



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO

Facultad de Ciencias

Escuela de Ingeniería Química

Ingeniería Química

**Diseño de una cámara de flujo laminar horizontal para la producción
de plantas *in vitro*.**

Tesis de grado previa la obtención del Título de Ingeniero
Químico

ADRIANA ELIZABETH SANTOS GAVIDIA

Riobamba – Ecuador

2009

Doy gracias al que me fortalece,
Dios al cual sirvo, a la Escuela
Superior Politécnica de
Chimborazo, en especial al
personal de la Escuela de
Ingeniería Química y al
Departamento de Ciencias
Biológicas, porque me han
permitido adquirir el
conocimiento necesario para
alcanzar una de las metas
importantes de mi vida.

Dedico este proyecto a mi familia,
quienes han sido el pilar fundamental
de mi vida, han sabido guiarme y
brindarme todo su amor.

Dr. Edmundo Caluña.
DECANO FACULTAD DE CIENCIAS

Ing. Hannibal Brito.
DIRECTOR ESCUELA DE ING. QUÍMICA

Ing. Mario Villacrés.
DIRECTOR DE TESIS

Dr. Carlos Pilamunga.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Rigoberto Mancheno.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL.

Lic. Carlos Rodríguez
DIRECTOR DE BIBLIOTECA.

Yo, *Adriana Elizabeth Santos Gavidia*, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado le pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Cc	= Concentración de prueba de partículas por pie cúbico.
CEN	=Centro europeo de normalización
CFM	= Pie cúbico por minuto.
CNC	= Contadores por Núcleos de Condensación
dB	= Abreviatura de decibel, unidad utilizada para medir el sonido.
DEHS	= Diethylhexyl-sebacate
EM	= Evaluación del medio
EPA	= Environmental Protection Agency
EPP	= Equipos de protección personal.
EN	= Normativa Europea
FDA	= Organismo para el control de alimentación y medicamentos
FPM	= Pie/minuto
Fs	= Velocidad del flujo de la muestra.
HEPA	= High Efficiency Particulate Air
<i>L</i>	= Área a través de la cual circula el flujo de aire
Lumen	= Unidad para medir el flujo luminoso.
Lux	= Unidad para medir el flujo luminoso.
M	= Muestra
MPPS	= Tamaño de partícula de mayor penetración
mL	= Mililitros
mm	= Milímetro
NI	= Número de partículas que define la fuga máxima.

N_{Re}	= Numero de Reynolds.
OMG	= Organismos modificados genéticamente
P	= Presión
pH	= Potencial de hidrogeno
PLS	= Látex de poliestireno
SF	= Sin flujo
V.C.A.	= Voltaje de Corriente Alterna.
WATTS	= Unidad de potencia eléctrica o trabajo de fuerza motriz.
UFC	= Unidades formadoras de colonias
ULPA	= Ultra Low Penetration Air
UV	= Ultra violeta
ρ	= Densidad del flujo de aire
v_s	= Velocidad característica del flujo de aire
ν	= Viscosidad cinemática del flujo de aire
μm	= Micrómetro
μ	= Viscosidad dinámica del flujo de aire
$^{\circ}C$	= Grados Celsius
$^{\circ}F$	= Grados Fahrenheit

TABLA DE CONTENIDO

	Pp.
ÍNDICE DE FIGURAS.	
ÍNDICE DE TABLAS.	
ÍNDICE DE GRÁFICOS.	
ÍNDICE DE ANEXOS.	
RESUMEN.....	i
SUMARY.....	ii
INTRODUCCIÓN.....	iii
ANTECEDENTES.....	v
JUSTIFICACIÓN.....	vii
OBJETIVOS.....	ix

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO.

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.	CULTIVO IN VITRO	1
1.1.1.	CONDICIONES DE CULTIVO IN VITRO	3
1.1.2.	VENTAJAS DE CULTIVO IN VITRO	4
1.2.	CÁMARA DE FLUJO LAMINAR.....	5
1.2.1.	TIPOS DE CÁMARAS DE FLUJO LAMINAR.	6
1.2.2.	APLICACIONES.....	6
1.3.	CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	7
1.3.1.	CARÁCTERÍSTICAS PRINCIPALES DE UNA CFLH.	8
1.3.2.	DISEÑO DEL FUNCIONAMIENTO DE CFLH.	10
1.3.3.	PERFIL DEL FLUJO DE LA CFLH	11
1.3.4.	COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CFLH.....	12
1.3.4.1	VENTEROL.	12
1.3.4.1.1.	VENTEROL CENTRÍFUGO	13
1.3.4.2.	LUZ ULTRA VIOLETA.....	14
1.3.4.2.1.	EFEECTO GERMICIDA DE U.V.....	15
1.3.4.3.	FILTROS DE AIRE	17
1.3.4.3.1.	FILTROS DE ALTA EFICIENCIA.....	18

	Pp.
1.3.4.3.2	CLASIFICACIÓN DE FILTROS DE ALTA EFICIENCIA 21
1.3.4.3.3	NORMATIVA EUROPEA EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE ... LOS FILTROS HEPA Y ULPA..... 23
1.3.4.3.4	FLUJO LAMINAR..... 40
1.3.4.3.5.	CLASES DE PUREZA DE AIRE..... 41
1.4.	BIOSEGURIDAD 43
1.4.1.	NIVELES DE BIOSEGURIDAD. 43
1.4.2.	NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD..... 44
1.4.3.	RECOMENDACIONES GENERALES 48

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.	PARTE EXPERIMENTAL..... 53
2.1.	MUESTREO 53
2.2.	METODOLOGÍA..... 53
2.2.1.	MÉTODOS Y TÉCNICAS..... 53
2.2.1.1.	MÉTODOS. 53
2.2.1.2.	TÉCNICAS 54
2.3.	PRUEBA DE VELOCIDAD DE FLUJO..... 56
2.3.1.	MATERIALES 56
2.3.2.	DATOS EXPERIMENTALES DE LA PRUEBA DE VELOCIDAD ... DE FLUJO 56
2.3.3.	DIAGNÓSTICO DE LA PRUEBA DE FLUJO. 57
2.4.	.PRUEBA DE ASÉPSIA EN LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR .. 58
2.4.1.	PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE 59
2.4.1.1.	MATERIALES 59
2.4.1.2.	PROCEDIMIENTO PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE. 59
2.4.2.	PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE, E INFLUENCIA DE LA LUZ U.V.. 62
2.4.2.1.	MATERIALES 62

2.4.2.2	PROCEDIMIENTO PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE	
	FILTRACIÓN DE AIRE E INFLUENCIA DE LA LUZ U.V.....	62
2.4.3.	DATOS EXPERIMENTALES DE LAS PRUEBAS DE ASEPSIA	65
2.4.4.	INTERPRETACIÓN GRÁFICOS DE RESULTADOS Y ANÁLISIS.	80
2.4.5.	DIAGNÓSTICO DE LAS PRUEBAS DE ASEPSIA	82

CAPÍTULO III

DISEÑO

3.	DISEÑO.....	83
3.1.	CÁLCULOS.	83
3.1.1.	CÁLCULO DEL NÚMERO DE REYNOLDS.....	83
3.1.2.	CÁLCULO DEL ESPESOR DEL MATERIAL A USAR.....	89
3.2.	PROYECCIONES DEL DISEÑO DE CÁMARA DE FLUJO	
	LAMINAR HORIZONTAL.....	90
3.3.	DIMENSIONAMIENTO DEL EQUIPO CONSIDERACIONES PARA .	
	EL DISEÑO DEL SISTEMA.....	90
3.3.1.	ÁREA DE TRABAJO.	92
3.3.2.	FLUJO DE AIRE.....	93
3.3.3.	VENTEROL.	94
3.3.4.	FILTROS.	95
3.3.4.1.	PREFILTRO	95
3.3.4.2.	FILTRO ABSOLUTO DE ALTA EFICIENCIA.....	96
3.3.5.	SISTEMA DE LUZ ULTRA VIOLETA.....	97
3.3.6.	SISTEMA DE CONTROL (SISTEMA ELÉCTRICO).	99
3.3.7.	MATERIALES AUXILIARES.	99
3.3.7.1.	LUZ FLUORESCENTE.....	100
3.3.7.2.	COMPUERTA DE VIDRIO TEMPLADO.....	100
3.4.	MATERIALES UTILIZADOS PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL	
	EQUIPO.....	101
3.5.	CONSIDERACIONES GENERALES.....	104
3.6.	ARMADO GENERAL DE UNA CAMARA DE FLUJO LAMINAR.	105
3.6.1. ..	ESTRUCTURA.....	105

	Pp.
3.6.2.	INSTALACIÓN DE FILTROS..... 105
3.6.3.	INSTALACIÓN VENTEROL. 105
3.6.4.	INSTALACIÓN DE ELECTRICA. 106
3.7.	OPERACIÓN DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL..... 106
3.8.	PROBLEMAS DE FUNCIONAMIENTO 107
3.9.	ANÁLISIS DE COSTOS DEL EQUIPO. 108
3.9.1.	COSTOS DE MATERIALES. 108
3.9.2.	COSTOS DE CONSTRUCCIÓN Y MANO DE OBRA. 110
3.9.3.	COSTOS TOTALES. 110
3.10.	MANTENIMIENTO 111

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. 113
4.1.	CONCLUSIONES. 113
4.2.	RECOMENDACIONES..... 115

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA:		Pp.
1.1-1.	FASES DEL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES.....	1
1.2-1 .	CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	5
1.3-1 .	ESQUEMA DE UNA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	8
1.3.2-1.	DISEÑO DEL FUNCIONAMIENTO.....	11
1.3.3-1.	PERFIL DEL FLUJO DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR	12
1.3.4.1.1-1.	VENTEROL O VENTILADOR CENTRÍFUGO	13
1.3.4.2-1.	DESTRUCCIÓN DE MICROORGANISMOS POR RADIACIÓN U.V.....	16
1.3.4.3-1.	FILTROS DE AIRE DE ELEVADAS EFICIENCIAS	19
1.3.4.3-2.	CORTE DE UN FILTRO HEPA	19
1.3.4.3-3.	INTERCEPCIÓN DE PARTÍCULAS EN FILTROS HEPA.	20
1.3.4.3-4.	IMPACTO INERCIAL EN FILTROS HEPA.....	20
1.3.4.3-5.	DIFUSIÓN EN FILTROS HEPA	21
1.3.4.3-6.	COMPARACIÓN DE NORMAS INTERNACIONALES DE CLASIFICACIÓN DE FILTROS.	24
1.3.4.3-7.	CURVA DE MÍNIMO QUE DESCRIBE LA EFICIENCIA FRACCIONAL DEL FILTRO.....	25
1.3.4.3-8.	DOS CURVAS DE MÍNIMO DE UN MEDIO FILTRANTE HEPA/ULPA A DIFERENTES VELOCIDADES	27
1.3.4.3-9.	ESQUEMA DE UN FILTRO DE SEPARADORES	29
1.3.4.3-10.	ESQUEMA DE UN FILTRO MINI-PLEAT	30
1.3.4.3-11.	ESQUEMA VISTO EN PLANTA DE UN FILTRO MINIPLEAT	30
1.3.4.3-12.	ESQUEMA DE UN FILTRO CONFORMADO	31
1.3.4.3-13.	PROCESO DE TERMO-GRABADO.....	32
1.3.4.3-14.	PLEGADO SUAVE TRAS EL GRABADO	34
1.3.4.3-15.	ESQUEMA DE UN FILTRO PRODUCIDO MEDIANTE EL PROCESO DE TERMO-GRABADO	34
1.3.4.3-16.	TÉCNICA DE CONSTRUCCIÓN DE PAQUETES FILTRANTES PLISADOS	35
1.3.4.3-17.	DIAGRAMA FUNCIONAL.....	35

1.3.4.3-18.	DIAGRAMA FUNCIONAL DEL MULTI-SCANNER.....	38
1.3.4.3-19.	EJEMPLO DE UN INFORME DEL MULTI-SCANNER.....	38
1.3.4.3.4-1.	FLUJO LAMINAR.	40
2.3.4-1	PANEL DE CONTROL DE LA CFL.	58
2.4.1.2-1.	COLOCACIÓN DE CAJAS EN EL EQUIPO EXPERIMENTAL 1...	60
2.4.2.2-1.	COLOCACIÓN DE CAJAS EN EL EQUIPO EXPERIMENTAL 2...	63
2.4.5-1	EQUIPO EXPERIMENTAL.....	82
3.3-1	COMPARACIÓN DE DIRECCIÓN DE FLUJOS EN LA CÁMARAS DE FLUJO LAMINAR.	91
3.3.2-1	RECORRIDO DEL FLUJO DE AIRE.....	93
3.3.4.2-1.	EFICACIA DEL FILTRO ULPA.	96
3.3.4.2-2.	FILTRO ULPA.....	97
3.3.5-1	LÁMPARAS GERMICIDAS CON UV.	99
3.3.7.1-1	LINEAL FLUORESCENTES.....	104

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA:		Pp.
1.3.4.3.2-1.	CLASIFICACIÓN DE FILTROS DE ELEVADAS EFICIENCIAS....	23
1.3.4.3-1.	EFICIENCIAS INTEGRALES DE CADA CLASE.....	36
1.3.4.3.5-1.	NÚMERO DE PARTÍCULAS POR METRO CÚBICO POR TAMAÑO EN MICRÓMETROS	42
2.3.3-1.	RESULTADOS DE LA PRUEBA DE VELOCIDAD DE FLUJO.	41
2.4.1.2.-1.	DATOS PARA LA TOMA DE MUESTRA FLUJO DE AIRE.....	61
2.4.2.2.-1.	DATOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS FLUJO DE AIRE E INFLUENCIA U.V.....	64
2.4.3-1.	EVALUACIÓN DEL MEDIO	65
2.4.3-2.	TRATAMIENTO 5 SEGUNDOS	65
2.4.3-3.	TRATAMIENTO 10 SEGUNDOS	66
2.4.3-4.	TRATAMIENTO 30 SEGUNDOS	66
2.4.3-5.	TRATAMIENTO 1 MUNUTO	67
2.4.3-6.	TRATAMIENTO 30 MINUTOS.....	67
2.4.3-7.	TRATAMIENTO 1 HORA	68
2.4.3-8.	TRATAMIENTO SIN FLUJO	68
2.4.3-9.	EVALUACIÓN DEL MEDIO	69
2.4.3-10.	TRATAMIENTO 5 SEGUNDOS	69
2.4.3-11.	TRATAMIENTO 10 SEGUNDOS	69
2.4.3-12.	TRATAMIENTO 30 SEGUNDOS	70
2.4.3-13.	TRATAMIENTO 1 MINUTO.....	70
2.4.3-14.	TRATAMIENTO 30 MINUTOS	71
2.4.3-15.	TRATAMIENTO 1 HORA	71
2.4.3-16.	TRATAMIENTO SIN FLUJO	72
2.4.3-17.	EVALUACIÓN DEL MEDIO	72
2.4.3-18.	TRATAMIENTO 5 SEGUNDOS	73
2.4.3-19.	TRATAMIENTO 10 SEGUNDOS	73
2.4.3-20.	TRATAMIENTO 30 SEGUNDOS	74
2.4.3-21.	TRATAMIENTO 1 MINUTO.....	74

2.4.3-22.	TRATAMIENTO 30 MINUTOS	75
2.4.3-23.	TRATAMIENTO 1 HORA	75
2.4.3-24.	TRATAMIENTO SIN FLUJO DE AIRE FILTRADO 30 MIN.....	76
2.4.3-25.	EVALUACIÓN DEL MEDIO	76
2.4.3-26.	TRATAMIENTO 5 SEGUNDOS	76
2.4.3-27.	TRATAMIENTO 10 SEGUNDOS	77
2.4.3-28.	TRATAMIENTO 30 SEGUNDOS	77
2.4.3-29.	TRATAMIENTO 1 MINUTO.....	78
2.4.3-30.	TRATAMIENTO 30 MINUTOS	78
2.4.3-31.	TRATAMIENTO 1 HORA.....	79
2.4.3-32.	TRATAMIENTO SIN FLUJO DE AIRE FILTRADO 30 MIN.....	79
3.1.1-1.	RESULTADOS DE CÁLCULO DE NÚMERO DE REYNOLDS	88
3.2-1.	VARIABLES DEL DISEÑO DE LA CFLH.....	90
3.3.1-1.	ESPECIFICACIONES DE MEDIDAS DE LA CFLH.....	93
3.3.3-1.	ESPECIFICACIONES DEL VENTEROL.....	94
3.3.4.1-1.	ESPECIFICACIONES DE MEDIDAS DEL PREFILTRO	96
3.3.4.2-1	ESPECIFICACIONES DE MEDIDAS DE FILTRO DE ALTA EFICIENCIA	97
3.3.5-1.	ESPECIFICACIONES DE LÁMPARAS U.V.....	98
3.3.7.2-1.	ESPECIFICACIONES PARA LA COMPUERTA DE VIDRIO TEMPLADO.....	101
3.4.-1.	MATERIALES PRIMARIOS UTILIZADOS PARA LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	101
3.4-2.	MATERIALES ELÉCTRICOS UTILIZADOS PARA LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	102
3.4-3.	MATERIALES SECUNDARIOS UTILIZADOS CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL.....	104
3.9.1-1	COSTOS DE MATERIALES	108
3.9.2-1	COSTOS DE CONSTRUCCIÓN Y MANO DE OBRA	110
3.9.3-1	COSTOS TOTALES	110

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO:	Pp.
2.4.4-1. EVALUACIÓN 1 -AIRE FILTRADO.	80
2.4.4-2. EVALUCION 1 -AIRE FILTRADO UV.....	80
2.4.4-3. EVALUCION 2 -AIRE FILTRADO.	81
2.4.4-4.- EVALUCION 2 -AIRE FILTRADO UV.	81

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO:

- I PROPIEDADES DE AIRE**
- II MEDICION DE LA VELOCIDAD DEL AIRE**
- III CUALIDADES DE ACERO INOXIDABLE**
- IV TERMOANEMOMETRO**
- V PRUEBA CON EL ANEMOMETRO**

- VI FOTOS DE REALIZACION DE PRUEBAS DE ASEPSIA**
- VII FOTOS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS**
- VIII DIBUJO DEL CONTORNO DEL VENTEROL**
- IX TIPO DE FILTROS**
- X VISTA SUPERIOR SUPERFICIE DE TRABAJO**
- XI VISTA INTERNA DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR**
- XII VISTA EXTERNA DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR**
- XIII VISTA TOTAL DE LA CÁMARA**
- XIV DIAGRAMA INGENIERIL DE LA CFLH**
- XV DIAGRAMA INGENIERIL DE LA CFLH**
- XVI CONTROL DE LA CFLH**

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue *DISEÑAR UNA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS IN VITRO*, que se realizó en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para optimizar una parte del proceso de producción de estas plantas, ya que en un futuro se desea emprender un plan agresivo de producción de plantas nativas de la zona.

Para el diseño se realizaron pruebas donde se evaluó las condiciones de asepsia dentro del un equipo de experimentación, mediante simulación de manipulaciones en medios

de cultivo, se identificó las variables de proceso (equipo), y resolvió los cálculos de ingeniería, para el dimensionamiento, características y presupuesto económico. En el diseño, la cámara de flujo laminar tiene medidas generales de 1300 x 750 x 1100 mm (Largo x Fondo x Alto), su estructura es de acero inoxidable AISI 304 esa compuesta por: un ventilador centrífugo para el sistema de flujo de aire, un prefiltro de poliéster de 600 x 30 x 600 mm, filtro ULPA 914 x 610 x 66 mm, un sistema de luz ultra violeta para el control de la contaminación superficial y la descontaminación de la zona de trabajo entre periodos de funcionamiento.

Con este diseño del equipo se obtiene un flujo laminar de aire purificado con una eficiencia 99,99% que viaja a través de la zona interior en forma horizontal, unidireccional a una velocidad nominal de 0,40 m/s y es eliminada a través del área principal de trabajo frontal de la cabina dando una protección óptima del producto.

Recomiendo la construcción de este equipo por los beneficios que proporciona.

SUMMARY

The objective of this investigation consisted of DESIGNING A HORIZONTAL LAMINAR FLOW CHAMBER FOR THE IN VITRO PLANT PRODUCTION carried out at the Biological Sciences Department of the Natural Resources Faculty of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo to optimize a part of the production process of these plants, as in the future an aggressive plan of native plant production is to be undertaken.

For the design, tests to evaluate asepsis conditions within the experimentation team were evaluated through management simulation in the culture media. The process

variables (equipment) were identified and the engineering calculi were solved for measuring, features and economic budget. In the design, the laminar flow chamber has the general measurements of 1300 x 750 x 1100 mm (length, depth and height). Its structure is made up of stainless steel AISI 304 and is composed of a centrifugal fan for the air flow system, a 600 x 30 x 600 mm polyester pre-filter, an ULPA 914 x 610 x 66 mm filter, an UV light system for the surface contamination control and decontamination of the work zone between functioning periods.

With this design a laminar purified air flow is obtained with 99, 99% efficiency which travels through the interior zone horizontally, one way at 0, 40 m/s nominal velocity and is eliminated through the main area of front work of the booth giving an optimum product protection. It is recommended to build this equipment because of its benefits.

INTRODUCCIÓN

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, es una técnica de reproducción en condiciones totalmente asépticas, en la que a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles o millones de plantas genéticamente iguales a la planta madre, cuando a este tejido le es aplicado un estímulo por medio de variables físicas y químicas controladas en un medio de cultivo.

A diferencia de las técnicas tradicionales de cultivo, esta poderosa herramienta permite la propagación de grandes volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacios reducidos. El enorme potencial que posee esta metodología ha propiciado que en los últimos años se haya incrementado el número de laboratorios de cultivo de tejidos para la producción comercial de plantas nativas lo que ha motivado que algunos floricultores la estén utilizando.

Tomando en cuenta estos factores fue preciso elaborar una investigación para optimizar una parte del proceso de producción de plantas in vitro con el diseño de una cámara de flujo laminar horizontal que cuente con las características necesarias que permita satisfacer los requerimientos para realizar este proceso.

Para la ejecución de este proyecto se llevo a cabo un estudio de campo en el cual se conocieron las condiciones actuales de la cámara de flujo laminar con la que trabajan en el laboratorio de Ciencias Biológicas, el cual me permitieron encontrar los parámetros necesarios para mejorar y satisfacer las necesidades para lograr un medio aséptico para la manipulación de tejidos vegetales en la producción de plantas in vitro.

El diseño de una cámara de flujo laminar me ayudó a poner en práctica conocimientos adquiridos, como es la importancia que tiene la instalación de un sistema de aire filtrado y la utilización del efecto germicida que tiene la luz ultra violeta; la designación de materiales con características específicas para obtener este resultado deseado.

ANTECEDENTES

Los cultivos de plantas *in vitro* desde años anteriores es una poderosa herramienta mundial para el estudio de ciertos procesos celulares tales como: replicación y transcripción del ADN, síntesis proteica, metabolismo energético, nutrición, infecciones virales, transformación maligna, acción de drogas, toxicidad, desarrollo embrionario, producción masiva de plantas, etc. Este procedimiento también permite manejar cultivos libres de enfermedades y patógenos, incluso permite obtener plantas certificadas a nivel internacional para exportación, que cumplan con todas las normas fitosanitarias requeridas.

En la actualidad en Riobamba, provincia de Chimborazo y, específicamente en la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se encuentra ubicado el Departamento de Ciencias Biológicas está encargado de la obtención de productos para la agricultura, constituyéndose de este modo en un pionero en el mercado nacional. Con esfuerzo y dedicación han ido ganando importancia y prestigio en los últimos años debido a la calidad y al servicio que presta a los clientes.

El departamento empezó a funcionar en el año 2002, cuenta con personal integrado por: un director, un coordinador de laboratorio, dos investigadores microbiológicos, los cuales trabajan en horario de 07h00 am. A 16h00 pm. De lunes a viernes.

