(LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013)
E-02 - Fraccionamiento	Jeringas	Cantidad	11167 unidades/semana
		Volumen	1 ml
		HA total	15 mg/ml
		C. de Lidocaína	3 mg/ml
	Buffer	c.n.p 1 ml	(LESHCHINER, et al., 2013)
Buffer	pH	7.3	(LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013)
	NaH ₂ PO ₄	2.40 g/L	
	Na ₂ HPO ₄	3.55 g/L	

Tabla 7.26 - Masa y composición de cada corriente

Corriente	Componentes	Cantidades	Masa total (g)	Densidad (g/L)
J	HA	134 g	9750.4	1018.8
	H ₂ O	9.57 L		
	NaH ₂ PO ₄	23.32 g		
	Na ₂ HPO ₄	22.78 g		
K	HA lineal polvo	33.50 g	33.5	-
L	C. de Lidocaína	33.50 g	33.5	-
M	NaH ₂ PO ₄	3.74 g	1569.12	1005.8
	Na ₂ HPO ₄	5.38 g		
	H ₂ O	1.56 L		
N	HA total	167.50 g	11386.52	1023
	H ₂ O _{Hidrogel}	9.57 L		
	C. de Lidocaína	33.50 g		
	NaH ₂ PO ₄	27.06 g		
	Na ₂ HPO ₄	28.16 g		
	H ₂ O	1.56 L		
O*	HA total	15 mg	1.02	1023
	Hidrogel	0.86 ml		
	C. de Lidocaína	3 mg		
	NaH ₂ PO ₄	2.42 mg		
	Na ₂ HPO ₄	2.52 mg		
	H ₂ O	0.14 ml		

*composición de 1 jeringa de 1 ml

7.3. BALANCE DE ENERGÍA

El objetivo de este balance es calcular la energía puesta en juego en aquellas etapas del proceso que requieren de algún tipo de tratamiento térmico (Tabla 7.27). En base a esto se determina la masa o el caudal del medio calefactor o refrigerante según sea el caso.

Tabla 7.27 – Etapas que requieren tratamiento térmico

Etapa	Tratamiento térmico	
Preparación del inóculo	Esterilización del medio de cultivo	Sacarosa y sales
		Extracto de levadura y fosfatos
Fermentación	Esterilización del medio de cultivo	Sacarosa y sales
		Extracto de levadura y fosfatos
	Mantenimiento de la temperatura durante la fermentación	
Concentración y Secado	Secado al vacío	
Entrecruzamiento	Calentamiento Reposo	
Fraccionamiento	Esterilización de jeringas precargadas	

7.3.1. Esterilización del medio de cultivo del inóculo

La esterilización del medio de cultivo para el inóculo se realiza en un autoclave. El volumen total de medio requerido se divide en dos, de manera tal de esterilizar la sacarosa y las sales aparte del extracto de levadura y los fosfatos.

El tiempo necesario para la esterilización se toma de la bibliografía, considerando el volumen de medio a esterilizar.

Tabla 7.28 – Tiempos para esterilización del inóculo

Volumen de medio	Tiempo de esterilización	Referencia
1000 ml	30'	(MINISTERIO DE SALUD PROVINCIA DE BS.AS., 2012)
2500 ml	35'	
1530 ml	32'	Valor adoptado

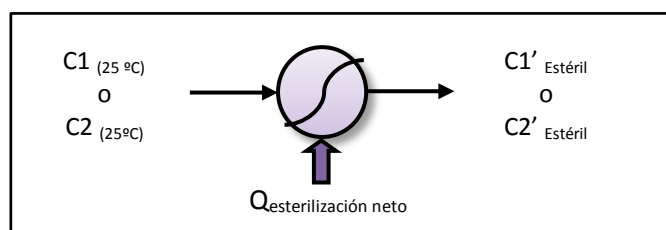


Tabla 7.29 – Ecuaciones para el balance de energía para esterilización del inóculo

Balances	Ecuaciones
Global	$h_{C1'} \cdot C1' + Q_{neto} = h_{C1} \cdot C1$ $h_{C2'} \cdot C2' + Q_{neto} = h_{C2} \cdot C2$
Cálculo de entalpía	$h_i = Cpm_i \cdot (T - T_{ref}) \quad [\text{kcal/kg}]$ $Cpm_i = \sum x_{ji} \cdot Cp_j \quad [\text{kcal/kg} \cdot ^\circ\text{C}]$
Consumo de vapor	$Q_{calentamiento} = m_{vapor} \cdot \Delta H_{vap}(T,P)$
Donde el subíndice i representa la corriente y el subíndice j los componentes.	

Tabla 7.30 - Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
D-01 - Esterilización del inóculo	$T_{\text{referencia}}$	0 °C	
	$T_{\text{alimentación}}$	25 °C	
	$\Delta H_{\text{vaporización (140°C)}}$	511.9 kcal/kg	Tablas de vapor
	Tiempo de esterilización	32 minutos	(MINISTERIO DE SALUD PROVINCIA DE BS.AS., 2012)
	$T_{\text{Esterilización}}$	121 °C	

Tabla 7.31 - Entalpía y temperatura de cada corriente

Componente	Cp	C1	C2
	cal/g.°C	Fracción p/p	Fracción p/p
Extracto de levadura	1.016	0.042	-
Sacarosa	0.299	-	0.042
KH_2PO_4	0.208	4.24E-03	-
CaCO_3	0.212	-	4.24E-05
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.361	-	4.24E-03
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.350	-	2.12E-04
Elem. Traza	0.998	-	4.37E-06
Agua	1.000	0.953	0.953
C_{pm_i}	kcal/kg.°C	0.997	0.967
Masa total (m_i)	kg	1557.6	1558
h_i^{25}	kcal/kg	24.933	24.186
h_i^{121}	kcal/kg	120.676	117.059
$\Delta H_{(\text{calentamiento})}$	kcal/kg	95.743	92.873
$Q_{(\text{calentamiento})}$	kcal	149.13	144.7
m_{vapor}	kg	0.291	0.282

7.3.2. Esterilización del medio de cultivo para la fermentación

La esterilización del medio de cultivo para la fermentación se realiza en forma discontinua mediante la inyección de vapor en la camisa de tanques enchaquetados. Debido a que los volúmenes a tratar son relativamente pequeños, los tiempos requeridos para este modo de esterilización no significan una pérdida importante en la calidad del medio de cultivo.

El volumen total de medio requerido se divide en dos corrientes iguales de manera tal de esterilizar la fuente de carbono y las sales de Mg y Ca aparte de la fuente de nitrógeno y los fosfatos, evitando de esta forma pérdidas por precipitación de sales y reacciones no deseadas.

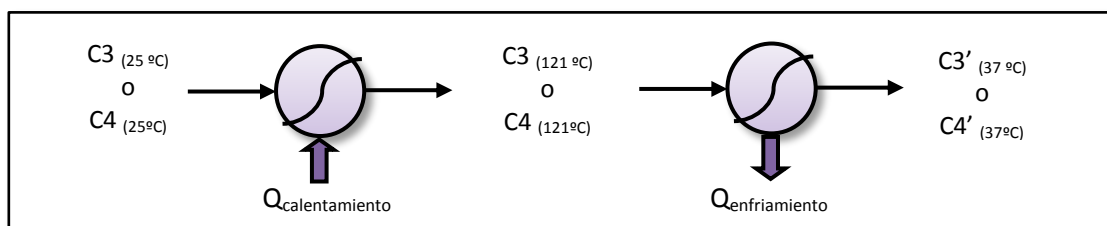


Tabla 7.32 – Ecuaciones para el balance de energía para esterilización del medio de cultivo

Balances	Ecuaciones
Global	$h_{C3'} \cdot C3' + Q_{neto} = h_{C3} \cdot C3$ $h_{C4'} \cdot C4' + Q_{neto} = h_{C4} \cdot C4$
Cálculo de entalpía	$h_i = Cpm_i \cdot (T - T_{ref})$ [kcal/kg] $Cpm_i = \sum x_{ji} \cdot Cp_j$ [kcal/kg.°C]
Consumo de vapor	$Q_{calentamiento} = m_{vapor} \cdot \Delta H_{vap}(T,P)$
Consumo de agua de enfriamiento	$Q_{enfriamiento} = m_{agua} \cdot Cp_{agua} \cdot (Ts - Te)$

Donde el subíndice i representa la corriente y el subíndice j los componentes.

Tabla 7.33 - Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
R-03 – Esterilización del medio C3 o R-04 – Esterilización del medio C4	T _{referencia}	0 °C	
	T _{alimentación}	25 °C	
	ΔH _{vaporización} (140°C)	511.9 kcal/kg	Tablas de vapor
	ΔT agua de enfriamiento	8 °C	Ver capítulo 8: Diseño y adopción de equipos
Tiempo de calentamiento	5 minutos		
Tiempo de mantenimiento	7 minutos		
	Tiempo de enfriamiento	20 minutos	
	T _{esterilización}	121 °C	(LIU, et al., 2008)
	T _{enfriamiento}	37 °C	Temperatura fermentación

Tabla 7.34 - Entalpía y temperatura de cada corriente

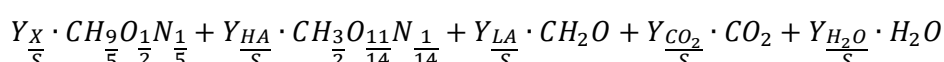
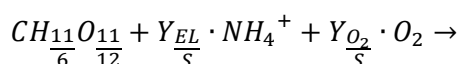
Componente	Cp	C3	C4
	cal/g.°C	Fracción p/p	Fracción p/p
Extracto de levadura	1.016	0.052	-
Sacarosa	0.299	-	0.134
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	0.373	0.013	-
K ₂ SO ₄	0.190	-	2.49E-03
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.361	-	3.83E-03
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.345	-	9.57e-06
Solución E. trazas	0.998	-	9.88e-06
Agua	1.000	0.935	0.860
Cpm _i	kcal/kg.°C	0.993	0.902
m _i	kg	16.330	17.762
h _i ²⁵	kcal/kg	24.818	22.540
h _i ¹²¹	kcal/kg	120.121	109.094
h _i ³⁷	kcal/kg	36.731	33.359
ΔH _{calentamiento}	kcal/kg	95.302	86.554
ΔH _{enfriamiento}	kcal/kg	-83.390	-75.735
Q _(calentamiento)	kcal	1556.308	1537.363
Q _(enfriamiento)	kcal	-1361.770	-1345.192
m _{vapor}	kg	3.040	3.003
m _{agua}	kg	194.539	192.170

7.3.3. Mantenimiento de la temperatura durante la fermentación

7.3.3.1. Calor de fermentación

El calor de reacción durante la etapa de fermentación se calcula de acuerdo al método descrito en el libro *Bioreaction Engineering Principles* (NIELSEN, et al., 2003).

El calor que se genera debido al crecimiento celular puede calcularse a partir de los calores de combustión de reactivos y productos, y la aplicación de la estequiometría que representa a la reacción.



En la ecuación, tanto los reactivos como los productos están expresados en C-mol, es decir, contienen un mol de átomos de carbono. De esta manera los coeficientes estequiométricos representan lo que reacciona o se produce con un mol de sustrato, en este caso sacarosa.

El calor correspondiente al HA se estimó a partir de datos de Perry, *Manual del Ingeniero Químico* (PERRY & GREEN, 2008), a partir de la estructura molecular del compuesto orgánico.

Tabla 7.35 – Cálculo calor de fermentación

Compuesto	Fórmula	Masa C-mol (g)	Calor de combustión (-ΔHc)		Rendimiento (Y) (g compuesto/ g sustrato)
			kJ/C-mol	kJ/g	
Sustratos					
Sacarosa	$C\frac{H_{11}O_{11}}{6}$	28.5	470	16.49	1
Ion amonio*	NH_4^+	18	383	21.28	0.06
Productos					
Biomasa	$C\frac{H_9O_1N_1}{5}$	25.8	560	21.71	0.272
A. Hialurónico	$C\frac{H_3O_{11}N_1}{2}$	27.12	154	5.68	0.1
A. Láctico	CH_2O	30	456	15.20	0.609
$Q_{fermentación} = \sum Y_{sj} \cdot (-\Delta Hc)_j - \sum Y_{pi} \cdot (-\Delta Hc)_i$					
$\sum(-\Delta Hc)_{sustrato}$	-17.77 kJ/g sacarosa				
$\sum(-\Delta Hc)_{producto}$	-15.73 kJ/g sacarosa				
$\Delta H_{fermentación}$	-2.04 kJ/g sacarosa 0.49 kcal/g sacarosa				
*Los datos referidos al NH_4^+ son por mol					

7.3.3.2. Balance de energía fermentador

El balance de energía en el fermentador tiene como objetivo determinar el caudal de agua de enfriamiento requerido para mantener la temperatura interna del reactor. Debido a que la fermentación se realiza en modo batch durante 16 horas solo se tienen en cuenta las entalpías de las corrientes fluyentes, estas son el aire estéril y el agua refrigerante. Dadas las condiciones de operación definidas para mantener la transferencia de oxígeno al medio de cultivo viscoso, se calcula el balance de energía para los tres periodos de trabajo considerados, ya que al variar el caudal volumétrico del aire también cambia el calor removido por esta corriente.

En el balance global se considera además la energía aportada por la agitación, mientras que no se tienen en cuenta las pérdidas a través de las paredes del tanque, ya que se utiliza un recipiente enchaquetado por el cual circula el agua de enfriamiento, y este actúa como aislante térmico.

Tabla 7.36 – Ecuaciones para el balance de energía del fermentador

Balances	Ecuaciones
Global	$Q_{\text{agitación}} + Q_{\text{fermentación}} = \Delta H_{\text{aire}} \pm Q_{\text{enfriamiento}}$
Cálculo de entalpía aire húmedo	$h_{\text{ahi}} = 0,24.T_i + Y'_{i_1} \cdot (597 + 0,46.T_i)$ [kcal/kg aire seco] $h_i = Q_{\text{mi}} \cdot (1 - Y'_{i_1}) \cdot h_{\text{ahi}}$ [kcal/h]
Calor de fermentación	$Q_{\text{fermentación}} = m_{\text{sac}} \cdot \Delta H_{\text{fermentación}}/t$ [kcal/h]
Donde el subíndice i representa la corriente y el subíndice j los componentes.	

Tabla 7.37 – Resultados del balance de energía

Calor de fermentación	Sacarosa consumida	2342 g					
	$\Delta H_{\text{fermentación}}$	0.49 kcal/g sacarosa					
	$Q_{\text{fermentación}}$	1177.58 kcal					
		71.72 kcal/h					
Período		0 - 6 h		7 - 11 h		12 - 16 h	
Potencia de agitación	$Q_{\text{agitación}}$	0.16 kcal/h		0.63 kcal/h		3.17 kcal/h	
Calor extraído por el aire	Corriente	E	F	E	F	E	F
	T [°C]	25	37	25	37	25	37
	Qv [L/h]	326.40	352.50	204.00	220.30	285.60	308.40
	ρ [g/L]	1.29	1.24	1.29	1.24	1.29	1.24
	(Qm) [g/h]	421.06	437.10	263.16	273.17	368.42	382.42
	Y' [g H ₂ O/ g aire seco]	0.001	0.041	0.001	0.041	0.001	0.041
	h_{ah} [cal/g aire seco]	6.61	34.12	6.61	34.12	6.61	34.12
	h [kcal/h]	2.78	14.30	1.74	8.94	2.43	12.51
	ΔH_{aire}	11.52	kcal/h	7.20	kcal/h	10.08	kcal/h

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



Balance global	$Q_{\text{enfriamiento}} = Q_{\text{agitación}} + Q_{\text{fermentación}} - \Delta H_{\text{aire}}$	60.36 kcal/h	65.16 kcal/h	64.82 kcal/h
Agua de enfriamiento	C_{p_w}	1 kcal/kg.°C	1 kcal/kg.°C	1 kcal/kg.°C
	ΔT	11.5 °C	16 °C	18.85 °C
	$q_w = Q_{\text{enf}} / (C_{p_w} \cdot \Delta T)$	5.25 L/h	4.07 L/h	3.44 L/h

7.3.4. Secado

El secado se realiza en un horno con bandejas al vacío. La temperatura de operación es de 60°C, de manera de reducir al mínimo las pérdidas de peso molecular debidas a la temperatura. La corriente alimentada al secador tiene un 70% de humedad, el cual se debe reducir al 5%.

Tabla 7.38 – Ecuaciones para el secado

Balances	Ecuaciones
Calentamiento Evaporación	$h_x \cdot X + Q_{\text{calentamiento}} = h_{x'} \cdot X'$ $Q_{\text{vap}} = (m_{H_2O_i} - m_{H_2O_f}) \cdot \Delta H_{\text{vap}}$
Cálculo de entalpía	$h_i = C_{p_i} \cdot (T - T_{\text{ref}})$ [kcal/kg] $C_{p_i} = \sum x_{j_i} \cdot C_{p_j}$ [kcal/kg.°C]
Donde el subíndice i representa la corriente y el subíndice j los componentes. Las corrientes X y X' no varían en su composición másica.	

Tabla 7.39 – Parámetros para el secado

Etapas	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
H-02 – Secado al vacío	T _{referencia}	0 °C	(TOEMMERAAS & BACH, 2014)
	T _{alimentación}	25 °C	
	T _{secado}	60 °C	
	$\Delta H_{\text{vaporización}} (60 \text{ °C})$	563.26 kcal/kg	Tablas de vapor
	Humedad inicial	80 %	
	Humedad final	5 %	

Tabla 7.40 – Resultados del balance de energía

Componente	Cp	X=X'
	cal/g.°C	Fracción p/p
HA	0.01	0.19
Agua	1.00	0.81
C _{pm_i}	cal/g.°C	0.808
m _i	g	822
h _x ²⁵	cal/g	20.212
h _x ⁶⁰	cal/g	48.510
Q _(calentamiento)	kcal	23.260
m _{aguaevap}	g	665
Q _(evaporación)	kcal	368.935

7.3.5. Calentamiento y Reposo

Como se menciona en el capítulo 6 el calentamiento se realiza para mejorar la inyectabilidad del HA durante la su aplicación, mientras que la etapa de reposo permite que el la corriente retorne a la temperatura ambiente ya que esta es la temperatura que se requiere en la etapas siguientes. Debido a esto el $Q_{\text{calentamiento}}$ posee el mismo valor absoluto del $Q_{\text{eliminadao}}$.

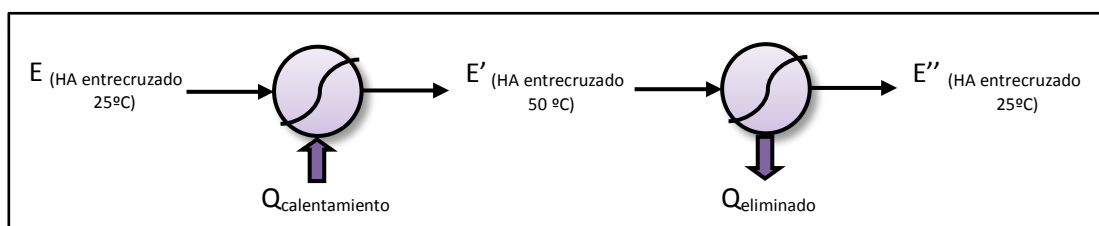


Tabla 7.41 – Ecuaciones para el balance de energía del calentamiento y reposo

Balances	Ecuaciones
Global	$h_E \cdot E + Q_{\text{calentamiento}} = h_{E'} \cdot E'$ $h_{E'} \cdot E' = h_{E''} \cdot E'' + Q_{\text{eliminadao}}$
Cálculo de entalpía	$h_i = Cpm_i \cdot (T - T_{\text{ref}}) \quad [\text{kcal/kg}]$ $Cpm_i = \sum x_{ji} \cdot Cp_j \quad [\text{kcal/kg} \cdot ^\circ\text{C}]$
Cálculo del flujo de agua (Etapa de calentamiento)	$Q_{\text{calentamiento}}/t = m_{\text{H}_2\text{O}}/t \cdot \Delta H_{\text{H}_2\text{O}} = F_w \cdot \Delta H_{\text{H}_2\text{O}}$
Donde el subíndice i representa la corriente y el subíndice j los componentes.	

Tabla 7.42 - Parámetros para el cálculo

Etapa	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
C-03 - Calentamiento y reposo	T_{ref}	0 °C	(LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013)
	T_{inicial}	25 °C	
	$T_{\text{tratamiento}}$	50 °C	
	T_{salida}	25 °C	
	$t_{\text{calentamiento}}$	14 min	Ver capítulo 8: Diseño y adopción de equipos
	$t_{\text{mantenimiento}}$	2 h	

Tabla 7.43 - Entalpía y temperatura de cada corriente

Componente	C_{p_j}	$E=E'=E''$
	cal/g°C	Fracción p/p
HA total	0.01	0.038
NaOH _(perlas)	0.48	0.0015
H ₂ O	1.00	0.960
m_i	g	3562.48
C_{p_i}	cal/g°C	0.961
h_i^{25}	cal/g	24.025
h_i^{50}	cal/g	48.05
$\Delta H_{(calentamiento)}$	cal/g	24.03
$\Delta H_{(enfriamiento)}$	cal/g	-24.03
$Q_{(calentamiento)}$	Kcal	85.61
$Q_{(enfriamiento)}$	Kcal	-85.61
FW	L/min	1.68

7.3.6. Esterilización de las jeringas precargadas

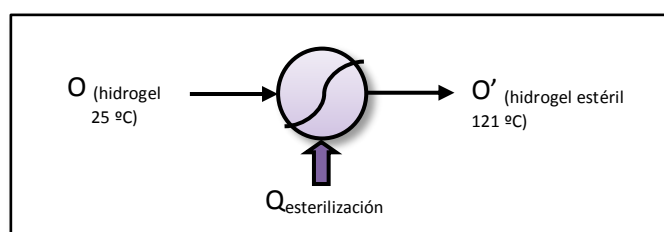


Tabla 7.44 – Ecuaciones para el balance de energía para la esterilización de las jeringas precargadas

Balances	Ecuaciones
Global	$h_{O \cdot O} + Q_{esterilización} = h_{O' \cdot O'}$ $n \cdot h_{O \cdot O} + Q_{esterilización} = n \cdot h_{O' \cdot O'}$
Cálculo de entalpía	$h_i = C_{p_i} \cdot (T - T_{ref})$ [kcal/kg] $C_{p_i} = \sum x_{j_i} \cdot C_{p_j}$ [kcal/kg.°C]
Cálculo de vapor	$Q_{esterilización} = m_{vapor} \cdot \Delta H_{vap.sat}(T,P)$
Donde i representa la corriente y j los componentes	

Tabla 7.45 - Parámetros para el cálculo

Etapas	Parámetro	Valor adoptado	Referencia
D-02 - Esterilización de las jeringas	T_{ref}	0 °C	(LONGIN & SCHWACH-ABDELLAOUI, 2013)
	$T_{tratamiento}$	121 °C	
	Tiempo de operación	20 min	(OLLE LJUNGQUIST, 2005)
	$\Delta H_{vap.sat}(121°C, 2atm)$	526.42 Kcal/Kg	Tablas de vapor
	n^*	11167 unidades	Ver capítulo 8: Diseño y adopción de equipos

*n es el número de jeringas que se esterilizan por lote

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



Tabla 7.46 - Entalpía y temperatura de cada corriente

Componente	C_{p_i}	$O=O'$
	cal/g°C	Fracción p/p
Hidrogel	0.5330	0.8563
HA lineal	0.0100	0.0029
C. de Lidocaína	0.2333	0.0029
NaH ₂ PO ₄	0.2080	0.0003*
Na ₂ HPO ₄	0.7218	0.0005*
H ₂ O	1.0000	0.1370*
m_i	g	1.019
C_{p_i}	cal/g°C	0.594
h_i^{25}	cal/g	14.85
h_i^{121}	cal/g	71.87
$\Delta H_{(esterilización)}$	cal/g	57.02
$Q_{(esterilización)}$	cal	58.01
$Q_T(esterilización)$	Kcal	648.88
m_{vapor}	kg	1.225

*Fueron consideradas las fracciones no incluidas en el hidrogel, ya que el Cp de este último incluye el HA, el agua y las sales que este contiene en su red.

7.4. RESUMEN DE BALANCE DE MATERIA Y ENERGÍA

Símbolo y descripción de la corriente		Temp. (°C)	Densidad (g/L)	Masa
Obtención y purificación del HA lineal				
Preparación del inóculo				
A1	Extracto de levadura y fosfatos sólidos para el inóculo	25	-	74.8 g
A2	Sacarosa y sales de Mg y Ca sólidas para el inóculo	25	-	75.2 g
B1	Agua de dilución para A1	25	1000	1530.0 g
B2	Agua de dilución para A2	25	1000	1530.0 g
C1	Solución mineral de EL y fosfatos para el inóculo	25	1048.9	1604.8 g
C1'	Solución mineral C1 estéril	37	1048.9	1604.8 g
C2	Solución mineral de sacarosa y sales para el inóculo	25	1049	1605.2 g
C2'	Solución mineral C2 estéril	37	1049	1605.2 g
I ₀	Cepa de MO	25	1002	340.7 g
I ₁	Inóculo activo para fermentación	37	1036.2	3523.4 g
Fermentación				
I ₁	Inóculo activo para fermentación	37	1036.2	3.52 kg
A3	Extracto de levadura y fosfatos sólidos para fermentación	25	-	1.06 kg
A4	Sacarosa y sales de Mg y Ca sólidas para fermentación	25	-	2.49 kg
B3	Agua de dilución para A1	25	998	15.27 kg
B4	Agua de dilución para A2	25	998	15.27 kg
C3	Solución mineral de EL y fosfatos estéril para fermentación	37	1067.33	16.33 kg
C4	Solución mineral de sacarosa y sales estéril para fermentación	37	1160.91	17.76 kg
E	Aire estéril	25	1.29	5.58 kg
F	Gases de salida	37	1.2	5.81 kg
G	Caldo de cultivo al final de la fermentación	37	1084.33	36.75 kg
Clarificación y precipitación				
G	Caldo de cultivo al final de la fermentación	25	1084.33	36.75 kg
G'	Caldo de cultivo diluido	25	1041	70.57 kg
W1	Agua de dilución para G	25	998	33.82 kg
H	Caldo de cultivo clarificado	25	1026	62.61 kg
J	Biomasa residual	25	1166	7.91 kg
P1	Alcohol isopropílico (IPA)	25	790	48.19 kg
K	Suspensión de HA en IPA	25	908	110.8 kg
P1'	IPA con impurezas	25	905	109.9 kg
M	HA crudo	25	-	0.898 kg
M'	Solución de HA crudo homogenizada	25	1036	35.11 kg
N	Solución de acetato de sodio al 3 %	25	1028	34.21 kg
Purificación				
M'	Solución de HA crudo homogenizada	25	1036	35.11 kg

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Balance de Materia y Energía



O	Solución de HA + carbón activado	25	1056	35.79	kg
C	Carbón activado sólido	25	250	0.678	kg
Q	Solución de HA	25	1033	34.66	kg
C'	Carbón con impurezas	25	369	1.126	kg
W4	Agua de dilución para Q	25	998	33.48	kg
Q'	Alimentación de filtro diluida	25	1016	68.14	kg
R	Filtrado conteniendo HA	25	1015	67.45	kg
S	Torta retenida	25	1032	0.693	kg
W2	Agua de diafiltración	25	998	229.38	kg
T	Retenido de diafiltración	25	1000	66.45	kg
U	Permeado de diafiltración	25	1001	230.38	kg
Concentración y secado					
T	Retenido de diafiltración	25	1000	66.45	kg
P2	IPA	25	790	52.48	kg
V	Suspensión de HA en IPA	25	895	118.93	kg
P2'	IPA con impurezas	25	893	118.11	kg
X	HA grado farmacéutico	25	-	0.822	kg
W3	Vapor de agua extraído	60	-	0.655	kg
Y	HA granulado 5% humedad	25	-	0.167	kg
Z	HA final en polvo	25	-	0.167	kg
Producción del HA entrecruzado para inyección					
Entrecruzamiento					
A	HA lineal en polvo	25	-	137	g
B	Solución de NaOH	25	1001.6	3425.48	g
C	Solución básica de HA lineal	25	1041.6	3562.48	g
D	Divinil sulfona (líquido)	25	1177.0	13.70	g
E	Solución básica con HA reticulado	25	1041.6	3562.48	g
F	Buffer fosfato pH: 6.7	25	1009.2	10455.6	g
G	Solución neutra + hidrogel de HA entrecruzado	25	1017.1	14045.6	g
H	Agua	25	1000.0	9790	g
I	Solución neutra con restos de HA	25	1003.6	13861.5	g
J	Hidrogel de HA entrecruzado	25	1018.8	9750.4	g
Fraccionamiento					
J	Hidrogel de HA entrecruzado	25	1018.8	9750.4	g
K	HA lineal en polvo	25	-	33.5	g
L	Clorhidrato de lidocaína	25	-	33.5	g
M	Buffer fosfato ph:7.1	25	1005.8	1569.1	g
N	Gel de composición final	25	1023	11386.5	g
O	Jeringa precargada con el gel final	25	1023	1.02*	g
O'	Jeringa precargada con el gel final	60	1023	1.02*	g
O''	Jeringa precargada con el gel final	25	1023	1.02*	g

*masa de una unidad. El total de jeringas son 11167 unidades.

Capítulo 8

Diseño y Adopción de Equipos

8. DISEÑO Y ADOPCIÓN DE EQUIPOS

8.1. INTRODUCCIÓN

En el presente capítulo se llevan a cabo los cálculos correspondientes para el diseño y la adopción de cada uno de los equipos requeridos en el proceso de producción, en base a los resultados obtenidos de los balances realizados en el capítulo anterior. En la tabla 8.1 se detallan cuales son diseñados y cuales adoptados.

Tabla 8.1 – Listado de equipos

Equipos Diseñados	Equipos Adoptados
Tanques	Centrifugas
Fermentador	Filtros
Reactor de entrecruzamiento	Horno de bandejas
	Molino
	Baño termostático
	Equipo para cargar las jeringas
	Autoclaves
	Equipos para envasar
	Motores para agitadores
	Estufas
	Homogeneizador
	Bombas

8.2. DIAGRAMA DEL PROCESO

En la imagen 8.1 se puede observar un diagrama completo del proceso, en el cual se muestran todos los equipos que conforman la línea principal del proceso. En la tabla 8.2 se detallan los mismos junto con sus respectivos códigos y sus usos, mientras que en la tabla 8.3 se encuentran las referencias de los colores utilizados en las flechas del diagrama.

Cabe aclarar que algunos de los equipos, tales como los tanques de almacenamiento de insumos y desechos, el compresor de aire que alimenta el fermentador, los filtros que purifican el aire a la entrada y salida del mismo, y el filtro en línea utilizado para el IPA no se colocaron, mientras que la centrifuga C-01 se repite dos veces en el diagrama con el fin de facilitar la lectura y la comprensión del mismo.

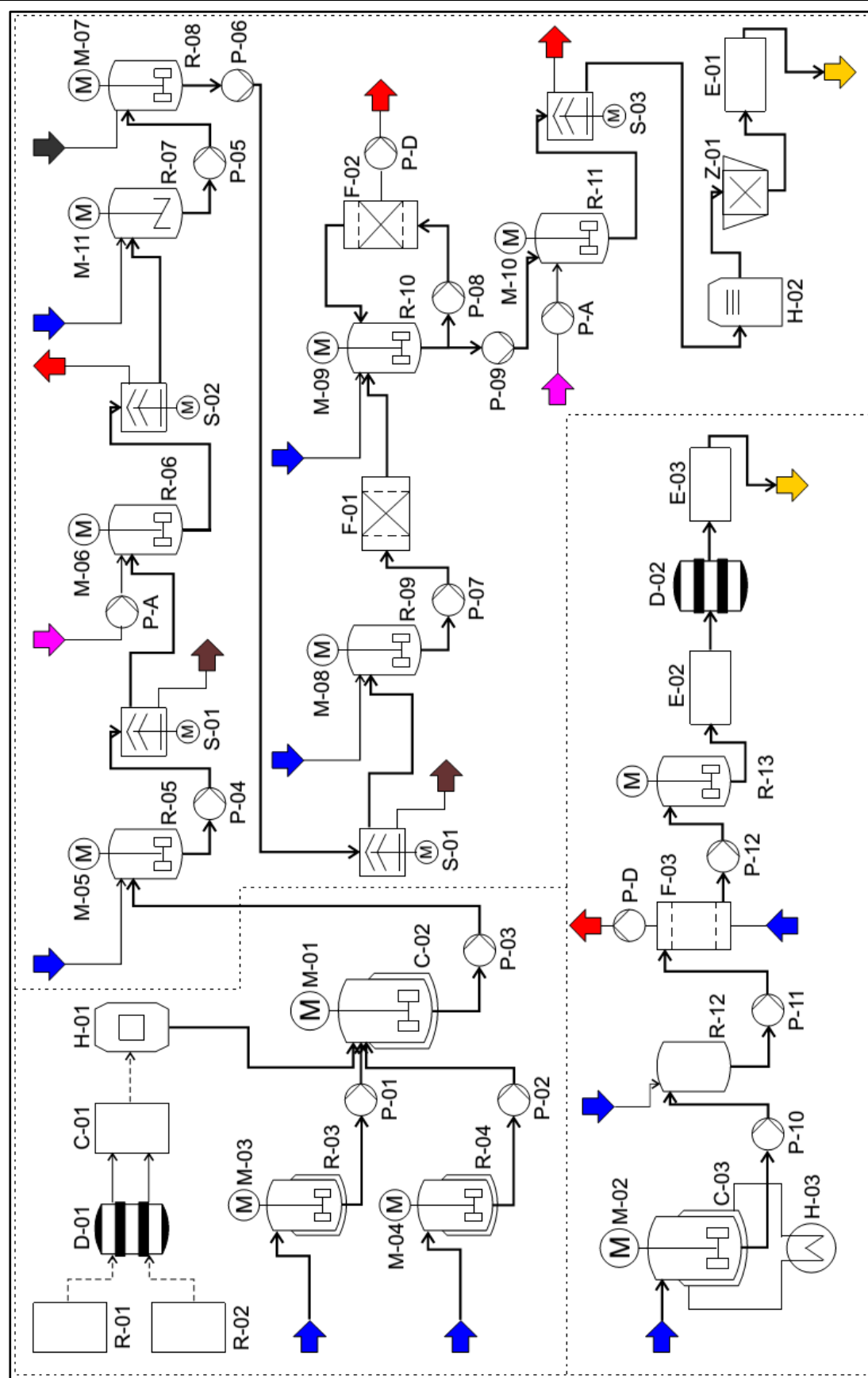


Figura 8.1 – Diagrama codificado del proceso de producción

Tabla 8.2 - Nomenclatura de los equipos







Código	Equipo	Detalle
B-01	Tanque de insumos 1	Almacenamiento de agua desionizada y libre de pirógenos
B-02	Tanque de insumos 2	Almacenamiento de alcohol isopropílico (IPA)
B-03	Tanque de insumos 3	Almacenamiento de agua para usos generales
B-04	Tanque de desechos 1	Almacenamiento de residuos líquidos
B-05	Tanque de desechos 2	Almacenamiento de desechos sólidos (lodos)
C-01	Reactor 1	Preparación del inóculo
C-02	Reactor 2	Fermentación
C-03	Reactor 3	Entrecruzamiento
D-01	Autoclave 1	Esterilización de medios de cultivos
D-02	Autoclave 2	Esterilización de jeringas
E-01	Envasadora 1	Envasadora de HA en polvo
E-02	Equipo jeringas	Equipo para cargar las jeringas
E-03	Envasadora 2	Envasadora de jeringas
F-01	Filtro 1	Remoción de restos celulares y proteínas
F-02	Filtro 2	Remoción de restos de impurezas y acetato de sodio
F-03	Filtro 3	Filtro Nucha, recuperación del gel de HA
F-04	Filtro 4	Filtración del aire que ingresa y sale de C-02
F-05	Filtro 5	Filtración del IPA que alimenta a R-06 y R-11
H-01	Estufa 1	Fermentación del inóculo
H-02	Estufa 2	Secado del HA lineal
H-03	Baño termostático	Control de la temperatura en la etapa de entrecruzamiento
L-01	Compresor	Alimentación de aire a C-02
M-01	Motor 1	Agitación en C-02
M-02	Motor 2	Agitación en C-03
M-03	Motor 3	Agitación en R-03
M-04	Motor 4	Agitación en R-04
M-05	Motor 5	Agitación en R-05
M-06	Motor 6	Agitación en R-06
M-07	Motor 7	Agitación en R-08
M-08	Motor 8	Agitación en R-09
M-09	Motor 9	Agitación en R-10
M-10	Motor 10	Agitación en R-11
M-11	Motor 11	Homogeneización en R-07
P-01	Bomba 1	Bombea la corriente C3 desde R-03 a C-02
P-02	Bomba 2	Bombea la corriente C4 desde R-04 a C-02
P-03	Bomba 3	Bombea la corriente G desde C-02 a R-05
P-04	Bomba 4	Bombea la corriente G' desde R-05 a S-01
P-05	Bomba 5	Bombea la corriente M' desde R-07 a R-08
P-06	Bomba 6	Bombea la corriente O desde R-08 a S-01
P-07	Bomba 7	Bombea la corriente Q' desde R-09 a F-01
P-08	Bomba 8	Bombea la corriente Df desde R-10 a F-02
P-09	Bomba 9	Bombea la corriente T desde R-10 a R-11
P-10	Bomba 10	Bombea la corriente E* desde C-03 a R-12
P-11	Bomba 11	Bombea la corriente G* desde R-12 a F-03
P-12	Bomba 12	Bombea la corriente J* desde F-03 a R-13

Tabla 8.2 – (Continuación)

Código	Equipo	Detalle
P-A	Bomba 13	Bombea IPA desde B-02 a los equipos R-06 y R-11
P-D	Bomba 14	Bombea desechos líquidos desde F-02 y F-03 a B-04
R-01	Tanque 1	Preparación del medio para el inóculo
R-02	Tanque 2	Preparación del medio para el inóculo
R-03	Tanque 3	Preparación y esterilización del medio para el fermentador
R-04	Tanque 4	Preparación y esterilización del medio para el fermentador
R-05	Tanque 5	Dilución del caldo
R-06	Tanque 6	Precipitación por tratamiento con IPA
R-07	Tanque 7	Disolución de los lodos provenientes de S-02
R-08	Tanque 8	Tratamiento con carbón activado
R-09	Tanque 9	Dilución del líquido proveniente de S-01
R-10	Tanque 10	Dilución del líquido proveniente de F-01
R-11	Tanque 11	Precipitación por tratamiento con IPA
R-12	Tanque 12	Hidratación del gel de HA
R-13	Tanque 13	Homogeneización de la mezcla de composición final
S-01	Centrifuga 1	Eliminación de sólidos provenientes de R-05 y R-08
S-02	Centrifuga 2	Recuperación del HA precipitado
S-03	Centrifuga 3	Recuperación del HA precipitado
Z-01	Molino 1	Molienda del HA lineal seco

*corrientes de la etapa II: Producción del HA entrecruzado para inyección

Tabla 8.3 – Referencia de los colores en las flechas del diagrama

Color	Referencia
	Alimentación de agua desionizada y libre de pirógenos proveniente de B-01
	Alimentación de IPA proveniente de B-02
	Salida de desechos líquidos enviados a B-04
	Salida de desechos sólidos (lodos) almacenados en B-05
	Alimentación de carbón activado
	Salida de productos terminados

NOTA: La alimentación de sólidos o corrientes de muy bajos volúmenes no se representaron debido a que estas se realizan en forma manual por el operario encargado.

En la tabla 8.4 se encuentran las ecuaciones para el cálculo del fondo y la tapa según las normas DIN 28013, de acuerdo a la nomenclatura establecida en la figura 8.2.

Tabla 8.4 - Ecuaciones de diseño para la tapa y el fondo de los tanques

Fondo		Tapa	
$R = 0.8 \times D_e$	[8.1]	$R = D_e$	[8.8]
$r = 0.154 \times D_e$	[8.2]	$H(\sin e) = 0.134 \times D_e$	[8.9]
$h_1 = 3 \times e$	[8.3]	$V = 0.054 \times D_e^3$	[8.10]
$h_2 = 0.255 \times D_e - 0.635 \times e$	[8.4]	$e = \frac{0.73 \times P \times L}{S \times E - 0.1 \times P} + C1$	[8.11]
$H = h_2 + h_1 + e$	[8.5]	$L = 0.8 \times R$	[8.12]
$V(h_2) = 0.1298 \times (D_e - e)^3$	[8.6]		
$e = \frac{P \times (2 \times R)}{2 \times S \times E - 0.2 \times P} + C1$	[8.7]		

El espesor de las paredes del cilindro se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$e = \frac{P \times (D_i/2)}{S \times E + 0.6 \times P} + C1 \quad [8.13]$$

Donde P es la presión de diseño, D_i es el diámetro interior del tanque, S es el esfuerzo máximo permisible del material, E es el factor de eficiencia de soldadura con un valor de 0.85 y C1 es la tolerancia a la corrosión con un valor de 0.16 cm. El espesor del fondo y la tapa se calculan por medio de las ecuaciones 8.7 y 8.11 respectivamente. Todos los espesores se calculan según las normas del código ASME.

La presión de diseño del tanque se calcula a partir de la presión de operación y de la presión hidráulica que ejerce el líquido, y se aplica un factor de sobredimensionamiento del 15%. Cabe destacar que para el cálculo del espesor del cabezal solo se emplea la presión de operación.

8.3.1.2. Agitadores

Los tanques que requieren agitación utilizan el agitador tipo turbina de seis aspas planas debido a que las viscosidades con las que se trabaja están dentro del rango establecido para el mismo. En la tabla 8.5 se especifican las ecuaciones para el cálculo de las dimensiones del agitador como así también el número de potencia (N_p) y la potencia consumida (P) por el sistema.

Tabla 8.5 - Dimensiones del agitador y cálculo de la potencia

Tipo de Agitador	Turbina		
Dimensiones del agitador y el tanque	$D_a/D_t = 0.5$	$H/D_t = 1$	[8.14]
	$W/D_a = 1/5$	$L/D_a = 1/4$	
	$D_d/D_a = 2/3$	$C/D_t = 1/3$	
	$J/D_t = 1/12$		
N_p	Gráficos del Geankoplis pág. 165 y 186		
P (HP)	$P = (N_p \times \rho \times N^3 \times D_a^5)/745.7^*$		[8.15]

*Siendo 745.7 es un factor de conversión de W a hp.

En los casos donde los fluidos que se manejan sean líquidos no newtonianos el número de Reynolds ($N'Re$) se calcula con las siguientes ecuaciones:

$$N'Re = \frac{D_a^2 \times N \times \rho}{\mu_a} \quad [8.16]$$

Donde D_a es el diámetro del agitador en m, N la velocidad de rotación del agitador en rps, ρ es la densidad del fluido en kg/m^3 y μ_a es la viscosidad aparente promedio del fluido. Esta última se relaciona con la velocidad de corte promedio, la cual fue determinada experimentalmente por Metzner como $(dv/dy)_{prom} = 11N$.

$$\mu_a = K \times (dv/dy)_{prom}^{n-1} = K \times (11 \times N)^{n-1} \quad [8.17]$$

Donde los parámetros n y K dependen del fluido agitado. (GEANKOPLIS, 1998)

Una característica importante que presentan los fluidos no newtonianos durante su agitación, es la formación de cavernas (regiones bien agitadas) próximas al agitador, cuyo diámetro depende de las propiedades reológicas del fluido y de las dimensiones del agitador. Tal como se aprecia en la figura 8.4 existen 3 modelos que permiten predecir su tamaño: el cilíndrico, el esférico y el toroidal. A continuación se detalla la ecuación del tercer modelo ya que este es el que mejor aproxima el comportamiento real.

$$\left(\frac{D_c}{D_a}\right)^3 = \left(\frac{1.36 \times P_o}{\pi^2}\right) \times \left(\frac{\rho \times N^2 \times D_a^2}{\tau_y}\right) \quad [8.18]$$

Donde D_c es el diámetro de la caverna (m), D_a es el diámetro del agitador (m), P_o es el número de potencia, ρ es la densidad del fluido (kg/m^3), N es la velocidad de rotación del impulsor (rps) y τ_y es el esfuerzo de corte (Pa). (WOZIWODZKI, 2012)

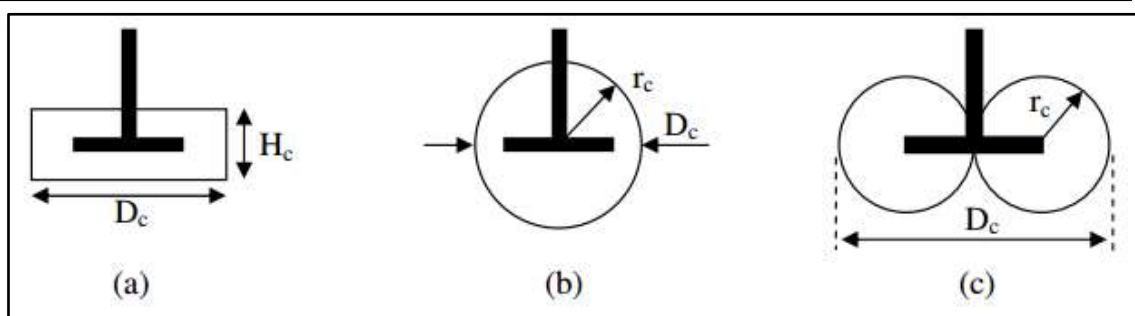


Figura 8.4 - Representación de la caverna formada durante la agitación de un fluido no newtoniano para cada modelo: a) Caverna cilíndrica. b) Caverna esférica. c) Caverna toroidal.

Cabe destacar que el fermentador se calcula aplicando el modelo de caverna cilíndrico, ya que los datos empleados para realizar el *scale-up* fueron realizados empleando este modelo. (LIU, et al., 2010)

8.3.1.3. Camisas calefactoras

Para el cálculo de las camisas o chaquetas de calefacción se considera un modelo de mezcla completa sin división en zonas ya que la temperatura en la entrada y la salida no cambia significativamente. El diseño de la camisa se realiza a partir de la siguiente ecuación:

$$Q = A \times U_d \times \Delta T_{ml} \quad [8.19]$$

Donde Q es el calor transferido al líquido interior cuyo valor se obtuvo a partir de los balances de energía realizados en el capítulo anterior, ΔT_{ml} es la diferencia media logarítmica entre la temperatura del tanque y la camisa, A es el área de transferencia (considerando la base del tanque plana) y U_d es el coeficiente global de transferencia. Los dos últimos parámetros se calculan de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$A = A_{pared} + A_{fondo} = 2 \times \pi \times \frac{D_e}{2} \times H_l + \pi \times \frac{D_e^2}{4} \quad [8.20]$$

$$\frac{1}{U_d} = \frac{1}{h_{io}} + ff + \frac{e}{\lambda_l} + \frac{1}{h_o} \quad [8.21]$$

Siendo h el coeficiente de transmisión de calor por convección dentro y fuera de la camisa referidos al diámetro externo del tanque interno, ff es el factor de ensuciamiento debido a posibles incrustaciones, e/λ_l es el coeficiente de transmisión de calor a través de la pared y λ es la conductividad térmica.

El valor de h_{i0} para el fluido interior se obtiene de manera convencional a partir del número de Nu , mientras que el valor de h_o para el fluido que circula por la camisa presenta una variación en el cálculo del número de Reynolds, el cual se obtiene tal como se muestra a continuación:

$$Re' = \frac{D_{eq} \times v_{fl} \times \rho_{fl}}{\mu_{fl}} \quad [8.22]$$

$$D_{eq} = \frac{D_c^2 - D_e^2}{D_e} \quad [8.23]$$

$$v_{fl} = \frac{F_w}{\frac{\pi}{4} \times (D_c^2 - D_e^2)} \quad [8.24]$$

Siendo v_{fl} la velocidad del fluido dentro de la camisa y F_w el flujo del mismo. (GEANKOPLIS, 1998)

8.3.1.4. Tiempo de esterilización para el medio de cultivo

La cinética de inactivación de microorganismos es de primer orden respecto al número de MO. La expresión integrada, a temperatura constante, se muestra en la ecuación [8.25].

$$N = N_o \times e^{-k_d \cdot t} \quad [8.25]$$

Donde N es el número final de MO con un valor máximo de 10^{-3} debido a la imposibilidad de la esterilidad absoluta, N_o es el número de MO inicial en el sistema, y k_d es la constante de decaimiento, la cual depende de la temperatura y se calcula mediante la ecuación de Arrhenius. Para el cálculo se emplean los parámetros cinéticos correspondientes a *Bacillus Stearothermophilus*, debido a que es un MO termoresistente.

El proceso de esterilización comprende tres etapas:

$$\nabla_{Total} = \nabla_{Calentamiento} + \nabla_{Mantención} + \nabla_{Enfriamiento} \quad [8.26]$$

Donde el factor nabla (∇) total se define como:

$$\nabla_{Total} = Ln \left(\frac{N_o}{N} \right) \quad [8.27]$$

Durante el calentamiento y el enfriamiento ocurre parte de la destrucción térmica de MO presentes en el medio, debido a que por encima de 100°C la temperatura es suficiente para producir la destrucción de esporas. Los factores nabla para calentamiento y enfriamiento considerados en la ecuación [8.26] corresponden al rango de temperatura entre 100°C y 121°C (T de esterilización).

La esterilización se realiza en modo batch mediante vapor saturado y agua refrigerante.

El factor nabra para calentamiento o enfriamiento está dado por la ecuación [8.28], mientras que para el periodo de mantención se calcula según la ecuación [8.29]. En el primer caso la temperatura es función del tiempo, y el perfil de la misma depende del método de calentamiento o enfriamiento utilizado. La ecuación [8.30] muestra el perfil de temperatura para el calentamiento con una fuente isotérmica, mientras que la ecuación [8.31] muestra el perfil de temperatura para una fuente no isotérmica, ambos modelos exponenciales. (ERTOLA, et al., 1994)

$$\nabla_{Cal/Enf} = \int_{T_0}^T k_o \times e^{-\frac{\Delta E_a}{R.T}} dt \quad [8.28]$$

$$\nabla_{Mantención} = k_d \text{ mantención} \times \Delta t \quad [8.29]$$

$$T = T_H + (T_o - T_H) \times e^{-\frac{U.A.t}{c.M}} \quad [8.30]$$

$$\ln\left(\frac{T_1 - t_1}{T_2 - t_1}\right) = \frac{w.c}{M.C} \left(\frac{K_2 - 1}{K_2}\right) t \quad K_2 = e^{\frac{U.A}{w.c}} \quad [8.31]$$

8.3.1.5. Fermentador

El diseño del fermentador, representado en la figura 8.5, se realiza considerando el modelo cinético y el modo de operación planteado por Liu (LIU, et al., 2010), ya que brinda un conjunto de soluciones satisfactorio a los problemas que surgen durante el cultivo de *St. zooepidemicus*. Se considera un reactor de tipo mezcla perfecta en modo de operación batch, cultivo aeróbico y con control de la velocidad de agitación.

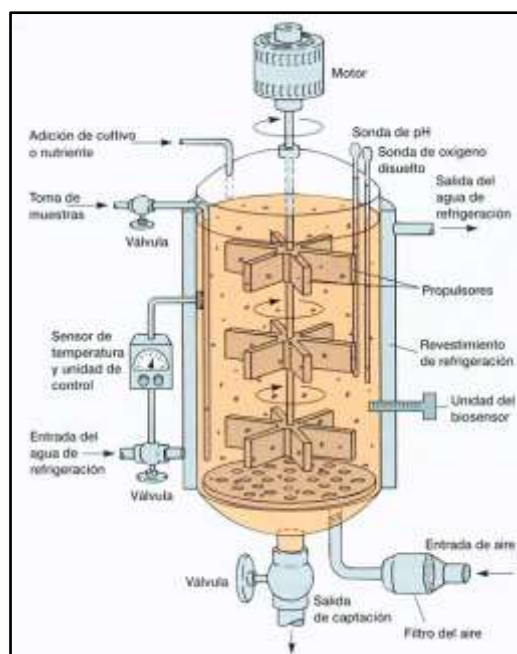


Figura 8.5 – Fermentador para producción de ácido hialurónico

8.3.1.5.1. Selección del material de construcción, determinación de las dimensiones y del espesor

El material de construcción seleccionado es acero inoxidable AISI 316. Se opta por acero inoxidable ya que permite un fácil mantenimiento, es un material versátil con una elevada resistencia a la corrosión, y asegura calidad en la asepsia permitiendo higiene total, requisito indispensable en una reacción biológica. En particular, el AISI 316 es un acero inoxidable austenítico, ya que contiene cromo y níquel, presenta características mecánicas muy buenas, no es magnético y posee excelente soldabilidad, está indicado para aplicaciones en industrias químicas y farmacéuticas.

Las dimensiones del tanque se establecen en base al reactor empleado por Liu (LIU, et al., 2010) de manera tal de mantener la similitud geométrica y replicar el comportamiento logrado a pequeña escala, por lo tanto no se aplican las consideraciones generales de diseño de tanques detalladas en la sección 8.2.1.1. El reactor consiste en un tanque cilíndrico vertical con fondo y tapa semielípticos 2:1 (Figura 8.6), diseño higiénico que facilita la limpieza y la descarga de líquido, y una relación H_i/D_T de 1.5, ya que facilita el mezclado.

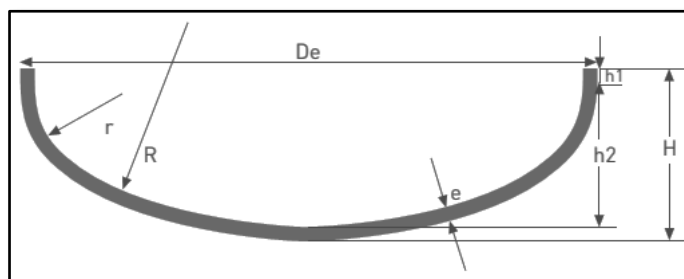


Figura 8.6 – Dimensiones fondo semielíptico 2:1

$$R \approx 0.9D_e \quad [8.32]$$

$$r \approx 0.17D_e \quad [8.33]$$

$$h_2 = \frac{D_i}{4} \quad [8.34]$$

$$H = h_2 + h_1 + e \quad [8.35]$$

$$V(h_2) \approx 0.52D_i^2 \times h_2 \quad [8.36]$$

Los espesores de las paredes del tanque y de los cabezales se calculan con las ecuaciones 8.13 y 8.7, respectivamente.

La agitación es provista por tres turbinas de disco con seis palas planas, ya que este tipo de impulsor es el más adecuado para el contacto gas-líquido, y se emplean frecuentemente para fluidos pseudoplásticos dentro de regímenes de transición y turbulentos. Para el diseño del sistema de agitación se aplican los factores de forma calculados en base a las dimensiones del

tanque empleado por Liu (LIU, et al., 2010), listados en la tabla 8.6. Se colocan cuatro baffles planos separados de la pared del reactor.

Tabla 8.6 – Factores de forma fermentador

Factor de forma	Valor adoptado	Factor de forma	Valor adoptado
H/Dt	1.50	Dd/Da	0.67
Da/Dt	0.33	C/Dt	0.33
W/Da	0.20	S/Da	1.50
L/Da	0.25	J/Dt	0.10

Donde H es la altura del líquido, Dt el diámetro del tanque, Da el diámetro del impulsor, W el ancho de la paleta, L el largo de la paleta, Dd el diámetro del disco, C la distancia entre el impulsor y el fondo, S la separación entre impulsores y J el ancho de los deflectores.

8.3.1.5.2. Criterio de cambio de escala

Los sistemas fermentativos aerobios cuentan con tres grados de libertad en el proceso de escalado, por lo tanto, el máximo número de criterios que pueden mantenerse constantes en una estrategia de *scale-up* son convencionalmente tres.

Dichos criterios se adoptan en base al estudio realizado por Liu (LIU, et al., 2010) sobre un reactor a escala laboratorio, en el cual obtuvieron el control dinámico de la velocidad de agitación requerida para que el diámetro de la caverna sea igual al diámetro del tanque durante todo el proceso (Figura 8.7 a) y la variación del coeficiente de transferencia de masa ($K_L a$) a lo largo de la fermentación (Figura 8.7 b)

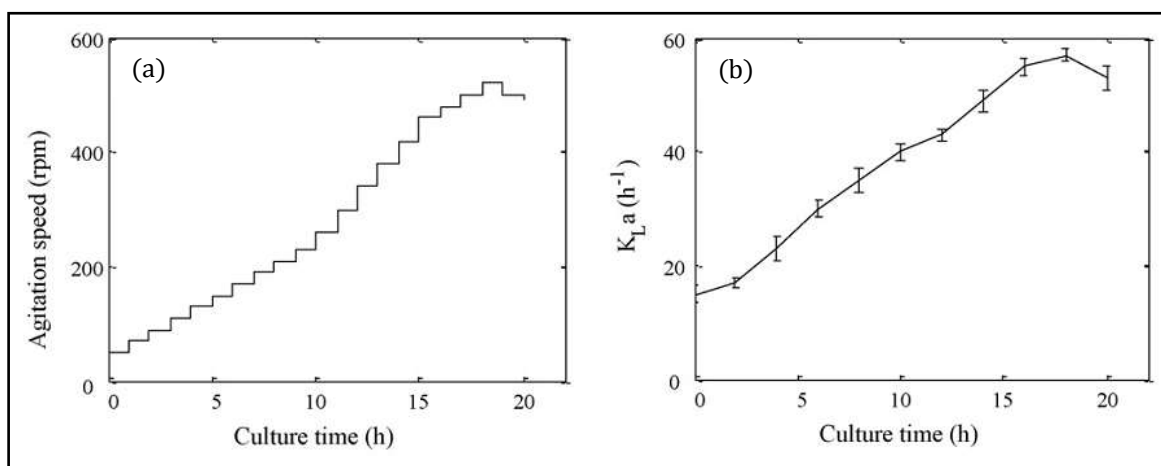


Figura 8.7 – Evolución de parámetros durante fermentación a escala laboratorio. a) Control dinámico de la velocidad de agitación. b) Variación del coeficiente $K_L a$.

Por lo tanto, con el objetivo de replicar estos comportamientos, los criterios de cambio de escala adoptados son:

- Semejanza geométrica

Se logra manteniendo iguales las relaciones de todas las dimensiones lineales del reactor.

- Velocidad de punta del agitador constante

Cuando existe formación de cavernas en el flujo, la regla correcta para el escalado es mantener constante la velocidad de punta del agitador (S_t , Ecuación 8.37), en lugar del clásico criterio de potencia por unidad de volumen. (CULLEN, et al., 2015)

$$S_t = \pi N D_a \quad [8.37]$$

El diámetro relativo de la caverna (Ecuación 8.38) es proporcional a S_t por lo tanto si se mantiene esta relación constante, también se mantendrá la relación entre el diámetro de la caverna producida y el diámetro del tanque. Este criterio de escalado es muy empleado en la industria, especialmente en fenómenos de mezcla sensibles al cizallamiento.

$$\left(\frac{D_c}{D_t}\right)^3 = \left(\frac{4P_g}{\pi^3}\right) \times \left(\frac{\rho N^2 D_a^2}{\tau_y}\right) \quad [8.38]$$

- Coeficiente de transferencia de masa constante

Lograr una transferencia de masa efectiva es crucial en una fermentación aeróbica, ya que si el MO no cuenta con la cantidad necesaria de oxígeno disuelto en el líquido puede detenerse el crecimiento o se puede favorecer la producción de algún subproducto no deseado. En el caso de *St. Zooepidemicus* la presencia de oxígeno estimula la producción de HA, por lo tanto se establece el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($K_L a$) como un criterio de escalado.

Liu ha determinado que en el cultivo aeróbico de *St. Zooepidemicus* para la producción de HA el coeficiente $K_L a$ depende de la velocidad de agitación (N), la velocidad superficial del aire (V_s) y de la viscosidad aparente del cultivo (η). La ecuación 8.39 muestra la correlación matemática propuesta por este autor para relacionar el coeficiente de transferencia de masa con estos parámetros. Los coeficientes del modelo se estimaron aplicando la metodología propuesta por Liu en su artículo, obteniéndose de esta manera los siguientes valores: $\alpha = 0.0571$, $\beta = 0.6374$, $\gamma = -0.2512$, $\delta = -0.0267$. (LIU, et al., 2008)

$$K_L a = \alpha \frac{N^\beta \times V_s^\gamma}{\eta^\delta} \quad [8.39]$$

Esta expresión se utilizó para calcular la velocidad superficial del aire y el caudal volumétrico requeridos para mantener el mismo $K_L a$ obtenido a escala laboratorio. Debido al modo de

operación con control dinámico de la velocidad de agitación, el caudal volumétrico de aire requerido varía con cada hora de cultivo. Esta variación no es significativa dentro de periodos cortos de operación, pero si lo es en el tiempo total de la fermentación. Por esta razón se trabaja con tres caudales de aire durante tres periodos de tiempo, determinados por el promedio de los caudales calculados para cada periodo. Para estos nuevos flujos de aire se recalculan los K_La para cada hora de fermentación, y se determina el error de este valor respecto al informado en el artículo de Liu (LIU, et al., 2008), los cuales pueden observarse en la figura 8.7-b. El error promedio de todos estos valores es igual al 0.5%, por lo que se considera la metodología como adecuada para la operación.

8.3.1.5.3. Determinación de la potencia de agitación

La potencia de agitación requerida en el fermentador se calcula de acuerdo al método sugerido por Geankoplis (GEANKOPLIS, 1998), empleando las ecuaciones 8.15, 8.16 y 8.17. El caldo de cultivo presenta un comportamiento no newtoniano causado por la acumulación de ácido hialurónico en el medio, por lo tanto sus propiedades cambian a lo largo de la fermentación, por lo que el cálculo de la potencia requerida se realiza para cada hora de operación del fermentador.

Se debe contemplar que la aireación del medio de cultivo produce una disminución en la potencia consumida ya que la presencia del gas produce cambios de densidad alrededor del agitador, principalmente por la presencia de burbujas. Existen diferentes correlaciones empíricas que permiten calcular la relación entre la potencia con aireación (P_g) y la potencia sin aireación (P), en este caso se aplica la correlación desarrollada por Mockel (MOCKEL, et al., 1990) ya que es la más apropiada para el volumen del reactor diseñado y el sistema de agitación empleado. Esta correlación (Ecuación 8.40) es simple debido a que solo considera la velocidad superficial del aire, el diámetro del recipiente y una constante Z , que depende del número de impulsores utilizados.

$$\frac{P_g}{P} = \frac{1}{\sqrt{1 + Z \times \frac{v_s}{\sqrt{g \times Dt}}}} \quad [8.40]$$

8.3.1.5.4. Cálculo del Hold-up

Al adicionar aire a un tanque agitado las burbujas tienden a arrastrar un volumen de líquido hasta una altura denominada hold-up, cuyo valor es un porcentaje de la altura total del líquido en el tanque. Este depende del consumo de potencia del impulsor y de la velocidad superficial

del aire, y se calcula de acuerdo a la ecuación 8.41 donde los parámetros C_1 , C_2 y C_3 se obtienen experimentalmente para el sistema de agitación empleado. (MOUCHA, et al., 2003)

$$\varepsilon_G = C_1 \times \left(\frac{P}{V}\right)^{C_2} \times v_s^{C_3} \quad [8.41]$$

Para un sistema de agitación conformado por tres turbinas tipo Rushton, $C_1 = 0.0366$, $C_2 = 0.5415$ y $C_3 = 0.5809$.

8.3.1.5.5. *Diseño del sistema de enfriamiento*

El mantenimiento de la temperatura en el fermentador se realiza mediante una chaqueta calefactora. El diseño de la misma se realiza de igual manera que para los demás tanques, pero en el cálculo del caudal de agua de enfriamiento se considera la variación del caudal volumétrico de aire, ya que este influye en el calor que remueve del medio de cultivo. Para el cálculo en cada periodo se utilizaron valores promedio de velocidad de agitación y viscosidad del medio.

8.3.1.6. *Reactor de entrecruzamiento*

En este recipiente se realiza la alcalinización del HA lineal con NaOH, la reacción de entrecruzamiento con DVS y el posterior calentamiento, por lo tanto se diseña como un tanque agitado para fluidos no newtonianos con una camisa de calefacción, empleando la teoría de diseño detallada en las secciones 8.2.1.1, 8.2.1.2 y 8.2.1.3. El material utilizado es el acero inoxidable AISI 316L, debido a los beneficios que presenta.

8.3.2. Resultados

En las tablas 8.7 a la 8.22 se muestran los resultados de todos los equipos diseñados.

Tabla 8.7 - Diseño del fermentador C-02

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.034 m ³
Sobredimensionamiento	35 %
Volumen total del tanque	0.045 m ³
Diámetro interno del tanque	0.307 m
Altura del líquido	0.486 m
Altura total del tanque	0.661 m
Espesor de la pared	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo/tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior fondo/tapa	0.278 m
Radio rebordo interior fondo/tapa	0.052 m
Altura fondo/tapa	0.077 m
Volumen fondo/tapa	3.75x10 ⁻³ m ³

Tabla 8.7 – (continuación)

Agitador tipo turbina de 6 aspas planas	
Diámetro del agitador	0.102 m
Alto de las aspas	0.020 m
Largo de las aspas	0.026 m
Diámetro del disco	0.068 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.102 m
Números de turbinas	3
Distancia entre turbinas	0.153 m
Número de deflectores	4
Ancho de deflectores	0.031 m

En la tabla 8.8 se muestra el modo de cálculo para la primera hora de cultivo. La evolución de los parámetros durante todo el tiempo de fermentación se muestran en la figura 8.8.

Tabla 8.8 – Condiciones de operación del fermentador durante la primera hora de cultivo

Características del caldo de cultivo	
Densidad del medio	1100 kg/m ³
Índice de consistencia (K)	0.300 Pa.s ⁿ
Índice de comportamiento de flujo (n)	1
Viscosidad aparente del medio	0.300 Kg/m.s
Parámetros de operación del fermentador	
Velocidad de agitación	25 rpm
Velocidad superficial del aire	1.23x10 ⁻³ m/s
Caudal volumétrico de aire	0.160 VVM
Coefficiente de transferencia de oxígeno (K _L a)	0.202 s ⁻¹
Número de Reynolds	15.61
Número de potencia	5
Potencia (P)	0.012 W
Pg/P	0.889
Potencia con aireación (Pg)	0.011 W
ε _G	0.040 %

Tabla 8.9 - Variación del caudal de aire con el tiempo de fermentación

Período (h)	Caudal volumétrico (VVM)	Velocidad superficial (m/s)	Relación Pg/P (Mockel, Z = 375)
0 – 5	0.160	1.23x10 ⁻³	0.889
6 – 11	0.100	7.67x10 ⁻⁴	0.926
12 – 16	0.140	1.07x10 ⁻³	0.901

Tabla 8.10 – Diseño de camisa calefactora

Camisa de calefacción			
Diámetro interior de la camisa	0.331 m		
Diámetro exterior de la camisa	0.335 m		
Ancho de la camisa	0.010 m		
Espesor de la pared	2×10^{-3} m		
Espesor del fondo	2×10^{-3} m		
Radio esférico interior del fondo	0.301 m		
Radio rebordeo interior del fondo	0.057 m		
Altura total exterior del fondo	0.091 m		
Conductividad térmica medio de cultivo	0.431 kcal/h.m.°C		
Conductividad térmica de la pared (Al 316)	18.06 kcal/h.m.°C		
Conductividad térmica agua de enfriamiento	0.570 kcal/h.m.°C		
Calor específico medio de cultivo	0.956 kcal/kg.°C		
Calor específico agua de enfriamiento	1 kcal/kg.°C		
Factor de ensuciamiento	4.88×10^{-4}		
Área de transferencia de calor	0.517 m ²		
Período	0 – 5 h	6 – 11 h	12 – 16 h
Calor intercambiado (kcal)	362.18	390.95	259.27
Coefficiente global de transferencia (kcal/h.m ² .°C)	56.60	87.20	128.75
Flujo de agua (18°C – L/min)	0.087	0.068	0.057

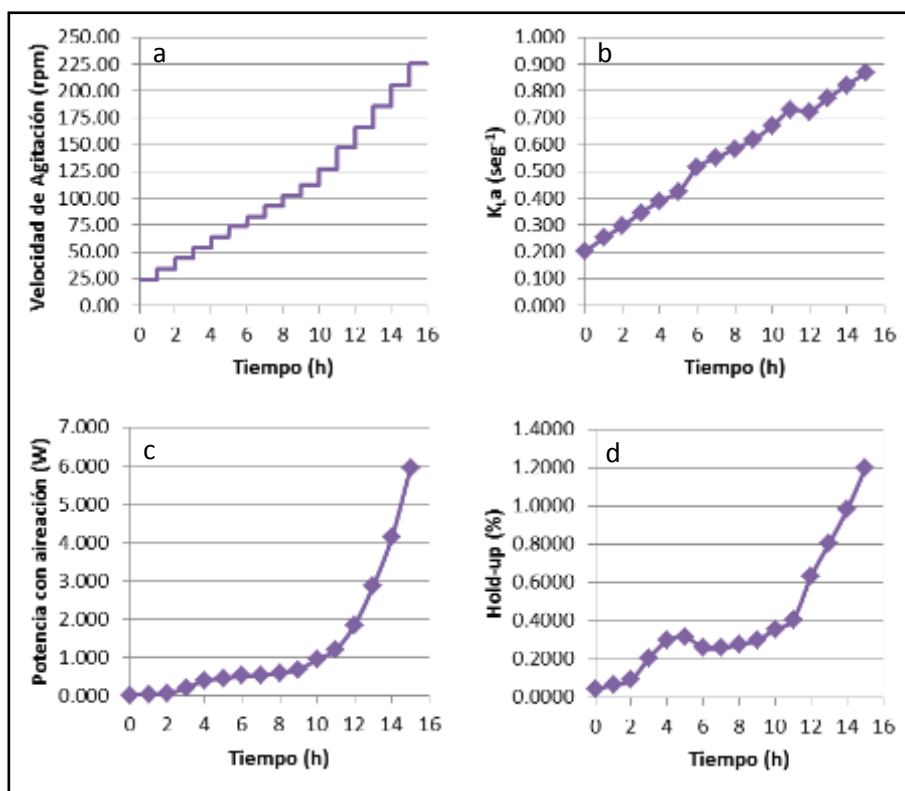


Figura 8.8 – Variación de parámetros durante la fermentación. a) Velocidad de agitación. b) Coeficiente K_{La} . c) Potencia de agitación requerida. d) *Hold-up*.