Las actividades que tienen lugar en este departamento son entre otras; la docencia, investigaciones microbiológica, asesoramiento y capacitación. A pesar de la utilización de cuidados en los medios de cultivo, la contaminación por microorganismos continúa siendo uno de los mayores problemas. Las bacterias, las levaduras y las esporas de los hongos, pueden ser introducidas vía el operador, la atmósfera, la superficie de trabajo,

las soluciones, etc. No existen estudios previos en relación a este inconveniente, pero si se debe desarrollar el diseño de una cámara de flujo laminar con características específicas que permita al operador trabajar en condiciones asépticas en un área bajo un flujo laminar de aire estéril, alcanzando una correcta técnica aséptica para el mantenimiento de los cultivos libres de contaminantes biológicos, puesto que el equipo actual no tiene la eficiencia deseada esta es una alternativa más económica frente a una posible compra directa del equipo.

JUSTIFICACIÓN

Trabajar en condiciones totalmente asépticas es una condición fundamental para todo proceso de cultivo in vitro, ya que permite evitar cualquier tipo de contaminación que pueda ser contraproducente para la reproducción de las plantas. Buena parte de las manipulaciones propias del cultivo in vitro deben realizarse en condiciones de esterilidad total para evitar la contaminación de los cultivos, para disponer de una superficie de trabajo limpia se usa cámaras de flujo laminar especialmente de tipo horizontal que son las más adecuadas para una buena protección del producto.

Es imprescindible que esta técnica se realice en condiciones totalmente asépticas de manera tal que el ambiente de trabajo quede libre de contaminantes o microorganismos como hongos bacterias etc. Que pueden ser perjudiciales para la reproducción de la plantas, la cámara de flujo laminar horizontal es ideal para lograrlo, ya que es una unidad autónoma que mediante un sistema de impulsión y filtración de aire logra una zona de trabajo limpia, la esterilidad se consigue porque se hace circular a través del interior de la cámara una corriente de aire que previamente ha sido micro filtrada para eliminar toda partícula extraña.

Utilizar este equipo constituye una respuesta simple y eficiente al requerimiento de asepsia para el cultivo in vitro, que le permitirá tanto mantener los estándares de calidad en todo el proceso como asegurara el sano crecimiento de las plantas.

Por este motivo se ha visto la necesidad del diseño del mencionado equipo para el laboratorio de microbiología del Departamento de Ciencias Biológicas, con la posterior construcción, satisfacer los requerimientos en la producción de plantas in vitro libre de

contaminantes microbiológicos, ya que el departamento desea emprender en el futuro un plan agresivo de producción de plantas nativas de la zona. Si bien esto representa una inversión futura para el departamento en el equipamiento de laboratorio, pero el beneficio que presenta es mucho mayor que el obtenido mediante el cultivo convencional.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERAL

- Realizar el diseño de una cámara de flujo laminar horizontal para la producción de plantas in vitro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las condiciones de asepsia dentro de un equipo de experimentación (cámara de flujo laminar) con simulación de manipulaciones en medios de cultivo.
- Identificar las variables de proceso (equipo).
- Resolver cálculos de ingeniería.
- Especificar dimensionamiento y características de materiales.
- Dimensionar el requerimiento presupuestario para el equipo antes citado.

1. MARCO TEÓRICO.

1.1 CULTIVO IN VITRO

“El término cultivo *in vitro* es un término muy genérico que se refiere a la metodología usada que al propio objetivo de ese método. En sentido estricto, *in vitro* quiere decir "dentro de vidrio", es decir, el cultivo de plantas o de alguna de sus partes (pero también de células y tejidos) dentro de recipientes de vidrio en condiciones de ambiente controlado.

Cultivo *in vitro* es una técnica de producción en condiciones totalmente asépticas, en la que a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles y millones de plantas genéticamente iguales a la planta madre cuando a este tejido le es aplicado un estímulo por medio de variables físicas o químicas controladas en un medio de cultivo. La planta ya desarrollada en el cultivo *in vitro* necesita una primera aclimatación en el laboratorio; en el invernadero y después una segunda aclimatación en el campo. Los viveros grandes realizan ambas operaciones; otros sólo se encargan del primer paso.”¹



Fuente: <http://articulos.infojardin.com/Fructales/cultivo-in-vitro-reproduccion.htm>

Fig1.1-1 Fases del cultivo de tejidos vegetales

¹ Cultivo *in vitro*: <http://articulos.infojardin.com/Fructales/cultivo-in-vitro-reproduccion.htm>

“El equipo básico necesario para el cultivo *in vitro* es:

- ***Planta*** es el material vegetal de partida puede ser del campo, pero esto conlleva un alto riesgo de enfermedades y contaminación, aunque se lave mucho y bien. Lo más ordinario es utilizar brotes que crecen en condiciones controlada para que haya menos infecciones.

- ***Autoclave*** es un instrumento habitual en los laboratorios de cultivo *in vitro*. En esencia, un autoclave es un recipiente en el que se consigue exponer el material a esterilizar a temperaturas superiores a la de ebullición del agua, gracias a aumento de presión.

- ***Medio de cultivo*** es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua, usualmente incluye sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas y aminoácidos.

- ***Cámara de flujo laminar*** es donde se realizan todas las manipulaciones con la planta. Es un habitáculo con un operario en un ambiente estéril. Se usan rayos ultravioletas para esterilizar el aire.

- ***Cámara de cultivo*** es un receptáculo diseñado para permitir el control de algunas variables del ambiente físico. Habitualmente se pueden controlar la temperatura, la iluminación y el fotoperíodo y en algunos casos, menos frecuentes, la humedad del aire y su composición.

1.1.1 CONDICIONES DE CULTIVO IN VITRO

- El pH ideal es 6, pero puede oscilar entre 5,5 y 6,5.
- El medio de cultivo realmente tiene que llevar agua, fuente de energía (azúcares) y reguladores de crecimiento.
- En la *cámara de flujo laminar* no puede entrar material contaminado. El problema más importante en todo el proceso del cultivo in vitro son las contaminaciones lo cual le hace a la cámara de flujo laminar parte esencial en el proceso.
- En el autoclave no se pueden meter determinadas sustancias, como vitaminas, antibióticos, sacarosa, encimas, extractos vegetales, etc., ni tampoco recipientes que no soporten altas temperaturas.
- El vidrio ha de ser de muy buena calidad para que no suministre al medio sustancias contaminantes para la planta. Normalmente se prepara el medio y se filtra directamente. El problema es que se absorben en el filtro determinadas sustancias.
- Los reguladores de crecimiento (hormonas) son imprescindibles, ya que sin ellos no se puede hacer el medio de cultivo.
- En la cámara de cultivo se aplican cantidades variables de luz (16-20 horas). También existen plantas que se desarrollan en la oscuridad. Las temperaturas

también varían. Lo normal son 22-26°C, aunque en ocasiones se exigen fríos de 4°C y también 28-30°C para plantas tropicales.

- Igualmente, en el éxito de esta técnica de propagación también influyen determinadas características de la planta, como el tipo, genética e incluso el tipo de implante, parte más juvenil o más adulta.
- En cuanto a los recipientes, deben permitir el intercambio de gases, pero evitar la pérdida de agua, lo que provocaría un aumento de la concentración de sales, y por tanto la muerte de la planta de ahí la importancia del cierre.

1.1.2 VENTAJAS DEL CULTIVO IN VITRO

- La técnica del cultivo in vitro tiene las siguientes ventajas:
- Permite obtener plantas libres de enfermedades (hongos, bacterias, virus, entre otros).
- La micro propagación vegetal nos permite propagar masivamente material vegetal en cualquier época del año y en corto tiempo conservando su potencial genético y calidad sanitaria.
- Permite optimizar el uso de factores ambientales y nutricionales.
- Facilita el cultivo de un gran número de plantas en una superficie pequeña.
- Puede conservar material biológico por periodo de tiempo prolongados.
- Además mediante este método de propagación se puede incluir aspectos de fitomejoramiento.”²

² PIERIK R. L. M. (1990) cultivo in vitro de las plantas superiores. Pp 326.[http:// www.etsea2.udl.es/invitro/propra.htm](http://www.etsea2.udl.es/invitro/propra.htm)

1.2 CÁMARA DE FLUJO LAMINAR



Fuente: http://www.escoglobal.com/es/biotech/product_2_4.asp

Fig.1.2-1.- Cámara de flujo laminar horizontal

“Una cámara de flujo laminar es un receptáculo en forma generalmente prismática con una única cara libre (la frontal) que da acceso al interior, donde se localiza la superficie de trabajo. La esterilidad de la zona de trabajo se consigue porque se hace circular a través del interior de la cámara una corriente de aire que previamente ha sido microfiltrada para eliminar toda partícula extraña. Para evitar que el aire del exterior pueda entrar en la cámara de flujo sin pasar previamente por los filtros se procura que la presión interior sea ligeramente superior a la presión exterior, con lo cual el aire siempre circula de dentro hacia fuera y nunca al revés.hola

Según el grado de sofisticación de la cámara, puede disponer de elementos accesorios como son: fuente de luz, lámpara de esterilización por U.V., pilotos indicadores de funcionamiento diversos, contador de horas de funcionamiento, indicador de presión interior, etc.

1.2.1 TIPOS DE CÁMARAS DE FLUJO LAMINAR

Las cabinas de flujo laminar se presentan dos tipos de flujo horizontal y vertical. En los dos casos, el aire entra por encima de la cabina y atraviesa un filtro ULPA. En los modelos de flujo horizontal, el aire filtrado atraviesa luego la cámara principal de la cabina en una corriente de aire laminar horizontal (unidireccional) antes de ser extraído por la apertura frontal de la cabina. En los modelos de flujo vertical, el aire filtrado atraviesa luego la cámara principal de la cabina en una corriente de aire laminar vertical (unidireccional) antes de ser extraído por la apertura frontal de la cabina.

En las cabinas de flujo horizontal hay una ligera reducción del nivel de turbulencias en comparación con las cabinas de flujo vertical debido a que el flujo de aire no golpea la superficie. Sin embargo, las cabinas de flujo vertical generan menos turbulencia alrededor de las piezas grandes del equipo en comparación con las cabinas de flujo horizontal.

1.2.2 APLICACIONES

Entre sus usos se cuentan las aplicaciones en las que no se produzcan materiales biopeligrosos y no se precise protección del usuario.

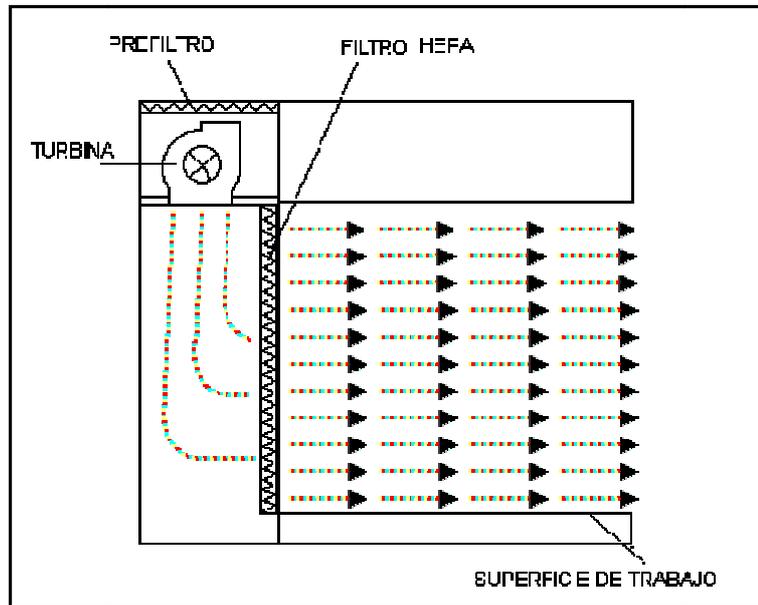
- Micología
- Microbiología de los alimentos
- *Cultivos celulares vegetales* y de mamíferos
- Protocolos hospitalarios y de farmacia clínica
- Salas limpias, montaje de semiconductores e industrias farmacéuticas, aeroespaciales y de productos sanitarios
- Preparación de soluciones oftálmicas.

- Preparación de soluciones tópicas, estériles y urológicas.
- Mezcla de alimentos y fórmulas para bebés.
- Ideal para pruebas de laboratorio clínico.
- Preparación de medios de cultivo.
- Siembras no patógenas.
- Preparación de soluciones hipertónicas.
- Preparación de mezclas con soluciones intravenosas.
- Llenado de productos estériles, como soluciones inyectables.
- Micropropagación de cultivos celulares.
- Técnicas de fertilización *in vitro*.

1.3. CÁMARAS DE FLUJO HORIZONTAL

Las Cámaras de Flujo Horizontal (CFLH), son aquellas en las que el filtro absoluto está colocado en la parte posterior de la cámara, por lo que el flujo de aire unidireccional se mueve a través de líneas paralelas horizontales, es decir, desde la parte posterior del equipo hacia el operador. En este equipo el producto (medios de cultivo, de tejidos, etc.) es protegido, pero no el operario ni el medio ambiente, por lo que no puede ser utilizado para trabajar con productos químicos peligrosos ni con microorganismos patógenos.

Proporcionan un área delimitada por superficies fáciles de limpiar y desinfectar, con flujo de aire filtrado a través de los prefiltros antes mencionados, que retienen las partículas más grandes que están presentes en el aire, los filtros de alta eficiencia capaces de retener partículas $>0.3\mu\text{m}$.



Fuente: PIERIK R. L. M., Cultivo in vitro de las plantas superiores

Fig1.3.-1.- Esquema de una cámara de flujo laminar horizontal

1.3.1.- CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE UNA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL

Las cámaras de flujo laminar horizontal crean zonas de trabajo exentas de partículas y polvo mediante el flujo laminar, básicamente están compuestas por:

- El compartimento puede estar construido en acero esmaltado al horno o con acero inoxidable.
- Debe encontrarse totalmente selladas para evitar contaminaciones al interior de las mismas por agentes externos en su parte superior posterior y a los lados, siendo fabricada en una sola pieza.

- Normalmente cada unidad va equipada con pre filtros, ventiladores centrífugos, reguladores de velocidad para los ventiladores, manómetros, cuadros de maniobra y señalización.
- Filtros HEPA (aire particulado de alta eficiencia) o ULPA absolutos de una eficacia del 99,997 % y 99,99%, son filtros empleados para esterilizar el aire. El aire que penetra en la cámara pasa por los filtros, de manera que la superficie queda estéril.
- La presión de aire sobre el filtro puede ser determinada por un manómetro de presión conectado a una bolsa de aire en condiciones de esterilidad presente entre ambos filtros para así garantizar las condiciones de máxima esterilidad en la cámara de trabajo cuyo aire es retornado al área de los filtros por un ducto posterior utilizando la potencia del motor, que vendrá determinado en potencia según el tamaño.
- El aire circula por la cabina a una velocidad entre 0,40 y 0,65 m/s. El flujo del aire es laminar sin turbulencias.
- La lámpara Ultravioleta tiene efectos de esterilización en la cámara, pero la misma solo debe permanecer encendida en ausencia total de los usuarios. La lámpara Ultravioleta nunca debe verse directamente a los ojos por efectos de radiación de intensidad esta debe ser > 1000 lux.
- La puerta de vidrio es tipo corrediza o batiente para así determinar la altura por el usuario según sea su requerimiento con un sistema de alarma de seguridad al encontrarse por encima del área óptima de trabajo, manteniendo así las mejores condiciones de esterilidad.

1.3.2 DISEÑO DEL FUNCIONAMIENTO DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL

La técnica del flujo laminar, permite controlar la contaminación microbiológica en el aire mediante procedimientos básicos simultáneos:

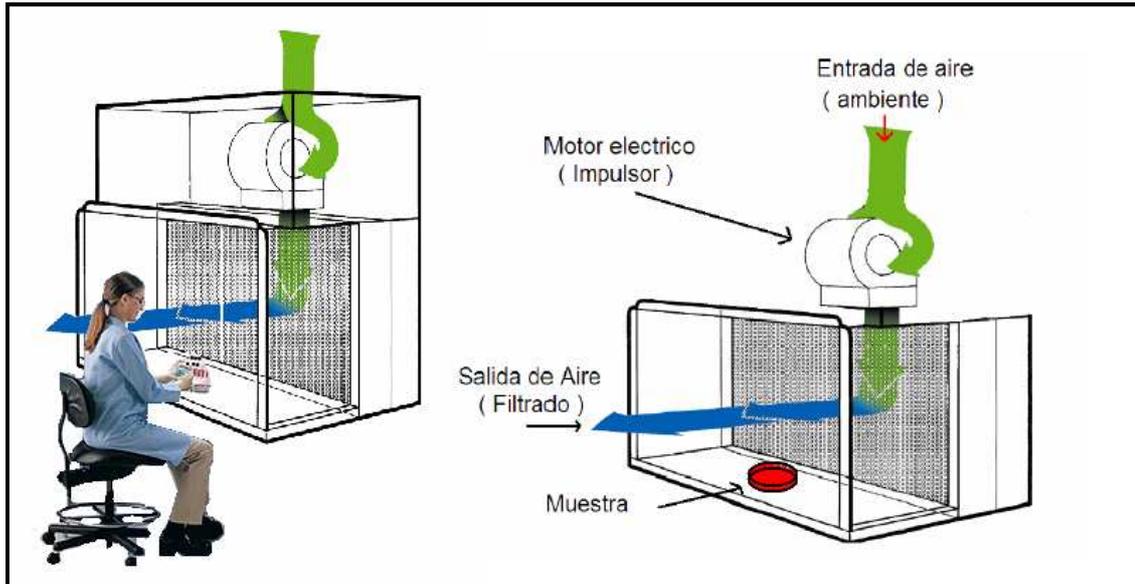
El primer procedimiento es introducción de aire estéril a través de filtros absolutos, ya que éstos retienen partículas desde 0.12 micras en adelante y su diseño interno obliga a las partículas a detenerse en el medio filtrante. La alta eficiencia de los filtros evaluada electrónicamente, permite asegurar este resultado.

El siguiente procedimiento es introducir esa masa de aire ultrafiltrado en un ambiente confinado a velocidades muy bajas, con lo cual el aire avanza en una sola dirección, tomando la forma de los objetos que encuentra a su paso por el área, evitando la contaminación exterior y aquella que podría provenir de los objetos dentro de la zona de trabajo.

En general, este tipo de unidad es idóneo para todas aquellas actividades que requieren esterilidad y que al mismo tiempo no son patógenas para el personal que opera el equipo. La cámara de flujo laminar horizontal protege fundamentalmente al producto.

Una de las grandes ventajas del flujo unidireccional (Flujo Laminar Horizontal) en la cámara, es su alto grado de libertad para operar, pues no tienen bocamangas o elementos que limiten la capacidad de acción del operador. ”³

³Características de CFLH ; <http://www.kalstein.net/tc/index.php?cPath=7>



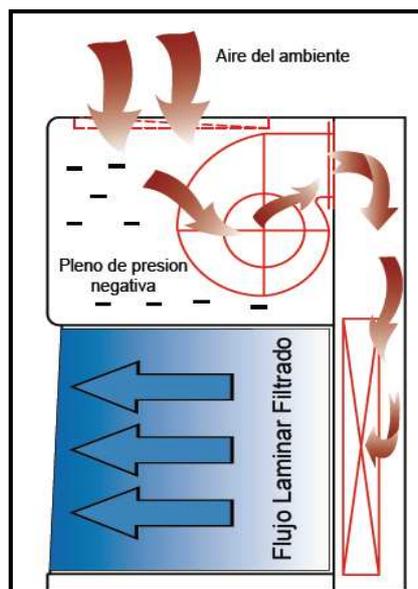
Fuente: Características de CFLH ; <http://www.kalstein.net/tc/index.php>

Fig. 1.3.2-1.- Diseño del funcionamiento

1.3.3. PERFIL DEL FLUJO DE LA CFLH

El flujo de aire de la cámara de flujo laminar horizontal tiene la siguiente trayectoria:

- Aire es forzado en forma uniforme a través del filtro; el resultado es la formación de un flujo laminar limpio que atraviesa la zona de trabajo de la cabina; esto diluye y elimina del interior de la cabina todo posible contaminante aéreo.
- Una velocidad frontal nominal del flujo del aire de 0.40 m/s o 90 fpm asegura una renovación suficiente de aire dentro de la zona de trabajo todo esto para mantener la esterilidad.
- El aire purificado cruza la zona de trabajo de manera de flujo horizontal unidireccional que se evacua completamente por los calados que pueden ser ubicados en la pared trasera de la zona de trabajo. Los calados están diseñados para eliminar la turbulencia producida y evitar la formación de zonas de aire muerto en las esquinas de la zona de trabajo.



Fuente: <http://www.escoglobal.com/es/biotech/product>

Fig. 1.3.3 -1.- Perfil de Flujo de la Cámara de flujo laminar horizontal⁴

1.3.4. COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CFLH

1.3.4.1. VENTEROL

“El venterol o ventilador un dispositivo mecánico para agitar o mover aire o gas. Básicamente crea una corriente de aire moviendo unas paletas o álabes. Fue Inventado en 1882 por el estadounidense Schuyler S. Wheeler. Se utiliza para desplazar aire o gas de un lugar a otro, dentro de o entre espacios, para motivos industriales o uso residencial, para ventilación o para aumentar la circulación de aire en un espacio. Es una turbo máquina que absorbe energía mecánica y la transfiere a un gas, proporcionándole un incremento de presión no mayor de 1000 mm H₂O aproximadamente.

⁴Cámara de flujo laminar; http://www.escoglobal.com/es/biotech/product_2_4.asp

En energía, los ventiladores se usan principalmente para producir flujo de gases de un punto a otro; es posible que la conducción del propio gas sea lo esencial, pero también en muchos casos, el gas actúa sólo como medio de transporte de calor, humedad, etc; o de material sólido, como cenizas, polvos, etc. Entre los ventiladores y compresores existen diferencias. El objeto fundamental de los primeros es mover un flujo de gas, a menudo en grandes cantidades, pero a bajas presiones; mientras que los segundos están diseñados principalmente para producir grandes presiones y flujos de gas relativamente pequeños. En el caso de los ventiladores, el aumento de presión es generalmente tan insignificante comparado con la presión absoluta del gas, que la densidad de éste puede considerarse inalterada durante el proceso de la operación; de este modo, el gas se considera incompresible como si fuera un líquido. Por consiguiente en principio no hay diferencia entre la forma de operación de un ventilador y de una bomba de construcción similar, lo que significa que matemáticamente se pueden tratar en forma análoga. También de forma secundaria, se utiliza el ventilador junto con un disipador o un radiador para aumentar la transferencia de calor entre un sólido y el aire, bien para refrigerar, bien para calentar cualquiera de los dos elementos en contacto.

1.3.4.1.1. VENTILADORES CENTRIFUGOS



Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Abanico>

Fig.1.3.4.1.1-1.- *Venterol o ventilador centrífugo*

Los ventiladores centrífugos son máquinas rotativas, robustas y versátiles, que mueven aire y diversos gases en múltiples aplicaciones industriales. El ventilador centrífugo consiste en una rueda con álabes (impulsor) que gira en una carcasa en forma de voluta. La corriente entra en el sentido del eje de la rueda y sale en el sentido radial, produciéndose así una desviación de 90°.

El aumento de presión se produce principalmente por la utilización de la fuerza centrífuga que despiden los álabes de la rueda en la dirección de la rotación. Los rodetes impulsores se fabrican casi siempre con chapa de acero, cuya calidad depende del fluido vehiculado.”⁵

1.3.4.2. LUZ ULTRAVIOLETA

“El *ultravioleta* es una región de energía del espectro electromagnético que yace entre la región de radiografía y la región visible. UV por sí misma yace en las gamas de 200 nanómetros a 390 nanómetros. El espectro UV se divide en cuatro regiones, que se designa el vacío UV, UV-A, UV-B, y UV-C. Nosotros particularmente nos enfocamos en los tres últimos. UV-A u onda larga ultravioleta, ocurre entre 325 y 390 nm, es representado por la luz solar. Este rango tiene poco valor germicida. UV-B u onda media ultravioleta ocurre entre 295 y 325 nm y es mejor conocido para su uso en lámparas. Estas ondas medias también se encuentran en la luz solar y proveen de algún efecto germicida si la exposición es suficiente. UV-C u onda corta ultravioleta ocurre entre 200 y 295 nm y es donde más ocurre el efecto germicida. La óptima acción UV germicida ocurre en 265 nm. Dado que la onda corta se filtra naturalmente por la atmósfera de la tierra, rara vez se encuentra sobre la superficie. Para tener ventajas del

⁵ Ventiladores; http://es.wikipedia.org/wiki/Abanico_el%C3%A9ctrico.

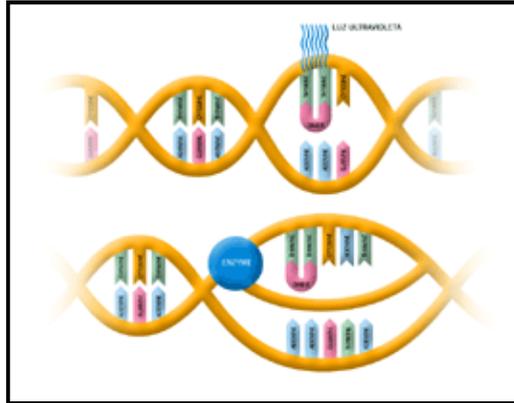
potencial germicida de UV-C, nosotros debemos buscar medios alternos de producción de luz UV. La producción de radiaciones de energía UV se logra por la conversión de energía eléctrica. Esta conversión se realiza con una lámpara de baja presión de vapor de mercurio. La luz UV se produce como resultado de la corriente de electrones al través del vapor ionizado de mercurio entre los electrodos de la lámpara (es de notar que el resplandor azulado dado por la lámpara UV se debe al gas dentro de la lámpara y no tiene acción germicida por sí mismo).

Estas lámparas UV son similares en el diseño a lámparas fluorescentes estándares con unas pocas diferencias notables. Las lámparas UV típicamente se fabrican con cristal duro de cuarzo a diferencia de cristal suave encontrado en lámparas fluorescentes. Este cuarzo permite una transmisión de energía radiada UV de 90%.⁶

1.3.4.2.1. EFECTO GERMICIDA DE U.V.

Los microorganismos comprenden una variedad amplia de estructuras únicas y pueden agruparse en cinco grupos básicos: bacterias, virus, hongos, protozoarios y algas. En términos simplistas, un microorganismo se constituye de la pared de célula, membrana citoplásmica y el material genético de célula, ácido nucleído. Es el material genético o DNA (ácido desoxirribonucleico) blanco para la luz UV. Como UV penetra la pared de célula y membrana citoplásmica, ocasiona una reestructuración molecular de DNA del microorganismo que así lo previene de reproducirse. Si una célula no puede reproducirse, se considera muerta.

⁶ Luz ultra violeta; http://www.acsmedioambiente.com/LoNuevo/luz_ultravioleta.htm



Fuente: http://www.acsmedioambiente.com/LoNuevo/luz_ultravioleta.htm

Fig.1.3.4.2-1.- *Destrucción de Microorganismos por radiación U.V.*

Debido a la construcción individual de célula, niveles diferentes de energía UV se requieren para la destrucción. Las lámparas UV emiten sobre 90% de su energía radiante en 253.7 nm, que es muy cerca del pico eficiencia germicida de 265 nm.

El grado de destrucción microbiológica es un producto de dos factores, que es la residencia real, o tiempo; y la intensidad, que es la cantidad de energía por unidad de área (calculada por dividir la producción en watts por el área de superficie de la lámpara). Este producto de intensidad y el tiempo es conocido como la dosis y se expresa en micro watts, segundos por centímetro cuadrado ($\mu\text{wseg}/\text{cm}^2$).

La radiación ultravioleta producida artificialmente en el espectro de 2.537 angstroms ha sido utilizada por su actividad germicida esterilizante por más de 30 años. En diciembre de 1985 Chang, Dorfman y Lobe declararon que la luz ultravioleta produce una inactivación de un 99.9% de las bacterias vegetativas. En el año 1987 Bonner realizaron un estudio demostrando cómo los más fuertes virus irradiados a una longitud de luz ultravioleta de 308 nm. Son inactivados significativamente y en contraste con ello las plaquetas y las proteínas plasmáticas son mínimamente afectadas. La inactivación de los microorganismos por los rayos UV, está en función de la dosis de energía radiante: la

efectividad de la aplicación de una determinada intensidad de radiación es propia del intervalo de tiempo, sin embargo, la dosis requerida para los diferentes microorganismos varía ampliamente. Las bacterias vegetativas son de tres a diez veces más susceptibles a la inactivación que las bacterias esporuladas; los hongos y las esporas son cien a mil veces más resistentes que las bacterias vegetativas. Las bacterias esporuladas sobre superficies de acero inoxidable requieren aproximadamente 800 W. min / cm² para su inactivación. Cuando se utiliza la luz ultravioleta, es muy importante que las lámparas sean limpiadas periódicamente con alcohol y se verifique su efectividad con cierta frecuencia. Para la aplicación de luz ultravioleta es necesaria una adecuada protección personal en particular la de los ojos. La luz ultravioleta de máxima intensidad puede generarse con lámparas de vapor de mercurio de baja presión con una emisión de 2.537 N, o sea, cerca del máximo de absorción de DNA por lo cual son lámparas germicidas. La radiación U.V. constituye una de las franjas del espectro electromagnético y posee mayor energía que la luz visible. El ADN expuesto a esta energía presenta un máximo de absorción, produciéndose una inactivación irreversible en el crecimiento de los gérmenes. ”⁷

1.3.4.3. FILTROS DE AIRE

“Un filtro de aire es un dispositivo que elimina partículas sólidas como por ejemplo polvo, polen bacterias del aire y otros. Los filtros de aire encuentran una utilidad allí donde la calidad del aire es de relevancia, especialmente en sistemas de ventilación de edificios y en motores tales como los de combustión interna, compresores de gas, compresores para bombonas de aire, turbinas de gas y cámara de flujo laminar.

⁷ Luz uv;http://www.sefitra.com/sefiltra_productos_equipos_ultravioleta.htm

1.3.4.3.1. FILTROS DE ALTA EFICIENCIA

El filtro es el componente más importante de las cabinas de flujo laminar con un amplio abanico de aplicaciones en campos como la microelectrónica, investigación científica y sanidad. También conocidos como filtros “absolutos”, fueron desarrollados durante la II Guerra Mundial para la eliminación de partículas radiactivas en la industria nuclear. Desde entonces, se han producido continuos avances con el fin de satisfacer la demanda de mayores eficacias contra partículas más pequeñas. Un filtro HEPA convencional consiste en una lámina continua de una fibra de vidrio especial plegada en forma de “V” con separadores de aluminio corrugado entre los pliegues. La técnica con la que se disponen estos pliegues es la que confiere la eficacia de separación de estos filtros. El filtro es desechable tipo seco, las micro fibras de vidrio pueden ser de silicato de boro fundido en una lámina delgada, similar a un pedazo de papel montado sobre un marco de aluminio. El filtro fue diseñado específicamente para proteger el sistema respiratorio del ser humano, tiene alta eficiencia en el control de partículas suspendidas, son conocidos como filtros absolutos debido a su eficiencia.

Actualmente son reconocidos por la Environmental Protection Agency (EPA) como el método probado más reciente para limpiar el aire. El filtro retiene y filtra todas las partículas del aire desde un tamaño de 0.3 micras con una eficiencia del 99.997%. Para preservar la vida útil, es importante el remplazo continuo de los pre-filtros de fibra de vidrio.”⁸

⁸ Filtración de alta eficiencia: <http://www.aquieta.com/afiltrolh.htm>



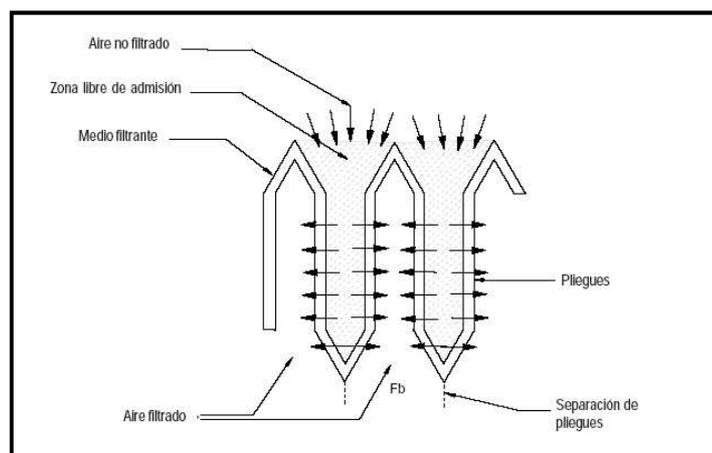
Fuente: <http://encolombia.com/orto12398eficacia.htm>

Fig.1.3.4.3.-1. Filtros de aire de elevadas eficiencias

Aunque el medio filtrante, permite retener microorganismos o partículas sostenidas en el aire de las dimensiones ya señaladas, no impide el paso directo de los gases.

En el interior del medio filtrante las partículas son retenidas por medio de cinco fenómenos bien diferenciados que son:

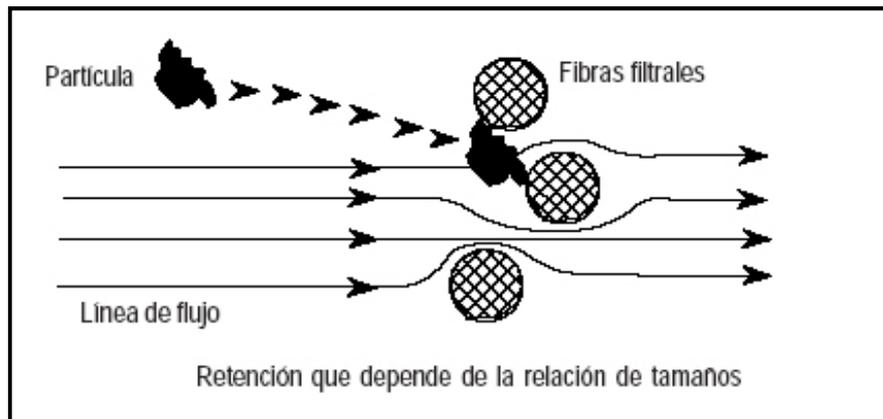
- **Sedimentación.** Ocurre cuando las partículas se depositan sobre el medio filtrante debido a las fuerzas gravitacionales.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-2. Corte filtro HEPA

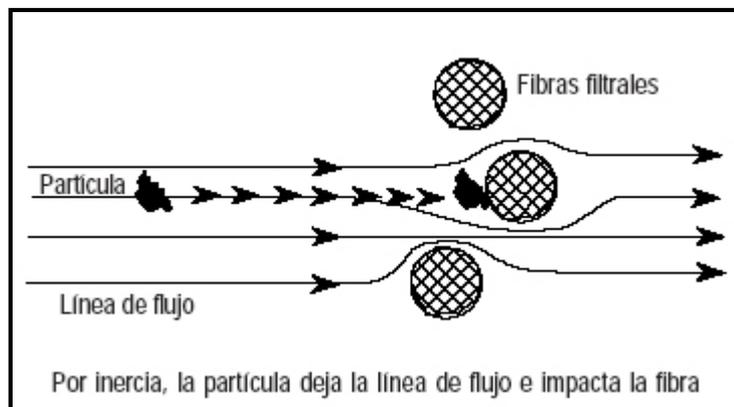
- **Atracción electrostática.** Ocurre cuando la partícula es atraída hacia el material filtrante como consecuencia de las cargas eléctricas opuestas entre el material filtrante y la partícula, cargas opuestas se atraen; cargas iguales, se repelen.
- **Intercepción.** Depende del tamaño de la partícula y se presenta cuando la partícula sigue las líneas de flujo hasta el material filtrante en donde es retenida.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-3. Intercepción de partículas en filtros HEPA

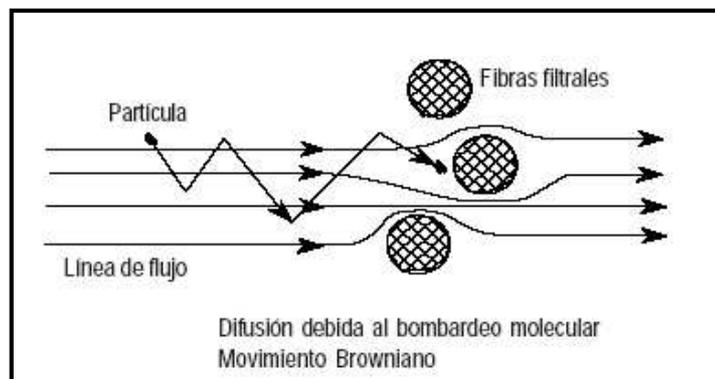
- **Impacto inercial.** Ocurre cuando una partícula deja las líneas de flujo y se estrella directamente contra el material filtrante.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-4. Impacto inercial en filtros HEPA

- **Difusión.** Fenómeno que afecta las partículas más pequeñas y que es influida por el movimiento Browniano. El Movimiento Browniano es la agitación desordenada, en zigzag, ejecutada por partículas extremadamente pequeñas que se hallan suspendidas en líquidos o en gases. El movimiento de las moléculas golpea aleatoriamente las partículas suspendidas, haciendo que las mismas se muevan continuamente.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-5 Difusión en filtros HEPA

Dependiendo de la configuración del filtro, de la dirección y de la magnitud del flujo, pueden lograrse diversos grados de protección al personal al ambiente o al producto.

1.3.4.3.2. CLASIFICACIÓN DE FILTROS DE ALTA EFICIENCIA

“Es frecuente encontrar un determinado número de inexactitudes y uso de un lenguaje incorrecto en la industria de la filtración "absoluta".

El CEN, Centro europeo de normalización, ha desarrollado la norma EN 1822-1:1998 que se basa en el recuento de partículas con el tamaño de partícula de mayor penetración (MPPS).

Esta norma europea se aplica a los filtros;

- High Efficiency Particulate Air (HEPA)
- Ultra Low Penetration Air (ULPA)

Utilizados en el sector de la ventilación y para determinados procedimientos técnicos por ejemplo, tecnología para salas limpias o aplicaciones en la industria nuclear o farmacéutica. Entre las definiciones claves de esta norma se incluyen:

- Penetración: relación entre el número de partículas contadas por debajo del filtro y el número de partículas contadas por encima.
- Eficacia: relación entre el número de partículas retenidas por el filtro y el número de partículas que traspasan el filtro.
- Eficacia/Penetración global: eficacia/penetración medida sobre la superficie de "inyección" de un elemento filtrante en unas condiciones determinadas de funcionamiento del filtro.
- Superficie frontal: parte del elemento filtrante que el aire atraviesa.
- Eficacia/Penetración local: eficacia/penetración en un punto específico de la superficie frontal del elemento filtrante en unas condiciones determinadas de funcionamiento del filtro.
- Umbral de fuga: penetración local superior o igual a cinco veces la penetración global de los filtros.

TIPO DE FILTRO	NORMA EN 1822	EFICIENCIA
HEPA	H10	85%
HEPA	H11	95%
HEPA	H12	99,5%
HEPA	H13	99,95%
HEPA	H14	99,995%
ULPA	U15	99,9995%
ULPA	U16	99,99995%
ULPA	U17	99,9999995%

Fuente: <http://encolombia.com/orto12398eficacia.htm>

Tabla 1.3.4.3.2-1 Clasificación de Filtros de elevadas eficiencias

1.3.4.3.3. NORMATIVA EUROPEA DE EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LOS FILTROS HEPA Y ULPA

Las denominaciones HEPA y ULPA se han definido en varias normativas europeas y americanas. Las normativas de los filtros HEPA y ULPA entre países no son comparables directamente, lo cual hace más difícil a los usuarios la selección de sus filtros. Además, los métodos modernos de producción de medios filtrantes y técnicas de fabricación hacen posible producir filtros HEPA y ULPA de alto rendimiento que ya no son clasificables según los diferentes test de medición usada, porque los equipos de

medición descritos en las normas no son suficientemente precisos para valorar estos filtros eficazmente.

Fine dust filters	EN 779 F 9					
HEPA / ULPA filters		H 10	EU 10	Q	EU 10	
		H 11	EU 11	R	EU 11	95 %
		H 12	EU 12	S	EU 12	99,97 %
		H 13	EU 13		EU 13	99,99 %
		H 14	EU 14		EU 14	99,999 %
		U 15	EU 15			
		U 16	EU 16			
		U 17	EU 17			
		EN 1822	DIN 24 183	DIN 24 184	BS 3928 and BSI-Dok. 90 / 73 834	Mil-STD 282

Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-6. Comparación de normas internacionales de clasificación de filtros

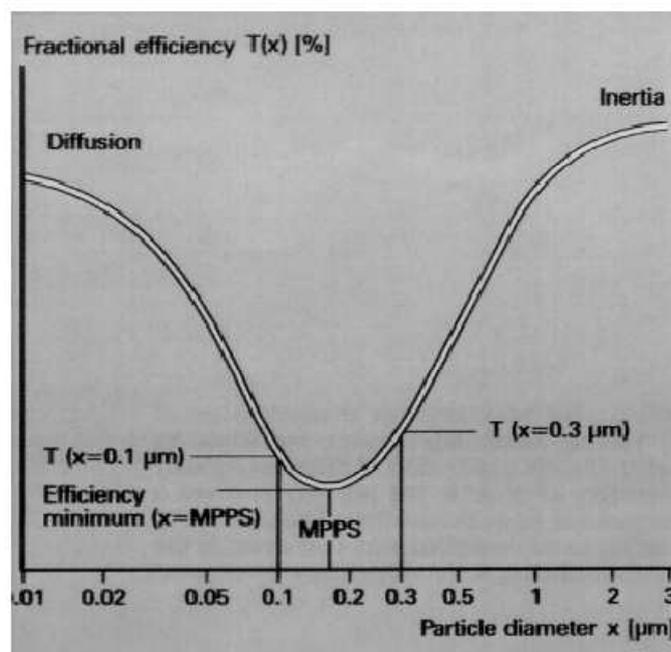
Para remediar este problema el Comité Alemán de Normalización para Ingeniería Mecánica NAM, desarrolló la nueva norma DIN 24183. Esta norma se introduce a nivel europeo como Normativa Europea EN 1822, bajo la protección CEN T195/WG2 (CEN, Comité Técnico 195, Grupo de Trabajo 2). Una de las mayores ventajas de la EN 779/DIN 24183 es la incorporación de técnicas de medición ultramodernas y procesos de ingeniería perspicaces. Esto no sólo permite clasificar metro lógicamente los filtros HEPA y ULPA hasta eficiencias 99,999995%, sino además describe una metodología de aseguramiento de la calidad.

La nueva norma europea EN 1822 designa como filtros HEPA las clases H10 a H14 y filtros ULPA las clases U15 a U17, a continuación se describe su principio.

El parámetro importante para un filtro es su eficiencia mínima. Sólo cuando se asegura la igualdad de eficiencias en dos filtros HEPA o ULPA pueden incluirse otros parámetros para su evaluación comparativa, como la pérdida de carga a un determinado caudal, o la distribución de velocidades a la salida del filtro, por ejemplo.

La base física para el estudio de la eficiencia es la curva de mínimo, que describe el comportamiento de separación de los filtros HEPA y ULPA, según el tamaño de partículas. La zona crítica de mínima eficiencia se encuentra entre las partículas de muy pequeño tamaño fácilmente retenidas gracias a movimiento oscilatorio (difusión) y las de gran tamaño retenido por su propia inercia.

La posición de la curva de mínimo para un filtro HEPA o ULPA depende de la velocidad de paso del aire a través del medio filtrante, o dicho de otra forma, del caudal. Para un filtro dado, cualquier cambio de la velocidad del aire de paso cambia la posición de la curva y por tanto, de la eficiencia mínima. El tamaño de partículas de mayor penetración a una determinada velocidad de paso a través del medio filtrante se denominan MPPS (*Most Penetration Particle Size*). La nueva normativa europea especifica la eficiencia en porcentaje referida a este valor MPPS.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-7. Curva de mínimo que describe la eficiencia fraccional del filtro.

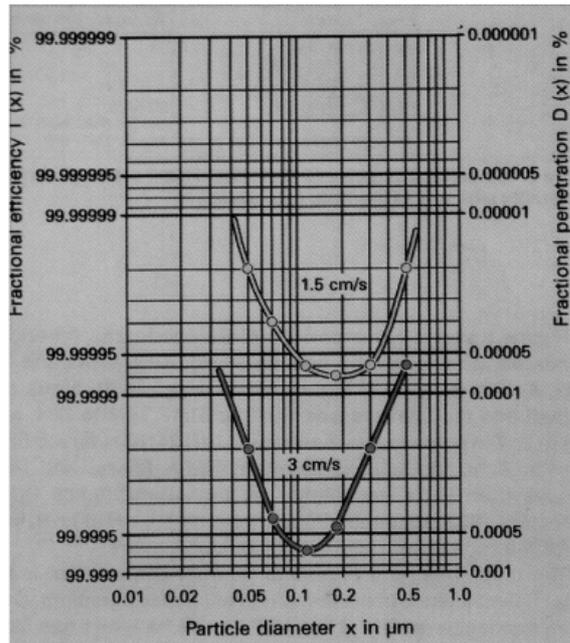
El principio general que se esconde aquí es que la capacidad de retención de un filtro HEPA o ULPA aumenta cuando la velocidad de paso a través del medio se reduce.

Este principio básico es un factor crucial en el desarrollo de nuevos filtros HEPA y ULPA dado que supone que la capacidad de retención puede aumentarse manteniendo constante el caudal, aumentando la superficie filtrante y por tanto, reduciendo la velocidad de paso a través del medio filtrante.

En la práctica, esto permite producir filtros HEPA y ULPA de distintas clases, usando el mismo medio filtrante y variando la superficie filtrante (la profundidad de los pliegues, por ejemplo).

En la figura se muestran dos “curvas de mínimo” a diferentes velocidades de paso a través del medio; a la velocidad de 3 cm/s tenemos una eficiencia mínima de 99,9993% (U15), mientras que a 1,5 cm/s se alcanza el 99,99992% (U16), lo cual supone una clase superior. Dado que en las clásicas aplicaciones de salas limpias se trabaja con velocidades a través del filtro de 0,40 m/s la velocidad de paso a través del medio puede alterarse variando la profundidad de los pliegues y por tanto la superficie filtrante efectiva.

En el análisis final, esto significa que la técnica de plisado es crucial cuando se discute sobre pérdidas de carga y los consiguientes costes energéticos en salas limpias a una determinada eficiencia especificada.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-8. Dos curvas de mínimo de un medio filtrante HEPA/ULPA a diferentes velocidades medias de paso

El medio filtrante de todos los filtros HEPA y ULPA es de papel de microfibras de vidrio en forma plisada o plegada, para ofrecer una máxima superficie filtrante. El punto central en la fabricación de un filtro HEPA o ULPA es la manera de separar los pliegues, que debe minimizar los contactos con la consiguiente reducción de superficie filtrante efectiva.

La técnica de separación utilizada es crucial para la configuración del flujo del aire a través del filtro y para el ratio entre la superficie de filtración total y la efectiva. Los dos factores últimos son importantes para la pérdida de carga de un filtro HEPA/ULPA para una eficiencia dada. Las técnicas de separación utilizadas en los filtros HEPA y ULPA disponibles en el mercado son en orden cronológico de su desarrollo:

- La técnica del separador.
- La técnica de *mini-pleat* o hilo.
- La técnica del conformado.
- La técnica del termo-grabado.

La técnica del separador es el método más antiguo de plegado del medio filtrante. Normalmente se utiliza aluminio corrugado que se inserta como separador entre las capas del papel filtrante. El principio se muestra en la figura 4. Estos filtros tienen una elevada pérdida de carga dado que no pueden aumentar la superficie filtrante juntando más los pliegues.

Además, existe un riesgo importante de daño al medio filtrante durante su transporte e instalación, dado que los bordes cortantes de los separadores pueden rasgarlo.

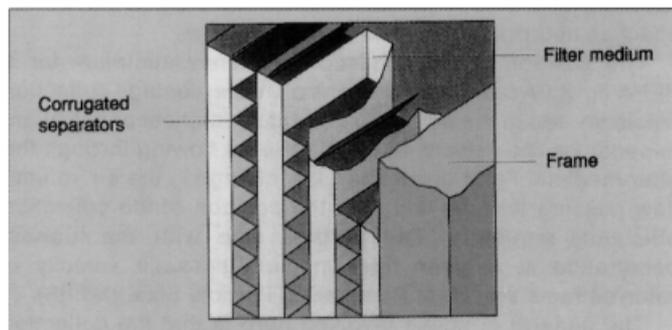
La eliminación de estos filtros es cada vez más problemática, dado que a menudo las partes de aluminio deben ser separadas del medio filtrante y del marco.