Tabla 8.11 - Diseño del reactor de entrecruzamiento C-03

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	3.35x10 ⁻³ m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen total del tanque	4x10 ⁻³ m ³
Diámetro interno del tanque	0.16 m
Altura del líquido	0.18 m
Altura total del tanque	0.21 m
Espesor de la pared	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.129 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.025 m
Altura del fondo	0.04 m
Volumen del fondo	5x10 ⁻⁴ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.163 m
Diámetro de la tapa	0.163 m
Altura de la tapa	0.022 m
Volumen de la tapa	2.3x10 ⁻⁴ m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas sin deflectores	
Densidad	1041.6 kg/m ³
Viscosidad aparente	41.950 kg/m.s
Velocidad de agitación	180 rpm
Diámetro del agitador	0.080 m
Diámetro del disco	0.053 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.043 m
Largo de las aspas	0.020 m
Alto de las aspas	0.016 m
Números de turbinas	2
Distancia entre turbinas	0.085 m
Potencia requerida	11.185 W
Camisa de calefacción	
Diámetro interior de la camisa	0.183 m
Diámetro exterior de la camisa	0.186 m
Ancho de la camisa	0.010 m
Espesor de la pared	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.148 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.028 m
Altura total exterior del fondo	0.054 m
Calor intercambiado	83.850 kcal
Conductividad térmica del líquido dentro del tanque	0.530 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica de la pared	18.060 kcal/h.m.°C

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Diseño y Adopción de Equipos



Conductividad térmica del líquido calefactor (agua)	0.570	kcal/h.m.°C
Calor específico del líquido dentro del tanque	0.960	kcal/kg.°C
Calor específico del líquido calefactor	1	kcal/kg.°C
Factor de ensuciamiento	1.8×10^{-4}	
Área de transferencia de calor	0.106	m ²
Coefficiente global de transferencia	56.808	kcal/h.m ² .°C
Flujo de agua (90°C)	1.7×10^{-3}	m ³ /min

Tabla 8.12 - Diseño del tanque R-03

Dimensiones del tanque		
Volumen del líquido	0.0153	m ³
Sobredimensionamiento	20	%
Volumen del tanque	0.019	m ³
Diámetro interno del tanque	0.270	m
Altura del líquido	0.290	m
Altura del tanque	0.360	m
Espesor parte cilíndrica	2×10^{-3}	m
Espesor del fondo	2×10^{-3}	m
Radio esférico interior del fondo	0.217	m
Radio rebordeo interior del fondo	0.042	m
Altura del fondo	0.068	m
Volumen del fondo	2.5×10^{-3}	m ³
Espesor de la tapa	2×10^{-3}	m
Radio esférico interior (R)	0.271	m
Diámetro de la tapa	0.271	m
Altura de la tapa	0.036	m
Volumen de la tapa	0.001	m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas con 4 deflectores		
Densidad	1067.333	kg/m ³
Viscosidad	0.001	kg/ms
Velocidad de agitación	150	rpm
Diámetro del agitador	0.135	m
Diámetro del disco	0.09	m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.09	m
Ancho de las aspas	0.027	m
Ancho de deflectores	0.0225	m
Potencia requerida	3.728	W
Camisa de calefacción		
Diámetro interior de la camisa	0.293	m
Diámetro exterior de la camisa	0.2945	m
Ancho de la camisa	0.010	m
Espesor de la pared	2×10^{-3}	m
Radio esférico interior del fondo	0.235	m

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Diseño y Adopción de Equipos



Radio rebordeo interior del fondo	0.045 m
Altura total exterior del fondo	0.080 m
Q _{calentamiento}	1556.308 kcal
Q _{enfriamiento}	-1361.770 kcal
Conductividad térmica del líquido dentro del tanque	0.456 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica de la pared	18.060 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica del vapor	0.024 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica del agua	0.570 kcal/h.m.°C
Calor específico del líquido dentro del tanque	0.902 kcal/kg.°C
Calor específico del vapor	0.533 kcal/kg.°C
Calor específico del agua	1 kcal/kg.°C
Factor de ensuciamiento	4.88x10 ⁻³
Área de transferencia de calor	0.286 m ²
Coficiente global de transferencia en la etapa de calentamiento	1257.617 kcal/h.m ² .°C
Coficiente global de transferencia en la etapa de enfriamiento	310.692 kcal/h.m ² .°C
Flujo de vapor	0.624 kg/min
Flujo de agua	9.7x10 ⁻³ m ³ /min

Tabla 8.13 - Diseño del tanque R-04

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.0153 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.019 m ³
Diámetro interno del tanque	0.270 m
Altura del líquido	0.290 m
Altura del tanque	0.360 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.217 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.042 m
Altura del fondo	0.068 m
Volumen del fondo	2.5x10 ⁻³ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.271 m
Diámetro de la tapa	0.271 m
Altura de la tapa	0.036 m
Volumen de la tapa	0.001 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas con 4 deflectores	
Densidad	1160.910 kg/m ³
Viscosidad	2.1x10 ⁻³ kg/ms
Velocidad de agitación	150 rpm
Diámetro del agitador	0.135 m
Diámetro del disco	0.090 m

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Diseño y Adopción de Equipos



Distancia del agitador al fondo del tanque	0.090 m
Ancho de las aspas	0.027 m
Ancho de deflectores	0.0225 m
Potencia requerida	4.125 W
Camisa de calefacción	
Diámetro interior de la camisa	0.293 m
Diámetro exterior de la camisa	0.2945 m
Ancho de la camisa	0.010 m
Espesor de la pared	2×10^{-3} m
Radio esférico interior del fondo	0.235 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.045 m
Altura total exterior del fondo	0.080 m
$Q_{\text{calentamiento}}$	1537.363 kcal
$Q_{\text{enfriamiento}}$	-1345.192 kcal
Conductividad térmica del líquido dentro del tanque	0.548 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica de la pared	18.060 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica del vapor	0.024 kcal/h.m.°C
Conductividad térmica del agua	0.570 kcal/h.m.°C
Calor específico del líquido dentro del tanque	0.902 kcal/kg.°C
Calor específico del vapor	0.533 kcal/kg.°C
Calor específico del agua	1 kcal/kg.°C
Factor de ensuciamiento	4.88×10^{-3}
Área de transferencia de calor	0.286 m ²
Coficiente global de transferencia en la etapa de calentamiento	1358.863 kcal/h.m ² .°C
Coficiente global de transferencia en la etapa de enfriamiento	316.518 kcal/h.m ² .°C
Flujo de vapor	0.675 kg/min
Flujo de agua	10.1×10^{-3} m ³ /min

Tabla 8.14 – Tiempos de esterilización R-03 y R-04

Parámetros de cálculo		
No (esporas/m ³)	1×10^9	
N (esporas)	1×10^{-3}	
k_o (constante de Arrhenius Bacillus St., min ⁻¹)	9.509×10^{37}	
E (energía de activación Bacillus St., kJ/mol)	283	
k_d (121°C, min ⁻¹)	2.885	
Resultados		
Equipo	R-03	R-04
Tiempo de calentamiento total (min)	5	4'30"
Tiempo de calentamiento esterilizante (min)	2	1'51"
$\nabla_{\text{Calentamiento}}$	4.62	1.96
Tiempo de enfriamiento total (min)	20	20
Tiempo de enfriamiento esterilizante (min)	2'42"	2'37"
$\nabla_{\text{Enfriamiento}}$	1.65	0.78
∇_{Total}	23.45	23.45
$\nabla_{\text{Mantenimiento}}$	17.18	20.71
Tiempo de mantenimiento (min)	6	7'10"

Tabla 8.15 - Diseño del tanque R-05

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.0680 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.085 m ³
Diámetro interno del tanque	0.450 m
Altura del líquido	0.470 m
Altura del tanque	0.570 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.361 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.069 m
Altura del fondo	0.122 m
Volumen del fondo	11.8x10 ⁻³ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.451 m
Diámetro de la tapa	0.451 m
Altura de la tapa	0.060 m
Volumen de la tapa	0.005 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas	
Densidad	1032 kg/m ³
Viscosidad aparente	1.020 kg/m.s
Velocidad de agitación	100 rpm
Diámetro del agitador	0.225 m
Diámetro del disco	0.150 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.117 m
Largo de las aspas	0.056 m
Alto de las aspas	0.045 m
Números de turbinas	2
Distancia entre turbinas	0.235 m
Potencia requerida	17.897 W

Tabla 8.16 - Diseño del tanque R-06

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.122 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.153 m ³
Diámetro interno del tanque	0.540 m
Altura del líquido	0.580 m
Altura del tanque	0.720 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.433 m

Radio rebordeo interior del fondo	0.083 m
Altura del fondo	0.137 m
Volumen del fondo	0.020 m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.541 m
Diámetro de la tapa	0.541 m
Altura de la tapa	0.072 m
Volumen de la tapa	0.008 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas con 4 deflectores	
Densidad	908 kg/m ³
Viscosidad	1.17x10 ⁻³ kg/m.s
Velocidad de agitación	200 rpm
Diámetro del agitador	0.270 m
Diámetro del disco	0.180 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.180 m
Largo de las aspas	0.067 m
Alto de las aspas	0.054 m
Ancho de deflectores	0.045 m
Potencia requerida	238.62 W

Tabla 8.17 - Diseño del tanque R-07

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.034 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.043 m ³
Diámetro interno del tanque	0.350 m
Altura del líquido	0.380 m
Altura del tanque	0.480 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.281 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.054 m
Altura del fondo	0.088 m
Volumen del fondo	5.57x10 ⁻³ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.351 m
Diámetro de la tapa	0.351 m
Altura de la tapa	0.047 m
Volumen de la tapa	0.002 m ³
Homogeneizador	
Ver sección 8.3.4	

Tabla 8.18 - Diseño del tanque R-08

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.034 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.043 m ³
Diámetro interno del tanque	0.350 m
Altura del líquido	0.380 m
Altura del tanque	0.480 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.281 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.054 m
Altura del fondo	0.088 m
Volumen del fondo	5.57x10 ⁻³ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.351 m
Diámetro de la tapa	0.351 m
Altura de la tapa	0.047 m
Volumen de la tapa	0.002 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas	
Densidad	1058 kg/m ³
Viscosidad aparente	0.626 kg/m.s
Velocidad de agitación	120 rpm
Diámetro del agitador	0.175 m
Diámetro del disco	0.116 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.099 m
Largo de las aspas	0.044 m
Alto de las aspas	0.035 m
Números de turbinas	2
Distancia entre turbinas	0.199 m
Potencia requerida	8.948 W

Tabla 8.19 - Diseño del tanque R-09

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.067 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.084 m ³
Diámetro interno del tanque	0.44 m
Altura del líquido	0.48 m
Altura del tanque	0.59 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.354 m

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Diseño y Adopción de Equipos



Radio rebordeo interior del fondo	0.068 m
Altura del fondo	0.111 m
Volumen del fondo	0.011 m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.442 m
Diámetro de la tapa	0.442 m
Altura de la tapa	0.059 m
Volumen de la tapa	0.005 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas	
Densidad	1031 kg/m ³
Viscosidad aparente	1.056 kg/m.s
Velocidad de agitación	100 rpm
Diámetro del agitador	0.220 m
Diámetro del disco	0.146 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.120 m
Largo de las aspas	0.055 m
Alto de las aspas	0.044 m
Números de turbinas	2
Distancia entre turbinas	0.240 m
Potencia requerida	14.168 W

Tabla 8.20 - Diseño del tanque R-10

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.066 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.083 m ³
Diámetro interno del tanque	0.440 m
Altura del líquido	0.470 m
Altura del tanque	0.580 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.354 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.068 m
Altura del fondo	0.119 m
Volumen del fondo	11x10 ⁻³ m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.441 m
Diámetro de la tapa	0.441 m
Altura de la tapa	0.059 m
Volumen de la tapa	0.004 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas	
Densidad	1015 kg/m ³
Viscosidad aparente	1.141 kg/m.s

Velocidad de agitación	95 rpm
Diámetro del agitador	0.220 m
Diámetro del disco	0.146 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.114 m
Largo de las aspas	0.055 m
Alto de las aspas	0.044 m
Números de turbinas	2
Distancia entre turbinas	0.229 m
Potencia requerida	12.677 W

Tabla 8.21 – Diseño del tanque R-11

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	0.133 m ³
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	0.166 m ³
Diámetro interno del tanque	0.550 m
Altura del líquido	0.610 m
Altura del tanque	0.750 m
Espesor parte cilíndrica	2x10 ⁻³ m
Espesor del fondo	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior del fondo	0.441 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.085 m
Altura del fondo	0.140 m
Volumen del fondo	0.022 m ³
Espesor de la tapa	2x10 ⁻³ m
Radio esférico interior (R)	0.551 m
Diámetro de la tapa	0.551 m
Altura de la tapa	0.074 m
Volumen de la tapa	0.009 m ³
Agitador tipo turbina de 6 aspas planas con 4 deflectores	
Densidad	908 kg/m ³
Viscosidad	1.17x10 ⁻³ kg/m.s
Velocidad de agitación	200 rpm
Diámetro del agitador	0.275 m
Diámetro del disco	0.183 m
Distancia del agitador al fondo del tanque	0.183 m
Largo de las aspas	0.069 m
Alto de las aspas	0.055 m
Ancho de deflectores	0.046 m
Potencia requerida	261.0 W

Tabla 8.22 - Diseño del tanque R-12

Dimensiones del tanque	
Volumen del líquido	$13.4 \times 10^{-3} \text{ m}^3$
Sobredimensionamiento	20 %
Volumen del tanque	$17 \times 10^{-3} \text{ m}^3$
Diámetro interno del tanque	0.260 m
Altura del líquido	0.280 m
Altura del tanque	0.340 m
Espesor de la pared	$2 \times 10^{-3} \text{ m}$
Espesor del fondo	$2 \times 10^{-3} \text{ m}$
Radio esférico interior del fondo	0.209 m
Radio rebordeo interior del fondo	0.040 m
Altura del fondo	0.065 m
Volumen del fondo	0.002 m^3
Espesor de la tapa	$2 \times 10^{-3} \text{ m}$
Radio esférico interior (R)	0.261 m
Diámetro de la tapa	0.261 m
Altura de la tapa	0.035 m
Volumen de la tapa	$9.6 \times 10^{-4} \text{ m}^3$

8.4. EQUIPOS ADOPTADOS

8.4.1. Autoclave D-01

Tabla 8.23 - Datos técnicos del Autoclave adoptado

Marca	Numak
Modelo	ZX-30KBS
Descripción del equipo	Autoclave vertical Semiautomático. Control automático del ciclo de esterilización.
Rangos de temperaturas (°C)	50 - 126
Rango de tiempos (min)	0 - 99
Auto descarga de presión (MPa)	0.145 - 0.165
Presión de operación (atm)	1.4
Material	Acero inoxidable
Volumen (L)	30
Medidas de la cámara de esterilización (cm)	Ø35 x 33
Medidas externas (cm)	58 x 58 x 100
Consumo (kW)	3
Alimentación (V)	220
Peso (kg)	60



Figura 8.9 - Autoclave Numak adoptado

8.4.2. Estufa H-01

Tabla 8.24 - Datos técnicos de la estufa adoptada

Marca	F.A.C.
Modelo	CDAR 3040
Descripción del equipo	Estufas para muestras de cultivos que precisan agitación orbital y un ambiente controlado. Posee puerta con visor y luz interior.
Material	Acero inoxidable 18/8
Cámara interior	
Volumen (L)	36
Ancho (mm)	300
Fondo (mm)	300
Altura (mm)	400
Exterior	Chapa de acero fosfatizado
Aislación	Placas de lana de vidrio de alta densidad
Calefacción	Resistencias siliconadas
Control de la temperatura	Digital
Rango de trabajo (°C)	25 - 60
Sensibilidad de trabajo (°C)	+/- 0.5
Alimentación (V/Hz)	220/50
Agitación	
Tipo	Orbital
Velocidad (rpm)	40 - 250



Figura 8.10 - Estufa con agitación adoptada

8.4.3. Compresor L-01

Se requiere un equipo que suministre el aire estéril durante la fermentación. Como el caudal de aire es variable durante toda la operación, se acopla al compresor una válvula reguladora de caudal automatizada. En la tabla 8.25 se resumen los parámetros de operación requeridos.

Tabla 8.25 – Parámetros de operación del compresor

<i>Presión de operación en el fermentador (Pop)</i>		1.01 Bar			
<i>Presión hidrostática sobre el punto de entrada de aire (Ph)</i>		0.047 Bar			
<i>Pérdidas por fricción</i>					
Longitud total	1.9 m				
Diámetro	0.0127 m				
Densidad (25°C)	1.19 kg/m ³				
Viscosidad (25°C)	1.83x10 ⁻⁵ kg/m.s				
Caudal	NRe	Hf			
0.326 m ³ /h	593	4.92x10 ⁻⁵ Bar			
0.204 m ³ /h	371	3.08x10 ⁻⁵ Bar			
0.286 m ³ /h	519	4.31x10 ⁻⁵ Bar			
<i>Caída de presión en el filtro de aire (dpf)</i>					
Caudal 1	0.012 Bar				
Caudal 2	0.008 Bar				
Caudal 3	0.01 Bar				
<i>Presión de descarga compresor = Pop + Ph + Hf + dpf</i>					
Caudal 1	1.069 Bar				
Caudal 2	1.065 Bar				
Caudal 3	1.067 Bar				
<i>Potencia de compresión requerida $\frac{w}{m} = \left(\frac{\gamma}{\gamma-1}\right) \cdot \left(\frac{Z \cdot R \cdot T_s}{M}\right) \cdot (r^{\frac{\gamma}{\gamma-1}} - 1)$</i>					
γ (Cp/Cv)	1.4				
Factor de compresibilidad (Z)	1				
Temperatura en aspiración (Ts)	300 K				
Peso molecular (M)	28.97 kg/kmol				
Constante de los gases (R)	8.341 kJ/kmol.K				
Presión de entrada	1.01 Bar				
P descarga (Bar)	Relación compresión (r)	w/m (kJ/kg)	Caudal másico (kg/seg)	Potencia teórica (W)	Potencia real (W)
1.069	1.058	66.52	1.08x10 ⁻⁴	7.2	9.6
1.065	1.054	61.71	6.74x10 ⁻⁵	4.2	5.5
1.067	1.056	64.11	9.44x10 ⁻⁵	6.1	8.1

Tabla 8.26 - Datos técnicos del compresor adoptado

Marca	MEDO
Modelo	AC0410A
Descripción	Compresor de aire de pistón lineal. Operación libre de aceite, bajo ruido y baja vibración.
Presión de descarga optima	1 Bar
Caudal de aire	5 L/min
Tensión de alimentación	230 V AC
Presión máxima	1.3 Bar
Consumo de energía	43 W
Conexión de salida	½ pulgada
Ciclo de operación	Continuo



Figura 8.11 - Compresor de aire adoptado

8.4.4. Filtro F-04

Actualmente en los sistemas industriales el aire se esteriliza por filtración, siendo los más usados los filtros de cartuchos con membranas ya que presentan las ventajas de ser pequeños, fáciles de reemplazar y funcionan como filtros absolutos. Su principal desventaja es que no separan bacteriófagos, son frágiles y requieren fuentes de aire libres de aceite. (MATEOS, 2014)

El aire que sale del fermentador también debe ser esterilizado, sobre todo si se trabaja con MO recombinantes. Esto se debe realizar no solo como medida de seguridad, sino también para prevenir que las cepas industriales se liberen al medio ambiente y estén disponibles de una forma gratuita para los competidores.

Se selecciona el filtro Optiseal-M con membrana hidrófoba Aervent, de Millipore. Estos filtros están diseñados para aplicaciones esterilizantes, eliminando partículas y microorganismos de gases y disolventes. Este filtro particular es aplicable a caudales muy bajos de gases y elimina partículas contaminantes de hasta 0.01 μm .

De acuerdo a la curva característica del filtro (Figura 8.12) se determinan las caídas de presión para los caudales de aire requeridos a la entrada y a la salida del fermentador.

Tabla 8.27 – Cálculo caída de presión aire

Período (h)	Caudal de entrada (L/min)	Δp entrada (mBar)	Caudal de salida (L/min)	Δp salida (mBar)
0 – 5	5.44	12	5.88	16
6 – 11	3.4	8	3.67	12
12 – 16	4.76	10	5.14	14

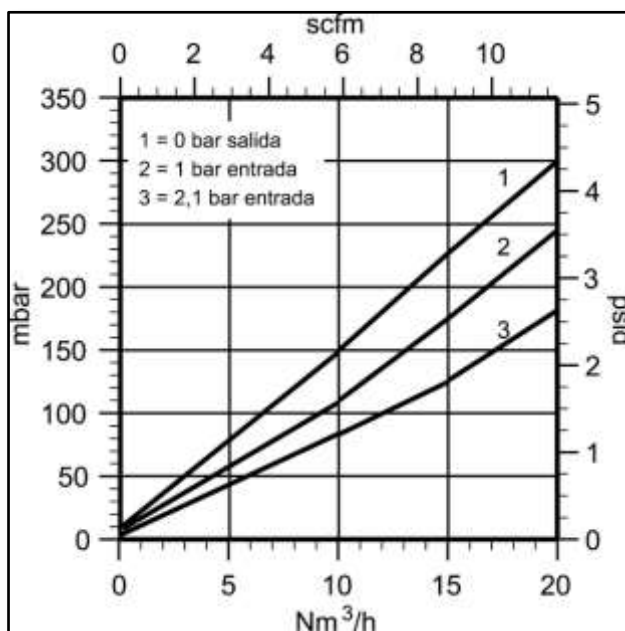


Figura 8.12 – Curva característica filtro Optiseal-M

Tabla 8.28 - Datos técnicos del filtro adoptado

Marca	Merck Millipore
Modelo	Optiseal-M
Material filtrante	PTFE reforzado con tejido de polipropileno
Soporte	Carcasa sanitaria Millidisk
Material soporte	Acero inoxidable 316 L
Área de filtración (m ²)	0.05
Diámetro de carcasa (mm)	64
Presión diferencial máxima (Bar, 25°C)	5.5
Temperatura máxima de autoclavado (°C)	135
Ciclos de autoclave máximo	80
Tamaño de poro (µm)	0.2
Retención bacteriana (UFC/cm ²)	10 ⁷

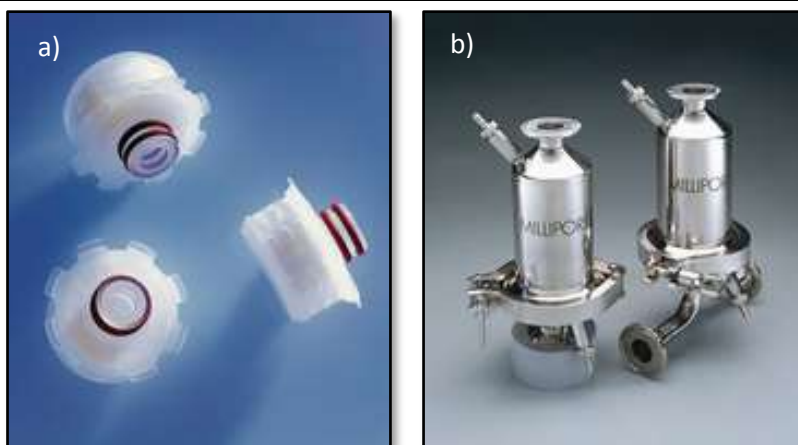


Figura 8.13 – a) Cartuchos filtrantes Optiseal. b) Soporte para filtro Millidisk

8.4.5. Centrífugas

Para realizar la selección de las centrifugas necesarias se escalan las condiciones empleadas por Reddy Kanala (REDDY KANALA, et al., 2011) en una centrifuga de tubos de escala laboratorio mediante el empleo del tiempo equivalente. Se seleccionan centrifugas de discos ya que son las más empleadas en bioseparaciones sólido-líquido, además de ser adecuadas cuando la diferencia de densidades es baja y la viscosidad del líquido a clarificar alta. (TEJEDA, et al., 1995)

En las tablas siguientes se verifica que este modelo cumple con las características necesarias. Como se requiere el mismo modelo de centrifuga en todos los casos, y las condiciones de proceso lo permiten, se considera la posibilidad de emplear una misma unidad para diferentes operaciones.

Tabla 8.29 - Parámetros de centrifugación requeridos

Centrifuga S-01: Clarificación		
Volumen: 68 L		
	Escala 1	Escala 2
Radio centrifuga	0.084 m	0.11 m
Velocidad tazón	10000 rpm	9512 rpm
Velocidad angular	1047.17 rad/s	996.06 rad/s
Factor-G	9344.78	11124.97
Tiempo de operación	20 min	16.80 min
Tiempo equivalente	186895 min	
Caudal volumétrico		242.90 L/h
Centrifuga S-02: Separación IPA		
Volumen: 122 L		
	Escala 1	Escala 2
Radio centrifuga	0.084 m	0.11 m
Velocidad tazón	10000 rpm	9512 rpm
Velocidad angular	1047.17 rad/s	996.06 rad/s
Factor-G	9344.78	11124.97
Tiempo de operación	20 min	16.80 min
Tiempo equivalente	186895 min	
Caudal volumétrico		435.70 L/h

Tabla 8.29 – (Continuación)

Centrifuga S-01: Separación carbón activado		
Volumen: 34 L		
	Escala 1	Escala 2
Radio centrifuga	0.084 m	0.11 m
Velocidad tazón	7000 rpm	9512 rpm
Velocidad angular	733.02 rad/s	996.06 rad/s
Factor-G	4578.94	11124.97
Tiempo de operación	30 min	12.30 min
Tiempo equivalente	137368 min	
Caudal volumétrico		165.20 L/h
Centrifuga S-03 – Separación IPA		
Volumen: 133 L		
	Escala 1	Escala 2
Radio centrifuga	0.084 m	0.11 m
Velocidad tazón	10000 rpm	9512 rpm
Velocidad angular	1047.17 rad/s	996.06 rad/s
Factor-G	9344.78	11124.97
Tiempo de operación	20 min	16.80 min
Tiempo equivalente	186895 min	
Caudal volumétrico		475 L/h

Se selecciona la centrifuga Clara 20 de Alfa Laval ya que es una unidad flexible y multipropósito empleada en industrias alimenticias y farmacéuticas. Su tamaño es adecuado para escala piloto y producción en pequeña escala.

Tabla 8.30 - Datos técnicos de la centrífuga de discos adoptada

Marca	Alfa-Laval
Modelo	Clara 20
Descripción del equipo	Módulo de centrifuga multipropósito para industrias alimenticias y de fermentación
Capacidad hidráulica máxima (L/h)	1000
Fuerza G máxima (g)	11130
Velocidad del tazón (rpm)	9512
Volumen de líquido en tazón (L)	2.2
Volumen lodos (L, aproximado)	1.1
Volumen de descarga fijo (L)	1.1
Potencia de motor instalada (kW)	3.7
Dimensiones (cm)	145 x 80 x 150
Peso modulo completo (kg)	375
Material	Acero inoxidable



Figura 8.14 - Centrifuga Clara 20 Alfa-Laval

8.4.6. Filtro F-05

El alcohol isopropílico (IPA) empleado como agente precipitante en el proceso debe ser puro y estéril, por lo tanto se coloca un filtro en la línea de alimentación a los tanques. Se selecciona el filtro Opticap XL de Millipore, ya que permite caudales de salida elevados y contiene en la misma unidad un prefiltro que protege la membrana esterilizante. El medio filtrante es una membrana de polietersulfona, material totalmente compatible con IPA.

Tabla 8.31 – Datos técnicos del filtro adoptado

Modelo de Cápsula	Opticap XL 3
Marca	Millipore
Membrana	Millipore Express SHR 0.5/0.1 μm con prefiltro
Conexión	Brida sanitaria entrada/salida 1 ½"
Dimensiones (L x D, cm)	17.3 x 10.7
Área filtrante efectiva (m^2)	0.13
Presión de entrada máxima (Bar, 23°C)	6.9
Máxima presión diferencial (Bar, 25°C)	6.9
Retención bacteriana (UFC/ cm^2)	10^7
Caudal de operación (L/min)	7.5
Diferencia de presión (Bar)	0.4

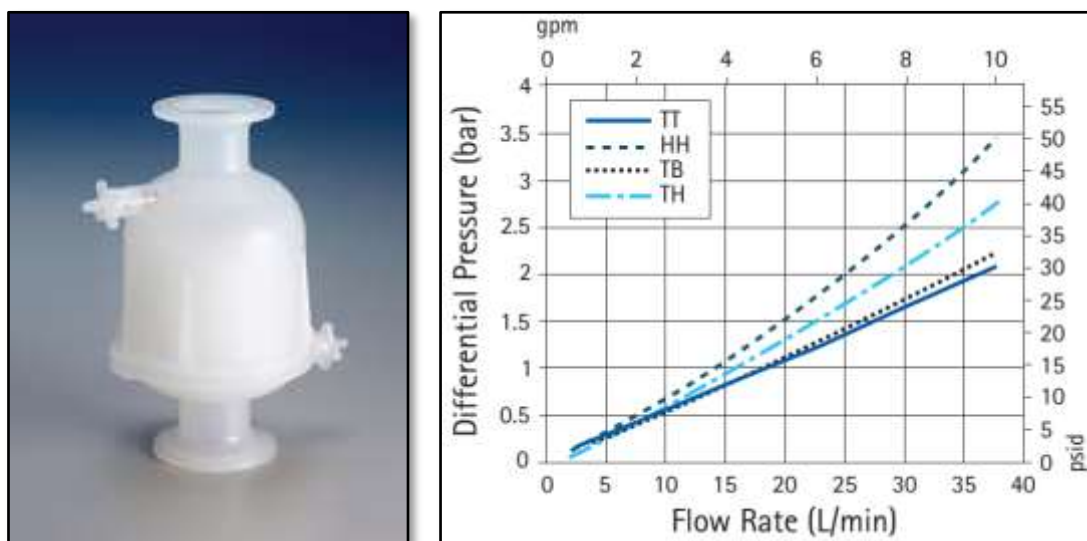


Figura 8.15 – Filtro de alcohol adoptado y curva característica

8.4.7. Homogeneizador

La operación de homogeneización requiere un motor más potente al empleado en agitación, y la herramienta de dispersión también debe seleccionarse adecuadamente. Con este fin, se realiza el escalado del homogeneizador empleado por Rangaswamy (RANGASWAMY, et al., 2011) utilizando como criterio de cambio de escala el mantenimiento de la velocidad de punta del dispersor.

El tipo de dispersor empleado funciona mediante el principio de rotor-estator (Figura 8.11). Debido a la elevada velocidad circunferencial que produce el rotor, el medio a tratar es atraído axialmente hacia el cabezal de dispersión y es obligado a pasar a través de ranuras presentes en el conjunto rotor-estator. La elevada velocidad y la pequeña distancia que existe entre rotor y estator generan fuerzas de corte extremadamente intensas que logran una buena dispersión (IKA, 2015).

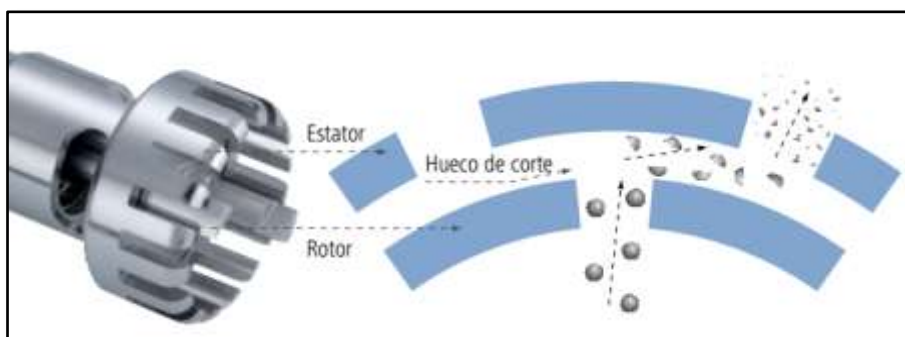


Figura 8.16 - Principio de rotor-estator

Tabla 8.32 - Cambio de escala homogeneizador

	Escala laboratorio	Escala planta
Marca	Kinematica AG	
Modelo	PT-DA 2120/2EC	
Velocidad (rpm)	15000	3879
Volumen (L)	1	34
Potencia (W)	500	
Diámetro rotor (mm)	15	58
Diámetro estator (mm)	20	65
Velocidad de punta máxima (m/s)	20	28.85
Velocidad de punta (m/s)	11.78	11.78

Tabla 8.33 - Datos técnicos del homogeneizador adoptado

Elemento de dispersión	
Marca	IKA
Modelo	S 65 KG – HH – G 65 M
Volumen operativo (L)	2 - 40
Diámetro estator (mm)	65
Diámetro rotor (mm)	58
Hueco entre rotor y estator (mm)	0.5
Profundidad de inmersión mín. - más (mm)	80 - 450
Material en contacto con el medio	FFPM/SIC, AISI 316L
Motor M-11	
Marca	IKA
Modelo	T 65 digital
Volumen máximo (L)	2 - 50
Viscosidad máxima (mPa.s)	5000
Velocidad máxima (rpm)	1000 - 9500
Consumo (W)	2600
Potencia (W)	2200
Rendimiento (%)	85



Figura 8.17 - Motor y dispersor adoptados

8.4.8. Filtro F-01

Se emplea el mismo tipo de filtro utilizado por Rangaswamy (RANGASWAMY, et al., 2011), el filtro de profundidad desechable Millistak+ de Millipore. Este modelo cuenta con la ventaja de ser escalable y flexible, ya que presenta un diseño modular, y su uso está indicado en clarificaciones primarias y secundarias de cultivos celulares. Diferentes autores coinciden en las ventajas de emplear medios filtrantes de doble o triple membrana en filtraciones de alta viscosidad, ya que mejoran el rendimiento y los tiempos de operación (PARKER DOMNIC HUNTER, 2015), (COULAIS, et al., 2015). En base a esto, se selecciona el medio de triple membrana B1HC, recomendado para líquidos post-centrifugación que contienen restos celulares. (MERCK MILLIPORE, 2012)

Tabla 8.34 - Parámetros de operación

Flujo por unidad de presión (Lmh/psid)	25.19
Presión diferencial (psid)	14.5
Área filtro (m ²)	0.11
Volumen a filtrar (L)	67
Caudal volumétrico (L/h)	40.17
Tiempo de filtrado (h)	1.67

Tabla 8.35 - Datos técnicos del filtro adoptado

Marca	Merck Millipore
Modelo	Millistak+
Área filtrante (m ²)	0.11
Medio filtrante	Fibras de celulosa con ayudante inorgánico de filtrado
Descripción	B1HC: 60DE + 75DE + RW01
Composición de las capas	
Flujo por unidad de presión (Agua - Lmh/psid)	140
Membrana filtrantes	Esteres mixtos de celulosa
Tamaño de poro (µm)	0.45
Dimensiones (cm)	62 x 32 x 3
Máxima presión de operación (psig)	50
Máxima presión diferencial (25°C - psid)	30



Figura 8.18 - Filtro de profundidad Millistak+ Millipore

8.4.9. Filtro F-02

La ultrafiltración (UF) en modo diafiltración se aplica cuando se desea separar macromoléculas de moléculas pequeñas, como sales, alcoholes y restos celulares. En este caso se opera en forma intermitente a volumen constante, es decir, se alimenta continuamente solvente de lavado al tanque de alimentación y se mantiene el volumen de retenido constante, de manera tal que el flujo de solvente es igual al flujo de permeado. En la figura 8.14 se observa un diagrama de la operación.

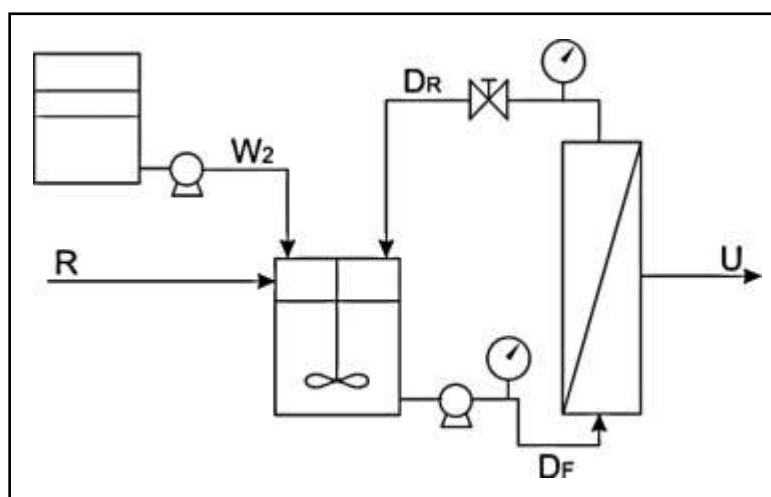


Figura 8.19 – Diagrama modo de operación diafiltración

La fuerza impulsora de la UF es el gradiente de presión transmembrana (PTM), definido por la ecuación 8.45. La presión es controlada mediante la válvula de contrapresión a la salida de la unidad de UF, y se monitorea a la entrada y a la salida del equipo.

$$PTM = \frac{P_F + P_R}{2} - P_P \quad [8.42]$$

Donde P_F es la presión de entrada de la alimentación, P_R la presión de salida del retenido y P_p la presión de salida del permeado. La ecuación 8.46 se emplea para calcular el área de filtrado requerida, estableciéndose el tiempo de operación como parámetro de diseño.

$$C_I = C_{I0} \times \exp\left(\frac{-J \times A \times t}{V_R}\right) \quad [8.43]$$

Dónde C_I es la concentración final de impurezas en el tanque (g/L), C_{I0} la concentración inicial de impurezas en el tanque (g/L), J el flux de permeado (L/m²/min), A el área de filtrado (m²), t el tiempo de operación (min) y V_R el volumen de retenido en el tanque (L).

El flux de permeado de la unidad depende del tipo de membrana empleado, la PTM aplicada, el volumen de solvente utilizado (V_D) y la conductividad de la solución alimentada. El valor utilizado se determinó de acuerdo a los trabajos realizados por Oueslati (OUESLATI, et al., 2015) y Zhou (ZHOU, et al., 2006) en función de las propiedades de la solución a infiltrar y de las condiciones de operación.

Tabla 8.36 – Parámetros de operación requeridos

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
PM de corte (kDa)	100	J (L/m ² /min)	0.415
PTM (bar)	1.500	t (min)	120
V_R (L)	66	Área requerida (m ²)	4.600
V_D/V_R (relación de volúmenes)	3.5	Área adoptada (m ²)	4.900
C_I (g/L)	3.4E-03	Tiempo de operación (min)	113
C_{I0} (g/L)	0.110		

Tabla 8.37 – Datos técnicos del equipo de ultrafiltración adoptado

Cassette de ultrafiltración	
Marca	Sartorius Stedim Biotech
Modelo	Sartocon Cassette
Membrana	Polietersulfona
PM de corte (kDa)	100
Material de soporte	PVDF
Área de filtrado (m ²)	0.7
Presión de alimentación máxima (bar)	4
Temperatura de operación máxima (°C)	50
Número de cassettes	7

Tabla 8.37 – (Continuación)

Soporte	
Marca	Sartorius Stedim Biotech
Modelo	Sartoflow 10
Número de cassettes Sartocon máximo	10
Área de filtrado máxima (m ²)	7
Volumen de trabajo máximo (L)	1000
Material	Acero inoxidable 316L
Límite de presión (bar)	430
Dimensiones (mm)	680 x 420 x 508



Figura 8.20 – Cassettes y Soporte para Ultrafiltración

8.4.10. Estufa H-02

Tabla 8.38 - Datos técnicos de la estufa adoptada

Marca	MMM group	
Modelo	VacuCell confort 22	
Descripción del equipo	Permite el secado de sustancias térmicamente inestables o sensibles a la oxidación mediante la aplicación de vacío o el uso de gas inerte.	
Material	Acero inoxidable DIN 1.4571	
Cámara interior	Volumen (L)	22
	Ancho (mm)	340
	Fondo (mm)	260
	Altura (mm)	300
Exterior	Ancho (mm)	560
	Fondo (mm)	490
	Altura (mm)	700

Tabla 8.38 – (Continuación)

Nº (estándar)	2
Distancia min. entre bandejas (mm)	40
Bandejas Superficie útil (mm)	280 x 236
Carga máx./bandeja (kg)	20
Carga máx. total (kg)	35
Voltaje (Hz)	50/60
Potencia máxima (kW)	0.8
Temperatura de funcionamiento (°C)	5 °C sobre ambiente a 200 °C
Vacío máximo alcanzable (mbar)	< 5.10 - 4



Figura 8.21 - Estufa de vacío VacuCell adoptada

8.4.11. Molino Z-01

Tabla 8.39 - Datos técnicos del molino adoptado

Molino	
Marca	Fritsch
Modelo	Pulverisette 14
Descripción del equipo	Molino de rotor con velocidad variable
Materiales permitidos	Suaves, semi duros, frágiles, fibrosos y materiales sensibles a la temperatura
Tipo de alimentación	Batch o continuo
Principio de operación	Trituración por impacto y cizallamiento
Max. tamaño de alimentación (mm)	10
Caudal de alimentación (g/min)	85.714
Volumen del recipiente recolector (L)	5
Tamaño final de la partícula depende del tamiz (mm)	0.08 - 6

Velocidad del rotor (rpm)	6000 - 20000
Potencia en el eje del motor (kW)	0.55
Potencia de entrada (watt)	1200
Voltaje (V)	230 - 240
Frecuencia (Hz)	50 - 60
Peso del equipo (kg)	23
Dimensiones WxDxH (cm)	31 x 48 x 47
Tamiz	
Modelo	44.1020.10
Descripción	Anillo con perforaciones trapezoidales (aporta una acción extra por fricción)
Tamaño del poro (mm)	0.2
Material	Acero inoxidable



Figura 8.22 - Molino Fritsch adoptado

8.4.12. Envasadora E-01

Tabla 8.40 - Datos técnicos de la envasadora adoptada

Marca	Adendorf
Modelo	SP-DXDF-1
Descripción del equipo	Permite envasar automáticamente todo tipo de polvos a través de un sistema de pesaje de gran precisión.
Velocidad de envasado (envases/min)	30 - 60
Capacidad de envasado (g)	1 - 50
Largo del envase (mm)	50 - 120 (ajustable)
Ancho del envase (mm)	40 - 80 (ajustable)
Tipo de sellado	Sellados en tres lados, Sellado en cuatro lados Sellado en la parte de atrás

Alimentación eléctrica monofásica (V/Hz)	220 / 50	
Consumo eléctrico (W)	900 W	
Peso bruto (kg)	185	
Dimensiones	Largo (mm)	800
	Ancho (mm)	700
	Alto (mm)	1550



Figura 8.23 – Envasadora de productos en polvo Adendorf

8.4.13. Filtro F-03

Los filtros nucha agitados son equipos diseñados para cumplir con los exigentes requisitos de fabricación principalmente de ingredientes farmacéuticos y de la industria de química y en menor medida en las industrias agroquímicas y alimentarias (colorantes). Permite separar sólidos de líquidos por filtración bajo presión o vacío o en combinación de ambos, de forma segura y libre de contaminantes manteniendo la higiene y la pureza del producto. Su principal característica es la capacidad de actuar como un equipo de filtro, en cuyo caso el producto final es la torta húmeda, o un filtro-secador donde el producto obtenido es un polvo seco.

El equipo consiste en una carcasa cilíndrica dividida en dos compartimentos por medio de una placa perforada, provistos de una malla filtrante adecuada (Figura 8.21 a). El agitador de diseño único, rígido curvado en forma de S posee dos tipos de movimientos, el de dirección

vertical y el de rotación lo cual mejora ampliamente los procesos de filtración, lavado y descarga. El fondo o base del recipiente está montado en una columna separada para proporcionar un excelente acceso a la placa de filtro para la limpieza e inspección de la misma.

Las etapas comunes del proceso completo son:

1. Filtración. La suspensión se alimenta en el compartimiento de la parte superior desde donde el filtrado pasa a la cámara inferior. Los sólidos se depositan en el medio filtrante formando una torta con un espesor uniforme. El agitador empuja los sólidos hacia arriba para mantenerlo en suspensión el mayor tiempo posible mejorando el paso del filtrado a través del lecho filtrante.
2. Resuspensión y lavado. La torta se lava (con agua o disolvente) de manera uniforme debido a que el agitador suaviza la superficie de la misma. En caso de que el equipo opere como filtro luego de esta etapa se procede a la descarga de la torta húmeda de forma manual o automática, dependiendo el tamaño del equipo, a través de una boquilla lateral. Una ventaja de este equipo es que se puede convertir en un equipo Filtro-Secador de forma sencilla y rápida.
3. Secado por convección de la torta. Esta etapa y las siguientes se llevan a cabo solo si el equipo es un filtro-secador ya que este está equipado con una camisa calefactora y presenta una gran superficie de transferencia de calor. Los tiempos de secados son cortos y la humedad final alcanzada es baja.
4. Suavizado por compresión de la torta.
5. Descarga completa y automática de la torta seca.

Tabla 8.41 - Datos técnicos del filtro Nucha adoptado

Marca	Rosenmund
Tipo	Filters any Filter/Dryers
Descripción del equipo	Adoptado solo como filtro
Área de filtrado nominal (m ²)	0.060
Volumen de la cámara (L)	35
Volumen máximo de torta (L)	12
Potencia de accionamiento (kW)	3
Peso vacío aproximado (kg)	600
D - Diámetro del contenedor* (m)	0.288
H - Altura mínima del equipo* (m)	2.670
S - Altura que asciende el equipo* (m)	0.200
Material	Acero inoxidable
Malla Diámetro de la malla (m)	0.270
Diámetro de poro (µm)	200
*ver referencia en figura 8.21 a)	

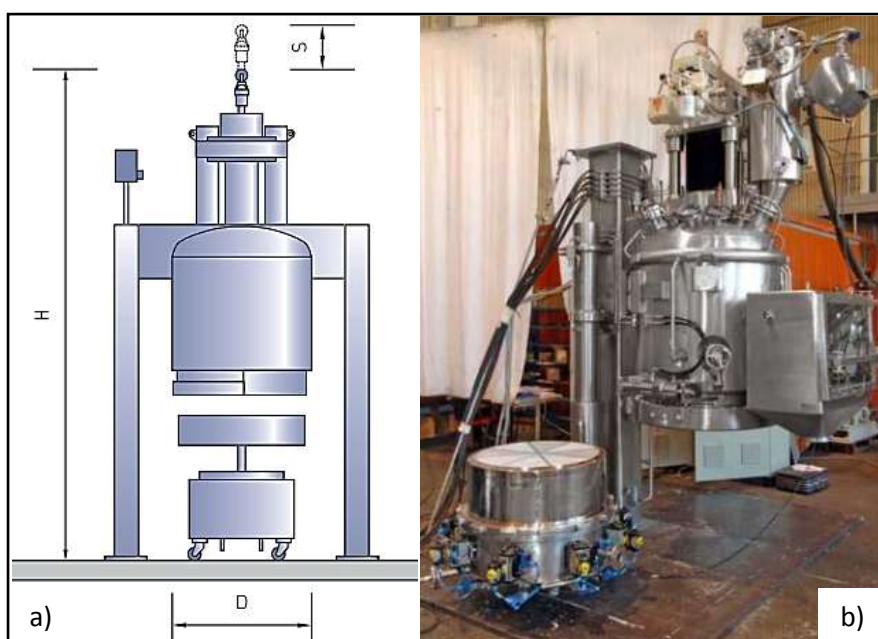


Figura 8.24 – a) Representación esquemática y parámetros de un filtro nucha. b) imagen de un filtro nucha donde puede apreciarse los dos compartimentos de la carcasa

8.4.14. Baño termostático H-03

Tabla 8.42 – Datos técnicos del baño termostático adoptado

Marca	Lauda
Tipo	ECO
Modelo	E 15 S
Descripción del equipo	Termostato de calefacción con circulación externa
Rango de temperatura de trabajo (°C)	20 - 150
Volumen del baño (L)	12 - 16
Estabilidad de temperatura ($\pm K$)	0.01
Potencia de calefacción (kW)	1.3
Presión de la bomba máx. (bar)	0.55
Caudal de bomba máx. (L/min)	22
Abertura/profundidad del baño (mm)	300 x 190/200
Altura total del equipo (mm)	426
Material	Acero inoxidable
Cabezal de control	Silver
Precisión de ajuste (°C)	0.01
Precisión del indicador (°C)	0.01
Dispositivo de seguridad	III,FL (Apto para líquidos inflamables y no inflamables)
Tipo de bomba	V (bomba de presión)
Rosca de la conexión de la bomba (mm)	13



Figura 8.25 – Baño termostático adoptado

8.4.15. Equipo E-02

Tabla 8.43 - Datos técnicos del equipo para el llenado de las jeringas adoptado

Equipo para llenar las jeringas	
Marca	OPTIMA
Tipo	Jeringas a granel
Modelo	VSVM 3000
Descripción del equipo	Llenado automático de jeringas y colocación del embolo
Sistema de transporte	Rueda estrellada
Volumen dosificado (ml)	0.1 - 20
Capacidad (ml)	0.5 - 20
Tamaño de las jeringas	Diámetro máximo (mm)
	Largo máximo (mm)
Cabezal de llenado	1
Capacidad máxima del equipo (jeringas/h)	3600
Tanque R-13	
Volumen (m ³)	0.014
Diámetro (m)	0.24
Altura (m)	0.33
Tipo de agitador	Turbina
Numero de turbinas	2
Distancia entre turbinas (m)	0.120
Velocidad de agitación (rpm)	350
Potencia del agitador	0.04 HP

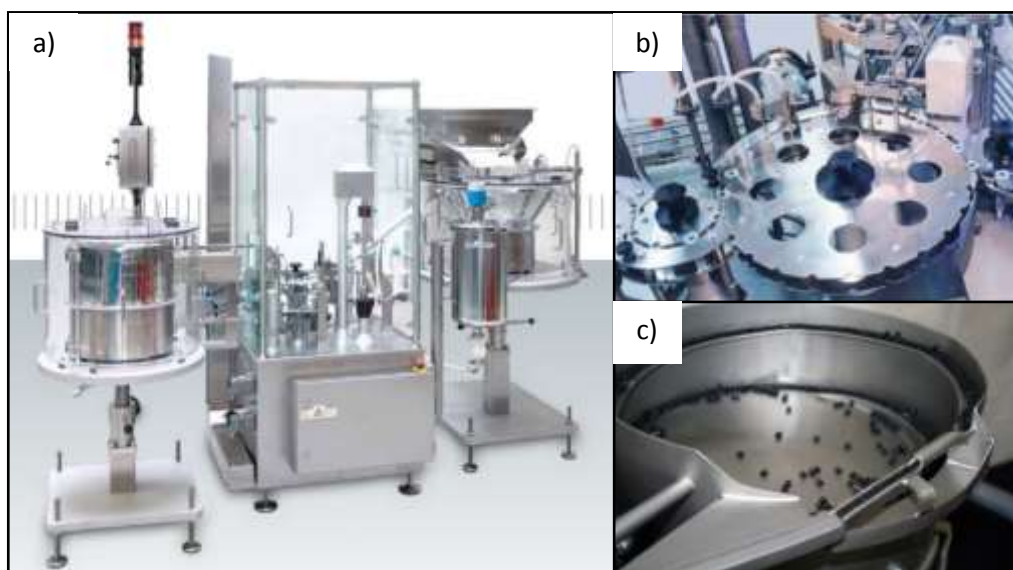


Figura 8.26 – a) Equipo para cargar las jeringas. b) Ampliación del sistema de transporte de las jeringas. c) Ampliación del sistema de alimentación de los émbolos

8.4.16. Autoclave D-02

La esterilización de productos farmacéuticos que contienen líquidos en recipientes sellados, tales como las jeringas precargadas, requieren la consideración de los procesos físicos que se producen durante el calentamiento y enfriamiento del fluido. Se debe considerar que:

- La presión de vapor del líquido aumenta.
- El aire en el recipiente se presuriza de acuerdo a la ley de los gases ideales (lineal).
- Los contenedores se expanden (aumento de volumen y disminución de la presión).
- Los líquidos se expanden (reducción de volumen y aumento de la presión).
- Los gases disueltos pueden separarse del fluido.

En general, para los productos más comunes (c), (d) y (e) pueden no tomarse en cuenta. En la práctica, (a) y (b) poseen un papel determinante sobre la presión dentro del recipiente sellado. De acuerdo con la ley de Dalton, estas presiones parciales son aditivas.

Los recipientes rígidos con un cierre de sujeción mecánica (por ejemplo, un recipiente con sello de rosca) pueden soportar esta presión interna incluso si se reduce la presión externa. Para otros envases menos robustos (tales como recipientes de plástico o jeringas precargadas), la presión interna debe equilibrarse de manera que no exista ninguna diferencia de presión neta para evitar comprometer el recipiente o interrumpir el cierre (por ejemplo, movimiento excesivo en un tapón de la jeringa precargada).

La esterilización se realiza con vapor de agua y aire comprimido estéril. Este último actúa como una presión "apoyo" para equilibrar la presión de la cámara del autoclave con la presión interna generada en la jeringa. Dado que el vapor y aire poseen diferentes densidades el autoclave posee un ventilador que crea un patrón de circulación y mantiene un entorno homogéneo.

Este sistema proporciona un calentamiento uniforme del producto y un sistema de equilibrio de presión.

Tabla 8.44 - Datos técnicos del autoclave adoptado

Marca	Telstar	
Tipo	SteriDelta A – Mezcla de vapor y aire	
Modelo	SD 101010	
Descripción del equipo	Cámara cilíndrica y puerta de sección rectangular	
Material de construcción	Acero inoxidable AISI 316 L	
Dimensiones útiles de la cámara	Ancho (mm)	1000
	Largo (mm)	1000
	Alto (mm)	1000
Diámetro de la cámara (mm)	1614	
Capacidad de la cámara	Volumen total (L)	2067
	Volumen útil (L)	1000
Sentido de desplazamiento de la puerta	Horizontal	
Sistema de control	PharmaSter	

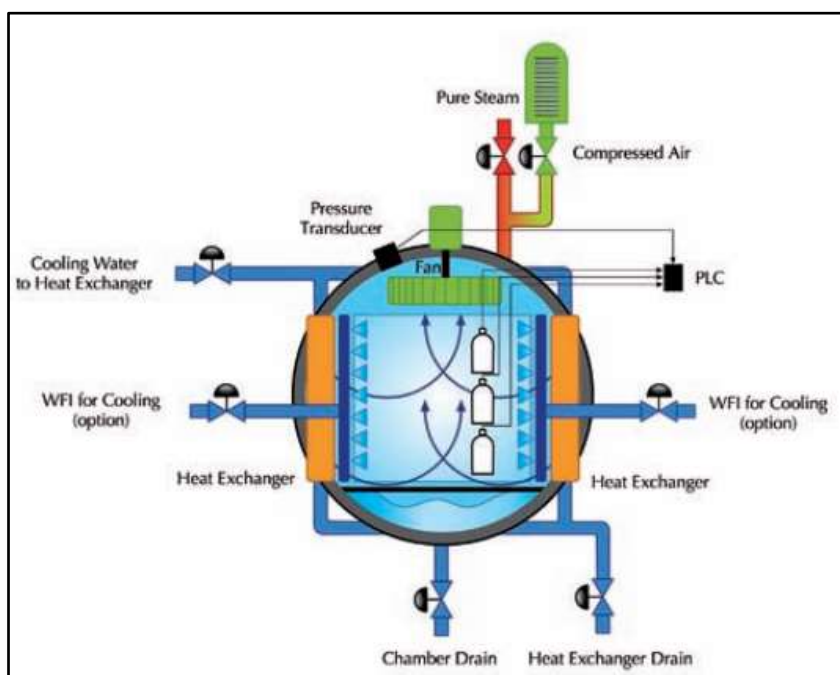


Figura 8.27 – Esquema del autoclave adoptado

8.4.17. Equipo E-03

El equipo para envasar cumple la función de colocar el vástago, la etiqueta, el envasado primario y secundario. Puede funcionar de forma continua o intermitente.

Tabla 8.45 - Datos técnicos del equipo para envasar adoptado

Marca	OPTIMA	
Tipo	Batch (intermitente)	
Modelo	EKM 321	
Descripción del equipo	Equipo económico y compacto para lotes pequeños	
Tipo de transporte	Rueda estrellada	
Jeringas procesadas	Material	Vidrio o plástico
	Volumen (ml)	0.5 - 20
Capacidad de trabajo (jeringas/h)	3600	
Alimentación y descarga de las jeringas	Pista de avance inclinada o lineal	
Alimentación del vástago		
Dirección de trabajo	En sentido horario	
Operadores requeridos	1	
Espacio requerido (m ²)	4	



Figura 8.28 – a) Máquina de envasar completa. b) Ampliación del sistema de alimentación de los vástagos

8.4.18. Motores para Agitadores

Debido a que los volúmenes procesados en ningún equipo superan los 200 L, se adoptan motores de escala piloto, optimizados para la operación con fluidos de elevada viscosidad. En las operaciones que requieren el mantenimiento de una velocidad constante se seleccionan motores electrónicos ya que mantienen un torque constante para todas las velocidades, mientras que para operaciones donde la velocidad es variable (fermentación) se seleccionan motores mecánicos, los cuales presentan torque elevado a bajas velocidades, y disminuye a medida que la velocidad de agitación aumenta. La siguiente tabla muestra los requisitos de operación de cada tanque, y el equipo adoptado en cada caso.

Tabla 8.46 - Especificaciones técnicas de motores para agitadores

	Condiciones requeridas	Motor adoptado	Condiciones requeridas	Motor adoptado
Equipo	M-03		M-04	
Marca		HEIDOLPH		HEIDOLPH
Modelo		RZR-1		RZR-1
Volumen máximo (L)	15.3	20	15.3	20
Viscosidad máxima (mPa.s)	1	40000	1	40000
Velocidad máxima (rpm)	150	35 - 250	150	35 - 250
Par de giro máximo (Ncm)	23.88	100	26.26	100
Consumo (W)		77		77
Potencia (W)	3.75	18	4.125	18
Rendimiento		23%		23%
Equipo	M-05		M-06	
Marca		HEIDOLPH		IKA
Modelo		RZR-2102		RW 47 D
Volumen máximo (L)	68	100	122	200
Viscosidad máxima (mPa.s)	1020	100000	1.17	100000
Velocidad máxima (rpm)	100	12 - 400	200	57 - 275
Par de giro máximo (Ncm)	171.90	200	1146	3000
Consumo (W)		140		513
Potencia (W)	18	100	238.62	370
Rendimiento		71%		57%
Equipo	M-07		M-08	
Marca		HEIDOLPH		HEIDOLPH
Modelo		RZR-2041		RZR-2102
Volumen máximo (L)	34	40	67	100
Viscosidad máxima (mPa.s)	486	100000	1150	100000
Velocidad máxima (rpm)	120	40 - 400	100	400 - 2000
Par de giro máximo (Ncm)	71.63	520	143.25	200
Consumo (W)		70		140
Potencia (W)	9	37	15	100
Rendimiento		53%		71%
Equipo	M-09		M-10	
Marca		HEIDOLPH		IKA
Modelo		RZR-2102		RW 47 D
Volumen máximo (L)	66	100	133	200
Viscosidad máxima (mPa.s)	1141	100000	1.17	100000
Velocidad máxima (rpm)	100	400 - 2000	200	57 - 275
Par de giro máximo (Ncm)	121.76	200	1253.44	3000
Consumo (W)		140		513
Potencia (W)	12.5	100	262.5	370
Rendimiento		71%		57%

Equipo	Reactor C-02		Reactor C-03	
Marca	IKA		HEIDOLPH	
Modelo	RW 47 D		RZR-1	
Volumen máximo (L)	34	200	3.35	20
Viscosidad máxima (mPa.s)	2000	100000	36705	40000
Velocidad máxima (rpm)	20-250	57 - 275	180	35 - 250
Par de giro máximo (Ncm)	2292.00	3000	60	100
Consumo (W)	513		77	
Potencia (W)	60	370	11.25	18
Rendimiento	72%		23%	



Figura 8.29 –Modelo de motores adoptados

8.4.19. Cámara para descontaminación A-01

Se adquiere un módulo para la descontaminación de los operarios al ingreso de las salas de producción. Consiste en una cámara de acero inoxidable con duchas de aire y filtros HEPA (99.99% de eficiencia, partículas de 0.3 μm)

Tabla 8.47 – Especificaciones cámara de descontaminación

Marca	Terra Universal	
Tipo	Ducha de aire – Acero inoxidable	
Modelo	6010-13A	
Descripción del equipo	Cámara de acero inoxidable con 3 puertas de aluminio anodizado, no incluye piso	
Dimensiones	Ancho (mm)	2000
	Largo (mm)	2500
	Alto (mm)	3048

Características soplador/filtro	Velocidad (RPM)	3600
	Caudal de aire (m ³ /min)	51.54
	Alimentación	Trifásica – 230 V
	Consumo (kW)	3.73



Figura 8.30 – Cámara de descontaminación

8.4.20. Acondicionadores de aire A-02 y A-03

Las salas de producción requieren aire de calidad farmacológica, por lo tanto se adoptan sistemas de purificación de aire.

Tabla 8.48 – Acondicionador de aire A-02

Marca	Abatement
Modelo	HEPA-CARE HC600F
Descripción	Sistema de purificación de aire ligero y portátil.
Ubicación	Sala de fermentación
Flujo de aire (m ³ /min)	4.25 - 19.11
Cambios de aire por hora (m ³)	12+ CAH (70 – 85)
Dimensiones (m – W x D x H)	0.46 x 0.5 x 1.08
Alimentación	120 V -50 Hz
Consumo (W)	125
Pre-filtro	Filtro particulado de 2" con inhibidor de crecimiento microbiano.
Filtro	Filtro HEPA de grado farmacéutico, eficiencia de 99.99% y retención de partículas de hasta 0.3 μm

Tabla 8-49 – Acondicionador de aire A-03

Marca	Abatement
Modelo	HEPA-CARE HC800C
Descripción	Sistema de purificación de aire empotrado en cielorraso.
Ubicación	Sala de purificación y entrecruzamiento
Flujo de aire (m ³ /min)	7.08 – 21.24

Cambios de aire por hora (m ³)	12+ CAH (85 - 100)
Dimensiones (m – W x D x H)	0.6 x 0.41 x 1.08
Alimentación	120 V -50 Hz
Consumo (W)	125
Pre-filtro	Filtro particulado de 2" con inhibidor de crecimiento microbiano.
Filtro	Filtro HEPA de grado farmacéutico, eficiencia de 99.99% y retención de partículas de hasta 0.3 µm
N° de unidades adoptadas	2



Figura 8.31 – Acondicionadores de aire adoptados

8.4.21. Bombas

La fuerza impulsora necesaria para que un líquido fluya de un punto a otro en una tubería es suministrada por bombas que incrementan la energía mecánica del fluido para aumentar la velocidad, presión y elevación de los mismos.

Durante el proceso de producción de HA lineal y entrecruzado se opera con dos tipos diferentes de fluidos, newtonianos y no newtonianos, los cuales requieren de diferentes tipos de bombas para su transporte. Para el primer caso se adoptan bombas centrifugas debido a que estas son indicadas para el transporte de líquidos de baja viscosidad, en un amplio rango de caudales y presión, con un costo inicial bajo y un menor mantenimiento.

Para el caso de los fluidos no newtonianos se utilizan bombas de lóbulos, incluidas dentro del grupo de las rotatorias de desplazamiento positivo, debido a que desarrollan altas presiones para altos o bajos caudales y operan con fluidos con altas viscosidades. Su tasa de flujo está limitada por la velocidad de la bomba, la cual generalmente es baja y depende de la viscosidad del líquido. Las bombas lobulares son fáciles de limpiar y se caracterizan por una suave acción de bombeo, presentan pocas cavidades por lo cual se reduce el riesgo de crecimiento bacteriano. Tienen una amplia aplicación en industrias de alimentos, química, farmacéutica y cosméticas entre otras.

A continuación en la tabla 8.50 se resumen los caudales y las propiedades de todas las corrientes del proceso que se toman como base para el cálculo de las bombas.

Tabla 8.47 - Parámetros de cálculo y codificación de las bombas del proceso

Código de la bomba	Tipo de bomba	Equipo de precedencia	Equipo de destino	μ (kg/m.s)	n	K (Pa.s ⁿ)	ρ (kg/m ³)	Caudal (L/min)
P-01	Centrifuga	R-03	C-02	0.0010	-	-	1067.32	5.00
P-02	Centrifuga	R-04	C-02	0.0021	-	-	1160.78	5.00
P-03	Lobular	C-02	R-05	-	0.175	8.69	1080.88	5.00
P-04	Lobular	R-05	S-01	-	0.538	3.92	1037.79	4.05
P-05	Lobular	R-07	R-08	-	0.120	9.20	1032.65	5.00
P-06	Lobular	R-08	S-01	-	0.120	9.20	1052.65	2.76
P-07	Lobular	R-09	R-10	-	0.570	3.69	1017.01	0.67
P-08	Lobular	R-10	R-10	-	0.615	3.43	1002.80	2.62
P-09	Lobular	R-10	R-11	-	0.615	3.43	1006.82	5.00
P-10	Lobular	C-03	R-12	-	0.070	9.80	1041.60	3.43
P-11	Lobular	R-12	F-03	-	0.100	9.50	1017.10	5.00
P-12	Lobular	F-03	R-13	-	0.100	9.50	1018.80	4.89
P-A	Centrifuga	B-02	R-06 y R-11	0.00208	-	-	790.00	7.50
P-D	Centrifuga	F-02	B-04	0.001	-	-	1445.52	2.04
P-D	Centrifuga	F-03	B-04	0.001	-	-	1003.70	5.00

8.4.21.1. Cálculo de las bombas

El procedimiento general para el cálculo de las bombas es el mismo independientemente del tipo de bomba que se utiliza. A continuación se detallan los pasos a seguir para el cálculo de una bomba que transporta un fluido newtoniano, aclarando la diferencia en caso de que exista para un fluido no newtoniano:

- I. Definir la distribución y elevación para los equipos y tuberías. Tener en consideración el diámetro y la altura de los tanques, el nivel del líquido, altura de los puntos de carga y descarga, ubicación de las bombas y accesorios como válvulas, uniones, codos, te, etc.
- II. Estimar la longitud en los distintos tramos de tuberías.
- III. Calcular los requisitos de flujo tales como la velocidad del fluido (V), la temperatura (si es diferente a la ambiental), la presión (P) y el diámetro interior de la tubería (Di). Las velocidades se pueden adoptar según la tabla 8.1 del libro McCabe (McCABE, et al., 2001) o calcular de acuerdo a lo requerido para los equipos adoptados.
- IV. Estimar las pérdidas de carga total por fricción y accesorios:

$$h_f = 4 \times f \times \frac{L_{eq}}{D_i} \times \frac{V^2}{2 \cdot g_c} \quad [8.44]$$

Donde f es el factor de fricción y L_{eq} es la longitud equivalente que se calcula como la suma de la longitud de cañería y la correspondiente a los accesorios. Esta última se obtiene gráficamente (OCON GARCIA & TOJO BARREIRO, 1980) y en caso de los fluidos no newtonianos se utiliza una gráfica similar a la utilizada para los fluidos newtonianos pero con una corrección para diferentes rangos de viscosidades. (ARRIBASPLATA, 2005)

El factor de fricción se obtiene gráficamente para un fluido newtoniano a partir del número de Reynolds y del coeficiente de rugosidad. En el caso de un fluido no newtoniano se obtiene un Reynolds generalizado (Re_G) y uno crítico (Re_C), de manera que se cumpla que $Re_G < Re_C$ para asegurar un flujo laminar. Finalmente se calcula $f=16/Re_G$.

$$Re_G = \frac{D_i^n \times V^{2-n} \times \rho}{K \times 8^{n-1} \times \left(\frac{3n+1}{4n}\right)^n} \quad [8.45]$$

Donde n es el índice del comportamiento del flujo y K el índice de consistencia. (ARRIBASPLATA, 2005)

- V. Estimar la pérdida de carga de los equipos como los filtros.

- VI. Calcular la altura de impulsión neta requerida y el trabajo de la bomba utilizando la ecuación de Bernoulli:

$$\eta \cdot W_B + \frac{P_1}{\delta} + \frac{g \cdot Z_1}{g_c} + \frac{V_1^2}{2 \cdot g_c} = \frac{P_2}{\delta} + \frac{g \cdot Z_2}{g_c} + \frac{V_2^2}{2 \cdot g_c} + h_f \quad [8.46]$$

Donde η es el rendimiento mecánico de la bomba, W_B es el trabajo de la bomba si fuera ideal (m), P_1 y P_2 son las presiones de succión y descarga respectivamente (kg/m^2), δ es la densidad del fluido (kg/m^3), Z_1 y Z_2 son las alturas del nivel del líquido en los puntos de succión y descarga respectivamente (m), V_1 y V_2 son las velocidades lineales del fluido en los puntos de succión y descarga respectivamente (m/s), g es la aceleración de la gravedad (m/s^2) y g_c es el factor de proporcionalidad de la ley de Newton.

- VII. Determinar la altura neta de succión positiva disponible ($NPSH_D$) en la aspiración de la bomba:

$$NPSH_D = P_O - P_V \pm H_S - h_{fs} \quad [8.47]$$

Donde P_O es la presión absoluta en el nivel de succión (m), P_V es la presión de vapor del líquido a temperatura de bombeo (m), H_S es la altura estática de succión (m) que será positiva cuando la bomba esté debajo del nivel de succión o negativa cuando esté por encima y h_{fs} son las pérdidas de carga por fricción y accesorios en el tramo antes de la bomba (m).

- VIII. Seleccionar una bomba de los catálogos de los fabricantes considerando la altura de impulsión neta y el NPSH requerido, de forma que se cumpla que $NPSH_D > NPSH_R$.

- IX. Determinar la potencia del motor en función de su rendimiento:

$$W_{real} = \frac{W_B}{\eta} \quad [8.48]$$

8.4.21.2. Adopción de bombas

En las tablas 8.52 a 8.65 se detallan los datos específicos para el cálculo de cada bomba, los resultados obtenidos, los parámetros de adopción y el correspondiente equipo adoptado. En la tabla 8.51 se muestran las referencias utilizadas para nombrar los accesorios.

Tabla 8.51 - Referencia de los accesorios.

Referencia	Accesorio	Referencia	Accesorio
C	Codo gran curvatura (C)	EO	Embocadura ordinaria (EO)
T	Conexión en T	ET	Empalme en T (ET)
TV	Conexión T con válvula (TV)	EB ½	Ensanchamiento brusco EB 1/2
CB ½	Contracción brusca (CB1/2)	EB ¼	Ensanchamiento brusco EB 1/4
CT	Cruce de T (CT)	V	Válvula de asiento (general) (V)

Tabla 8.52 – Bomba P-01

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-03 a C-02	Coefficiente de fricción	0.04
	Accesorios	V + 4C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.37
	Longitud equivalente total (m)	13.84
Tramo de succión de R-03 a P-01	Coefficiente de fricción	0.04
	Accesorios	V + C + EO
	Carga estática (m)	0.37
	Longitud equivalente total (m)	10.61
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		0.12
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		0.09
Altura de la bomba (m)		0.49
Potencia calculada (W)		0.43
NPSH _D (m)		8.97
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Potencia requerida (W)		0.43
Potencia entregada al caudal requerido (W)		0.48
Eficiencia de la bomba		0.89
Bomba seleccionada		
Tipo		Centrifuga
Marca		IWAKI
Modelo		MD-6
Altura máx. de trabajo (m)		1
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		8
NPSH _R (m)		1
Motor*	Potencia de entrada (W)	22
	Potencia salida (W)	3
	Eficiencia	0.14
	Alimentación	220 V - Monofásico

* El motor viene incluido con la bomba

Tabla 8.53 – Bomba P-02

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-04 a C-02	Coefficiente de fricción	0.028
	Accesorios	V + 4C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.37
	Longitud equivalente total (m)	13.84
Tramo de succión de R-04 a P-02	Coefficiente de fricción	0.028
	Accesorios	V + C + EO
	Carga estática (m)	0.37
	Longitud equivalente total (m)	10.61
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		0.08
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		0.06
Altura de la bomba (m)		0.45
Potencia calculada (W)		0.43
NPSH _D (m)		8.16
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Potencia requerida (W)		0.43
Potencia entregada al caudal requerido (W)		0.52
Eficiencia de la bomba		0.82
Bomba seleccionada		
Tipo		Centrifuga
Marca		IWAKI
Modelo		MD-6
Altura máx. de trabajo (m)		1
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		8
NPSH _R (m)		1
Motor*	Potencia de entrada (W)	22
	Potencia salida (W)	3
	Eficiencia	0.14
	Alimentación	220 V - Monofásico

* El motor viene incluido con la bomba

Tabla 8.54 – Bomba P-03

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de C-02 a R-05	Coefficiente de fricción	1.36
	Accesorios	V + 4C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.085
	Longitud equivalente total (m)	11.10
Tramo de succión de C-02 a P-03	Coefficiente de fricción	1.36
	Accesorios	V + EO + C
	Carga estática (m)	0.564
	Longitud equivalente total (m)	0.786
	Presión de vapor del fluido (m)	0.430
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		3.28
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		2.47
Altura de la bomba (m)		3.36
Potencia calculada (W)		2.97
NPSH _D (m)		11.03
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Caudal de la bomba (L/min)		6.50
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.77
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		200
Potencia de alimentación (W)		68
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		4.48
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.28
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.55 – Bomba P-04

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		4.05
Velocidad del líquido (m/s)		0.1332
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-05 a S-01	Coefficiente de fricción	3.52
	Accesorios	V + C + TV + CB ½ + EO
	Carga estática neta (m)	-0.5
	Longitud equivalente total (m)	10.085
Tramo de succión de R-05 a P-04	Coefficiente de fricción	3.52
	Accesorios	V + EO
	Carga estática (m)	0.55
	Longitud equivalente total (m)	7.45
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		5.06
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		3.74
Altura de la bomba (m)		4.64
Potencia calculada (W)		3.18
NPSH _D (m)		12.71
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		4.05
Caudal de la bomba (L/min)		4.13
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.98
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		120
Potencia de alimentación (W)		58
NPSH _R (m)		1.6
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		COOT2 0.33
Velocidad de entrada (rpm)		1370
Relación de reducción		11.42
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.24
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.56 – Bomba P-05

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-07 a R-08	Coefficiente de fricción	1.20
	Accesorios	V + 3C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.10
	Longitud equivalente total (m)	9.95
Tramo de succión de R-07 a P-05	Coefficiente de fricción	1.20
	Accesorios	V + EO
	Carga estática (m)	0.46
	Longitud equivalente total (m)	0.20
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.59
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		1.91
Altura de la bomba (m)		2.69
Potencia calculada (W)		2.27
NPSH _D (m)		11.03
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Caudal de la bomba (L/min)		6.50
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.77
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		200
Potencia de alimentación (W)		46
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		4.48
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.19
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.57 – Bomba P-06

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		2.76
Velocidad del líquido (m/s)		0.091
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-08 a S-01	Coefficiente de fricción	3.58
	Accesorios	$V + 2C + TV + CB \frac{1}{2} + EO$
	Carga estática neta (m)	-0.38
	Longitud equivalente total (m)	10.74
Tramo de succión de R-08 a P-06	Coefficiente de fricción	3.58
	Accesorios	$V + C + EO$
	Carga estática (m)	0.46
	Longitud equivalente total (m)	7.92
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.55
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		1.88
Altura de la bomba (m)		2.25
Potencia calculada (W)		1.07
NPSH _D (m)		10.81
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		2.76
Caudal de la bomba (L/min)		3.76
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.73
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		120
Potencia de alimentación (W)		43
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		COOT2 0.33
Velocidad de entrada (rpm)		1370
Relación de reducción		11.42
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.18
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.58 – Bomba P-07

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		0.67
Velocidad del líquido (m/s)		0.022
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-09 a R-10	Coefficiente de fricción	49.71
	Accesorios	V + 4C + EB + EB ½ + CB ½ + EO
	Carga estática neta (m)	0.10
	Longitud equivalente total (m)	11.15
Tramo de succión de R-09 a P-07	Coefficiente de fricción	49.71
	Accesorios	V + EO
	Carga estática (m)	0.56
	Longitud equivalente total (m)	7.42
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.16
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		1.44
Perdidas de carga por el filtro F-01 (m)		10
Altura de la bomba (m)		12.26
Potencia calculada (W)		1.36
NPSH _D (m)		10.61
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		0.67
Caudal de la bomba (L/min)		0.75
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.89
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		30
Potencia de alimentación (W)		17
NPSH _R (m)		1.7
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		C00T2 0.33
Velocidad de entrada (rpm)		1370
Relación de reducción		45.67
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.07
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.59 – Bomba P-08

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		2.62
Velocidad del líquido (m/s)		0.086
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-10 a R-10	Coefficiente de fricción	7.67
	Accesorios	V + 5C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.11
	Longitud equivalente total (m)	11.45
Tramo de succión de R-10 a P-08	Coefficiente de fricción	7.67
	Accesorios	V + C + EO
	Carga estática (m)	0.55
	Longitud equivalente total (m)	8.13
Presión de vapor del fluido (m)		0.43
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		5.24
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		3.72
Perdidas de carga por el filtro F-02 (m)		15.25
Altura de la bomba (m)		20.60
Potencia calculada (W)		8.84
NPSH _D (m)		13.04
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		2.62
Caudal de la bomba (L/min)		2.70
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.97
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		70
Potencia de alimentación (W)		48
NPSH _R (m)		1.7
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		C00T2 0.33
Velocidad de entrada (rpm)		1370
Relación de reducción		19.57
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.20
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.60 – Bomba P-09

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-10 a R-11	Coefficiente de fricción	3.12
	Accesorios	V + 4C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.28
	Longitud equivalente total (m)	12.70
Tramo de succión de R-10 a P-09	Coefficiente de fricción	3.12
	Accesorios	V + EO
	Carga estática (m)	0.55
	Longitud equivalente total (m)	7.44
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		8.61
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		5.05
Altura de la bomba (m)		8.89
Potencia calculada (W)		7.31
NPSH _D (m)		14.33
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Caudal de la bomba (L/min)		5.08
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.98
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		150
Potencia de alimentación (W)		77
NPSH _R (m)		1.8
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		5.97
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.32
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.61 – Bomba P-10

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		3.43
Velocidad del líquido (m/s)		0.113
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de C-03 a R-12	Coefficiente de fricción	2.10
	Accesorios	V + 3C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.16
	Longitud equivalente total (m)	10.25
Tramo de succión de C-03 a P-10	Coefficiente de fricción	2.10
	Accesorios	V + EO
	Carga estática (m)	0.26
	Longitud equivalente total (m)	7.28
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.20
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		1.56
Altura de la bomba (m)		2.36
Potencia calculada (W)		1.38
NPSH _D (m)		10.79
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		3.43
Caudal de la bomba (L/min)		5.07
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.67
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		150
Potencia de alimentación (W)		35
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		5.97
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.15
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.62 – Bomba P-11

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de R-12 a F-03	Coefficiente de fricción	1.15
	Accesorios	V + 4C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	0.40
	Longitud equivalente total (m)	11.90
Tramo de succión de R-12 a P-11	Coefficiente de fricción	1.15
	Accesorios	V + C + EO
	Carga estática (m)	0.80
	Longitud equivalente total (m)	8.15
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.98
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		2.04
Altura de la bomba (m)		3.38
Potencia calculada (W)		2.81
NPSH _D (m)		10.96
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Caudal de la bomba (L/min)		6.84
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.73
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		200
Potencia de alimentación (W)		42
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		4.48
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.17
Alimentación		220 V - Trifásico

Tabla 8.63 – Bomba P-12

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		4.89
Velocidad del líquido (m/s)		0.1610
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de F-03 a R-13	Coefficiente de fricción	1.20
	Accesorios	V + 3C + EB + EO
	Carga estática neta (m)	-0.17
	Longitud equivalente total (m)	9.95
Tramo de succión de F-03 a P-12	Coefficiente de fricción	1.20
	Accesorios	V + C + EO
	Carga estática (m)	0.17
	Longitud equivalente total (m)	7.78
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Pérdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		2.48
Pérdida por fricción y accesorios en tramo de succión (m)		1.94
Altura de la bomba (m)		2.31
Potencia calculada (W)		1.88
NPSH _D (m)		11.48
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		4.89
Caudal de la bomba (L/min)		6.56
Eficiencia volumétrica de la bomba		0.75
Bomba adoptada		
Tipo		Lobular
Marca		INOXPA
Modelo		SLR 0-25
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		28.33
Desplazamiento (L/rev)		0.03
Velocidad máx. (rpm)		950
Velocidad de operación para el caudal requerido (rpm)		200
Potencia de alimentación (W)		40
NPSH _R (m)		1.5
Motorreductor adoptado		
Marca		LENTAX
Modelo		FR 0.33/6
Velocidad de entrada (rpm)		895
Relación de reducción		4.48
Potencia de entrada del motor (W)		240
Eficiencia		0.17
Alimentación		220 - Trifásico

Tabla 8.64 – Bomba P-A

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		7.5
Velocidad del líquido (m/s)		0.2468
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de B-02 a R-11	Coefficiente de fricción	0.027
	Accesorios	$V + 6C + EB + EO + ET + EB\frac{1}{2} + CB\frac{1}{2}$
	Carga estática neta (m)	0.37
	Longitud equivalente total (m)	23.02
Tramo de succión de B-02 a P-A	Coefficiente de fricción	0.027
	Accesorios	$V + C + EO$
	Carga estática (m)	0.76
	Longitud equivalente total (m)	10.49
	Presión de vapor del fluido (m)	0.78
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		0.30
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión(m)		0.14
Perdida de carga por el filtro F-05 (m)		5.16
Altura de la bomba (m)		5.83
Potencia calculada (W)		5.64
NPSH _D (m)		11.68
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		7.50
Potencia requerida (W)		5.64
Potencia entregada al caudal requerido (W)		6.58
Eficiencia de la bomba		0.86
Bomba seleccionada		
Tipo		Centrifuga
Marca		IWAKI
Modelo		MD-30RZ
Altura máx. de trabajo (m)		8
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		15
NPSH _R (m)		1
Motor *	Potencia de entrada (W)	70
	Potencia salida (W)	45
	Eficiencia	0.64
	Alimentación	220 - Monofásico
*El motor viene incluido con la bomba.		
**Esta bomba se adopta de acuerdo a los requerimientos del tramo más largo ya que los dos tramos nunca funcionan en simultáneo.		
***Los materiales de construcción de la bomba son todos compatibles con el fluido transportado.		

Tabla 8.65 – Bomba P-D

Parámetros para el cálculo		
Cañería	Material	Acero inoxidable AISI 304
	Diámetro interior (mm)	26.64
	Diámetro exterior (mm)	33.4
	Espesor de la pared	Cédula 40
Caudal volumétrico de la corriente (L/min)		5
Velocidad del líquido (m/s)		0.1645
Presión del sistema (atm)		1
Tramo completo de F-03 a B-04	Coefficiente de fricción	0.04
	Accesorios	V + 6C + EB + EO + 2CT
	Carga estática neta (m)	1.33
	Longitud equivalente total (m)	25.84
Tramo de succión de F-03 a P-D	Coefficiente de fricción	0.04
	Accesorios	V + 4C + CT
	Carga estática (m)	0.12
	Longitud equivalente total (m)	21.29
	Presión de vapor del fluido (m)	0.43
Resultados obtenidos		
Perdida por fricción y accesorios en tramo total (m)		0.22
Perdida por fricción y accesorios en tramo de succión(m)		0.19
Altura de la bomba (m)		1.55
Potencia calculada (W)		1.27
NPSH _D (m)		9.93
Parámetros de adopción		
Caudal requerido (L/min)		5.00
Potencia requerida (W)		1.27
Potencia entregada al caudal requerido (W)		1.56
Eficiencia de la bomba		0.82
Bomba seleccionada		
Tipo		Centrifuga
Marca		IWAKI
Modelo		MD-15R
Altura máx. de trabajo (m)		2.4
Capacidad volumétrica máx. (L/min)		16
NPSH _R (m)		1
Motor*	Potencia de entrada (W)	26
	Potencia salida (W)	10
	Eficiencia	0.38
	Alimentación	220 V - Monofásico
*El motor viene incluido con la bomba.		
**Esta bomba se adopta de acuerdo a los requerimientos del tramo más largo ya que los dos tramos nunca funcionan en simultáneo.		

Capítulo 9

Obras Civiles

9. OBRAS CIVILES

9.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se realiza la distribución física de todas las áreas que conforman las instalaciones de la planta y se describen los detalles de construcción de cada uno de los sectores. Además se realiza el *layout* de los equipos, el cual es necesario para el cálculo de cañerías y bombas.

La distribución física tiene muchas consecuencias prácticas y estratégicas. Una buena distribución facilita el flujo de materiales, aumenta la eficiencia en la utilización de la mano de obra y equipos, y reduce los peligros para los trabajadores.

El tipo de operación que se realice determinara los requisitos de distribución de espacio. Cuando los volúmenes no son tan altos como para que se justifique dedicar una línea de múltiples trabajadores a un solo producto se implementa una distribución híbrida, la cual facilita flujos en línea, el manejo de materiales es más sencillo, los tiempos de preparación son bajos y el costo de mano de obra es menor. Se establecen líneas de trabajo suficientemente pequeñas para mantener ocupado a un solo trabajador, el cual maneja varias máquinas en un mismo turno de trabajo para crear un flujo en línea. Este modo de trabajo reduce los requisitos tanto de inventario como de mano de obra. (KRAJEWSKI & RITZMAN, 2000)

9.2. REQUISITOS DE ESPACIO

En el capítulo sobre Localización de la planta (Capítulo 4) se determinó que la planta de procesos estará ubicada en las inmediaciones de las instalaciones del Laboratorio Internacional Argentino (LIA), el cual dispone de suficiente terreno libre para realizar nuevas edificaciones.



Figura 9.1 – Área libre para edificación (Naranja) y superficie aproximada de la planta de HA (Violeta)

La zona al norte del terreno dispone de aproximadamente 4000 m² libres, por lo que el edificio se ubicará en este sector tal como se muestra en la figura 9.1.

9.3. DESCRIPCIÓN DE ÁREAS REQUERIDAS

El predio de LIA cuenta con un único acceso principal, por donde ingresa el personal y el transporte. La carga y descarga de camiones se realiza en la playa ubicada al ingreso del predio, mientras que el personal cuenta con dos accesos pavimentados y bien iluminados para ingresar al edificio. El ingreso al sector destinado a la producción de HA se realiza por estas vías.

El proceso de producción de HA puede dividirse en tres áreas: fermentación, purificación y entrecruzamiento. Al ingreso de las salas de producción se ubica una antesala de descontaminación a través de la cual deben ingresar los operarios. El área destinada a la fermentación debe estar aislada de las demás debido a la manipulación de microorganismos y los elevados requerimientos de esterilidad ambiental, por lo cual se planifica su construcción separada de las demás áreas. Los sectores de purificación y entrecruzamiento pueden encontrarse en el mismo espacio, ya que los requerimientos no son tan estrictos. Se incluyen tres salas de almacenamiento: una para insumos del área de fermentación, otra para insumos de las áreas de purificación y entrecruzamiento, y una última para el almacenamiento de productos terminados.

La instalación debe contar además con las salas mínimas requeridas por el personal, estas son un vestuario, un baño y una oficina para realizar tareas administrativas y archivar registros. Se planifica además un laboratorio de control de calidad con equipamiento mínimo para realizar controles inherentes a la producción, las materias primas y los productos terminados.

Se prevé compartir ciertos sectores con LIA, ya que no se justifica la creación de instalaciones nuevas. Estos sectores son: cocina y sala de descanso para el personal, almacén de productos de limpieza y taller de mantenimiento.

9.4. DISTRIBUCIÓN FÍSICA DETALLADA

Al planificar la distribución se busca optimizar el manejo de materiales, de manera tal que la línea principal de proceso recorra siempre distancias cortas. Además, para facilitar el mantenimiento de los equipos, se consideran los espacios adecuados y accesos a todas las unidades. (KRAJEWSKI & RITZMAN, 2000)

En la figura 9.2 se muestra el plano del *layout* de la planta, con las correspondientes medidas de cada sala y la distribución de los equipos en cada una de ellas. Para realizar la distribución se consideraron las dimensiones específicas de cada equipo y se dejó el espacio suficiente para

la circulación, en forma de corredores y accesos. En la tabla 9.1 se resumen las dimensiones y superficies de cada sector.

Tabla 9.1 – Dimensiones de áreas requeridas

Sector		Dimensiones (m)	Superficie (m ²)
Sala de producción	Fermentación	4.55 x 2.00	9.10
	Purificación y Entrecruzamiento	11.45 x 5.65	58.8
Laboratorio de Calidad		4.00 x 4.00	16.0
Oficina		3.50 x 2.00	7.00
Antesala de descontaminación		2.50 x 2.00	5.00
Vestuario		3.45 x 2.00	6.90
Baño		1.50 x 2.00	3.00
Pasillo		8.95 x 1.50	13.4
Almacén de insumos I		1.00 x 2.00	2.00
Almacén de insumos II		1.50 x 2.35	3.56
Almacén de productos terminados		1.50 x 1.50	2.25
Superficie total requerida			127.0

La oficina se encuentra cercana al ingreso del edificio, ya que a esta pueden acceder terceros no relacionados con la planta. El baño resulta accesible desde el pasillo principal, y se encuentra contiguo al vestuario y la oficina. El vestuario se conecta con la antesala de descontaminación, de manera tal que los operarios que ingresan en ella no circulan por otras zonas antes de ingresar a las salas de producción. Las zonas de purificación y entrecruzamiento se encuentran en un mismo espacio, pero los equipos se agrupan por área de proceso.

Para cada área se planifica una mesada de trabajo, con la función de ubicar equipos pequeños o para realizar tareas manuales. En la figura 9.2, todos los equipos o mesadas resaltados en rojo son aquellos a los cuales el operario debe tener acceso, y por lo tanto cuentan con pasillos para acceder a los mismos.

Los almacenes de materia prima se ubican contiguos a las áreas donde se requieren los insumos, ya que el acceso desde las mismas es más frecuente que el ingreso de nuevos pedidos. Los depósitos tienen capacidad suficiente para almacenar la materia prima requerida durante aproximadamente 4 meses. El almacén de productos terminados se ubica cercano a la salida de la planta.

En el exterior se ubican el tanque de almacenamiento de alcohol isopropílico y los tanques para los desechos líquidos y sólidos. Los tanques de suministro de agua para consumo general y agua de proceso se ubican en el techo del edificio.

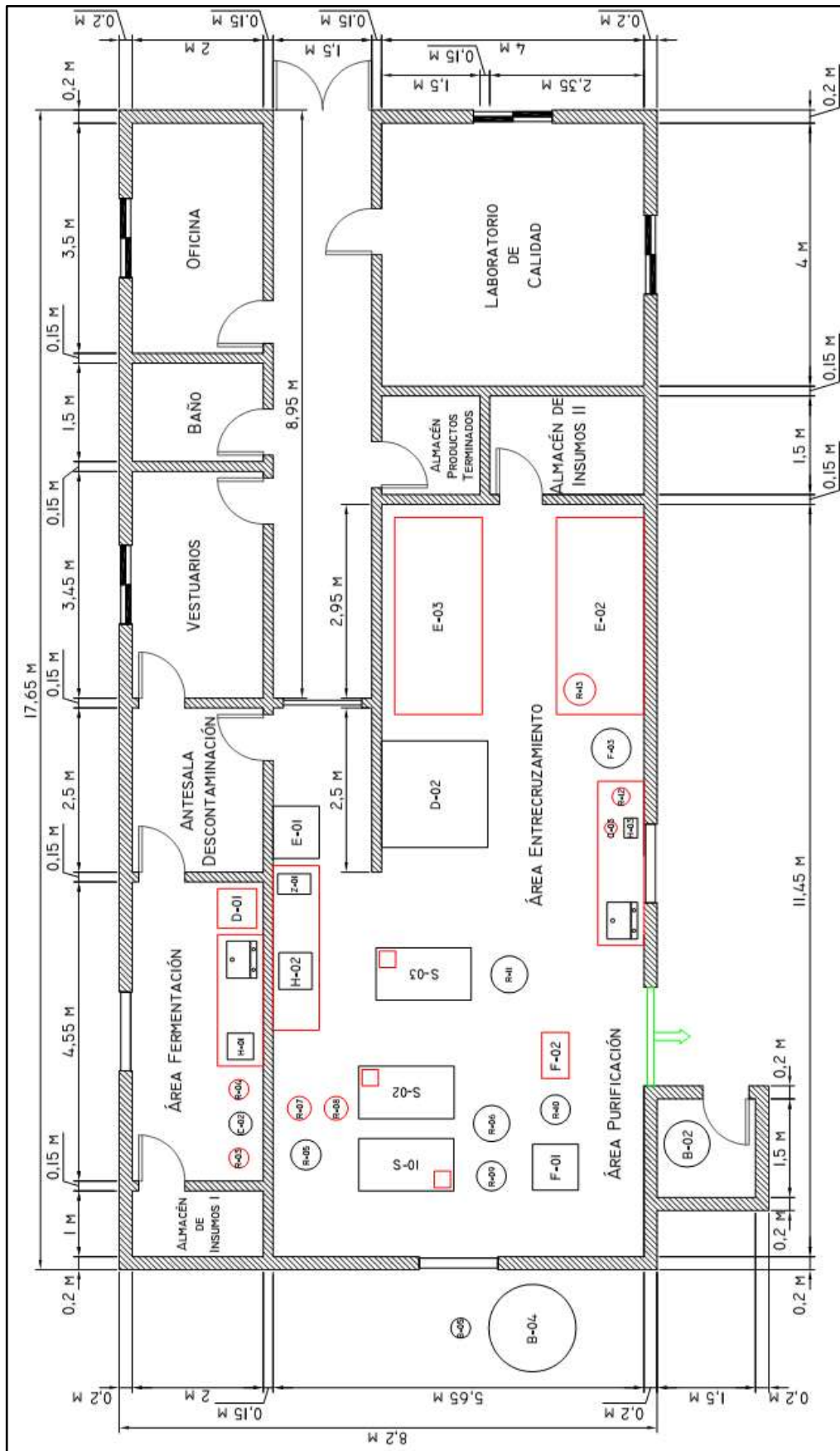


Figura 9.2 – Layout de proceso acotado

9.5. CARACTERÍSTICAS EDILICIAS GENERALES

9.5.1. Mampostería y techo

El techo del edificio consiste en una losa de hormigón armado a una altura de 4 m, con pintura impermeabilizante, capa termoaislante de poliestireno expandido y protección con membrana asfáltica, con una pendiente del 2% para evacuación del agua de lluvia mediante caños de PVC reforzado embutidos en los muros. Las paredes externas son de bloques cerámicos de 12 x 19 x 40 cm, el acabado exterior está compuesto por hidrófugo, revoque grueso, revoque fino y pintura látex, mientras que el interior es de la misma forma excepto que no contiene hidrófugo. Las paredes interiores son de ladrillo común macizo de 15 cm, revocadas y pintadas con látex blanco. (NISMOVICH, 2006)

Las paredes y techo de la sala de fermentación, así como los de la sala de purificación y entrecruzamiento, se encuentran recubiertos con paneles laminados con resina fenólica para permitir su fácil limpieza y desinfección. Todos los ángulos son redondeados para evitar la acumulación de suciedad.

Las paredes del vestuario, baño y laboratorio se revisten con azulejos hasta una altura de 3 m. (COLFARMA BS.AS., 2012)

9.5.2. Pisos

Los pisos de la oficina, pasillo, baño, vestuario, almacén de productos terminados y laboratorio son de hormigón revestidos con baldosas cerámicas esmaltadas antideslizantes. En el caso del baño, cuenta con rejilla para desagüe.

Los pisos de la sala de fermentación, sala de purificación y entrecruzamiento y los almacenes de insumos son de hormigón revestido con pintura epóxica. Cuentan con declive, rejilla y desagüe.

9.5.3. Aberturas

Todas las puertas interiores son simple hoja, de aluminio con un ancho de 70 cm, y abren hacia afuera. Las puertas de la sala de fermentación, sala de producción y laboratorio son de tipo sanitarias, resistentes al fuego y cuentan con ventanas tipo ojo de buey para permitir la observación al paso (RODRÍGUEZ MÉNDEZ & CÁRCEL CARRASCO, 2013). La sala de purificación y entrecruzamiento cuenta con una puerta doble con barrales antipánico para salida de emergencia. La puerta de la oficina incluye un vidrio esmerilado, mientras que la puerta de acceso a la planta es doble hoja acristalada, de 1.5 m de ancho y barrales antipánico.

Se incorpora un sistema de control de acceso en aquellas puertas a las cuales no puede ingresar cualquier persona, estas son las que permiten el acceso al laboratorio de calidad y al almacén de productos terminados. Solo el personal autorizado puede ingresar a dichas áreas.

Todas las salas cuentan con ventanas de aluminio corredizas de 120 x 90 cm, excepto en las salas de producción donde son fijas. Al final del pasillo de ingreso se encuentra una ventanilla especial para el paso de materiales, equipada con un dispositivo que evita que la apertura de la misma sea simultánea en ambos lados. A través de esta ventanilla se realiza el traspaso de productos terminados y de muestras de proceso que deben analizarse en el laboratorio.

Se incorpora un sistema de vigilancia mediante cámaras ubicadas en el pasillo principal para controlar todos los movimientos internos dentro de la planta.

9.5.4. Ventilación

El laboratorio, la sala de fermentación y la sala de purificación y entrecruzamiento cuentan con un sistema de ventilación para la renovación del aire interior, con tratamiento mediante filtración el cual garantiza una presión positiva en el interior. Las demás salas cuentan con rejillas para la renovación del aire. Todas las aberturas de ventilación cuentan con mallas metálicas para prevenir el ingreso de insectos. (AGENCIA GUBERNAMENTAL DE CONTROL - CIUDAD DE BS.AS.)

9.5.5. Superficies y equipamiento

Todas las superficies son lisas, duras, impermeables y sin fisuras, con ángulos redondeados para minimizar la contaminación y permitir la correcta limpieza y desinfección.

En la sala de fermentación se coloca una mesada de 200 x 70 x 90 cm, el área de purificación cuenta con una mesada de 250 x 70 x 90 cm, y en el área de entrecruzamiento se dispone una mesada de 200 x 70 x 90 cm. Sobre las mismas se colocan equipos pequeños y se realizan operaciones manuales, deben ser inertes y resistentes a la corrosión, por lo que se seleccionan mesadas en resina epoxi. (SERINTEC, 2000)

Las mesadas de las salas de fermentación y entrecruzamiento están equipadas con piletas de 56 x 36 x 24 cm, de acero inoxidable AISI 304 esmaltadas con epoxi en polvo, y muebles bajo mesada de multilaminado fenólico de 20 mm enchapado con formica en ambas caras.

El vestuario cuenta con un casillero por empleado donde se guarda la ropa de calle, percheros y bancos. La ropa de trabajo limpia y desinfectada se entrega al inicio del turno.

Los almacenes cuentan con estanterías para el almacenamiento ordenado de los productos.

Todas las luminarias de la sala de producción y del laboratorio se encuentran empotradas en la pared para evitar la acumulación de partículas.

Los pasillos de circulación tienen como mínimo 80 cm de ancho para permitir el movimiento del personal. El pasillo principal de acceso a la planta tiene 1.5 m de amplitud. (SUPERINTENDENCIA DE SERVICIOS SANITARIOS, 1997)

9.5.6. Depósito IPA

El tanque de alcohol isopropílico requiere un depósito especial, por tratarse de un líquido inflamable. El mismo posee piso de hormigón impermeabilizado, ventilación natural mediante una ventana con tejido arresta llama, y tanto los muros como la puerta de acceso son resistentes al fuego. (AGENCIA GUBERNAMENTAL DE CONTROL - CIUDAD DE BS.AS., s.f.)

9.5.7. Antesala de descontaminación

Esta sala tiene el objetivo de descontaminar al operario que ingresa al ambiente controlado de las salas de producción. Esta consiste en una cabina con flujo de aire, la cual elimina de forma eficaz las partículas depositadas en la superficie de la ropa del personal. Posee tres puertas que separan la zona sucia (vestuario) de las dos salas limpias (salas de producción). La cabina no incluye suelo, por lo tanto este se trata con resina epoxi.

Capítulo 10

Servicios Auxiliares

10. SERVICIOS AUXILIARES

10.1. INTRODUCCIÓN

Para el correcto funcionamiento de los equipos involucrados en el proceso de producción se requieren diferentes servicios auxiliares, tales como agua, agua desionizada y libre de pirógenos, vapor, gas y energía eléctrica. La estimación de los mismos se realiza en base a los valores obtenidos en los balances de masa y de energía realizados en el capítulo 7 y los datos de los equipos adoptados detallados en el capítulo 8.

Cabe destacar que algunos servicios son prestados por el Laboratorio Internacional Argentino S.A. (LIA) dado que la planta de producción es un anexo de dicho laboratorio.

En el presente capítulo también se describen los efluentes de la empresa y sus respectivos tratamientos.

10.2. AGUA

La provisión de agua potable y/o industrial se realiza mediante pozos de abastecimiento propios del LIA, ya que el Parque Industrial de Pilar (PIP) no posee sistema de distribución de agua y establece que cada establecimiento debe extraer de la napa acuífera la cantidad que necesite, con un límite máximo de 10000 litros por hora y por hectárea (PARQUE INDUSTRIAL PILAR, 2015). Dado que LIA posee un predio con una superficie de 17000 m² el caudal máximo de agua que se puede extraer es de 17000 L/h lo cual supera lo requerido por el laboratorio.

El agua se almacena en un tanque de 1000 litros y su principal uso es como agua de enfriamiento en los tanques R-03, R-04 y en el fermentador. También se requiere para el lavado de equipos y en usos generales correspondientes al consumo en los baños, vestuario, oficina, etc. En el primer caso el volumen requerido queda definido por el balance de energía realizado en el capítulo 7, mientras que el volumen de agua destinado a la limpieza de los equipos se estima suponiendo que la cantidad de agua requerida para un lavado efectivo es igual al volumen del equipo, y el de uso general se estima en función del número de empleados.

Tabla 10.1 – Volumen de agua estimado para cada aplicación

Aplicación	Volumen de agua estimado
Agua de enfriamiento	0.464 m ³ /semana
Agua para operación de equipos	0.306 m ³ /semana
Limpieza de equipos	1.230 m ³ /semana
Usos generales	1.000 m ³ /semana
Total	3.000 m³/semana

10.3. AGUA DESIONIZADA Y LIBRE DE PIRÓGENOS

La calidad del agua utilizada en el proceso de producción debe cumplir con las especificaciones establecidas por Farmacopea Argentina. La desionización se realiza para eliminar todos los gases y sólidos ionizables disueltos, tales como sodio, calcio, cloruros y dióxido de carbono. Este proceso no elimina completamente los contaminantes orgánicos como los pirógenos, por lo que se le realiza una ultrafiltración utilizando una membrana con una porosidad menor a 0.005 micrones.

Los pirógenos son lipopolisacáridos que forman parte de la pared celular de las bacterias Gram negativas y aparecen como producto final de la degradación bacteriana. Estos causan fiebre cuando son inyectados en mamíferos por lo que es importante su eliminación.

Para que el agua sea apta para productos inyectables debe cumplir con todos los requisitos de agua purificada libre de pirógenos y además con los requisitos del ensayo de endotoxinas bacterianas establecido por Farmacopea Argentina. (ANMAT, 2014)

La cantidad de agua requerida es provista por LIA, ya que este cuenta con los equipos necesarios para obtenerla. Su aplicación en el proceso es principalmente la formulación del medio de cultivo, de soluciones y como diluyente. También se usa en el baño termostático como agua de calefacción, y para el enjuague final de los equipos luego de la esterilización química.

Los volúmenes requeridos se obtienen de los balances de masas realizados en el capítulo 7 y los equipos adoptados mencionados en el capítulo 8.

Tabla 10.2 – Volumen de agua estimado para cada etapa del proceso

Etapa	Volumen de agua estimado
Obtención y purificación del HA lineal	0.7283 m ³ /semana
Producción del HA entrecruzado para inyección	0.0411 m ³ /semana
Agua para enjuague final de equipos	1.2300 m ³ /semana
Total	1.9994 m³/semana

El agua se almacena en un tanque de 400 litros debido a que gran parte de esta se utiliza en una sola etapa (diafiltración) y es importante que la alimentación de la misma no sea interrumpida durante dicha operación.

10.4. SOLUCIÓN DE GLUTARALDEHÍDO AL 2%

El glutaraldehído tiene una acción antiséptica y desinfectante para todos los microorganismos, incluidas bacterias gram(+) y gram(-), el *Mycobacterium tuberculosis*, las esporas, los hongos y los virus, por lo que llega a tener una acción esterilizante. Actúa reaccionando con el grupo

amino de las proteínas formando un complejo irreversible. Presentan su máxima estabilidad a pH 4, sin embargo a este pH es poco efectivo como desinfectante, por lo que debe neutralizarse con una base (bicarbonato de sodio) para su aplicación. El punto óptimo de actividad se produce a pH 7.5-8.5, manteniendo su estabilidad solo durante 14 días.

Se emplea una disolución alcalina al 2% como agente desinfectante y esterilizante para los equipos de purificación y entrecruzamiento. El volumen necesario se calcula teniendo en cuenta el tamaño de los equipos que deben esterilizarse el mismo día, considerando que el tiempo de contacto es de 20 minutos. Se requieren 469 L cada 2 semanas, los cuales se almacenan en un tanque de 500 L.

10.5. VAPOR

El vapor de agua requerido es suministrado por LIA ya que cuenta con un equipo generador de vapor y presenta una capacidad remanente en su producción que supera la cantidad requerida en este proceso.

Este se utiliza para esterilizar el medio de cultivo y el reactor (con sus respectivas cañerías) antes de la fermentación y se estima un consumo de vapor saturado de 13 kg/semana, a una temperatura de 140°C y con una presión de saturación de 3.68 kg/cm².

10.6. GAS

El Laboratorio Internacional Argentino cuenta con equipos reductores de presión que abastecen de gas la planta, debido a que el PIP es recorrido por un gasoducto de alta presión (25 kg/cm²) (PARQUE INDUSTRIAL PILAR, 2015). El gas natural no se requiere para el proceso de producción, por lo que solo se utiliza en el laboratorio de calidad, en la oficina y para la calefacción. El consumo estimado es de 90 m³/mes considerado un promedio general entre los meses de verano e invierno.

10.7. ENERGÍA ELÉCTRICA

El PIP es alimentado por una Línea de Alta Tensión de 132 kW y la distribución de energía se hace desde dos subestaciones de EDENOR ubicadas dentro de la misma. Además cuenta con 32 grupos generadores de 1 MVA en distintas locaciones dentro del recinto y una Planta de Generación Eléctrica de 40 MVA de potencia lo que permite alejar las preocupaciones de falta de suministro eléctrico. (PARQUE INDUSTRIAL PILAR, 2015)

En la tabla 10.3 se observa el consumo total de energía mensual y semanal de la planta. Este se obtiene a partir de la potencia total requerida para el funcionamiento de los equipos y la necesaria para la iluminación del lugar, las cuales se detallan en las secciones siguientes.

Tabla 10.3 - Consumo total de la planta

Consumo	Semanal (kW-h/sem)	Mensual (kW-h/mes)
Equipos	124.52	498.08
Iluminación	40.05	160.20
Total	164.57	658.28

10.7.1. Fuerza motriz

En la tabla 10.4 se observa el consumo de potencia de los diferentes equipos utilizados en la planta.

Tabla 10.4 – Consumo de potencia de cada equipo

Equipo		Tiempo de operación (h/sem)	Potencia (kW)	Consumo (kW- h/sem)	
Autoclaves	D-01	1.07	3	3.210	
	D-02	0.33	3	0.990	
Estufa H-01		24	0.800	19.200	
Centrífugas	S-01	0.97	3.700	3.589	
	S-02	0.56	3.700	2.072	
	S-03	0.56	3.700	2.072	
Homogeneizador M-11		1	2.200	2.200	
Estufa H-02		7	0.800	5.600	
Molino Z-01		0.07	1.200	0.084	
Equipo E-01		0.19	0.900	0.171	
Filtro F-03		0.5	3	1.500	
Baño termostático H-03		2.23	1.300	2.899	
Equipo E-02		3.60	2.700	9.720	
Equipo E-03		3.10	2.500	7.750	
Motores para agitación	M-01	32	0.513	16.416	
	M-02	3.48	0.077	0.268	
	M-03	1.07	0.077	0.082	
	M-04	1.07	0.077	0.082	
	M-05	0.67	0.140	0.094	
	M-06	1	0.513	0.513	
	M-07	2	0.070	0.140	
	M-08	0.67	0.140	0.094	
	M-09	4.67	0.140	0.654	
	M-10	1	0.513	0.513	
Bombas lobulares	P-03	0.23	0.24	0.054	
	P-04	0.56	0.24	0.134	
	P-05	0.23	0.24	0.054	
	P-06	0.41	0.24	0.098	
	P-07	3.33	0.24	0.800	
	P-08	3.77	0.24	0.904	
	P-09	0.44	0.24	0.106	
	P-10	0.02	0.24	0.004	
	P-11	0.05	0.24	0.011	
	P-12	0.03	0.24	0.008	
	Bombas centrifugas	P-01	0.10	0.02	0.002
		P-02	0.10	0.02	0.002
P-D		3.82	0.03	0.099	
P-A		0.85	0.07	0.060	
Cámara de descontaminación	A-01	5	3.73	18.65	
Acondicionador de aire	A-02	48	0.15	7.20	
	A-03	45	0.25	11.25	
Total consumo de los equipos (kW-h/semana)				124.52	
Total consumo de los equipos (kW-h/mes)				498.08	

10.7.2. Iluminación

El método que se utiliza para determinar la iluminación en interiores es el método Lumen, el cual se basa fundamentalmente en un sistema de evaluación promedio a partir de la distribución del flujo luminoso en el espacio. Para los cálculos se requieren de las dimensiones del local, el tipo de lámparas y luminarias que se utilizan en cada sector de la planta (CASTILLA CABANES, et al., 2011). En la tabla 10.5 se muestran los datos de las lámparas y luminarias adoptadas y en la 10.6 el resultado obtenido por dicho método.

Tabla 10.5 - Descripción de las lámparas y luminarias adoptadas

Lámpara		
Marca	Philips	
Modelo	Master TL-5 ECO HE	
Tensión de la lámpara (V)	147	
Corriente de la lámpara (A)	0.17	
Temperatura del color (K)	3000	
Rendimiento del color (RA)	85	
Flujo luminoso (Lm)	2900	
Rendimiento de la lámpara (Lm/W)	114	
Vida promedio (h)	25000	
Dimensiones	Largo (mm)	1163.2
	Diámetro (mm)	17
Luminaria		
Sectores: Salas de producción, antesala descontaminación, laboratorio de calidad y oficina		
Marca	Philips	
Modelo	EPH Hermético	
Colocación	Embutida	
Numero de lámparas	3	
Lámpara admitida	Master TL5 HO ECO, Master TL5 HE ECO, Master TLD, Master PLL	
Dimensiones	Largo marco exterior (mm)	1198
	Ancho marco exterior (mm)	595
	Alto total (mm)	150
Sectores: Almacenes, baño, vestuario y pasillo		
Marca	Philips	
Modelo	Pacific Performer	
Colocación	Aplicada	
Numero de lámparas	2	
Lámpara admitida	Master TL5 HO ECO, Master TL5 HE ECO	
Dimensiones	Largo marco exterior (mm)	1300
	Ancho marco exterior (mm)	118
	Alto total (mm)	109

Las lámparas adoptadas son tubos fluorescentes industriales de alta eficiencia (HE) de la línea ECO de Philips, debido a que presentan una mayor eficiencia respecto a los modelos HO,

brindan un ahorro de 10% de energía con la misma calidad y niveles de iluminación que los TL-5 estándar, presentan un tamaño reducido y una buena reproducción cromática.

Tabla 10.6 – Resultados del método Lumen.

Sector		Nivel óptimo de iluminación (Lux)	Superficie (m ²)	Nº de luminarias
Sala de producción	F	500	9.10	1
	P y E	500	58.8	5
Laboratorio de calidad		500	16.0	2
Oficina		500	7.00	1
Antesala de descontaminación		150	5.00	1
Vestuario		150	6.90	1
Baño		150	3.00	1
Pasillo		100	13.4	2
Almacén de insumos I		100	2.00	1
Almacén de insumos II		100	3.56	1
Almacén de productos terminados		100	2.25	1

F: Sala de fermentación ; P y E: Sala de purificación y entrecruzamiento

El consumo final de energía destinada a la iluminación se calcula a partir del número de lámparas necesarias, la potencia consumida por las mismas y las horas de funcionamiento, como se muestra a continuación en la tabla 10.7.

Tabla 10.7 - Consumo de energía por sector.

Sector		Nº de luminarias	Nº total de lámparas	Potencia consumida (W/lámpara)	Tiempo de uso (h/sem)	Consumo (kW-h/sem)
Sala de producción	F	1	3	25	54	4.050
	P y E	5	15	25	45	16.875
Laboratorio de calidad		2	6	25	45	6.750
Oficina		1	3	25	45	3.375
Antesala de descontaminación		1	3	25	54	2.700
Vestuario		1	2	25	3	0.150
Baño		1	2	25	1	0.050
Pasillo		2	4	25	45	4.500
Almacén de insumos I		1	2	25	1	0.050
Almacén de insumos II		1	2	25	1	0.050
Almacén de productos terminados		1	2	25	1	0.050
Total semanal (kW-h/sem)						40.05
Total mensual (kW-h/mes)						160.20

10.7.3. Descripción de la instalación eléctrica

10.7.3.1. Transformador

Se utiliza para soportar los esfuerzos de cortocircuito externos, sobretensiones de impulso y maniobra, y para lograr una disipación óptima del calor generado. Está instalado en la subestación eléctrica y distribuye la electricidad hacia todo el LIA, inclusive la planta productora de HA.

10.7.3.2. Tablero principal y tablero general

El tablero principal es el existente en LIA al cual ingresa la línea principal y desde donde derivan las líneas al tablero general encargado de abastecer la planta productora de HA. Ambos contienen los interruptores diferenciales y termomagnéticos para la protección de la línea principal y las derivadas, y los capacitores necesarios para la corrección de factor de potencia. (AEA, 2007)

10.7.3.3. Tableros secundarios y tomacorrientes

Se coloca un tablero seccional en la sala de producción desde donde se controlan los circuitos internos de esta sala. Cuenta con interruptores para las líneas de iluminación, y los comandos de accionamiento de motores, bombas y equipos.

En las salas de producción se colocan tomacorrientes con entradas trifásicas y monofásicas para la conexión de los equipos, mientras que en el vestuario, oficina y laboratorio de calidad se colocan tomacorrientes para uso general con entrada monofásica.

10.7.3.4. Líneas de distribución

- Línea principal: conecta el medidor de energía con el tablero principal. El tendido es subterráneo ubicado a 80 cm de la superficie, dentro de caños de PVC.
- Líneas de iluminación: desde el tablero principal de LIA se deriva una línea monofásica que alimenta el tablero general de la planta elaboradora de HA, del cual se derivan dos líneas destinadas a la iluminación. Una alimenta el tablero seccional del sector de producción, mientras que la otra se destina a los demás ambientes. Los cables se tienden dentro de cañerías rígidas de PVC de 25 mm empotradas en el interior de los muros.
- Líneas de circuito: son líneas trifásicas y monofásicas para alimentar los diferentes equipos y motores de la planta, y tomacorrientes. Del tablero general se extiende una línea monofásica que alimenta las bocas de electricidad ubicadas en el vestuario, oficina y laboratorio. Del mismo tablero se tienden una línea monofásica y una línea trifásica hasta el tablero seccional ubicado en la sala de producción. Para estos

tendidos se emplea cable de cobre dentro de cañerías rígidas de PVC empotradas. Dentro de las salas de producción el tendido se realiza sobre bandejas portacables perforadas de chapa galvanizada de 100 mm.

10.7.3.5. Conductores eléctricos

Generalmente en instalaciones eléctricas se construyen de cobre o aluminio debido a su alta conductividad y bajo costo. La sección del conductor está determinada por la corriente a conducir y limitada por el calentamiento y la caída de tensión que provoca. La cobertura exterior actúa como aislante térmico y eléctrico, por lo general es de PVC. En toda la instalación se emplea cable de cobre de 2.5 o 4.0 mm² de sección, unipolar, bipolar o tetrapolar. Las líneas de iluminación cuentan con dos conductores, fase y retorno; las líneas de circuitos monofásicos están compuestas por tres conductores, fase, neutro y puesta a tierra, mientras que las líneas de circuitos trifásicos contienen cinco conductores, tres fases, neutro y puesta a tierra.

10.7.3.6. Elementos de protección

Son dispositivos que permiten detectar condiciones de circulación de corrientes excesivas o anormales (sobrecargas, cortocircuitos, fallas a tierra, etc.) e interrumpir las conexiones de la línea de alimentación u ordenar su interrupción a través de elementos de maniobra (llaves, interruptores, etc.) acoplados al dispositivo de protección. Sus principales objetivos son:

- Proteger de daños a los distintos elementos que constituyen la instalación, y a los equipos conectados a ella. Para esto se utilizan fusibles y llaves automáticas termomagnéticas.
- Proteger a las personas contra accidentes eléctricos, para lo cual se emplean disyuntores diferenciales y puestas a tierra.

10.7.3.7. Puesta a tierra de máquinas

Las normas de ejecución de instalaciones eléctricas exigen disponer de protección de puesta a tierra. Cuentan con este tipo de conexión las carcasas de bombas y motores, los armazones de tanques y equipos, las partes metálicas de los cables, y la estructura del tanque de almacenamiento de IPA. Los sistemas usuales de puesta a tierra en redes trifásicas están definidos por las normas IEC 364 e IRAM 2281/3. (AEA, 2007)

10.7.3.8. Pararrayos

El pararrayos permite la conducción a tierra de las descargas atmosféricas. Es un dispositivo de seguridad para las personas y bienes, constituido por una punta aguda y un conductor de baja resistencia, colocado en un lugar prominente de la zona que se

quiere proteger. Esta instalación se diseña en base a los lineamientos indicados por la norma IRAM 2184.

10.7.3.9. Corrección del factor de potencia

En cargas inductivas como motores, equipos de iluminación fluorescente y equipos electromecánicos, parte de la energía consumida se transforma en movimiento, luz, etc. (energía activa) mientras que la parte restante es requerida para su propio funcionamiento (energía reactiva). Esta última implica circulación excesiva de corrientes reactivas, sobrecargas y variaciones de tensión. El factor de potencia es un indicador del aprovechamiento de la energía suministrada por el proveedor, y puede tomar valores entre 0 y 1. EDENOR establece como límite un factor de 0.85 y en el caso de valores inferiores se aplican recargos. El consumo excesivo de energía reactiva puede ser compensado mediante la colocación de capacitores. (EDENOR S.A., 2008)

Para determinar la potencia capacitiva requerida para compensar el factor de potencia a valores requeridos por el proveedor de energía, se debe proceder de la siguiente manera:

- 1) Medir el coseno φ instantáneo.
- 2) Medir la corriente por fase del circuito.
- 3) Calcular la máxima potencia activa del suministro.
- 4) Calcular la tangente φ actual (a partir del coseno φ instantáneo).
- 5) Calcular la potencia capacitiva necesaria faltante.

$$Q_{req} = (tg \varphi_{actual} - tg \varphi_{deseada}) \times P \quad [10.1]$$

10.8. EFLUENTES

El PIP cuenta con un Sistema de Colectoras del Desagüe Industrial donde las empresas pueden volcar sus efluentes líquidos convenientemente tratados para luego ser conducidos hasta su vuelco final en el Río Luján. (PARQUE INDUSTRIAL PILAR, 2015)

En la tabla 10.8 se muestran las cantidades y los tipos de residuos que se generan semanalmente en la planta. Algunos de estos, tales como la corriente I y el agua destinada a la limpieza de los equipos, son tratados en las instalaciones del LIA para finalmente ser volcados en las colectoras del PIP. El resto de las corrientes se acumulan en tanques de almacenamiento y son enviadas a la empresa INDUSTRIAS TRADEC SRL para su tratamiento. Esta se encarga de la recolección, transporte, tratamiento y disposición final de residuos peligrosos y residuos no peligrosos y se encuentra ubicada en Pilar sobre la Ruta 25 km 11 calle 120 s/n.

Tabla 10.8 - Residuos producidos por la planta en una semana de producción.

Etapa	Corriente	Cantidad	Descripción
1C	J	13.57 L	Suspensión proveniente de la C1 conformados por biomasa residual, LA, sales y nutrientes
1C	P1'	242.9 L	IPA diluido y con impurezas proveniente de la C2
1D	C'	2.3 Kg	Carbón con impurezas proveniente de la C1
1D	S	1.39 Kg	Restos celulares retenidos en el medio filtrante de F1*
1D	U	460.3 L	Permeado de diafiltración conformado principalmente por agua y en menor medida NaAc, HA y proteínas
1E	P2'	264 L	IPA diluido y con impurezas proveniente de la C3
2A	I	14 L	Agua de lavado utilizada en el filtro Nucha
Limpieza de equipos		1470 L	Agua con residuos de detergentes

*estos filtros pueden esterilizarse.

Capítulo 11

Control de Calidad

11. CONTROL DE CALIDAD

11.1. INTRODUCCIÓN

Toda industria debe plantear un modelo de gestión de calidad para asegurar el cumplimiento de la totalidad de las características de un producto relacionadas con la capacidad de satisfacer las necesidades del cliente. La calidad del producto no es un parámetro opcional para sobrevivir como compañía en un entorno globalizado, y el no cumplimiento de las especificaciones implica la salida directa del mercado, por lo tanto está relacionada directamente con la competitividad de la empresa.

El control de calidad es la base del sistema de gestión de calidad, e incluye todas aquellas acciones sistemáticas necesarias para garantizar que el producto final cumplirá con los requerimientos establecidos y evitar la comercialización de productos defectuosos. Se encarga de verificar los estándares de calidad a lo largo de las diferentes fases de desarrollo del producto, tanto de productos intermedios como del producto final, así como el control de las características de calidad de materias primas e insumos. Para asegurar esta calidad al consumidor se requiere mantener documentación y registros que permitan garantizar el cumplimiento de las normativas.

El desarrollo de tareas relacionadas con el producto elaborado debe realizarse bajo el sistema de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), el cual reúne los procedimientos generales que aplicados y mantenidos sobre todas las operaciones dentro de un establecimiento crean condiciones favorables para la fabricación de productos seguros. Dichos procedimientos se aplican sobre condiciones de higiene del establecimiento, comportamiento e higiene del personal, condiciones de elaboración, almacenamiento, y transporte de materias primas y productos terminados. (ANMAT 2014)

La planta productora de ácido hialurónico cuenta con dos líneas de proceso con diferentes requerimientos de calidad: la elaboración de HA en polvo para su aplicación en cremas debe cumplir con las BPM para productos cosméticos, mientras que la elaboración de inyectables dérmicos tiene requerimientos más estrictos y debe tratarse como un producto farmacéutico. Como los requerimientos generales respecto a instalaciones, personal y administración de la calidad son similares se implementa en la planta las BPM de productos farmacéuticos, las cuales también garantizan la implementación de los requerimientos para cosméticos. El cumplimiento de estas normativas es garantía de calidad, seguridad y eficacia dentro de todo el MERCOSUR.

11.2. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

Los productos farmacéuticos autorizados deben ser producidos solamente por establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria competente y cuyas actividades serán inspeccionadas regularmente por la autoridad nacional.

Los elementos básicos en la administración de la calidad en la industria farmacéutica son:

- Infraestructura apropiada o sistema de calidad que abarque la estructura, procedimientos, procesos y recursos.
- Acciones sistemáticas necesarias para asegurar la confianza suficiente en que el producto satisface determinadas condiciones de calidad. El conjunto de estas acciones se denomina garantía de calidad.

Dentro del concepto de garantía de calidad, las buenas prácticas de fabricación y control (BPFC) constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización. Las BPFC tienen por objeto principal disminuir los riesgos inherentes a toda producción farmacéutica que no pueden prevenirse completamente mediante el control final de los productos. Estos riesgos son la contaminación cruzada por contaminantes imprevistos y la confusión causada por un mal rotulado. La calidad debe ser responsabilidad de todo el personal de la empresa teniendo como referencia la política establecida, con compromiso de la alta gerencia. (ANMAT 2014)

11.2.1. Control de Calidad

- Es el encargado de permitir la circulación de materiales dentro de la planta y de autorizar la venta de los productos, una vez determinado que su calidad es satisfactoria.
- La empresa cuenta con un laboratorio de control de calidad, independiente de la producción. El mismo se divide en dos áreas, una para análisis fisicoquímicos y otra para análisis microbiológicos.
- Se realizan ensayos en materias primas, materiales de empaque, puntos intermedios del proceso y en el producto terminado. Respecto a los reactivos que componen el medio de cultivo para la fermentación, se buscan proveedores que certifiquen la calidad de su producto.
- El laboratorio cuenta con el equipamiento adecuado el cual es periódicamente calibrado, el personal está calificado y entrenado, y los procedimientos que se realizan están validados.

-
- Se llevan registros de todos los ensayos realizados y de los resultados obtenidos. Las desviaciones de la calidad son debidamente registradas e investigadas.
 - El producto terminado cumple con la composición cualitativa y cuantitativa conforme a la descripción en la autorización para la comercialización.
 - Se retienen muestras de materia prima y de producto terminado para posibilitar exámenes en el futuro, en caso de ser necesario.

11.2.2. Saneamiento e Higiene

- Cada uno de los aspectos de fabricación de productos farmacéuticos debe ir acompañado de un elevado nivel de saneamiento e higiene, el cual abarca al personal, instalaciones, equipos, materiales y recipientes para la producción, productos de limpieza y todo aquello que puede ser fuente de contaminación. Se implementa un programa de saneamiento e higiene para eliminar todas estas posibles fuentes de contaminación.

11.2.3. Validación, Reclamos y Retiro de productos del mercado

- El proceso de producción se encuentra validado para garantizar que empleando los materiales y el equipo especificados, se obtiene un producto uniforme con la calidad exigida.
- Todos los reclamos por productos potencialmente defectuosos son cuidadosamente examinados. El área de control de calidad es la encargada de recibir los reclamos y adoptar medidas correctivas.
- Se cuenta con procedimientos escritos que describen las medidas a adoptarse en caso de reclamo, las cuales incluyen la necesidad del retiro del producto.
- Si se encuentra un defecto en un lote, o se sospecha de la existencia de uno, se deben controlar los lotes vecinos para determinar si fueron afectados.
- Todas las decisiones y medidas adoptadas como resultado de un reclamo se registran y se refieren al lote en cuestión.
- Se implementa un sistema que retira inmediatamente del mercado los productos que presentan desviaciones de la calidad y que ofrecen un riesgo para el usuario. Existen procedimientos escritos, regularmente revisados y actualizados que indican como proceder ante un retiro, detallando el destino de los productos defectuosos, la investigación y el registro de las acciones tomadas. El proceso de retiro es registrado, detallando cantidades distribuidas y cantidades rescatadas, y se emite un reporte final.

11.2.4. Personal

- Cada operario cuenta con tareas específicas definidas por escrito. Todo el personal conoce los principios que rigen las BPFC, y se lo motiva a mantener las normas de calidad adecuadas.
- Se aplica un programa de capacitación a todas las personas involucradas en las áreas de producción, laboratorio de control de calidad, y cuyas actividades puedan afectar la calidad del producto. Se hace especial hincapié en cuestiones relacionadas con la higiene.
- Se cuenta con un director técnico, un jefe de producción y un jefe de control de calidad, todos debidamente calificados y con experiencia práctica.
- Se realizan programas especiales de capacitación para el personal que manipula microorganismos y materiales tóxicos.
- Regularmente se realizan capacitaciones en cuanto a buenas prácticas de fabricación de productos estériles, higiene y conocimientos básicos de microbiología.
- Todo el personal del establecimiento se somete a exámenes de salud para su admisión y a exámenes periódicos de control. Las personas involucradas con el proceso de fabricación se entrenan en prácticas de higiene personal, y deben cumplirlas.
- El personal con sospechas o confirmación de enfermedad o lesión expuesta que pueda afectar a la calidad no manipula materias primas, materiales de empaque, productos intermedios o productos terminados hasta que su condición de salud no represente un riesgo para el producto. El personal tiene instrucciones de informar al supervisor cualquier situación adversa relativa a la producción, equipamiento o personal que pueda afectar la calidad del producto.
- Todo el personal viste ropa adecuada a las labores que realiza, las cuales son lavadas y desinfectadas luego del uso. Se dispone de equipamiento de protección colectiva y equipamiento de protección individual en cada área para asegurar la protección del personal, y se cumplen las exigencias de la legislación vigente.
- El operario que manipula DVS lo hace empleando todas las medidas de protección necesarias, ya que este material es muy tóxico.
- Se prohíbe fumar, comer o beber, mascar y mantener objetos personales en las áreas de producción, laboratorio y almacenamiento. Para evitar la contaminación del producto, y los riesgos de salud del personal, solo se come y/o bebe en las áreas designadas para tal fin.

11.2.5. Instalaciones

- Las instalaciones son diseñadas de modo de posibilitar la limpieza y mantenimiento, para evitar la contaminación cruzada, la acumulación de polvo y suciedad.
- Se establecen procedimientos de limpieza y saneamiento para todas las áreas, del cual se debe llevar un registro. Las instalaciones se mantienen limpias y en buen estado.
- Las operaciones de mantenimiento y reparación se realizan durante el tiempo en que la planta no está produciendo, de manera tal que no representan riesgos de calidad del producto.
- La instalación se encuentra equipada con rejillas y tejidos para impedir la entrada de insectos y otros animales. Se mantiene un programa de prevención.
- Para garantizar la seguridad contra incendios, se cuenta con matafuegos bien localizados y con acceso libre para el uso.

11.2.5.1. Áreas Auxiliares

- El vestuario, baño y oficina se encuentran separados de las áreas de producción. Los sanitarios se mantienen en condiciones de higiene, se encuentran provistos de insumos y no tienen comunicación directa con las áreas de producción y almacenamiento.

11.2.5.2. Almacenamiento

- Las áreas de almacenamiento cuentan con capacidad suficiente para permitir el almacenamiento ordenado de los diferentes materiales y productos.
- Cuentan con las condiciones ideales de almacenamiento requeridas por los productos que allí se guardan. Son limpias, secas y se mantienen a una temperatura adecuada.
- El almacén de insumos de la sala de purificación y entrecruzamiento cuenta con las condiciones apropiadas para almacenar el DVS y el carbón activado, ya que estos materiales así lo requieren.
- Se cuenta con un sistema para el control de stock, se realizan inventarios periódicos y se mantienen registros de los mismos.
- Se realiza la inspección y análisis de los materiales al momento de la recepción para garantizar que cumplen con las especificaciones requeridas.

11.2.5.3. Producción

- El área de fermentación se encuentra separada y aislada de las áreas de purificación y entrecruzamiento. El aire empleado en esta sala es de grado A dentro de la clasificación dada para la fabricación de productos estériles.

- En la entrada y salida de las áreas de producción se cuenta con una antesala higiénica con corriente de aire que garantiza que el operario que ingresa o sale de las salas es desinfectado, evitando de esta manera la contaminación cruzada.
- Las superficies de paredes, pisos y cielorrasos de las áreas de fermentación, purificación y entrecruzamiento son lisas, libres de grietas y aberturas, no despiden partículas, y son fáciles de limpiar y desinfectar.
- Todas las cañerías son de fácil acceso para su limpieza y mantenimiento, y no representan impedimentos para la libre circulación por el área de producción. Se encuentran debidamente identificadas respecto a su contenido y dirección de flujo.
- Las cañerías correspondientes a servicios auxiliares se encuentran debidamente identificadas.
- Todos los depósitos de agua cuentan con filtros que evitan la contaminación microbiológica, y se mantienen en perfectas condiciones de higiene.
- Se monitorean, registran y controlan la temperatura y la humedad de las áreas de producción. Se cuenta con un equipo acondicionador de aire en la sala de fermentación, y dos equipos en la sala de purificación y entrecruzamiento, ya que esta tiene un mayor volumen.
- El personal que se encuentra en el área de producción utiliza uniformes de uso exclusivo para ese sector, y no tienen permitido circular con los mismos por otras áreas de la planta.
- Se cuenta con un sistema de drenaje adecuado. Estos se mantienen cerrados y son desinfectados diariamente. Se encuentran al ras del suelo para facilitar su limpieza.
- Los recipientes para residuos se encuentran debidamente identificados y son cerrados. Se vacían al finalizar la jornada de producción.

11.2.5.4. Equipos

- Al inicio de la jornada de producción se verifica que todos los equipos y el lugar de trabajo se encuentran libres de residuos, los materiales disponibles para la nueva jornada y todo en buenas condiciones para su uso. Se registran todas estas verificaciones.
- La pesada y medida de las materias primas se realiza en el área donde se va a utilizar. Se dispone una balanza en el área de fermentación y otra en el área de entrecruzamiento. Todo el equipamiento es calibrado periódicamente.
- Todos los equipos empleados en la producción son de acero inoxidable, por lo tanto no afectan la calidad del producto, y se encuentran debidamente identificados.

-
- Los equipos empleados son cerrados, de manera tal de evitar cualquier contaminación del producto con agentes externos. Los equipos se limpian y desinfectan luego de su utilización, y se esterilizan eficientemente. Los equipos de la sala de fermentación se esterilizan mediante vapor, mientras que los equipos de la sala de purificación y entrecruzamiento son esterilizados mediante métodos químicos (por ejemplo, glutaraldehído).

11.2.5.5. Materiales

- Las materias primas solo se adquieren de proveedores que cumplen con las especificaciones establecidas. Si un envío de materiales está compuesto por diversos lotes, se analiza cada uno de los mismos.
- Todas las materias primas se encuentran identificadas por medio de etiquetas que detallan nombre, código interno del producto y lote. Se lleva un registro diario de las cantidades utilizadas de cada lote de materia prima y que lote de producción se realiza con la misma.
- Los medios de cultivo son preparados en conformidad con procedimientos escritos. Se realizan controles en los medios de cultivo utilizados para verificar si son apropiados. Todos los reactivos preparados en el área se rotulan adecuadamente.
- En todos los casos el método de esterilización empleado es térmico, por calor húmedo o por calor seco, y cada ciclo de esterilización es debidamente registrado.
- El agua empleada en el proceso es desionizada y libre de pirógenos. Debe cumplir con las especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas establecidas.
- Se realiza el monitoreo de la calidad del agua al ingreso de cada etapa de proceso donde se la requiere.
- El aire empleado en la sala de fermentación es de elevada calidad para prevenir la contaminación de las materias primas. El aire empleado en la sala de entrecruzamiento no requiere tanta calidad ya que el producto se esteriliza de manera terminal dentro de su envase final.
- Los envases y jeringas se controlan del mismo modo que la materia prima. Se almacenan en condiciones seguras, y antes de ser utilizados se verifican los rótulos y se examina nuevamente el cumplimiento de los requerimientos establecidos.
- El producto terminado solo se libera al mercado si el control de calidad lo aprueba. Se cuenta con la documentación necesaria para que la venta del producto sea autorizada.
- Todos los efluentes y residuos resultantes de la fabricación se disponen de manera segura y sanitaria. Debido a los volúmenes pequeños, se terceriza este servicio.

11.3. ASEGURAMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

Se desarrolla un plan de control de calidad en el cual se detallan todos los controles que deben realizarse sobre materias primas, durante el proceso y en los productos terminados. Se especifican los valores que deben cumplirse para cada parámetro evaluado, la técnica empleada para el análisis, la frecuencia de control, los encargados de muestreo y ejecución de análisis, y las medidas correctivas/preventivas que deben llevarse a cabo si se obtiene un resultado fuera de especificación.

Todos los métodos de análisis y valores establecidos se encuentran especificados en Farmacopea Argentina, Farmacopea Europea y Farmacopea Estadounidense. En el Anexo II se explica cada técnica en detalle, listadas de acuerdo al código empleado en el plan de calidad.

11.3.1. Materias primas e insumos

Se detallan los requerimientos de las materias primas empleadas en la fermentación, y de todos los insumos empleados durante el proceso, los cuales se muestran en la tabla 11.1. En la misma se incluyen los controles realizados sobre el aire ambiental y el agua desionizada empleada en el proceso. Cabe destacar que solo se utilizan reactivos aprobados para la producción biofarmacéutica y certificados por el proveedor, por lo tanto el control se realiza para corroborar el cumplimiento de los valores informados.

11.3.2. Controles de Proceso

Se establecen los puntos de control dentro del proceso y las especificaciones que deben cumplir para prevenir la producción de un producto defectuoso. Muchos de los controles se realizan por control automático ya que son puntos críticos donde se debe evitar cualquier error personal. En la tabla 11.2 se muestran los controles realizados en equipos y corrientes.

Si se encuentra algún desvío de la calidad durante el proceso, este debe corregirse inmediatamente; si el control en la corriente final de proceso se encuentra fuera de especificación, en el caso del ácido lineal puede reprocesarse y volver a purificarse, pero en el caso del gel entrecruzado debe rechazarse el lote, por lo tanto es de suma importancia el control riguroso en las etapas iniciales del entrecruzamiento.

11.3.3. Producto terminado

Las especificaciones del producto final son las establecidas por ANMAT para productos cosméticos y por Farmacopea británica 2013. Se aplican estos estándares ya que el HA en polvo es la materia prima para la producción del gel entrecruzado. En la tabla 11.3 se muestra plan de calidad para los productos finales.