La técnica del *mini-pleat* fue desarrollada específicamente para superar los inconvenientes de los filtros de separadores, respondiendo a los requerimientos impuestos por los usuarios de salas limpias en las industrias farmacéuticas y microelectrónica. Cuando se construye el paquete plisado se adhieren al medio filtrante cordón de cola en caliente (o algodón o fibra de vidrio impregnada de cola) antes de ser plisado.

Tras el plegado, los hilos se tocan entre ellos manteniendo el medio filtrante separado. En la figura se esquematiza esta técnica. Su mayor ventaja es la eliminación de los separadores metálicos. Comparados con los filtros de separadores, el inconveniente es la limitación de la profundidad de los pliegues. Mientras que en los filtros de separadores podemos alcanzar una profundidad de 280 mm, la tecnología *mini-pleat* permite como

máximo 130 mm de profundidad. Para conseguir pérdidas de carga reducidas, principalmente en los filtros H10 a H13, se disponen paquetes plisados en forma de V como se ve en la figura esta variante permite reducir la pérdida de carga, pero resulta un filtro muy laborioso y costoso.

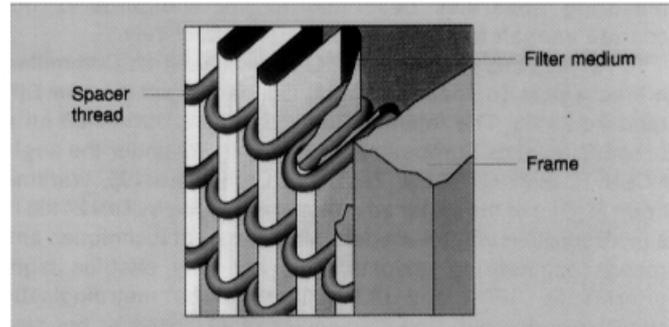
La elevada cantidad de cola de sellado necesaria, hace un filtro pesado y difícil de manejar. Además, según la nueva norma EN 1822 no permite su evaluación y correspondiente certificación en el test de fugas.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

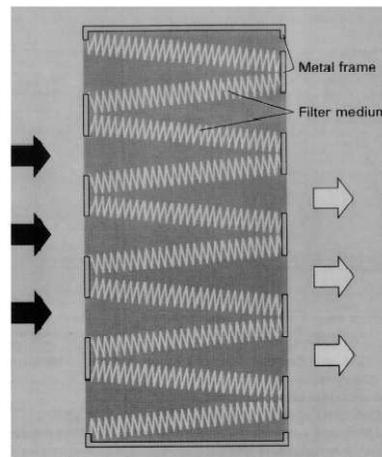
Fig.1.3.4.3.-9. Esquema de un filtro de separadores

En estos filtros en V no es posible además utilizar materiales de los marcos más económicos, debido a los problemas de sellado entre los paquetes plisados y el marco. Los filtros en V no pueden utilizarse en aplicaciones de flujo laminar debido al doble cambio de dirección al que es obligado a realizar el aire al pasar por el medio filtrante; además los soportes verticales de los paquetes plisados no permiten conseguir condiciones de caudal de baja turbulencia



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-10. Esquema de un filtro mini-pleat



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-11. Esquema visto en planta de un filtro minipleat en V

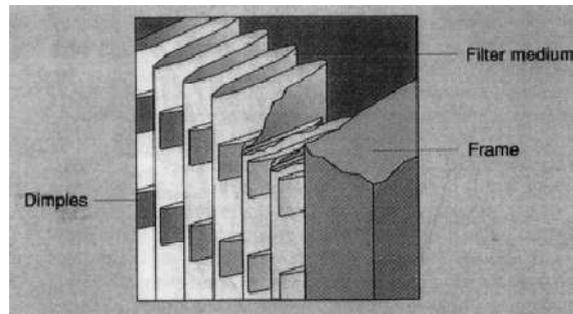
Todo esto supone que las sofisticadas salas limpias con flujos laminares (no turbulentos) han sido limitados a utilizar filtros *mini-pleat* con una profundidad de pliegues máxima de 130 mm.

De cara a combinar las ventajas de las dos técnicas anteriores: separadores y *mini-pleat*, se desarrolló otra técnica. El objetivo era conseguir máximas profundidades de pliegues pero sin utilizar separadores de otros materiales. Los primeros filtros desarrollados con estas directrices fueron fabricados mediante la técnica del conformado, mediante la cual al papel filtrante todavía húmedo se le realizaban unas hendiduras convexas, las cuales

se tocaban entre ellas cuando el papel era plisado y mantenían el medio separado. El paquete se secaba tras su plisado y entonces era fijado al marco. En la figura se puede apreciarse el principio de forma esquemática. Sin embargo, la necesaria producción del papel filtrante y las de los propios filtros en el mismo sitio y al mismo tiempo, hace que sea un proceso nada flexible, casi imposible de llevar a la práctica. Además existe una posibilidad de que las hendiduras que se tocan entre ellas puedan rozar durante su funcionamiento provocando que alguna microfibra de vidrio se desprenda y pase a la zona limpia. Las evidentes ventajas de la técnica de conformado con profundos pliegues y la eliminación de separadores han sido incorporados a la última tecnología de construcción: la técnica de termo-grabado, en la cual el medio filtrante acabado y con un ligante termoplástico es calentado y grabado en caliente.

Un par de rodillos de grabado complementarios marcan las hendiduras cónicas que harán de separadores, y los extremos de los pliegues para el consiguiente plegado. Después del grabado, el medio filtrante es plegado suavemente sin ningún esfuerzo mecánico, sencillamente empujando, los pliegues se crean automáticamente. Los pliegues se fijan mediante un adhesivo que se ha colocado en las cavidades antes del plegado y que evita que el medio filtrante roce con él mismo. Posteriormente se adhiere un cordón plástico en los extremos de los pliegues para fijar el paquete plisado en la dirección de la maquina. La figura se muestra un diagrama de los principios involucrados en la producción de un filtro HEPA/ULPA mediante la nueva técnica del termo-grabado. Esta técnica de termo-grabado permite profundidades de pliegues hasta 280 mm. La excelente estabilidad del paquete plisado permite producir filtros HEPA/ULPA de anchura de 1.220 mm y longitud de 1.830 mm en una sola pieza.

Esta posibilidad es importante para aplicaciones de flujo laminar, porque permite grandes zonas de flujo sin turbulencias producidas por las divisiones intermedias.

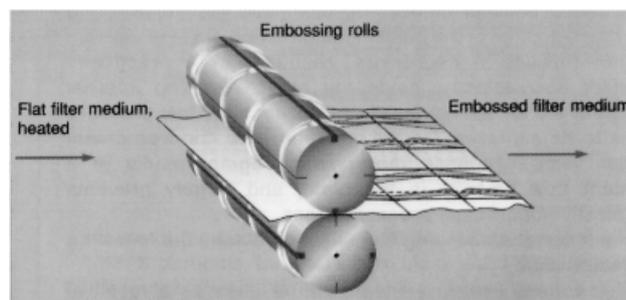


Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-12. Esquema de un filtro conformado

Para la pérdida de carga del filtro HEPA/ULPA es vital la forma de los pliegues así como su profundidad, siendo la forma en V de los pliegues la más óptima. Esto ofrece al aire una máxima sección libre de entrada y mantiene la velocidad del aire casi constante hacia la zona final del pliegue. La forma de los rodillos de grabado obliga a los pliegues a adoptar una configuración en forma de V.

La figura se muestra el flujo del aire en una geometría en forma de V comparada con la geometría de pliegues paralelos que tenemos con las técnicas de separadores y *mini-pleat*.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-13. Proceso de termo-grabado

En estas dos técnicas de separadores y *mini-pleat* el aire es acelerado al entrar al pliegue debido a que la zona de entrada es relativamente pequeña; posteriormente la velocidad del aire sufre una desaceleración a lo largo del pliegue como resultado de una sección constante. En el lado del aire limpio el proceso se repite pero a la inversa cuando el aire sale del pliegue. Esta aceleración del aire a la entrada y salida del pliegue causa unas pérdidas por fricciones internas y consecuentemente más pérdida de carga.

Con la técnica del termo-grabado, contrariamente, la sección libre de entrada del pliegue en la dirección del aire decrece hacia su fondo, con lo cual conseguimos prácticamente una velocidad constante en el interior del pliegue; esto evita las pérdidas internas por fricción y reduce la pérdida de carga del filtro. En el lado limpio la sección libre aumenta de nuevo resultando asimismo una velocidad de salida constante, lo cual evita incrementos de pérdida de carga.

La técnica de termo-grabado combina las características:

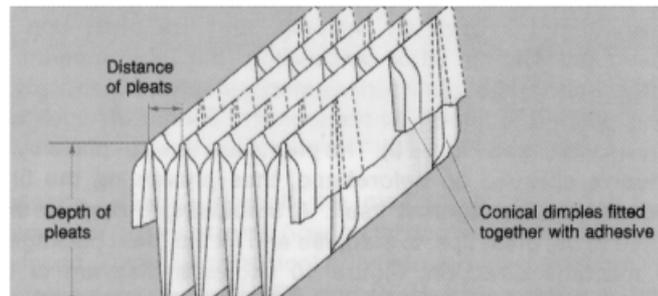
- Elevados caudales, dado que se consiguen pliegues de hasta 280 mm.
- Reducidas pérdidas de carga, dada la gran profundidad de pliegues.
- Reducidas pérdidas de carga por la geometría de los pliegues en forma de V.
- Reducidas turbulencias, dada la geometría precisa con pliegues equidistantes.
- Producción de paquetes plisados de ancho 1.220 mm.
- Elevada utilización del área filtrante instalada.
- No utilización de materiales extraños como separadores.
- Plegado sin tensiones del medio filtrante al hacerse en caliente, con lo que se evitan micro roturas en los extremos de los pliegues.

Esto ofrece las ventajas siguientes para las salas limpias:

- Reducción de costes energéticos, dada la menor pérdida de carga.

- Evita problemas de corrosión al usar filtros sin separadores metálicos y marcos anticorrosión.
- Elevado grado de laminaridad a la salida del aire.
- Reducción del riesgo de daño del filtro durante su manipulación y transporte.

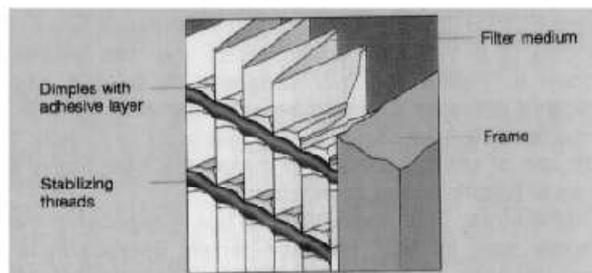
La nueva norma europea EN 1822 describe no sólo la forma de determinar la eficiencia y la consiguiente clasificación de los filtros HEPA/ULPA, sino además la detección de fugas y el aseguramiento de su calidad. De la clase H13 hacia arriba se requieren tests individuales. Pueden utilizarse dos métodos: los filtros H13 y H14 pueden probarse con lo que se denomina *oil mist test*.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-14. Plegado suave tras el grabado

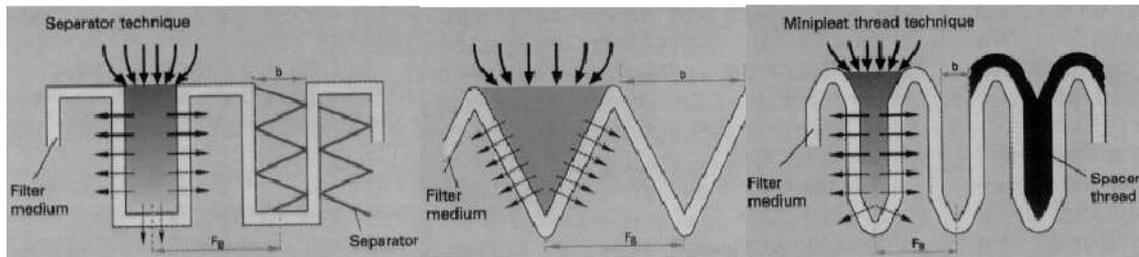
La unidad probada se posiciona horizontalmente y se carga con una niebla de aceite de parafina de elevada concentración, y mediante una inspección visual se reconocen los hilos de niebla que atraviesan el filtro. Cada hilo indica la posición de una fuga.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

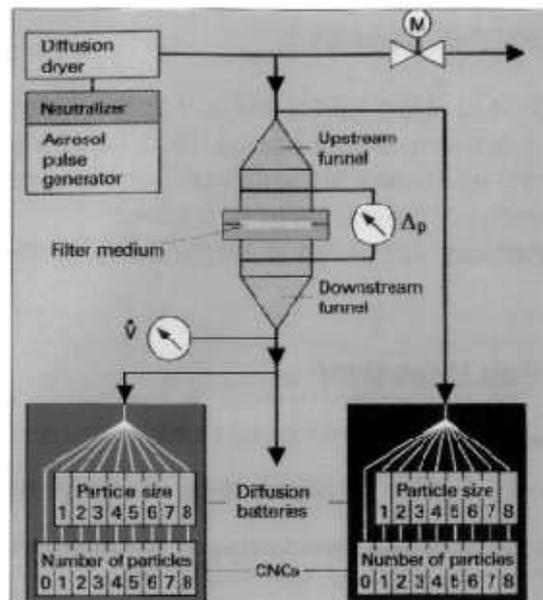
Fig.1.3.4.3.-15. Esquema de un filtro producido mediante el proceso de termo-grabado

Para los filtros ULPA a partir de U15 se requiere un control con contador de partículas. El método de contaje de partículas se recomienda también para la prueba de fugas en los filtros HEPA de clase H14. En este proceso la concentración de aire limpio de partículas MPSS se determina tras haber sometido el filtro a una cantidad suficiente de aerosol a la entrada.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-16. Técnica de construcción de paquetes filtrantes plisados a las características de paso del aire: (a y b) geometría paralela, y (c) geometría en forma de V. Aquí b es zona libre de admisión y FB es la separación de pliegues.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-17. Diagrama funcional

Si se excede un valor límite (calculado entre la concentración de entrada y la eficiencia local mínima) indicaría una fuga. El método de conteo de partículas no es sólo preciso, sino que ofrece además la situación de las fugas en cada filtro; estos aparatos de medición son capaces de determinar la eficiencia conjunta y la mínima eficiencia. La eficiencia conjunta o eficiencia integral se calcula como el valor medio de las eficiencias locales. Para la determinación de la eficiencia y para encontrar las fugas mediante el contador de partículas, la nueva norma europea especifica el procedimiento siguiente:

- Averiguar la eficiencia mínima (MPPS) a una determinada velocidad de paso a través del medio filtrante plano.
- Escaneado del filtro acabado sometido a caudal nominal usando partículas MPPS. El caudal nominal debe ser equivalente a la velocidad de paso a través del medio a la cual se ha determinado el valor MPPS.
- La eficiencia local con partículas MPPS no debe ser inferior al límite especificado para cada clase filtrante.
- La eficiencia integral como media de los valores locales determina la clase del filtro.

Tabla 1.3.4.3-1 Eficiencias Integrales de cada clase

Clase de filtro		VALOR INTEGRAL		VALOR LOCAL*	
a DIN 24183	a EN 1822	Nivel de eficiencia (%) para MPPS	Penetración para MMPS (%)	Nivel de eficiencia (%) para MPPS	Penetración para MMPS (%)
EU10	H10	85	15	—	—
EU11	H11	95	5	—	—
EU12	H12	99,5	0,5	97,5	2,5
EU13	H13	99,95	0,05	99,75**	0,25**
EU14	H14	99,995	0,005	99,975	0,025
EU15	H15	99,9995	0,0005	99,9975	0,0025
EU16	H16	99,99995	0,00005	99,99975	0,00025
EU17	H17	99,999995	0,000005	99,9999	0,0001

*: La valoración de fugas puede verificarse utilizando el test *oil mist*
 **: Para EN 1822, este valor puede establecerse como 99,90 y 0,10 respectivamente

Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

La tabla nos da una visión de las eficiencias integrales que cada clase debe alcanzar además de los valores límites para eficiencias locales que representan los valores límites a partir de los cuales se considera filtro con fugas no apto.

Esto conlleva al siguiente procedimiento para asegurar la calidad en la producción de un filtro HEPA/ULPA:

- Monitorización regular del papel filtrante para:

- La pérdida de carga.

- La eficiencia en la eficiencia mínima (MPPS) a la velocidad de paso derivada del caudal nominal del filtro acabado.

- Asegurar que no hay fugas en los filtros clase H13 mediante pruebas individuales usando el *oil mist test*.

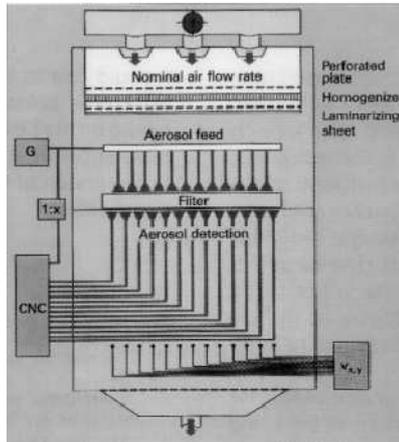
- Medir la eficiencia local de cada filtro producido mediante el escaneado con partículas MPPS para asegurar la ausencia de fugas.

- Determinar la eficiencia integral como valor medio de las eficiencias locales, escaneando con partículas MPPS para filtros de clase superior a H14.

La figura se muestra un nuevo y sofisticado equipo de test con 18 canales de Contadores de Núcleos de Condensación (CNC) con una batería de difusión antes del filtro desarrollado para realizar los test del medio filtrante con los seguimientos de la pérdida de carga y eficiencia. Con este equipo se puede determinar de forma rápida la curva de mínimo a una determinada velocidad de paso de aire.

Dado que los CNC sólo pueden medir el número de partículas involucradas, pero no pueden diferenciar los diferentes tamaños de partículas, se dispone de una adecuada batería de difusión para la clasificación. El test proporciona curvas de mínimo como las que veíamos en la figura anterior. El equipo de test *multi-scan* es especialmente

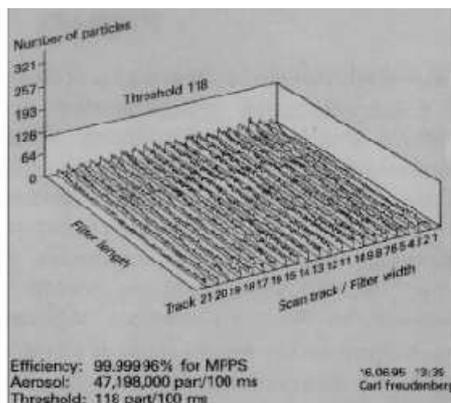
adecuado para escanear filtros ULPA de clase a partir de U15. Este equipo de test utiliza sofisticados sistemas de medida con CNC y minimiza la contaminación del filtro tras la acción del aerosol de test DEHS (*Diethylhexyl-sebacate*).



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-18. Diagrama funcional del multi-scanner

En procesos convencionales de escaneado, el filtro es expuesto a elevadas concentraciones de aerosol de test en toda la superficie del lado de entrada de aire, mientras en el lado limpio de salida se va moviendo la toma de muestras por toda la superficie. El *multiscanner*, contrariamente, trabaja con 31 CNC simultáneamente que se mueven, de forma paralela barriendo toda la superficie del filtro en una pasada.



Fuente: Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik".

Fig.1.3.4.3.-19. Ejemplo de un informe del multi-scanner que da la eficiencia integral y los resultados de detección de fugas

Simultáneamente en el lado de entrada el filtro es expuesto localmente al aerosol test sólo en los puntos donde se está midiendo a la vez en el lado limpio. El aerosol se aplica simultáneamente en todo el ancho del filtro con las tomas de muestras situadas en una configuración tipo rastrillo. Además de medir la eficiencia con partículas MPPS mediante contadores de partículas, el sistema determina también otros parámetros como la pérdida de carga y la velocidad de distribución del aire de salida en el lado limpio.

La configuración horizontal del filtro es particularmente ventajosa dado que la mayoría de filtros ULPA de alto rendimiento se utilizan en aplicaciones que suponen caudales con reducidas turbulencias, con filtros de techo de salas limpias o bancos de flujo laminar en disposición horizontal; el test es por tanto muy realista.

La figura se muestra un típico informe realizado con el *multiscanner*, con el valor límite incluido para la definición de las fugas. La eficiencia integral calculada se muestra abajo a la izquierda del informe. Estos informes son muy útiles cuando se especifica una documentación especial, como es el caso de zonas muy sensibles en la industria farmacéutica y microelectrónica. La nueva técnica de termo-grabado combina las ventajas de las técnicas de separadores, *mini-pleat* y de conformado en frío. Sin el uso de ningún material extraño como separadores, se pueden hacer pliegues de hasta 280 mm de profundidad, logrando unos filtros más ecológicos y con reducidas pérdidas de carga. La geometría en forma de V de los pliegues asegura un flujo homogéneo a través del medio filtrante y reducción de turbulencias en el lado limpio. La excelente estabilidad del paquete plisado permite producir filtros en ancho hasta 1.220 mm y longitud hasta 1.830 mm. de una pieza y sin sopores de conexión intermedios.

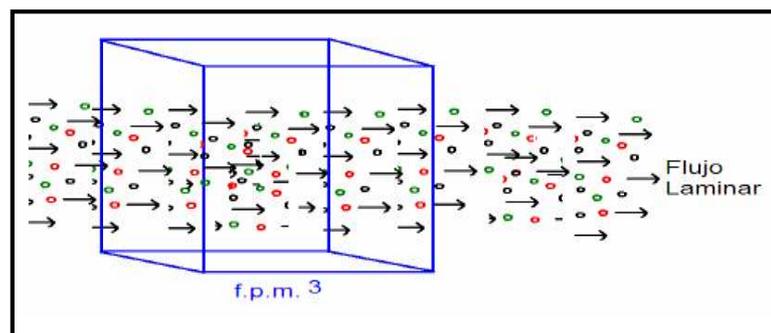
El nuevo test *multi-scan* se usa para asegurar la calidad y certificar los filtros de acuerdo con la nueva normativa europea EN 1822 mediante el uso de una sofisticada tecnología

de medición con una batería de 31 canales de Contadores por Núcleos de Condensación (CNC). Estas innovaciones constituyen un paso adelante en el desarrollo de filtros HEPA y ULPA.”⁹

1.3.4.3.4. FLUJO LAMINAR

“El flujo laminar consiste en el desplazamiento de un determinado caudal de aire en movimiento paralelo impulsado a una velocidad y volumen constante.

Esto se consigue a velocidades uniformes de entre 0,25m/s a 0,60m/s. evitando que las partículas en el aire cambien su sentido de dirección y se formen turbulencias.



Fuente: <http://encolombia.com/orto12398eficacia.htm>

Fig.1.3.4.3.4-1. Flujo laminar.

La corriente laminar es el tipo de movimiento de un fluido cuando éste es perfectamente ordenado, estratificado, de manera que el fluido se mueve en láminas paralelas sin entremezclarse si la corriente tiene lugar entre dos planos paralelos, o en capas cilíndricas coaxiales. El flujo laminar se da en fluidos con velocidades bajas o viscosidades altas, cuando se cumple que el número de Reynolds es inferior a 2000.

⁹Normativa de Filtros HEPA y ULPA; Schroth, T. "Neue Schwebstoff-filter für die Reinraumtechnik". Swiss Contamination Control.