Tabla 11.1 - Plan de calidad para Materias Primas e Insumos

Punto	Materia prima o Insumo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis
Recepción	Sacarosa	Apariencia	Sólido cristalino traslúcido	Visual	cada 4 meses	MP1/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio
		pH (100 g/L, agua 20°C)	6.8 - 7.2	T-11	cada 4 meses	MP1/FQ-02			
		Conductividad en solución	≤ 35 µS/cm	T-33	cada 4 meses	MP1/FQ-03			
		Rotación óptica específica (20/D 26% agua)	+ 66.3 - + 67.0	T-34	cada 4 meses	MP1/FQ-04			
		Sulfitos	≤ 10 ppm	T-35	cada 4 meses	MP1/FQ-05			
		Metales pesados	< 0.001 %	T-24	cada 4 meses	MP1/FQ-06			
		Pérdida por secado (105°C)	≤ 0.1 %	T-27	cada 4 meses	MP1/FQ-07			
		Endotoxinas bacterianas	< 0.25 UE/mg	T-09	cada 4 meses	MP1/M-01			
		Apariencia	Polvo amarillo rojizo o pardo	Visual	cada 4 meses	MP2/FQ-01			
		pH	6.0 - 7.2	T-11	cada 4 meses	MP2/FQ-02			
	Pérdida por secado (105°C)	≤ 5.0 %	T-27	cada 4 meses	MP2/FQ-03				
	Residuo de ignición (Cenizas)	≤ 13.0 %	T-28	cada 4 meses	MP2/FQ-04				
	Proteína coagulable	No forma precipitado	T-29	cada 4 meses	MP2/FQ-05				
	Extracto de levadura	Cloruros	≤ 5.0 %	T-16	cada 4 meses	MP2/FQ-06			
Nitrógeno total		7.2 - 9.5 %	T-30	cada 4 meses	MP2/FQ-07				
Mesófilos aerobios totales		< 50 UFC/g	T-12	cada 4 meses	MP2/M-01				
Coliformes, <i>Salmonella</i>		Ausencia	T-14, T-25	cada 4 meses	MP2/M-02				
Sales medio de cultivo y buffer	Apariencia	Según especificaciones del proveedor	Visual	cada 4 meses	I1 a I12/FQ-01				
	pH		T-11	cada 4 meses	I1 a I12/FQ-02				
	Perdidas por secado		T-27	cada 4 meses	I1 a I12/FQ-03				
	Determinación de agua		T-10	cada 4 meses	I1 a I12/FQ-04				

Tabla 11.1 – (Continuación)

Punto	Materia prima o Insumo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis	
Recepción	Acetato de sodio	pH (3% agua)	7.5 - 9.2	T-11	cada 4 meses	I13/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio	
		Perdidas por secado (120°C)	≤ 1.0%	T-27	cada 4 meses	I13/FQ-02				
		Endotoxinas bacterianas	≤ 2.5 UE/g	T-09	cada 4 meses	I13/M-01				
		Recuento de aerobios totales	≤ 100 UFC/g	T-12	cada 4 meses	I13/M-02				
		Recuento total de hongos y levaduras	≤ 100 UFC/g	T-26	cada 4 meses	I13/M-03				
	Isopropanol	Apariencia	Líquido incoloro	Visual		cada 4 meses	I15/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio
		Pureza	≥ 99.8%	T-42	cada 4 meses	I15/FQ-02				
		Determinación de agua	≤ 0.1%	T-10	cada 4 meses	I15/FQ-03				
		Densidad (g/ml)	0.782-0.789	T-36	cada 4 meses	I15/FQ-04				
		Residuo de evaporación	≤ 0.002%	T-37, T-38	cada 4 meses	I15/FQ-05				
	Carbón activado	Perdida por secado	≤ 15%	T-27	cada 4 meses	I16/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio	Analista laboratorio
		Recuento total de aerobios	≤ 1000 UFC/g	T-12	cada 4 meses	I16/M-01				
		Recuento total de hongos y levaduras	≤ 100 UFC/g	T-26	cada 4 meses	I16/M-02				
		Tamaño de partícula D90	100 µm	T-23	cada 4 meses	I16/FQ-02				
		Determinación de agua	≤ 10%	T-10	cada 4 meses	I16/FQ-03				
NaOH	Poder de absorción	≥ 40 g/100g	T-41	cada 4 meses	I16/FQ-04	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio	Analista laboratorio	
	pH	Neutro	T-11	cada 4 meses	I16/FQ-05					
	Apariencia	Perlas blancas cristalinas	Visual	cada 4 meses	I17/FQ-01					
	Sustancias insolubles y materia orgánica (solución al 5% en agua)	Apariencia transparente e incolora o ligeramente coloreada	T-31	cada 4 meses	I17/FQ-02					
	Metales pesados	≤ 30 ppm	T-24	cada 4 meses	I17/FQ-03					
NaOH	Carbonato	≤ 0.5%	T-32	cada 4 meses	I17/FQ-04	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio	Analista laboratorio	
	Endotoxinas bacterianas	≤ 2.5 UE/g	T-09	cada 4 meses	I17/M-01					
	Determinación de agua	≤ 2.0 %	T-10	cada 4 meses	I17/FQ-05					

Tabla 11.1 – (Continuación)

Punto	Materia prima o Insumo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis
	DVS	Apariencia	Líquido Incoloro o amarillado claro	Visual	cada 4 meses	I18/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio
		Pureza	≥ 96.5%	T-45	cada 4 meses	I18/FQ-02			
Recepción	Clorhidrato de Lidocaína	Apariencia	Polvo cristalino blanco	Visual	cada 4 meses	I19/FQ-01	Rechazar	Analista laboratorio	Analista laboratorio
		Determinación de agua	5.0 - 7.0 %	T-10	cada 4 meses	I19/FQ-02			
		Residuo de ignición	≤ 0.1 %	T-28	cada 4 meses	I19/FQ-03			
		Metales pesados	≤ 0.002 %	T-24	cada 4 meses	I19/FQ-04			
		Endotoxinas bacterianas	≤ 1.1 UE/mg	T-09	cada 4 meses	I19/M-01			
Área de fermentación	Agua desionizada libre de pirógenos	Carbono orgánico total	< 0.5 mg/L	T-40	por semana	I20-AF/FQ-01	Rechazar	Operario de turno	Analista laboratorio
		Conductividad	≤ 1.3 µS/cm	T-39	por semana	I20-AF/FQ-02			
		Endotoxinas bacterianas	< 0.25 UE/ml	T-09	por semana	I20-AF/M-01			
		pH	5.0 - 7.0	T-11	por semana	I20-AF/FQ-03			
Área de purificación	Agua desionizada libre de pirógenos	Carbono orgánico total	< 0.5 mg/L	T-40	por semana	I20-AP/FQ-01	Rechazar	Operario de turno	Analista laboratorio
		Conductividad	≤ 1.3 µS/cm	T-39	por semana	I20-AP/FQ-02			
		Endotoxinas bacterianas	0.25 UE/ml	T-09	por semana	I20-AP/M-01			
		pH	5.0 - 7.0	T-11	por semana	I20-AP/FQ-03			

Tabla 11.1.1 – (Continuación)

Punto	Materia prima o Insumo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis
Área de entrecruzamiento	Agua desionizada libre de pirógenos	Carbono orgánico total	< 0.5 mg/L	T-40	por semana	I20-AE/FQ-01	Rechazar	Operario de turno	Analista laboratorio
		Conductividad	≤ 1.3 µS/cm	T-39	por semana	I20-AE/FQ-02			
		Endotoxinas bacterianas	0.25 UE/ml	T-09	por semana	I20-AE/M-01			
		pH	5.0 - 7.0	T-11	por semana	I20-AE/FQ-03			
Sala de fermentación	Aire	Número máximo de partículas/m ³ (0.5-5.0 mm)	< 3500 Partículas/m ³	Medidor de partículas	por mes	A-F/FQ-01	Realizar revisión y mantenimiento a los equipos acondicionadores de aire	Operario de turno	Analista laboratorio
		Número máximo de partículas/m ³ (> 5.0 mm)	Ninguna	Medidor de partículas	por mes	A-F/FQ-02			
		Número máximo de MO viables	< 5 Partículas/m ³	T-43	por mes	A-F/M-01			
Sala de purificación y entrecruzamiento	Aire	Número máximo de partículas (0.5-5.0 mm)	< 350000 Partículas/m ³	Medidor de partículas	por mes	A-PyE/FQ-01		Operario de turno	Analista laboratorio
		Número máximo de partículas (> 5.0 mm)	< 2000 Partículas/m ³	Medidor de partículas	por mes	A-PyE/FQ-02			
		Número máximo de MO viables	< 100 Partículas/m ³	T-43	por mes	A-PyE/M-01			

Tabla 11.2 – Plan de Calidad durante el proceso de producción

Producción de HA lineal en polvo									
Punto o Equipo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis	
Autoclave D-01	Rendimiento de esterilización	Ausencia de crecimiento	T-02, T-01	Cada 15 días	D-01/M-01	Calibrar equipo	Operario de turno	Analista laboratorio	
	Control de esterilización	Cambio de color de cinta	Visual	Por lote	D-01/FQ-01	Esterilizar nuevamente			
	Temperatura	121 ± 1 °C	Visual	Por lote	D-01/FQ-02	Corregir temperatura			
	Presión	1.4 ± 0.1 atm	Visual	Por lote	D-01/FQ-03	Corregir presión			
	Tiempo	32 - 33 minutos	Visual	Por lote	D-01/FQ-04	< tiempo: esterilizar nuevamente > tiempo: preparar medio nuevamente		Operario de turno	
Estufa H-01	Temperatura	37 ± 0.5 °C	Visual	Por lote	H-01/FQ-01	Corregir temperatura		Operario de turno	
Tanque R-03	Rendimiento de esterilización	Ausencia de crecimiento	T-01	Cada 15 días	R-03/M-01	Revisar registros y tomar medidas	Operario de turno	Analista laboratorio	
	Temperatura esterilización	121 ± 1 °C	Control automático	Durante el tiempo de mantenimiento	R-03/FQ-01	Regular caudal de vapor			
	Temperatura final	37 ± 1 °C	Control automático	Por lote	R-03/FQ-02	Regular caudal de medio calefactor		Operario de turno	
	Tiempo mantenimiento	7 minutos	Control automático	Por lote	R-03/FQ-03	< tiempo: esterilizar nuevamente > tiempo: preparar medio nuevamente			

Tabla 11.2 – (Continuación)

Producción de HA lineal en polvo									
Punto o Equipo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis	
Tanque R-04	Rendimiento esterilización	Ausencia de crecimiento	T-01	Cada 15 días	R-04/ M-01	Revisar registros y tomar medidas	Operario de turno	Analista laboratorio	
	Temperatura esterilización	121 ± 1 °C	Control automático	Durante el tiempo de mantenimiento	R-04/ FQ-01	Regular caudal de vapor			
	Temperatura final	37 ± 1 °C	Control automático	Por lote	R-04/ FQ-02	Regular caudal de medio calefactor		Operario de turno	
	Tiempo mantenimiento	7 minutos	Control automático	Por lote	R-04/ FQ-03	< tiempo: esterilizar nuevamente > tiempo: preparar medio nuevamente			
Reactor C-02	Temperatura	37 ± 0.5 °C		Cada hora	C-02/ FQ-01	Regular caudal agua de enfriamiento			
	pH	7.0 ± 0.5		Cada hora	C-02/ FQ-02	Corregir pH			
	Caudal volumétrico de aire de entrada		326 ± 1 L/h	Control automático	Cada hora (0-5 h ferm.)	C-02/ FQ-03	Regular válvula de alimentación		Operario de turno
			204 ± 1 L/h		Regular válvula de alimentación				
			285 ± 1 L/h		Regular válvula de alimentación				
	Velocidad de agitación	Curva de velocidad			Cada hora	C-02/ FQ-04	Regular variador de velocidad		
	Presión	1.00 - 1.05 kg/cm2			Cada hora	C-02/ FQ-05	Controlar salida de aire (filtro)		
Oxígeno disuelto	Curva de OD			Cada hora	C-02/ FQ-06	Regular caudal de aire de entrada			
Corriente G	Concentración de células	15 ± 0.1 g/L	T-03	Por lote	G/FQ-01			Analista laboratorio	
	Concentración de HA	6.4 ± 0.1 g/L	T-04	Por lote	G/FQ-02	Buscar la causa por la cual no se cumplen las especificaciones en el reactor y corregir el desperfecto	Operario de turno		
	Viscosidad	436 ± 3 cp	T-05	Por lote	G/FQ-03				
	Peso molecular HA	1.5 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	G/FQ-04				
	Sacarosa residual	1.5 ± 0.1 g/L	T-07	Por lote	G/FQ-05				

Tabla 11.2 – (Continuación)

Producción de HA lineal en polvo							
Punto o Equipo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra
Corriente H	Concentración de HA	3.49 ± 0.05 g/L	T-04	Por lote	H/FQ-01	Calibrar centrífuga	Operario de turno
	Proteínas	1.25 ± 0.05 g/L	T-08	Por lote	H/FQ-02		
Corriente Q	Concentración de HA	5.40 ± 0.05 g/L	T-04	Por lote	Q/FQ-01	Calibrar centrífuga	Operario de turno
	Proteínas	0.25 ± 0.05 g/L	T-08	Por lote	Q/FQ-02		
Corriente R	Endotoxinas bacterianas	< 0.25 UE/ml	T-09	Por lote	R/M-01	Reemplazar filtro	Operario de turno
Filtro F-02	Presión transmembrana	1.50 ± 0.05 Bar	Control automático	Cada 15 minutos	F-02/ FQ-01	Regular válvula de alimentación	-
Tanque R-10	Concentración de HA	2.39 ± 0.01 g/L	T-04	Por lote	R-10/ FQ-01	Diafiltrar durante 30 minutos más	Operario de turno
	Proteínas	3.43 ± 0.05 mg/L	T-08	Por lote	R-10/ FQ-02		
	Endotoxinas bacterianas	< 0.12 UE/ml	T-09	Por lote	R-10/ M-01		
Corriente X	Humedad	≤ 80 %	T-10	Por lote	X/FQ-01	Este control se realiza para conocer los parámetros de la suspensión que ingresa a la etapa de secado	Operario de turno
	Peso molecular HA	1.5 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	X/FQ-02		
Estufa H-02	Temperatura	60.0 ± 1.0 °C	Visual	Por lote	H-02/ FQ-01	Corregir la temperatura	-
	Humedad	≤ 5 %	T-10	Por lote	H-02/ FQ-02	Secar por 30 minutos mas	

Tabla 11.2 – (Continuación)

Producción de HA lineal en polvo												
Punto o Equipo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis				
Corriente Z	Apariencia	Polvo o agregados de fibras blancos o casi blancos	Visual	Por lote	Z/FQ-01	Si en este punto el producto no cumple las especificaciones, se reprocesa el lote desde la etapa de diafiltración	Operario de turno	Analista de laboratorio				
	pH	5.0 - 8.5	T-11	Por lote	Z/FQ-02							
	Concentración de HA	95 - 105 %	T-04	Por lote	Z/FQ-03							
	Mesófilos aerobios totales	< 100 UFC/g	T-12	Por lote	Z/M-01							
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , coliformes totales y fecales	Ausencia de crecimiento	T-13, T-14	Por lote	Z/M-02							
	Ácidos nucleicos	< 0.5 unidades de absorbancia	T-15	Por lote	Z/FQ-04							
	Endotoxinas bacterianas	< 0.05 UE/mg	T-09	Por lote	Z/M-03							
	Proteínas	< 0.3 %	T-08	Por lote	Z/FQ-05							
	Cloruros	< 0.5 %	T-16	Por lote	Z/FQ-06							
	Peso molecular HA	1.3 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	Z/FQ-07							
	Humedad relativa	< 5 %	T-10	Por lote	Z/FQ-08							
	Tamaño de partícula (d90)	200 µm	T-17	Por lote	Z/FQ-09							
	Producción de Jeringas de HA entrecruzado											
	Reactor C-03 Alcalinización	pH solución alcalina	12.6 ± 0.1	T-11	Por lote				C-03-A/ FQ-01	Corregir el pH mediante adición de base o ácido	-	Operario de turno
		Concentración inicial HA	40 ± 0.1 g/L	T-04	Por lote				C-03-A/ FQ-02	Agregar más HA o diluir	Operario de turno	Analista de laboratorio
	Reactor C-03 Reacción	Grado total de modificación	3.72 ± 0.05 %	T-16	Por lote				C-03-R/ FQ-01	Si es menor, agregar más DVS y dejar reaccionar; si es mayor, agregar más HA lineal	Operario de turno	Analista de laboratorio
		Grupos pendientes	1.80 ± 0.05 %	T-16	Por lote				C-03-R/ FQ-02		Operario de turno	Analista de laboratorio

Tabla 11.2 – (Continuación)

Producción de Jeringas de HA entrecruzado								
Punto/Equipo	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis
Reactor C-03 Calentamiento	Temperatura	50 ± 1 °C	Control automático	Por lote	C-03-C/FQ-01	Corregir temperatura	-	Operario de turno
	pH Final	12.6 ± 0.1	T-11	Por lote	C-03-C/FQ-02	Si este pH cambia, se produjo algún problema, rechazar lote	-	
Tanque R-12	pH buffer	6.7 ± 0.1	T-11	Por lote	R-12/FQ-01	Corregir pH	-	Operario de turno
	pH gel hidratado	7.1 ± 0.1	T-11	Por lote	R-12/FQ-02	Dejar más tiempo hasta que alcance el valor requerido	-	
Corriente J	Concentración final de HA	14.0 ± 0.5 g/L	T-04	Por lote	J/FQ-01	Corregir en la etapa siguiente agregando más HA lineal	Operario de turno	Analista de laboratorio
	Relación de hinchamiento	71.43 ± 0.05 ml gel/g HA	T-19	Por lote	J/FQ-02	Si esto no cumple, rechazar lote y buscar problemas en la etapa de entrecruzamiento		
	Agua enlazada congelable	0.6 ± 0.05 g H ₂ O/g HA	T-20	Por lote	J/FQ-03			
	Agua enlazada no congelable	44 ± 0.1 g H ₂ O/g HA	T-20	Por lote	J/FQ-04			
Tanque R-13	Grado total de modificación	3.72 ± 0.05 %	T-16	Por lote	R-13/FQ-01	Se rechaza el lote, y se buscan problemas en etapas anteriores	Operario de turno	Analista de laboratorio
	Caracterización reológica (G')	588 ± 5 Pa	T-21	Por lote	R-13/FQ-02			
	Tamaño de partículas (d90)	650 µm	T-17	Por lote	R-13/FQ-03			
	Ácidos nucleicos	< 0.12 unidades de absorbancia	T-15	Por lote	R-13/FQ-04			
	Peso molecular HA	1.3 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	R-13/FQ-05			
	Relación gel/lineal	80:20	T-22	Por lote	R-13/FQ-06			
	Concentración total de HA	15.0 ± 0.1 g/L	T-04	Por lote	R-13/FQ-07			
	pH	7.1 ± 0.1	T-11	Por lote	R-13/FQ-08			
Autoclave D-02	Rendimiento esterilización	Ausencia de crecimiento	T-02, T-01	Cada 15 días	D-02/M-01 y M-02	Calibrar equipo	-	Operario de turno
	Temperatura	121 ± 1 °C	Visual	Por lote	D-02/FQ-01	Corregir temperatura		
	Presión del vapor	2.0 ± 0.1 atm	Visual	Por lote	D-02/FQ-02	Corregir presión		

Tabla 11.3 – Plan de Calidad para productos terminados

Productos terminados									
Producto	Parámetro	Valor	Técnica	Frecuencia	Registro	AC/AP	Responsable toma de muestra	Responsable de análisis	
HA lineal en polvo	Apariencia	Polvo o agregados de fibras blancos o casi blancos	Visual	Por lote	HA/FQ-01	Determinar la causa por la cual no se cumple la especificación, y corregirla. Calibrar equipos. Realizar auditorías internas	Analista de laboratorio	Analista de laboratorio	
	pH	5.0 - 8.5	T-11	Por lote	HA/FQ-02				
	Concentración de HA	95 - 105 %	T-04	Por lote	HA/FQ-03				
	Mesófilos aerobios totales	< 100 UFC/g	T-12	Por lote	HA/M-01				
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , coliformes totales y fecales	Ausencia de crecimiento	T-13, T-14	Por lote	HA/M-02 a M-04				
	Ácidos nucleicos	< 0.5 unidades de absorbancia	T-15	Por lote	HA/FQ-04				
	Endotoxinas bacterianas	< 0.05 UE/mg	T-09	Por lote	HA/M-05				
	Proteínas	< 0.3 %	T-08	Por lote	HA/FQ-05				
	Cloruros	< 0.5 %	T-16	Por lote	HA/FQ-06				
	Peso molecular HA	1.3 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	HA/FQ-07				
	Humedad relativa	< 5 %	T-10	Por lote	HA/FQ-08				
	Tamaño de partícula (d90)	200 µm	T-17	Por lote	HA/FQ-09				
	Grado total de modificación	3.72 ± 0.05 %	T-16	Por lote	J/FQ-01				
	Caracterización reológica (G')	588 ± 5 Pa	T-21	Por lote	J/FQ-02				
Relación gel/lineal	80:20	T-22	Por lote	J/FQ-03					
Tamaño de partículas (d90)	650 µm	T-17	Por lote	J/FQ-04					
Concentración de HA en gel	14.0 ± 0.1	T-04	Por lote	J/FQ-05					
pH	6.0-7.5	T-11	Por lote	J/FQ-06					
Peso molecular HA	1.3 ± 0.05 MDa	T-06	Por lote	J/FQ-07					
Ácidos nucleicos	< 0.12 unidades de absorbancia	T-15	Por lote	J/FQ-08					
Endotoxinas bacterianas	< 0.5 UE/mL	T-09	Por lote	J/M-01					
Jeringa precargada						Determinar la causa por la cual no se cumple la especificación, y corregirla. Calibrar equipos. Realizar auditorías internas	Analista de laboratorio	Analista de laboratorio	

11.3.4. Registros

A continuación se detallan los registros que se llevan para materias primas (Tabla 11.4), proceso (Tabla 11.5) y producto terminado (Tabla 11.6). El código de registro se encuentra conformado de la siguiente manera: una letra que indica sobre qué se realiza el control (materia prima, insumo, equipo, corriente, producto final), en caso de ser necesario se agrega otra letra identificando el área de producción donde se lleva a cabo el control; la siguiente letra indica si el análisis es microbiológico (M) o fisicoquímico (FQ), y a continuación un número identificando el análisis correspondiente. Ejemplo: I20-AF/FQ-01 (Insumo agua desionizada, controlada en la sala de fermentación, análisis fisicoquímico N°1).

Cada una de las tablas siguientes muestra un ejemplo para facilitar su comprensión.

Tabla 11.4 – Tabla de registro para las materias primas

Tipo de registro	MATERIA PRIMA			
Código	MP2/FQ-04			
Materia Prima	Extracto de Levadura			
Descripción	Análisis Fisicoquímico - Residuo de Ignición			
Proveedor	Merck Argentina			
Técnica/Código	Determinación del residuo de ignición		T-28	
Límites de aceptación	≤ 13.0 %			
Lote	Fecha	Resultado	Analista	Firma
001	30/03/2016	12.5%	Analista 1	

Tabla 11.5 – Tabla de registro para el control de proceso

Tipo de registro	CONTROL DE PROCESO			
Código	R-03/M-01			
Descripción	Análisis Microbiológico – Rendimiento de la esterilización			
Equipo/Corriente	R-03			
Hora inicio etapa	2:02	Hora final etapa	2:40	
Operario a cargo	Operario 1			
Técnica/Código	Ensayos de Esterilidad		T-01	
Límites de aceptación	Ausencia de crecimiento			
Lote	Fecha	Resultado	Analista	Firma
001	30/03/2016	Ausencia	Analista 1	

Tabla 11.4 – Tabla de registro para los productos terminados

Tipo de registro	PRODUCTO TERMINADO			
Código	<i>HA/M-01</i>			
Producto	<i>HA lineal en polvo</i>			
Descripción	<i>Análisis microbiológico - Mesófilos aerobios totales</i>			
Condiciones de almacenamiento	<i>Almacenar en refrigeración (2-8 °C). Temperaturas de hasta 40 °C a corto plazo no afectan el producto. Almacenar en su empaque original sellado y una vez abierto utilizar inmediatamente. Evitar la alta humedad y la luz UV.</i>			
Técnica/Código	<i>Recuento de microorganismos aerobios totales</i>	<i>T-12</i>		
Límites de aceptación	<i>< 100 UFC/g</i>			
Lote	Fecha	Resultado	Analista	Firma
<i>001</i>	<i>30/03/2016</i>	<i>12 UFC/g</i>	<i>Analista 1</i>	

Capítulo 12

Organización de la Empresa

12. ORGANIZACIÓN DE LA EMPRESA

12.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se analizan las principales variables organizacionales, cuyas definiciones son de gran importancia dado que determinan en gran parte el éxito del proyecto en las etapas de implementación y operación. Se consideran tanto los aspectos legales como los aspectos funcionales de la organización. (DIRECCIÓN NACIONAL DEL APOYO AL JÓVEN EMPRESARIO, s.f.)

12.2. NATURALEZA JURÍDICA DE LA EMPRESA Y ESTUDIO LEGAL

Al inicio del estudio debe determinarse la naturaleza de la empresa, esto es, el encuadre jurídico en alguna de las distintas formas de asociación que la Ley N° 19.550 establece (Ley de Sociedades Comerciales). Dado que la planta de producción de HA es una ampliación del Laboratorio Internacional Argentino (LIA) ésta integra el mismo marco jurídico, el cual consiste en una Sociedad Anónima (S.A.).

Este tipo de sociedad presenta muchas ventajas, entre ellas pueden mencionarse:

- Reúne varios capitales, con la emisión y ventas de acciones.
- El capital social está representado por acciones y los socios limitan su responsabilidad a la integración del aporte y tenencia de las mismas.
- La duración de la sociedad es independiente de la vida de sus socios o finalización de los mismos.
- La administración y la fiscalización son realizadas por organismos nombrados por los socios.
- Las decisiones están a cargo de la asamblea de accionistas.
- El capital social mínimo según el artículo 186 de la ley 19.550 es de 100000 pesos, con una integración del 25% de las acciones suscriptas.

La legislación laboral determina las condiciones de contratación del personal, las escalas salariales y los beneficios sociales correspondientes, aplicando a este caso lo establecido en el Convenio Nacional N° 564/09.

La legislación tributaria vigente determina los impuestos que debe pagar el proyecto en la etapa de operación, como por ejemplo, los impuestos generales (Impuesto a las Ganancias, Impuesto al Valor Agregado o el Impuesto a los Ingresos Brutos). (DIRECCIÓN NACIONAL DEL APOYO AL JÓVEN EMPRESARIO, s.f.)

12.3. ESTRUCTURA ORGANIZACIONAL

La estructura organizacional establece la división, agrupación y coordinación de las actividades desarrolladas en la organización de manera que permita alcanzar los objetivos establecidos en el proyecto con la mayor eficiencia posible. Esta incide en las inversiones y los costos de operación del proyecto y en la determinación idónea del personal para los puestos necesarios. (DIRECCIÓN NACIONAL DEL APOYO AL JÓVEN EMPRESARIO, s.f.)

12.3.1. Organigrama de la empresa

El organigrama es la representación gráfica de la estructura organizacional. Es una herramienta que permite visualizar rápidamente las distintas áreas, los niveles jerárquicos, las líneas de supervisión y los canales formales de comunicación existentes en la organización.

El LIA posee una organización definida con una estructura de línea de mando y estado mayor (*staff*), con una departamentalización combinada por funciones en un primer nivel y por productos en el segundo nivel, lo cual le otorga un grado de independencia a las distintas plantas de producción. Este modelo de organización se lo conoce como mixto, ya que mantiene una jerarquía vertical entre superiores y subordinados (modelo lineal), combinado con la especialización donde cada encargado o jefe maneja su departamento o sector y es el único que puede dar órdenes (modelo funcional, no permite ordenes cruzadas). (ABRAHAM HERNÁNDEZ & HERNÁNDEZ VILLALOBOS, 2003)

Con la estructura de la planta ya diseñada, se realiza la asignación del personal para la administración y operación de la misma, teniendo en cuenta que el personal de mayor jerarquía queda preestablecido por LIA.

En la figura 12.1 se muestra una síntesis del organigrama por departamento del LIA, en el cual se indica el departamento bajo el cual se anexa la planta productora de HA.

A continuación se realiza una breve descripción de las funciones de cada uno de los departamentos:

- **Junta General de Accionistas:** Es el órgano soberano y de poder supremo de la sociedad, por cuanto no se encuentra supeditado a ningún otro. Conformada por sus socios los cuales toman todas las decisiones que estimen oportunas dentro del marco de su competencia. Estas decisiones, que se adoptan en forma de acuerdo por mayoría de votos, obligan a todos los socios y también a los administradores. Sus competencias incluyen la modificación de los estatutos sociales; la elección, revocación y exigencia de responsabilidad a los administradores y auditores así como también la aprobación

de la gestión social de cada ejercicio económico y la aprobación o no de las cuentas anuales.

- **Consejo de Administración:** Conformado por más de dos personas que pueden o no ser accionistas, es el órgano encargado de las funciones de gobierno, gestión y representación de la sociedad. Debe asegurar que se cumplan las normas legales y estatutarias e impulsar el cumplimiento de éstas por los demás órganos.
- **Dirección General:** Es un órgano de gestión en cuanto le corresponde llevar a cabo la actividad administrativa, técnica, productiva, financiera y otras necesarias para la consecución del objeto social.

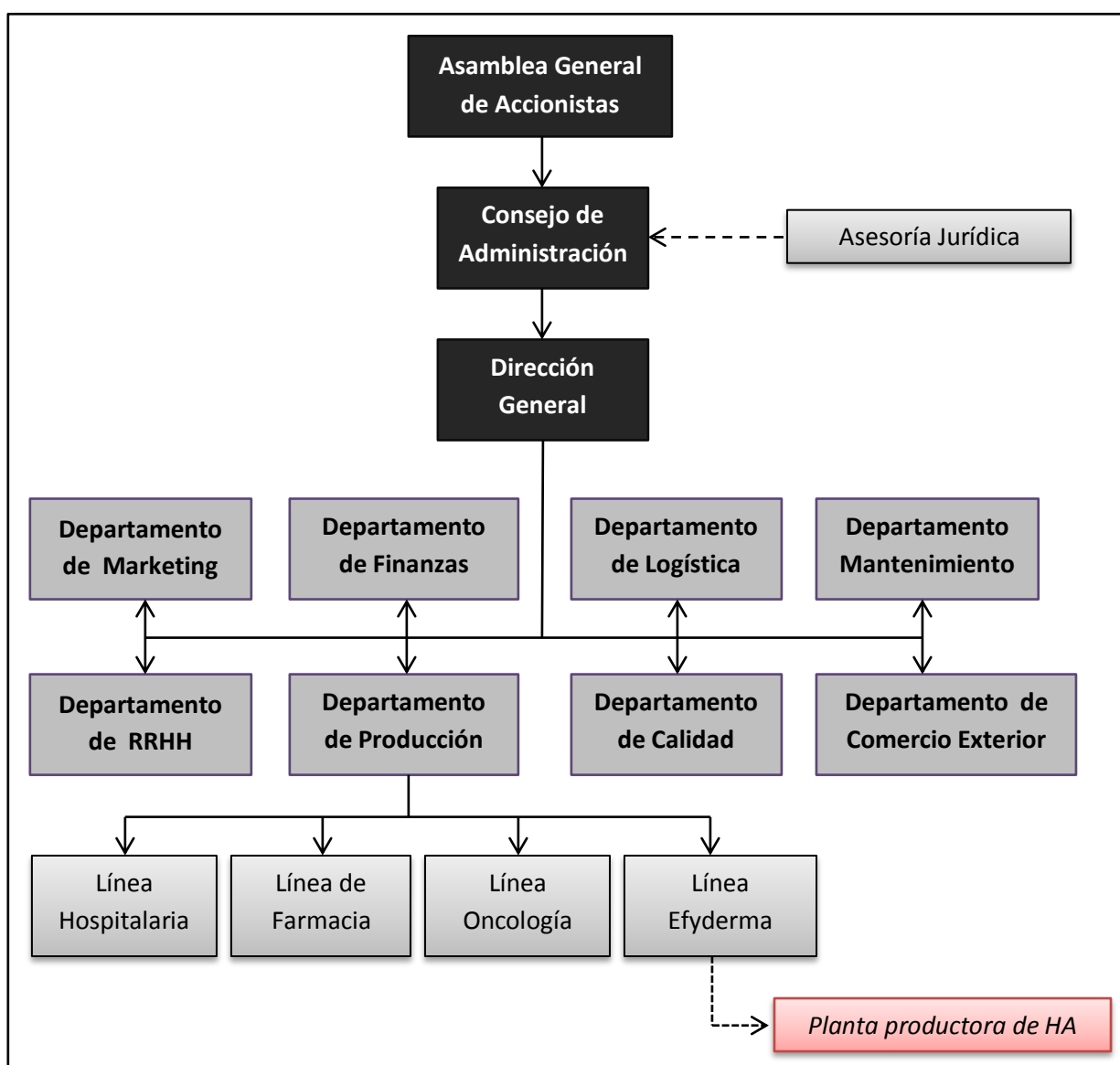


Figura 12.1 – Organigrama resumido por Departamento del LIA

- **Departamento de Marketing:** es el órgano encargado de fijar las políticas de ventas, y de administrar y realizar estimaciones futuras de las mismas. Es decir, se encarga de las ventas, publicidad y promoción e investigación del mercado.
- **Departamento de Finanzas:** es el órgano encargado de realizar el seguimiento económico financiero de la empresa. Es el que debe relacionarse directamente con las fuentes de créditos de la empresa, llevar a cabo la contabilidad de la misma y realizar los estudios de actualización de costos correspondientes a los distintos productos de la empresa.
- **Departamento de Logística:** es el órgano encargado de realizar las compras de materias primas e insumos que se utilizan en las distintas plantas de la empresa, fijándose las políticas de *supply chain* (cadena de abastecimiento y suministros) de las mismas. Su función está en constante relación con los departamentos de producción y finanzas, y fundamentalmente con los proveedores de la empresa.
- **Departamento de Mantenimiento:** es el órgano encargado del mantenimiento, reparación, reposición, etc. del proceso productivo. El encargado de dicho departamento debe establecer en forma conjunta con el encargado de producción, un plan de mantenimiento anual y mensual de los sistemas eléctricos, mecánicos y edilicios.
- **Departamento de Recursos Humanos:** es el órgano encargado de la administración de la medicina laboral, las capacitaciones, la comunicación empresarial, el reclutamiento de personal y la gestión todas las actividades inherentes al desarrollo de las relaciones laborales y sindicales que competen al organismo.
- **Departamento de Calidad:** es el órgano encargado de fijar las políticas de aseguramiento de la calidad que deben llevarse a cargo en la empresa, en las distintas líneas de producción, para obtener la aprobación del proceso y poder asegurar la calidad del producto final y las materias primas. Encargándose además de controlar que estas políticas sean debidamente cumplidas.
- **Departamento de Comercio exterior:** es el órgano responsable de la planificación y desarrollo de estrategias comerciales para el ingreso en mercados del exterior. Supervisa, controla y administra los trámites correspondientes a la documentación aduanera. Los productos se distribuyen a más de 20 países en el mundo a través de la red de comercialización y distribución del CFR (Corporación Farmacéutica Recalcine).
- **Departamento de Producción:** es el órgano encargado de coordinar la producción de las distintas líneas de proceso. El gerente de producción debe administrar la

información proveniente de los otros departamentos como los de calidad, logística, mantenimiento y comercio exterior. Está en permanente contacto con los directores técnicos de cada línea de producción:

- ✓ Línea Hospitalaria
- ✓ Línea Farmacia
- ✓ Línea Oncológica
- ✓ Línea Efyderma

Esta última es la línea más nueva del LIA, se encarga de los dermocosméticos. Produce una gama de formulaciones hipoalergénicas, para el cuidado facial y corporal. Es por ello que la planta productora de HA se ubica en dicha línea de producción. (LABORATORIO INTERNACIONAL ARGENTINO, 2015)

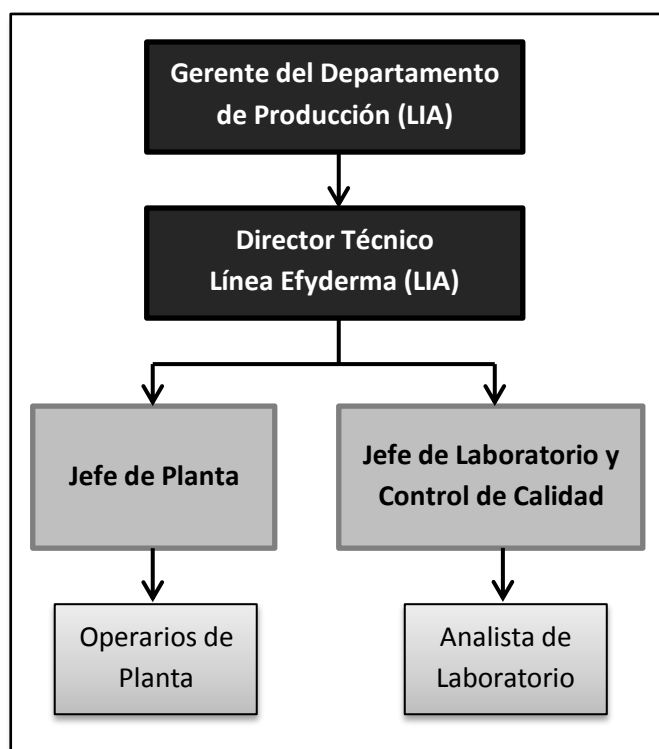


Figura 12.2 – Organigrama de la planta de producción de HA

En la figura 12.2 se detalla el organigrama para la producción del HA, partiendo de los cargos jerárquicos de mayor rango como el puesto de gerente del departamento de producción y el del director técnico a cargo de la línea Efyderma, los cuales son parte de la estructura del LIA.

12.3.2. Descripción de los puestos de trabajo

A continuación se describen los puestos de trabajo implicados en la producción del HA, aclarando en cada caso el número de personas requeridas para el mismo.

12.3.2.1. Gerente del departamento de producción (Personal designado por LIA)

Es la máxima autoridad en el área de producción, se encarga de transmitir y hacer cumplir los objetivos y establecer las normas generales y las políticas a seguir para cada línea de proceso. Se apoya en los departamentos que proporcionan información necesaria para la toma de decisiones y al mismo tiempo ejerce un control directo sobre los directores técnicos de cada línea.

12.3.2.2. Director Técnico de la línea Efyderma (Personal designado por LIA)

Es la persona encargada de la supervisión, coordinación y ejecución de toda la línea de dermocosméticos. Ejerce un control directo sobre los jefes de planta y jefes de Laboratorio y control de calidad. Debe poseer una educación científica y experiencia práctica adecuada y acorde con las exigencias de la legislación nacional.

12.3.2.3. Jefe de Laboratorio y Control de Calidad (1 persona)

Es la persona encargada de aprobar o rechazar las materias primas, los materiales de envasado, los productos semielaborados y productos terminados; evaluar los registros de los lotes; asegurar que se lleven a cabo todas las pruebas necesarias; aprobar las especificaciones, las instrucciones de muestreo, los métodos de pruebas y otros procedimientos de control de calidad; aprobar y controlar los análisis llevados a cabo por contrato; vigilar el mantenimiento del departamento, la higiene, las instalaciones y los equipos; asegurar que se efectúen las validaciones apropiadas, incluyendo las correspondientes a los procedimientos analíticos y las calibraciones de los equipos de control. (ANMAT, 2014)

12.3.2.4. Jefe de Planta (1 persona)

Es la persona encargada de asegurar que los productos se fabriquen y almacenen en concordancia con la documentación apropiada, a fin de obtener la calidad exigida; aprobar las instrucciones relacionadas con las operaciones de fabricación, incluyendo los controles durante el proceso, y asegurar su estricto cumplimiento; asegurar que los registros de producción sean evaluados y firmados por la persona designada, antes de que se pongan a disposición del departamento de control de calidad; vigilar el mantenimiento de la planta, la higiene, las instalaciones y los equipos; asegurar que se lleven a cabo las debidas validaciones de los procesos y las calibraciones de los equipos de control, como también que esas validaciones se registren y que los informes estén disponibles; asegurar que se lleve a cabo la capacitación inicial y continua del personal de producción, y que dicha capacitación se adapte a las necesidades. (ANMAT, 2014)

12.3.2.5. Operarios de planta (2 personas)

Son las persona encargadas del manejo y el correcto funcionamiento de los equipos, control de los parámetros del proceso, respondiendo de manera adecuada ante eventuales desajustes.

Además de la capacitación básica acerca de la teoría y práctica de las Buenas Prácticas de Manufactura para cosméticos y productos farmacéuticos, el personal debe recibir la capacitación adecuada a las responsabilidades que se le asignan.

12.3.2.6. Analista de laboratorio (1 persona)

Es el encargado de realizar los análisis correspondientes a las materias primas, al producto terminado y a las muestras tomadas durante el proceso de producción, llevando un registro completo de los parámetros analizados y los valores obtenidos. Esta tarea es desempeñada por un técnico químico capacitado para tal fin.

12.3.2.7. Auxiliares de otras áreas (5 personas)

Los auxiliares de otras áreas incluyen a las personas que se anexan a los departamentos ya existentes del LIA que se requieren para llevar a cabo la organización y funcionamiento de la planta productora. Estos son:

- Un técnico en el departamento de mantenimiento: encargado de realizar el mantenimiento tanto de los sistemas eléctricos y mecánicos, como de los equipos exclusivos de la planta de producción de HA.
- Un auxiliar en el departamento de marketing: encargado de las ventas, publicidad e investigación del mercado para el polvo de HA lineal y las jeringas precargadas.
- Un auxiliar en el departamento de finanzas: encargado de realizar el seguimiento económico financiero de la planta de producción de HA.
- Un auxiliar en el departamento de logística: encargado de comprar las materias primas e insumos requeridos por la planta de HA, y realizar el despacho y seguimiento de los productos terminados comercializados.
- Un oficial de seguridad: encargado de la vigilancia y protección en el interior e inmediaciones de la planta de producción.

Cabe destacar que tanto el sueldo como los costos de la capacitación (en caso de ser requerida) quedan a cargo de la planta de producción de HA.

12.4. PROGRAMACIÓN DE PRODUCCIÓN

Como se menciona en el capítulo 5, la capacidad total anual de HA lineal es de 16 kg, de los cuales 6.7 kg se entrecruzan para la elaboración de inyectables dérmicos. Se opera de lunes a

viernes durante 52 semanas al año, 50 destinadas a la producción realizada en modo batch, y 2 reservadas para el mantenimiento de la planta e imprevistos.

En base a esto se define una producción de 2 lote semanales de HA lineal equivalente a 160 g, de los cuales 152.5 g se los envasa para su comercialización para la producción de cremas antiage. Del HA restante obtenido en esos lotes, 134 g se entrecruzan y el resto se guarda para la formulación final de las jeringas.

En la tabla 12.1 se observan los parámetros operativos del esquema de producción, el cual fue planteado luego de determinar la cantidad de lotes producidos semanalmente, teniendo en cuenta los tiempos de operación, los volúmenes manejados y los tamaños de los equipos.

Tabla 12.1 - Parámetros del esquema de producción

Producción anual	HA lineal	16 kg
	HA entrecruzado	6.7 kg
Producción semanal	HA lineal	320 g
	HA entrecruzado	134 g
Régimen de trabajo		Lunes - Viernes
Semanas para producción/año		50
Semanas para mantenimiento e imprevistos/año		2
Días hábiles/año		250
Nº de lotes de HA lineal/semana		2
Nº de lotes de HA entrecruzado/semana		1

Como se observa en el diagrama de Gantt (figura 12.3), la planta comienza la producción del primer lote de HA lineal el día lunes y el segundo lote el día martes, ya que esto permite utilizar los mismos equipos durante toda la elaboración. El día viernes se envasa el HA lineal destinado a la producción de cremas y el resto se almacena para la producción de las jeringas en la semana siguiente. De acuerdo a esto, la producción del hidrogel de HA entrecruzado se encuentra desfasada una semana respecto a la producción del HA lineal. En la tabla 12.2 se muestran las referencias de los colores utilizados en el diagrama de Gantt.

Tabla 12.2 – Referencias del diagrama de Gantt

Color	Referencia
Verde	Operario Nº 1
Naranja	Operario Nº 2
Azul	Producción del 1er lote de HA en polvo
Púrpura	Producción del 2do lote de HA en polvo
Amarillo	Producción de lote de HA paya inyectables

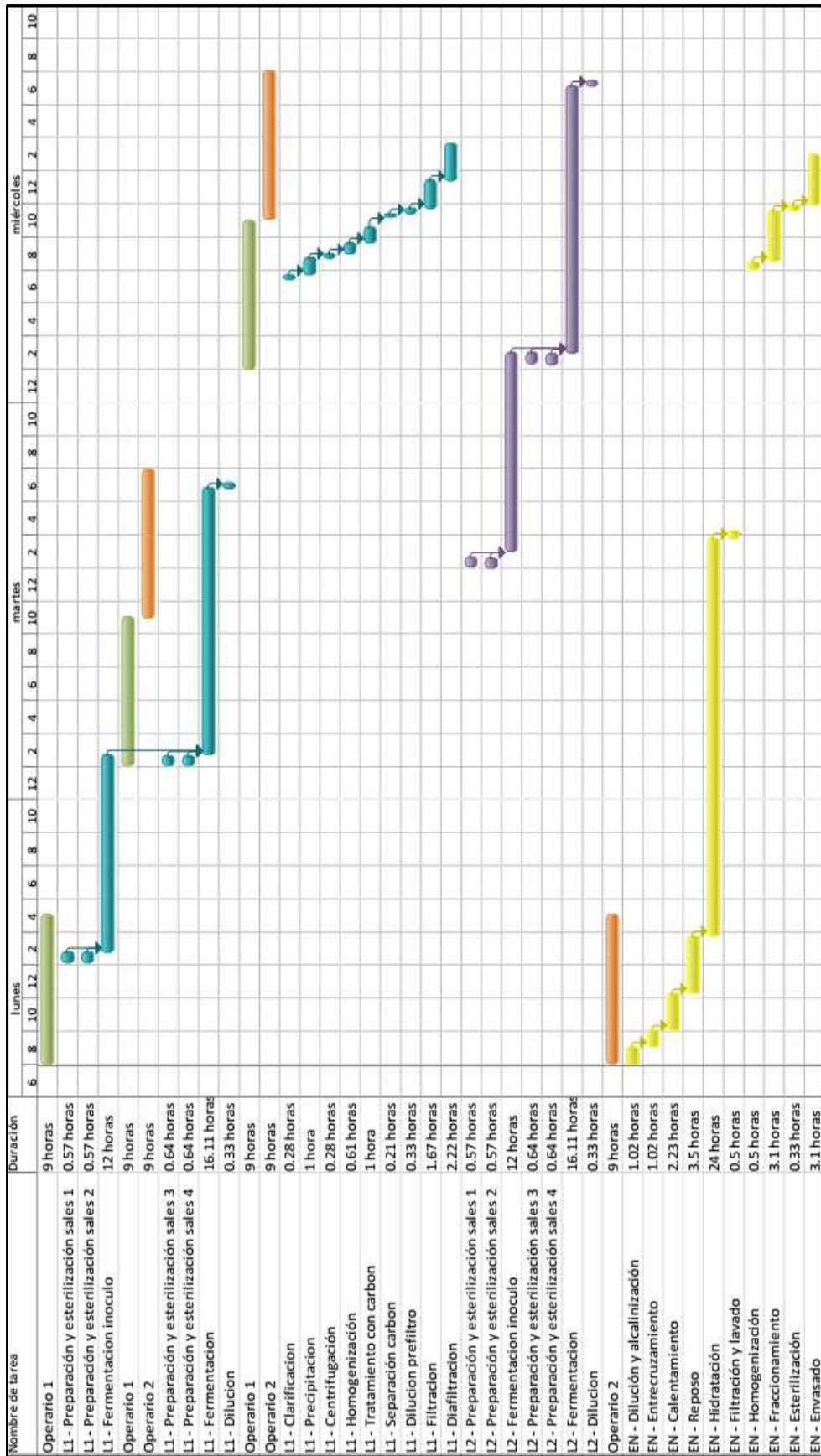


Figura 12.3 – Diagrama de Gantt



Figura 12.3 – (Continuación)

12.5. TURNOS DE TRABAJOS

Según lo establecido en el Convenio Colectivo de Trabajo N° 691/14, Artículo 5: “Aquellos lugares donde se establezca un régimen de trabajo de lunes a viernes inclusive, sin trabajar los días sábados, la jornada diaria podrá extenderse hasta nueve (9) horas diarias distribuidas en los cinco (5) días hasta alcanzar el límite de cuarenta y cinco (45) horas fijadas para la jornada semanal”. (SAFYB, 2014)

En la tabla 12.3 se resume el número de personal asignado para los cargos que fueron agregados a la organización del LIA.

Tabla 12.3 – Personal de la planta

Cargo o función	Cantidad de Personal
Jefe de laboratorio y control de calidad	1
Jefe de planta	1
Operarios de planta	2
Analista de laboratorio	1
Técnico en el departamento de mantenimiento	1
Auxiliar en el departamento de marketing	1
Auxiliar en el departamento de finanzas	1
Auxiliar en el departamento de logística	1
Oficial de seguridad	1
Total	10

Los turnos de trabajos se clasifican en dos grupos:

- Turno de trabajo con horario fijo: es aquel que se realiza de corrido de 8:00 a 17:00 horas de lunes a viernes y con 30 minutos libres para desayunar, merendar o descansar. Bajo estas condiciones operan el jefe de laboratorio y control de calidad y el jefe de planta, el analista de laboratorio, el auxiliar del departamento de marketing, el auxiliar del departamento de finanzas, el auxiliar del departamento de logística y el oficial de seguridad.
- Turno de trabajo rotativo: es aquel que posee una duración de 9 horas de corridas con 30 minutos libres para desayunar, merendar o descansar, pero a diferencia del anterior, sus turnos rotan cada semana. Bajo estas condiciones trabajan los operarios de planta durante dos días a la semana (martes y miércoles) debido a que se requiere su presencia durante el proceso de fermentación (Figura 12.3). Los días restantes (lunes, jueves y viernes) los operarios trabajan con horario fijo.

A continuación en la tabla 12.4 se muestra como sería la rotación de horarios para las dos primeras semanas.

Tabla 12.4 - Turnos de trabajos rotativos

		Lun	Mar	Miér	Jue	Vie
Semana 1	Operario I	8:00 17:00	2:00 10:00	2:00 10:00	8:00 17:00	8:00 17:00
	Operario II	8:00 17:00	10:00 19:00	10:00 19:00	8:00 17:00	8:00 17:00
Semana 2	Operario I	8:00 17:00	10:00 19:00	10:00 19:00	8:00 17:00	8:00 17:00
	Operario II	8:00 17:00	2:00 10:00	2:00 10:00	8:00 17:00	8:00 17:00

Capítulo 13

Estudio Económico-Financiero

13. ESTUDIO ECONÓMICO-FINANCIERO

13.1. INTRODUCCIÓN

El análisis realizado en los capítulos anteriores permitió determinar la existencia de un mercado potencial por cubrir y la viabilidad técnica del proyecto en cuestión.

En el presente capítulo se realizan por separado el estudio económico (Sección I), la evaluación económica (Sección II) y el análisis de sensibilidad (Sección III). En el primer caso se pretende determinar cuál es el monto de los recursos económicos necesarios para la realización del proyecto, cuál será el costo total de la operación de la planta, así como otra serie de indicadores que servirán como base para la parte final y definitiva del proyecto (BACA URBINA, 2001). En la sección subsiguiente se analizan diversos indicadores financieros para determinar la rentabilidad del proyecto en cuestión, mientras que en la sección III se analiza cómo influyen sobre la TIR la variación de diversos factores.

Todos los montos de dinero están expresados en pesos argentinos, utilizando una relación de cambio respecto al dólar de 15,60 \$/USD (BANCO NACIÓN, 2014).

El estudio se realiza para un periodo de 10 años, sin embargo en el presente capítulo se ilustran los cálculos solo para el primer año del proyecto para simplificar la presentación de los datos, ya que los cálculos para cada uno de los restantes se realizan de igual manera.

Para el análisis se emplea la demanda proyectada para el primer año de producción, considerando que la misma se mantiene constante durante todo el periodo de inversión, de esta manera se analiza la rentabilidad en el caso más desfavorable, es decir, produciendo a la capacidad mínima de la planta.

SECCIÓN I: ESTUDIO ECONÓMICO

13.2. INVERSIÓN TOTAL

Es la erogación de dinero necesaria para la puesta en marcha del proyecto. La inversión total está conformada por la inversión inicial, la cual comprende la adquisición de activos fijos y activos intangibles, y por el capital de trabajo. En la figura 13.1 se detallan los componentes de la inversión.

- **Activos fijos:** son todas las inversiones que se realizan en los bienes tangibles que se utilizarán en el proceso o que servirán de apoyo a la operación normal del proyecto. Entre ellos se encuentran el terreno, obras civiles, equipamiento de planta e

infraestructura de servicios auxiliares. Estos activos están sujetos a depreciación, la cual representa la pérdida de valor contable.

- **Activos intangibles:** son todas las inversiones realizadas sobre activos constituidos por los servicios o derechos adquiridos, necesarios para la puesta en marcha del proyecto. Incluyen gastos de organización, patentes y licencias, gastos de puesta en marcha, capacitación, bases de datos y sistemas de información. Estos activos están sujetos a amortización, equivalente a la depreciación de los activos fijos.

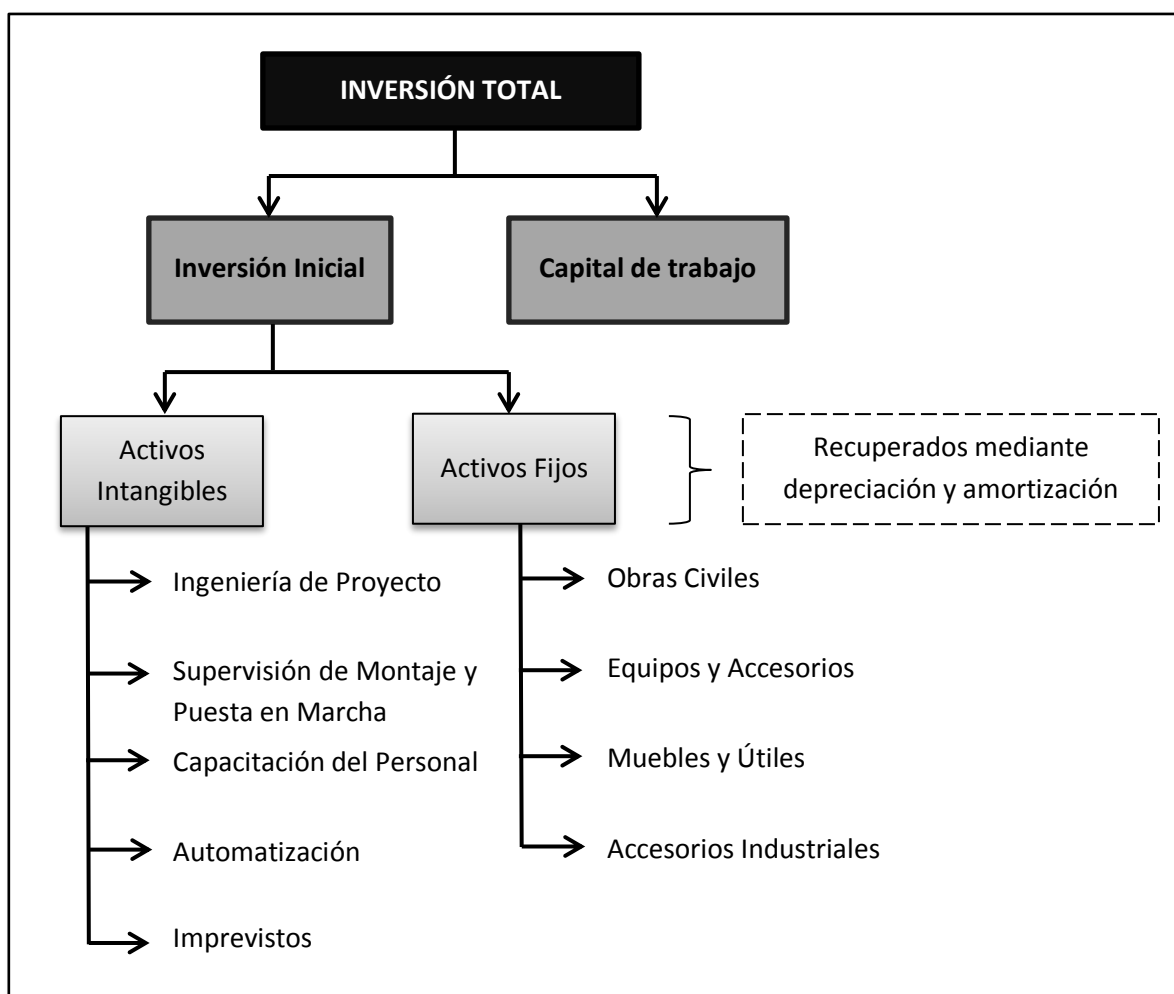


Figura 13.1 – Componentes de la Inversión

- **Capital de trabajo:** esta inversión representa el capital adicional con el cual se debe contar para que empiece a funcionar una empresa. Es la financiación necesaria para producir el primer lote de producción antes de recibir ingresos. Aunque el capital de trabajo también es una inversión inicial, la principal diferencia respecto a las inversiones en activos fijos e intangibles es su naturaleza circulante, es decir, no puede

recuperarse mediante depreciaciones o amortizaciones, pero se supone que la empresa se resarcirá de él a corto plazo.

13.2.1. Activos Fijos

El costo del activo fijo incluye el precio de compra del bien más todos aquellos importes necesarios que deben pagarse para su implementación. Los componentes de los activos fijos se agrupan en las siguientes categorías: obras civiles, maquinarias y equipos, muebles y útiles, accesorios industriales.

Las alícuotas, es decir el porcentaje que se calcula sobre el precio base, del Impuesto al Valor Agregado (IVA) varían según el tipo de producto o servicio de acuerdo a lo establecido en la ley 25.063. Las tasas utilizadas en este capítulo son la general que aplica a la mayoría de los productos y cuyo valor es del 21% y la alícuota del 10.5% la cual incluye, entre otros, a los productos comprendidos en la sección XVI del índice de Nomenclatura Común del Mercosur (MINISTERIO DE ECONOMÍA Y FINANZAS PÚBLICAS, 1998).

13.2.1.1. Obras civiles

En este rubro se detallan todas aquellas cuestiones inherentes a la infraestructura de la planta y sus dependencias. Los importes se determinaron de acuerdo a la información obtenida mediante relevamiento por internet, en la página web Soluciones Especiales, brindada por la inmobiliaria B&M Propiedades, y presupuestos otorgados por las empresas Caseros Inoxidables S.A. y FAMIQ S.R.L. Los importes se resumen en la Tabla 13.1, y en todos los casos se aplica una alícuota de IVA del 21%.

Para el cálculo del costo del edificio principal se consideró el costo de construcción de paredes externas e internas, el revestimiento final de dichas paredes, los costos de techo y pisos y de las aberturas necesarias.

Los montos especificados en instalaciones eléctricas, de gas y de agua fueron calculados en base a precios de cañerías, accesorios, cables, luminarias y demás elementos que componen cada una de las instalaciones, incluyendo un porcentaje relativo a la mano de obra requerida para su ejecución.

Tabla 13.1 – Activos fijos por obras civiles

Detalle	Cantidad (m ² – Núm.)	Precio Unitario (\$/m ² o \$/unid.)	Mano de Obra (\$)	Costo total (\$)	IVA (21%)
Terreno	127	800.00	-	101,600.00	21,336.00
Edificio principal					
Mampostería	355.04	358.01	246,416.96	373,524.83	78,440.21
Acabado de paredes	681.61	249.94	140,731.64	311,093.24	65,329.58
Techo	122.10	640.00	121,001.10	199,145.10	41,820.47
Piso	122.10	265.36	76,000.50	108,400.96	22,764.20
Aberturas	20	1,747.64	-	34,952.80	7,340.09
Depósito IPA	2.25	5,984.89	15,515.95	28,981.95	6,086.21
Instalación de gas	-	-	-	14,690.83	3,085.07
Instalación eléctrica	-	-	-	60,134.98	12,628.35
Instalación de agua	-	-	-	14,152.00	2,971.92
TOTAL				1,317,866.48	276,751.96

El costo total del rubro “Obras Civiles” es de \$ 1,594,618.48 y se obtiene de la suma de los totales parciales obtenidos en la tabla anterior.

13.2.1.2. Equipos y Accesorios de Proceso

Este rubro comprende todos los equipos, dispositivos y demás que estén involucrados en el proceso de producción de HA. Se incluyen en el mismo los tanques de almacenamiento de insumos y desechos, equipos de bombeo. Además se consideran dentro de esta categoría las cañerías y válvulas que forman parte de la línea principal.

Los precios de los equipos adoptados se obtuvieron a través de consultas realizadas a los proveedores correspondientes, como por ejemplo Zelian S.A., EuroLab S.A., Eurolabor, Famiq S.R.L, etc., mientras que los precios de los equipos diseñados se calculan teniendo en cuenta sus dimensiones, materiales, conexiones y detalles. A este último se le adiciona un porcentaje correspondiente a características de seguridad y mano de obra, el cual depende del detalle del equipo y sus características.

Los costos de flete, seguro y otros gastos se suponen como el 1% sobre el costo total de los equipos, mientras que la alícuota de IVA es variable según el tipo de producto, y se detalla en cada tabla.

A continuación en las tablas 13.2 y 13.3 se detallan los costos totales para los equipos y accesorios respectivamente.

Tabla 13.2 – Activos fijos por equipos

Detalle	Nº de Unidades	Precio Unitario (\$)	Costo Total (\$)	Fletes y otros gastos (\$)	IVA (\$) (10.5%)
Tanque B-01	1	1,584.00	1,584.00	15.84	166.32
Tanque B-02	1	4,000.00	4,000.00	40.00	420.00
Tanque B-03	1	1,984.00	1,984.00	19.84	208.32
Tanque B-04	1	6,200.00	6,200.00	62.00	651.00
Tanque B-05	1	378.53	378.53	3.79	39.75
Reactor C-01*	1	1,786.90	1,786.90	17.87	375.25
Reactor C-02	1	12,432.62	12,432.62	124.33	1,305.43
Reactor C-03	1	2,317.65	2,317.65	23.18	243.35
Autoclave D-01	1	41,734.70	41,734.70	417.35	4,382.14
Autoclave D-02	1	43,680.00	43,680.00	436.80	4,586.40
Envasadora E-01	1	23,505.00	23,505.00	235.05	2,468.03
Equipo E-02	1	780,000.00	780,000.00	7,800.00	81,900.00
Envasadora E-03**	2	273,000.00	546,000.00	5,460.00	57,330.00
Filtro F-01	1	298,358.00	298,358.00	2,983.58	31,327.59
Filtro F-02	1	459,583.00	459,583.00	4,595.83	48,256.22
Filtro F-03	1	312,000.00	312,000.00	3,120.00	32,760.00
Filtro F-04	2	4,233.45	8,466.90	84.67	889.02
Filtro F-05	1	21,604.00	21,604.00	216.04	2,268.42
Estufa H-01	1	20,191.75	20,191.75	201.92	2,120.13
Estufa H-02	1	28,239.28	28,239.28	282.39	2,965.12
Baño termostático H-03	1	26,973.00	26,973.00	269.73	2,832.17
Compresor de aire L-01	1	1,544.40	1,544.40	15.44	162.16
Motores M-01, M-06, M-10	3	183,963.31	551,889.93	5,518.90	57,948.44
Motores M-02, M-03, M-04	3	12,654.84	37,964.52	379.65	3,986.27
Motores M-05, M-07, M-08, M-09	4	20,826.89	83,307.56	833.08	8,747.29
Motor M-11	1	169,247.36	169,247.36	1,692.47	17,770.97
Tanques R-01, R-02	2	85.00	170.00	1.70	17.85
Tanques R-03, R-04	2	4,410.32	8,820.64	88.21	926.17
Tanque R-05	1	5,238.82	5,238.82	52.39	550.08
Tanque R-06	1	7,864.50	7,864.50	78.65	825.77
Tanques R-07, R-08	2	3,433.95	6,867.90	68.68	721.13
Tanque R-09	1	5,277.22	5,277.22	52.77	554.11
Tanque R-10	1	5,196.00	5,196.00	51.96	545.58
Tanque R-11	1	8,323.35	8,323.35	83.23	873.95
Tanque R-12	1	1,838.40	1,838.40	18.38	193.03
Tanque R-13	1	1,559.41	1,559.41	15.59	163.74

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Estudio Económico-Financiero



Detalle	Nº de Unidades	Precio Unitario (\$)	Costo Total (\$)	Fletes y otros gastos (\$)	IVA (\$) (10.5%)
Centrifugas S-01, S-02, S-03	3	441,936.00	1,325,808.00	13,258.08	139,209.84
Molino Z-01	1	82,878.00	82,878.00	828.78	8,702.19
Homogeneizador	1	68,776.81	68,776.81	687.77	7,221.57
Agitadores tipo turbinas*	10	8,355.67	83,556.70	835.57	17,546.91
Bombas centrifugas P-01, P-02	2	3,045.00	6,090.00	60.90	639.45
Bomba Centrifuga P-03	1	7,606.00	7,606.00	76.06	798.63
Bomba Centrifuga P-04	1	2,524.00	2,524.00	25.24	265.02
Bombas Lobulares P-03 a P-12	10	33,156.00	331,560.00	3,315.60	34,813.80
Acondicionador de aire	3	31,200.00	93,600.00	936.00	9,828.00
Cámara de descontaminación	1	830,044.80	830,044.80	8,300.45	87,154.70
TOTAL			6,368,573.65	63,685.74	677,661.31
*Se calculan con un IVA del 21%, según lo establecido por el proveedor.					
**Se considera dos veces el costo para contemplar la encajonadora					

Tabla 13.3 – Activos fijos por cañerías y accesorios de proceso

Detalle	Cantidad (m-unid.)	Precio Unitario (\$/m o \$/unid.)	Costo Total (\$)	Fletes y otros gastos (\$)	IVA (\$) (21%)
Cañería de acero 304L sin costura	71.36	419.60	29,942.66	299.43	6,287.96
Curva sin costura 90° 304L	86	197.65	16,997.90	169.98	3,569.56
Tee sin costura 316L	7	353.96	2,477.72	24.78	520.32
Válvula de desvío	4	11,808.89	47,235.56	472.36	9,919.47
Válvula fondo de tanque	18	16,508.23	297,148.14	2,971.48	62,401.11
Válvula de retención	14	10,000.00	140,000.00	1,400.00	29,400.00
Válvula de toma de muestras	12	5,000.00	60,000.00	600.00	12,600.00
Reducción concéntrica sin costura 316L	10	220.90	2,209.00	22.09	463.89
TOTAL			596,010.98	5,960.11	125,162.30
Todas las cañerías y accesorios son SCH 40 y DN 1"					

El costo total del rubro “equipos y accesorios” es de \$ 7,837,054.09 y se obtiene de la suma de los totales obtenidos en las tablas anteriores, los cuales se resumen a continuación en la tabla 13.4

Tabla 13.4 – Resumen de Activos Fijos para Equipos y Accesorios de Proceso

Detalle	Costo Total (\$)	Fletes y otros gastos (\$)	IVA (\$)	TOTAL (\$)
Costo de equipos	6,368,573.65	63,685.74	677,661.31	7,109,920.70
Costos de cañerías y accesorios	596,010.98	5,960.11	125,162.30	727,133.39
TOTAL (\$)	6,964,584.63	69,645.85	802,823.62	7,837,054.09

13.2.1.3. Muebles y Útiles

En este rubro se consideran todos aquellos elementos que sin estar vinculados en forma directa con el proceso productivo, son indispensables para el desarrollo del mismo.

Los precios adoptados se obtienen de los catálogos o folletos de empresas dedicadas al rubro, como por ejemplo Ribeiro, Frávega, etc. Los costos de flete se suponen como el 1% sobre el costo total de los elementos, y en este caso la alícuota del IVA corresponde al 21%. En la tabla 13.5 se detallan los valores los montos totales y parciales para este rubro.

Tabla 13.5 – Activos fijos por muebles y útiles

Detalle	Nº de Unidades	Precio Unitario (\$)	Costo Total (\$)	Fletes (\$)	IVA (\$) (21%)
Computadoras	2	10,318.20	20,636.40	206.36	4,333.64
Escritorio de Oficina	1	1,364.00	1,364.00	13.64	286.44
Muebles de Oficina	1	2,699.00	2,699.00	26.99	566.79
Sillas de Oficina	4	745.00	2,980.00	29.80	625.80
Banquetas de Laboratorio	4	1,250.00	5,000.00	50.00	1,050.00
Mesadas	4	21,600.00	86,400.00	864.00	18,144.00
Equipos de Baño	1	6,289.00	6,289.00	62.89	1,320.69
Estantes para almacenes	3	1,998.00	5,994.00	59.94	1,258.74
Impresora	1	2,799.00	2,799.00	27.99	587.79
Teléfono fijo	1	249.00	249.00	2.49	52.29
Bancos para el vestuario	1	1,423.00	1,423.00	14.23	298.83
Guardarropas para el vestuario	1	3,327.00	3,327.00	33.27	698.67
TOTAL			139,160.40	1,391.60	29,223.68

El costo total del rubro “Muebles y útiles” es de \$ 169,775.69 y se obtiene de la suma de los totales parciales obtenidos en la tabla anterior.

13.2.1.4. Accesorios Industriales

En esta categoría se consideran los accesorios industriales dentro de los cuales se engloban los dispositivos necesarios para el control y medición de las variables del proceso, el equipamiento

del laboratorio de calidad en base a los análisis requeridos, y los dispositivos requeridos para la automatización del proceso.

Los precios adoptados se obtienen mediante un relevamiento por internet mientras que los costos de flete se suponen como el 1% del costo total de los accesorios. La alícuota del IVA corresponde al 21%, de acuerdo a lo establecido a la ley 25.063. En las tablas 13.6, 13.7 y 13.8 se muestran los valores de los montos requeridos para los accesorios de medición y control, los costos para los equipos de laboratorio y los costos de dispositivos de control automático, respectivamente.

El equipamiento del laboratorio se calcula en base a los requerimientos de los análisis de materia prima, proceso y producto terminado fijados en el Capítulo 11 – Control de Calidad. Los precios fueron obtenidos de la página web de Servinlab.

Tabla 13.6 – Activos Fijos por Accesorios Industriales

Detalle	Nº de Unidades	Precio Unitario (\$)	Costo Total (\$)	Fletes (\$)	IVA (\$) (21%)
Sensores de temperaturas	4	3,252.00	13,008.00	130.08	2,731.68
Sensores de nivel	15	1,123.20	16,848.00	168.48	3,538.08
Sensores de pH	4	5,574.30	22,297.20	222.97	4,682.41
Sensor de Oxígeno disuelto	1	3,825.00	3,825.00	38.25	803.25
Caudalímetros	8	1,348.20	10,785.60	107.86	2,264.98
Manómetros	4	1,142.46	4,569.84	45.70	959.67
TOTAL			71,333.64	713.34	14,980.06

Tabla 13.7 – Activos fijos por Equipamiento de Laboratorio

Detalle	Costo Total (\$)	Fletes (\$)	IVA (\$) (21%)
Material de vidrio	23,416.22	234.16	4,917.41
Equipos medidores	40,294.09	402.94	8,461.76
Equipos electrónicos	237,078.64	2,370.79	49,786.51
Cabina de flujo laminar	116,874.85	1,168.75	24,543.72
Otros	15,676.62	156.77	3,292.09
TOTAL	1,300,021.26	13,000.21	273,004.46

Tabla 13.8 – Activos fijos por Dispositivos para control automático

Detalle	Nº de Unidades	Precio Unitario (\$)	Costo Total (\$)	Fletes (\$)	IVA (\$) (21%)
CPU*	3	6,614.40	19,843.20	198.43	2,083.54
Pantalla	3	7,472.40	22,417.20	224.17	4,707.61
Módulos de entrada y salida	3	7,329.40	21,988.20	219.88	4,617.52
Módulos de comunicación	3	4,680.00	14,040.00	140.40	2,948.40
TOTAL			156,577.20	1,565.77	28,714.14

*Se calcula con un IVA del 10.5%

El costo total de este rubro es de \$ 1,859,910.09 y se obtiene de la suma de los totales obtenidos en las tablas anteriores, los cuales se resumen a continuación en la tabla 13.9.

Tabla 13.9 – Resumen de Activos Fijos para Accesorios Industriales y Equipo de Laboratorio

Detalle	Costo Total (\$)	Fletes (\$)	IVA (\$) (21%)	Total (\$)
Accesorios	71,333.64	713.34	14,980.06	87,027.04
Equipos de laboratorio	1,300,021.26	13,000.21	273,004.46	1,586,025.94
Dispositivos para control automático	156,577.20	1,565.77	28,714.14	186,857.11
Total (\$)	1,527,932.10	15,279.32	316,698.67	1,859,910.09

13.2.1.5. Resumen de Activos Fijos

En la siguiente tabla se resumen los activos fijos involucrados en el desarrollo del proyecto, mientras que en la figura 13.2 se muestra el porcentaje relativo al total de cada categoría mencionada. Se consideró el costo de fletes y extras como una categoría aparte.

Tabla 13.10 – Resumen de activos fijos

Detalle	Valor (\$)	% del total
Obras Civiles	1,317,866.48	13%
Equipos y Accesorios de Proceso	6,964,584.63	69%
Muebles y Útiles	139,160.40	1%
Accesorios Industriales	1,527,932.10	15%
Fletes y otros gastos	86,316.77	1%
TOTAL	10,035,860.37	100%

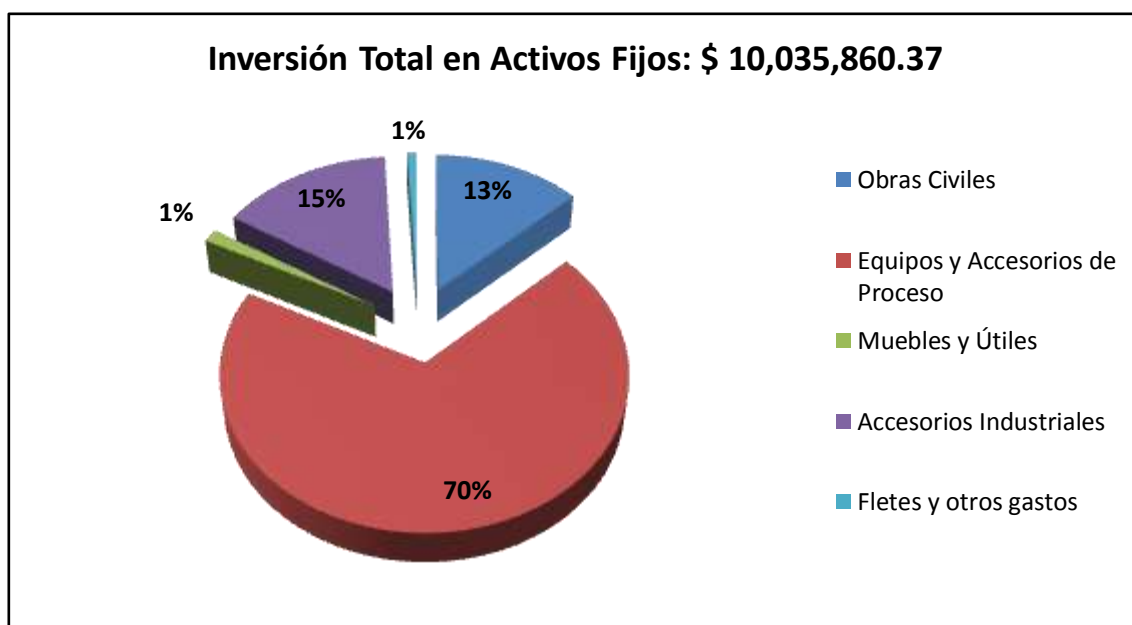


Figura 13.2 – Composición Porcentual de Activos Fijos

13.2.2. Activos Intangibles

Los activos intangibles incluyen todos los servicios o derechos de la empresa necesarios para el inicio de su funcionamiento. Entre los mismos se distinguen la ingeniería de proyecto, la supervisión del montaje de la planta, los gastos de puesta en marcha, la capacitación del personal, los costos de automatización y un monto adicional correspondiente a imprevistos. Estos activos se describen detalladamente a continuación.

13.2.2.1. Ingeniería de Proyecto

Para el cálculo de esta categoría se toma como referencia el Decreto de Ley N° 1.332 serie "C" de la Ley N° 4.538, la cual establece en su título II, capítulo IV, artículo N° 78 que "los honorarios por proyecto y dirección para obras de construcción única serán proporcionales al costo definitivo de la obra o sea a la suma de todos los gastos necesarios para realizarla, excluyendo el costo del terreno y los honorarios mismos". Para el caso de obras de tercera clase (industria manufacturera de elaboración, química de fermentación y farmacéutica), establece un 10 % del costo físico de la planta (activos fijos) para proyectos entre \$ 5,000,000.00 y \$ 25,000,000.00. En la tabla 13.11 se muestra el monto calculado (CIEC, 2013). Se incluyen en esta categoría los costos de las patentes empleadas para el desarrollo del proyecto.

Tabla 13.11 – Activo intangible por Ingeniería de proyecto

Detalle	% establecido	Monto de referencia (\$)	Costo (\$)
Ingeniería de proyecto*	10	9,934,260.37	993,426.04
Patente US 8,481,082 B2	-	1,560,000.00	3,120,000.00
Patente EP 2,046,969 B1	-	1,560,000.00	
TOTAL			4,113,426.04
*El monto de referencia se calcula excluyendo el costo del terreno del total de inversión para activos fijos			

13.2.2.2. Supervisión de Montaje de la Planta y Puesta en Marcha

El costo de la supervisión de la construcción del proyecto se estima en un 5% del costo de obras civiles, excluyendo el valor del terreno. Las tareas comprendidas son la dirección y administración de toda la obra de construcción e instalación de maquinarias y equipos.

El costo relativo a la puesta en marcha se estima en un 5% del monto total de equipos y accesorios. En este caso, al ser el modo de operación discontinuo, implica calibrar todos los equipos para obtener las condiciones de operación ideales que permitan lograr la calidad y los rendimientos establecidos para el proceso. (BACA URBINA, 2001)

Tabla 13.12 – Activos intangibles por Supervisión de Montaje y Puesta en Marcha

Detalle	% adoptado	Monto de referencia (\$)	Costo (\$)
Supervisión de construcción ⁽¹⁾	5	1,216,266.48	60,813.32
Puesta en marcha del proyecto	5	8,335,939.53	416,796.98
TOTAL			477,610.30
(1) Se calcula excluyendo el costo del terreno del total de inversión para obras civiles			
(2) Se calcula considerando los activos fijos detallados en las tablas 13.2, 13.3, 13.6 y 13.7			

13.2.2.3. Capacitación de Personal

Para dar comienzo a la actividad industrial, es necesario capacitar al personal previamente para la realización de las tareas de la planta. De esta forma se puede asegurar que cada uno de los empleados tenga todas las herramientas y conocimientos necesarios para desempeñar correctamente su labor. El primer año se realiza una capacitación inicial de todo el personal de la planta, mientras que en los años posteriores se capacita solo a los operarios de planta.

Los costos de la capacitación del personal se obtienen de la información brindada por el Colegio de Ingenieros Especialistas, considerando un curso previo de 48 hs. de duración y un curso anual de mejoramiento de 24 hs.

Tabla 13.13 – Activos intangibles por capacitación de personal

Tipo de Curso	Horas de Capacitación	N° de empleados	Costo por hora (\$)	Costo total (\$)
Año 1				
Inicial	48	5	230.00	11,040.00
Mejoramiento	24	2	230.00	5,520.00
TOTAL				16,560.00
Año 2-10				
Mejoramiento	24	2	230.00	5,520.00
TOTAL				5,520.00

13.2.2.4. Automatización

El software de control utilizado para la automatización, a diferencia de los equipos requeridos para la misma, se considera un activo intangible, por lo que se incluye en esta categoría. El costo del mismo se obtuvo a partir del presupuesto realizado por la empresa Siemens y se le aplica un IVA del 21%.

Tabla 13.14 - Activos intangibles por automatización

Detalle	Monto (\$)	IVA (21%)	Costo total (\$)
Software de control	43,524.00	9,140.04	52,664.04
TOTAL			52,664.04

13.2.2.5. Imprevistos

Es un sobredimensionamiento de la inversión requerida para contemplar la adquisición de equipos y accesorios que no fueron considerados inicialmente y para cubrir cualquier situación no contemplada durante la planeación.

Este fondo debe estar disponible pero no significa que se utilice. Se adopta un valor del 5% de la inversión total requerida para activos fijos.

Tabla 13.15 – Activos intangibles por imprevistos

Detalle	% adoptado	Monto de referencia (\$)	Costo (\$)
Imprevistos	5	9,934,260.37	496,713.02

El monto de referencia se calcula excluyendo el costo del terreno del total de inversión para activos fijos

13.2.2.6. Resumen de Activos Intangibles

En la tabla 13.16 se resumen los activos intangibles involucrados en el desarrollo del proyecto, cuya distribución porcentual respecto al total puede observarse en la figura 13.3.

Tabla 13.16 – Resumen de activos intangibles

Detalle	Valor (\$)	% del total
Ingeniería de Proyecto	4,113,426.04	79.76%
Supervisión de Construcción y Puesta en Marcha	477,610.30	9.26%
Capacitación de Personal	16,560.00	0.32%
Automatización	52,664.04	1.02%
Imprevistos	496,713.02	9.63%
TOTAL	5,156,973.40	100%

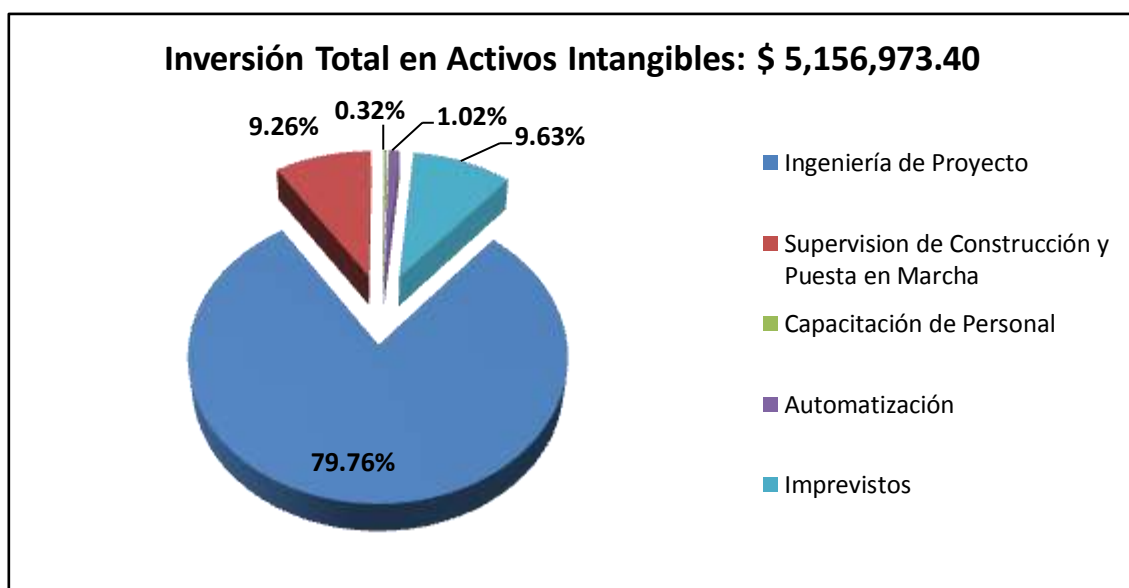


Figura 13.3 – Composición porcentual de activos intangibles

13.2.3. Capital de Trabajo

Como se definió con anterioridad, el capital de trabajo es la financiación necesaria para obtener el primer lote de producción antes de recibir ingresos. Se define el periodo de financiación en función de las materias primas e insumos, ya que al ser las cantidades requeridas en el proceso relativamente pequeñas, es conveniente adquirirlas en volúmenes mayores para reducir los costos. En este caso, el mínimo volumen de materia prima adquirido define un periodo de producción de 4 meses, por lo tanto este será el periodo financiado.

El capital de trabajo debe incluir los costos de materia prima, insumos, envases, servicios auxiliares, mano de obra y gastos de administración y comercialización para el periodo definido, calculados a partir de los costos totales de producción (apartado 13.3).

Tabla 13.17 – Costo del Capital de trabajo

Costo anual de producción (Año 1)	Monto (\$)
Materia prima	59,390.10
Insumos	380,762.98
Envases	652,922.60
Servicios auxiliares	431,426.31
Mano de obra	838,983.46
Gastos de administración y comercialización	696,690.04
TOTAL	3,060,175.49

13.2.4. Resumen de la Inversión Total del Proyecto

En la siguiente tabla se resumen los componentes de la inversión total del proyecto. La figura 13.4 muestra cómo interviene cada factor en la misma.

Tabla 13.18 – Componentes de la inversión total del proyecto

Detalle	Importe (\$)	%
Activos Fijos	10,035,860.37	55%
IVA 21%	774,898.81	-
IVA 10,5%	659,739.16	-
Activos Intangibles	5,156,973.40	28%
Capital de Trabajo	3,060,175.49	17%
TOTAL	19,687,647.23	100%

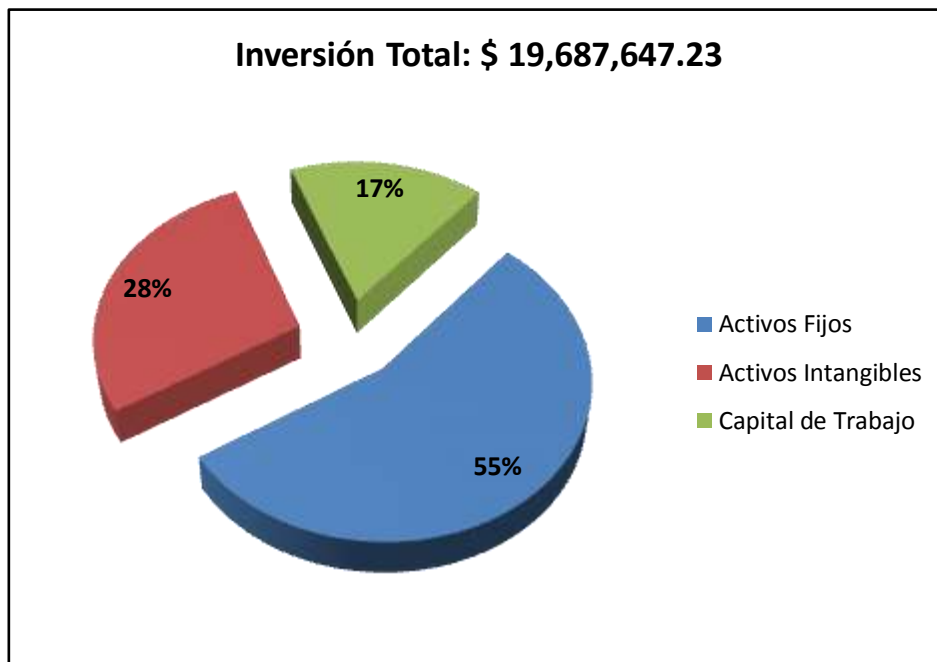


Figura 13.4 – Composición de la inversión total

13.3. COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN

Los costos de producción son los gastos necesarios para mantener el proyecto en funcionamiento. Como se muestra en la figura 13.5, se dividen en dos grandes categorías: costos de fabricación, compuestos por gastos directos, generales y fijos, y costos generales, conformados por gastos de administración, distribución y marketing.

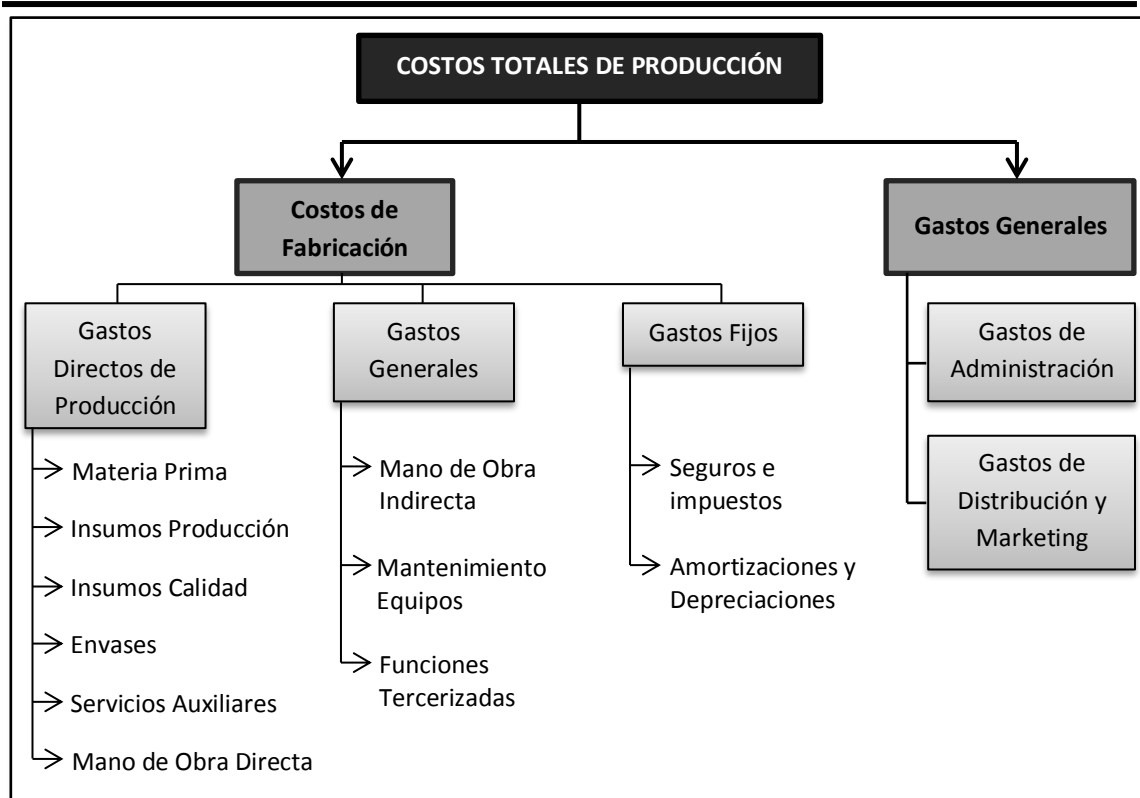


Figura 13.5 – Composición de los costos totales de producción

13.3.1. Costos de Fabricación

13.3.1.1. Costos Directos

Los costos directos de producción son aquellos que están íntimamente relacionados con el volumen de producción. Los mismos están compuestos por materias primas, insumos, envases, servicios auxiliares y la mano de obra directa.

13.3.1.1.1. Materia prima

Las materias primas principales del proceso son las fuentes de carbono y nitrógeno en la fermentación, es decir, la sacarosa y el extracto de levadura. Se adquieren en calidad apta para producción biofarmacéutica de proveedores que puedan certificar dicha calidad. Dado que los volúmenes manejados no son grandes, el costo del transporte está incluido en el costo unitario dado por el proveedor. En la tabla 13.19 se exponen los costos de materia prima requerida para el año 1.

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Estudio Económico-Financiero



Tabla 13.19 – Costos de materia prima

Materia Prima	Presentación Comercial	Costo Unitario (\$/Unidad)	Cantidad Requerida (kg/año)	Unidades Compradas	Costo total (\$/año)
Extracto de levadura	1 kg	1,179.36	54.89	55	64,864.80
Sacarosa	5 kg	3,776.85	146.31	30	113,305.50
TOTAL					178,170.30

13.3.1.1.2. *Insumos para producción*

Los insumos están conformados por los componentes requeridos en los medios de cultivos para activar el inóculo y para el proceso de fermentación, las sustancias necesarias en la etapa de purificación, las necesarias para la reacción de entrecruzamiento y para la posterior formulación de las jeringas. En la tabla 13.20 se resumen las cantidades de insumos necesarias en el primer año.

Tabla 13.20 – Costos de insumos

Insumo	Presentación Comercial	Costo Unitario (\$/Unidad)	Cantidad Requeridas por Año	Unidades Compradas	Costo total (\$/año)
KH ₂ PO ₄	250 g	439.76	406.39 g	2	879.52
K ₂ SO ₄	1 kg	1,851.87	2.59 kg	1	5,555.61
CaCO ₃	100 g	377.58	4.09 g	1	377.58
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1 kg	1,190.28	12.57 kg	13	15,473.63
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 kg	1,412.42	4.49 kg	5	7,064.45
MnSO ₄ .4H ₂ O	100 g	250.00	20.36 g	1	250.00
FeSO ₄ .7H ₂ O	100 g	418.86	10.18 g	1	418.86
CaCl ₂ **	100 g	352.00	4.49 g	1	352.00
ZnCl ₂ **	100 g	387.57	102.79 mg	1	387.57
CuSO ₄ .5H ₂ O**	100 g	231.00	42.51 mg	1	231.00
Carbón Activado	1 kg	1,112.28	40.52 kg	41	45,603.48
Acetato de sodio	1 kg	542.88	59.68 kg	60	32,572.80
Isopropanol	300 L	37,971.00	7613.44 L	26	987,246.00
NaOH	250 g	1,276.55	148.88 g	1	1,276.55
NaH ₂ PO ₄	1 kg	486.72	1.89 kg	2	973.44
Na ₂ HPO ₄	250 g	226.35	0.95 kg	4	905.40
DVS	22.38 ml	2,763.07	316.21 ml	15	41,446.05
C. de Lidocaína	1 kg	1,275.00	0.91 kg	1	1275.00
TOTAL					1,142,288.95
**Componentes de la solución de elementos traza					

Tabla 13.21 - Resumen de costos de insumos para producción por etapa de proceso para el año 1

Total por etapa de proceso (\$)			TOTAL (\$)
Medio de cultivo	Purificación	Entrecruzamiento	1,142,288.95
30,990.23	1,065,422.28	45,876.44	

13.3.1.1.3. *Insumos para Control de Calidad*

Durante el proceso de producción se realizan controles de calidad, al igual que a las materias primas y a los productos finales. Para analizar cada muestra se requieren de insumos cuyo costo se estiman como el 10 % del valor invertido para los equipamientos del laboratorio.

Tabla 13.22 – Costos de Insumos para Control de Calidad

Detalle	% establecido	Monto de referencia (\$)	Costo (\$)
Insumos para control de proceso	10%	1,300,021.26	130,002.13
Insumos para control de polvo lineal	10%		130,002.13
Insumos para control de jeringas	10%		130,002.13
TOTAL			390,006.38

13.3.1.1.4. *Envases*

En esta categoría se incluyen los materiales requeridos para el envasado del producto terminado. Estos incluyen papel laminado tricapa para envasar el polvo para cremas, jeringas con sistema luer-lock, 2 agujas calibre 27-G ½” por jeringa, film de polietileno para el envase primario de jeringas y cajas de cartulina para el envasado final de las mismas.

Tabla 13.23 – Costos de envases

Detalle	Costo Unitario (\$)	Cantidad	Costo total (\$/año)
Envase primario polvo	7.8	283 m	2,209.88
Jeringa + 2 agujas 27-G	4.86	303342 unidades	1,474,243.64
Envase primario jeringa	0.75	12134 m	9,100.27
Envase final jeringa	3.12	151671 unidades	473,214.01
TOTAL			1,157,944.09

Tabla 13.24 – Resumen de costos de envases por tipo de producto

Total por tipo de producto (\$)		TOTAL (\$)
Polvo para cremas	Jeringas precargadas	1,958,767.79
2,209.88	1,956,557.91	

13.3.1.1.5. *Servicios Auxiliares*

Para el cálculo del costo de servicios auxiliares se utilizan los valores detallados en el Capítulo 10-Servicios Auxiliares, considerando un consumo proporcional a la cantidad producida. No se considera el servicio de agua para consumo ya que la misma es obtenida a partir de una perforación y su costo de se refleja en la energía eléctrica necesaria para extraerla.

- Gas

El servicio es suministrado por la empresa Gas Natural Fenosa (Gas Natural Ban S.A.) y el costo se calcula aplicando las tarifas vigentes al 4 de marzo de 2016. Se considera que el gas se factura como un total a LIA, por lo tanto se abona la tarifa para un servicio de Categoría G (consumo mínimo 1000 m³/día). El costo está conformado por el cargo por m³ consumido más un porcentaje de los cargos fijos. Cabe destacar que como no se emplea gas en el proceso de producción, el consumo permanece constante para todos los periodos del proyecto.

Tabla 13.25 – Costo anual del consumo de gas natural

Cantidad (m ³ /año)	Costo fijo (\$/mes)	Cargos por m ³ de consumo (\$/m ³)	Costo de transporte (\$/m ³ /mes)	Costo total (\$)
1080.00	50.71	0.038817	7.5	740.48

- Energía eléctrica

Este servicio es suministrado por la Empresa Distribuidora y Comercializadora Norte S.A. (EDENOR) y se aplican las tarifas vigentes al 4 de marzo de 2016, dentro de la categoría “Grandes demandas” para baja tensión (demandas menores a 300 kW). Esta empresa establece un cargo fijo, un cargo por consumo según tres franjas horarias (*consumo valle* desde las 23:00 h hasta las 05:00 hs, *consumo resto* desde las 05:00 hs hasta las 18:00 hs y *consumo pico* desde las 18:00 hs hasta las 23:00 hs) y un cargo por máxima potencia demandada en horario pico y fuera de pico. Debido al carácter discontinuo del proceso y los turnos de trabajo establecidos, el consumo solo ocurre en la franja horaria *resto*, por lo tanto esta es la tarifa aplicada. En la tabla 13.26 se muestran los resultados para el consumo del año 1.

Tabla 13.26 – Costo anual del consumo de energía eléctrica

Consumo anual (kW-h)	Potencia (kW)	Cargo por potencia Fuera de Pico (\$/kW-mes)	Costo Variable Resto (\$/kW-h)	Costo total (\$)
3571.86	41.53	59.76	0.36	31,082.15

- Insumos para desinfección

Para la desinfección de aquellos equipos que se encuentran en el área de purificación y entrecruzamiento se utiliza solución de glutaraldehído al 2%. En la tabla siguiente se muestra el resultado de su consumo para el año 1.

Tabla 13.27 - Costo anual de insumos para desinfección

Cantidad (L/año)	Costo unitario (\$/L)	Costo total (\$)
11725	70.00	820,750.00

- Servicios tercerizados

En este apartado se consideran aquellos servicios que se contratan a terceros y dependen de las cantidades producidas. Se incluyen el agua desionizada libre de pirógenos y el vapor obtenido directamente de LIA, y el servicio de tratamiento de efluentes brindado por TRADEC SRL. Los servicios adquiridos a LIA se consideran tercerizados para poder contabilizarlos dentro de los costos de producción.

Tabla 13.28 – Costo anual de servicios tercerizados

Servicio	Cantidad anual	Costo unitario (\$)	Costo total anual (\$)
Agua desionizada libre de pirógenos	59740 L	4.99	298,104.00
Vapor	650 kg	0.275	178.75
Tratamiento de efluentes	109211.14 kg	1.31	143,423.55
TOTAL			441,706.30

13.3.1.1.6. Mano de obra directa

La mano de obra directa incluye a aquellas personas que trabajan en relación directa con la producción. El importe que se paga por hora se establece en base al convenio colectivo de trabajo N°691/14, con la escala salarial vigente para el periodo Marzo/Junio 2016. Se considera el personal de producción dentro de la categoría “Químico de Planta”. De acuerdo a esto corresponde un jornal mínimo por hora de \$71.72, pero se decide aumentar este monto un 35%, ya que el personal requerido debe contar con experiencia y especialización en el rubro.

El valor del costo total anual de mano de obra directa incluye las cargas sociales, consideradas como un 45% del gasto nominal. Las horas de trabajo de un operario son 2140, resultando 2320 al considerar el mes de aguinaldo.

Tabla 13.29 – Costo anual de la mano de obra directa

Puesto	Cantidad	Horas	Jornal (\$/h)	Costo nominal anual (\$/año)	Cargas sociales (\$/año)	Costo total anual (\$/año)
Operario	2	2320	111.11	515,550.40	231,997.68	747,548.08

13.3.1.1.7. Resumen de costos directos

En la tabla 13.30 se resumen los costos directos para el año 1. En la figura 13.6 se representa la composición de los mismos.

Tabla 13.30 – Resumen de los costos directos

Detalle	Valor (\$)	% del Total
Materia Prima	178,170.30	3%
Insumos	1,142,288.95	21%
Envases	1,958,767.79	37%
Servicios Auxiliares	1,294,278.94	24%
Mano de Obra Directa	747,548.08	14%
TOTAL	5,321,054.06	100%

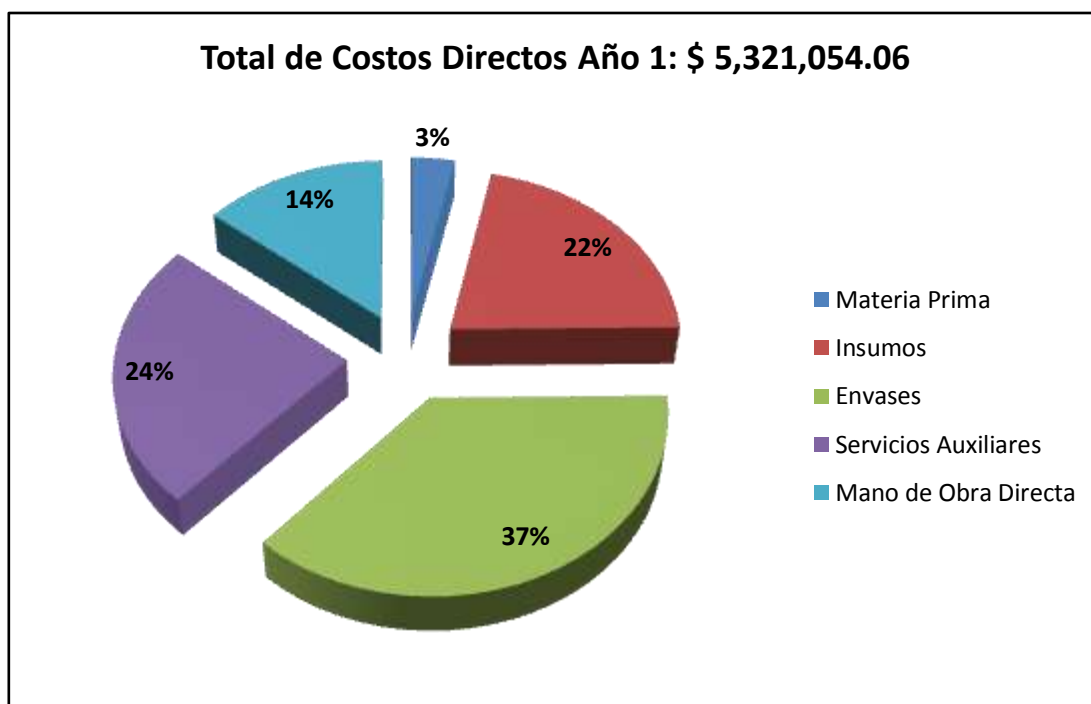


Figura 13.6 – Composición porcentual de los Costos Directos

13.3.1.2. Gastos Generales

Dentro de esta categoría se analizan la mano de obra indirecta, el mantenimiento de equipos y las funciones tercerizadas contratadas por la empresa.

13.3.1.2.1. Mano de obra indirecta

La mano de obra indirecta incluye al personal que no interviene directamente en la transformación de materias primas. Además de los jefes de planta y laboratorio, se considera anexar un auxiliar de mantenimiento al departamento de mantenimiento de LIA, y un oficial al personal de seguridad. El personal trabaja 180 horas mensuales, y se consideran 13 meses para contemplar el mes de aguinaldo. Se considera que el personal de seguridad trabaja 256 horas mensuales, ya que trabaja toda la semana y los domingos se pagan doble. Los montos por hora se determinaron en base a los convenios colectivos de trabajo N°691/14 y N°564/09, y en el caso de los jefes de área se aplica el mismo porcentaje que en la mano de obra directa por las mismas razones. Las cargas sociales se calculan como el 45% del costo nominal anual.

Tabla 13.31 – Costos de mano de obra indirecta

Puesto	Cantidad	Horas	Jornal (\$/h)	Costo nominal anual (\$/año)	Cargas sociales (\$/año)	Costo total anual (\$/año)
Jefe de planta	1	2320	166.66	386,651.20	173,993.04	560,644.24
Jefe de laboratorio y control de calidad	1	2320	166.66	386,651.20	173,993.04	560,644.24
Auxiliar de laboratorio	1	2320	71.72	166,390.40	74,875.68	241,266.08
Auxiliar de mantenimiento	1	2320	62.3	144,536.00	65,041.20	209,577.20
Oficial de seguridad	1	3328	40.88	136,048.64	61,221.89	197,270.53
TOTAL						1,769,402.29

13.3.1.2.2. Mantenimiento de equipos

Se consideran los costos de las operaciones de mantenimiento de carácter preventivo que se realizan sobre los equipos que intervienen en el proceso de producción, referidos a materiales y refacciones sin considerar en este apartado los sueldos del personal de mantenimiento.

El costo de mantenimiento se define como un porcentaje sobre el costo de los equipos, se considera un 3% sobre equipos de producción, 3% sobre equipamiento de laboratorio y un 30% sobre tanques y recipientes, ya que en este último caso se considera su reemplazo en caso de avería debido a su bajo costo.

Tabla 13.32 – Costos de mantenimiento preventivo

Detalle	% de activos fijos	Importe (\$)
Mantenimiento de equipos	3%	199,023.20
Mantenimiento de recipientes	30%	51,682.30
Mantenimiento equipos de laboratorio	3%	23,654.85
TOTAL		274,360.35

13.3.1.2.3. *Funciones Tercerizadas*

Dentro de estas se incluyen aquellos servicios prestados por terceros que no dependen de la cantidad producida, como el servicio médico y el servicio de limpieza y desinfección.

- Servicio médico

Se cuenta con un abono mensual a una empresa de salud, la cual se encuentra disponible por cualquier accidente que ocurra en las instalaciones de la planta en el horario de trabajo. Además se consideran los costos por única vez de los exámenes pre-ocupacionales que se realizan al personal al inicio de su actividad en la planta.

Según lo exigido por la Ley N° 19587, al momento de incorporar personal toda empresa debe realizar un examen pre-ocupacional que asegure que el postulante reúne las condiciones psicofísicas que su trabajo requerirá. El examen pre-ocupacional básico por ley consta de: análisis de laboratorio completo, electrocardiograma, radiografía de tórax y examen clínico completo con declaración jurada de salud.

Para operarios cuyas tareas están sujetas a esfuerzo, ruido y contacto con sustancias químicas, se exigen los siguientes estudios complementarios: radiografía de columna, audiometría, dosaje de sangre u orina y examen psicotécnico. En la tabla 13.33 se resumen los costos de servicio médico.

Tabla 13.33 – Costos del servicio médico

Detalle	Costo unitario (\$/persona)	Costo (\$)
Examen pre-ocupacional operarios	3,120.00	6,240.00
Examen pre-ocupacional resto del personal	1,905.00	7,620.00
Abono anual Servicio médico	-	65,520.00
TOTAL AÑO 1		79,380.00
TOTAL AÑO 2-10		65,520.00

- Limpieza, desinfección y control de plagas

El importe mensual se estima de acuerdo a lo recomendado por el portal argentino de limpieza profesional para el personal de maestranza, y se calcula considerando que la limpieza se realiza diariamente en 5 horas, es decir 25 h/semana, más un 35% de ese importe en concepto de productos de limpieza utilizados.

Tabla 13.34 – Costo del servicio de limpieza

Detalle	Costo unitario (\$/h)	Costo anual (\$)
Pago personal de limpieza	49.96	59,952.00
Insumos de limpieza	-	20,983.20
TOTAL		80,935.20

13.3.1.2.4. Resumen de Gastos generales

En la tabla 13.35 se resumen los gastos generales para el año 1. En la figura 13.7 se muestra la composición de los gastos generales.

Tabla 13.35 – Resumen de los Gastos Generales

Detalle	Valor (\$)	% del total
Mano de Obra Indirecta	1,769,402.29	80%
Mantenimiento de Equipos	274,360.35	12%
Funciones Tercerizadas	160,315.20	7%
TOTAL	2,204,077.84	100%

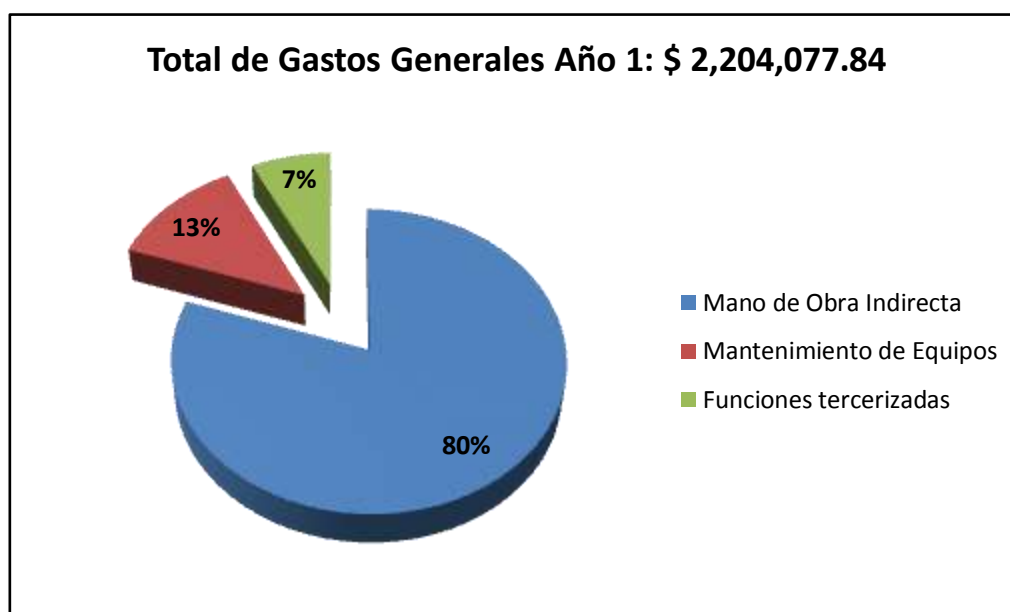


Figura 13.7 – Composición porcentual de los gastos generales

13.3.1.3. Gastos Fijos

Son los costos que no varían con la cantidad de producción. Incluyen costos por seguros, impuestos y depreciación, y están en función directa del capital invertido.

13.3.1.3.1. Seguros e impuestos

Las empresas radicadas en la Parque Industrial Pilar cuentan con la posibilidad de desgravación impositiva que ofrece la Ley 13656 de Promoción Industrial de la provincia de Buenos Aires, la cual otorga hasta diez años de exención de pago de impuestos de ingresos brutos e

inmobiliario básico. Como la planta de LIA en Pilar comenzó con sus actividades en el año 2012, se encuentra dentro del campo de aplicación de esta ley y por lo tanto no paga dichos impuestos.

Se considera el pago del impuesto al débito/crédito cuyo monto se calcula como el 0.60% del monto correspondiente a la inversión por activos fijos, mientras que el costo del seguro se calcula como un 10% sobre este mismo monto.

Tabla 13.36 – Gastos fijos por seguros e impuestos

Detalle	% anual de activos fijos	Inversión por activos fijos (\$/año)	Costo total anual (\$/año)
Seguros	10%	10,035,860.37	1,003,586.04
Impuesto al débito/crédito	0.60%	10,035,860.37	60,215.16
TOTAL			1,063,801.20

13.3.1.3.2. *Amortizaciones y Depreciaciones*

Los cargos de depreciación y amortización son cargos virtuales permitidos por la ley para el recupero de la inversión realizada. Tienen como objetivo reconocer el desgaste o agotamiento que sufre todo activo al ser utilizado para el desarrollo de las actividades de la empresa. Los activos fijos se deprecian durante el tiempo de vida útil establecido, mientras que los activos intangibles se amortizan. Los cargos anuales se calculan en base a los porcentajes de depreciación establecidos por la ley tributaria. En la tabla 13.37 se expresan estos valores. El valor de salvamento (VS) hace referencia al valor que tendría el bien una vez finalizado el periodo del proyecto. Se toma como periodo 10 años, sin embargo cabe destacar que la categoría muebles y útiles alcanza su VS en el año 5, debido a su tasa de depreciación.

Tabla 13.37 – Gastos fijos por depreciaciones y amortizaciones

Detalle	Vida contable (años)	Costo (\$)	Tasa anual (%)	Depreciación o amortización (\$/año)	Valor de salvamento (\$)
Obras civiles*	50	1,216,266.48	2	24,325.33	973,013.18
Equipos y accesorios de proceso	10	6,964,584.63	10	696,458.46	0.00
Muebles y útiles	5	139,160.40	20	27,832.08	0.00
Accesorios industriales	10	1,527,932.10	10	152,793.21	0.00
TOTAL	-	9,847,943.60	-	901,409.08	973,013.18

*Sin incluir el costo del terreno

13.3.1.4. Resumen de los costos de fabricación

En la tabla 13.38 se resumen los Costos de producción para el año 1. En la figura 13.8 se muestran la composición de dichos costos.

Tabla 13.38 – Resumen de los costos de fabricación

Detalle	Valor (\$)	% del total
Costos directos	5,321,054.06	56%
Gastos generales	2,204,077.84	23%
Gastos fijos	1,965,210.28	21%
TOTAL	9,490,342.18	100%

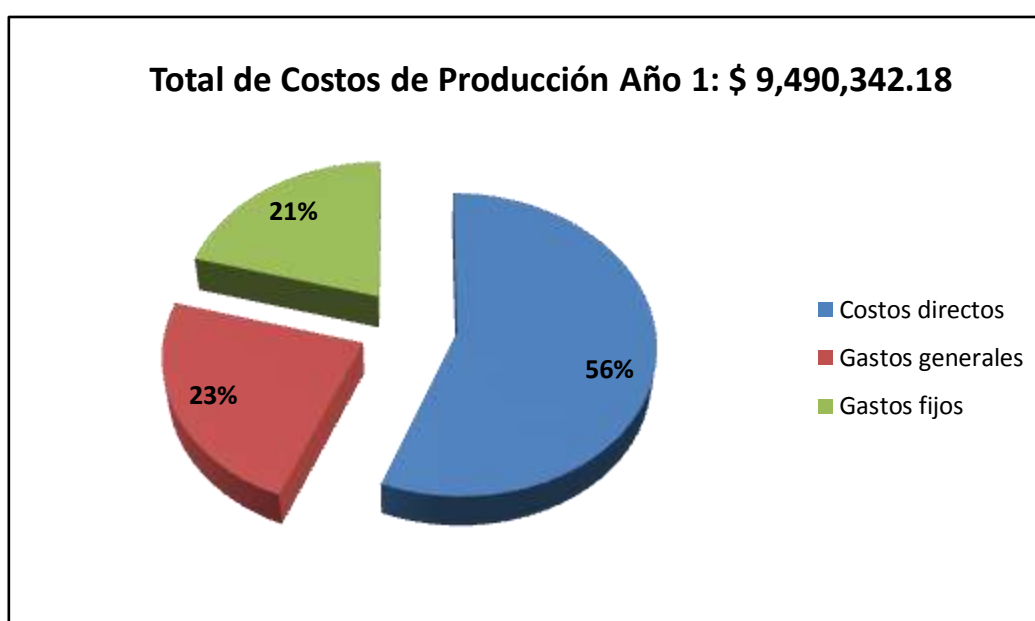


Figura 13.8 – Composición Porcentual de los Costos de Fabricación

13.3.2. Gastos Generales

Los gastos generales son necesarios para la administración, distribución y manejo efectivo de la venta del producto. Dentro de esta sección se incluyen los gastos de administración, distribución y marketing.

13.3.2.1. Gastos de administración, distribución y marketing

Los gastos de administración comprenden los sueldos del gerente de departamento de producción, del director técnico de la línea de producción, personal administrativo, personal de marketing y del personal encargado de la distribución. Además se incluyen los gastos generales de oficina, telefonía e internet.

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Estudio Económico-Financiero



Como la organización de la empresa se hereda de LIA, para considerar los costos administrativos se abona un monto a los departamentos de marketing, finanzas y logística equivalente al sueldo de dos empleados auxiliares de los mismos.

Para considerar los gastos administrativos del departamento de producción y de la línea “Efyderma” se abona a LIA un valor proporcional al número de productos comercializados en dicha rama, representando los elaborados en la planta de ácido hialurónico el 13.33% del total de productos (Tabla 13.39).

Tabla 13.39 – Productos de la línea Efyderma

Línea	Cantidad de productos elaborados	% del total de productos
Facial	5	33.33
Corporal	3	20.00
Solar	5	33.33
Ácido Hialurónico	2	13.33
TOTAL	15	100.00

Los gastos de administración y comunicaciones se estiman como el 0.5% de los costos totales de producción, mientras que los gastos de comercialización se estiman como el 5% de los mismos.

Tabla 13.40 – Gastos generales de administración para el año 1

Departamento		Cargo mensual (\$)	Gasto anual nominal (\$)	Cargas sociales (\$)	Costo total anual (\$)	%
Pago a dptos. del LIA	Marketing	24,378.00	316,914.00	142,611.30	459,525.3	75
	Finanzas	25,856.00	336,128.00	151,257.60	487,385.6	
	Logístico	24,042.00	312,546.00	140,645.70	453,191.7	
	Producción*	41,379.00	537,927.00	242,067.15	103,999.1	
	Línea Efyderma*	25,464.00	331,032.00	148,964.40	63,999.5	
	Subtotal					
Gastos de administración - comunicaciones					47,451.7	2
Gastos de comercialización					474,517.11	23
TOTAL					2,090,070.1	100

*El costo total anual está afectado por el proporcional de la línea de HA

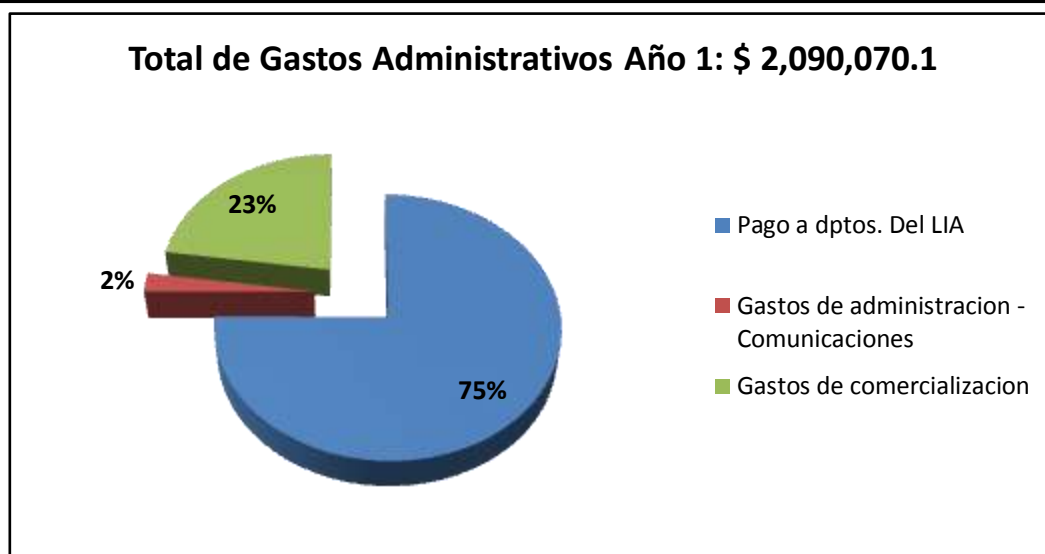


Figura 13.9 – Distribución de los gastos administrativos para el año 1.

13.3.3. Resumen de costos totales de producción

En la siguiente tabla se resumen los costos totales de producción correspondientes al año 1 del proyecto.

Tabla 13.41 – Costos totales de producción

Detalle		Costo anual (\$)	
Costos de fabricación	Costos directos	Materia prima	178,170.30
		Insumos	1,142,288.95
		Envases	1,958,767.79
		Servicios auxiliares	1,294,278.94
		Mano de obra directa	747,548.08
		Subtotal	5,321,054.06
	Costos generales	Mano de obra indirecta	1,769,402.29
		Mantenimiento de equipos	274,360.35
		Funciones tercerizadas	160,315.20
		Subtotal	2,204,077.84
Gastos fijos	Seguros e impuestos	1,063,801.20	
	Depreciaciones y amortizaciones	901,409.08	
	Subtotal	1,965,210.28	
	Total	9,490,342.18	
Gastos generales	Gastos de administración	Pagos a departamentos de LIA	1,568,101.30
		Gastos de administración	47,451.71
		Gastos de comercialización	474,517.11
		Total	2,090,070.12
COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN		11,580,412.30	

13.3.4. Composición de los costos

Para un posterior análisis de las variables resulta interesante conocer la composición de los costos, y cuáles son los rubros que más influyen en el mismo. En la tabla 13.42 y 13.43 se agrupan los costos en fijos y variables para el polvo de HA lineal y las jeringas precargadas, a lo largo de un periodo de 10 años.

Tabla 13.42 – Composición de los costos para la producción de HA lineal en polvo

HA lineal en polvo				
Año	Volumen de ventas (g)	Costos fijos totales	Costos variables totales	Costos totales de fabricación
1	5430	2,077,714.00	1,813,138.00	3,890,852.00
2	5430	2,077,714.00	1,806,208.00	3,883,922.00
3	5430	2,077,714.00	1,806,208.00	3,883,922.00
4	5430	2,077,714.00	1,806,208.00	3,883,922.00
5	5430	2,077,714.00	1,806,208.00	3,883,922.00
6	5430	2,063,798.00	1,806,208.00	3,870,006.00
7	5430	2,063,798.00	1,806,208.00	3,870,006.00
8	5430	2,063,798.00	1,806,208.00	3,870,006.00
9	5430	2,063,798.00	1,806,208.00	3,870,006.00
10	5430	2,063,798.00	1,806,208.00	3,870,006.00

Tabla 13.43 – Composición de los costos para la producción de las jeringas precargadas

Jeringas precargadas				
Año	Volumen de ventas (unidades)	Costos fijos totales	Costos variables totales	Costos totales de fabricación
1	303342.3	2,077,714.00	3,781,781.00	5,859,495.00
2	303342.3	2,077,714.00	3,774,851.00	5,852,565.00
3	303342.3	2,077,714.00	3,774,851.00	5,852,565.00
4	303342.3	2,077,714.00	3,774,851.00	5,852,565.00
5	303342.3	2,077,714.00	3,774,851.00	5,852,565.00
6	303342.3	2,063,798.00	3,774,851.00	5,838,649.00
7	303342.3	2,063,798.00	3,774,851.00	5,838,649.00
8	303342.3	2,063,798.00	3,774,851.00	5,838,649.00
9	303342.3	2,063,798.00	3,774,851.00	5,838,649.00
10	303342.3	2,063,798.00	3,774,851.00	5,838,649.00

13.3.5. Costo unitario

Una vez determinados los costos totales requeridos para la elaboración del polvo de HA para cremas y las jeringas precargadas, se puede calcular el costo unitario para cada uno. Este es el

costo de producir un gramo/unidad de los mismos respectivamente y varía de acuerdo al nivel de producción.

La ecuación utiliza para su cálculo es:

$$C_u = \frac{CF + CV}{U} \quad [13.1]$$

Donde C_u es el costo unitario total en \$/g o unidad según corresponda, CF son los costos fijos, CV son los costos variables y U son las cantidades producida de cada uno.

En la tabla 13.44 se expone el costo unitario total por producto para cada año en un período total de 10 años.

Tabla 13.44 – Costo Unitario por producto

Año	Costo unitario del polvo de HA lineal (\$/g)	Costo unitario de jeringas precargadas (\$/unidad)
1	716.54	19.31
2	715.27	19.29
3	715.27	19.29
4	715.27	19.29
5	715.27	19.29
6	712.70	19.24
7	712.70	19.24
8	712.70	19.24
9	712.70	19.24
10	712.70	19.24

13.4. INGRESOS POR VENTAS

Los ingresos por ventas se definen como la cantidad de dinero que la empresa percibe en concepto de venta de producción.

Del análisis del mercado se obtienen los precios de venta de los productos elaborados, cuyos promedios son 700 \$/g para el HA lineal en polvo y 1500 \$/unidad para las jeringas, sin el costo de aplicación. Estos valores se obtienen al restar los costos agregados por intermediarios, y luego se les aplica una reducción porcentual de manera tal de disminuir el precio para competir en el mercado nacional. Los precios de venta adoptados son 480 \$/g para el HA en polvo y 125 \$/jeringa precargada. En la siguiente tabla se muestran los ingresos por venta para cada producto aplicando estos precios. Este valor es constante a lo largo del período de 10 años debido a que las cantidades producidas, vendidas y el precio de cada producto no varían durante el mismo.

Tabla 13.45 – Ingreso por ventas para cada producto

Año 1-10			
Producto	Demanda	Precio de venta	Ingresos (\$/año)
Polvo de HA lineal	5.43 (kg/año)	480 \$/g	2,606,726.00
Jeringas Precargadas	303342 (jeringas/año)	125 \$/unidad	37,917,750.00
INGRESO TOTAL ANUAL			40,524,476.00

13.5. FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO

La financiación es la contribución de dinero que realizan las empresas para cubrir cualquier necesidad económica. Las maneras más comunes de obtener la financiación son a través de préstamos o de créditos, los cuales podrán ser entregados por personas físicas (inversionistas), personas morales (otras empresas), instituciones de crédito (bancos) o una combinación de ellas.

Para el presente proyecto, el 100% del capital necesario para realizar la inversión inicial proviene de un crédito otorgado por el Banco Hipotecario, cuya línea de crédito presenta las siguientes características:

- Nombre de la línea: Préstamo Hipotecario
- Destino: Proyecto de Inversión productiva
- Beneficiario: MiPyME que califiquen como sujeto de crédito
- Monto máximo: \$ 20,000,000.00
- Plazo máximo: 48 cuotas mensuales
- TNA fija: 18 %
- Sistema de amortización: alemán
- Frecuencia de amortización: mensual
- Moneda: pesos

Tal como se menciona en las características el sistema de amortización utilizado es el alemán, el cual se caracteriza por tener cuotas capitales constantes e intereses decrecientes a lo largo del tiempo. La cuota capital (Ca) se calcula de acuerdo a la ecuación 13.2, donde C es el capital en préstamo, correspondiente a la inversión total del proyecto, y n es el número de períodos para cubrir el préstamo.

$$Ca = \frac{C}{n} \quad [13.2]$$

El cálculo del interés aplicado a cada período se calcula según la ecuación 13.3, donde I_n es el monto del interés en el período n e i es la tasa nominal.

$$I_n = \left(C - \sum_1^{n-1} Ca \right) \times i \quad [13.3]$$

El valor de la cuota anual (Ct) se obtiene de la suma de la cuota capital y el interés para cada período. A continuación en la tabla 13.46 se muestran los valores obtenidos por año.

Tabla 13.46 – Tabla de pago de la deuda

CARACTERÍSTICAS DE FINANCIAMIENTO				
Capital de préstamo (\$)			19,687,647.23	
Tasa Nominal Anual (%)			18.00	
Cuotas totales mensuales			48	
CÁLCULO ANUAL				
Año	Cuota capital (Ca)	Interés	Total	Saldo
1	4,921,911.81	3,137,718.78	8,059,630.58	14,765,735.42
2	4,921,911.81	2,251,774.65	7,173,686.46	9,843,823.61
3	4,921,911.81	1,365,830.53	6,287,742.33	4,921,911.81
4	4,921,911.81	479,886.40	5,401,798.21	0.00

13.5.1. Determinación de la tasa mínima aceptable de rendimiento (TMAR)

La TMAR se calcula como un promedio ponderado del porcentaje de aportación de capital y la TMAR de cada fuente individual que aporta capital para la empresa.

En este caso la única fuente de préstamo es el Banco Hipotecario, por lo que la TMAR es su tasa de interés (18 %).

13.6. ESTADO DE RESULTADOS

El estado de resultados implica un análisis de la utilidad neta y los flujos netos de efectivo del proyecto que son, en forma general, el beneficio real de la operación de la planta. Este beneficio puede calcularse restando a los ingresos generados por las ventas de HA en polvo y de las jeringas precargadas, todos los costos en los que incurre la planta y los impuestos a pagar. (BACA URBINA, 2001)

A continuación en la tabla 13.47 se muestran las ecuaciones necesarias para el cálculo de la utilidad neta y el flujo neto de efectivo.

Tabla 13.47 – Ecuaciones implicadas en el cálculo de UN y FNE

Ingreso por ventas (I)	$I = Q \times P$	[13.4]
Costo total de Producción (CP)	$CP = CF + G$	[13.5]
Utilidad Bruta (UB)	$UB = I - CP - i$	[13.6]
Utilidad Neta (UN)	$UN = UB - IG$	[13.7]
Flujo Neto de Efectivo (FNE)	$FNE = UN + D - PP + CT$	[13.8]

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Estudio Económico-Financiero



Donde Q es la cantidad producida y vendida, P es el precio de venta, CF es el costo de fabricación, G son los gastos generales, i son los intereses, IG son los impuestos a la ganancias, D son las depreciaciones y amortizaciones, PP es el pago a principal y CT es el capital de trabajo.

Tabla 13.48 - Estado de resultado

Concepto	Año				
	1	2	3	4	5
+ Ingresos por ventas	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8
- Costos de fabricación	9,490,342.2	9,476,482.2	9,476,482.2	9,476,482.2	9,476,482.2
= Utilidad marginal	31,034,133.6	31,047,993.6	31,047,993.6	31,047,993.6	31,047,993.6
- Costos generales	2,090,070.1	2,089,307.8	2,089,307.8	2,089,307.8	2,089,307.8
- Costos de capacitación	11,040.0	5,520.0	5,520.0	5,520.0	5,520.0
- Costos financieros (intereses)	3,137,718.8	2,251,774.7	1,365,830.5	479,886.4	0.0
- Cuota capital	4,921,911.8	4,921,911.8	4,921,911.8	4,921,911.8	0.0
- Depreciación y amortización	901,409.1	901,409.1	901,409.1	901,409.1	901,409.1
= Utilidad antes de los impuestos	19,971,983.8	20,878,070.3	21,764,014.4	22,649,958.5	28,051,756.7
+ Depreciación y amortización	901,409.1	901,409.1	901,409.1	901,409.1	901,409.1
- Impuesto a las ganancias	6,990,194.3	7,307,324.6	7,617,405.0	7,927,485.5	9,818,114.9
= Flujo neto de efectivo	13,883,198.6	14,472,154.8	15,048,018.4	15,623,882.1	19,135,051.0

Tabla 13.48 - (Continuación)

Concepto	Año				
	6	7	8	9	10
+ Ingresos por ventas	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8	40,524,475.8
- Costos de fabricación	9,448,650.1	9,448,650.1	9,448,650.1	9,448,650.1	9,448,650.1
= Utilidad marginal	31,075,825.7	31,075,825.7	31,075,825.7	31,075,825.7	31,075,825.7
- Costos generales	2,087,777.1	2,087,777.1	2,087,777.1	2,087,777.1	2,087,777.1
- Costos de capacitación	5,520.0	5,520.0	5,520.0	5,520.0	5,520.0
- Costos financieros (intereses)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
- Cuota capital	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
- Depreciación y amortización	873,577.0	873,577.0	873,577.0	873,577.0	873,577.0
= Utilidad antes de los impuestos	28,108,951.6	28,108,951.6	28,108,951.6	28,108,951.6	28,108,951.6
+ Depreciación y amortización	873,577.0	873,577.0	873,577.0	873,577.0	873,577.0
- Impuesto a las ganancias	9,838,133.1	9,838,133.1	9,838,133.1	9,838,133.1	9,838,133.1
= Flujo neto de efectivo	19,144,395.6	19,144,395.6	19,144,395.6	19,144,395.6	19,144,395.6

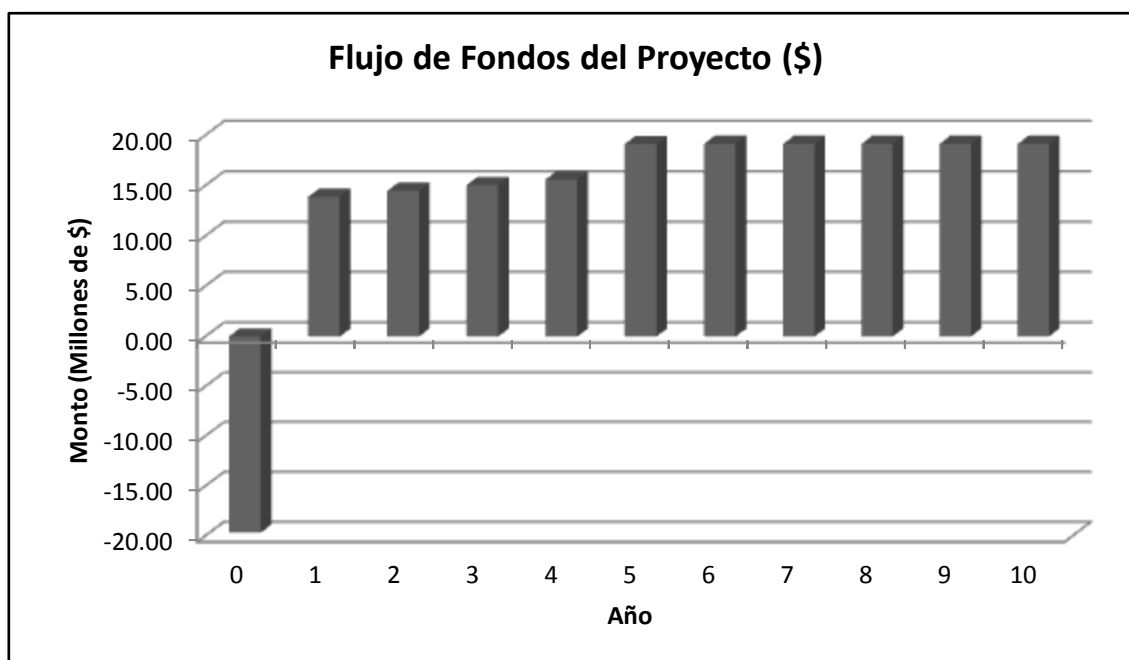


Figura 13.10 – Flujo de Fondos a lo largo de los 10 años que dura el proyecto

SECCIÓN II: EVALUACIÓN ECONÓMICA - INDICADORES DEL PROYECTO

La evaluación económica de un proyecto de inversión estudia los indicadores de liquidez, rentabilidad y riesgo económico. Se realiza a través del análisis de diversos indicadores económicos, complementarios entre sí, entre los cuales se encuentran el Valor Actual Neto (VAN), la Tasa Interna de Retorno (TIR), el Período de Recuperación de la Inversión (PRI), y la relación Beneficio/Costo (B/C).

13.7. VALOR ACTUAL NETO

El VAN es el indicador financiero que permite determinar la viabilidad de un proyecto y que resulta de descontar la inversión inicial de los flujos de los futuros ingresos y egresos que tendrá el proyecto, actualizados al tiempo presente.

En la tabla 13.49 se muestra el valor del VAN para el presente proyecto, calculado a partir de los valores de los flujos netos de efectivo actualizados mediante una tasa de descuento igual a la TMAR, los cuales se resumen en el estado de resultados presentado en la tabla 13.48.

Tabla 13.49 – Valor Actual Neto

Indicador	Valor
VAN	\$ 54,407,546.76

El resultado positivo del VAN indica que el proyecto es viable, ya que refleja el valor en que ha aumentado el capital invertido.

13.8. TASA INTERNA DE RETORNO

Es la tasa porcentual que hace que el VAN sea igual a cero, es decir, es la tasa que iguala la inversión inicial a la suma de los flujos futuros actualizados al tiempo presente. Indica la tasa de interés máxima a la que se debe contraer préstamos sin incurrir en futuros fracasos financieros. La tabla 13.50 muestra la TIR calculada correspondiente a los 10 años del presente proyecto.

Tabla 13.50 – Tasa Interna de Retorno

Indicador	Valor
TIR	75.27 %

Dado que el valor obtenido es mayor a la TMAR se puede concluir que el proyecto es rentable.

13.9. PERIODO DE RECUPERO DE LA INVERSIÓN

Este indicador permite medir el plazo de tiempo que se requiere para que los flujos netos de efectivo de un proyecto recuperen su inversión inicial, la cual incluye el capital de trabajo y el flujo de ingresos promedio de los 10 años. En base al estado de resultados de la tabla 13.48, se determinan los valores que se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 13.51 - Período de Recupero de la Inversión del proyecto

Concepto		FNE	
Inversión inicial			-19,687,647.23
Año 1		13,883,198.58	-5,804,448.65
Año 2	Mes 1	1,206,012.90	-4,598,435.76
	Mes 2	1,206,012.90	-3,392,422.86
	Mes 3	1,206,012.90	-2,186,409.96
	Mes 4	1,206,012.90	-980,397.07
	Mes 5	1,206,012.90	225,615.83

Tabla 13.52 – Resultado del análisis PRI

Indicador	Valor
PRI	1 año y 5 meses

13.10. RELACIÓN BENEFICIO/COSTO

La relación beneficio/costo resulta de dividir el valor actualizado de los ingresos del proyecto entre el valor actualizado de los egresos a una tasa de actualización igual a la TMAR.

Los beneficios incluyen todos los ingresos actualizados del proyecto, desde ventas hasta recuperaciones y todo tipo de entradas de dinero; los costos abarcan los costos de operación, inversiones, pago de impuestos, depreciaciones, intereses, etc. de cada uno de los años del proyecto.

Los criterios para analizar el resultado son: si la relación es mayor a la unidad, el proyecto es aceptable porque el beneficio es superior al costo; si la relación es menor a la unidad, el proyecto debe rechazarse porque no existen beneficios; si la relación es igual a la unidad, no hay beneficios ni pérdidas, por lo tanto es indiferente realizar o no el proyecto. La tabla 13.53 muestra la relación B/C calculada, y al ser superior a 1 puede concluirse que el proyecto es rentable.

Tabla 13.53 – Relación Beneficio/Costo

Indicador	Valor
B/C	1.62

SECCIÓN III: ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

13.11. INTRODUCCIÓN

Se denomina análisis de sensibilidad al procedimiento por medio del cual se puede determinar cuánto se afecta, es decir, que tan sensible es la TIR ante cambios en determinadas variables de la inversión, considerando que las demás se mantienen constantes. La utilidad esencial de este análisis es conocer qué variable afecta en mayor medida el resultado de operación del proyecto de inversión. (BACA URBINA, 2001)

Para el presente proyecto se analiza como es la variación de la TIR respecto a cambios en los costos de los principales factores que influyen en el costo de fabricación total (insumos, envases, y mano de obra total), cambios en los volúmenes de ventas para cada producto, y variaciones en el precio de venta de los mismos.

Para los cálculos se considera que la inversión inicial no presenta variación, ya que se mantiene el objetivo inicial de cumplir con la capacidad de producción propuesta originalmente.

- Costos de Insumos para producción

Los costos de insumos incluyen todos los materiales requeridos en el medio de cultivo, purificación y entrecruzamiento, y representan el 22% de los costos de fabricación, lo cual vuelve necesario el análisis de su incidencia sobre la rentabilidad del proyecto. En la figura 13.11 se muestra la variación de la TIR frente a incrementos en los costos de los insumos para producción.

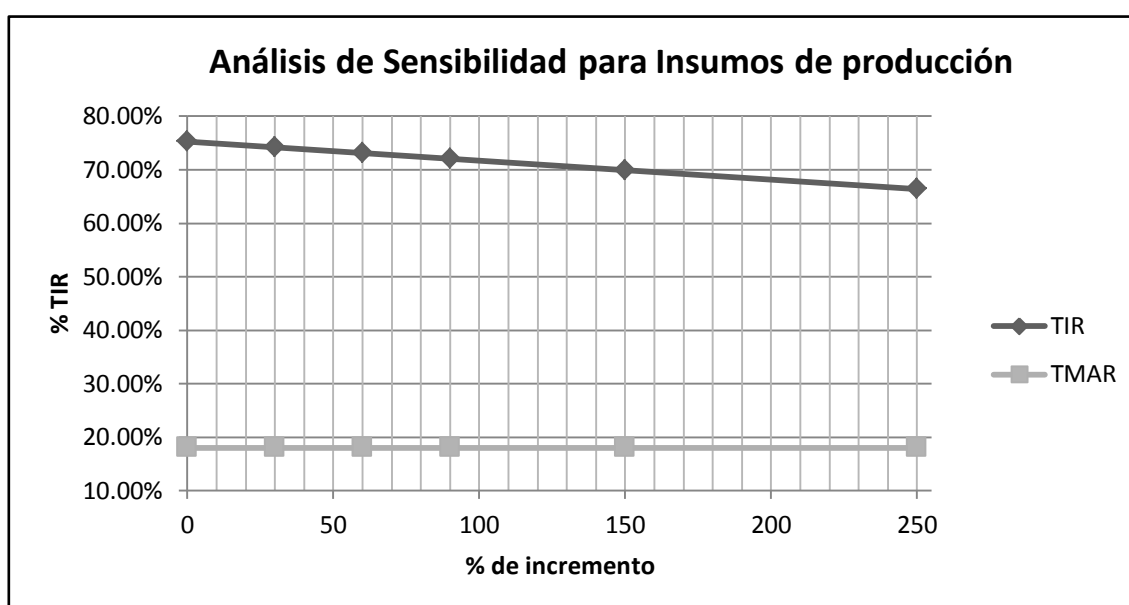


Figura 13.11 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el costo de insumos para producción

Como resultado se puede concluir que el costo de los insumos no afecta notablemente la TIR, pudiéndose aumentar hasta un valor mayor al 1000% sin que la rentabilidad del proyecto peligre.

- **Costos de Envases**

Los envases representan el 37% de los costos totales de fabricación, siendo el principal factor de influencia sobre los mismos, y por lo tanto cualquier incremento del costo de los mismos puede afectar en la rentabilidad del proyecto. En la figura 13.12 se muestra la variación de la TIR frente a posibles aumentos en los costos de los envases.