Se caracteriza porque el movimiento de las partículas del fluido se produce siguiendo trayectorias bastante regulares, separadas y perfectamente definidas dando la impresión de que se tratara de laminas o capas más o menos paralelas entre si, las cuales se deslizan suavemente unas sobre otras, sin que exista mezcla macroscópica o intercambio transversal entre ellas. La ley de Newton de la viscosidad es la que rige el flujo laminar esta ley establece la relación existente entre el esfuerzo cortante y la rapidez de deformación angular. La acción de la viscosidad puede amortiguar cualquier tendencia turbulenta que pueda ocurrir en el flujo laminar. En situaciones que involucren combinaciones de baja viscosidad, alta velocidad o grandes caudales, el flujo laminar no es estable, lo que hace que se transforme en flujo turbulento.”¹⁰

“La técnica del Flujo Laminar, permite controlar la contaminación microbiológica en el aire con la introducción de aire estéril por medio de filtros absolutos. Introducir esa masa de aire ultra filtrado en un ambiente confinado a velocidades muy bajas.”¹¹

1.3.4.3.5. CLASES DE PUREZA DE AIRE

“Nuestro medioambiente contiene grandes cantidades de agentes contaminantes tanto gaseosos como sólidos (partículas). La aplicación de sistemas de “aire limpio”, basados en el flujo de aire en régimen laminar, y las tecnologías de contención de contaminantes son esenciales para abordar la problemática de la contaminación por partículas.

Un adulto vestido con ropa normal emite alrededor de 9 millones de partículas por minuto en un rango de tamaño comprendido entre las 0,5 y 100 μ m. Las personas son, por tanto, la mayor fuente de contaminación en salas limpias, siendo responsables de aproximadamente el 80% del total de partículas suspendidas.

¹⁰ Flujo laminar http://es.wikipedia.org/wiki/Corriente_laminar

¹¹ <http://www.geocities.com/mycotechmillenium/Campanas.html>

Clasificación ISO	0.1µm	0.2µm	0.3µm	0.5µm	1µm	5µm
Clase ISO 1	10	2	0	0	0	0
Clase ISO 2	100	24	10	4	0	0
Clase ISO 3	1.000	237	102	35	8	0
Clase ISO 4	10.000	2.370	1.020	352	83	0
Clase ISO 5	100.000	23.700	10.200	3.520	832	29
Clase ISO 6	1.000.000	237.000	102.000	35.200	8.320	293
Clase ISO 7	10.000.000	2.370.000	1.020.000	352.000	83.200	2.930
Clase ISO 8	100.000.000	23.700.000	10.200.000	3.520.000	832.000	29.300
Clase ISO 9	1.000.000.000	237.000.000	102.000.000	35.200.000	8.320.000	293.000

Fuente: Filtración <http://www.cruma.es/filtracion/filtracion+aire>

Tabla 1.3.4.3.5.-1. Número de partículas por metro cúbico por tamaño en micrómetros

Esta tabla representa los valores máximos de concentración de partículas por m³ de igual o mayor tamaño al expresado en el encabezamiento de cada columna.

Las clases de pureza de aire que definen la limpieza del aire, en términos del número de partículas de un tamaño dado por unidad de volumen que se encuentran en él, se han desarrollado y recogido en varias normas internacionales. La US Federal Standard 209 (ya en desuso y obsoleta) fue la primera y después se editaron otras como la Australian Standard AS1386 y la British Standard BS5295, hasta la aparición en 1999 de la más reciente, la EN-ISO-14644-1 establecida en la tabla anterior. “¹²

“La norma ISO 14644-1 cubre la clasificación de la limpieza del aire en las salas limpias y otros entornos controlados. La clasificación de esta norma se basa

¹² Filtración <http://www.cruma.es/filtracion/filtracion+aire>

exclusivamente en la concentración de partículas en suspensión. Además, las únicas poblaciones de partículas que se tienen en cuenta para la clasificación son las de distribución acumulativa basada en umbrales (límite inferior) de 0,1 μm a 5 μm .”¹³

1.4. BIOSEGURIDAD

“El significado de la palabra bioseguridad se entiende por sus componentes: “bio” de bios (griego) que significa vida, y seguridad que se refiere a la calidad de ser seguro, libre de daño, riesgo o peligro. Por lo tanto, bioseguridad es la calidad de que la vida sea libre de daño, riesgo o peligro. La bioseguridad es un requisito fundamental para conseguir los objetivos establecidos en el marco estratégico para la FAO, mediante la promoción, el mejoramiento y el fortalecimiento de los marcos normativos y reglamentarios para la alimentación, agricultura, pesca y la silvicultura. La bioseguridad tiene una importancia directa para la seguridad alimentaria, la conservación del medio ambiente (incluida la biodiversidad) y la sostenibilidad de la agricultura. Comprende todos los marcos normativos y reglamentarios para actuar ante los riesgos asociados con la alimentación y la agricultura.”¹⁴

1.4.1. NIVELES DE BIOSEGURIDAD:

NIVEL 1

Nivel básico de Standard de prácticas microbiológicas donde no se recomienda barreras primarias (disposición o almacenamiento de materiales biológicos peligrosos) o secundarias (guantes).

NIVEL 2

Prácticas, equipos y facilidades para procedimientos clínicos o diagnósticos.

¹³ ISO 14644-1 ;http://www.camfilfarr.com/cou_espana/filtertechnology/indspec/ISO14644_1.cfm

¹⁴ GRAIN, "UPOV: Verdad y consecuencia". Bioseguridad; 1996, Pp. 29-36.

NIVEL 3

Prácticas, equipos y facilidades para procedimientos clínicos o diagnósticos de infecciones potencialmente letales (tuberculosis).

NIVEL 4

Prácticas, equipos y facilidades para procedimientos clínicos o diagnósticos de infecciones sin terapia disponible (rabia).”¹⁵

1.4.2. NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD

Las siguientes medidas son de obligado cumplimiento en cualquier área del laboratorio:

- El acceso al laboratorio estará limitado al personal autorizado.
- No deben entrar en el mismo familiares ni amigos.
- El personal del laboratorio debe implicarse en el cumplimiento de las normas de seguridad.
- Todas las áreas estarán debidamente marcadas con la señal de riesgo biológico y su nivel de contención.
- Las puertas y ventanas deben permanecer cerradas para mantener la adecuada contención biológica.
- Todas las superficies de trabajo se limpiarán y desinfectarán diariamente y siempre que se produzca un derrame. Los residuos y muestras peligrosas que van a ser incinerados fuera del laboratorio deben ser transportados en contenedores cerrados, resistentes e impermeables siguiendo las normas específicas para cada tipo de residuo.

¹⁵ Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service (4ª ed.). Washington, 1999.

- El laboratorio debe permanecer limpio y ordenado y no es aconsejable utilizar los pasillos como almacén. Siempre debe quedar un espacio libre no inferior a 120 cm para poder evacuar el laboratorio en caso de emergencia.
- El transporte de las muestras dentro o entre laboratorios se realizará de tal manera que, en caso de caída, no se produzcan salpicaduras. Lo recomendable es hacerlo en cajas herméticas o neveras transportables. Estas cajas o neveras deberán ser rígidas y resistentes a los golpes, contar con materiales absorbentes en su interior y de fácil desinfección. Se etiquetarán o identificarán de forma oportuna y no podrán ser utilizadas para otros fines.
- La ropa protectora, fácilmente ajustable y confortable, así como guantes, gafas, etc. debe estar disponible en todo momento.
- Todo el personal debe poner especial cuidado en evitar el contacto de la piel con materiales potencialmente infecciosos. Con este fin deben usarse guantes cuando se manipulen muestras o cultivos que contengan posibles patógenos. Los guantes siempre serán desechados antes de salir del área de trabajo.
- Tras quitarse los guantes, se realizará un lavado de manos.
- Se usarán gafas protectoras y mascarillas faciales si existe riesgo de salpicaduras y/o aerosoles.
- Los derrames y accidentes deben ser informados inmediatamente al Supervisor y al Jefe del Laboratorio y hacerse constar por escrito.
- Está rigurosamente prohibido pipetear con la boca. Se realizará pipeteo automático con material adecuado y cada trabajador será instruido para manejarlo debidamente.
- En la zona de trabajo no debe colocarse material de escritorio ni libros ya que el papel contaminado es de muy difícil esterilización.

- El personal con el cabello largo debe llevarlo recogido.
- Comer, beber, fumar y aplicarse cosméticos esta formalmente prohibido en el área de trabajo del laboratorio, así como el almacenamiento de comida o bebida.
- El personal debe lavarse las manos frecuentemente durante las actividades rutinarias, tras acabar la jornada laboral y siempre antes de abandonar el laboratorio (almorzar). Se usará un jabón antiséptico y el secado se realizará con papel.
- Las heridas y cortes en las manos, si se han producido en el Laboratorio, serán comunicados al responsable de la Sección correspondiente, así como al Supervisor de Bioseguridad que lo registrará haciendo constar todas las circunstancias. Las heridas y cortes deben ser convenientemente vendados y después es imprescindible ponerse guantes.

La seguridad Biológica se fundamenta en tres elementos:

1. De las técnicas de laboratorio:

El elemento más importante para contener los riesgos biológicos es el seguimiento estricto de las prácticas y técnicas microbiológicas. Como parte de estas prácticas está el desarrollo o adopción por parte de cada laboratorio de un Manual de Seguridad Biológica en la que se identifican los riesgos que pueda sufrir el personal y que especifique los procedimientos que puedan minimizar esos riesgos.

2. De los equipo de seguridad (barreras primarias):

Tal y como su nombre indica, las llamadas barreras primarias son la primera línea de defensa cuando se manipulan materiales biológicos que puedan contener agentes patógenos. El concepto de barrera primaria podría asimilarse a la imagen de una "burbuja" protectora que resulta del encerramiento del material considerado como foco

de contaminación. El ejemplo más claro de contención primaria lo constituyen las cámaras de flujo laminar.

Cuando no es posible el aislamiento del foco de contaminación, la actuación va encaminada a la protección del trabajador mediante el empleo de prendas de protección personal. En la mayoría de las ocasiones se practica la combinación de ambos tipos de medidas, tal como puede ser el empleo de la cabina junto con guantes y mascarilla. Todo ello sin olvidar que la máxima contención del riesgo biológico sólo se da cuando, además, se emplean las técnicas de trabajo correctas unidas a un diseño del laboratorio acorde con el nivel de riesgo.

Se incluyen en este apartado tanto dispositivos o aparatos que garantizan la seguridad, como los elementos de protección personal (guantes, mascarillas, batas, calzado, etc). Actualmente existen equipos de protección personal (EPP) que ofrecen un altísimo grado de protección, pero eso no significa que el EPP sea un sustituto de una buena práctica de trabajo; La utilización de un equipo equivocado creará un riesgo adicional al operario al inspirar en éste un falso sentido de seguridad. El EPP se seleccionará en función del máximo nivel de riesgo que se espera encontrar al desarrollar la actividad

3. Del diseño y construcción de las instalaciones (barreras secundarias):

La magnitud de las barreras secundarias dependerá del tipo de agente infeccioso que se manipule en el laboratorio. Dentro de ellas se incluyen la separación de las zonas donde tiene acceso el público, la disponibilidad de sistemas de descontaminación (autoclaves), el filtrado del aire de salida al exterior, el flujo de aire direccional, etc.

El diseño y construcción de un laboratorio (lo que en Seguridad Biológica se conoce como "barreras secundarias") contribuye a la protección del propio personal del laboratorio, proporciona una barrera para proteger a las personas que se localizan fuera

del laboratorio y protege a las personas de la comunidad frente a posibles escapes accidentales de agentes infecciosos.

Las exigencias de cada nivel de contención se han enumerado ya, pasando ahora a comentar con más detalle algunas de ellas, junto con otras consideraciones que, si bien no son obligatorias por ley, sí deberían ser tenidas en cuenta a la hora de la evaluación del riesgo.

1.4.3. RECOMENDACIONES GENERALES

a) Instalación de la cámara:

1. Debe situarse lo más lejos posible de las rejillas de aire acondicionado, campanas de gases, puertas y zonas de mucho tráfico de personas, que claramente interfieren en el flujo laminar.
2. Las ventanas del laboratorio han de permanecer siempre cerradas.
3. Debe existir al menos 0,3 m entre la salida de aire de la cabina y el techo del laboratorio.
4. Se instalará sobre una superficie sólida y nunca móvil. Si es posible, en un recinto cerrado o en una zona de acceso restringido.

b) Al iniciar el trabajo:

1. Poner en marcha la cámara durante 20-30 minutos, a fin de purgar los filtros y "lavar" la zona protegida.
2. Comprobar que el manómetro situado en la parte superior del frontal se estabiliza e indica la presión adecuada (varía con el modelo de cámara).
3. Apagar la luz ultravioleta (si estuviera encendida) y encender la luz fluorescente.

4. Limpiar la superficie de trabajo con un producto adecuado (por ejemplo, alcohol etílico al 70%).
5. Antes y después de haber trabajado en una cámara deberían lavarse con cuidado manos y brazos, prestando especial atención a las uñas
6. Se aconseja emplear batas de manga larga con bocamangas ajustadas y guantes de látex. Esta práctica minimiza el desplazamiento de la flora bacteriana de la piel hacia el interior del área de trabajo, a la vez que protege las manos y brazos del operario de toda contaminación
7. En determinados casos, además es recomendable el empleo de mascarilla.

c) Durante la manipulación:

1. Todo el material a utilizar se sitúa en la zona de trabajo antes de empezar. De esta forma se evita tener que estar continuamente metiendo y sacando material durante el tiempo de operación.
2. Es aconsejable haber descontaminado el exterior del material que se ha introducido en la cámara.
3. Este material se coloca con un orden lógico, de manera que el material contaminado se sitúa en un extremo de la superficie de trabajo y el no contaminado ocupa el extremo opuesto de la misma.
4. Según el tipo de manipulación y el modelo de la cabina, la zona de máxima seguridad dentro de la superficie de trabajo varía. En general, se recomienda trabajar a unos 5-10 cm por encima de la superficie y alejado de los bordes de la misma.
5. Una vez que el trabajo haya comenzado y sea imprescindible la introducción de nuevo material, se recomienda esperar 2-3 minutos antes de reiniciar la tarea. Así se permite la estabilización del flujo de aire. Es conveniente recordar que cuanto más

material se introduzca en la cabina, la probabilidad de provocar turbulencias de aire se incrementa.

6. Mantener al mínimo la actividad del laboratorio en el que se localiza la cabina en uso, a fin de evitar corrientes de aire que perturben el flujo. El flujo laminar se ve fácilmente alterado por las corrientes de aire ambientales provenientes de puertas o ventanas abiertas, movimientos de personas, sistema de ventilación del laboratorio.

7. Evitar los movimientos bruscos dentro de la cámara. El movimiento de los brazos y manos será lento, para así impedir la formación de corrientes de aire que alteren el flujo laminar.

8. Al igual que en el resto del laboratorio, no debe utilizarse el mechero Bunsen, cuya llama crea turbulencias en el flujo y además puede dañar el filtro.

9. Cuando deban emplearse asas de platino es aconsejable el incinerador eléctrico o, mejor aún, asas desechables.

10. Si se produce un vertido accidental de material biológico se recogerá inmediatamente, descontaminado la superficie de trabajo y todo el material que en ese momento exista dentro de la cámara.

d) Al finalizar el trabajo:

1. Limpiar el exterior de todo el material que se haya contaminado.

2. Vaciar la cámara por completo de cualquier material.

3. Limpiar y descontaminar con alcohol etílico al 70% o producto similar la superficie de trabajo.

4. Dejar en marcha la cabina durante al menos 15 minutos.

5. Conectar si fuera necesario la luz ultravioleta, conviene saber que la luz UV tiene poco poder de penetración por lo que su capacidad descontaminante es muy limitada.

e) Limpieza y desinfección de la Cámara

1. Se llevará a cabo una desinfección completa en las siguientes situaciones: a) en caso de que se haya producido un vertido importante; b) antes de cualquier reparación; c) antes de iniciarse los chequeos periódicos; d) siempre que se cambie el programa de trabajo; e) cuando se substituyan los filtros. f) al cambiarla de lugar (incluso dentro del mismo laboratorio).
2. Se realizará con vapores de formaldehído y siempre por personal debidamente entrenado y con las prendas de protección personal adecuadas.
3. Por otro lado, debe tenerse en cuenta que una buena limpieza de la zona de trabajo es una garantía de ausencia de polvo y otros contaminantes. La limpieza tiene por objeto eliminar la suciedad que se halla adherida a las superficies y que sirve de soporte a los microorganismos. Al limpiar se elimina también la materia orgánica, contribuyendo de forma decisiva a la eficacia de la posterior descontaminación.
4. Es conveniente una vez a la semana levantar la superficie de trabajo y limpiar y descontaminar por debajo de ella.
5. Nunca se debe utilizar la cabina como almacén transitorio de equipo o material de laboratorio. Esta mala práctica conduce a una acumulación de polvo totalmente innecesaria.
6. Evitar introducir en la cabina materiales que emitan partículas fácilmente como algodón, papel, madera, cartón, lápices.

f) Mantenimiento de la cámara

1. Semanalmente se limpiará la superficie de trabajo y el resto del interior de la cabina.
2. Semanalmente se pondrá en marcha a fin de comprobar la medida que da el manómetro.

3. Mensualmente, con un paño mojado, se limpiarán todas las superficies exteriores con objeto de eliminar el polvo acumulado.
4. Mensualmente se revisará el estado de las válvulas interiores con que vaya equipada.
5. Anualmente se certificará por una entidad cualificada.”¹⁶

¹⁶ <http://www.sterilof.com/cabinabio.htm>

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MUESTREO

Este se ejecuto con la realización de pruebas de evaluación en un equipo experimental (cámara de flujo laminar), como la prueba de velocidad de flujo de aire tomando muestra de puntos específicos sacando un promedio según los procedimientos establecidos en la carta del manual de equipo utilizado. La siguiente prueba de realizó con simulación de manipulaciones a diferentes tiempos y con la variación de variables de filtración de aire y luz U.V.

2.2 METODOLOGÍA

2.2.1 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.2.1.1 MÉTODOS

El estudio de este proyecto de investigación tiene un carácter explicativo y experimental de tal forma que permita responder los distintos fenómenos a analizarse durante el proceso de análisis de la investigación para diseño de una cámara de flujo laminar horizontal para la producción de plantas in vitro. La simulación es la experimentación con un modelo de una hipótesis o un conjunto de hipótesis de trabajo.

Entre los métodos a utilizarse se tiene:

Inductivos: Involucran el procedimiento que van de lo simple a lo compuesto, es decir, de las partes al todo, se caracterizan porque tienen una síntesis. Y consiste en: recopilar varios datos de las pruebas realizadas y observar suficientes hechos referidos a un problema en particular (contaminación de microorganismos) , analizarlos para descubrir sus analogías y diferencias, compararlos y tomar nota de sus características comunes.

Deductivos: la aplicación de este método se basa en la descomposición del todo en sus partes va de lo general a lo particular y se caracteriza porque contiene un análisis. El método deductivo sigue un curso descendente, de lo general a lo particular, o se mantiene en el plano de las generalizaciones. En la investigación partimos de la necesidad de tener un ambiente de asepsia general a las características de las especificaciones necesarias para el diseño.

Experimental: Aplica la observación de fenómenos, que en un primer momento es sensorial con el pensamiento abstracto, se elaboran hipótesis y se diseña el experimento con el fin de reproducir el objeto de estudio, controlando el fenómeno para probar la validez de las hipótesis, mediante la simulación de manipulaciones en medios de cultivo.

2.2.1.2 TÉCNICAS

Las técnicas son indispensables ya que integra la estructura por medio de la cual se organiza la investigación. Las técnicas están relacionadas más directamente con la práctica, con un modo específico de actuar, con formulaciones teóricas generales, las cuales son propias del método; de aquí que es el procedimiento particular, reflexivo y confiable aplicado al empleo de un instrumento, al uso de material, al manejo de una determinada situación de un método en el proceso de investigación. La simulación es una técnica para conducir experimentos en estos experimentos comprenden ciertos tipos de relaciones, las cuales son necesarias para describir el comportamiento y la estructura del diseño.

<p style="text-align: center;">Análisis</p>	<p>En el análisis se va a manejar juicios, primero se inicia por la identificación de cada una de las partes que caracterizan una realidad de la contaminación de cultivo in vitro, para establecer la relación causa-efecto entre los elementos que componen el objeto de investigación.</p>
<p style="text-align: center;">Síntesis</p>	<p>La síntesis considera los objetos como un todo, la interrelación de los elementos que identifican el objeto. El método que emplea el análisis y la síntesis consiste en separar el objeto de estudio en dos partes y, una vez comprendida su esencia, construir un todo. Con los datos obtenidos vamos a llegar a una síntesis de las mejores características de asepsia que va a tener el diseño de la cámara de flujo laminar.</p>
<p style="text-align: center;">Técnicas métricas</p>	<p>Se emplearán para definir las clases y tipos de medición u observaciones que se realizan durante las pruebas en medios de cultivo de a diferentes condiciones y distintos tratamientos. La simulación es el proceso de diseñar un modelo de un sistema real y llevar a término experiencias con él, con la finalidad de comprender el comportamiento del sistema.</p>

Elaborado: Adriana Santos G.

2.3 PRUEBA DE VELOCIDAD DEL FLUJO

2.3.1 MATERIALES

- Un termoanemómetro que tenga una exactitud de ± 2 FPM o ± 0.01 m/s.
- Soporte universal
- Pinza universal
- Modelo de prueba

2.3.2 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE VELOCIDAD DEL FLUJO

Esta prueba realizó para medir la velocidad de aire que se mueve a través del área de trabajo.

1. Ponga el *modelo de la prueba* en fondo de superficie de trabajo.
2. Mida la velocidad aérea directamente sobre cada uno de los puntos por la superficie de trabajo. Las medidas deben tomarse a una altura sobre la superficie de trabajo que está nivelado con el fondo del marco de la ventana de vidrio cuando está en posición cerrada.

El instrumento para medir debe presentar estas especificaciones:

- a. Un termoanemómetro que tenga una exactitud de ± 2 FPM o ± 0.01 m/s.

Coloque el termoanemómetro para que registre cada lectura, como muestra la figura en el modelo de la prueba, minimizar distorsión de flujo aérea.

- b. El termoanemómetro se sostendrá con un soporte universal esto permite el posicionamiento exacto y que no distorsione el flujo del aire.

3. Grabe las lecturas de velocidad del flujo del aire en pies por minuto (FPM) y obtenga el promedio como se indica. El promedio y las figuras del límite superiores e inferior deben ser como describe en el literal b, y c siguientes. El promedio (1) debe estar entre 75 FPM a 85 FPM.

Multiplique el promedio $\times 1.2$ para obtener el límite superior (2). Ninguno de las lecturas pueden ser mayores. Multiplique el promedio $\times 0.8$ para obtener el límite más bajo (3). Ninguno de las lecturas puede ser menor al valor promedio. (*Anexo II*)

2.3.3. DATOS EXPERIMENTALES DE PRUEBA DE VELOCIDAD DEL FLUJO

LECTURAS DE VELOCIDAD DE FLUJO					
lectura 1	98 FPM	lectura 8	98 FPM	lectura 15	98 FPM
lectura 2	78 FPM	lectura 9	78 FPM	lectura 16	78 FPM
lectura 3	78 FPM	lectura 10	78 FPM	lectura 17	78 FPM
lectura 4	78 FPM	lectura 11	78 FPM	lectura 18	78 FPM
lectura 5	78 FPM	lectura 12	78 FPM	lectura 19	78 FPM
lectura 6	78 FPM	lectura 13	78 FPM	lectura 20	78 FPM
lectura 7	98 FPM	lectura 14	98 FPM	lectura 21	98 FPM
SUBTOTAL	586	SUBTOTAL	586 FPM	SUBTOTAL	586
		TOTAL	1758	÷ 21 LECTURAS	
TEMPERATURA	PROMEDIO		84	FPM	
80.3°F	LIMITE SUPERIOR		100	FPM	
	LIMITE INFERIOR		67	FPM	

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 2.3.3.-1. Resultados de la prueba de velocidad de flujo.

2.3.4. DIAGNÓSTICO DE PRUEBA DE VELOCIDAD DEL FLUJO

Después de haber obtenido los datos de la cámara de flujo laminar empleado en el Departamento de Ciencias Biológicas en la prueba de velocidad del flujo, lo puedo describir que la velocidad de flujo de aire se encuentra en los parámetros indicadores en el catálogo tendiendo a un valor próximo a su límite superior por lo que se podría predecir que los filtros están deteriorados y no existen resistencia mayor para que la velocidad se la óptima.