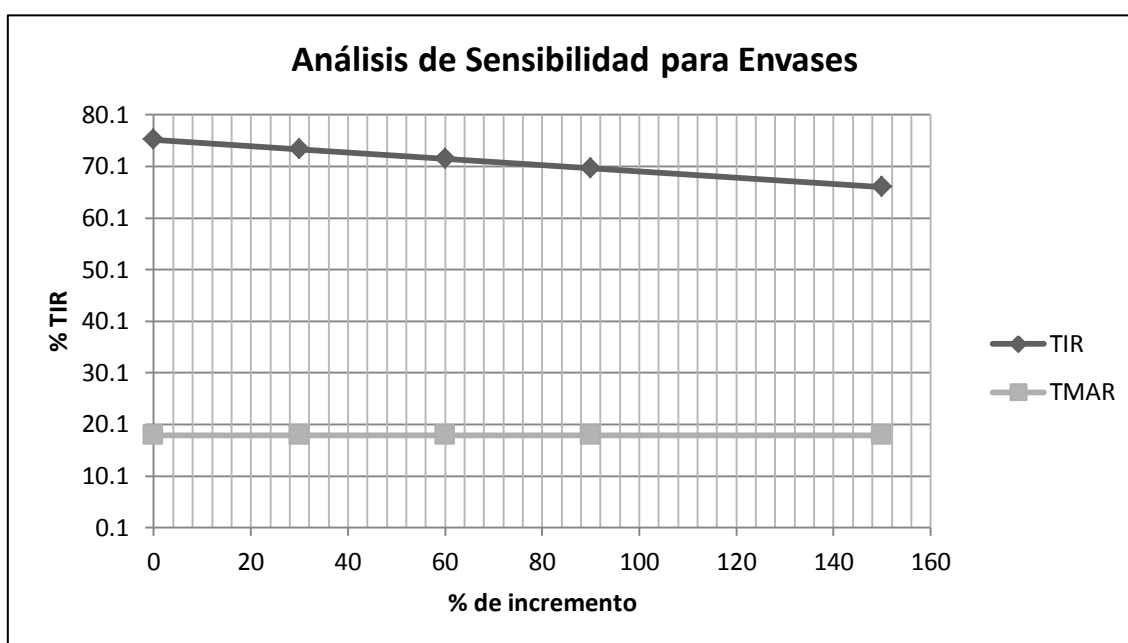


Figura 13.12 - Variación de la TIR vs. Variaciones en el costo de los envases

A partir de lo observado en la figura anterior, se concluye que si bien la TIR disminuye por el aumento de los costos de los envases, el proyecto solo deja de ser rentable cuando los mismos aumentan más de un 900% es decir, si superan un monto equivalente a \$ 19,500,000.

- **Costo de Mano de Obra Total**

Se analiza cómo influye el aumento de los sueldos sobre la TIR, considerando tanto la mano de obra directa como indirecta. En la figura 13.13 se muestra como varía la TIR frente incrementos en los costos de mano de obra total.

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir si bien el costo de la mano de obra total tiene una influencia en la TIR, para que el proyecto deje de ser rentable, esta debería aumentar por encima del 740%, es decir aproximadamente más \$ 21,000,000 anual.

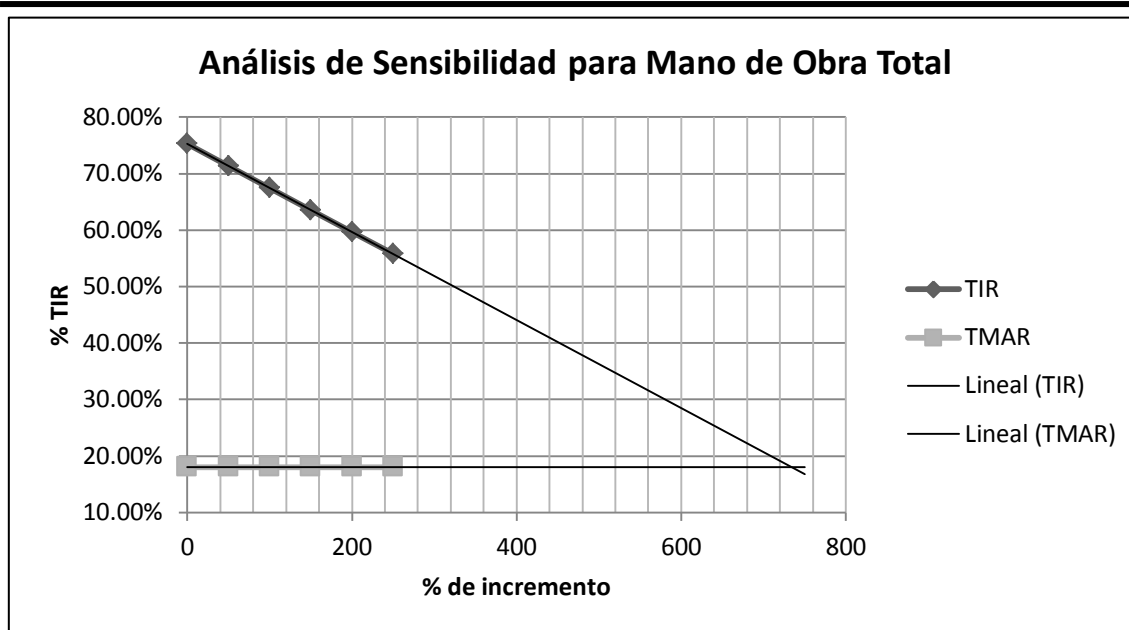


Figura 13.13 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el costo de la mano de obra total

- Volumen de ventas

Se analiza la variación de la TIR frente a reducciones e incrementos en los volúmenes de ventas. Al variar este, se modifican tanto los costos de producción como los ingresos por ventas, y en consecuencia el impuesto a las ganancias. Para realizar cada análisis individual, se mantiene constante el volumen de producción del otro producto.

- ♦ Polvo para cremas

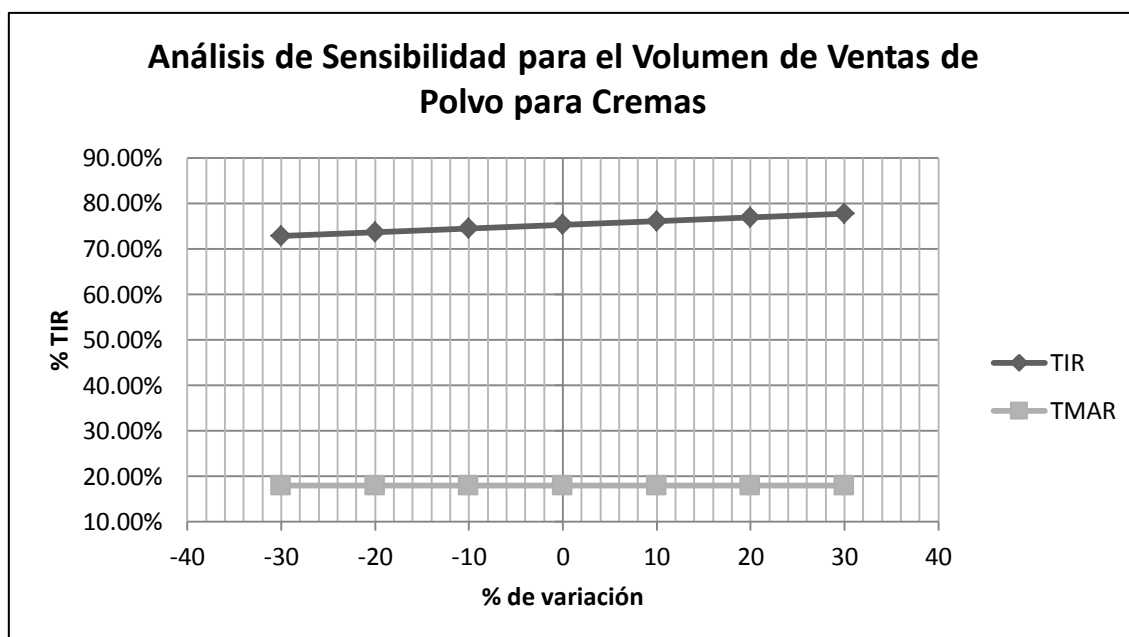


Figura 13.14 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el volumen de venta del polvo para cremas

Tal como se aprecia en la figura anterior, el volumen de ventas del polvo de HA lineal para cremas no influye en la rentabilidad del proyecto, esto se debe principalmente a que los mayores ingresos se deben a las ventas de las jeringas y no al polvo para cremas.

♦ Inyectables

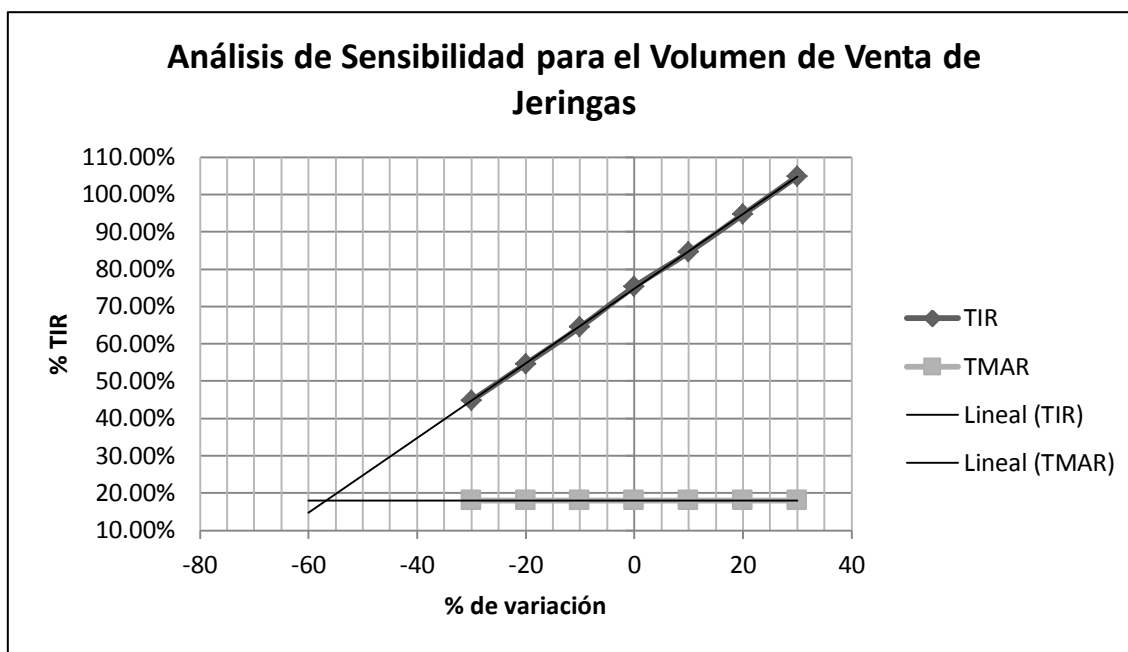


Figura 13.15 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el volumen de venta de las jeringas

En la figura 13.15 se observa que el volumen de venta de las jeringas es uno de los factores cuya variación afecta en mayor medida la TIR. Las ventas de las jeringas sólo pueden reducirse hasta un 56% lo que equivale a una producción de 130437 jeringas anuales para que el proyecto siga siendo rentable. Cabe destacar que esto está calculado para un precio de venta constante de las jeringas.

• Precio de venta

Se analiza cómo afectan reducciones e incrementos de los precios de venta de ambos productos sobre la rentabilidad del proyecto. Los volúmenes de venta se mantienen constantes, al igual que la inversión inicial y los gastos generales, solo varían los ingresos por ventas y el impuesto a las ganancias. Para realizar cada análisis individual, se mantiene constante el precio de venta del otro producto.

♦ Inyectables

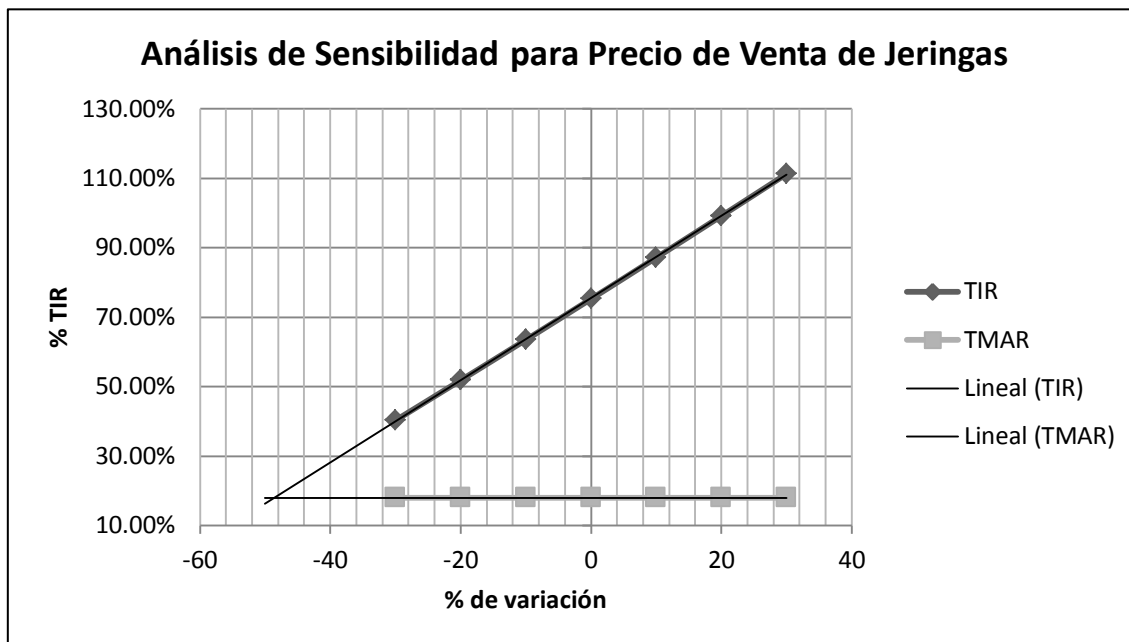


Figura 13.16 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el precio de venta de las jeringas

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que, al igual que el volumen de ventas, una disminución del precio de venta de las jeringas se traduce a una gran disminución de la TIR. Por lo tanto éste solo puede disminuir hasta un 49% antes de que el proyecto deje de ser rentable, lo cual equivale a un precio de venta no menor a \$64 por unidad.

♦ Polvo para cremas

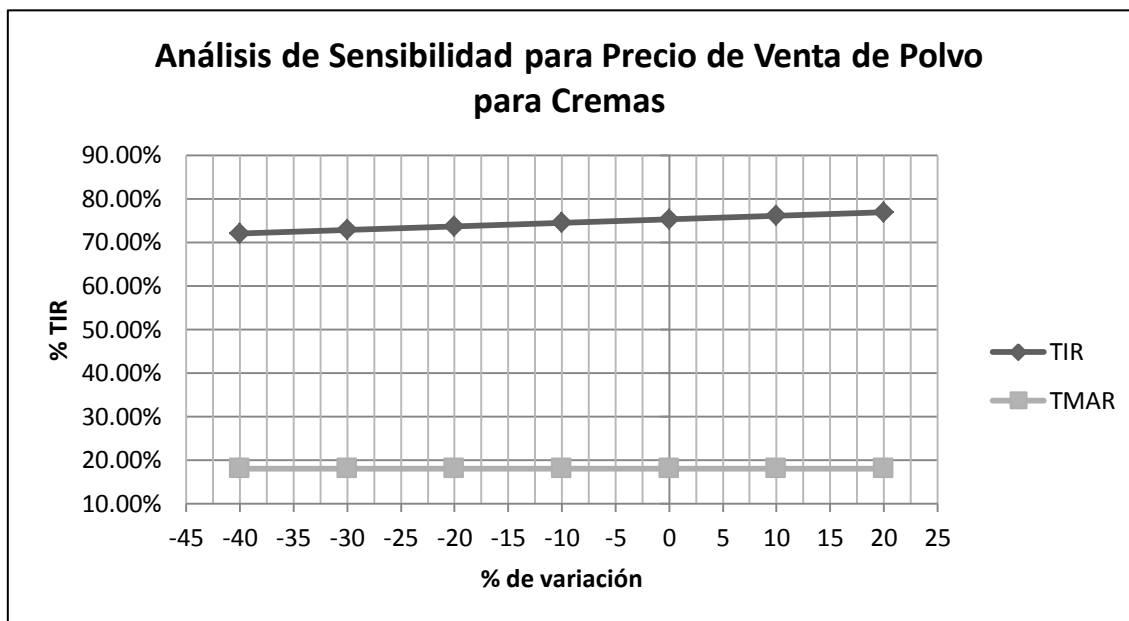


Figura 13.17 – Variación de la TIR vs. Variaciones en el precio de venta del polvo para cremas

En la figura 13.17 se observa un comportamiento similar al producido por el volumen de ventas de las cremas. Es decir, el precio de venta del polvo de HA lineal para cremas no influye en la rentabilidad del proyecto, y este puede disminuir indefinidamente y el proyecto seguirá siendo rentable.

13.12. CONCLUSIONES

El análisis económico-financiero precedente permite concluir que la puesta en marcha de la planta productora de HA requiere de una inversión inicial de \$ 19,687,647.23, los cuales provienen de un crédito otorgado por el Banco Hipotecario, con una tasa nominal anual fija del 18 % y un plazo máximo de pago de 4 años.

Según los resultados obtenidos a partir del análisis de indicadores de liquidez, rentabilidad y riesgo, tales como el VAN, TIR, PRI, B/C, se demuestra la factibilidad económica del proyecto y la rentabilidad del mismo, trabajando con el volumen calculado y aplicando el precio de venta establecido para cada producto.

A partir de los resultados del análisis de sensibilidad se puede concluir que las variables que más influyen en la rentabilidad del proyecto son el volumen de venta y el precio de las jeringas las cuales no pueden disminuir por debajo del 56% y 49% respectivamente. Es decir, el volumen de ventas no debe ser inferior a 130437 unidades por año, mientras que el precio de venta no puede ser menor a \$64/jeringa.

En el caso de las otras variables analizadas como los costos de los insumos de producción, los costos de los envases y la mano de obra total, si bien afectan la rentabilidad del proyecto, estas deben sufrir altísimos incrementos antes de que el valor de la TIR deba ser considerado inaceptable para el proyecto. En el caso de los costos de insumos para la producción pueden aumentar en más de un 1000%, los costos de los envases pueden aumentar hasta un 900% (\$19,500,000) y los costos de la mano de obra total pueden incrementarse hasta un 740% (\$21,000,000).

No sucede lo mismo con respecto al volumen de venta del polvo de HA lineal y el precio de venta del mismo, ya que independientemente de cuanto disminuyan la rentabilidad del proyecto no se ve afectada. Esto se debe a que los ingresos de la planta se deben mayoritariamente a las ventas de jeringas y no a la del polvo.

Capítulo 14

Conclusiones

14. CONCLUSIONES

- El ácido hialurónico (HA) es un polímero natural y lineal que se encuentra en diversas fuentes naturales tales como en los tejidos blandos de vertebrados (articulaciones, líquido sinovial, piel, humor vítreo del ojo y cordones umbilicales) como así también en las algas, moluscos e incluso en las cápsulas de ciertas cepas microbianas como por ejemplo en los *Streptococcus*, por lo que su obtención puede realizarse de diversas formas dependiendo de su origen.
- El HA posee importancia en funciones estructurales, reológicas, fisiológicas y biológicas por lo que tiene un amplio rango de aplicaciones en diversas ramas como la medicina, farmacología, oftalmología, estéticas e incluso en la industria alimenticia. Esto se debe principalmente a las propiedades que este biopolímero presenta, tales como su alta higroscopicidad, su naturaleza viscoelástica, su alta biocompatibilidad y su capacidad para degradarse en productos seguros. Cabe destacar que para mejorar aún más sus características y prolongar su vida media, este producto se puede entrecruzar o derivatizar. Dentro de la rama de los cosméticos anti-age posee la ventaja de que puede utilizarse en diferentes presentaciones, cremas e inyectables, lo cual le permite llegar a mas consumidores respecto a otros productos utilizados para el mismo fin, como el bótox, el cual posee la desventaja de solo aplicarse como inyectable, además de no ser un componente natural de la piel humana.
- En base a los resultados obtenidos a partir del estudio de mercado se puede concluir que el HA presenta una creciente demanda en nuestro país, y que debido a la falta de producción del mismo, lo cual obliga a importarlo, no existe ningún competidor en el mercado nacional. Es por ello que la instalación de una planta elaboradora del biopolímero es una buena alternativa para sustituir los productos importados.
- Para obtener el mismo a partir de una fermentación se requieren sustratos para el medio de cultivo, siendo la sacarosa el principal. Esta se encuentra ampliamente disponible en el mercado y presenta una tendencia creciente, con un exceso de producción que se mantiene en el futuro, por lo cual se puede asegurar que su adquisición no será un problema.

- La planta se ubica como un anexo al Laboratorio Internacional Argentino (LIA), ya que los bajos volúmenes de productos fabricados no justifican la construcción de un edificio completo. El LIA se encuentra ubicado en el Parque Industrial de Pilar, Buenos Aires, y cuenta con terreno disponible para edificar, además de los servicios que se requieren para el proceso (electricidad, gas, vapor, agua desionizada).

- La capacidad de la planta se establece en base a la proyección de la demanda establecida en el estudio de mercado, y de su tasa de crecimiento estimada. La capacidad total de la planta es de 16 kg anuales de HA lineal en polvo, de los cuales una parte se comercializa como tal para la elaboración de cremas y el resto se utiliza como materia prima en el proceso de producción de inyectables dérmicos, donde se requiere del polvo de HA lineal tanto para entrecruzar como para la formulación final de la jeringa.

- Existen básicamente dos vías de obtención industrial de HA: mediante la extracción de tejidos animales, o mediante fermentación microbiana. Esta última es la alternativa elegida, ya que el producto obtenido presenta una calidad uniforme, tiene mejores rendimientos y el proceso requiere un menor número de etapas de purificación. En base a consideraciones técnicas y económicas, se selecciona la fermentación aeróbica batch de *Streptococcus zooepidemicus* empleando sacarosa y extracto de levadura como principales sustratos. La purificación se realiza mediante etapas de precipitación, filtración y tratamiento con carbón activado. Para la reacción de entrecruzamiento se selecciona divinilsulfona como agente entrecruzante, ya que presenta ventajas técnicas y el gel obtenido es de calidad superior.

- Cabe destacar que los resultados de los balances de materia y energía fueron obtenidos a partir del uso de algunos datos (rendimientos, constantes, etc.) recopilados de la información técnica disponible la cual está basada en pruebas a escala laboratorio, por lo que la certeza de dichos datos no es la misma que la proveniente de ensayos a escala industrial. Se necesita una mayor investigación y desarrollo tecnológico para corroborar los mismos y desarrollar métodos de producción más eficientes.

- Se realizó el diseño y dimensionamiento de todos los equipos y factores de producción involucrados, los cuales resultaron acordes con los disponibles en el mercado, lo que comprueba la factibilidad técnica del proyecto.

- Se diseña un plan de control y aseguramiento de la calidad conforme a las especificaciones brindadas por Farmacopea Argentina aplicado a todas las etapas del proceso, desde la recepción de las materias primas hasta el almacenamiento de los productos terminados. Se implementan las Buenas Prácticas de Manufactura de productos farmacéuticos, garantizando de esta manera la calidad, seguridad y eficacia del producto dentro del MERCOSUR.

- Finalmente, según los resultados obtenidos a partir del análisis de indicadores de liquidez, rentabilidad y riesgo, tales como el VAN, TIR, PRI, B/C, se puede demostrar la factibilidad económica del proyecto y la rentabilidad del mismo, para los valores establecidos de los volúmenes de ventas al precio establecido cada producto.

- A partir de los resultados del análisis de sensibilidad se puede concluir que las variables que más influyen en la rentabilidad del proyecto son el volumen de venta y el precio de las jeringas, las cuales no pueden disminuir por debajo del 56% y 49% respectivamente. Por otro lado los costos de los insumos de producción, los costos de los envases y los costos de la mano de obra total no afectan significativamente la rentabilidad del proyecto ya que es poco probable que superen los valores límites máximos indicados. Respecto a la variaciones que puedan sufrir tanto el volumen de venta del polvo de HA lineal como el precio de venta del mismo, se puede decir que estas no afectaran la rentabilidad del proyecto debido a que los ingresos de la planta se deben mayoritariamente a las ventas de jeringas.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- ABRAHAM HERNÁNDEZ, A. & HERNÁNDEZ VILLALOBOS, A (2003). *Formulación y Evaluación de proyectos de Inversión para Principiantes*. México: Ecafsa Thomson Learning.
- AEA (2007). *Reglamento de Instalaciones Eléctricas*.
- AGENCIA GUBERNAMENTAL DE CONTROL - CIUDAD DE BS.AS. *Código de Edificación de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires*, Buenos Aires.
- AGENCIA GUBERNAMENTAL DE CONTROL - CIUDAD DE BS.AS. *Reglamento sobre prevención y extinción de incendios*, Buenos Aires.
- ANMAT (2012). *Disposición N° 0658*, Buenos Aires.
- ANMAT (2014). *Farmacopea Argentina, Volumen I*. Buenos Aires.
- ANMAT (2014). *Farmacopea Argentina, Volumen II*. Buenos Aires.
- ANTUÑA, J. C. (2010). *Azúcar - Análisis de la situación internacional, nacional y exportaciones*: INTA - RIAN.
- ARRIBASPLATA, W. E. (2005). *Transvase del chocolate en fase fluida viscosa no newtoniana. Cálculo del equipo de bombeo de una planta de chocolate*, Lima.
- BACA URBINA, G. (2001). *Evaluación de proyectos*. México: McGraw-Hill.
- BACCIFAVA, R. & ILLANES, R. H. (2014). *Localización de la Planta*. Villa María (Córdoba).
- BACH, P. & THWAITES, E. (2013). Dinamarca, Patente n° EP 1753810 B1.
- BALAZS, E. A. (1979). United States, Patente n° 4 141 973.
- BALAZS, E. A. & LESHCHINER, A. (1986). United States, Patente n° 4582865.
- BANCO NACIÓN (2014). *Banco de la Nación Argentina*. [En línea]
Available at: <http://www.bna.com.ar/>
[Último acceso: 24 Febrero 2016].

-
- BOERIU, C. G., SPRINGER, J., KOOY, F. K., VAN DEN BROEK, L. A., & EGGINK, G. (2013). Production Methods for Hyaluronan. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, p. 14.
 - BRINEY, C. (2005). Latinoamérica dice: La piel está de moda. *Global Cosmetic Industry Latinoamérica*, pp. 10-11.
 - CANET, A. R. (2014). *Dr. Antonio Ramón Canet*. [En línea]
Available at: <http://www.dr-ramoncanet.com/index.php/tratamiento-medico-estetico-sin-cirugia/faciales/infiltraciones-rellenos/infiltraciones-acidohialuronico>
[Último acceso: 8 Junio 2014].
 - CAPA (2014). *Cámara Argentina de la Industria de Cosmética y Perfumería*. [En línea]
Available at: <http://www.capa.org.ar>
[Último acceso: 8 Junio 2014].
 - CARRO PAZ, R. & GONZÁLEZ GÓMEZ, D. (2012). Capacidad y Distribución Física. *Administración de las Operaciones*, pp. 1-36.
 - CASTILLA CABANES, N., BLANCA GIMÉNEZ, V., MARTÍNEZ ANTÓN, A. & PASTOR VILLA, R. M. (2011). *Luminotecnia: Cálculo según el método de los lúmenes*, Valencia.
 - CAZZOLA, F., O'REGAN, M. & CORSA, V. (1996). España, Patente nº 2211883.
 - CENTRO AZUCARERO ARGENTINO. *Centro Azucarero Argentino*. [En línea]
Available at: <http://www.centrozucarero.com.ar/>
[Último acceso: 20 Febrero 2016].
 - CEP (2005). *El Sector de Artículos de Tocador, Cosmética y Perfumería en Argentina*. Centro de Estudios para la Producción.
 - CEP (2008). *La industria de Artículos de Tocador, Cosmética y Perfumería en la Argentina*. Centro de Estudios para la Producción. Secretaría de Industria, Comercio y PyME. Ministerio de Economía y Producción.
 - CHONG, B. F., BLANK, L. M., MCLAUGHLIN, R. & NIELSEN, L. K. (2005). Microbial hyaluronic acid production. *Applied Microbial Biotechnology*, pp. 341-351.

-
- CIEC (2013). *CIEC - Colegio de Ingenieros Especialistas de Córdoba*. [En línea]
Available at: http://www.ciec.com.ar/images/leyes/DECRETO_LEY_No_1332.pdf
[Último acceso: 4 Marzo 2016].
 - CIFUENTES MIMOSO, T. & SIGNES SOLER, F. (2009). *Estudio de efectos adversos tras tratamiento con implantes cutáneos de ácido hialurónico*, Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona.
 - COLFARMA BS.AS. (2012). *Resolución 8/12 - Buenas Prácticas de Preparación en Farmacia*, Buenos Aires: Colegio de farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.
 - CONTIPRO (2011). *Contipro*. [En línea]
Available at: www.contipro.com
[Último acceso: 8 Junio 2014].
 - COULAIS, E., KUMAR, A. & WATSON, T. (2015). *The effect of membrane selection and operating parameters on sterile filtration of hyaluronic acid*, Nueva York, Estados Unidos: Pall Life Sciences.
 - CULLEN, P., ROMAÑACH, R. J., ABATZOGLOU, N. & RIELLY, C. D. (2015). *Pharmaceutical Blending and Mixing*. Reino Unido: John Wiley & Sons.
 - DIRECCIÓN NACIONAL DEL APOYO AL JÓVEN EMPRESARIO. *Manual del Emprendedorismo*.
 - EDENOR S.A. (2008). *Edenor Clientes*. [En línea]
Available at: <http://www.edenor.com.ar/>
[Último acceso: 23 Febrero 2016].
 - ERTOLA, R., YANTORNO, O. & MIGNONE, C. (1994). *Microbiología Industrial*. OAS, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico.
 - GEANKOPLIS, C. J. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. México: Continental S.A.
 - HERNANDEZ, A. (2003). *Microbiología Industrial*. EUNED.
 - IKA (2015). *IKA*. [En línea]
Available at: <http://www.ika.com/ika/pdf/flyer->

[catalog/Dispenser brochure ES wop IWW web screen.pdf](#)

[Último acceso: 3 Diciembre 2015].

- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL (INTI) (2008). *Farmoquímicos Naturales*. [En línea]
Available at: <http://www.inti.gov.ar/sabercomo/sc67/inti3.php>
[Último acceso: 07 11 2014].
- ISAPS (2010). *International Survey on Aesthetic/Cosmetic Procedures Performed in 2010*.
- ISAPS (2011). *International Survey on Aesthetic/Cosmetic Procedures Performed in 2011*.
- KABLIK, J., MONHEIT, G., PHD, L., CHANG, G., & GERSHKOVICH, J. (2009). Comparative Physical Properties of Hyaluronic Acid Dermal. *Dermatol Surg*, pp. 302-312.
- KRAJEWSKI, L. J. & RITZMAN, L. P. (2000). *Administración de Operaciones: Estrategia y Análisis*. Pearson Educación.
- LABORATORIO INTERNACIONAL ARGENTINO (2015). [En línea]
Available at: <http://www.liargentino.com>
[Último acceso: 19 Febrero 2016].
- LAGO MENDOZA, G. (2007). *Cordones umbilicales residuales, nueva fuente de obtención de ácido hialurónico y sus funciones*. La Habana.
- LESHCHINER, A. K., KONOWICZ, P., CHANG, M.-Y. G. & VASILYEVA, V. (2013). *Polymeric materials, their preparation and use*. United States, Patente nº 8524213 B2.
- LEZCANO, E. (2012). *Informe de producto: Cadena de la levadura*. DIRECCIÓN DE AGROALIMENTOS ARGENTINA.
- LIU, L. y otros (2008) (1). Influence of culture modes on the microbial production of hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, pp. 269-273.

- LIU, L. y otros (2008) (2). Enhanced hyaluronic acid production by a two-stage culture strategy based on the modeling of batch and fed-batch cultivation of *Streptococcus zooepidemicus*. *Bioresource Technology*, pp. 8532-8536.
- LIU, L. y otros (2008). Enhancement of Hyaluronic Acid production by batch culture of *Streptococcus Zooepidemicus* via the addition of n-Dodecane as an oxygen vector. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, pp. 596-603.
- LIU, L. y otros (2011). Microbial Production of Hyaluronic Acid: Current State, Challenges, and Perspectives. *Microbial Cell Factories*, p. 9.
- LIU, L. y otros (2010). Application of a novel cavern volume controlled culture model to microbial hyaluronic acid production by batch culture of *Streptococcus zooepidemicus*. *Biochemical Engineering Journal*, pp. 141-147.
- LONDOÑO BARRERA, J. & SOSSA ATEHORTUA, A. M. (2013). *Plan de Empresa "Caramelo Beauty"*, Sabaneta-Antioquía: Institución Universitaria Ceipa.
- LONGIN, F. & SCHWACH-ABDELLAOUI, K. (2013). *Method of cross-linking hyaluronic acid with divinylsulfone*. Dinamarca, Patente nº US 8,481,080 B2.
- MATEOS, P. F. (2014). *ResearchGate*. [En línea]
Available at:
http://www.researchgate.net/publication/261983198_ESTERILIZACION_INDUSTRIAL
[Último acceso: 2 Diciembre 2015].
- McCABE, SMITH & HARRIOTT (2001). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química, Sexta edición*. México: Mc Graw Hill.
- MERCK MILLIPORE (2012). *Millistak+ Pod Disposable depth filter system*, Darmstad, Alemania.
- MERCK MILLIPORE (2014). *Merck Millipore*. [En línea]
Available at: www.merckmillipore.com
[Último acceso: 8 Junio 2014].
- MINISTERIO DE ECONOMÍA Y FINANZAS PÚBLICAS (1998). *InfoLEG*. [En línea]
Available at: <http://infoleg.mecon.gov.ar/infolegInternet/anexos/40000->

44999/42701/texact.htm

[Último acceso: 3 Marzo 2016].

- MINISTERIO DE INDUSTRIA (2014). *Parques Industriales Registrados*. [En línea] Available at: <http://parques.industria.gob.ar/dparques2/234/parque.html> [Último acceso: 19 10 2014].
- MINISTERIO DE SALUD PROVINCIA DE BS.AS. (2012). *Esterilizacion de medios de cultivo*, Buenos Aires.
- MOCKEL, H., WEISSGÄRBER, H., DREWAS, E. & RAHNER, H. (1990). Modelling of the calculation of the power input for aerated single and multistage impellers with special respect to scale-up.. *Acta Biotechnology*, pp. 215-224.
- MOUCHA, T., LINEK, V. & PROKOPOVÁ, E. (2003). Gas hold-up, mixing time and gas-liquid volumetric mass transfer coefficient of various multiple-impeller configurations: Rushton turbine, pitched blade and techmix impeller and their combinations. *Chemical Engineering Science*, pp. 1839-1846.
- MURADO GARCÍA, M. A. y otros (2005). España, Patente nº 2 192 960.
- NIELSEN, J., VILLADSEN, J. & LIDÉN, G. (2003). *Bioreaction Engineering Principles*. Nueva York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- NISMOVICH, J. (2006). *Manual Práctico de Construcción*. Buenos Aires: Ediciones Nisno.
- NOVOZYMES (2011). *Hyaluronic acid; Technology, Market & Timing*. Novozymes' Capital Markets Day.
- OCON GARCIA, J. & TOJO BARREIRO, G. (1980). *Problemas de Ingeniería Química Operaciones Básicas, Tomo I*. 1ra ed. Madrid: Aguilar.
- OLLE LJUNGQUIST, T. (2005). United States, Patente nº 6,891,035 B2.
- OUESLATI, N. y otros (2015). A simple methodology for predicting the performances of hyaluronic acid purification by diafiltration. *Journal of Membrane Science*, pp. 152-159.
- PARKER DOMNIC HUNTER (2015). *Effective filtration of hyaluronic acid based solutions*, Durham, Inglaterra.

-
- PARQUE INDUSTRIAL PILAR (2015). *Parque Industrial Pilar*. [En línea]
Available at: <http://www.pip.org.ar>
[Último acceso: Diciembre 2015].
 - PERRY, R. H. & GREEN, D. W. (2008). *Perry's Chemical Engineerings' Handbook*. 8va Edición: McGraw-Hill.
 - PRŮŠOVÁ, A. (2013). *Hydration of polysaccharides by the use of hyaluronan as a model system*. Landau.
 - RANGASWAMY, V. y otros (2011). India, Patente nº EP 2046969 B1.
 - REDDY KANALA, J., SANNIDHI, R. S., PANATI, K. & NARALA, V. (2011). Microbial production of high purity hyaluronic acid from *Streptococcus Zooepidemicus*. *The Bioscan*, pp. 601-603.
 - RODRÍGUEZ MÉNDEZ, M. & CÁRCEL CARRASCO, F. J. (2013). Consideraciones para el Diseño de Laboratorios en la Industria Química. *3 Ciencias*, pp. 1-13.
 - S.A.C.P.E.R. (2014). *Sociedad Argentina de Cirugías Plásticas, Estética y Reparadora*. [En línea]
Available at: <http://www.sacper.org.ar/>
[Último acceso: 18 10 2014].
 - SAFYB (2014). *Convenio Colectivo de Trabajo Nº 691/14 entre SAFYB, AFMYSRA y CAM*. [En línea]
Available at:
file:///lenovob570/Compartida%20Mari/Convenio%20Colectivo%20de%20Trabajo%20Nº%20691_14%20entre%20SAFYB,%20AFMYSRA%20y%20CAM%20%20SAFYB.html
[Último acceso: 6 Marzo 2016].
 - SAPAG CHAIN, N. & SAPAG CHAIN, R. (1991). *Preparación y Evaluación de Proyectos*. México, D.F.: McGraw-Hill.
 - SAPAG CHAIN, N. & SAPAG CHAIN, R. (2008). *Preparación y Evaluación de proyectos*. Colombia: McGraw-Hill.

-
- SCAVAGE (2014). *Scavage Comercio Exterior Argentino*. [En línea]
Available at: <http://www.scavage.com>
[Último acceso: 8 Junio 2014].
 - SCHANTÉ, C. E., ZUBER, G., HERLIN, C. & VANDAMME, T. F. (2011). Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis. *Carbohydrate Polymers* 85, p. 469–489.
 - SCHIRALDI, C., LA GATTA, A. & DE ROSA, M. (2010). Biotechnological Production and Application of Hyaluronan. *Biopolymers*, pp. 387-412.
 - SECRETARÍA DE POLÍTICA ECONÓMICA - MECON (2011). *Complejo Azucarero*.
 - SERINTEC (2000). *Serintec Muebles*. [En línea]
Available at: www.serintec.com.ar
[Último acceso: 18 Febrero 2016].
 - SLOMA, A. y otros (2012). Estados Unidos, Patente nº 8.137.951 B2.
 - SUPERINTENDENCIA DE SERVICIOS SANITARIOS (1997). *Requisitos para un Laboratorio de Aguas: Instructivo SISS*, Santiago de Chile.
 - SVIDROŇOVÁ, B. (2014). *CROSSLINKING OF POLYSACCHARIDE MICROFIBERS*.
 - SZABÓ, A. y otros (2013). Structural elucidation of hyaluronic acid gels after heat sterilization. *Polymer Testing*, pp. 1322-1325.
 - TEJEDA, A., MONTESINOS, R. M. & GUZMÁN, R. (1995). *Bioseparaciones*. Sonora, México: Editorial Unison.
 - TOEMMERAAS, K. & BACH, P. (2014). Dinamarca, Patente nº EP 2714745 A1.
 - UNIVERSIDADES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (2014). *Universidades de la provincia de Buenos Aires*. [En línea]
[Último acceso: 18 10 2014].
 - WIDNER, B. y otros (2005). Hyaluronic Acid Production in *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 3747-3752.



-
- WOZIWODZKI, S. (2012). Mixing of shear-thinning fluid with yield stress in a vessel with unsteadil rotating impeller. En: *14th European Conference on Mixing*. Warszawa, pp. 515-120.

 - ZHOU, H., NI, J., HUANG, W. & ZHANG, J. (2006). Separation of hyaluronic acid from fermentation broth by tangential flow microfiltration and ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, pp. 29-38.

Anexo I

Fichas de Datos de Seguridad

HOJA DE SEGURIDAD DE PRODUCTO					
1 – IDENTIFICACION DEL PRODUCTO Y LA COMPAÑIA					
Nombre Comercial:	ALCOHOL ISOPROPILICO ANHIDRO				
Formula Quimica	CH ₃ CHOHCH ₃				
Usos	Diluyentes para pinturas, esmaltes, lacas, barnices, selladores, adhesivos, resinas, tintas, removedores, derivados de la celulosa, etc.				
Identificación de la Compañia	CARBOCLOR S.A. OFICINAS EN BS. AS.: Arenales 1123 P.7º (A1061AA) C.A.B.A. - Argentina - Tel. (54-11) 4314-6173 / 6174 / 6175 - Fax. (54-11) 4315-0947				
Números de teléfonos de emergencias	PLANTA INDUSTRIAL: Julio A.del Valle Larrabure 174 (B2804ERO) Campana - Argentina - Tel. (54-3489)506700 - Fax. (54-3489) 422328				
Sinónimos: Isopropanol; 2 propanol; Alcohol sec- propilico; IPA –					
2-COMPOSICION / INFORMACION DE LOS COMPONENTE					
Sustancia / Mezcla:	Sustancia	RCRA numero	U001	EPA Clase	
Nombre quimico	ISOPROPANOL	Numero de Servicio Quimico Abstracto (C.A.S.)	63-63-0		
DOT Requerimiento del rotulo de peligrosidad: Líquido inflamable					
3-IDENTIFICACION DE LOS PELIGROS					
Solubilidad: Miscible en agua. Soluble en alcohol, éter, cloroformo y benceno.					
Apariencia & Color: Líquido claro, incoloro, móvil, transparente como el agua, extremadamente volátil con olor fuerte y característico al alcohol.					
4-MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS					
Procedimientos de emergencia y primeros auxilios: Contacto con ojos: Lavar inmediatamente con agua durante 15 minutos (mínimo), buscar atención medica. Contacto con la piel: Quitar toda la ropa contaminada, lavar inmediatamente con grandes cantidades de agua y buscar atención medica. Inhalación: Sacar a la persona del lugar de exposición. Proveer asistencia respiratoria y RCP. Derivar a centro medico asistencial. Ingestión: Buscar atención medica inmediata a centro de toxicología. No inducir al vómito.					
5-MEDIDAS PARA COMBATIR INCENDIOS					
Métodos de Extinción: Utilizar Polvo Químico Seco, spray de agua, espuma, dióxido de carbono en fuegos pequeños					
Procedimientos específicos en la extinción del fuego: Use ropa de protección total y equipo de respiración autónomo. No utilice spray para diluir el derrame. Dispersar los vapores para mantener los contenedores fríos.					
Riesgos inusuales en la extinción total del fuego: Líquido combustible que puede incrementar el quemado de los materiales. Los contenedores pueden explotar en incendios.					
6-MEDIDAS EN CASO DE DERRAME ACCIDENTAL					
Aislar y cercar el área de derrame. Usar ropas y equipos protectores personales. Mantener a los animales y personas no protegidas fuera del área. Evitar que el material alcance corrientes de agua y cloacas. Represar para restringir el derrame y absorber con un absorbente como arcilla, arena o tierra vegetal. Cargar los desechos en un tambor y rotular el contenido.					
7- MANIPULACION Y ALMACENAMIENTO					
Almacenar en un lugar cerrado. Almacenar solamente en envases originales. Mantener fuera del alcance de los niños y animales. No contaminar otros pesticidas, fertilizantes, agua, o alimentos, por almacenamiento o deshecho. Evitar el contacto con la boca, no respirar los vapores, evitar el contacto con la piel y ojos. No comer, beber o fumar durante el manejo del producto.					
8- CONTROLES DE LA EXPOSICION / PROTECCION PERSONAL					
Componentes peligrosos (identificación específica)	Limites de Exposición Resolución 295/03	NIOSH Limites de exposición	OSHA Limites de exposición	IDLH Riesgo inmediato a la salud y a la vida	ACGIH Limite de exposición
Alcohol Isopropilico 1ppm = 2,5 mg/m ³	C.M.P: 400 p.p.m mg/m ³ C.M.P - C.P.T.: p.p.m mg/m ³	REL: (10 horas) 400 ppm 980 mg/m ³ STEL: 500 ppm 1225 mg/m ³	PEL: (8 horas) 400 ppm 980 mg/m ³ STEL: No establecido	12.000 ppm	TLV: 400 ppm 983 mg/m ³ STEL: 500 ppm 1230 mg/m ³
Protección Respiratoria: Utilizar Equipos Autónomos de Protección Respiratoria.					
Ventilación: Es recomendable la extracción local o sistemas mecánicos generales.					
Guantes de Protección Neopreno o Nitrilo		Protección ocular Protector facial / anteojos de seguridad		Otras protecciones Protección uniforme apropiada	

Carbochlor

Condiciones de trabajo e higiene: Siempre lave cuidadosamente sus manos luego de estar en contacto con el producto, nunca coma o beba o fume en áreas vecinas del producto.

9- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Punto de Ebullición 83°C (181F)	Gravedad Específica (H ₂ O = 1) 0.79	Punto de Inflamación Flash: 12°C- (53°F) Cubeta cerrada
Presión de Vapor (mm Hg) 20°C (119 a 68°F)	Peso Molecular: 60.1	Clasificación NFPA: Clase IB líquido Inflamable
Densidad de Vapor (Aire = 1) 2.07	Punto de Fusión: -88.3 °C (-127F)	Limite de explosión en % de aire en volumen: LEL: 2.0% UEL: 12.7 %
Temperatura de auto ignición 399°C (750°F)		

10- ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

Estabilidad	Condiciones a evitar: El alcohol isopropílico es estable bajo condiciones normales del almacenaje y de la operación. Evite el contacto con el material incompatible. Guarde lejos de calor, de la llama, y de otros fuente de ignición.	
Estable X	Inestable	Incompatibilidad (materiales a evitar): Reacciona violentamente en contacto con óxidos fuertes, ácidos inorgánicos, aldehidos e isocianatos. Enciende en contacto con muchos óxidos metálicos.
Riesgo de Polimerización		Condiciones a evitar: Bajo que condiciones normales la temperatura y presión no se espera que ocurra riesgo de polimerización peligrosa.
Puede ocurrir	No ocurrirá X	Peligros de descomposición: Cuando se lo caliente hasta descomposición, el alcohol isopropílico emite humos, que incluye dióxido de carbono (CO ₂) gaseoso.

11- INFORMACION TOXICOLÓGICA

INHALACION: Los vapores causan irritación del tracto respiratorio superior con tos, disnea, dolor de cabeza, congestión, salivación, suave deshidratación, bronquitis, neumonitis química y/o edema pulmonar y efectos sobre el sistema nervioso central.

INGESTION: Dolor abdominal, náuseas, vómitos, tos, somnolencia, dolor de cabeza, jadeo, debilidad.

ABSORCIÓN: El contacto con los ojos puede causar ceguera y daños en los tejidos. El contacto con la piel puede causar irritación

Cancerogenicidad: Humana: Desconocida Animal: Desconocida	¿NTP Clasificación? NO	Grupo de revisión del cáncer NO	Regulado por OSHA? 29 CFR 1910.1000 Tabla Z-1	Organos de Impacto Piel, Ojos, Sistema respiratorio, CNS.
---	---------------------------	---------------------------------------	---	---

12- INFORMACION ECOLÓGICA

No hay datos disponibles

13- CONSIDERACIONES SOBRE EXPOSICION

Disposición: No hay métodos de disposición preferidos. Colocar en recipientes adecuados hasta disposición o quemar en incinerador con doble cámara. Deben observarse métodos de eliminación y disposición aprobados por las autoridades nacionales y locales.

14- INFORMACION DEL TRANSPORTE

TRANSPORTE TERRESTRE:

Denominación técnica: ISOPROPANOL (ALCOHOL ISOPROPILICO)

ONU	1219	CLASE	3	GRUPO DE EMBALAJE	II
-----	------	-------	---	-------------------	----

TRANSPORTE MARITIMO (IMDG)

Denominación técnica: ISOPROPANOL (ALCOHOL ISOPROPILICO)

ONU	1219	CLASE	3	GRUPO DE EMBALAJE	II
-----	------	-------	---	-------------------	----

TRANSPORTE AEREO: (ICAO-IATA)

Denominación técnica: ISOPROPANOL

ONU	1219	CLASE	3	GRUPO DE EMBALAJE	II
-----	------	-------	---	-------------------	----

Instrucciones de embalaje: CAO 307 PAX 305

SALUD	FUEGO	REACTIVIDAD	OTRA	GRADO DE PELIGROSIDAD	CODIGO DE COLORES	OTROS CODIGOS
1	3	0		0= Mínimo riesgo 1= Riesgo despreciable 2= Riesgo moderado 3= Riesgo serio 4= Riesgo severo	SALUD = AZUL FUEGO = ROJO REACTIVIDAD: AMARILLO OTROS: BLANCO	OX = Oxidante ACID = Acido ALK = Alcalino COR = Corrosivo W = No usar agua

15- INFORMACION REGULATORIA

Líquido inflamable clase 1B

Considerado como material de ligero riesgo para la salud y alto riesgo por su inflamabilidad.

Figura en el listado del acuerdo MERCOSUR – Reglamento General de Transporte de Mercancías Peligrosas y en Resolución 297/95.

16- INFORMACION ADICIONAL

la información y recomendaciones indicadas están basadas en fuentes confiables. CARBOCLOR. no asegura que sea completa o precisa. Es responsabilidad del usuario determinar si es adecuado y seguro para el uso que quiera darle, y su apropiada disposición final. no hay garantías, expresas y/o implícitas, de la comercialización o apropiado uso para el uso particular, o de cualquier otra naturaleza. CARBOCLOR. no asume ninguna responsabilidad adicional ni autoriza asumirla a ninguna persona, por el uso dado a esta información o su confiabilidad.

Revisión: 5

Octubre 2013



**ALCOHOL ISOPROPILICO GRADO FARMACOEPA
IPA-F**

Revisión: 2

Propiedad	Garantizado	Norma
Pureza % peso (min)	99.0	USP/PP-LAB-001
Gravedad Especifica 20/20°C	0.785 - 0.787	USP/BP/EP/JP/FA
Color (Pt/Co) (max)	5	ASTM D-1209
Índice de Refracción	1.376 - 1.378	USP/BP/EP/FA
Impurezas Totales <0.3 % peso	Cumple	FA/EP/BP
Impurezas Individuales < 0.1 % c/u	Cumple	USP
Materia No Volátil mg/100ml. (max)	2	USP/BP/EP/JP/FA
Benceno	<2 ppm	FA/BP/EP
Peróxidos	Cumple Test	FA/BP/EP
Identificación	Cumple Espectro IR	USP/BP/EP
Agua, % peso (max)	0.5	USP/BP/EP/JP/FA
Test de Permanganato	30 minutos	ASTM D-1363
Acidez, ml OHNa 0.02 N	>0.7 ml	USP 32
Test Disolución (ó miscibilidad en agua)	Cumple Test	USP/BP/EP/JP/FA
Aspecto	Líquido cristalino, transparente, sin partículas extrañas en suspensión o precipitadas.	
Espectro UV	Long. Onda (nm)	Absorbancia (máx)
	230	0.30
	250	0.10
	270	0.03
	290	0.02
	310	0.01

Cumple con los requerimientos de las Farmacopeas estadounidenses (USP), europea (EP), británica (BP), argentina (FA) y japonesa (JP).

Fichas Internacionales de Seguridad Química

HIDRÓXIDO DE SODIO		ICSC: 0360 Mayo 2010	
CAS: 1310-73-2 NU: 1823 CE Índice Anexo I: 011-002-00-6 CE / EINECS: 215-185-5		Sosa cáustica Hidrato de sodio Sosa NaOH Masa molecular: 40.0	
			
TIPO DE PELIGRO / EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
INCENDIO	No combustible. El contacto con la humedad o con el agua, puede generar calor suficiente para provocar la ignición de materiales combustibles.	NO poner en contacto con el agua.	En caso de incendio en el entorno: usar un medio de extinción adecuado.
EXPLOSIÓN	Riesgo de incendio y explosión en contacto con: (ver Peligros Químicos).	NO poner en contacto con materiales incompatibles. (Ver Peligros Químicos).	
EXPOSICIÓN		¡EVITAR LA DISPERSIÓN DEL POLVO! ¡EVITAR TODO CONTACTO!	¡CONSULTAR AL MÉDICO EN TODOS LOS CASOS!
Inhalación	Tos. Dolor de garganta. Sensación de quemazón. Jadeo.	Extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica.
Piel	Enrojecimiento. Dolor. Graves quemaduras cutáneas. Ampollas.	Gautes de protección. Traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar la piel con agua abundante o ducharse durante 15 minutos como mínimo. Proporcionar asistencia médica.
Ojos	Enrojecimiento. Dolor. Visión borrosa. Quemaduras graves.	Pantalla facial o protección ocular combinada con protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
Ingestión	Dolor abdominal. Quemaduras en la boca y la garganta. Sensación de quemazón en la garganta y el pecho. Náuseas. Vómitos. Shock o colapso.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. NO provocar el vómito. Dar a beber un vaso pequeño de agua, pocos minutos después de la ingestión. Proporcionar asistencia médica inmediatamente.
DERRAMES Y FUGAS		ENVASADO Y ETIQUETADO	
Protección personal: traje de protección química, incluyendo equipo autónomo de respiración. NO permitir que este producto químico se incorpore al ambiente. Barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente de plástico. Recoger cuidadosamente el residuo y trasladarlo a continuación a un lugar seguro.		No transportar con alimentos y piensos. Clasificación UE Símbolo: C R: 35 S: (1/2)-(26-37/39-45) Clasificación NU Clasificación de Peligros NU: 8 Grupo de Envasado NU: II Clasificación GHS Peligro Nocivo en caso de ingestión. Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares. Puede provocar irritación respiratoria.	
RESPUESTA DE EMERGENCIA		ALMACENAMIENTO	
Código NFPA: H3; F0; R1		Separado de alimentos y piensos, ácidos fuertes y metales. Almacenar en el recipiente original. Mantener en lugar seco. Bien cerrado. Almacenar en un área sin acceso a desagües o alcantarillas.	
Preparada en el Contexto de Cooperación entre el IPCS y la Comisión Europea © CE, IPCS, 2010			
			

VÉASE INFORMACIÓN IMPORTANTE AL DORSO


**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



Fichas Internacionales de Seguridad Química

HIDRÓXIDO DE SODIO		ICSC: 0360
DATOS IMPORTANTES		
<p>ESTADO FÍSICO; ASPECTO Sólido blanco e higroscópico, en diversas formas.</p> <p>PELIGROS QUÍMICOS La disolución en agua es una base fuerte que reacciona violentamente con ácidos y es corrosiva con metales tales como: aluminio, estaño, plomo y cinc, formando gas combustible (hidrógeno - ver FISQ.0001). Reacciona con sales de amonio produciendo amoníaco, originando peligro de incendio. El contacto con la humedad o con el agua genera calor. (Ver Notas).</p> <p>LÍMITES DE EXPOSICIÓN TLV: 2 mg/m³ (Valor techo) (ACGIH 2010). MAK: lb (no establecido pero hay datos disponibles) (DFG 2009).</p>	<p>VÍAS DE EXPOSICIÓN Efectos locales graves</p> <p>RIESGO DE INHALACIÓN Puede alcanzarse rápidamente una concentración nociva de partículas suspendidas en el aire cuando se dispersa.</p> <p>EFFECTOS DE EXPOSICIÓN DE CORTA DURACIÓN La sustancia es corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Corrosivo por ingestión.</p> <p>EFFECTOS DE EXPOSICIÓN PROLONGADA O REPETIDA El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir dermatitis.</p>	
PROPIEDADES FÍSICAS		
<p>Punto de ebullición: 1388°C Punto de fusión: 318°C Densidad: 2.1 g/cm³</p> <p>Solubilidad en agua, g/100 ml a 20°C: 109 (muy elevada).</p>		
DATOS AMBIENTALES		
Esta sustancia puede ser peligrosa para el medio ambiente. Debe prestarse atención especial a los organismos acuáticos.		
NOTAS		
El valor límite de exposición laboral aplicable no debe ser superado en ningún momento por la exposición en el trabajo. NO verter NUNCA agua sobre esta sustancia; cuando se deba disolver o diluir, añadirla al agua siempre lentamente. Otro nº NU: NU1824 Disolución de hidróxido de sodio, clasificación de peligro 8, grupo de envasado II-III.		
INFORMACIÓN ADICIONAL		
<p>Límites de exposición profesional (INSHT 2011): VLA-EC: 2 mg/m³</p>		
NOTA LEGAL	Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.	
© IPCS, CE 2010		

	FICHA DE SEGURIDAD CARBÓN ACTIVADO ORIGEN VEGETAL ACTIVACIÓN QUÍMICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento: MSDS-CA-4 Página 1 de 5

1. Identificación del producto y la empresa

Marca comercial del producto: Carbón activado
Nombre del producto:
 061, 061 A, 061 AFR, 061 C, 061 CAE, 061 CAE PLUS, 061 CFR, 061 FR, 061 G, 061 GA, 061 GAE, 061 GAM, 061 GAM FR, CC, CCP, CCP BFR, C5, N5, MMF, MMP, DARCO KBM, VG 4x10, VG 6x20, VG 14x35, SUCHAR-N, SUCHAR N5, SUCHAR NFR, SUCHAR PLUS.

Identificación del fabricante: CLARIMEX, S.A. de C.V.
Atitalaquia, México

Identificación del distribuidor: A.Q.A S.A.S. Asesorías Químico Ambientales
Teléfonos de emergencia: 574-448 11 75
574-448 44 30

2. Composición e información sobre los

Identificación:	No. CAS:	UN:	Porcentaje:
Carbón activado	7440-44-0	1362	100

3. Efectos para la salud

Panorama general de emergencia: En cualquier presentación (granulado o polvo), el Carbón activado (sobre todo cuando está mojado) puede agotar el oxígeno del aire en espacios cerrados, seguir los procedimientos de bajo potencial de oxígeno. Cuando se trata de carbones activados usado, que pueden mostrar las propiedades de los materiales adsorbidos aplicar precauciones adecuadas.

Efectos de la exposición por:

Inhalación: Posible leve irritación del tracto respiratorio debida a la acción secante y abrasiva del polvo.

Ingestión: No se conocen efectos nocivos.

Contacto con los Ojos: No corrosivo pero como cualquier material particulado puede causar irritación leve.

Contacto con la piel: No corrosivo, se puede presentar leve irritación debido a la acción abrasiva del polvo.


4. Primeros Auxilios

Ingestión: Beber uno o dos vasos de agua, acuda al médico en caso de problemas gastrointestinales. (No ingerir líquidos cuando la persona está inconsciente).

Inhalación: Ubicar en área con aire fresco. Consultar el médico en caso de tos o problemas respiratorios.

Ojos: Enjuagar con agua abundantemente, consulte a su médico en caso de irritación.

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüi PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

	FICHA DE SEGURIDAD CARBÓN ACTIVADO ORIGEN VEGETAL ACTIVACIÓN QUIMICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento: MSDS-CA-4 Página 1 de 5

Piel: Lavar con agua y jabón consulte a su médico en caso de enrojecimiento, comezón o sensación de quemado.


5. Riesgos de incendio y explosión

Punto de inflamación: NA
 Temperatura de autoignición: No flamable
 Límites de inflamación superior e inferior: NA en ambos.
 Riesgos en general: El carbón activado es difícil de encender y tiende a quemarse lentamente sin producir humo o llamas. A partir de la combustión se forman gases tóxicos.
 Instrucciones para combatir el incendio: Remover el carbón activado hacia un área sin riesgo, en aire libre. Extinguir el fuego usando niebla de agua, agua finamente atomizada, dióxido de carbono o espuma. Evite levantar nubes de polvo.
 Equipo de protección contra incendio: Se requiere de equipo de protección respiratoria y protección para los ojos. En caso de incendios usar equipos de respiración autónoma.
 Productos peligrosos por combustión: Los productos de combustión y el humo pueden incluir óxidos de carbono (por ejemplo, el monóxido de carbono). Los Materiales que arden sin flama en espacios cerrados por periodos largos pueden producir cantidades de monóxido de carbono que llegan al límite inferior de explosividad (monóxido de carbono LEL =12,5% en el aire). Bajo ciertas condiciones, cualquier polvo en el aire puede ser un riesgo de explosión. Utilizado carbón activado puede producir productos adicionales de combustión.

6. Manejo y almacenamiento

Temperatura de almacenamiento: Ambiente
 Presión de almacenamiento: Atmosférica
 Manejo: Aplicar las buenas prácticas de manejo y almacenamiento para minimizar derrames, generación de polvo en el aire y acumulación de polvo en superficies expuestas. Proporcionar ventilación adecuada. Utilizar respiradores, guantes y gafas para prevenir o minimizar la exposición al polvo. Lavar las áreas de la piel expuestas con jabón y agua después del manejo.
 Almacenamiento: El producto puede ser almacenado de manera segura en cualquier área de almacenamiento, lejos de fuentes directas de calor. Cuando el carbón activado es almacenado en espacios cerrados se puede presentar una deficiencia de oxígeno. Ventile el área o utilice equipo de respiración autónoma. El almacenamiento debe estar lejos de oxidantes como ozono, oxígeno líquido, cloro, permanganato, etc.

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüi PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

	FICHA DE SEGURIDAD CARBÓN ACTIVADO ORIGEN VEGETAL ACTIVACIÓN QUÍMICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento: MSDS-CA-4 Página 1 de 5

7. Medidas en caso de derrame o fuga

Procedimientos para atención de derrames: Limpiar el derrame sin dispersar el polvo en el aire. Emplear algún material absorbente como aserrín húmedo para limpiar y barrer el área afectada, finalmente lavar con agua y detergente.

Métodos de disposición: Desechar el carbón virgen (sin usar) desperdiciado o derramado conforme a la disposición de residuos no peligrosos permitida. El carbón usado debe ser confinado de acuerdo a las leyes que aplican.

Disposición de envases: No reutilizar las bolsas vacías deséchelas de acuerdo a la disposición de residuos no peligrosos permitida.

8. Protección personal y control a exposición

Ventilación: Proveer la ventilación necesaria para cumplir con el límite de control sugerido.

Protección para los Ojos: Utilizar lentes de seguridad con protecciones laterales. En situaciones extremas de polvo se recomienda el uso de goggles. Disponer de equipo lava-ojos. (No utilice lentes de contacto mientras trabaja con carbón activado).

Protección para la piel: Evite el contacto con la piel. Use ropa adecuada resistente al polvo, lave la ropa sucia antes de reutilizarla. Lave la piel vigorosamente después de manejar del material.


Protección Respiratoria: Usar el equipo de respiración apropiado aprobado por la NOM-116-STPS-1994 para materiales y/o lugares expuestos a ciertas concentraciones de polvo en el aire. Si las exposiciones no pueden ser controladas mediante los controles de ingeniería, consulte al fabricante de respiradores para determinar el tipo de respirador adecuado.

Límite de exposición recomendado para 8 hrs. Tiempo Promedio Ponderado	Carbón activado
Polvo total	10 mg/m ³
Fración respirable	2 mg/ m ³

9. Propiedades físicas y químicas

Temperatura de ebullición (OC):	NA	Temperatura de fusión (OC):	NA
Temperatura de inflamación (OC):	NA	Temperatura de autoignición (OC):	NA
Densidad de vapor:	NA	Peso molecular:	12
Densidad para grado polvo(g/cc):	0.18 a 0.5	Estado físico:	Sólido
Color:	Negro	Olor:	Inoloro
Velocidad de evaporación:	NA		

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüi PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

	FICHA DE SEGURIDAD CARBÓN ACTIVADO ORIGEN VEGETAL ACTIVACIÓN QUÍMICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento: MSDS-CA-4 Página 1 de 5

Solubilidad en agua (g/100 ml):	Insoluble	Presión de vapor (mmHg a 20°C):	ND
Porcentaje de volatilidad:	NA	Apariencia:	Gránulos /polvo
Límites de inflamabilidad o explosividad:			
Límite superior:	ND	Límite inferior:	ND
NA : no aplica ND: no determinado			

10. Estabilidad y reactividad

Estabilidad:	Este producto se considera estable bajo condiciones específicas de uso, almacenamiento y embarque.
Incompatibilidad:	En contacto con oxidantes fuertes tales como ozono, oxígeno líquido, cloro permanganato, etc., puede resultar una combustión rápida. Evite el contacto con ácidos fuertes.
Productos peligrosos de la descomposición:	Monóxido de carbono y Dióxido de carbono.
Riesgos de polimerización:	No ocurre.

11. Información toxicológica

Este material en su estado original no es tóxico.
El carbón activado usado puede presentar las características del material absorbido.

12. Información ecológica

Este material en su estado original no es perjudicial al medio ambiente.
El carbón activado usado puede presentar las características del material absorbido.

13. Consideraciones sobre la disposición final del producto

- El carbón activado, en su estado original, no es un material peligroso o residuo peligroso.
- Siga las regulaciones gubernamentales aplicables para la eliminación de residuos.
- El carbón activado usado puede ser clasificado como residuos peligrosos según la aplicación.
- Siga los reglamentos aplicables para su eliminación.
- Reciclar (reactivar) puede ser otra viable alternativa de disposición. Contacte a A.Q.A. S.A.S

14. Información sobre el transporte

DOT (DEPARTAMENTO DE TRANSPORTE)

Nombre propio del transporte:	Carbón activado
Clase de peligro:	4.2
Número UN:	1362
Grupo de embalaje:	III

15. Información regulatoria

Observar los reglamentos generales de seguridad al manipular los productos químicos.

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüí PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

**PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO
POR FERMENTACIÓN MICROBIANA**

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



	FICHA DE SEGURIDAD CARBÓN ACTIVADO ORIGEN VEGETAL ACTIVACIÓN QUÍMICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento: MSDS-CA-4 Página 1 de 5


16. Otra información

El carbón activado puede ser almacenado de forma segura en cualquier área de almacenamiento normal, pero alejado de fuentes de calor directo.

ADVERTENCIA: El carbón activado (sobre todo cuando está mojado) puede agotar el oxígeno del aire, y puede provocar peligrosamente bajos niveles de oxígeno. Cuando los trabajadores entran en un buque que contiene carbón activado, deben ser seguidos los procedimientos de las áreas potencialmente bajas de oxígeno. Carbones activados no se enumeran como posibles cancerígenos por ninguna agencia.

La información aquí se da de buena fe, pero no como garantía explícita o implícita de la misma.

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüi PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

	CARBON ACTIVADO CLARIMEX 061 CAE FICHA TECNICA	Fecha elaboración: 13 dic 2.010
		Fecha revisión:
		ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
		Número de documento:
		Página 1 de 1

CARBON ACTIVADO CLARIMEX 061 CAE

Carbón Activado en polvo, tipo ácido, de origen vegetal, fabricado a partir de Madera y activado con ácido fosfórico.

El carbón CLARIMEX 061 CAE es un producto de alta calidad, que gracias a su fina granulometría lo hacen un producto ideal para la aplicación en purificación de jugos de frutas, mostos y vinos.

Este producto está certificado por ANSI/NSF Standard 61.

ESPECIFICACIONES

pH	2.0 - 4.0
Humedad al empacar, %	10 máx
Decoloración de melazas	150 mín
Adsorción de lodo, (mg l2 / g)	800 mín
Adsorción de Azul de Metileno,(g / 100 g)	26 mín
Solubles en agua, %	4 máx

GRANULOMETRIA

% Que pasa malla 400	80 mín
----------------------	--------

PROPIEDADES TIPICAS

Densidad Aparente, g / cc	0.25
Cenizas, %	8
Adsorción de Azul de Metileno(g AM / 100 g)	28
Filtrabilidad a Vacío, (s cm2 / ml g)	0.40

Carrera 46 No.75 – 101 Centro Industrial el Carmelo, Itagüí PBX: 574-4481175 Cel: 3012429555

Ficha de Datos de Seguridad

ACOFARMA

Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 (REACH)

1.- Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

Identificación de la sustancia o del preparado

Denominación: Lidocaina clorhidrato Ph. Eur.

Identificación de la sociedad o empresa: Acofarma Distribución S.A.
Llobregat, 20
08223-Terrassa. España.
Tel: 93 736 00 88 / Fax: 93 785 93 62

Teléfono de urgencias: Instituto Nacional de Toxicología. Madrid. Tel: 91 562 04 20

2.- Identificación de los peligros

Clasificación de la sustancia o mezcla

De acuerdo al Reglamento (EC) No1272/2008
Toxicidad aguda, Oral (Categoría 3)

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas. Nocivo por ingestión.

Elementos de la etiqueta

Pictograma



Palabra de advertencia

Peligro

Indicación(es) de peligro
H301

Tóxico en caso de ingestión.

Declaración(es) de prudencia
P301 + P310

EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un
CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

Símbolo(s) de peligrosidad
Xn

Nocivo

Frase(s) - R
R22

Nocivo por ingestión.

Frase(s) - S
S36

Úsese indumentaria protectora adecuada.

Otros Peligros - ninguno(a)

3.- Composición/información sobre los componentes

CAS-N°.: 6108-05-0 EINECS.: 200-80-3
P.M: 288.82
Fórmula molecular: $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Lidocaina clorhidrato Ph. Eur.

4.- Primeros auxilios

En caso de ingestión, lavar la boca con agua si el sujeto está consciente. Llamar al médico.

En caso de contacto con la piel, enjuagar inmediatamente con abundantes cantidades de agua durante 15 minutos por lo menos, y quitar al mismo tiempo la ropa y calzado contaminados. Llamar al médico.

En caso de inhalación: Aire fresco. Si respira con dificultad, llamar al médico.

En caso de contacto con los ojos, enjuagar con abundante agua manteniendo abiertos los párpados, al menos durante 15 minutos. Llamar al médico.

5.- Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción adecuados:

Agua pulverizada.

Dióxido de carbono, polvo químico seco o espuma apropiada.

Procedimientos especiales para la lucha contra incendios:

Usar un aparato respiratorio autónomo y ropa protectora para evitar el contacto con la piel y los ojos.

Peligros de incendio y explosiones excepcionales:

Emite humos tóxicos en caso de incendio.

6.- Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Usar un aparato respiratorio autónomo, botas de goma y guantes de goma fuertes.

Barrer, meter en una bolsa y conservar para su posterior eliminación.

Evitar el levantamiento de polvo.

Ventilar el local y lavar el lugar donde se haya derramado el producto una vez retirado por completo.

7.- Manipulación y almacenamiento

Consultar sección 8.

8.- Controles de exposición/protección personal

Protección personal:

Usar sólo en cabina de humos química.

Ducha de seguridad y baño ocular.

Lavar la ropa contaminada antes de volver a usarla.

Lavarse las manos al finalizar el trabajo.

No respirar el polvo.

No exponer ojos, piel o ropa.

Evitar exposiciones largas o repetidas.

Usar un aparato respirador adecuado.

Guantes resistentes a los productos químicos.

Gafas de seguridad y otras prendas protectoras.

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Lidocaina clorhidrato Ph. Eur.

Mantener herméticamente cerrado.
Almacenar en lugar fresco y seco.

9.- Propiedades físicas y químicas

Estado físico: Sólido
Color: Blanco
Olor: Ligero olor

Punto de fusión 74-79 °C

10.- Estabilidad y reactividad

Estabilidad:

Estable

Incompatibilidades:

Agentes extremadamente oxidantes.

Productos de descomposición peligrosos:

Monóxido de carbono, dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno, gas de ácido clorhídrico.

Polimerización peligrosa:

No se producirá.

11.- Información toxicológica

Toxicidad aguda:

Nocivo por inhalación, ingestión y contacto con la piel.

Puede causar irritación en la piel y en los ojos.

El producto irrita las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior.

Contacto con la piel o inhalación son el resultado de anestesia local.

Organos diana:

Sistema nervioso central.

Corazón.

Informaciones adicionales sobre toxicidad:

LD₅₀ (intraperitoneal, rata): 122 mg/kg.

LD₅₀ (subcutánea, rata): 570 mg/kg.

LD₅₀ (intravenosa, rata): 21 mg/kg.

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

12.- Informaciones ecológicas

No se dispone todavía de datos.

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Lidocaina clorhidrato Ph. Eur.

13.- Consideraciones relativas a la eliminación

Desechos:

Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Observar todos los reglamentos estatales y locales sobre la protección del medio ambiente.

14.- Información relativa al transporte

Contactar con ACOFARMA, S.C.L para obtener más información relativa al transporte.

15.- Información Reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

16.- Otras informaciones

Texto de códigos H y frases R mencionadas en la sección 2

Fecha de emisión: 26-11-99

Fecha de edición 2ª: 24-11-10

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.



MSDS

For RICCA, SpectroPure, Red Bird, and Solutions Plus Brands
Emergency Contact(24 hr) – CHEMTREC®
Domestic: 800-424-9300
International: 703-527-3887

PHOSPHATE BUFFERED SALINE, pH 7.0 - 7.3

Material Safety Data Sheet

Section 1: Chemical Product and Company Identification

Catalog Number: 5823, R5823900	
Product Identity: PHOSPHATE BUFFERED SALINE, pH 7.0 - 7.3	
Manufacturer's Name: RICCA CHEMICAL COMPANY LLC	Emergency Contact(24 hr) -- CHEMTREC® Domestic: 800-424-9300 International: 703-527-3887
CAGE Code: 4TCW6, 0V553, 4XZQ2	
Address: 448 West Fork Dr Arlington, TX 76012	Telephone Number For Information: 817-461-5601
Date Prepared: 1/10/11	Revision: 1 Last Revised: 01/02/2014 Date Printed: 12/10/2014 2:24:10 pm

Section 2. Composition/Information on Ingredients

Component	CAS Registry #	Concentration	ACGIH TLV	OSHA PEL
Sodium Phosphate, Monobasic Monohydrate	10049-21-5	< 0.1% (w/v)	Not Available Not Available	Not Available Not Available
Sodium Phosphate, Dibasic	7558-79-4	< 1% (w/v)	Not Available Not Available	Not Available Not Available
Sodium Chloride	7647-14-5	< 1% (w/v)	Not Available Not Available	Not Available Not Available
Water, Deionized	7732-18-5	Balance	Not Available Not Available	Not Available Not Available

Section 3: Hazard Identification

Emergency Overview: May cause mild irritation to the eyes and skin. Wash areas of contact with water. Call a physician if irritation develops. Does not present any significant health hazards.

Target Organs: eyes, skin

Eye Contact: May cause irritation, redness, pain, and tearing.

Inhalation: Not likely to be hazardous by inhalation.

Skin Contact: May cause slight irritation.

Ingestion: Large doses may cause nausea, vomiting and abdominal pain.

Chronic Effects/Carcinogenicity: None



For RICCA, SpectroPure, Red Bird, and Solutions Plus Brands
Emergency Contact(24 hr) – CHEMTREC®
Domestic: 800-424-9300
International: 703-527-3887

PHOSPHATE BUFFERED SALINE, pH 7.0 - 7.3

MSDS

IARC - No.
NTP - No.
OSHA - No.

Reproductive Information: Reproductive effects cited in 'Registry of Toxic Effects of Chemical Substances' for Sodium Chloride. Reproductive effects cited in 'Registry of Toxic Effects of Chemical Substances' for Sodium Chloride.

Teratology (Birth Defect) Information: Mutation data cited in 'Registry of Toxic Effects of Chemical Substances' for Sodium Chloride. Mutation data cited in 'Registry of Toxic Effects of Chemical Substances' for Sodium Chloride.

Section 4: First Aid Measures - In all cases, seek qualified evaluation.

Eye Contact: Irrigate immediately with large quantity of water for at least 15 minutes. Call a physician if irritation develops.

Inhalation: Remove to fresh air. Give artificial respiration if necessary. If breathing is difficult, give oxygen.

Skin Contact: Wash areas of contact with soap and water for at least 15 minutes. Call a physician if irritation develops.

Ingestion: Dilute with water or milk. Do not induce vomiting. Call a physician if necessary.

Section 5: Fire Fighting Measures

Flash Point: Not Available.

LFL: Not Available.

Extinguishing Media: Use any means suitable for extinguishing surrounding fire.

Fire & Explosion Hazards: Not considered to be a fire or explosion hazard.

Fire Fighting Instructions: Use normal procedures/instructions.

Fire Fighting Equipment: Use protective clothing and breathing equipment appropriate for the surrounding fire.

Method Used: Not Available.

UFL: Not Available.

Section 6: Accidental Release Measures

Absorb with suitable material (vermiculite, clay, etc.) and dispose of in accordance with local regulations.

Check with local agencies for the proper disposal of phosphate containing solutions.

Section 7. Handling and Storage

As with all chemicals, wash hands thoroughly after handling. Avoid contact with eyes and skin. Protect from freezing and physical damage.

Safety Storage Code: General

Section 8: Exposure Control/Personal Protection

Engineering Controls: No specific controls are needed. Normal room ventilation is adequate.

Respiratory Protection: Normal room ventilation is adequate.

Skin Protection: Chemical resistant gloves.

Eye Protection: Safety glasses or goggles.

Section 9: Physical and Chemical Properties

Appearance: Clear, colorless liquid

Odor: Odorless

Solubility in Water: Infinite

Specific Gravity: Approximately 1

pH: 7.0 - 7.3

Boiling Point(°C): Approximately 100.1

Melting Point(°C): Approximately (-6) - 0

Vapor Pressure: Not Applicable.

Section 10: Stability and Reactivity

Chemical Stability: Stable under normal conditions of use and storage.

Incompatibility: Strong oxidizing agents, Lithium, Bromine Trifluoride.

Hazardous Decomposition Products: Oxides of Sodium and fumes of Chlorine may be released when heated to decomposition.

Hazardous Polymerization: Will not occur.

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



MSDS

For RICCA, SpectroPure, Red Bird, and Solutions Plus Brands
Emergency Contact(24 hr) -- CHEMTREC®
Domestic: 800-424-9300
International: 703-527-3887

PHOSPHATE BUFFERED SALINE, pH 7.0 - 7.3

Section 11. Toxicological Information

LD50, Oral, Rat: (Sodium Chloride) 3000 mg/kg, details of toxic effects not reported other than lethal dose value. LD50, Dermal, Rabbit: (Sodium Chloride) >10 gm/kg. LD50, Oral, Rat: (Sodium Phosphate Dibasic) 17 gm/kg; LD50, Oral, Rat: (Sodium Phosphate Monobasic Anhydrous) 8920 mg/kg, details of toxic effects not reported other than lethal dose value.

Section 12. Ecological Information

Ecotoxicological Information: No information found.

Chemical Fate Information: No information found.

Section 13. Disposal Considerations

Dilute with water and flush to sewer if regulations allow for the flushing of phosphate containing solutions. If not allowed, save for recovery or recycling in an approved waste disposal facility. Always dispose of in accordance with local, state and federal regulations.

Section 14. Transport Information

Part Numbers:

This product is not regulated.

Section 15. Regulatory Information (Not meant to be all inclusive - selected regulation represented)

OSHA Status: The above items either do not contain any specifically hazardous material or the potentially hazardous material is present in such low concentration that the items do not present any immediate threat to health and safety. These items do not meet the OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200) definition of a hazardous material.

TSCA Status: All components of this solution are listed on the TSCA Inventory or are mixtures (hydrates) of items listed on the TSCA Inventory.

Sara Title III:

Section 302 Extremely Hazardous Substances: Not Applicable.

Section 311/312 Hazardous Categories: No

Section 313 Toxic Chemicals: Not Applicable.

California: None Reported.

Pennsylvania: Sodium Phosphate, Dibasic is listed as an Environmental Hazard on the state's Hazardous Substances List. Sodium Phosphate, Dibasic is listed as an Environmental Hazard on the state's Hazardous Substances List.

RCRA Status: Not Applicable.

CERCLA Reportable Quantity: Sodium Phosphate, Dibasic - 5,000 pounds. Sodium Phosphate, Dibasic - 5,000 pounds.

WHMIS: Not Applicable.

Section 16. Other Information

NFPA Ratings:

Health: 0

Flammability: 0

Reactivity: 0

Special Notice Key: None

HMS Ratings:

Health: 0

Flammability: 0

Reactivity: 0

Protective Equipment: B (Protective Eyewear, Gloves)

Rev 1, January 2, 2014: (Section 1) revised title from 7.1 - 7.3, added catalog number R5823900; (Section 9) revised pH from 7.1 - 7.3.

Divinyl sulfone

sc-255120



The Answer is Question

Material Safety Data Sheet

Hazard Alert Code Key: **EXTREME** **HIGH** **MODERATE** **LOW**

Section 1 - CHEMICAL PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION

PRODUCT NAME

Divinyl sulfone

STATEMENT OF HAZARDOUS NATURE

CONSIDERED A HAZARDOUS SUBSTANCE ACCORDING TO OSHA 29 CFR 1910.1200.

NFPA



SUPPLIER

Santa Cruz Biotechnology, Inc.
 2145 Delaware Avenue
 Santa Cruz, California 95060
 800.457.3801 or 831.457.3800

EMERGENCY

ChemWatch
 Within the US & Canada: 877-715-9305
 Outside the US & Canada: +800 2436 2255
 (1-800-CHEMCALL) or call +613 9573 3112

SYNONYMS

C4-H6-O2-S, (H2C=CH)2SO2, "ethene, 1, 1' -sulfonylbis-", "divinyl sulfone", TL-797

Section 2 - HAZARDS IDENTIFICATION

CHEMWATCH HAZARD RATINGS

	Min	Max
Flammability:	1	
Toxicity:	4	
Body Contact:	4	
Reactivity:	1	
Chronic:	2	

Min/Nil=0
 Low=1
 Moderate=2
 High=3
 Extreme=4



CANADIAN WHMIS SYMBOLS



EMERGENCY OVERVIEW

RISK

Toxic if swallowed.
Very toxic in contact with skin.
Causes burns.
Risk of serious damage to eyes.
Limited evidence of a carcinogenic effect.

POTENTIAL HEALTH EFFECTS

ACUTE HEALTH EFFECTS

SWALLOWED

- Toxic effects may result from the accidental ingestion of the material; animal experiments indicate that ingestion of less than 40 gram may be fatal or may produce serious damage to the health of the individual.
- The material can produce chemical burns within the oral cavity and gastrointestinal tract following ingestion.

EYE

- The material can produce chemical burns to the eye following direct contact.

Vapors or mists may be extremely irritating.

- If applied to the eyes, this material causes severe eye damage.

SKIN

- Skin contact with the material may produce severely toxic effects; systemic effects may result following absorption and these may be fatal.
- The material can produce chemical burns following direct contact with the skin.
- Open cuts, abraded or irritated skin should not be exposed to this material.
- Entry into the blood-stream, through, for example, cuts, abrasions or lesions, may produce systemic injury with harmful effects.

Examine the skin prior to the use of the material and ensure that any external damage is suitably protected.

- The material is a vesicant causing blistering on contact.

INHALED

- Inhalation of aerosols (mists, fumes), generated by the material during the course of normal handling, may produce severely damaging effects.

to the health of the individual.

- Inhalation hazard is increased at higher temperatures.

- Inhalation of quantities of liquid mist may be extremely hazardous, even lethal due to spasm, extreme irritation of larynx and bronchi, chemical pneumonitis and pulmonary edema.

- The material can cause respiratory irritation in some persons.

The body's response to such irritation can cause further lung damage.

CHRONIC HEALTH EFFECTS

- There has been concern that this material can cause cancer or mutations, but there is not enough data to make an assessment.

Repeated or prolonged exposure to corrosives may result in the erosion of teeth, inflammatory and ulcerative changes in the mouth and necrosis (rarely) of the jaw. Bronchial irritation, with cough, and frequent attacks of bronchial pneumonia may ensue.

Limited evidence suggests that repeated or long-term occupational exposure may produce cumulative health effects involving organs or biochemical systems.

Section 3 - COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS

NAME	CAS RN	%
vinyl sulfone	77-77-0	>98
inhibited (typically) with hydroquinone	123-31-9	

Section 4 - FIRST AID MEASURES

SWALLOWED

· For advice, contact a Poisons Information Center or a doctor at once. · Urgent hospital treatment is likely to be needed.

EYE

- If this product comes in contact with the eyes: · Immediately hold eyelids apart and flush the eye continuously with running water. · Ensure complete irrigation of the eye by keeping eyelids apart and away from eye and moving the eyelids by occasionally lifting the upper and lower lids.

SKIN

- If skin or hair contact occurs: · Immediately flush body and clothes with large amounts of water, using safety shower if available. · Quickly remove all contaminated clothing, including footwear.

INHALED

- If fumes or combustion products are inhaled remove from contaminated area. · Lay patient down. Keep warm and rested. Inhalation of vapors or aerosols (mists, fumes) may cause lung edema. Corrosive substances may cause lung damage (e.g.

NOTES TO PHYSICIAN

- Treat symptomatically.

for poisons (where specific treatment regime is absent):

-----BASIC TREATMENT

- Establish a patent airway with suction where necessary.
 - Watch for signs of respiratory insufficiency and assist ventilation as necessary.
- Depending on the degree of exposure, periodic medical examination is indicated. The symptoms of lung edema often do not manifest until a few hours have passed and they are aggravated by physical effort.

Section 5 - FIRE FIGHTING MEASURES

Vapour Pressure (mmHG):	Not available
Upper Explosive Limit (%):	Not available
Specific Gravity (water=1):	1.177
Lower Explosive Limit (%):	Not available

EXTINGUISHING MEDIA

- Foam.
- Dry chemical powder.

FIRE FIGHTING

- Alert Emergency Responders and tell them location and nature of hazard.
 - Wear full body protective clothing with breathing apparatus.
- When any large container (including road and rail tankers) is involved in a fire, consider evacuation by 800 metres in all directions.

GENERAL FIRE HAZARDS/HAZARDOUS COMBUSTIBLE PRODUCTS

- Combustible.
 - Slight fire hazard when exposed to heat or flame.
- Combustion products include: carbon dioxide (CO₂), sulfur oxides (SO_x), other pyrolysis products typical of burning organic material. May emit poisonous fumes.

FIRE INCOMPATIBILITY

- Avoid contamination with oxidizing agents i.e. nitrates, oxidizing acids, chlorine bleaches, pool chlorine etc. as ignition may result.

PERSONAL PROTECTION

- Glasses:
Chemical goggles.
Full face- shield.
- Gloves:
Respirator:
Type A-P Filter of sufficient capacity

Section 6 - ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

MINOR SPILLS

- Drains for storage or use areas should have retention basins for pH adjustments and dilution of spills before discharge or disposal of material.
- Check regularly for spills and leaks.
- Remove all ignition sources.
- Clean up all spills immediately.

MAJOR SPILLS

- Clear area of personnel and move upwind.
- Alert Emergency Responders and tell them location and nature of hazard.

Section 7 - HANDLING AND STORAGE

PROCEDURE FOR HANDLING

- DO NOT allow clothing wet with material to stay in contact with skin.
- Avoid all personal contact, including inhalation.
- Wear protective clothing when risk of exposure occurs.

RECOMMENDED STORAGE METHODS

- Lined metal can, Lined metal pail/drum
- Plastic pail.

For low viscosity materials

- Drums and jerricans must be of the non-removable head type.
- Where a can is to be used as an inner package, the can must have a screwed enclosure.

All inner and sole packagings for substances that have been assigned to Packaging Groups I or II on the basis of inhalation toxicity criteria, must be hermetically sealed.

STORAGE REQUIREMENTS

- Polymerization may occur slowly at room temperature.
- Store in original containers.
- Store at 4° C.

· Keep containers securely sealed.

Section 8 - EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

EXPOSURE CONTROLS

Source	Material	TWA ppm	TWA mg/m ³	STEL ppm	STEL mg/m ³	Peak ppm	Peak mg/m ³	TWA F/CC	Notes
Canada - Alberta Occupational Exposure Limits	hydroquinone (Dihydroxybenzene (Hydroquinone))		2						
Canada - British Columbia Occupational Exposure Limits	hydroquinone (Hydroquinone Revised 2008)		1						S
US - Minnesota Permissible Exposure Limits (PELs)	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
US OSHA Permissible Exposure Levels (PELs) - Table Z1	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
US ACGIH Threshold Limit Values (TLV)	hydroquinone (Hydroquinone)		1						TLV Basis: eye irritation; eye damage
US NIOSH Recommended Exposure Limits (RELs)	hydroquinone (Hydroquinone)						2		(Ceiling ([15-minute]))
US - Tennessee Occupational Exposure Limits - Limits For Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
US - Vermont Permissible Exposure Limits Table Z-1-A Transitional Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
US - Vermont Permissible Exposure Limits Table Z-1-A Final Rule Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
US - California Permissible Exposure Limits for Chemical Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone; 1,4-benzenediol)		2						
US - Idaho - Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2						
Canada - Quebec Permissible Exposure Values for Airborne Contaminants (English)	hydroquinone (Hydroquinone)		2						

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



US - Hawaii Air Contaminant Limits	hydroquinone (Hydroquinone)		2		4	
US - Alaska Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2			
US - Michigan Exposure Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2			
Canada - Yukon Permissible Concentrations for Airborne Contaminant Substances	hydroquinone (Dihydroxybenzene, see Hydroquinone)	-	2	-	3	
Canada - Saskatchewan Occupational Health and Safety Regulations - Contamination Limits	hydroquinone (Hydroquinone)		2		4	
Canada - Nova Scotia Occupational Exposure Limits	hydroquinone (Hydroquinone)		1			TLV Basis: eye irritation; eye damage
Canada - Prince Edward Island Occupational Exposure Limits	hydroquinone (Hydroquinone)		1			TLV Basis: eye irritation; eye damage
US - Wyoming Toxic and Hazardous Substances Table Z1 Limits for Air Contaminants	hydroquinone (Hydroquinone)		2			
US - Oregon Permissible Exposure Limits (Z-1)	hydroquinone (Hydroquinone)	-	2			
Canada - Northwest Territories Occupational Exposure Limits (English)	hydroquinone (Dihydroxybenzene (Hydroquinone))		2		4	
US - Washington Permissible exposure limits of air contaminants	hydroquinone (Dihydroxybenzene (Hydroquinone))		2		4	

ENDOELTABLE

The following materials had no OELs on our records

• vinyl sulfone: CAS:77-77-0

PERSONAL PROTECTION



PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



RESPIRATOR

Type A-P Filter of sufficient capacity
Consult your EHS staff for recommendations

EYE

- Chemical goggles.
- Full face shield.

HANDS/FEET

- When handling corrosive liquids, wear trousers or overalls outside of boots, to avoid spills entering boots.
- Elbow length PVC gloves.
Suitability and durability of glove type is dependent on usage. Important factors in the selection of gloves include: such as:
- frequency and duration of contact,
 - chemical resistance of glove material,
 - glove thickness and
 - dexterity
- Select gloves tested to a relevant standard (e.g. Europe EN 374, US F739).
- When prolonged or frequently repeated contact may occur, a glove with a protection class of 5 or higher (breakthrough time greater than 240 minutes according to EN 374) is recommended.
 - When only brief contact is expected, a glove with a protection class of 3 or higher (breakthrough time greater than 60 minutes according to EN 374) is recommended.
 - Contaminated gloves should be replaced.
- Gloves must only be worn on clean hands. After using gloves, hands should be washed and dried thoroughly. Application of a non-perfumed moisturiser is recommended.
- Neoprene gloves.

OTHER

- Overalls.
- PVC Apron.

ENGINEERING CONTROLS

- Local exhaust ventilation usually required. If risk of overexposure exists, wear an approved respirator.

Section 9 - PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

PHYSICAL PROPERTIES

Mixes with water.
Corrosive.
Toxic or noxious vapours/gas.

State	LIQUID	Molecular Weight	118.15
Melting Range (°F)	-15	Viscosity	Not available
Boiling Range (°F)	453	Solubility in water (g/L)	Miscible
Flash Point (°F)	217	pH (1% solution)	Not applicable.
Decomposition Temp (°F)	Not available	pH (as supplied)	Not applicable
Autoignition Temp (°F)	Not available	Vapour Pressure (mmHG)	Not available
Upper Explosive Limit (%)	Not available	Specific Gravity (water=1)	1.177
Lower Explosive Limit (%)	Not available	Relative Vapor Density (air=1)	>1
Volatile Component (%vol)	Not available	Evaporation Rate	Not available

APPEARANCE

Colourless liquid; mixes with water.

log Kow 0.50-0.61

Material	Value
----------	-------

Section 10 - CHEMICAL STABILITY

CONDITIONS CONTRIBUTING TO INSTABILITY

- Stable under controlled storage conditions provided material contains adequate stabilizer / polymerization inhibitor.
- Bulk storages may have special storage requirements.
- Presence of incompatible materials.
- Product is considered stable.

STORAGE INCOMPATIBILITY

- Stable under controlled storage conditions provided material contains adequate stabilizer / polymerization inhibitor.
 - Bulk storages may have special storage requirements.
- Avoid reaction with oxidizing agents.

For incompatible materials - refer to Section 7 - Handling and Storage.

Section 11 - TOXICOLOGICAL INFORMATION

vinyl sulfone

TOXICITY AND IRRITATION

■ unless otherwise specified data extracted from RTECS - Register of Toxic Effects of Chemical Substances.

■ The material may cause severe skin irritation after prolonged or repeated exposure and may produce on contact skin redness, swelling, the production of vesicles, scaling and thickening of the skin. Repeated exposures may produce severe ulceration.

VINYL SULFONE:

TOXICITY	IRRITATION
Oral (rat) LD50: 32 mg/kg	Skin (rabbit): 50 mg (open) Moderate
Intraperitoneal (rat) LD50: 3 mg/kg	Skin (rabbit): 2 mg/24h-SEVERE
Subcutaneous (rat) LD50: 14 mg/kg	Eye (rabbit): 50 mg - Moderate
Intravenous (rat) LD50: 12 mg/kg	Eye (rabbit): 5 mg/24h-SEVERE
Subcutaneous (mouse) LD50: 16 mg/kg	
Intravenous (mouse) LD50: 11 mg/kg	
	Skin (rabbit) LD50: 22 mg/kg

■ The material may produce severe irritation to the eye causing pronounced inflammation. Repeated or prolonged exposure to irritants may produce conjunctivitis.

Asthma-like symptoms may continue for months or even years after exposure to the material ceases. This may be due to a non-allergenic condition known as reactive airways dysfunction syndrome (RADS) which can occur following exposure to high levels of highly irritating compound. Key criteria for the diagnosis of RADS include the absence of preceding respiratory disease, in a non-atopic individual, with abrupt onset of persistent asthma-like symptoms within minutes to hours of a documented exposure to the irritant. A reversible airflow pattern, on spirometry, with the presence of moderate to severe bronchial hyperreactivity on methacholine challenge testing and the lack of minimal lymphocytic inflammation, without eosinophilia, have also been included in the criteria for diagnosis of RADS. RADS (or asthma) following an irritating inhalation is an infrequent disorder with rates related to the concentration of and duration of exposure to the irritating substance. Industrial bronchitis, on the other hand, is a disorder that occurs as result of exposure due to high concentrations of irritating substance (often particulate in nature) and is completely reversible after exposure ceases. The disorder is characterised by dyspnea, cough and mucus production.

TOXICITY

IRRITATION

HYDROQUINONE:

Oral (human) LDLo: 29 mg/kg

Skin
(human):
2% -
Mild

Oral (human) TDLo: 170 mg/kg

Skin (human): 5% - SEVERE

Oral (rat) LD50: 320 mg/kg

■ Contact allergies quickly manifest themselves as contact eczema, more rarely as urticaria or Quincke's edema. The pathogenesis of contact eczema involves a cell-mediated (T lymphocytes) immune reaction of the delayed type.

Hydroquinone is rapidly and extensively absorbed from the gut and lungs of animals. Absorption via the skin is slow but may be accelerated with vehicles such as alcohols. Hydroquinone distributes rapidly and widely among tissues. It is metabolized to 1,4-benzoquinone and other oxidised products, and is detoxified by conjugation to monoglucuronide, monosulfate, and mercapturic derivatives. The excretion of hydroquinone and its metabolites is rapid, and occurs primarily via the urine.

Hydroquinone exhibits moderate acute oral toxicity for animals. Limited data suggest that powdered hydroquinone causes transient eye irritation and corneal opacity in dogs and guinea-pigs; in rabbits powdered hydroquinone induced slight irritation of the eye. Hydroquinone may be a skin sensitizer in animals. The ability to induce sensitization has been found to vary from "weak" to "strong" depending on the test procedure and vehicle used.

Repeated oral dosing caused tremors and reduced activity ≥ 64 mg/kg), reduced body weight gain (≥ 200 mg/kg), convulsions (.400 mg/kg), and nephropathy in F-344 rats (≥ 100 mg/kg). No adverse effects on the kidneys were reported in Sprague-Dawley rats treated for the same length of time with the same dose levels. Effects in mice include tremors and convulsions (400 mg/kg), increased liver weight (≥ 25 mg/kg), and irritation of the forestomach (≥ 200 mg/kg). A functional observational battery and neuropathological examinations of rats failed to give any evidence of persistent or structural neurotoxicity after repeated dosing for 90 days. A NOEL for all effects was 20 mg/kg per day.

Fourteen days of repeated dermal dosing caused reduced body weights of male rats at the 3840 mg/kg dose level (6% relative to the controls), but the body weights of female rats at this dose level and of mice at 4800 mg/kg were comparable to controls. There were no clinical signs of toxicity in either species. Prolonged dermal dosing over 13 weeks with 2.0, 3.5, or 5.0% hydroquinone in an oil-in-water emulsion cream resulted in minimal to minor dermal irritation, but no overt toxicity. No adverse effects or compound-related effects occurred in organ weight, clinical pathology, or histopathology. A NOEL was not determined because of the dermal irritation in all treated groups, but the NOAEL was the highest dose level of 5% hydroquinone (74 mg/kg in males and 110 mg/kg in females) based on the lack of systemic effects.

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo I – Fichas de Datos de Seguridad



Reproductive effects: A two-generation reproduction study was conducted in rats. The NOAEL for reproductive effects through two generations was 150 mg/kg per day (the highest dose tested).

Genetic toxicity: Numerous genotoxicity studies of hydroquinone have been conducted. Hydroquinone is not mutagenic in the Salmonella/microsome test. Other data indicate that hydroquinone induces structural chromosome aberrations and c-mitotic effects in vivo in mouse bone-marrow cells following ip injection. In vitro studies with various cell lines showed that hydroquinone was capable of inducing gene mutations, structural chromosome aberrations, sister-chromatid exchange, and DNA damage. Hydroquinone produces adducts with DNA in vitro, but recent in vivo studies were unable to produce DNA adducts. While several experiments with hydroquinone have shown mutagenic effects; the relevance of these results to human risk is uncertain. The majority of positive mutagenicity studies use routes of exposure (parenteral or in vitro) which are not relevant to human exposures. A dominant lethal assay in rats was negative.

Carcinogenicity: Sprague-Dawley rats treated for two-years with hydroquinone in the diet showed "atrophy of the liver cord cells, lymphoid tissue of the spleen, adipose tissue, and striated muscle together with superficial ulceration and hemorrhage of the stomach mucosa" but no carcinogenesis. Two-year studies performed by the NTP reported that hydroquinone exposure was associated with some evidence of carcinogenicity in F-344 rats and B6C3F1 mice. In the NTP study, renal tubular cell adenomas occurred in male rats and mononuclear cell leukemia in female rats, and hepatocellular neoplasms, mainly adenomas, in female mice. The NTP concluded that these data indicated "some evidence of carcinogenic activity" in male and female rats and in female mice. In an another study using F-344 rats and B6C3F1 mice, renal tubular cell adenomas were also noted in male rats; hepatocellular adenomas and renal cell hyperplasia were noted in male mice; and hyperplasia of the forestomach was noted in both male and female mice fed 0.8% hydroquinone diets for two years. The evidence provided by cancer bioassay studies is considered limited A.U.S.E.P.A. review of the NTP bioassay found the bioassay results provide limited evidence of carcinogenicity in animals.

Mechanisms: Covalent binding and oxidative stress are mechanisms postulated to be associated with hydroquinone-induced toxicity. Oxidised hydroquinone metabolites may covalently bind cellular macromolecules or alkylate low molecular weight nucleophiles (e.g., glutathione (GSH)) resulting in enzyme inhibition, alterations in nucleic acids and oxidative stress; however, redox cycling is not likely to contribute significantly to oxidative stress. The reaction of hydroquinone metabolites with GSH results in the formation of conjugates which can be further processed to cysteine conjugates which are postulated to cause kidney toxicity

Cell proliferation associated nephrotoxicity in a sensitive strain and species of animal (male F344 rat) has been postulated to be involved in the production of renal tumors in rats.

Interaction with Phenols:

A number of studies reporting interactive effects between hydroquinone and other phenolic compounds. Coadministration of hydroquinone and phenol (75 mg/kg), when given by intraperitoneal injection twice per day, produced a synergistic decrease in bone marrow cellularity in B6C3F1 mice that was similar to that induced by benzene. This compound treatment was significantly more myelotoxic than that observed when either hydroquinone or phenol was administered separately. Associated in vitro studies suggested that this interactive effect was due to a phenol-induced stimulation of the myeloperoxidase-mediated conversion of hydroquinone to 1,4-benzoquinone in the bone marrow.

Subsequent studies have indicated that interactions between hydroquinone and other phenolic compounds can result in a variety of cytotoxic, immunotoxic and genotoxic effects.

The substance is classified by IARC as Group 3:

NOT classifiable as to its carcinogenicity to humans.

Evidence of carcinogenicity may be inadequate or limited in animal testing.

CARCINOGEN

	US - Rhode Island Hazardous Substance List	IARC	
HYDROQUINONE	US Environmental Defense Scorecard Suspected Carcinogens	Reference(s)	CPDB
VPVB_(VERY-	US - Maine Chemicals of High Concern List	Carcinogen	CA Prop 65; IARC; NTP 11th ROC

Section 12 - ECOLOGICAL INFORMATION

This material and its container must be disposed of as hazardous waste.

Ecotoxicity

Ingredient	Persistence: Water/Soil	Persistence: Air	Bioaccumulation	Mobility
vinyl sulfone	HIGH		LOW	HIGH
hydroquinone	LOW		LOW	MED

Section 13 - DISPOSAL CONSIDERATIONS

US EPA Waste Number & Descriptions

A. General Product Information

Corrosivity characteristic: use EPA hazardous waste number D002 (waste code C)

Disposal Instructions

All waste must be handled in accordance with local, state and federal regulations.

! Puncture containers to prevent re-use and bury at an authorized landfill.

Legislation addressing waste disposal requirements may differ by country, state and/ or territory. Each user must refer to laws operating in their area. In some areas, certain wastes must be tracked.

A Hierarchy of Controls seems to be common - the user should investigate:

- Reduction
- Reuse
- Recycling
- Disposal (if all else fails)

This material may be recycled if unused, or if it has not been contaminated so as to make it unsuitable for its intended use. If it has been contaminated, it may be possible to reclaim the product by filtration, distillation or some other means. Shelf life considerations should also be applied in making decisions of this type. Note that properties of a material may change in use, and recycling or reuse may not always be appropriate.

DO NOT allow wash water from cleaning equipment to enter drains. Collect all wash water for treatment before disposal.

- Recycle wherever possible.
- Consult manufacturer for recycling options or consult Waste Management Authority for disposal if no suitable treatment or disposal facility can be identified.

Section 14 - TRANSPORTATION INFORMATION

DOT:

Symbols: G Hazard class or Division: 6.1

Identification Numbers: UN2927 PG: I

Label Codes: 6.1, 8 Special provisions: T14, TP2,

TP13, TP27

Packaging: Exceptions: None Packaging: Non- bulk: 201

Packaging: Exceptions: None Quantity limitations: 0.5 L

Passenger aircraft/rail:

Quantity Limitations: Cargo 2.5 L Vessel stowage: Location: B aircraft only:

Vessel stowage: Other: 40

Hazardous materials descriptions and proper shipping names:

Toxic liquids, corrosive, organic, n.o.s.

Air Transport IATA:

ICAO/IATA Class: 6.1 (8) ICAO/IATA Subrisk: None

UN/ID Number: 2927 Packing Group: I

Special provisions: A4

Cargo Only

Packing Instructions: 2.5 L Maximum Qty/Pack: 0.5 L

Passenger and Cargo Passenger and Cargo

Packing Instructions: 657 Maximum Qty/Pack: 651

Passenger and Cargo Limited Quantity Passenger and Cargo Limited Quantity

Packing Instructions: Forbidden Maximum Qty/Pack: Forbidden

Shipping Name: TOXIC LIQUID, CORROSIVE, ORGANIC, N.O.S.

*(CONTAINS VINYL SULFONE)

Maritime Transport IMDG:

IMDG Class: 6.1 IMDG Subrisk: 8

UN Number: 2927 Packing Group: I

EMS Number: F-A, S-B Special provisions: 274 315

Limited Quantities: 0

Shipping Name: TOXIC LIQUID, CORROSIVE, ORGANIC, N.O.S.

(contains vinyl sulfone)

Section 15 - REGULATORY INFORMATION

vinyl sulfone (CAS: 77-77-0) is found on the following regulatory lists;

"Canada National Pollutant Release Inventory (NPRI)"

Regulations for ingredients

hydroquinone (CAS: 123-31-9) is found on the following regulatory lists;

"Canada - Alberta Occupational Exposure Limits", "Canada - British Columbia Occupational Exposure Limits", "Canada - Northwest Territories Occupational Exposure Limits (English)", "Canada - Nova Scotia Occupational Exposure Limits", "Canada - Prince Edward Island Occupational Exposure Limits", "Canada - Prince Edward Island Occupational Exposure Limits - Carcinogens", "Canada - Quebec Permissible Exposure Values for Airborne Contaminants (English)", "Canada - Saskatchewan Industrial Hazardous Substances", "Canada - Saskatchewan Occupational Health and Safety Regulations - Contamination Limits", "Canada - Yukon Permissible Concentrations for Airborne Contaminant Substances", "Canada Domestic Substances List (DSL)", "Canada Ingredient Disclosure List (SOR/88-64)", "Canada Toxicological Index Service - Workplace Hazardous Materials Information System - WHMIS (English)", "International Agency for Research on Cancer (IARC) - Agents Reviewed by the IARC Monographs", "International Fragrance Association (IFRA) Survey: Transparency

List", "OECD Representative List of High Production Volume (HPV) Chemicals", "US - Alaska Limits for Air Contaminants", "US - California Air Toxics "Hot Spots" List (Assembly Bill 2588) Substances for which emissions must be quantified", "US - California Occupational Safety and Health Regulations (CAL/OSHA) - Hazardous Substances List", "US - California Permissible Exposure Limits for Chemical Contaminants", "US - California Toxic Air Contaminant List Category IV", "US - Connecticut Hazardous Air Pollutants", "US - Hawaii Air Contaminant Limits", "US - Idaho - Limits for Air Contaminants", "US - Massachusetts Oil & Hazardous Material List", "US - Michigan Exposure Limits for Air Contaminants", "US - Minnesota Hazardous Substance List", "US - Minnesota Permissible Exposure Limits (PELs)", "US - New Jersey Right to Know Hazardous Substances", "US - Oregon Permissible Exposure Limits (Z-1)", "US - Pennsylvania - Hazardous Substance List", "US - Rhode Island Hazardous Substance List", "US - Tennessee Occupational Exposure Limits - Limits For Air Contaminants", "US - Vermont Permissible Exposure Limits Table Z-1-A Final Rule Limits for Air Contaminants", "US - Vermont Permissible Exposure Limits Table Z-1-A Transitional Limits for Air Contaminants", "US - Wyoming Toxic and Hazardous Substances Table Z1 Limits for Air Contaminants", "US ACGIH Threshold Limit Values (TLV)", "US ACGIH Threshold Limit Values (TLV) - Carcinogens", "US CAA (Clean Air Act) - HON Rule - Organic HAPs (Hazardous Air Pollutants)", "US Clean Air Act - Hazardous Air Pollutants", "US Cosmetic Ingredient Review (CIR) Cosmetic ingredients found safe, with qualifications", "US Department of Transportation (DOT) List of Hazardous Substances and Reportable Quantities - Hazardous Substances Other Than Radionuclides", "US DOE Temporary Emergency Exposure Limits (TEELs)", "US EPA High Production Volume Program Chemical List", "US EPA Master Testing List - Index I Chemicals Listed", "US EPCRA Section 313 Chemical List", "US FDA Indirect Food Additives: Adhesives and Components of Coatings - Substances for Use Only as Components of Adhesives - Adhesives", "US List of Lists - Consolidated List of Chemicals Subject to EPCRA, CERCLA and Section 112(r) of the Clean Air Act", "US NIOSH Recommended Exposure Limits (RELs)", "US OSHA Permissible Exposure Levels (PELs) - Table Z1", "US SARA Section 302 Extremely Hazardous Substances", "US Toxic Substances Control Act (TSCA) - Inventory", "US TSCA Section 4/12 (b) - Sunset Date/Status", "US TSCA Section 8 (d) - Health and Safety Data Reporting"

Section 16 - OTHER INFORMATION

ND

Substance CAS Suggested codes vinyl sulfone 77- 77- 0 T; R25 hydroquinone 123- 31- 9 T; R25

Reasonable care has been taken in the preparation of this information, but the author makes no warranty of merchantability or any other warranty, expressed or implied, with respect to this information. The author makes no representations and assumes no liability for any direct, incidental or consequential damages resulting from its use. For additional technical information please call our toxicology department on +800 CHEMCALL.

■ Classification of the preparation and its individual components has drawn on official and authoritative sources as well as independent review by the Chemwatch Classification committee using available literature references.

A list of reference resources used to assist the committee may be found at:
www.chemwatch.net/references.

■ The (M)SDS is a Hazard Communication tool and should be used to assist in the Risk Assessment. Many factors determine whether the reported Hazards are Risks in the workplace or other settings. Risks may be determined by reference to Exposures Scenarios. Scale of use, frequency of use and current or available engineering controls must be considered.

This document is copyright. Apart from any fair dealing for the purposes of private study, research, review or criticism, as permitted under the Copyright Act, no part may be reproduced by any process without written permission from CHEMWATCH. TEL (+61 3) 9572 4700.

Issue Date: Feb-17-2009

Print Date: Mar-22-2011

Anexo II

*Técnicas para Análisis y Control de
Calidad*

Técnica T-01 - N° 370 Farmacopea Argentina “Ensayos de Esterilidad”

Ensayo empleado para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados o preparados asépticamente. Durante el desarrollo del ensayo, el área de trabajo no debe estar expuesta a la luz ultravioleta directa ni sometida a otros agentes esterilizantes.

La ausencia de contaminación microbiana, evidenciada por este procedimiento, confirma que el producto cumple con los requisitos del ensayo aunque el mismo no es suficiente para suponer esterilidad de la totalidad del lote ensayado, dadas las limitaciones inherentes a la estadística del muestreo. La condición de estéril se asegura a través de la validación del proceso de esterilización o del procesamiento aséptico.

Procedimiento

El ensayo debe realizarse en condiciones asépticas bajo un flujo laminar, cuya velocidad de aire homogénea sea aproximadamente $0.45 \text{ m/s} \pm 20\%$ en posición de trabajo, en un área de calidad no inferior a la empleada en la fabricación. Puede realizarse de dos maneras: por transferencia directa de la muestra al medio o mediante el método de filtración por membrana. A menos que se especifique otro método, emplear el método de filtración por membrana.

Incubar la mezcla de ensayo no menos de 14 días con medio Tioglicolato o caldo Tioglicolato alternativo a una temperatura entre 30 y 35 °C, y con caldo Digerido de Caseína-Soja a una temperatura comprendida entre 20 y 25°C.

Soluciones acuosas

Emplear muestras iguales al 10% del volumen y no menores a 20 ml. Transferir una pequeña porción del diluyente para humedecer la membrana. Luego transferir el contenido de la muestra a la unidad filtrante, efectuar una dilución previa, si fuera necesario, y filtrar. Salvo que el producto no tenga propiedades antimicrobianas, lavar la membrana con diluyente, al menos 3 veces con no menos de 100 ml cada vez y no más de 5 lavados de 200 ml cada uno. Transferir la membrana completa o cortarla en dos partes iguales y transferir a los medios adecuados. En caso de sistemas cerrados transferir los medios a las unidades filtrantes. Incubar los medios durante no menos de 14 días.

Jeringas precargadas

Emplear una muestra de 20 unidades. Si las jeringas tienen agujas acopladas, vaciar el líquido a través de la misma en la unidad filtrante o en la solución diluyente. Si la jeringa tiene aguja aparte para acoplar, vaciar directamente el líquido en la unidad filtrante o en la solución

diluyente. Proceder según se indica en *Soluciones acuosas*. En este último caso evaluar la esterilidad de la aguja por separado según el procedimiento de *Transferencia directa*.

Resultados

A intervalos, durante y al final del periodo de incubación, examinar los medios de cultivo en busca de evidencia macroscópica de crecimiento microbiano. Si no hay tal evidencia, la muestra cumple con el ensayo de esterilidad. Si en cambio hay evidencia de desarrollo microbiano, la muestra no cumple con el ensayo, a menos que pueda demostrarse claramente que el ensayo es inválido y que la causa de la contaminación no está relacionada con el producto.

Técnica T-02 - N° 475 Farmacopea Argentina “Esterilización”

Indicadores biológicos

Son preparaciones normalizadas de microorganismos seleccionados que se utilizan para valorar la eficacia de los procedimientos de esterilización. Habitualmente se presentan bajo la forma de una población de esporas bacterianas dispuestas sobre un soporte inerte o portador (disco o tira de papel de filtro, vidrio o plástico). Pueden emplearse también indicadores biológicos con más de una especie de bacteria sobre el mismo soporte. El portador inoculado se encuentra dentro de un empaque o envase primario que lo protege de cualquier deterioro o contaminación, pero que permite el pasaje del agente esterilizante.

La elección del organismo indicador para el método de esterilización se realiza de acuerdo a los siguientes requisitos:

- Resistencia elevada de la cepa de ensayo al método de esterilización previsto, en comparación a la resistencia de todos los microorganismos patógenos y de los que pueden producir contaminación del producto.
- La cepa de ensayo no debe ser patógena.
- La cepa de ensayo debe poder cultivarse con facilidad.

Se recomienda que se coloquen los indicadores biológicos en los lugares menos accesibles al agente esterilizante y bajo las mismas condiciones de empaque que el material a procesar.

Después de la incubación, la existencia de crecimiento de los microorganismos de referencia que han sido sometidos al proceso de esterilización demuestra que dicho procedimiento ha sido ineficiente.

Para esterilización por vapor se recomienda el uso de las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor

de 1×10^5 y el tiempo de mantención a 121°C superior a 1.5 minutos. Se debe verificar que luego de la exposición de los indicadores al calor húmedo a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 6 minutos queden esporas capaces de germinar y que no haya crecimiento del microorganismo de referencia después que los indicadores biológicos hayan sido expuestos al agente esterilizante durante 15 minutos.

Técnica T-03 - Método 2.2.1 Farmacopea Europea “Medición de concentración celular”

Se mide la densidad óptica de una muestra con un espectrofotómetro a 660 nm. De ser necesario, realizar la dilución de la muestra. La correlación entre la absorbancia medida y el peso seco de células (PSC, en g/L) es:

$$PSC = 75.44 \times abs + 1.85 \quad [14.1]$$

Técnica T-04 – N° 1472 Farmacopea Europea “Método carbazol” – Contenido de HA

Determinación del contenido de ácido glucurónico mediante reacción con carbazol. Todos los reactivos son de grado analítico, y el agua empleada es desionizada.

Materiales y reactivos:

Reactivo A. Disolver 0.95 g de tetraborato disódico en 100.0 ml de ácido sulfúrico.

Reactivo B. Disolver 0.125 g de carbazol en 100.0 ml de etanol anhidro.

Solución de prueba. Preparar esta solución por triplicado. Disolver 0.170 g de la sustancia a examinar en agua y diluir hasta 100.0 g con el mismo solvente. Diluir 10.0 g de esta solución en 200.0 g de agua.

Solución patrón de referencia. Disolver 0.100 g de ácido d-glucurónico, previamente secado al vacío hasta masa constante sobre pentóxido de difósforo, en agua y diluir hasta 100.0 g con el mismo solvente.

Soluciones de referencia. Preparar 5 diluciones del patrón de referencia con un contenido de ácido d-glucurónico entre 6.5 y 65 $\mu\text{g/g}$.

Equipo. Espectrofotómetro UV-Visible

Preparación de muestras

Muestras de proceso de HA lineal

Se incuba la muestra con un volumen igual de solución al 0.1% p/v de dodecil sulfato de sodio durante 10 minutos para liberar el HA capsular y separar las células. Los restos celulares se

remueven por centrifugación a 12000xg por 15 minutos, y el sobrenadante se diluye dos o tres veces con agua, dependiendo de la concentración de HA. Se precipita el HA presente en la solución resultante mediante el agregado de 4 volúmenes de etanol. El precipitado se recupera por centrifugación a 560xg por 10 minutos, y se redisuelve en agua para realizar en análisis. El sobrenadante se emplea para determinar la sacarosa residual.

Muestras de proceso de HA entrecruzado

Diluir la muestra con ácido sulfúrico 2 N y calentar en un horno durante 1 hora a 95°C. Enfriar a temperatura ambiente y diluir con agua desionizada hasta una concentración final entre 10 y 75 µg/ml de HA.

Procedimiento

Colocar 25 tubos de ensayo, numerados desde 1 hasta 25, en agua helada. Agregar 1.0 ml de las 5 soluciones de referencia por triplicado en los tubos de ensayo 1 a 15 (tubos de referencia), 1.0 ml de las tres soluciones de prueba por triplicado en los tubos de ensayo 16 a 24 (tubos de muestra), y 1.0 ml de agua en el tubo de ensayo 25 (blanco). Agregar a cada tubo de ensayo 5.0 ml de reactivo A preparado recientemente y enfriado en agua helada. Cerrar herméticamente los tubos de ensayo con tapas plásticas, agitar el contenido, y colocar en un baño de agua a 95°C durante exactamente 15 minutos. Enfriar en agua helada, y agregar en cada tubo de ensayo 0.20 ml de reactivo B. Tapar los tubos, agitar y colocar nuevamente en el baño de agua a 95°C durante exactamente 15 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y medir la absorbancia de las soluciones a 530 nm, contra el blanco.

Para la curva de calibración obtenida con las absorbancias medias leídas para cada solución de referencia, determinar la concentración media de ácido d-glucurónico en las soluciones de prueba.

Resultados

El contenido porcentual de hialuronato de sodio se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\frac{c_g}{c_s} \times Z \times \frac{100}{100 - h} \times \frac{401.3}{194.1} \quad [14.2]$$

Dónde:

c_g : concentración media de ácido d-glucurónico en las soluciones de prueba (mg/g)

c_s : concentración media de la sustancia a examinar en las soluciones de prueba (mg/g)

Z: contenido porcentual de C₆H₁₀O₇ determinado en el ácido d-glucurónico.

h: porcentaje de pérdidas por secado.

401.3: masa molecular relativa del fragmento de disacárido.

194.1: masa molecular relativa del ácido glucurónico.

Técnica T-05 - N° 109 Farmacopea Argentina “Medición de la viscosidad”

Materiales y Reactivos

Solución de muestra. Filtrar 100.0 g de la muestra a examinar pasándola a través de un filtro de vidrio sinterizado. Descartar los primeros 10 ml.

Equipo. Viscosímetro de nivel suspendido (Ubbelohde). Constante del viscosímetro: 0.005 mm²/s², viscosidad cinemática entre 1-5 mm²/s, diámetro interno del tubo (R) 0.53 mm, volumen del bulbo (C) 5.6 ml, diámetro interno del tubo (N) 2.8-3.2 mm.

Procedimiento

Determinar el tiempo de flujo para la solución de muestra a 25.00 ± 0.03 °C. Emplear un viscosímetro de nivel suspendido apropiado con el extremo capilar inferior en forma de embudo. Emplear el mismo viscosímetro en todas las mediciones, medir los tiempos de flujo de salida al menos por triplicado.

El tiempo de flujo es el tiempo requerido para que el nivel de líquido fluya de una marca a la otra, medido con un cronómetro con una precisión de 1/5 de segundo. El resultado es válido solo si dos mediciones consecutivas no difieren en más de 1%. El promedio de todas las mediciones realizadas es el tiempo de flujo del líquido analizado.

Resultados

Calcular la viscosidad dinámica en mPa.s (cp) empleando la siguiente fórmula:

$$\eta = k\rho t \quad [14.3]$$

Dónde:

k: constante del viscosímetro (mm²/s²)

ρ: densidad del líquido examinado obtenida como múltiplo de su densidad relativa por 0.9982 (mg/mm³)

t: tiempo de flujo del líquido examinado (s)

Técnica T-06 - Método 2.2.30 Farmacopea Europea “Determinación del peso molecular de polímeros por cromatografía de exclusión molecular”

El peso molecular del HA se determina por mediante cromatografía de exclusión molecular, técnica que separa moléculas en solución de acuerdo a su tamaño. Como la fase móvil es una solución acuosa, también se conoce como cromatografía de filtración en gel. La muestra se introduce a una columna rellena con un gel, y es arrastrada por la fase móvil a través de la misma. La separación por tamaño ocurre por intercambios repetidos de las moléculas de soluto entre el solvente de la fase móvil y el mismo solvente en la fase líquida estancada (fase estacionaria) dentro de los poros del material de relleno. El rango de tamaño de poro del material de relleno determina el rango de tamaño molecular dentro del cual ocurre la separación.

Las moléculas suficientemente pequeñas para penetrar en todos los espacios porosos eluyen en el volumen total de permeado. Por otro lado, las moléculas aparentemente mayores que el tamaño de poro máximo del material de relleno migran a lo largo de la columna solo a través de los espacios entre las partículas del relleno sin ser retenidas y eluidas en el volumen de exclusión (volumen de huecos). La separación según el tamaño molecular ocurre entre el volumen de exclusión y el volumen total de permeado, mientras que la separación útil ocurre generalmente en los primeros dos tercios de este rango.

Equipo. Columna cromatográfica de 300 mm x 7.8 mm rellena con Ultrahidrogel (gel de polieter hidroxilado para cromatografía). Se emplea un detector de índice de refracción.

Curva de calibración

Se emplean como dextransos como sustancias de referencia para realizar la curva estándar de peso molecular.

Solución marcadora. Disolver 5 mg de glucosa y 2 mg de dextrano V_0 en 1 ml de fase móvil.

Soluciones de calibración. Disolver de manera separada en 1 ml de fase móvil 15 mg de dextrano 3 para calibración (PM: 2.5 kDa), 15 mg de dextrano 10 para calibración (PM: 10 kDa), 20 mg de dextrano 70 para calibración (PM: 70 kDa), 20 mg de dextrano 190 para calibración (PM: 188 kDa), 20 mg de dextrano 580 para calibración (PM: 580 kDa) y 20 mg de dextrano 2000 para calibración (PM: 2000 kDa).

Solución de aptitud del sistema. Disolver 20 mg de dextrano 40 para pruebas de desempeño o 20 mg de dextrano 60/70 para pruebas de desempeño en 1 ml de la fase móvil.

Realizar inyecciones replicadas de volúmenes iguales a los de la muestra con la solución marcadora. El cromatograma muestra 2 picos, el primero corresponde a dextrano V_0 y el

segundo a dextrosa. A partir del volumen de elución del pico correspondiente a dextrano V_o , calcular el volumen de exclusión (V_o), y a partir del pico correspondiente a dextrosa, calcular el volumen total (V_t).

Inyectar el volumen seleccionado de cada una de las soluciones de calibración. Graficar cuidadosamente la línea base para cada uno de los cromatogramas. Dividir cada cromatograma en p (al menos 60) secciones verticales iguales (correspondientes a iguales volúmenes de elución). En cada sección i , correspondiente a un volumen de elución V_i medir la altura del cromatograma sobre la línea base y calcular el coeficiente de distribución K_i , empleando la siguiente expresión:

$$K_i = \frac{V_i - V_o}{V_t - V_o} \quad [14.4]$$

Gráfica de la curva

Para cada una de las soluciones de dextransos de calibración calcular el coeficiente de distribución $K_{máx}$ correspondiente a la máxima altura de la línea cromatográfica, empleando la expresión anterior. Graficar empleando papel semilogarítmico los valores de $K_{máx}$ en el eje x , contra el peso molecular declarado a la máxima altura de la línea cromatográfica ($M_{máx}$) para cada uno de los dextransos y la glucosa. Graficar una primera curva de calibración a través de los puntos obtenidos. Empleando esta primera curva, transformar, para cada cromatograma, todos los valores de K_i en la correspondiente masa molecular M_i , obteniendo así la distribución de masa molecular. Calcular para cada dextrano la masa molecular promedio (M_w) empleando la siguiente ecuación:

$$\overline{M_w} = \frac{\sum_{i=1}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^p (y_i)} \quad [14.5]$$

Donde p es el número de secciones en que se dividen los cromatogramas, y_i es la altura de la línea cromatográfica sobre la línea base de la sección i , y M_i es la masa molar en la sección i .

Si los valores de M_w calculados no difieren en más del 5% de aquellos declarados para cada dextrano de calibración y la diferencia en la media se encuentra dentro del $\pm 3\%$, se aprueba la curva de calibración. Si esto no ocurre, mover la curva de calibración a lo largo del eje y y repetir el procedimiento hasta que los valores calculados y declarados de M_w no difieran en más del 5%.

Prueba de aptitud

Inyectar un volumen de solución de aptitud del sistema. Calcular la masa molecular promedio como se explicó anteriormente, empleando la curva de calibración. La prueba es válida solo si M_w :

-41000 a 47000 para solución de dextrano 40

-67000 a 75000 para solución de dextrano 60/70

Preparación de la muestra

Preparar la solución de HA como se detalla en la técnica T-04. Disolver 0.200 g de muestra en la fase móvil y diluir hasta 10 ml con la misma. Filtrar dicha solución con un filtro de 0.2 μm previamente a la inyección dentro de la columna cromatográfica.

Procedimiento

Emplear como fase móvil una solución de NaNO_3 0.1 M a una velocidad de flujo de 0.9 ml/min. La temperatura de la columna se mantiene a 45 ± 0.1 °C. Calcular M_w para toda la distribución de masa molecular.

Técnica T-07 - Determinación de carbohidratos totales por espectrofotometría UV – Método de Fenol-Ácido Sulfúrico.

La concentración total de carbohidratos se basa en el método Fenol-Ácido sulfúrico en el cual los polisacáridos son hidrolizados y convertidos en furfural o hidroxifurfural. Estos compuestos reaccionan con el fenol para producir complejos coloreados los cuales pueden detectarse espectrofotométricamente a una longitud de onda de 490 nm.

Materiales y reactivos

Solución acuosa de fenol al 5% p/v, ácido sulfúrico concentrado (98% p/v).

Solución de prueba. Si la muestra es un tejido o células, diluir con agua ultrapura y homogeneizar, luego centrifugar a 13000xg durante 5 minutos para remover el material insoluble.

Solución patrón de referencia. d-glucosa 2 g/l

Soluciones de referencia. Preparar 5 diluciones del patrón de referencia con un contenido de glucosa entre 0.13 y 0.67 mg/ml.

Equipo. Espectrofotómetro UV-Visible

Procedimiento

Colocar 19 tubos de prueba, numerados desde 1 hasta 19. Agregar 2.0 ml de las 5 soluciones de referencia por triplicado en los tubos de prueba 1 a 15, 2.0 ml de la solución de prueba por triplicado en los tubos 16 a 18, y 2.0 ml de agua ultrapura en el tubo de prueba 19 (blanco). Agregar a cada tubo 1.0 ml de solución de fenol, y mezclar bien. Añadir 5.0 ml de ácido sulfúrico concentrado y dejar en reposo por 10 minutos. Agitar la muestra durante 30

segundos y llevar a baño de agua a temperatura ambiente durante 20 minutos para el desarrollo del color. Medir la absorbancia de las soluciones a 490 nm, contra el blanco.

Para la curva de calibración obtenida con las absorbancias medias leídas para cada solución de referencia, determinar la concentración media de carbohidratos totales en las soluciones de prueba. La curva de calibración debe realizarse cada vez que se efectúa el ensayo.

Resultados

$$\frac{S_a}{S_v} = C \quad [14.6]$$

Dónde:

S_a : Cantidad de carbohidratos en la muestra desconocida obtenida a partir de la curva de calibración (mg o μ g)

S_v : Volumen de muestra empleado en el ensayo (ml o μ l)

C: concentración de carbohidratos en la muestra

Técnica T-08 - Método 2.5.33 N°2 Farmacopea Europea “Determinación de proteínas totales”

Materiales y reactivos

Solución de prueba (a). Disolver la sustancia a examinar en agua desionizada para obtener una solución con una cantidad equivalente a aproximadamente 10 mg de sustancia seca por ml.

Solución de prueba (b). Mezclar volúmenes iguales de la solución de prueba (a) y agua desionizada.

Soluciones de referencia. Preparar una solución patrón de concentración 0.5 mg/ml disolviendo albúmina bovina en agua desionizada. Realizar 5 diluciones de esta solución patrón con concentraciones comprendidas entre 5 μ g/ml y 50 μ g/ml de albumina.

Solución cupri-tartárica. Preparar una solución 1.0% p/v de sulfato de cobre y 2.0 %p/v de tartrato de sodio. A 1.0 ml de solución agregar 50 ml de solución de carbonato de sodio 10.6% p/v. Preparar inmediatamente antes de su uso.

Reactivo Folin-Ciocalteu para fenoles. En un Erlenmeyer de 1500 ml, introducir 100 g de tungstato de sodio, 25 g de molibdato de sodio, 700 ml de agua, 50 ml de ácido fosfórico y 100 ml de ácido clorhídrico. Calentar a reflujo la mezcla suavemente durante aproximadamente 10 horas y agregar 150 g de sulfato de litio, 50 ml de agua y unas pocas gotas de bromo. Calentar a ebullición la mezcla, sin refrigerante, durante aproximadamente 15 minutos o hasta expulsar el exceso de bromo. Enfriar, diluir con agua a 1 litro y filtrar: el filtrado no tiene tinte verdoso. Antes de usar, diluir una parte del filtrado con 1 parte de agua. Almacenar entre 2-8°C.

Equipo. Espectrofotómetro UV-Visible.

Procedimiento

Agregar 2.5 ml de solución cupri-tartárica fresca en tubos de ensayo conteniendo 2.5 ml de agua desionizada (blanco), 2.5 ml de soluciones de prueba (a) o (b) o 2.5 ml de alguna solución de referencia. Mezclar luego de cada adición. Luego de aproximadamente 10 minutos, agregar a cada tubo de ensayo 0.50 ml de reactivo Folin-Ciocalteu. Mezclar luego de cada adición. Luego de 30 minutos, medir la absorbancia de cada solución a 750 nm contra el blanco. A partir de la curva de calibración obtenida de las 5 soluciones de referencia determinar el contenido de proteína de las soluciones de prueba.

Técnica T-09 - N° 330 Farmacopea Argentina “Ensayo de endotoxinas bacterianas”

El ensayo de endotoxinas bacterianas se aplica a la determinación o cuantificación de endotoxinas provenientes de las bacterias Gram negativas, empleando como reactivo, lisados de amebocitos circulantes del cangrejo herradura de *Limulus polyphemus* (ensayo LAL), de *Tachypleus tridentatus*, etc. Cuando se enfrenta el reactivo a soluciones que contienen endotoxinas produce gelificación. La reacción requiere la presencia de cationes bivalentes. La velocidad de la reacción depende de la concentración de endotoxina, del pH y de la temperatura. El lisado contiene un sistema enzimático que actúa en cascada y que se activa progresivamente en presencia de endotoxinas.

Como resultado final, la proteína coagulable (coagulígeno) se transforma en un gel (coagulina), siendo la base del método de gel en tubo.

Se han desarrollado otros métodos basados en los cambios turbidimétricos que ocurren durante la formación del gel y métodos cromogénicos, basados en el desarrollo de color luego del clivaje de un péptido sintético que contiene un cromóforo. Estos métodos permiten estimaciones cuantitativas del contenido de endotoxina, mientras que el método de gel en tubo se emplea como ensayo límite y también como método semicuantitativo.

Los métodos cuantitativos podrán emplearse si satisfacen los requisitos para métodos alternativos pero, en caso de discrepancias, el resultado obtenido con el método de gel en tubo es el definitorio.

Los métodos descritos en este capítulo son:

- a) Gel en tubo: ensayo límite y semicuantitativo;
- b) Cromogénico de punto final;

- c) Cinético cromogénico;
- d) Cinético turbidimétrico.

A continuación solo se explica el método del gel en tubo. El resto de los métodos mencionados se detallan en el Volumen N° 4 de Farmacopea Argentina.

El ensayo debe realizarse en condiciones tales de evitar la contaminación microbiana. Antes de llevarlo a cabo es necesario verificar:

- 1) Que todos los materiales y reactivos a usar no contengan endotoxinas bacterianas.
- 2) La sensibilidad del lisado (λ), de acuerdo a los requisitos posteriormente descritos en cada método.
- 3) La ausencia de factores interferentes en las muestras a analizar. Los resultados son válidos siempre que se haya demostrado previamente que las muestras a analizar no inhiban ni intensifiquen la reacción.

Materiales y reactivos

Es necesaria la aplicación de tratamientos controlados para la eliminación de endotoxinas.

Para el material de vidrio, el método más empleado es el calentamiento a 250 °C por lo menos durante 30 minutos o 180 °C durante 3 horas. Si se emplean materiales plásticos de único uso (microplacas, puntas para pipetas automáticas, etc.) es necesario verificar que los mismos estén libres de endotoxinas y que no interfieran con el ensayo.

- Agua reactivo: El agua empleada en este ensayo debe estar libre de endotoxinas. Puede ser preparada por destilación doble o triple y debe ser recolectada en envases convenientemente despirogenados. Es necesario efectuar el control de calidad de la misma, que debe cumplir con las condiciones del ensayo.
- Reactivo LAL (Lisado de Amebocitos): Reconstituir el lisado según se indica en el rótulo y/o prospecto. La sensibilidad del lisado (λ), establecida en el rótulo y que debe ser confirmada, se expresa en Unidades de Endotoxina por ml (UE/ml).
- Otras soluciones: El ácido clorhídrico 0,1 N y el hidróxido de sodio 0,1 N, empleados para ajustar el pH entre 6,0 y 8,0, deben prepararse con Agua reactivo.
- Endotoxina de referencia y Endotoxina control: Existe una Endotoxina de referencia internacional. Se designa a la unidad de endotoxina como unidad internacional, siendo la relación 1 UI = 1 UE (Unidad de endotoxina). La Endotoxina controles una preparación de endotoxina distinta de la Endotoxina de referencia, que se ha calibrado contra esta última. Las endotoxinas deben ser reconstituidas con Agua reactivo, mediante agitación con mezclador por vórtice, de acuerdo a las indicaciones de los

rótulos y certificados de calibración. Estos concentrados se pueden conservar en heladera el tiempo especificado por el elaborador. Para la preparación de soluciones de endotoxinas, agitar vigorosamente con mezclador por vórtice los concentrados de endotoxinas durante no menos de 5 minutos y preparar diluciones seriadas en Agua reactivo con tiempos de agitación que pueden variar entre 30 segundos y 1 minuto. No se deben almacenar las diluciones porque pueden perder actividad por adsorción al vidrio.

Métodos

MÉTODO DE GEL EN TUBO

El método de gel en tubo permite establecer la presencia de endotoxinas bacterianas empleándose como ensayo límite o como determinación semicuantitativa; el punto final es la constitución de un gel firme. La determinación del punto final de la reacción se hace mediante comparación directa con una Endotoxina control o de referencia; y las cantidades de endotoxina se expresan en las unidades de endotoxinas definidas. El pH de la mezcla a ensayar y del Reactivo LAL debe estar comprendido entre 6,0 y 8,0, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El pH puede ajustarse, antes del ensayo, por el agregado de hidróxido de sodio 0,1 N, ácido clorhídrico 0,1 N o soluciones reguladoras apropiadas estériles y libres de endotoxinas.

La determinación de endotoxinas sobre dispositivos médicos debe realizarse sobre extractos, eluatos o soluciones de lavado según la naturaleza del dispositivo.

Antes de llevar a cabo la determinación, se deben realizar los ensayos de confirmación de sensibilidad del lisado y de inhibición o intensificación.

Cálculo del contenido de endotoxina: Calcular la concentración de endotoxinas en el producto a ensayar, por la fórmula siguiente:

$$\frac{\lambda}{\text{anti log} \left(\sum \frac{d}{f} \right)} \quad [14.7]$$

En la cual d es el logaritmo de los factores dilución del producto (expresados como fracciones), en el punto final para la muestra ensayada. Los resultados finales deben ser expresados en las unidades de límite de endotoxina especificadas (UE/ml o UE/mg o UE/UI).

Ensayo para la confirmación de la sensibilidad del lisado: La sensibilidad del lisado se define como la menor concentración de endotoxinas que puede formar un gel firme en las condiciones del ensayo. Se debe confirmar la sensibilidad indicada en el rótulo del Reactivo LAL de cada lote, empleando Endotoxina control de referencia.

Preparar una serie de diluciones de Endotoxina control de referencia con concentraciones de 2λ ; 1λ ; $0,5\lambda$ y $0,25\lambda$, por cuadruplicado; siendo λ , la sensibilidad declarada en el rótulo del Reactivo LAL en UE/ml. Incluir controles negativos. La media geométrica en el punto final (ver Cálculos) debe ser mayor o igual a $0,5\lambda$, y menor o igual a 2λ .

Cálculo de la media geométrica: El punto final es la última dilución positiva en una serie de concentraciones decrecientes de endotoxina. Registrar la concentración en cada punto final, para cada serie de diluciones. Determinar el logaritmo de la concentración del punto final (e) y calcular la media geométrica de la concentración del punto final por la fórmula siguiente:

$$\text{anti log} \left(\frac{\sum e/f}{f} \right) \quad [14.8]$$

En la cual $\sum e$ es la suma de los logaritmos de las concentraciones finales de la serie de diluciones y f es el número de tubos de reacción en el punto final.

Máxima dilución válida (MDV): La máxima dilución válida es la dilución máxima de la muestra que corresponde a la máxima dilución en la cual el límite de endotoxina puede ser determinado en las condiciones del ensayo.

Se aplica a soluciones inyectables o a soluciones de administración parenteral reconstituidas o diluidas para su administración o, cuando sea aplicable, a la droga en peso si el volumen de administración de la forma farmacéutica pudiera ser variable.

El cálculo se realiza empleando la fórmula siguiente:

$$MDV = L_E \times \frac{C}{\lambda} \quad [14.9]$$

En la cual L_E representa el límite de endotoxina y C la concentración del principio activo en la solución a ensayar o reconstituido, que según las especificaciones del elaborador puede estar dada en:

- mg por ml, si el límite de endotoxina especificado en la monografía es en UE/mg.
- UI/ml, si el límite de endotoxina especificado en la monografía es en UE/UI.

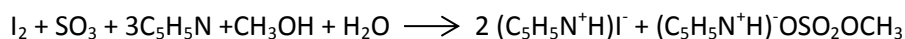
Cuando en la monografía, el límite de endotoxina especificado es en UE/ml, se debe dividir el límite de endotoxina por λ (la sensibilidad del lisado, en UE/ml, declarada en el rótulo).

Técnica T-10 - Nº 120 Farmacopea Argentina “Determinación de agua por el método Karl Fischer”

Los métodos utilizados para la determinación de agua se basan en la reacción de Karl Fischer y en la destilación azeotrópica con tolueno. A menos que se especifique de otro modo se emplea el método de titulación volumétrica directa por el método de Karl Fischer.

Método de Karl Fischer

La determinación de agua por dicho método se basa en la reacción cuantitativa entre el agua y un reactivo constituido por dióxido de azufre y yodo en presencia de metanol y una base orgánica como la piridina, según la siguiente ecuación:



Existen dos métodos diferentes basados en la reacción con el yodo: uno es la titulación volumétrica y el otro es un método de titulación coulombimétrica. En el primero, el yodo se disuelve en el reactivo y el contenido de agua es determinado midiendo la cantidad de yodo consumido como resultado de la reacción con el agua. En el otro, el yodo es producido por la electrólisis de un reactivo de Karl Fischer que contiene al ion yoduro y el contenido de agua en la muestra se determina midiendo la cantidad de electricidad que se requiere para la producción de yodo durante la titulación. A continuación se detalla el método de la titulación volumétrica ya que es el más utilizado. Para más información del otro método ver el libro de Farmacopea- volumen 1.

Titulación volumétrica directa

Materiales y reactivos

Buretas automáticas, un frasco de titulación, un agitador y un equipo para titulaciones amperométricas a voltaje constante o titulaciones potenciométricas a corriente constante. Desecantes (como por ej: cloruro de calcio anhidro o gel de sílice), reactivo de Karl Fischer comercial o preparado (para este último caso, ver los reactivos necesario correspondiente descriptos en cada método), metanol, tartrato de sodio,

Reactivo de Karl Fischer: Puede emplearse reactivos comerciales o prepararse por cualquiera de los métodos indicados a continuación. Cabe aclarar que el cloroformo y el metanol empleados para la preparación del reactivo deben tener un contenido de agua inferior a 0,1 mg por ml. El metilcellosolve y el éter monometílico dietilenglicol deben tener un contenido de agua inferior a 0,3 mg por ml.