La cámara en la que se trabajo encontramos velocidad nominal de 84 FPM o 0,4 m/s que es la sugerida en bibliografía para una cámara de flujo sea laminar.

(Anexo IV y V)



Fig. 2.3.4-1. Panel de control de la CFL

2.4. PRUEBA DE ASEPSIA EN LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE

2.4.1. PRUEBA DE ASEPSIA EN LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE

2.4.1.1. MATERIALES.

- Agar Nutritivo
- Cajas petri
- Envases
- autoclave
- Alcohol 70%
- Papel absorbente
- Marcador
- Cinta adherente

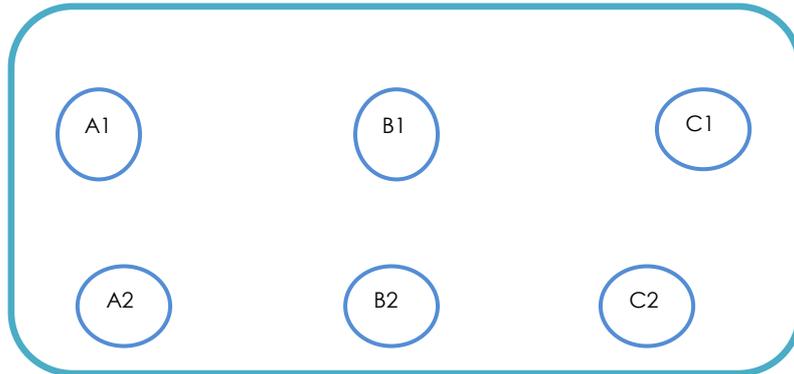
2.4.1.2. PROCEDIMIENTO PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE

a) Observación del proceso.

- Pre- prueba

Dejar cajas petri en la cámara sin flujo

b) Experimentación con variación de variable de flujo de aire



Elaborado: Adriana Santos G.

Fig. 2.4.1.2.-1. Colocación de cajas en el equipo experimental

N°	Cajas	Tiempo
1	A1	5 segundos
2	B1	5 segundos
3	C1	5 segundos
4	A2	5 segundos
5	B2	5 segundos
6	C2	5 segundos
7	A1	10 segundos
8	B1	10 segundos
9	C1	10 segundos
10	A2	10 segundos
11	B2	10 segundos
12	C2	10 segundos
13	A1	30 segundos

14	B1	30 segundos
15	C1	30 segundos
16	A2	30 segundos
17	B2	30 segundos
18	C2	30 segundos
19	A1	1 minuto
20	B1	1 minuto
21	C1	1 minuto
22	A2	1 minuto
23	B2	1 minuto
24	C2	1 minuto
25	A1	30 minutos
26	B1	30 minutos
27	C1	30 minutos
28	A2	30 minutos
29	B2	30 minutos
30	C2	30 minutos
31	A1	1 hora
32	B1	1 hora
33	C1	1 hora
34	A2	1 hora
35	B2	1 hora
36	C2	1 hora

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 2.4.1.2.-1. Datos para la Toma de Muestras flujo de aire.

Preparación de la cámara

- Esterilizar la cámara de flujo laminar con alcohol 70%
- Encender 30 minutos antes del su uso.

- Colocar las cajas petri con el medio cultivo (agar nutritivo) como indica la figura de colocación de las cajas, y simular una manipulación según el tiempo a evaluar.
- Para asegurar la efectividad de la prueba se realiza una evaluación del medio de cultivo, y de igual manera es importante conocer el resultado de muestras sin ninguna variable. (*Anexo VI y VII*)

2.4.2. PRUEBA DE ASEPSIA EN LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE, E INFLUENCIA DE LA LUZ UV.

2.4.2.1. MATERIALES.

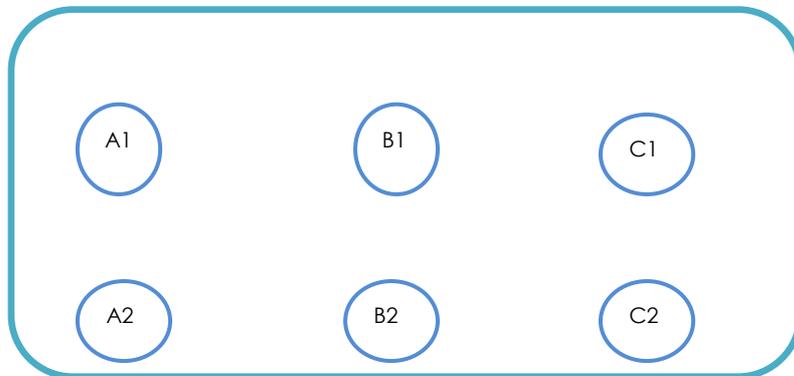
- Agar Nutritivo
- Cajas petri
- Envases
- autoclave
- Alcohol 70%
- Papel absorbente
- Marcador
- Cinta adherente

2.4.2.2. PROCEDIMIENTO PRUEBA DE ASEPSIA VARIABLE FILTRACIÓN DE AIRE E INFLUENCIA DE LA LUZ UV.

a) Observación del proceso.

- Pre- prueba
Dejar cajas petri en la cámara sin flujo

b) Experimentación con variación de variable de flujo de aire e influencia de luz U.V.



Elaborado: Adriana Santos G.

Fig. 2.4.2.2-1. Colocación de cajas en el equipo experimental 2

Nº	Cajas	Tiempo
1	A1	5 segundos
2	B1	5 segundos
3	C1	5 segundos
4	A2	5 segundos
5	B2	5 segundos
6	C2	5 segundos
7	A1	10 segundos
8	B1	10 segundos
9	C1	10 segundos
10	A2	10 segundos
11	B2	10 segundos
12	C2	10 segundos
13	A1	30 segundos
14	B1	30 segundos
15	C1	30 segundos
16	A2	30 segundos
17	B2	30 segundos

18	C2	30 segundos
19	A1	1 minuto
20	B1	1 minuto
21	C1	1 minuto
22	A2	1 minuto
23	B2	1 minuto
24	C2	1 minuto
25	A1	30 minutos
26	B1	30 minutos
27	C1	30 minutos
28	A2	30 minutos
29	B2	30 minutos
30	C2	30 minutos
31	A1	1 hora
32	B1	1 hora
33	C1	1 hora
34	A2	1 hora
35	B2	1 hora
36	C2	1 hora

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 2.4.2.2.-1. Datos para la toma de muestras flujo de aire e influencia U.V.

Preparación de la cámara

- Esterilizar la cámara de flujo laminar con alcohol 70%
- Encender la luz UV.
- Encender 30 minutos antes del su uso

Colocar las cajas petri con el medio cultivo como indica la figura de colocación de las cajas, y simular una manipulación según el tiempo a evaluar.

Para asegurar la efectividad de la prueba se realiza una evaluación del medio de cultivo, y de igual manera es importante conocer el resultado de muestras sin ninguna variable.

2.4.3. DATOS EXPERIMENTALES DE LAS PRUEBAS DE ASEPSIA

Preparación 17/11/2008 Flujo de aire filtrado

Evaluación 1

(7 días)

Tabla .2.4.3-1. Evaluación del medio

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
EM	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-2. Tratamiento 5 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-3. Tratamiento 10 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-4. Tratamiento 30 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-5. Tratamiento 1 minuto

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-6. Tratamiento 30 minutos.

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Positivo	1

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-7. Tratamiento 1 hora

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Positivo	1	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Positivo	1	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-8. Tratamiento Sin flujo

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A	Positivo	1	Negativo	-
B	Positivo	1		

Elaborado: Adriana Santos G.

Evaluación 1

(7 días)

Preparación 18/11/2008 Flujo de aire filtrado y UV

Tabla .2.4.3-9. Evaluación del medio

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
EM	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-10. Tratamiento 5 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-11. Tratamiento 10 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-

B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-12. Tratamiento 30 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-13. Tratamiento 1 minuto

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-

B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-14. Tratamiento 30 minutos

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-15. Tratamiento 1 hora

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Positivo	1	Negativo	-

C2	Negativo	-	Negativo	-
----	----------	---	----------	---

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-16. Tratamiento sin flujo

NOMENCLATURA	Evaluación 1			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A	Positivo	2	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Preparación 17/11/2008 Flujo de aire filtrado

Evaluación 2

(15 días)

Tabla .2.4.3-17. Evaluación del medio

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
EM	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-18. Tratamiento 5 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-19. Tratamiento 10 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-20. Tratamiento 30 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-21. Tratamiento 1 minuto

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-22. Tratamiento 30 minutos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Positivo	1
C2	Positivo	1	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-23. Tratamiento 1 hora

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Positivo	3	Negativo	-
C1	Positivo	1	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Positivo	1	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-24. Tratamiento Sin flujo de aire filtrado 30 min

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A	Positivo	6	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Preparación 18/11/2008 Flujo de aire filtrado y UV

Evaluación 2

(15 días)

Tabla .2.4.3-25. Evaluación del medio

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
EM	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-26. Tratamiento 5 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-

B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-27.Tratamiento 10 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-28. Tratamiento 30 segundos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-

A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-29. Tratamiento 1 minuto

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-30. Tratamiento 30 minutos

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Negativo	-	Negativo	-
C2	Negativo	-	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-31. Tratamiento 1 hora

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A1	Negativo	-	Negativo	-
B1	Negativo	-	Negativo	-
C1	Negativo	-	Negativo	-
A2	Negativo	-	Negativo	-
B2	Positivo	1	Negativo	-
C2	Positivo	1	Negativo	-

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla .2.4.3-32. Tratamiento Sin flujo de aire filtrado 30 min

NOMENCLATURA	Evaluación 2			
	HONGOS		BACTERIAS	
	Contaminación	UFC	Contaminación	UFC
A	Positivo	3	Negativo	-

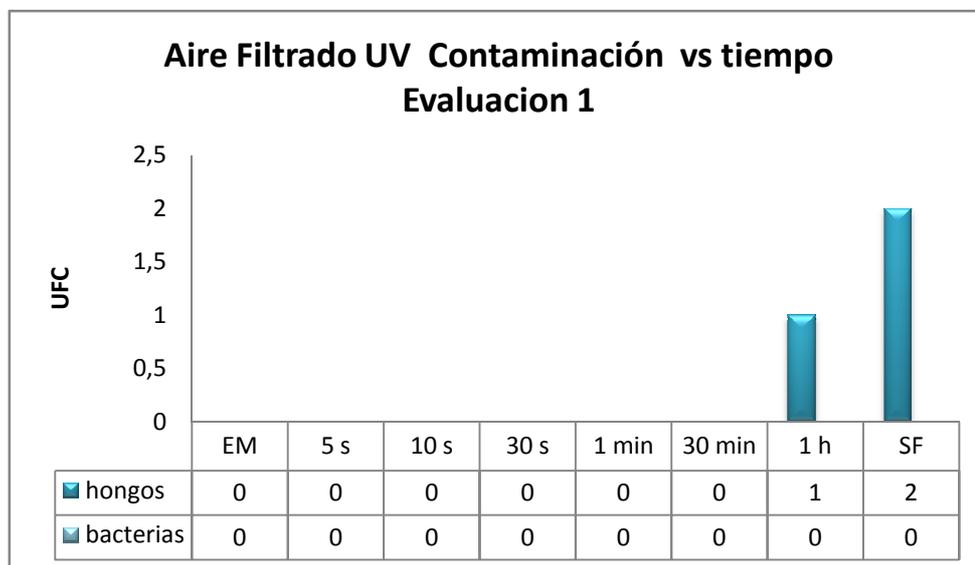
Elaborado: Adriana Santos G.

2.4.4. INTERPRETACIÓN GRÁFICOS DE RESULTADOS Y ANÁLISIS



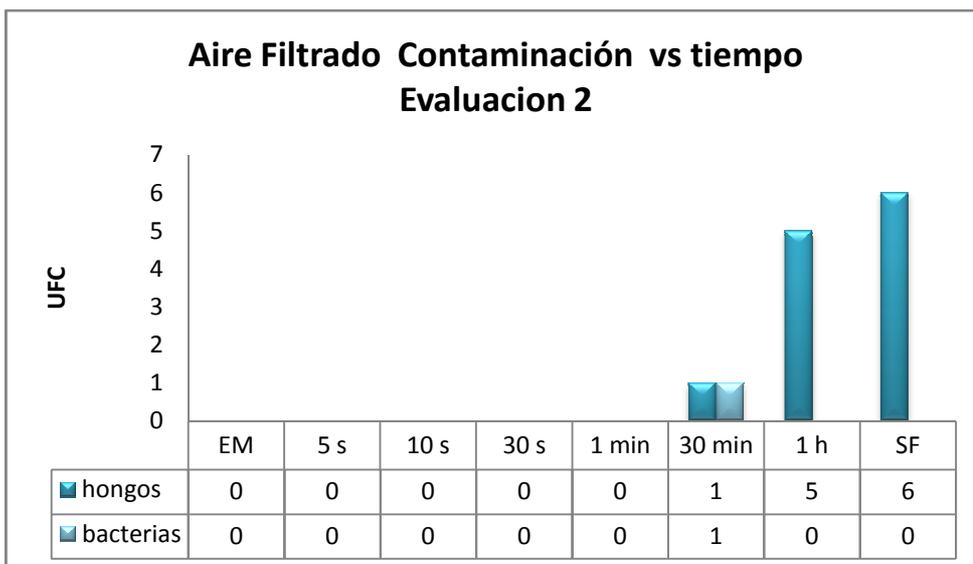
Elaborado: Adriana Santos G.

Gráfico 2.4.4-1.- Evaluación 1 -Aire filtrado



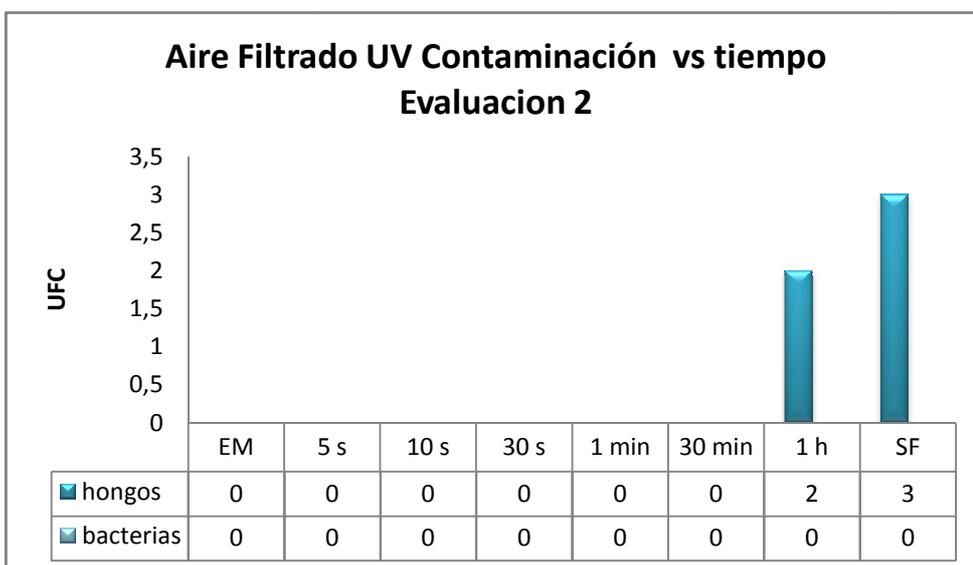
Elaborado: Adriana Santos G.

Gráfico 2.4.4-2.- Evaluacion 1 -Aire filtrado UV



Elaborado: Adriana Santos G.

Gráfico 2.4.4-3.- Evaluacion 2 -Aire filtrado



Elaborado: Adriana Santos G.

Gráfico 2.4.4-4.- Evaluacion 2 -Aire filtrado UV

2.4.5. DIAGNÓSTICO DE LAS PRUEBAS DE ASEPSIA



Fuente: Adriana Santos 2008

Fig.2.4.5-1. Equipo Eperimental.

La cámara presente en el laboratorio del departamento de ciencias biológicas es tipo vertical marca LABCONCO clase II es una cabina de seguridad por las evaluaciones y análisis realizado pueden establecer que existe contaminación microbiológica en la cámara aún guardando todas las normas de sanidad para no contaminar las cajas consideradas, encontramos colonias de microorganismos, la contaminación varía según el tiempo ensayado, encontramos que la contaminación está en función del tiempo a mayor tiempo de exposición o simulación de manipulación mayor es el riesgo de la contaminación encontrada. La influencia de la exposición de luz ultra violeta en las pruebas indican que las que estuvieron con exposición de U.V. presenta menor grado de contaminación lo que indica que el U.V. ayuda a la condición de asepsia.

Este estudio nos permite visualizar cuáles son las condiciones que debemos tener presente en el diseño de la cámara de flujo laminar horizontal que va a ser utilizada específicamente en la producción de plantas *in vitro*.

3. DISEÑO

3.1 CÁLCULOS

3.1.1 CÁLCULO DEL NÚMERO DE REYNOLDS

El número de Reynolds es un número adimensional utilizado en mecánica de fluidos, diseño de reactores y fenómenos de transporte para caracterizar el movimiento de un fluido. Sabemos que para valores de $Re \leq 2000$ el flujo se mantiene estacionario y se comporta como si estuviera formado por láminas delgadas, que interactúan solo en base a esfuerzos tangenciales, por eso a este flujo se le llama flujo laminar

Con las velocidades características de la cámara de flujo laminar sugerida por varios autores realizamos los cálculos correspondientes para obtener el valor del número de Reynolds que nos indique el tipo de flujo que vamos a obtener.

A velocidad de 0.65m/s

$L=0,914m$ (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$v_s= 0,65$ m/s

$v = 0,000151m^2/s$ (*Anexo I*)

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{v}$$

$$N_{Re} = \frac{0,65 \frac{m}{s} \times 0,914m \times 0.05}{0,000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0297 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1967,22$$

A velocidad de 0.60m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$$v_s = 0,60 \text{ m/s}$$

$$v = 0,000151 \frac{m^2}{s}$$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{v}$$

$$N_{Re} = \frac{0,60 \frac{m}{s} \times 0,914m \times 0.05}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0274 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1815,89$$

A velocidad de 0.55m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$$v_s = 0,55 \text{ m/s}$$

$$v = 0,000151 \text{ m}^2/\text{s}$$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{v}$$

$$N_{Re} = \frac{0,55 \frac{\text{m}}{\text{s}} \times 0,914 \text{ m} \times 0,05}{0,0000151 \frac{\text{m}^2}{\text{s}}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0251 \frac{\text{m}^2}{\text{s}}}{0,0000151 \frac{\text{m}^2}{\text{s}}}$$

$$N_{Re} = 1664,57$$

A velocidad de 0.50m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$$v_s = 0,50 \text{ m/s}$$

$$v = 0,000151 \text{ m}^2/\text{s}$$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{v}$$

$$N_{Re} = \frac{0,50 \frac{\text{m}}{\text{s}} \times 0,914 \text{ m} \times 0,05}{0,0000151 \frac{\text{m}^2}{\text{s}}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0228 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1513,25$$

A velocidad de 0.45m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$$v_s = 0,45 \text{ m/s}$$

$$v = 0,000151 m^2/s$$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{v}$$

$$N_{Re} = \frac{0,45 \frac{m}{s} \times 0,914m \times 0,05}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0205 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1361,92$$

A velocidad de 0.40m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$$v_s = 0,40 \text{ m/s}$$

$$v = 0,000151 m^2/s$$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{\nu}$$

$$N_{Re} = \frac{0,40 \frac{m}{s} \times 0,914m \times 0.05}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0182 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1210,96$$

A velocidad de 0.35m/s

L=0,914m (dimensión de largo del filtro de la cámara propuesta)

$v_s = 0,35 \text{ m/s}$

$\nu = 0,000151 \text{ m}^2/\text{s}$

Por lo tanto:

$$N_{Re} = \frac{v_s L x}{\nu}$$

$$N_{Re} = \frac{0,35 \frac{m}{s} \times 0,914m \times 0.05}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = \frac{0,0160 \frac{m^2}{s}}{0,0000151 \frac{m^2}{s}}$$

$$N_{Re} = 1059,27$$

Donde

N_{Re} = Numero de Reynolds

v_s = velocidad característica del flujo de aire

L = Área a través de la cual circula el flujo de aire

ν = viscosidad cinemática del flujo de aire

Nota : Los números de Reynolds están basados en la longitud del cuerpo paralelo a la dirección del flujo, los datos fueron adaptados de Eugene A. Avallone y Theodore Baumeister III, ediciones., Marks standard handbook of Mechanical Engineers, 9ª edición. (Nueva York; McGraw-Hill, 1987), tabla 4 y WF Linsey, Drag of simple shapes. Reporte N° 619 (National Advisory Committee for Aeronautics, 1983).¹⁷

Tabla 3.1.1-1. Resultados de Cálculo de Número de Reynolds

Velocidad del aire m/s	Numero de Reynolds	Flujo
0,65	1967	Laminar
0,60	1816	Laminar
0,55	1665	Laminar
0,50	1513	Laminar
0,45	1362	Laminar
0,40	1211	Laminar
0,35	1059	Laminar

Elaborado: Adriana Santos G.

¹⁷ Mott Robert, Mecánica de Fluidos, 4. ed., México

Para valores de NRe menores 2000 el flujo se comporta como si estuviera formado por láminas delgadas, que interactúan solo en base a esfuerzos tangenciales, por eso a este flujo se le llama *flujo laminar*.

3.1.2. CÁLCULO DEL ESPESOR DEL MATERIAL A USAR PARA LA ESTRUCTURA

Para determinar el espesor del material se considera “la ley de Hooke la cual enuncia que para un material cuya curva tensión-deformación resulta evidente que la relación entre la tensión- deformación es lineal para los valores relativamente bajos de la deformación. Esta relación lineal entre el alargamiento y la fuerza axial que lo produce (pues cada una de estas cantidades difiere solo en una constante de la deformación y la tensión, respectivamente) es conocida como ley de Hooke”.¹⁸ Pero al considerar una presión similar a la del medio es necesario aplicar el cálculo, si no ya considerar el acero AISI 304 (Fe/Cr18/Ni10) el más adecuado para este fin, este es de uso general en la construcción de cámaras, y que además otorga una mayor resistencia a la corrosión en estructuras sólidas. (*Anexo III*)

La cámara será de forma cubicular, para la construcción debe ser acero inoxidable AISI 304 de 1 mm de espesor, no se requiere mayor espesor puesto que las condiciones de funcionamiento son moderadas. También se consideró que se trata de cultivos celulares (seres vivos) que por lo tanto es indispensable evitar la contaminación por medios externos así como también por la formación de óxidos o demás efectos de la corrosión.

¹⁸ NASH, W. Resistencia de Materiales. México: Mc Graw-Hill, 1986. pp. 3-4.