- a) Método 1: Disolver 63 g de yodo en 100 ml de piridina, con un contenido de agua inferior a 1 mg por ml, enfriar la solución en baño de hielo y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de esta solución hasta que el aumento de peso sea de 32 g. Llevar a 500 ml agregando cloroformo o metanol y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.
- b) Método 2: Disolver 102 g de imidazol, con un contenido de agua inferior a 0,1 %, en 350 ml de metilcellosolve o éter monometílico dietilenglicol, enfriar la solución en

baño de hielo y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de esta solución hasta que el aumento de peso sea de 64 g, manteniendo la temperatura entre 25 y 30 °C. Disolver 50 g de iodo en esta solución y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.

- c) Método 3: Hacer pasar dióxido de azufre a través de 150 ml de metilcellosolve hasta que el aumento de peso sea de 32 g. A esta solución, previamente enfriada en un baño de hielo, agregar 250 ml de metilcellosolve o cloroformo que contiene 81 g de 2-metilaminopiridina, con un contenido de agua inferior a 1 mg por ml. Disolver 36 g de iodo en esta solución y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.

El reactivo de Karl Fischer, preparado por cualquiera de estos métodos, debe estandarizarse antes de cada uso, porque su actividad para la determinación de agua cambia con el tiempo.

Almacenar el reactivo en un sitio frío, protegido de la luz y la humedad.

Estandarización del reactivo de Karl Fisher: Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Luego agregar rápidamente 30 mg de agua, exactamente pesados, a la solución en el frasco y titular el agua con el reactivo de Karl Fischer, con agitación enérgica, hasta alcanzar el punto final. Calcular el factor de equivalencia (f) correspondiente a la cantidad de agua, en mg por ml de reactivo, por la fórmula siguiente:

$$f = \frac{P}{V} \quad [14.10]$$

En la cual P es la cantidad de agua tomada (mg), y V es el volumen de reactivo de Karl Fischer (ml) consumido para la titulación del agua.

Para la determinación de cantidades de agua menores a 1 %, el reactivo puede estandarizarse con tartrato de sodio según se indica a continuación. Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Agregar rápidamente 150 a 350 mg de tartrato de sodio ($C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$) exactamente pesados, y titular hasta alcanzar el punto final. Calcular el factor de equivalencia (f) correspondiente a la cantidad de agua, en mg por ml de reactivo, por la fórmula siguiente:

$$f = 2 \times \left(\frac{18.02}{230.08} \right) \times \left(\frac{P}{V} \right) \quad [14.11]$$

En la cual 18,02 y 230,08 son los pesos moleculares del agua y del tartrato de sodio dihidratado, respectivamente, P es el peso (mg) del tartrato de sodio dihidratado y V es el volumen (ml) de reactivo consumido para la titulación del agua.

Procedimiento

En general, la titulación de agua con reactivo de Karl Fischer debería llevarse a cabo a la misma temperatura que se hizo la estandarización y evitando la humedad atmosférica.

Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta el punto final. Tomar una cantidad de muestra, exactamente pesada, que contenga entre 5 y 30 mg de agua, transferirla rápidamente al frasco de titulación, disolver agitando y titular la solución, con agitación enérgica, hasta alcanzar el punto final.

Si la muestra es insoluble, reducir a polvo fino rápidamente, pesar exactamente una cantidad apropiada de la muestra con un contenido de agua estimado entre 5 y 30 mg y transferirla rápidamente al frasco de titulación. Agitar la mezcla entre 5 y 30 minutos, protegiendo de la humedad, y titular con agitación enérgica. Aunque el procedimiento de titulación debería llevarse a cabo bajo condiciones de baja humedad, si el efecto de la humedad atmosférica no puede evitarse, como por ej., si se requiere un tiempo largo de extracción y titulación, debe realizarse una titulación con un blanco, bajo las mismas condiciones empleadas para la muestra, y hacer las correcciones necesarias.

Resultado

El aparato se equipa con un resistor variable en el circuito y este resistor se manipula para mantener un voltaje constante entre los dos electrodos de platino sumergidos en la solución a ser titulada, midiéndose la variación de intensidad de corriente (titulación amperométrica a voltaje constante). Durante la titulación, la intensidad de corriente en el circuito varía notablemente, pero vuelve al valor original en pocos segundos. Al final de la titulación, la corriente permanece fija en un valor durante un tiempo generalmente mayor a 30 segundos. Este estado se designa como el punto final de la titulación. Adicionalmente, el reactivo de Karl Fischer proporciona un indicador visual del punto final, dado el color característico que produce el exceso de iodo en la solución que se está titulando.

De otra manera, la manipulación del resistor sirve para pasar una corriente definida entre los dos electrodos de platino, midiéndose la variación de potencial (titulaciones potenciométricas a intensidad constante). Con el progreso de la titulación, el valor indicado por el potenciómetro disminuye repentinamente desde un estado de polarización de varios centenares de mV al estado de no polarización, pero vuelve al valor original en pocos segundos. Al final de la titulación, el estado de no polarización persiste por un tiempo generalmente mayor de 30 segundos. Este estado se designa como el punto final de la titulación.

Calcular el porcentaje de agua presente en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$\%_{H_2O} = \left(\frac{V \times f}{P} \right) \times 100 \quad [14.12]$$

En la cual V es el volumen de reactivo de Karl Fischer (ml) consumido para la titulación, f es el factor del reactivo de Karl Fischer (mg de agua por ml de reactivo), y P es la cantidad de muestra (mg) pesada para la determinación.

Técnica T-11 – N° 250 Farmacopea Argentina “Determinación del pH”

El pH es un índice numérico que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de una solución. La determinación del pH se realiza empleando un medidor del pH, calibrado y capaz de reproducir valores de pH con variaciones menores a 0.02 unidades de pH, empleando un electrodo indicador sensible a la actividad del ion hidrógeno, como el electrodo de vidrio, y un electrodo de referencia apropiado, como por ej., calomel o plata-cloruro de plata. La determinación del pH se realiza mediante la medición de la diferencia de potencial entre el par de electrodos.

Soluciones buffer de referencia

Todas las soluciones a examinar y los buffer de referencia deben prepararse empleando agua libre de dióxido de carbono.

Las soluciones buffer deben almacenarse en envases químicamente resistentes, de cierre perfecto, y emplearse dentro de los 3 meses de preparadas.

- *Tetraoxalato de potasio 0.05 M (pH 1.68 a 20°C):* disolver 12.61 g de $KH_3(C_2O_4) \cdot 2H_2O$ en agua hasta obtener 1 litro.
- *Biftalato de potasio 0.05 M (pH 4.00 a 20°C):* Disolver 10.21 g de $KHC_8H_4O_4$, previamente secado a 110°C durante 1 hora, en agua hasta obtener 1 litro.
- *Fosfato equimolar 0.05 M (pH 6.88 a 20°C):* Disolver 3.53 g de Na_2HPO_4 y 3.39 g de KH_2PO_4 , previamente secados a 120°C durante 2 horas, en agua hasta obtener 1 litro.
- *Tetraborato de sodio 0.01 M (pH 9.23 a 20°C):* Disolver 3.80 g de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ en agua hasta obtener 1 litro. Proteger de la absorción de dióxido de carbono.

Procedimiento

Las mediciones se hacen a 25 ± 2 °C, a menos que se especifique de otro modo para una sustancia en particular. Es recomendable emplear un medidor de pH que incluya corrección por temperatura. El medidor se calibra con una solución buffer de biftalato de potasio y otra solución buffer a diferente pH. Se mide el pH de una tercera solución buffer a un pH

intermedio entre las dos anteriores, y la lectura obtenida no debe diferir en más de 0.05 unidades de pH del valor correspondiente a dicha solución. Sumergir los electrodos en la solución a examinar y registrar la lectura en las mismas condiciones que para las soluciones buffer.

Si el equipo se emplea frecuentemente, los controles deben realizarse periódicamente. Si no, la calibración debe realizarse antes de realizar cada medición.

Muestra líquida: Efectuar la medición luego de calibrar el equipo sumergiendo los electrodos en la misma. De ser necesario emplear agua libre de dióxido de carbono para diluir la muestra.

Muestra sólida: Disolver la sustancia a examinar en agua libre de dióxido de carbono hasta obtener una solución con una cantidad equivalente a 5 mg de sustancia seca por mililitro.

Técnica T-12 – N° 90 Farmacopea Argentina “Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles – Recuento de microorganismos aerobios totales”

Cuando sea posible su aplicación, el método de elección es el de Recuento en placa. En caso contrario se podrán utilizar los métodos por filtración o en tubos múltiples (número más probable - NMP). Estos dos últimos métodos no se encuentran de explicados, para más información consultar el libro de Farmacopea Argentina - Volumen 4.

Materiales y reactivos

Para dicho análisis se requieren diluyente, Agar Digerido de Caseína-Soja, Placas de Petri estériles (2 por método), Incubadora (30-35 °C).

Preparación de la muestra: Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en el diluyente para obtener una dilución 1:10 o la resultante de la Validez. Las diluciones así preparadas no deben dejarse más de 1 hora antes de completar el ensayo.

Siembra en profundidad

Transferir 1 ml de la dilución final a cada una de dos placas de Petri estériles. Agregar inmediatamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Digerido de Caseína-Soja previamente fundido y enfriado a 45 °C. Tapar las placas de Petri, homogeneizar la muestra con el agar por rotación de las placas y dejar solidificar a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas en términos del número de unidades formadoras de colonias por g (UFC/g) o por ml de muestra (UFC/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como

menor a la inversa del valor de la dilución utilizada, por ejemplo para la dilución 1:10 se expresa como menor a 10 UFC/g o ml de muestra. Tener en cuenta que el resultado se debe expresar en función de la dilución y el volumen sembrado.

Siembra en superficie

Sembrar en superficie no más de 0,1 ml de la dilución final sobre al menos dos placas con Agar Digerido de Caseína-Soja previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas como el número de unidades formadoras de colonias por g (UFC/g) o por ml de muestra (UFC/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada y el volumen sembrado.

Resultado

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas de Agar Digerido de Caseína-Soja incluidos hongos filamentosos y levaduras.

Técnica T-13 – N° 90 Farmacopea Argentina “Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles – Ensayo para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*”

1. Pseudomonas aeruginosa

Materiales y reactivos

Agar Centrimida, placas de Petri, incubadora (30 -35 °C).

Método

Cultivar sobre una placa con Agar Cetrimida. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias generalmente verdosas identificarlas para descartar *Pseudomonas aeruginosa*.

Resultado

La muestra cumple con el ensayo para *Pseudomonas aeruginosa* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

2. *Staphylococcus aureus*

Materiales y reactivos

Agar Manitol-Salado, placas de Petri, incubadora (30 – 35 °C)

Método

Cultivar sobre una placa con Agar Manitol-Salado. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias típicas amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla, identificarlas para descartar *Staphylococcus aureus*.

Resultado

La muestra cumple con el ensayo para *Staphylococcus aureus* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Técnica T-14 – Norma ISO 4831 “Coliformes totales y fecales”

Los coliformes totales y fecales están representados por cuatro géneros de la familia Enterobacteriaceae: Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, y Klebsiella.

Materiales y reactivos

Agar biliado cristal violeta lactosa, diluyente (agua peptona), placas de Petri, estufa (30°C)

Preparación de la muestra: Para muestras solidas se debe preparar una disolución madre con una relación sólido/diluyente de 1:9 que corresponde a una dilución 10^{-1} . Luego realizar el resto de las diluciones según corresponda.

Método de recuento en placa

Se basa en la siembra en profundidad con el medio agar biliado cristal violeta lactosa, en una placa de Petri, con una cantidad determinada de la muestra si es líquida, o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de otros productos. Se recubre la placa con una segunda capa del mismo medio. En las mismas condiciones, siembra de diluciones decimales obtenidas a partir de la muestra o de la suspensión madre. Incubación de las placas a 30° C durante 24 horas.

Resultado: Recuento del número de coliformes por mililitro o por gramo de muestra, a partir del número de colonias características obtenidas en las placas de Petri.

Método normalizado ISO 4831 (NMP)

Se realiza la siembra de tres tubos de medio de enriquecimiento selectivo de doble concentración con una cantidad determinada de la muestra si es líquida, o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de otros productos. A continuación, se siembran tres tubos de medio de enriquecimiento selectivo de concentración simple con una cantidad determinada de la muestra si es líquida, o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de otros productos. Después y en las mismas condiciones, se siembran tres tubos con medio de enriquecimiento selectivo de concentración simple con una cantidad determinada de la primera dilución decimal obtenida a partir de la muestra problema o de la suspensión madre. Los tubos se incuban a 30, 35 ó 37° C durante 24 horas para los de doble concentración, y 24 – 48 horas los de concentración simple. A partir de cada tubo incubado que presenta desprendimiento de gas en la campana se inocula con asa un tubo con medio de confirmación (BGBL). La reacción es positiva cuando se produce desprendimiento de gas recogido en la campana de Duirham, como consecuencia de la fermentación de la lactosa en presencia de sales biliares. Se realizan las lecturas a las 24 - 48 horas. A partir del número de tubos positivos confirmados se calcula el número más probable de coliformes por mililitro o por gramo de muestra de ensayo.

Técnica T-15 – N° 1472 Farmacopea Europea “Hialuronato de Sodio - Ácidos nucleicos”

Pesar una cantidad de la sustancia a analizar equivalente a 0.10 g de sustancia seca y agregar 30.0 ml de solución de cloruro de sodio con una concentración de 9 g/L. Mezclar suavemente en un agitador hasta su completa disolución (aproximadamente 12 horas).

Medir la absorbancia de dicha solución a 260 nm.

Técnica T-16 – N° 560 Farmacopea Argentina “Límite de cloruro y sulfato”

Materiales y reactivos

Cloruro de sodio, agua destilada, nitrato de plata, cloruro de bario, ácido nítrico, tubos Nessler, papel de filtro, turbidímetro.

Solución estándar de cloruro: Disolver 165,0 mg de cloruro de sodio seco en agua para obtener 1 litro de solución. Esta solución contiene el equivalente de 0,10 mg de cloro (Cl) en cada ml.

Determinación del límite de cloruros: Preparar la Solución muestra y la Solución estándar de cloruro empleando tubos de Nessler. Emplear cantidades iguales de los reactivos, tanto para la Solución muestra como para la Solución de comparación. Si después de la acidificación, la

solución no está perfectamente límpida, filtrarla a través de un papel de filtro libre de cloruro y sulfato. Según corresponda, agregar el precipitante, nitrato de plata (SR) o cloruro de bario (SR) a la Solución muestra y a la Solución de comparación.

Cuando en la monografía correspondiente se especifique la realización de este ensayo sobre un volumen específico de Solución muestra y el límite para cloruro o sulfato corresponda a 0,20 ml o menos de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico 0,020 N respectivamente, realizar el ensayo sobre la solución sin diluir. En tales casos mantener la misma relación de volumen para la Solución de comparación y la Solución muestra. Cuando se realiza el ensayo sobre sales de metales pesados, que presentan normalmente una reacción ácida, omitir la acidificación y no neutralizar la solución. En el caso de las sales de bismuto, disolverlas en la menor cantidad de agua y 2 ml de ácido nítrico antes del tratamiento con el agente precipitante.

Procedimiento

Disolver la cantidad especificada de la sustancia en ensayo en 30 a 40 ml de agua o, si la muestra está en solución, agregar agua hasta obtener un volumen total entre 30 y 40 ml y, si fuera necesario, neutralizarla solución con ácido nítrico empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de nitrato de plata (SR) y cantidad suficiente de agua para obtener 50 ml. Mezclar, dejar en reposo durante 5 minutos protegido de la luz solar directa y comparar la turbidez con la producida en una solución que contiene el volumen de ácido clorhídrico 0,020 N especificado en la monografía correspondiente.

Resultado

Cuando se indique una comparación visual de color o de turbidez, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro, con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente. Para mayor exactitud se puede medir la turbidez con un nefelómetro o turbidímetro, el cual mide la intensidad de la luz dispersada a 90 grados cuando un rayo de luz pasa a través de una muestra. En este último caso los resultados se expresan en Unidades Nefelométricas de turbidez, o *Nephelometric Turbidity Unit* (NTU).

Técnica T-17 – N° 786 Farmacopea estadounidense “Estimación de la distribución del tamaño de partícula por tamizado analítico”

El tamizado mecánico es el método recomendado si la mayoría de las partículas superan los 75 μm aproximadamente. En términos farmacéuticos, este es el método de preferencia para

clasificar polvos o gránulos sin mezclas más gruesos. Es especialmente atractivo ya que tanto los polvos como los gránulos se clasifican solamente en función del tamaño de partícula y en la mayoría de los casos el análisis se puede efectuar con el material seco.

El método está destinado a estimar la distribución del tamaño de partícula total de un material sin mezclar. Se debe tamizar en condiciones tales que no generen ni pérdida ni aumento del contenido de humedad de la muestra. Controlar la humedad relativa del ambiente del lugar donde se efectúa el tamizado de forma de impedir que la muestra absorba o pierda humedad.

Equipo. Tamices analíticos que cumplan con la norma ISO 3310-1, de acero inoxidable, con aberturas nominales 250, 200, 125, 100 y 50 μm . Emplear un método de agitación mecánica o electromagnética.

Muestra de prueba

Ácido hialurónico. Emplear una muestra de 5 g, y realizar el análisis en un ambiente con humedad controlada.

Carbón activado. Emplear una muestra de 25 g, y agregar 0.5 % de un agente antiestático, como dióxido de silicio coloidal u óxido de aluminio.

Determinación del punto final

El tamizado analítico se da por concluido cuando el peso de cualquiera de los tamices no presenta variaciones de más de 5 % del peso previo obtenido en ese mismo tamiz. Si en uno de los tamices se encuentra más del 50% del peso total de la muestra, repetir la prueba agregando a ese conjunto de tamices un tamiz de orificios más grandes, de tamaño intermedio entre el tamaño del tamiz que contiene el exceso de peso y el siguiente tamiz en el orden del grupo original, es decir, agregando el tamiz de la serie ISO omitido en el conjunto.

Procedimiento: Método de Tamizado en Seco

Tarar cada tamiz con una aproximación de 0.1 g. Colocar una cantidad de la muestra de prueba pesada con exactitud en el tamiz superior y tapar. Agitar mecánicamente el conjunto de tamices durante 5 minutos. A continuación desmontar cuidadosamente cada tamiz del conjunto de tamices sin que haya pérdida de material. Volver a pesar cada tamiz y determinar el peso del material en cada uno de ellos. Determina el peso del material utilizando una bandeja recolectora u otro adminículo similar para recolectar el material. Volver a montar el conjunto de tamices y agitar durante 5 minutos. Desmontar y pesar cada uno de los tamices como se describió anteriormente. Repetir los pasos hasta obtener los resultados del punto

final. Una vez completado el análisis, conciliar los pesos del material. Las pérdidas totales no exceden de 5 % del peso de la muestra original.

Repetir el análisis con una muestra nueva, pero usando un solo tiempo de tamizado igual a la sumatoria de los tiempos mencionados anteriormente. Confirma que este tiempo de tamizado cumple con los requisitos de la determinación del punto final. Una vez validado el punto final para un material específico, ese tiempo único de tamizado fijado se puede usar en los próximos análisis, siempre y cuando la distribución de tamaño de partícula este comprendida dentro de los límites de la variación normal.

Resultados

Los datos sin procesar deben incluir el peso de la muestra en análisis, el tiempo total de tamizado y la descripción precisa de la metodología de tamizado empleada así como los valores fijados para todo parámetro variable, además de los pesos del material retenido en cada tamiz individual y del peso en la bandeja. En algunos casos se recomienda convertir estos datos en una distribución acumulativa del peso y, si se desea expresar la distribución en términos del peso acumulado de partículas de tamaño inferior al esperado, el intervalo de tamices empleados debe incluir un tamiz por cuyos orificios pasa todo el material. Si se observan indicios de que el material retenido en los tamices está compuesto por agregados formados durante el proceso de tamizado, el análisis no es válido.

La clasificación de la finura de polvos se efectúa determinando la abertura más pequeña de tamiz a través de la cual pasa una cantidad determinada del material en estudio. Los resultados se informan de la siguiente manera:

d_{90} = la abertura más pequeña de tamiz a través de la cual pasa una cantidad igual o superior al 90% del material.

d_{50} = la abertura más pequeña de tamiz a través de la cual pasa una cantidad igual o superior al 50% del material.

d_{10} = la abertura más pequeña de tamiz a través de la cual pasa una cantidad igual o superior al 10% del material.

Procedimiento: Prueba de conteo de partículas por obstrucción de luz

Se emplea un sistema electrónico que cuenta partículas suspendidas en un líquido mediante un sensor de obstrucción de luz con un dispositivo apropiado para la toma de muestras. El equipo se normaliza y calibra de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

El número de muestras de prueba debe ser suficiente para que la evaluación sea estadísticamente válida para afirmar que el lote entero de producción cumple o excede los límites. Si el volumen del envase es menor a 25 ml, se lleva a cabo la prueba con una solución combinada de 10 o más unidades.

Procedimiento

En un recipiente limpio, abrir y combinar el contenido de 10 o más unidades para obtener un volumen no menor de 20 ml. Desgasificar la solución combinada por ultrasonido durante aproximadamente 30 segundos o dejando la solución en reposo hasta que no tenga burbujas de aire. Mezclar el contenido en forma manual o por medios mecánicos, teniendo cuidado de no introducir burbujas de aire ni contaminación. La prueba debe realizarse en un ambiente controlado. Extraer no menos de tres alícuotas, cada una de un volumen no menor a 5 ml y colocarlas en el sensor del sistema de conteo por obstrucción de luz. Descartar los datos de la primera alícuota.

Resultados

Promediar los conteos de las dos o más alícuotas analizadas. Calcular el número de partículas en cada envase por la fórmula:

$$\frac{N^{\circ} \text{partículas}}{\text{envase}} = \frac{PV_t}{V_a n} \quad [14.13]$$

Donde P es el conteo de partículas promedio obtenido a partir de las porciones analizadas; V_t es el volumen de la muestra combinada, en ml; V_a es el volumen en ml de cada porción analizada; y n es el número de envases combinados.

Técnica T-18 – Ensayo para determinar el porcentaje de modificación

Numerosas publicaciones han reportado que el HA obtenido de fuentes naturales produce oligosacáridos con residuos insaturados de glucuronil en el terminal no reducido cuando se trata con enzima hialuronidasa derivada de *Streptomyces*. La digestión completa de HA sin modificar resulta en solo dos productos finales: el tetrasacárido y el hexasacárido.

Se ha encontrado que los octasacáridos, ya sean saturados o insaturados, son los sustratos de mínimo tamaño para la digestión con la enzima. El estudio del transcurso del tiempo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para monitorear la degradación del HA sin modificar con esta enzima específica muestra la separación de los oligómeros en tetrasacáridos hasta oligómeros de 20 unidades.

Este ensayo en particular mide el grado en el cual las unidades de HA en un gel han sido modificadas por un agente entrecruzante, por ejemplo, DVS.

Calibración

Se genera un cromatograma de HPLC para una muestra proveniente de una digestión incompleta de HA sin modificar, para calibrar los tiempos de elución correspondientes a los picos cromatográficos resultantes de la misma. El tiempo de retención del pico correspondiente al octasacárido en el cromatograma provee el tiempo de referencia para medir los fragmentos digeridos de HA-DVS-HA entrecruzados.

Preparación de la muestra: La muestra de gel se diluye con acetato de sodio 100 mM, solución buffer de pH 5.0 hasta una concentración final de 0.4% para asegurar las condiciones óptimas de digestión. El gel modificado se somete a un tratamiento de digestión con la enzima hialuronidasa, el cual consiste en incubarlo durante 72 horas a 37°C.

Detalle del ensayo

Enzima. Streptomyces hialuronidasa.

Equipo. Columna de intercambio aniónico de 4 x 250 mm CarboPac PA100 LC. Esta columna es sensible a cargas y tamaños. Permite la separación entre tetrámeros, hexámeros, octámeros, decámeros y hasta oligómeros de 16 unidades. Además, la generación de enlaces dobles insaturados permite la detección UV a 232 nm.

Procedimiento. Emplear como fase móvil solución de fosfato de sodio 0.4 M a una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. Emplear un volumen de inyección de 50 µl.

Resultado

La interpretación se basa en la suposición de que cualquier pico eluido luego del octámero es resultado de un fragmento entrecruzado. En otras palabras, al finalizar la digestión, la enzima produce dos oligosacáridos a partir del sustrato natural: un tetrasacárido y un hexasacárido con un enlace doble insaturado en el terminal no reducido. Por lo tanto, cualquier fragmento digerido eluido luego del tiempo de elución del octámero corresponde a un fragmento con ocho unidades de sacárido o más, indicando la presencia de al menos una modificación por entrecruzamiento en el fragmento.

Todos los picos eluidos luego del octámero se designan como picos correspondientes a fragmentos entrecruzados, y el porcentaje del área de los picos combinada se designa como el % de modificación por entrecruzamiento. Cualquier pico eluido luego del correspondiente al tetrámero y antes del correspondiente al hexámero se designa como tetrámero “extra”, y se

presume que indica HA con grupos pendientes (donde el agente entrecruzante reacciona solo con un terminal del HA, pero no lo hace con el otro terminal). Del mismo modo, cualquier pico eluído entre los correspondientes al hexámero y al octámero se designa hexámero “extra”, y también corresponde a HA con grupos pendientes. El área combinada de los picos correspondientes al tetrámero extra y al hexámero extra provee el % de modificación por pendientes.

Debido a que el área integrada de los picos es proporcional a la concentración de fragmentos, el porcentaje de modificación relativo de cada tipo (pendiente o entrecruzado) se determina en base a la relación entre el porcentaje de área de los picos correspondientes a cada tipo de modificación, sobre el área total de todos los picos en el cromatograma. El % de modificación total es la suma del % de pendientes y el % de entrecruzado.

Técnica T-19 – Determinación de la relación de hinchamiento

La determinación de la relación de hinchamiento a diferencia de las demás determinaciones no requiere de la toma de muestra durante el proceso. Su valor se expresa en ml de gel producido por gramo de HA lineal y se obtiene de forma directa mediante la relación entre el volumen del gel obtenido luego de la filtración y la cantidad de HA en polvo utilizada en la etapa de entrecruzamiento. Dicho volumen se obtiene a través de la lectura del caudalímetro a la salida del filtro.

Este parámetro se calcula y se registra para tener un control del volumen total de gel producido. También sirve como una forma de corroborar la correcta reacción de entrecruzamiento, ya que a diferentes niveles de entrecruzamiento se producen diferentes relaciones de hinchamiento.

Técnica T-20 – Determinación de los diferentes tipos de agua presentes en el gel de HA entrecruzado hidratado por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Calorimetría por barrido diferencial (Differential Scanning Calorimetry, DSC) es una técnica que puede emplearse para demostrar los fenómenos energéticos producidos durante el calentamiento o enfriamiento de una sustancia o mezcla de sustancias, y para determinar los cambios de entalpia y calor específico, y las temperaturas a las cuales ocurren.

La técnica se emplea para determinar la diferencia del flujo de calor relativa o absorbida por la muestra de prueba comparada con la muestra de referencia, como función de la temperatura.

En este caso se emplea para diferenciar los tres tipos de agua de hidratación presentes en el gel entrecruzado. Tipo I: agua libre congelable ($T_{\text{congelación}} = 0^{\circ}\text{C}$); Tipo II: agua congelable débilmente enlazada ($T_{\text{congelación}} < 0^{\circ}\text{C}$); Tipo III: agua enlazada no congelable.

Equipo. Se emplea un calorímetro diferencial, un horno que contiene el soporte para muestras con la celda de referencia y la celda de prueba. Cuenta con un dispositivo para programar la temperatura, un detector térmico y un sistema de registro conectado a una computadora. Las mediciones se realizan en atmósfera controlada.

Calibración

El equipo se calibra para cambios de temperatura y entalpia, empleando indio de alta pureza, de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Procedimiento

Se pesa una cantidad adecuada de muestra de prueba y se coloca en el soporte correspondiente. Se configuran las temperaturas inicial y final, y la velocidad de variación de la temperatura.

Comenzar el análisis y registrar la curva de análisis térmico diferencial, con la temperatura o el tiempo en la abscisa y el cambio de energía en la ordenada (especificar si el cambio es endotérmico o exotérmico).

La temperatura a la cual el fenómeno ocurre (temperatura de inicio) corresponde a la intersección de la extensión de la línea base con la tangente en el punto de mayor pendiente (punto de inflexión) de la curva. El final de un fenómeno térmico se indica con un pico en la curva.

La entalpia del fenómeno es proporcional al área bajo la curva limitada por la línea base; el factor de proporcionalidad es determinado a partir de la medida del calor de fusión de una sustancia conocida (referencia) bajo las mismas condiciones de operación.

En cada termograma debe especificarse la siguiente información: condiciones empleadas, registro de la última calibración, tamaño de muestra e identificación, contenedor, atmósfera, dirección y velocidad del cambio de temperatura, instrumental y sensibilidad de la medición.

El ensayo para el gel de HA se realiza en un rango de temperaturas entre -50 y 20°C , con una velocidad de barrido de $2.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Determinación de la pureza

La fusión de una sustancia pura totalmente cristalina a presión constante está caracterizada por el calor de fusión en un rango estrecho, correspondiente al punto de fusión. La ampliación

de dicho rango es un indicador de impurezas en la sustancia. Por lo tanto, muestras de la misma sustancia cuyo contenido de impurezas es variable produce diagramas térmicos visualmente diferentes.

La determinación de la pureza molar por DSC se basa en el uso de una aproximación matemática de la forma integrada de la ecuación de Van't Hoff aplicada a las concentraciones en un sistema binario:

$$T = T_o - \frac{RT_o^2}{\Delta H_f} \times x_2 \quad [14.14]$$

Dónde:

x_2 : fracción molar de la impureza

T_o : punto de fusión de la sustancia pura

ΔH_f : Calor molar de fusión de la sustancia pura

R: Constante de los gases ideales

Durante el calentamiento de la sustancia de muestra, la impureza se funde completamente a la temperatura de la mezcla eutéctica. Por encima de esta temperatura, la fase sólida contiene solo la sustancia pura. A medida que la temperatura se incrementa progresivamente desde la temperatura del eutéctico hasta el punto de fusión de la sustancia pura, la fracción molar de la impureza disminuye constantemente, ya que la cantidad de la sustancia pura licuada se incrementa constantemente. Para todas las temperaturas por encima del punto eutéctico:

$$x_2 = \frac{1}{F} \times x_2^* \quad [14.15]$$

Donde F es la fracción fundida de la muestra analizada, y x_2^* la fracción molar de la impureza en la muestra.

Cuando toda la muestra se encuentra fundida, $F = 1$ y $x_2 = x_2^*$.

Combinando las ecuaciones anteriores:

$$T = T_o - \frac{x_2^* RT_o^2}{\Delta H_f} \times \frac{1}{F} \quad [14.16]$$

El valor del calor de fusión se obtiene integrando el pico de fusión. El punto de fusión de la sustancia pura es extrapolado a partir de la gráfica de $1/F$ vs temperatura. Se evalúa x_2^* , y este valor multiplicado por 100 resulta en la fracción molar del total de impurezas.

En el caso del gel hidratado, el HA se considera como una impureza, y el agua libre congelable (Tipo I y II) se determina mediante el procedimiento. Conociendo la cantidad total de agua absorbida, por diferencia se calcula el agua tipo III presente en la muestra. Los resultados se expresan en g H₂O/g HA.

Técnica T-21 – Determinación de las propiedades reológicas

La caracterización reológica se realiza utilizando un reómetro de tensión controlada automatizado a 25°C, utilizando un sistema de medición de placas paralelas, cono y placa o cilindro y taza. El módulo elástico (G'), el módulo viscoso (G'') y el ángulo de fase (δ) se determinan mediante una prueba de barrido de frecuencia. El valor G' es medido a una frecuencia de 5 Hz. (Los valores de G' permiten determinar la firmeza del gel).

Técnica T-22 – Determinación de la relación gel/lineal

Se determina por cromatografía de exclusión por tamaño con dispersor de luz láser de multi ángulo. La detección del índice de refracción proporciona directamente el peso molecular y la concentración del polímero soluble en la muestra. Las muestras de relleno dérmico se diluyen con buffer fosfato, se agita y centrifuga para separar el gel de la fase sobrenadante. El sobrenadante es filtrado en un filtro con tamaño de poro de 0.45 μm y luego es inyectado dentro del cromatógrafo para determinar el PM y la concentración de HA en solución. La relación de gel/fluido se calcula usando la ecuación:

$$\frac{Gel}{Lineal} = \frac{[HA_T] - [HA_{sol}]}{[HA_{sol}]} \quad [14.17]$$

Donde $[HA_T]$ es la concentración total de HA en el gel hidratado y $[HA_{sol}]$ es la concentración de HA en el sobrenadante (soluble).

Técnica T-24 – Nº 590 Farmacopea Argentina “Determinación del límite de metales pesados”

Este ensayo se emplea para establecer que el contenido de impurezas metálicas que reaccionan con el ión sulfuro, bajo las condiciones especificadas, no excede el Límite de metales pesados especificado en la monografía correspondiente, expresado como porcentaje (en peso) de plomo en la sustancia en ensayo, determinado mediante comparación visual con un control preparado a partir de una Solución estándar de plomo.

Los cationes que generalmente responden a este ensayo son: plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno.

Comúnmente se emplean tres métodos: El *Método I*, se emplea para sustancias que dan soluciones límpidas en las condiciones específicas del ensayo. El *Método II*, se emplea para sustancias que no dan soluciones límpidas o incoloras en las condiciones del ensayo especificadas para el *Método I* o para sustancias que, por su naturaleza, dificultan la precipitación de metales por el ión sulfuro o para aceites fijos y volátiles.. El *Método III* es un método de digestión por vía húmeda, que se emplea sólo en aquellos casos donde ninguno de los otros dos métodos puede emplearse. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*. A continuación solo se detalla el método I, por lo que para más información sobre los métodos II y III ver el libro de Farmacopea-Volumen 1.

METODO I:

Materiales y Reactivos

Nitrato de plomo, agua destilada, ácido nítrico, acetato de amonio, ácido clorhídrico, hidróxido de amonio, , ácido acético, tioacetamida, hidróxido de sodio, glicerina, envases de vidrio, tubos de Nessler y papeles indicadores de pH.

Solución madre de nitrato de plomo: Disolver 159,8 mg de nitrato de plomo en 100 ml de agua a la cual se le ha agregado 1 ml de ácido nítrico y diluir a 1 litro con agua. Preparar y almacenar esta solución en envases de vidrio exentos de sales de plomo solubles.

Solución estándar de plomo: En el día del ensayo, diluir 10,0 ml de Solución madre de nitrato de plomo a 100,0 ml con agua. Cada ml de Solución estándar de plomo contiene el equivalente a 10 µg de plomo. Una solución de comparación preparada sobre la base de 100 µl de Solución estándar de plomo por g de muestra contiene el equivalente a 1 ppm de plomo.

Solución reguladora de acetato pH 3,5: Disolver 50 g de acetato de amonio en 100 ml de ácido clorhídrico 6 N, ajustar a pH 3,5, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 6 N o ácido clorhídrico 6 N y diluir con agua a 200 ml.

Solución estándar: Transferir 2 ml de Solución estándar de plomo (20 µg de Pb) a un tubo de Nessler de 50 ml y diluir con agua a 25 ml. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra: Transferir 25 ml de la solución preparada para el ensayo según se indica en la monografía correspondiente a un tubo de Nessler de 50 ml. Alternativamente, cuando se trate de muestras en polvo, emplear el volumen de ácido indicado, disolver la cantidad en g de muestra, calculada por la fórmula siguiente:

$$Muestra = \frac{2}{1000 \times L} \quad [14.18]$$

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo II – Técnicas para Análisis y Control de Calidad



En la cual *L* es el Límite de metales pesados, en porcentaje. Diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Solución control: Transferir 25 ml de una solución preparada según se indica para la Solución Muestra a un tercer tubo de Nessler de 50 ml y agregar 2,0 ml de Solución estándar de plomo. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Solución de Tioacetamida-glicerina básica (SR): Mezclar 0,2 ml de tioacetamida (SR) y 1 ml de glicerina básica (SR) y calentar en un baño de agua a ebullición durante 20 segundos. Emplear la mezcla inmediatamente. La tioacetamida (SR) se obtiene disolviendo 4 g de tioacetamida en 100 ml de agua, mientras que la glicerina básica (SR) se obtiene al agregar agua a 200 g de glicerina para obtener un peso total de 235 g. A continuación agregar 142,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 47,5 ml de agua.

Procedimiento del método I

A cada uno de los tubos que contienen la Solución estándar, la Solución muestra y la Solución control, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de Solución reguladora de acetato de pH 3,5, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos

Resultado

La comparación visual del color o de turbidez, deberá realizarse en tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco. El color de la solución obtenida a partir de la Solución muestra no debe ser más oscuro que el de la obtenida a partir de la Solución estándar y la intensidad del color de la Solución control debe ser igual o mayor que la de la Solución estándar. En caso de que el color de la Solución control sea más claro que el de la Solución estándar, se debe emplear el Método II.

Técnica T-25 – N° 90 Farmacopea Argentina “Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles – “Ensayo para Salmonella”

Materiales y reactivos

Caldo Digerido de Caseína-Soja, Caldo Rappaport-Vassiliadis, Agar Xilosa Lisina Desoxicolato, Placas de Petri, estufa (30-35°C).

Procedimiento

Transferir 0,1 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja a 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de Salmonella e incubar a 30-35 °C durante un 18 a 24 horas. Subcultivar en placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato e incubar a 30-35 °C durante un período de 18 a 48 horas.

Si se observa la presencia de colonias bien desarrolladas color rojo, con o sin centro negro, identificarlas para descartar Salmonella.

Resultado

La muestra cumple con el ensayo para Salmonella si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Técnica T-26 – N° 90 Farmacopea Argentina “Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles “Recuento total de hongos y levaduras”

Materiales y Reactivo

Diluyente, Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa, Placas de Petri, estufa (20-25°C), balanza, pipetas de 10,1 y 0.1 ml.

Preparación de la muestra: Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en el diluyente para obtener una dilución 1:10 o la resultante de la Validez. Las diluciones así preparadas no deben dejarse más de 1 hora antes de completar el ensayo.

Siembra en profundidad

Transferir 1 ml de la dilución final a cada una de dos placas de Petri estériles. Agregar inmediatamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa. Incubar las placas sin invertir, a 20-25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo.

Siembra en superficie

Sembrar en superficie no más de 0,1 ml de la dilución final sobre al menos dos placas con Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa para cada nivel de dilución, previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Sembrar en superficie no más de 0,1 ml sobre cada placa. Incubar a 20- 25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo.

Resultado

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas, incluidas las bacterias. Es decir, se debe contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas (trabajar por duplicado) en términos del número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada, por ejemplo para la dilución 1:10 se expresa como menor a 10 ufc/g o ml de muestra. Tener en cuenta que el resultado se debe expresar en función de la dilución y el volumen sembrado.

Técnica T-27 – Nº 680 Farmacopea Argentina “Determinación de la pérdida por secado”

El procedimiento establecido en este ensayo se emplea para determinar la cantidad de materia volátil de cualquier naturaleza que se elimina bajo las condiciones especificadas.

Materiales y reactivos

Balanza, pesafiltro, estufa (cámara de secado), desecador.

Procedimiento

Homogeneizar y pesar exactamente la muestra y, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, llevar a cabo la determinación sobre 1 a 2 g de la misma. Pesar un pesafiltro previamente secado durante 30 minutos y colocar la muestra en el mismo. Distribuir la muestra lo más uniformemente posible, agitando suavemente el pesafiltro de modo que se forme una capa de 5 mm de espesor aproximadamente y no más de 10 mm en el caso de materiales voluminosos. Tapar y colocar el pesafiltro en la cámara de secado. Secar la muestra a la temperatura y durante el tiempo especificado en la monografía correspondiente.

La temperatura especificada se considerará dentro del intervalo de ± 2 °C del valor establecido. Una vez transcurrido el tiempo, abrir la cámara, tapar el pesafiltro rápidamente y llevarlo a temperatura ambiente en un desecador antes de pesar.

Para muestras que fundan a una temperatura inferior a la especificada para la determinación de Pérdida por secado, mantener el pesafiltro con su contenido durante 1 ó 2 horas a una temperatura 5 a 10 °C por debajo de la temperatura de fusión y luego secar a la temperatura especificada.

Resultado

El resultado se obtiene por la diferencia del peso antes y después del secado en estufa.

Técnica T-28 – Nº 270 Farmacopea Argentina “Determinación del residuo de ignición”

Materiales y reactivos

Crisol, mechero, desecador, campana extractora, mufla y ácido sulfúrico.

Método

Pesar exactamente entre 1 y 2 g de muestra o la cantidad especificada en la monografía correspondiente en un crisol apropiado, previamente sometido a ignición, enfriado y pesado.

Calentar con un mechero, suavemente al principio y luego con mayor intensidad, hasta que la muestra se carbonice totalmente, evitando proyecciones y enfriar. Humedecer el residuo con 1 ml de ácido sulfúrico, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Calentar suavemente hasta que no se desprendan más vapores blancos y someter a ignición a 800 ± 50 °C a menos que se especifique otra temperatura en la monografía correspondiente, hasta que el residuo carbonoso se consuma. Enfriar en un desecador, pesar y calcular el porcentaje del residuo. Si la cantidad de residuo obtenido es mayor al límite especificado, humedecer nuevamente el residuo con 1 ml de ácido sulfúrico, calentar y someter a ignición como se indicó anteriormente y nuevamente calcular el porcentaje del residuo.

Realizar la ignición bajo una campana extractora bien ventilada, pero protegida de las corrientes de aire y a la menor temperatura necesaria para lograr la combustión completa del residuo carbonoso. Puede emplearse una mufla, si se desea, y su uso se recomienda para la ignición final a 800 ± 50 °C. Comprobar la exactitud de la medición y el sistema de circuitos de la mufla mediante el control de la temperatura en diferentes puntos del horno. Colocar la

muestra en la posición más apropiada de acuerdo con las condiciones del método a aplicar. La variación de temperatura tolerada es de ± 25 °C para cada punto evaluado.

La calibración de la mufla debe llevarse a cabo mediante el empleo de un medidor de temperatura digital y una termocupla validada.

Resultado

Continuar la ignición hasta peso constante, rehumedeciendo con el ácido, calentando y sometiendo a ignición. Con el valor del peso constante calcular el porcentaje de residuo.

Técnica T-29 – Farmacopea Argentina (pág 518) “Determinación de proteínas coagulables”

Materiales y reactivos: Mechero, filtro de papel, vaso de precipitado y agua destilada.

Método: Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición.

Resultado: No se forma precipitado.

Técnica T-30 – Método 2.5.9 Farmacopea Europea “Determinación de Nitrógeno total por método Kjeldahl”

Materiales y Reactivos

Balanza analítica de cuatro cifras decimales; aparato de digestión: Unidad de digestión, tubos de digestión de 200 mL, elementos de calentamiento (375-385 °C), elemento salida de succión para el escape de los gases; aparato de destilación: unidad de destilación, elemento de absorción de gases, potenciómetro, electrodo selectivo a amoníaco; agitador magnético con barra recubierta de TFE. Agua ultra pura, ácido Sulfúrico concentrado (aproximadamente 98 %), hidróxido de Sodio, sulfato de Potasio, Sulfato de Cobre, Sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético dihidrato, Cloruro de Amonio.

Reactivo de digestión: Disolver 134 g de K₂SO₄ y 7,3 g de CuSO₄ en cerca de 800 mL de agua. Cuidadosamente agregar 134 mL de H₂SO₄ conc. Cuando se haya enfriado hasta temperatura ambiente, diluir la solución a 1 L con agua. Mezclar bien y mantener a una temperatura cercana a 20°C para prevenir la cristalización.

Solución de Hidróxido de sodio 32%: Disuelva 320 g de NaOH en aproximadamente 800 mL de agua, luego complete a 1L.

Solución absorbente, ácido Sulfúrico 0,02 M: Disuelva 1.1 mL de H₂SO₄ concentrado en aproximadamente 800 mL de agua y complete 1L

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo II – Técnicas para Análisis y Control de Calidad



Solución patrón de EDTA 1000 mg N/L: Disuelva 13,4286 g de sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético en aproximadamente 800 mL de agua y complete a 1L en un balón aforado.

Solución de NaOH/EDTA, 10 N: Disolver 400 g de NaOH, en 800 mL de agua; agregar 45,2 g de sal tetrasódica de ácido etilendiaminotetraacético dihidrato ($\text{Na}_4\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y agitar para disolver. Enfriar y diluir a 1000 mL con agua.

Solución estándar de amonio: Disolver en agua 3,819 g de NH_4Cl anhidro, secado a 100°C , a peso constante y diluir a 1000 mL (1,00 mL = 1,00 mg N = 1,22 mg NH_3).

Soluciones patrón de amonio: A partir de la solución estándar de NH_4Cl prepare los estándares de 100, 10.0 y 1.0 mg/L.

Método

El método se desarrolla en las siguientes etapas:

- Verificación del Medidor de Iones y del Electrodo: Es recomendable la verificación del sistema de medición para asegurar que esté funcionando adecuadamente. Para ello utilizar estándares no digeridos de NH_4Cl , para hacer una precalibración y leer a manera de prueba uno o dos estándares como muestras. Evaluar los resultados para continuar con el procedimiento de análisis.
- Digestión: agregar cuidadosamente 10 mL de reactivo de digestión al tubo que contiene 50 mL de la muestra o alícuota conveniente, completada a 50 con agua ultrapura. Ajustar cada unidad de calentamiento en el aparato de digestión y colocar los tubos accionando el equipo de evacuación disponible para remover los vapores ácidos. Aumentar el calentamiento gradualmente pero evitando que la ebullición sea muy fuerte y produzca salpicadura. Continuar la ebullición hasta que la solución se haga transparente y verde esmeralda y se observen copiosos vapores en todos los tubos, permita que haya digestión entre 10 y 15 min adicionales. La digestión se ha completado en el punto en el cual, se observa el ácido sulfúrico en reflujo en la parte más alta del tubo. En ese punto apagar la unidad y sacar el montaje, dejar enfriar y apagar la unidad de extracción.
- Destilación: Preparar el número de balones conveniente de 100 mL con 30 mL de H_2SO_4 0.02 M, colocar el balón en el soporte e introducir el tubo se salida del destilador cuidando que quede sumergido en la solución absorbente. Realizar un enjuague a las paredes del tubo con una pequeña porción de agua, colocar el tubo de digestión en el soporte del equipo. Verifique en la programación del equipo las

siguientes condiciones: 10 mL de agua, 15 mL de hidróxido de sodio al 32% y un tiempo de destilación de tres minutos.

- Medición final de amonio: transferir la muestra destilada a un erlenmeyer de 125 mL, añadir suficiente solución de NaOH 10 N (1 mL suele ser suficiente) para aumentar el pH por encima de 11, agitar de manera constante e introducir el electrodo selectivo de amoniaco. Permita que haya estabilidad en la lectura y registrar el resultado.

Resultado

La concentración de Nitrógeno Total es determinada directamente por el instrumento de medida, pero, es importante tener en cuenta el factor de dilución para realizar el cálculo respectivo. Debido al proceso de digestión sobre 50 mL de muestra y destilación a 100 mL, esta se encuentra afectada por un factor de dilución de dos. Si se realiza dilución adicional multiplicar los factores de dilución. El resultado final también se puede obtener mediante la valoración del nitrógeno amoniacal, el cual se realiza por medio de una volumetría ácido-base del ión borato formado, empleando ácido clorhídrico o sulfúrico y como indicador una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno. Los equivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoniaco destilados.

Técnica T-31 – Farmacopea Argentina (pág 830) Determinación de sustancias insolubles y materia orgánica para el NaOH

Materiales y reactivos: Vaso precipitado, NaOH y agua destilada.

Método: preparar una solución de hidróxido de sodio con una concentración del 5%.

Resultado: se debe observar una solución transparente e incolora o ligeramente coloreada. Debe estar libre de precipitado.

Técnica T-32 - Farmacopea Argentina (pág 830) Determinación de carbonato para el NaOH

Materiales y reactivos

Hidróxido de Sodio, agua libre de dióxido de carbono, fenolftaleína, naranja de metilo, ácido sulfúrico. Equipo para titulación (buretas, matraces, etc).

Método

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Hidróxido de Sodio, disolver en 40 ml de agua libre de dióxido de carbono y enfriar a temperatura ambiente. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV). Registrar el volumen de ácido consumido hasta la desaparición del

color rosado del indicador, agregar naranja de metilo (SR) y continuar la titulación hasta un color rosado persistente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias.

Correcciones con el blanco: Se realiza la titulación del blanco, en la cual el procedimiento indicado se repite en cada detalle excepto que la muestra se omite. En esto caso, el volumen real de titulante, equivalente a la sustancia analizada, es la diferencia entre el volumen consumido en la titulación del blanco y el consumido en la titulación de la muestra. El volumen corregido así obtenido se emplea para calcular la cantidad de muestra titulada.

Resultado

Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 40,00 mg de álcali total, calculado como NaOH y cada ml de ácido consumido en la titulación con naranja de metilo equivale a 106,0 mg de Na₂CO₃.

Técnica T-33 – Método 2.2.38 Farmacopea Europea “Conductividad en solución” (Sacarosa)

Materiales y reactivos

Agua libre de dióxido de carbono y sacarosa. Vasos de precipitado, matraces y un conductímetro.

Método

Disolver 31,3 g de sacarosa en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo disolvente. Medir la conductividad de la solución que contiene la muestra (C₁), mientras se agita suavemente con un agitador magnético, y la del agua utilizada para preparar la solución (C₂). Las lecturas deben ser estables dentro de 1 por ciento durante un período de 30 s.

Resultado

Calcular la conductividad (κ) de la solución de la sustancia a ser examinada desde la siguiente expresión:

$$\kappa = C_1 - 0.35C_2 \quad [14.19]$$

Técnica T-34 - Rotación óptica específica (Sacarosa)

Materiales y reactivos

Sacarosa, agua destilada y purificada, polarímetro.

Método

Preparación de la muestra: Disolver 26 g de sacarosa agua R y se diluir hasta 100ml con el mismo disolvente.

Determinar el cero del polarímetro y el ángulo de rotación de la luz polarizada a la longitud de onda de la línea D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$) a $20 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, salvo que se indique lo contrario en la monografía. Las mediciones pueden ser realizadas a otras temperaturas sólo cuando la monografía indique la corrección de temperatura que deben introducirse en la rotación óptica medida. Determinar el cero del aparato con el tubo cerrado; para líquidos se determina el cero con el tubo de vacío y en caso de muestras sólidas los tubos se llenan con el disolvente prescrito.

Resultado

Calcular la rotación óptica específica mediante las siguientes fórmulas:

Para líquidos puros:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times \rho_{20}} \quad [14.20]$$

Mientras que para sustancias en solución:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{1000 \times \alpha}{l \times c} \quad [14.21]$$

Donde c es la concentración de la solución (g/L); α es el ángulo de rotación ($^\circ$) leídos a $20 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$; l es la longitud del tubo del polarímetro (dm); y ρ_{20} es la densidad relativa (g/cm^3) leída a $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Técnica T-35 – Farmacopea Europea “Determinación de sulfitos”

Se determina el contenido de sulfitos por un método enzimático en función de las siguientes reacciones. El sulfito es oxidado por sulfito oxidasa a sulfato y peróxido de hidrógeno que a su vez se reduce por nicotinamida-adenina-dinucleótido-peroxidasa en presencia de nicotinamida dinucleótido reducida-adenina (NADH). La cantidad de NADH oxidada es proporcional a la cantidad de sulfito.

Materiales y reactivos

Kit para la determinación de sulfito, cubetas de 10 mm, y un espectrofotómetro.

Preparación de la muestra: Disolver 4 g de la sustancia a examinar en agua destilada recién preparada y diluir a 10,0 ml con el mismo disolvente.

Solución de referencia: Disolver 4 g de la sustancia a examinar en agua destilada recién preparada, añadir 0,5 ml de la solución patrón de sulfito (80 ppm SO₂) y diluir hasta 10,0 ml con agua destilada recién preparada.

Preparación del blanco: Agua destilada solución recién preparada.

Método

Por separado introducir 2,0 ml de la solución de muestra, la solución de referencia y el blanco en cubetas de 10 mm y añadir los reactivos como se describe en las instrucciones en el kit para la determinación de sulfito.

Resultado

Medir la absorbancia en el máximo de absorción a aproximadamente 340 nm antes y al final del tiempo de reacción y restar el valor obtenido con el blanco.

Técnica T-36 – Método 2.2.5 Farmacopea Europea “Determinación de la densidad relativa”

Materiales

Una botella densidad (sólidos o líquidos), una balanza hidrostática (sólidos), un hidrómetro (líquidos) o un medidor de densidad digital con un transductor oscilante (líquidos y gases).

Método

La densidad relativa ($d_{t_2}^{t_1}$) de una sustancia es la relación entre la masa de un volumen determinado de una sustancia a temperatura t_1 a la masa de un volumen igual de agua a la temperatura t_2 . A menos que se indique lo contrario se utiliza la densidad relativa y se mide con la precisión para el número de decimales prescritos en la monografía.

Cuando la determinación se realiza mediante el pesaje, la flotabilidad del aire se tiene en cuenta, lo que puede introducir un error de 1 unidad en la tercera cifra decimal. Cuando se utiliza un medidor de densidad, la flotabilidad del aire no tiene ninguna influencia.

Densímetro de transductor oscilante: El aparato consiste en:

- Un tubo en forma de U, por lo general de vidrio de borosilicato, que contiene el líquido a ser examinado;

- Un sistema de excitación magneto-eléctrico o piezo-eléctrico que hace que el tubo oscile a una frecuencia característica en función de la densidad del líquido a ser examinado;

- Un medio para medir el período de oscilación (T), que puede ser convertida por el aparato para dar una lectura directa de la densidad, o se utiliza para calcular la densidad usando las constantes A y B se describe a continuación. Siendo la frecuencia de resonancia (f) es una función de la constante elástica (c) y la masa (m) del sistema:

$$f^2 = \frac{1}{T^2} = \frac{c}{m} \times \frac{1}{4\pi^2} \quad [14.22]$$

$$T^2 = \left(\frac{M}{c} + \frac{\rho \times V}{c} \right) \times 4\pi^2 \quad [14.23]$$

Donde M es la masa del tubo, y V es el volumen interno del tubo.

$$A = \frac{c}{4\pi^2 \times V} \quad [14.24]$$

$$B = \frac{M}{V} \quad [14.25]$$

Reemplazando se obtiene la ecuación clásica para el transductor oscilante:

$$\rho = A \times T^2 - B \quad [14.26]$$

Las constantes A y B se determinan por el funcionamiento del instrumento con el tubo en forma de U lleno con 2 muestras diferentes de densidad conocida, por ejemplo, agua desgasificada y aire. Las mediciones de control se hacen a diario. Los resultados que se muestran para la medición de control con agua desgasificada no deben desviarse del valor de referencia ($\rho_{20} = 0,998203 \text{ g/cm}^3 \pm 0,0001$).

Técnica T-37 – Farmacopea Europea “Determinación de residuos de evaporación para IPA”

Materiales y reactivos: baño de agua, horno, balanza y desecador.

Método: Evaporar 100 g hasta la evaporación total en un baño de agua después de haber verificado que cumple con la prueba de peróxidos y seca en un horno a 100-105 ° C.

Resultado: pesar el residuo sólido formado y restarle el peso del recipiente contenedor vacío.

Técnica T-38 – Farmacopea Europea “Determinación de peróxidos”

Materiales y reactivos

Tubo de ensayo, tapón de vidrio esmerilado, solución de almidón y yoduro de potasio.

Método

En un tubo de ensayo de 12 ml con un tapón de vidrio esmerilado y un diámetro de aproximadamente 15 mm, introducir 8 ml de yoduro de potasio y solución de almidón R. Luego llenar completamente con la sustancia a ser examinada. Agitar vigorosamente y dejar reposar protegiéndolo de la luz durante 30 min.

Resultado

Se concluye la ausencia de peróxido si luego del tiempo determinado no aparece color en el tubo.

Técnica T-39 – Farmacopea Europea “Determinación de la conductividad para el agua pura, desionizada y libre de pirógenos”.

Materiales y reactivos

Celdas de conductividad, electrodos de acero inoxidable, conductímetro.

Método

El método se desarrolla en tres etapas:

- Etapa 1: Medir la conductividad sin la compensación de la temperatura, y registrar la temperatura durante la medición. La medición con compensación de temperatura puede llevarse a cabo después de la validación adecuada. Utilizar la Tabla 14.1, para encontrar el valor de temperatura más cercano que no sea mayor que la temperatura medida. El valor de la conductividad correspondiente es el límite máximo a esa temperatura. Si la conductividad medida no es mayor que el valor en la tabla 14.1, el agua a ser examinado cumple con los requisitos de la prueba para la conductividad. Si la conductividad es mayor que el valor de la tabla, proceder con la etapa 2.
- Etapa 2: Transferir una cantidad suficiente de agua para ser examinado (100 ml) a un recipiente adecuado y agitar la muestra de ensayo. Ajustar la temperatura a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, si es necesario y mantenerla constante a lo largo de la prueba. Comenzar la agitación vigorosamente de la muestra mientras se realiza la observación periódica de la conductividad. Cuando el cambio en la conductividad (debido a la absorción de dióxido de carbono atmosférico) es inferior a $0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ por 5 min, tenga en cuenta la

conductividad. Si la conductividad no es mayor que 2,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, el agua para ser examinado cumple con los requisitos de la prueba para la conductividad. Si la conductividad es mayor que 2,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, proceder con la etapa 3.

- Etapa 3: Realizar esta prueba dentro de aproximadamente 5 min de la determinación de la conductividad de la etapa 2, mientras se mantiene la temperatura de la muestra a 25 ± 1 ° C. Añadir una solución saturada recién preparada de cloruro de potasio a la muestra de ensayo (0,3 ml por cada 100 ml de la muestra de ensayo), y determinar el pH (con una exactitud de 0,1). Usar la Tabla 14.2 para determinar el límite de conductividad en el valor de pH medido. Si la conductividad medida no es mayor que los requisitos de conductividad para el pH determinado, el agua reúne los requisitos de la prueba para la conductividad. Si bien la conductividad medida es mayor que este valor o el pH está fuera del intervalo de 5,0 a 7,0, el agua a ser examinado no cumple con los requisitos de la prueba para la conductividad.

Tabla 14.1 – Temperatura y Conductividad (para medición sin compensación de la temp.)

Temperatura (°C)	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Temperatura (°C)	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
0	0.6	55	2.1
5	0.6	60	2.2
10	0.9	65	2.4
15	1.0	70	2.5
20	1.1	75	2.7
25	1.3	80	2.7
30	1.4	85	2.7
35	1.5	90	2.7
40	1.7	95	2.9
45	1.8	100	3.1
50	1.9		

Tabla 14.2 – pH y Conductividad (para medición con atmosfera y temperatura controladas)

pH	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	pH	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
5.0	4.7	6.1	2.4
5.1	4.1	6.2	2.5
5.2	0.9	6.3	2.4
5.3	3.6	6.4	2.3
5.4	3.0	6.5	2.2
5.5	2.8	6.6	2.1
5.6	2.6	6.7	2.6
5.7	2.5	6.8	3.1
5.8	2.4	6.9	3.8
5.9	2.4	7.0	4.6
6.0	2.4		

Técnica T-40 – Nº 40 Farmacopea Argentina “Determinación del Carbono orgánico total”

Este ensayo se emplea para determinar la cantidad de carbono que forma parte de los compuestos orgánicos presentes en el agua. Normalmente, el carbono orgánico es oxidado a dióxido de carbono por combustión, por radiación ultravioleta o por la adición de agentes oxidantes.

El carbono presente en el agua puede tener dos orígenes: carbono orgánico y carbono inorgánico. La cantidad de carbono orgánico se mide por dos métodos: uno se basa en medir la cantidad de carbono total en el agua, a la cual finalmente se le resta la cantidad de carbono inorgánico; el otro se basa en extraer el carbono inorgánico del agua a ensayar, quedando finalmente una cantidad remanente de carbono que representa el carbono orgánico.

Materiales y reactivos

Equipo para determinación de carbono (consta de un inyector para la muestra, un dispositivo de descomposición, un sistema de separación del dióxido de carbono, un detector y un procesador de datos o un registrador). Desecador con gel, biftalato de potasio, de sílice, ácido sulfúrico, bicarbonato de sodio, carbonato de sodio, persulfato de potasio, nitrógeno, Acido clorhídrico diluido, peróxido de hidrógeno, ácido nítrico, etanol anhidro, hidróxido de sodio.

El equipo para determinación de carbono debe calibrarse según las instrucciones del fabricante y debe ser capaz de medir cantidades de carbono orgánico por debajo de 0,050 mg por litro.

Agua para realizar mediciones: Se emplea para preparar las soluciones estándar, las soluciones del reactivo oxidante o para lavar el equipo. La cantidad de carbono orgánico, cuando se recolecta dentro del envase de muestra, no debe ser mayor de 0,250 mg por litro.

Solución estándar de biftalato de potasio: La concentración de esta solución es determinada según las especificaciones del fabricante del aparato. Secar el biftalato de potasio a 105 °C durante 4 horas y dejar enfriar en un desecador con gel de sílice. Pesar exactamente la cantidad especificada de biftalato de potasio seco y disolver en Agua para realizar mediciones.

Solución estándar para medir carbono inorgánico: La concentración de esta solución es determinada según las indicaciones del fabricante del aparato. Secar bicarbonato de sodio en un desecador con ácido sulfúrico durante no menos de 18 horas. Secar, separadamente, carbonato de sodio entre 500 y 600 °C durante 30 minutos y dejarlo enfriar en un desecador con gel de sílice. Pesar exactamente las cantidades especificadas de los compuestos de modo que la relación de su contenido de carbono sea (1:1) y disolver en Agua para realizar mediciones.

Reactivo oxidante: Disolver la cantidad especificada de persulfato de potasio u otra sustancia que se pueda emplear con el mismo propósito, en Agua para realizar mediciones, para lograr la concentración sugerida para el aparato.

Gas para eliminar el carbono inorgánico o gas transportador: Si fuera necesario, emplear para dicho propósito nitrógeno, oxígeno u otros gases.

Ácido para eliminar el carbono inorgánico: Ácido clorhídrico diluido, ácido fosfórico o cualquier otro ácido que se pueda emplear para dicho propósito, en suficiente cantidad de Agua para realizar mediciones, para obtener la concentración especificada por el fabricante del aparato.

Procedimiento

Emplear el método, analítico apropiado según el aparato. Sumergir el recipiente para la muestra, antes de ser empleado en una mezcla de peróxido de hidrógeno al 30 % y ácido nítrico diluido (1:1), lavando finalmente con Agua para realizar mediciones. Lavar la microjeringa con una mezcla constituida por una solución de hidróxido de sodio (1 en 20) y etanol anhidro (1:1) o ácido clorhídrico diluido (1 en 4), lavando finalmente con Agua para realizar mediciones. Calibrar el aparato con la Solución estándar de biftalato de potasio o la recomendada por el fabricante del aparato, emplear el procedimiento sugerido por el fabricante.

Llevar a cabo este ensayo en un área libre de solventes orgánico u otras sustancias que afecten el resultado del ensayo y realizar las mediciones inmediatamente después de la recolección de la muestra.

A continuación se detalla el método 1 para la determinación de carbono. Para más información ver el libro de Farmacopea Argentina – Volumen 1

Método 1: Medición del carbono orgánico por sustracción del carbono inorgánico del carbono total

De acuerdo con los procedimientos del ensayo establecidos por el fabricante del aparato, inyectar en el dispositivo de inyección un volumen de muestra apropiado en relación con la cantidad de carbono a determinar y descomponer el carbono orgánico e inorgánico presentes en la muestra. Detectar el dióxido de carbono generado y calcular la cantidad de carbono total, emplear para ello un procesador de datos o un registrador. Determinar exclusivamente la cantidad de carbono inorgánico del mismo modo en que se realizó la determinación de carbono total, modificando la configuración del aparato si fuera necesario.

Resultado

La cantidad de carbono orgánico se obtiene restando la cantidad de carbono inorgánico de la cantidad de carbono total.

Técnica T-41 – Farmacopea Europea “Determinación del poder de absorción del carbón activado”

Materiales y reactivos

Erlenmeyer con tapón de vidrio esmerilado, filtros, agua pura, bromuro de potasio, ácido clorhídrico diluido, rojo de metilo, bromato de potasio, fenazona.

Blanco: Llevar a cabo una valoración en blanco utilizando 10,0 ml de la solución fenazona.

Método

Pesar 0,3 g de la muestra en un erlenmeyer con tapón de vidrio esmerilado de 100 ml y añadir 25,0 ml de una solución recién preparada con 0,5 g de fenazona en 50 ml de agua pura. Agitar durante 15 min, filtrar y rechazar los primeros 5 ml del filtrado. Para 10,0 ml del filtrado añadir 1,0 g de bromuro de potasio y 20 ml de ácido clorhídrico diluido. Usar 0,1 ml de solución de rojo de metilo como indicador. Titula con bromato de potasio 0,0167 M hasta que desaparece el color rojo.

Resultado

Calcular la cantidad de fenazona adsorbido (q) por 100 g de carbón activado a partir de la siguiente expresión:

$$q = \frac{2.353 \times (a - b)}{m} \quad [14.27]$$

Donde a es el volumen de bromato de potasio 0.0167 M usado en la titulación del blanco (ml); b es el volumen de bromato de potasio 0.0167 M usado en la titulación de la muestra (ml); y m es la masa en gramo de la sustancia examinada.

Técnica T-42 - Determinación de la pureza del IPA

Materiales y reactivos

Cromatógrafo de gases, helio, polietilenglicol y tierra sílicea.

Método

Inyectar aproximadamente 5 μ L de Alcohol Isopropílico en un cromatógrafo de gases adecuado, equipado con un detector de conductividad térmica. En condiciones normales, el cromatógrafo de gases contiene una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 6,4 mm (DE) rellena con una fase líquida (polietilenglicol con un peso molecular promedio de 380 a 420) al 10% sobre soporte de tierra sílicea; mantener la columna a 55 °C y usar helio como gas transportador a una velocidad de flujo de 45 mL por minuto. Los tiempos de retención relativos de algunos de los posibles componentes, si estuvieran presentes, son los siguientes: aire a 0,09; éter etílico a 0,14; éter isopropílico a 0,17; acetona a 0,37; alcohol isopropílico a 1,00; 2-butanol a 1,64; alcohol n-propílico a 1,86 y agua a 3,14.

Resultado

Calcular el porcentaje de C_3H_8O en el Alcohol Isopropílico dividiendo el área correspondiente al pico de alcohol isopropílico por la suma de las áreas correspondientes a todos los picos observados, y multiplicando por 100.

Técnica T-43 Determinación de MO viables en el aire

Materiales y reactivos

Equipo muestreador de aire, estufa de cultivo (32.5 ± 2.5 °C y 22.5 ± 2.5 °C), placas de Petri estériles, Agar soya tripticase, Agar Saboraud.

Método

El equipo muestreador de aire (ej: MAS-100 NT™) es un instrumento que aspira aire a través de una placa perforada. El flujo de aire resultante es dirigido sobre una placa estándar de agar. Después del ciclo de colección, la placa de Petri es incubada y las unidades formadoras de colonias (UFC) son contadas. Dicho equipo permite monitorear continuamente el volumen aspirado. El sistema mide el flujo de aire que ingresa y regula el volumen aspirado a un valor constante estándar de 100 litros por minuto. Este equipo regula automáticamente el volumen de acuerdo a la presión y temperatura ambiental arrojando resultados comparables de forma constante. Para mediciones en área biolimpias y/o de contaminación controlada, el volumen de muestra recomendado de acuerdo a parámetros internacional es debe ser de 1000 litros.

Una vez colocada la placa de Petri en el equipo, se realiza la toma de muestra. Esta se realiza en dos ciclos de 10 min cada uno, donde primero se coloca la placa que contiene el agar nutritivo y luego la placa que contiene el agar saboraud. Seleccionar el programa de proceso de muestreo según lo indique el fabricante. Posteriormente se sse procede a incubar las placas de cultivo en las estufas a las temperaturas correspondientes.

Resultado

El número total de microorganismos contados (UFC), se modifica basado en la tabla de corrección estadística de Feller's, para convertirlas a partículas contaminantes por metro cúbico o a través de la ecuación 14.28. Dicha tabla se basa en la posibilidad que varios microorganismos entren por el mismo orificio o en la tapa perforada a medida que existan más microorganismos en el ambiente a muestrear.

$$Pr = N \times \int_{N-r+0.5}^{N+0.5} X^{-1} \cdot dX = N \times \ln \left(\frac{N+0.5}{N-r+0.5} \right) \quad [14.28]$$

Donde r son las UFC y N es el total de orificios de la tapa, a través del cual se dispara el aire del área que se muestra, en dirección a la placa de petri con el medio de cultivo.

Técnica T-45 - Determinación de la pureza del DVS por HPLC

Materiales y reactivos

Cromatógrafo de intercambio iónico, polietilenglicol y resina de intercambio catiónico fuerte (copolímero sulfonado entrecruzado de estireno-divinilbenceno, de 7 μm a 11 μm de diámetro).

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Anexo II – Técnicas para Análisis y Control de Calidad



Método

Inyectar aproximadamente 5 μL de DVS en el cromatógrafo, equipado con un detector espectrofotométrico. En condiciones normales, el cromatógrafo contiene una columna de acero inoxidable con un diámetro interno de entre 2 a 5 mm, rellena con una resina de intercambio catiónico fuerte. El análisis se realiza a temperatura ambiente y se utiliza como fase móvil el polietilenglicol. Los tiempos de retención relativos dependen de la afinidad de los compuestos hacia las resinas.

Resultado

Calcular el porcentaje de DVS dividiendo el área correspondiente al pico de este por la suma de las áreas correspondientes a todos los picos observados, y multiplicando por 100.

Anexo III

Planos