3.2 PROYECCIONES DEL DISEÑO DE CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL

VARIABLE	UNIDAD	VALOR
Velocidad	m/s	0,35 -0,65
Eficacia típica del filtro ULPA para un tamaño de partícula	% μm	99,999 0,12
Temperatura	C	14-22 (ambiente)
Luz UV	lux	>1000
Tamaño nominal	m	0,9
Zona de trabajo utilizable	m ²	0,55
Volumen del aire	m ³ /h	815(+/-91)
Intensidad luminaria	Lux	>1600
Viscosidad cinemática de aire	m ² /s	0,0000151

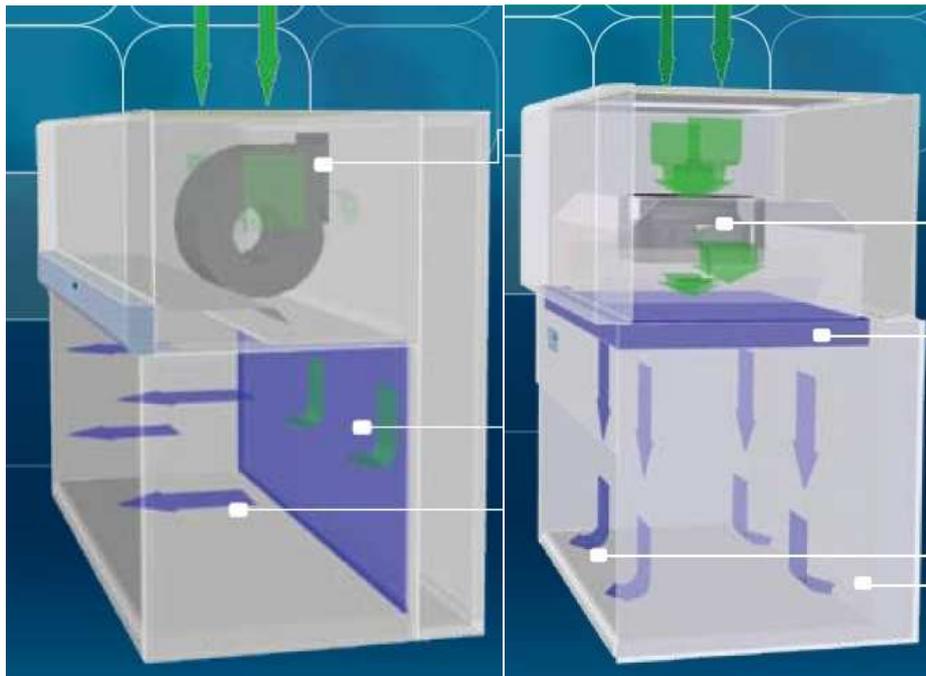
Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 3.2-1. Variables del diseño de la CFLH

3.3 DIMENSIONAMIENTO DEL EQUIPO CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO DEL SISTEMA

La cámara que se eligió para el diseño es una CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL, que es un equipo que permite la obtención de alcanzar un ambiente aséptico libre de contaminantes, protegiendo de contaminación al operador, medio ambiente, pero en especial al producto.

En las cabinas de flujo laminar existe modelos de flujo horizontal y vertical. En los dos modelos, el aire entra por encima de la cabina y atraviesa un filtro ULPA. En los modelos de flujo horizontal, el aire filtrado atraviesa luego la cámara principal de la cabina en una corriente de aire laminar horizontal (unidireccional) antes de ser extraído por la apertura frontal de la cabina. En los modelos de flujo vertical, el aire filtrado atraviesa luego la cámara principal de la cabina en una corriente de aire laminar vertical antes de ser extraído por la apertura frontal de la cabina. En las cabinas de *flujo horizontal* hay una ligera reducción del nivel de turbulencias en comparación con las cabinas de flujo vertical debido a que el flujo de aire no golpea la superficie.



Fuente: Esco Technologies.

Fig. 3.3-1.- Comparación de dirección de flujos en la cámaras de flujo laminar

El equipo consta principalmente de:

- Área de trabajo
- Fluido de aire
- Venterol
- Filtros
- Sistema de Luz UV
- Panel de control
- Materiales auxiliares

3.3.1. ÁREA DE TRABAJO

El equipo consiste de una cámara de flujo laminar, las mismas que servirá primordialmente para la manipulación del cultivo de plantas in vitro, se resuelve diseñar, una cámara de volumen de 1,10 m×1,30m×0,75 m volumen total de 1,0725 m³, las dimensiones están especificadas posteriormente, las dimensiones están en acuerdo con los requerimiento del laboratorio de de Ciencias Biológicas.

El interior de la cabina es de acero inoxidable, haciendo que la zona de trabajo sea fácil de limpiar. La superficie interior no se cuarteará, se oxidará ni se generarán partículas, un detalle importante del diseño es las lengüetas levantadas en los entremos y parte trasera previenen un posible daño del filtro por derrames.

- El diseño de la zona de trabajo, con una zona central rebajada, asegurara la retención de los líquidos derramados.
- La superficie de trabajo, con un diseño ergonómico y un borde frontal curvado, para ofrecer la máxima comodidad al usuario del laboratorio de ciencias biológicas.

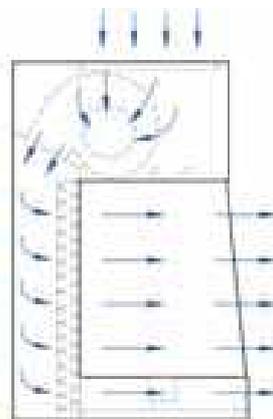
Tabla 3.3.1-1. Especificaciones de medidas de la CFLH

Especificaciones de medidas	
Dimensiones generales (Largo x Fondo x Alto)	1300 x 750 x 1100 mm. 52.7" x 29.5" x 43.5"
Dimensiones internas de área de trabajo (Largo x Fondo x Alto)	1100 x 600 x 570 mm 46.6" x 23.6" x 22.4"

Elaborado: Adriana Santos G.

3.1.2. FLUJO DE AIRE

Para nuestro equipo el flujo de aire debe ser horizontal con una velocidad nominal de 0.45 m/s. de flujo laminar. El paso de aire de la atmosfera exterior de la cámara de flujo laminar pasa por el pre filtro gracias al sistema del ventilador es impulsado hacia el filtro de alta eficiencia y sale hacia el área de trabajo tal como muestra la figura. La velocidad del interior de la cámara puede ser monitoreada en el panel de control.



Fuente: Esco Technologies.

Fig. 3.3.2-1. Recorrido del Flujo de aire

3.3.3. VENTEROL

Las cabinas de flujo laminar poseen un ventilador centrífugo de acoplamiento directo. El sistema de ventilación mantiene el flujo de aire a medida que el filtro se carga de partículas, lo que asegura una eficacia y una protección del producto óptimas. De las alternativas que nos ofrece el mercado se escoge un venterol de 4” de salida y de 4” de admisión, motor de $\frac{3}{4}$ HP características siguientes.

(Anexo VIII)

- Simple Aspiración
- Ventilador centrífugo con motor de rotor externo.
- Carcasa fabricada en fundición de aluminio.
- Rodete fabricado en chapa de acero galvanizado.
- Grado de protección IP 44.
- Aislamiento Clase B.
- Protección térmica por medio de termocontacto.

Tabla.3.3.3-1 Especificaciones del venterol

<i>Tipo de motor</i>	El pole/IP44 sombreado
<i>El suministro nominal</i>	220/240V o 115V $\frac{1}{2}$ Hp 50Hz
<i>Ancillaries normal</i>	La entrada y guardias de las descargas/los espiches
<i>Materiales</i>	Fancase: aluminio del lanzamiento LM6. Ls impulsores : la hoja galvanizada

<i>Acabados</i>	El esmalte de la estufa como el std.
<i>Montando</i>	Los agujeros taladrados en la entrada y la descarga .
<i>Niveles de ruido</i>	74 dB (A) el aire libre, 1M
<i>Peso</i>	2Kg.
<i>Variaciones</i>	La seguridad aumentada a ATEX las normas disponible.

3.3.4. FILTROS

La cámara consta de dos tipos de filtros:

- a. Pre- filtro
- b. Filtro de alta eficiencia

3.3.4.1 PREFILTRO

Un prefiltro cumplirá la función de atrapar las partículas grandes del flujo de entrada del aire de que lleguen al filtro principal, antes de que lleguen al filtro principal, lo que protege de daños y prolonga la vida útil.

- Este filtro puede ser desechable no lavable fibras de poliéster.
- Con un 85% de retención. Media filtrante de pliegues cerrados.
- Marco de aluminio extruido anodizado, ligero y rígido que mejora la resistencia facilita la instalación
- Rejilla de protección
- Sello de gel o neopreno
- Cada filtro es probado y certificado individualmente.

Este pre filtro de admisión tiene una porosidad capaz de retener partículas del ambiente mayor a 0,3 micrómetros tiene las dimensiones siguientes:

Tabla 3.3.4.1-1. Especificaciones de medidas del prefiltro

Especificaciones de medidas	
Dimensiones generales	600 mm × 30mm × 600mm
(Largo x Ancho x Alto)	

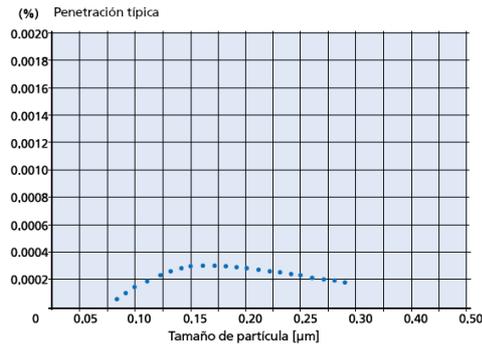
Elaborado: Adriana Santos G.

3.3.4.2. FILTRO ABSOLUTO DE ALTA EFICIENCIA

El filtro absoluto de alta eficacia para el sistema de filtración de cámara de flujo laminar horizontal debe estar diseñado para suministrar el nivel de calidad de aire más elevado en la zona de trabajo, cumpliendo así todas las normas.

Las especificaciones técnicas que se necesitan son:

- Sin separadores de mini pliegues que reduce el consumo de energía y aumenta la uniformidad en el flujo de aire laminar para una mejor protección contra la contaminación del área de trabajo y del producto.
- Pureza de aire dentro de la zona de trabajo ISO clase 3 acorde al ISO 14644.1 equivalente a la clase 1 del estándar federal de Estados Unidos 209E.
- Todos los materiales usados en el producto son compatibles con "cuartos limpios".
- Eficiencia regular del 99.9997% en MPPS y del 99.9998% en 0.3 y 0.12 micrómetros proporcionan el producto con mejor protección ya que su porosidad retiene a estas partículas desde 0,12 micrómetros.

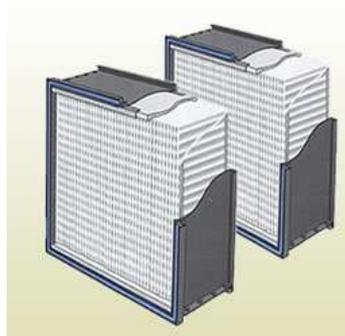


Fuente: Esco Technologies.

Fig. 3.3.4.2-1. Eficacia del filtro ULPA

- Tiene una vida útil de más de 3 años dependiendo de las condiciones de operación.
- La protección integral de metal en el filtro ULPA previene daños accidentales al mismo; La junta selladora del filtro está permanentemente moldeada sobre el marco del filtro y no se deteriorará con el tiempo.

Fig. 3.3.4.2-2. Filtro ULPA



Fuente: Esco Technologies.

Este filtro es americano y tiene las dimensiones siguientes.

Tabla 3.3.4.2-1. Especificaciones de medidas de filtro de alta eficiencia

Especificaciones de medidas	
Dimensiones generales (Largo x Alto x Ancho)	914mm. x 610mm. x 66 mm
Fuente: Cotización Espectrocrom	

3.3.5. SISTEMA DE LUZ ULTRA VIOLETA

El sistema de luz ultra violeta de efecto germicida para esterilizar el aire y la superficie, es desmontable constan de un vidrio especial que transmite la radiación ultravioleta en una banda espectral, de tal manera que hace efectivo el proceso de esterilización eliminando todo tipo de bacterias y virus. Estas van a estar dispuestas en el interior de la cámara en el área de trabajo en la parte superior y en las partes laterales dando un mayor control de contaminación superficial y contribuyendo a la descontaminación de la zona de trabajo entre periodos de funcionamiento. Esta es una de las características del diseño que lo singular de las cámaras de flujo laminar que encontramos en el mercado. Las lámparas individuales emiten una cantidad específica de energía ultravioleta y el flujo es un factor determinante por lo que no debe ser sobredimensionado. En el mercado encontramos una variedad de lámparas de luz ultra violeta como vemos en la siguiente tabla.

Descripción	Potencia	Diámetro	Largo
Tubo Germicida	4w	16mm	135mm
Tubo Germicida	6w	16mm	212mm
Tubo Germicida	8w	16mm	288mm
Tubo Germicida	15w	26mm	437mm
Tubo Germicida	18w	26mm	590mm
Tubo Germicida	30w	26mm	1000mm

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 3.3.5-1. Especificaciones de Lámparas U.V.

El modelo escogido para el diseño de la cámara de flujo laminar es el tubo germicida de 30w de potencia con un diámetro de 26mm y un largo de 1000mm para parte

superior de la cámara, en cambio para las partes laterales se considera el tubo germicida de 15w de potencia con un diámetro de 26mm y un largo de 437mm. (*Anexo XV*).



Fuente: Productos Teco

Fig. 3.3.5-1. Lámparas Germicidas con UV.

3.3.6. SISTEMA DE CONTROL (SISTEMA ELÉCTRICO)

El sistema de control de la cámara de flujo laminar horizontal se ha diseñado con un micro controlador PIC, el cual nos permite realizar funciones de control y monitoreo por medio de un display LCD. Consta de un panel de control compuesto por pulsadores, permitiéndonos controlar los dispositivos eléctricos conformados por venterol, ultravioletas y lámparas, la velocidad del generador de aire puede ser variable dependiendo de los parámetros requeridos, además se puede observar los parámetros con los que el equipo está funcionando, ya que los datos son llevados al micro controlador por medio de unos sensores especiales, como son de temperatura y de flujo de aire. (*Anexo XVI*)

3.3.7. MATERIALES AUXILIARES

En la construcción del equipo existe más de un material que se puede emplear alternativamente y que se podría servir para una aplicación específica.

3.3.7.1. LUZ FLUORESCENTE

La alta eficiencia energética de este tipo de lámparas, las convierte en ideales para la iluminación de áreas. Las luminarias incorporadas de 15w, de color blanco cálido y con balastro electrónico, proporcionan una iluminación excelente en la zona de trabajo y reducen la fatiga del usuario. El sistema de iluminación, es fiable, no parpadea y es de encendido instantáneo.

Las luminarias fluorescentes se ubicaran en la parte superior del área de trabajo, y las respectivas conexiones están descritas en el Anexo XVI.



Fuente: Productos Teco

Figura 3.3.7.1-1.- Lineal Fluorescentes

3.3.7.2. COMPUERTA DE VIDRIO TEMPLADO

El vidrio templado posee propiedades importantes, la resistencia a la flexión del vidrio recocido al templarlo aumenta desde 400 kp/cm² hasta 1.200 - 2.000 kp/cm², que equivale de 4 a 5 veces la resistencia de un vidrio normal. Es muy resistente a comparación del vidrio normal, además, si existen roturas, este se divide en pequeños trozos de vidrio que son inofensivos por estas características por lo cual la

compuerta de la cámara esta diseñada de este tipo de vidrio con medidas y características siguientes.

Tabla 3.3.7.2-1. Especificaciones para la compuerta de vidrio templado

Especificaciones	
Vidrio templado claro	110cm×57cm×5mm

Elaborado: Adriana Santos G.

3.4. MATERIALES UTILIZADOS PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO

Para cuando se realice la construcción del equipo el cual cumple con las especificaciones de diferentes autores, Los materiales utilizados para la construcción del equipo se presentan en las siguientes tablas.

Tabla 3.4.-1 Materiales primarios utilizados para la cámara de flujo laminar horizontal

MATERIAL	TIPO	DESTINO	CARACTERISTICAS
Acero inoxidable	AISI 304	Elaboración de la estructura Paredes exteriores	Material resistente a la corrosión óptimo para la construcción de este tipo de producto
Vidrio Templado	5mm claro	Compuerta de la	Resistencia al calor y la

		cámara.	humedad
Ventrol	Centrifugo	Parte superior del equipo	Generación del flujo de aire
Prefiltro	Poliéster	Admisión de aire	Con 85% de eficiencia retiene macropartículas
Filtro de alta eficiencia	ULPA	Parte posterior de la cámara.	Eficiencia de 99.999% retención de micropartículas.
Lámpara UV	Germicida	Parte superior y laterales de la parte interior.	Descontaminación superficial.
Lámpara fluorescente	Color blanco	Dos lámparas que se encuentran en la parte superior.	Proporcionan una iluminación en la zona de trabajo.

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 3.4-2. Materiales eléctricos utilizados para la cámara de flujo laminar horizontal

MATERIAL	TIPO	CANTIDAD	UNIDAD
Microcontrolador	PIC16F877A	1	Componente
Sensor de temperatura	DS1822	1	Componente
Sensor de Flujo	SHT2	1	Componente

Regulador	7805	1	Componente
LCD	2×16 backlight azul	1	Componente
MOC	3020	6	Componente
TRIAC BTR	600 D	6	Componente
Transistor	TIP 110	1	Componente
Zócalo	4×2	1	Componente
Zócalo	20×2	1	Componente
Potenciómetro	10k	1	Componente
Pulsador	Pulsador	7	Componente
Transformador	120/12V 3 ^a	1	Componente
Puente rectificador	4 ^a	1	Componente
Capacitador	2200 uF 35V	1	Componente
Capacitador	104	1	Componente
Capacitador	103	1	Componente
Resistencia	330R ½ W	6	Componente
Resistencia	4,7 k ½ W	10	Componente
Resistencia	10R ½ W	1	Componente
Conductores	Conductores	8	Metro
Placa	Baquelita	1	Componente
Interruptor	Doble	1	Componente

Elaborado: Adriana Santos G.

Tabla 3.4-3 Materiales secundarios utilizados cámara de flujo laminar horizontal

MATERIAL	DESTINO
Tornillos	Ensamblajes de la estructura
Remaches	Para ajustes de las partes de la cámara
Bisagras	Acoples con la compuerta de vidrio templado y la estructura
Manija	Acoplada a la compuerta de vidrio templado

Elaborado: Adriana Santos G.

3.5. CONSIDERACIONES GENERALES

Las siguientes consideraciones son de suma importancia en el diseño de la cámara para un proceso controlado:

- El compartimento puede estar construido en acero inoxidable.
- Se encuentra totalmente selladas para evitar contaminaciones al interior de las mismas por agentes externos en su parte superior posterior y a los lados.
- Esta equipada con un pre filtro para la absorción de macro partículas.
- Filtros absolutos de una eficacia del 99,997 % y 99,99%, son filtros de vidrio empleados para esterilizar el aire. El aire que penetra en la cámara pasa por los filtros, de manera que la superficie queda estéril.
- El aire circula por la cabina a una velocidad entre 0,35 y 0,65 m/s. El flujo del aire es laminar sin turbulencias.

- La Lámpara Ultravioleta tiene efectos de esterilización en la cámara, por efectos de radiación de intensidad esta debe ser > 1000 lux.

3.6. ARMADO GENERAL DE UNA CAMARA DE FLUJO LAMINAR

3.6.1. ESTRUCTURA

La estructura se arma basándose en el diseño, las dimensiones interiores y exteriores se encuentran detallados en el Anexo XIV y XV.

Para facilitar su construcción y reducir costos, se podrá la lámina de acero inoxidable, la cual se coloque a la base que comprende la mesa de trabajo usando los accesorios de unión y en el otro extremo queda sujeta por el filtro, quedando la superficie total protegida.

3.6.2. INSTALACIÓN DE FILTROS

El filtro ULPA se coloca en la parte posterior o fondo frontal de área de trabajo. El pre filtro se fija en la parte superior del fondo de la mesa de trabajo, quedando justos al cuerpo de la cámara para poder sellar con el hule espuma que traen los filtros de fabrica, garantizando así que el flujo de aire solo pase a través de estos, proporcionando un flujo de aire estéril. Estos deben guardar las características indicadas anteriormente.

3.6.3. INSTALACIÓN VENTEROL

El venterol se coloca en la parte superior de la campana en un compartimiento casi cerrado y aislado acústicamente. Como se indica en el Anexo XV de igual manera debe guardar las características especificadas, todo los detalles que corresponden a la parte eléctrica se detalla en el Anexo XVI.

3.6.4. INSTALACIÓN ELÉCTRICA

Para suministrar energía eléctrica a la cámara flujo laminar, se utilizó corriente monofásica de 120 V.C.A. para alimentar el venterol y lámparas, a través de un interruptor general, todo el control es general a través de la botonera del panel de control que estará situado en la parte superior frontal. Todas las instalaciones eléctricas están detalladas en el Anexo XVI, donde se describe claramente como están conformados los componentes eléctricos.

3.7. OPERACIÓN DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL

Para la operación de la cámara de flujo laminar horizontal debe ser colocada en un lugar libre de corrientes fuertes de aire, para garantizar que no se formen turbulencias que afecten los trabajos realizados.

Las superficies interiores del área de trabajo deberán limpiarse con un desinfectante tal como: alcohol, cloruro benzalcónico, formol, fenol o bien, otro desinfectante con actividad residual equiparable.

Cuando se quiera trabajar la cámara en condiciones completas de esterilización, todo el equipo que se introduzca a la mesa de trabajo deberá ser esterilizado. Además también el personal deberá trabajar con guantes esterilizados.

A fin de remover partículas de material existentes, la cámara deberá ser encendida treinta minutos antes de colocar sobre área de trabajo cualquier elemento estéril.

Se recomienda que dentro del área de trabajo deban estar únicamente los materiales indispensables, a fin de reducir al mínimo las interferencias con el flujo de aire.

3.8. PROBLEMAS DE FUNCIONAMIENTO

- Se debe cambiar el prefiltro cada que sea necesario según las especificaciones de la fabrica ya sea horas de trabajo efectivo o de 3 a 4 meses con objeto de incrementar la vida útil del filtro ULPA que es de 1.5 a 2 años de vida útil según las especificaciones que nos de la fábrica.
- Si el ventilador no funciona:
Verificar clavija del cable de alimentación.
Voltaje de línea 120 V.C.A, interruptor de paro y encendido y por último el venterol.
- No hay iluminación o es insuficiente:
Verificar voltaje de línea de suministro de 120 V.C.A., fusibles, clavija del cable de la cámara, interruptor de alumbrado y por último cambiar las lámparas.
- Disminuye notablemente el flujo de aire.
Verificar voltaje de línea de suministro de 120 V.C.A. al venterol y cambiar los filtros si estuvieran dañados.

3.9. ANÁLISIS DE COSTOS DEL EQUIPO

3.9.1. COSTOS DE MATERIALES

Tabla 3.9.1-1 Costos de materiales

Cantidad	Descripción del artículo	Valor unitario	Valor total
1	Prefiltro de poliéster	23,00	23,00
2	Plancha de acero inoxidable AISI 304 120 x 240 cm de 1 mm	180,00	360,00
1	Filtro ULPA 914 x 610 x 66 mm	870,00	870,00
3	Lámpara UV	15,00	45,00
2	Lámpara fluorescente 15 w	12,50	25,00
1	Vidrio templado claro 5mm. 110cm×57cm	34,40	34,40
4	Perforaciones	1,00	4,00
2	Bisagras	4,00	8,00
1	Manija	4,00	4,00
1	Ventrol centrífugo	60,00	60,00
1	PIC16F877A	10,00	10,00
1	DS1822 (Sensor de temperatura)	14,00	14,00
1	SHT2 (Sensor de Flujo)	68,00	68,00
1	Regulador 7805	0,75	0,75
1	LCD 2×16 backlight azul	10,00	10,00
6	MOC 3020	1,50	9,00
6	TRIAC BTR 600 D	2,50	2,50

1	Transistor TIP 110	1,20	1,20
2	Zócalo 4×2	0,40	0,80
1	Zócalo 20×2	1,20	1,20
1	Potenciómetro 10k	1,00	1,00
1	Pulsador	1,20	8,40
1	Transformador 120/12V 3 ^a	12,00	12,00
1	Puente rectificador 4 ^a	3,00	3,00
1	Capacitador 2200 uF 35V	1,00	1,00
1	Capacitador 104	0,40	0,40
1	Capacitador 103	0,40	0,40
6	Resistencia 330R ½ W	0,05	0,30
10	Resistencia 4,7 k ½ W	0,05	0,50
1	Resistencia 10R ½ W	0,05	0,05
8	Conductores (metros)	0,60	4,80
1	Placa baquelita	20,00	20,00
1	Interruptor doble	2,00	2,00
20	Tornillos	0,40	8,00
15	Remaches	0,80	12,00
	Imprevistos		47,12
		Subtotal	1671,82
		I.V:A	200,62
		TOTAL	1872,44

Cotizado: Epectrocrom, JY, Vitrotecnia Moreta.

3.9.2 COSTOS DE CONSTRUCCIÓN Y MANO DE OBRA

Se detalla la mano de obra requerida para la construcción del equipo.

Tabla 3.9.2-1 Costos de construcción y mano de obra

Trabajo	Costo
Instalación eléctrica	200,00
Construcción de equipo	240,00
Total	440,00

3.9.3 COSTOS TOTALES

Los costos totales necesarios para la cámara de flujo laminar horizontal se detallan en la siguiente tabla.

Tabla 3.9.3-1 Costos Totales

Costos totales	Total
Costos materiales	1872,44
Costos mano de obra	440,00
TOTAL	2312,44

3.10. MANTENIMIENTO

Una de las formas de asegurar el correcto funcionamiento de la cámara y garantizar su tiempo de vida útil es llevar a cabo un mantenimiento preventivo para evitar daños debido a mantenimiento correctivo; para ello se debe seguir cuidadosamente las siguientes recomendaciones para el uso:

Siempre se la debe desinfectar por completo usando alcohol de 70-90% de concentración (de preferencia etanol, tener mucho cuidado si se utiliza alcohol antiséptico que contiene también metanol. El metanol es tóxico y puede causar ceguera si es ingerido). Use un roceador y limpie todas las superficies de la cámara con un algodón empapado de alcohol (incluyendo las paredes y el techo). Se debe desinfectar tanto antes como después de utilizar la cámara. Tenga cuidado de no inhalar cuando se roce el etanol para utilizar la cámara.

Todo lo que ingresará en la cámara debe estar esterilizado. Utilice guantes y desinfectelos completamente antes de usarlos, roceándolos con alcohol y guardándolos en la cámara hasta que el alcohol se haya secado. Con práctica, es posible en lugar de usar guantes, lavarse las manos y fregarse las uñas usando un jabón antibacterial, secarse y esterilizar con alcohol, sin embargo en caso de que existieran problemas con contaminación bacteriana se debe volver a utilizar los guantes. Use un mandil de laboratorio y lávelo constantemente.

Asegúrese que los frascos de vidrio estén limpios. Los frascos de vidrio pueden ser roceados con alcohol al introducirlos en la cámara, pero con precaución.

Cualquier nota escrita con marcador sobre el vidrio será borrada por el etanol. Si los frascos están limpios, rocearlos con etanol no será necesario. Los instrumentos pueden ser autoclavados antes de su uso, envolviéndolos previamente en papel de aluminio o

papel de empaque café sellado con cinta adhesiva. Una vez en la cámara, la esterilización es asegurada sumergiéndola en etanol al 100% y encendiéndola tres veces antes de usarla. La mejor manera de conservar el etanol es en frascos grandes de vidrio para permitir la máxima exposición de los instrumentos al etanol. Después de flamear los instrumentos éstos deben ser ubicados rápidamente sobre un frasco de vidrio esterilizado para continuar con el flameado. Déjelos enfriar antes de su uso.

Recuerde que cualquier espora de bacteria u hongo dentro de la cámara flotará hacia el interior y en dirección a su persona. Nunca ponga las manos, mangas u otro objeto sobre o en dirección de algo desinfectado (como el medio). Mantenga movimientos leves y evite crear turbulencia de aire que pueda ocasionar contaminación. No hable, tosa dentro de la cámara. Trabaje en lo posible por la parte de atrás de la cámara y minimice el tiempo de exposición de los medios cuando sea posible.

Mantenga las condiciones de esterilización mediante la limpieza regular de la cámara con alcohol, desinfecte nuevamente los instrumentos luego de su uso y lávese de nuevo las manos después de haber tenido contacto con cualquier objeto fuera de la cámara. De manera especial, no se toque el cabello o la cara con los guantes puestos.

4. CONCLUSIONS Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Una actividad previa al diseño, fue realizar las pruebas de simulación de manipulaciones en medios de cultivo para encontrar las mejores condiciones de asepsia, orientado a obtener los datos experimentales y a la identificación de las variables de proceso como flujo de aire filtrado y radiación U. V. es así que puedo concluir lo siguiente:

- Se realizó el diseño de una cámara de flujo laminar horizontal para la producción de plantas in vitro el cual brinda un flujo laminar purificado que brinda protección al producto.
- Se resolvieron los cálculos necesarios para el diseño, el dimensionamiento y características de cada uno de los materiales necesarios, especificando detalladamente todos los requerimientos.
- Las dimensiones generales se fijaron en 1300 x 750 x 1100 mm (largo x fondo x alto) haciendo del diseño un tamaño intermedio versátil a los que se encuentran en el mercado.
- El filtro ULPA seleccionado es importante ya que retienen las partículas mayores de 0.12 micras y permiten el paso del aire en forma laminar.
- El ventilador centrífugo escogido genera un flujo de aire con volumen suficiente para saturar la superficie de los filtros.
- El diseño de la luz ultra violeta con efecto germicida es innovador singular que guarda con todas las características necesarias para la producción de plantas in vitro en el laboratorio del Departamento de Ciencias Biológicas.

- El requerimiento presupuestario para el equipo se realizó obteniendo los costos materiales de 1872,44 dólares y costos mano de obra 440,00 dólares, estimando un total del equipo aproximado de 2312,44dólares.

4.2. RECOMENDACIONES

Las recomendaciones principales que puedo señalar, para el diseño de la cámara de flujo laminar horizontal, las resumo a continuación:

- Tomar en cuenta que una velocidad nominal de 0.45 m/s asegura que existe una renovación suficiente de aire/hora dentro del área interna de la cabina con el propósito de mantener la esterilidad.
- El modelo de este equipo esta sujeto a cambios que se considere necesario hacerlo, sin embargo se debe tomar muy en cuenta las especificaciones técnicas que se obtuvieron, porque ciertos parámetros no están en consideración de alterarlos.
- No se debe olvidar en le diseño que debe existir un borde elevado al fondo de la zona de trabajo impide que los derrames dañen el filtro absoluto.
- Se debe considerar que el flujo unidireccional (Flujo Laminar Horizontal) da alto grado de libertad para operar, pues no tienen bocamangas o elementos que limiten la capacidad de acción del operador.
- Es diseño pueden ser utilizado para otros usos ya que es tipo de unidad es idóneo para todas aquellas actividades que requieren esterilidad y que al mismo tiempo no son patógenas para el personal que opera el equipo.
- Si se desee elegir el tipo de cámara de flujo hay que analizar que clase de productos o materiales van a ser manipulados en la cámara para escoger la más adecuada.

- Cuando se desee elegir el tipo de cámara de flujo hay que analizar que clase de productos o materiales van a ser manipulados en la cámara para escoger la más adecuada.
- Cuando se construya el equipo pero se debe tener cuidado con la luz U.V. ya que la misma solo debe permanecer encendida en ausencia total de los usuarios. La Lámpara Ultravioleta nunca debe verse directamente a los ojos.

BIBLIOGRAFÍA IMPRESA

1. ALVARADO, Y. Contaminación Microbiana en Cultivo *In Vitro* de Plantas. Madrid: Mundi-Prensa, 1996. pp. 81-104.
2. CLAVELL, L. Microbiología Métodos Generales. 2ª ed. Caracas: Mc Graw-Hill, 1992. pp. 20-21.
3. CRUEGER, W. Microbiología Industrial. 2ª ed. Zaragoza: Acribia, 1993. pp. 106-113.
4. FOUST, S. Principios de Operaciones Unitarias. México: Continental, 1990. pp. 234-238.
5. GARCIA, G. Biotecnología Alimentaria. 2ªed. México: Limusa, 2002. pp. 69- 89.
6. GILES, R. Mecánica de Fluidos e Hidráulica. New York: Mc Graw-Hill, 1967. pp. 96-98, 160.
7. HALES, S. Reflexiones Sobre la Revolución Biotecnológica y su Impacto en la Sociedad. Valencia: Universal, 2003. pp. 38
8. MARGARA, J. Multiplicación Vegetativa y Cultivo *In Vitro*. Madrid: Mundi-Prensa, 1998. pp.232
9. MOTT, R. Mecánica de Fluidos. 4ª.ed. México: 2006. pp. 545.
10. MICROSOFT CORPORATION. Biblioteca de Consulta Encarta. Version 2009 (programa de computador).
11. NASH, W. Resistencia de Materiales. México: Mc Graw-Hill, 1986. pp. 3-4.
12. PIERIK, R. Cultivo *In Vitro* de Plantas Superiores. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. pp.301

13. POTTER, M. Mecánica de los fluidos. México: Prentice Hall, 1998. pp. 97, 261- 262, 269-270, 276-278.
14. ROCA, L. Cultivo de Tejidos en la Agricultura. México: CIAT, 1991. pp. 367.
15. RODRÍGUEZ, R. Biología Celular y Molecular. Buenos Aires: El Ateneo, 1984. pp. 107.
16. TALÓN, M. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Madrid: McGraw-Hill, 1993. pp. 301-318.

BIBLIOGRAFIA WEB

1. CARACTERÍSTICAS DE CFLH

<http://www.kalstein.net/tc/index.php?cPath=7>

2008-11-15

http://www.escoglobal.com/es/biotech/product_2_4.asp

2008-11-18

2. CULTIVOS IN VITRO

www.encolombia.com/acovez24_evolucion14.htm

2008-11-15

www.ub.es/biocel/wbc/recursos/coleccionphc.htm

2008-11-15

<http://articulos.infojardin.com/Frutales/cultivo-in-vitro-reproduccion.htm>

2008-11-15

<http://www.etsea2.udl.es/invitro/propra.htm>

2008-11-15

3. FILTRACIÓN

<http://www.cruma.es/filtracion/filtracion+aire>

2009-01-17

4. FILTRACIÓN DE ALTA EFICIENCIA

<http://www.aquieta.com/afiltrolh.htm>

2008-12-04

5. FLUJO LAMINAR

http://es.wikipedia.org/wiki/Corriente_laminar

2008-12-21

<http://www.geocities.com/mycotechmillenium/Campanas.html>

2008-11-03

6. ISO 14644-1

http://www.camfilfarr.com/espana/filtertechnology/ISO14644_1.cfm

2008-11-15

7. LUZ ULTRA VIOLETA

http://www.acsmedioambiente.com/LoNuevo/luz_ultravioleta.htm

2008-11-25

http://www.sefitra.com/sefiltra_productosultravioleta.htm

2008-12-14

8. VENTILADORES

http://es.wikipedia.org/wiki/Abanico_el%C3%A9ctrico

2008-11-15

ANEXO I

PROPIEDADES DE AIRE

Temperatura T (°C)	Densidad ρ (Kg/m ³)	Viscosidad dinámica μ (Pa·s)	Viscosidad cinemática ν (m ² /s)
-40	1,514	1,51×10 ⁻⁵	9,98×10 ⁻⁶
-30	1,452	1,56×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵
-20	1,394	1,62×10 ⁻⁵	1,16×10 ⁻⁵
-10	1,341	1,67×10 ⁻⁵	1,24×10 ⁻⁵
0	1,292	1,72×10 ⁻⁵	1,33×10 ⁻⁵
10	1,247	1,77×10 ⁻⁵	1,42×10 ⁻⁵
20	1,204	1,81×10 ⁻⁵	1,51×10⁻⁵
30	1,164	1,86×10 ⁻⁵	1,60×10 ⁻⁵
40	1,127	1,91×10 ⁻⁵	1,69×10 ⁻⁵
50	1,092	1,95×10 ⁻⁵	1,79×10 ⁻⁵
60	1,06	1,99×10 ⁻⁵	1,89×10 ⁻⁵
70	1,029	2,04×10 ⁻⁵	1,99×10 ⁻⁵
80	0,9995	2,09×10 ⁻⁵	2,09×10 ⁻⁵
90	0,972	2,13×10 ⁻⁵	2,19×10 ⁻⁵
100	0,9459	2,17×10 ⁻⁵	2,30×10 ⁻⁵
110	0,9213	2,22×10 ⁻⁵	2,40×10 ⁻⁵
120	0,8978	2,26×10 ⁻⁵	2,51×10 ⁻⁵

¹⁹

Nota: las propiedades del aire para condiciones estándar a nivel del mar son:

Temperatura T (°C)	Densidad ρ (Kg/m ³)	Viscosidad dinámica μ (Pa·s)	Viscosidad cinemática ν (m ² /s)
15	1,225	1,789×10 ⁻⁵	1,46×10 ⁻⁵

¹⁹ MOTT, Robert, Mecánica de Fluidos, 4 edición, México 2006. p. pp. 545

ANEXO II

MEDICION DE LA VELOCIDAD DEL AIRE

							subtotal	Total	÷ 21 lecturas
							subtotal		
							subtotal		

(1) FPM

(2) $FPM \times 1.2 =$ FPM LIMITE SUPERIOR

(3) $FPM \times 0.8 =$ FPM LIMITE INFERIOR

ANEXO III

CUALIDADES DE ACERO INOXIDABLE

AISI	Resistencia a la Tracción (kg/mm ²)	Resistencia a la Cedencia mín. (kg/mm ²)	Elongación %	Dureza HB (máx)	W. Nr	AF NOR	European Designation	SS
304	54-75	23	40-50	190	1.4301	Z7CN18-09	X5CrNi18-10	2332
304-L	52-67	22	40-50	190	1.4306	Z3CN19-11	X2CrNi18-9	2333
316	53-68	24	40-50	200	1.4401	Z7CND17-11-02	X5CrNiMo17-12-2	2347
316-L	53-68	24	40-50	200	1.4404	Z3CND17-11-02	X2CrNiMo17-12-2	2343
310-S	52-70	20	40	200	1.4845	Z8CN25-20	X8CrNiMo25-21	2361
430	45-60	26	20	180	1.4016	Z8C17	X6Cr 17	2320

ESPESOR (mm)	ANCHO X LONGITUD (mm)	PESO APROX. (kg)	304	304-L	316-L	310S	430	ACABADO
0.4	1220x2440	9.4					*	2B
0.5	1220x2440	11.8	*				*	2B
0.6	1220x2440	14.2	*					2B
0.7	1220x2440	17.0	*					2B
0.8	1220x2440	18.7	*				*	2B o N° 4
0.9	1220x2440	21.03	*					2B
1.0	1220x2440	24.0	*	*				2B
1.2	1220x2440	28.2	*					2B o N° 4
1.5	1220x2440	35.0	*	*			*	2B o N° 4
2.0	1220x2440	48.0	*	*	*			2B o N° 4
2.5	1220x2440	60.0	*	*	*			2B o N° 4
3.0	1220x2440	71.0	*	*	*	*		2B
4.0	1220x2440	97.0	*		*			2B
5.0	1220x2440	118.0	*		*			N°1
6.0	1220x2440	144.0	*		*	*		N°1
8.0	1220x2440	187.0	*		*	*		N°1
10.0	1220x2440	234.0	*			*		N°1
12.0	1220x2440	282.0	*					N°1

AISI	% C	% Si	% Mn	% P Máx.	% S	% Cr	% Ni	% Mo
304	≤ 0.08	≤ 1.00	≤ 2.00	0.045	≤ 0.015	18.0-20.0	8.0-10.5	--
304-L	≤ 0.03	≤ 1.00	≤ 2.00	0.045	≤ 0.015	18.0-20.0	8.0-12.0	--
316	≤ 0.08	≤ 1.00	≤ 2.00	0.045	≤ 0.015	16.0-18.0	10.0-14.0	2.0-3.0
316-L	≤ 0.03	≤ 1.00	≤ 2.00	0.045	≤ 0.015	16.0-18.0	10.0-14.0	2.0-3.0
310	≤ 0.10	≤ 1.50	≤ 2.00	0.045	≤ 0.015	24.0-26.0	19.0-22.0	--
430	≤ 0.08	≤ 1.00	≤ 1.00	0.040	≤ 0.015	16.0-18.0	--	--

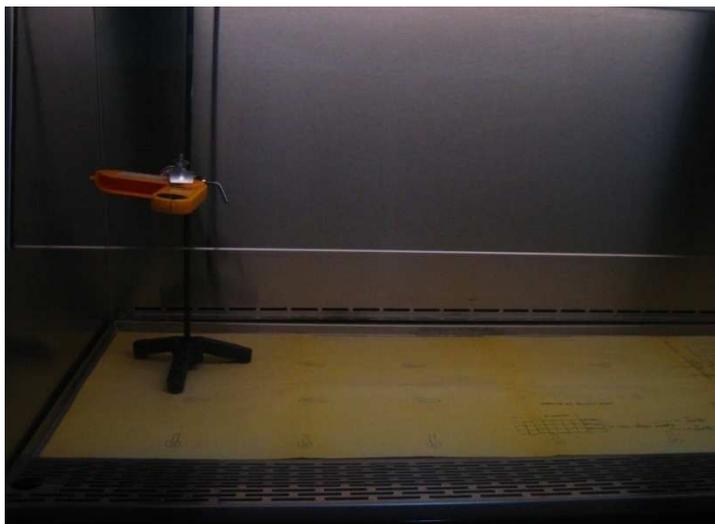
ANEXO IV

TERMOANEMOMETRO



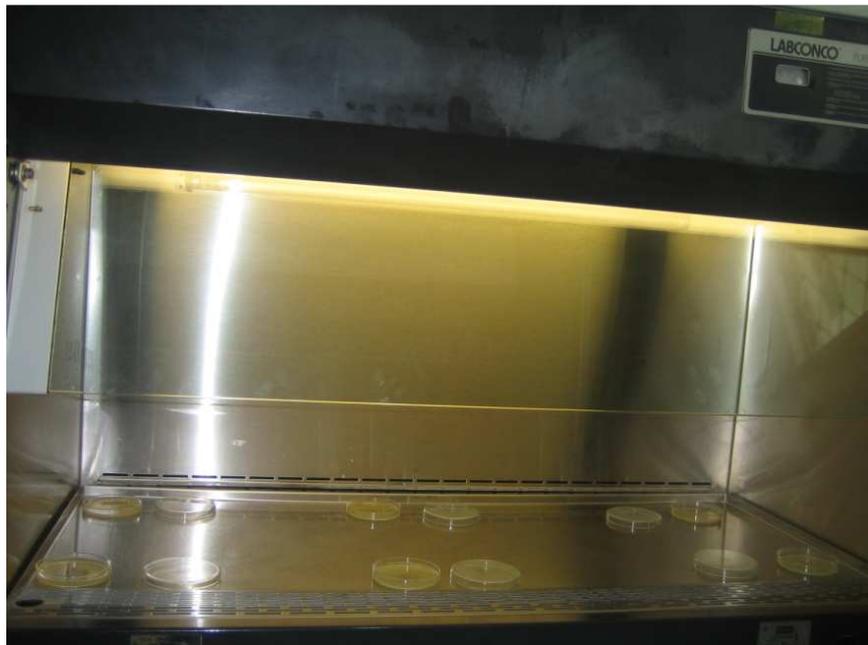
ANEXO V

PRUEBA CON EL ANEMOMETRO



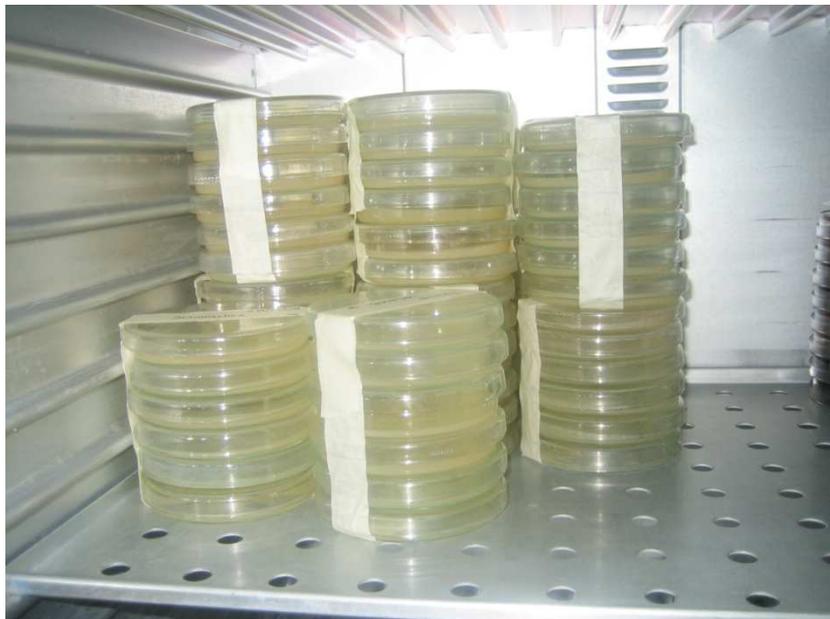
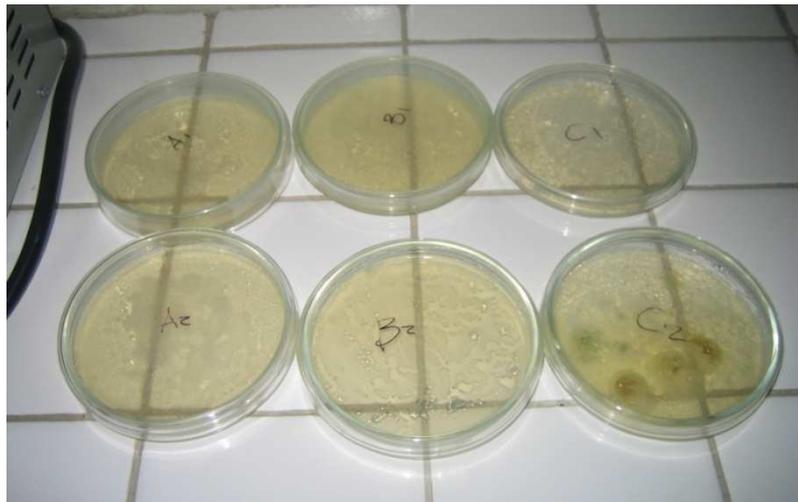
ANEXO VI

FOTOS DE REALIZACION DE PRUEBAS DE ASEPSIA



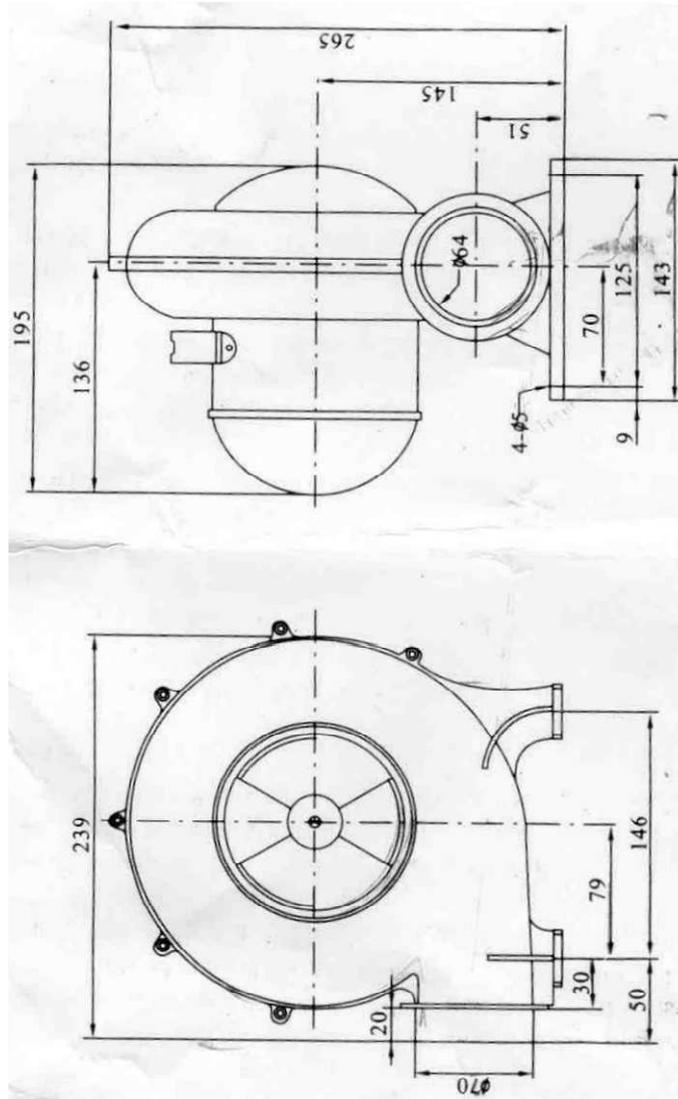
ANEXO VII

FOTOS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS



ANEXO VIII

DIBUJO DEL CONTORNO DEL VENTEROL



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		Venterol
		Dibujo del contorno

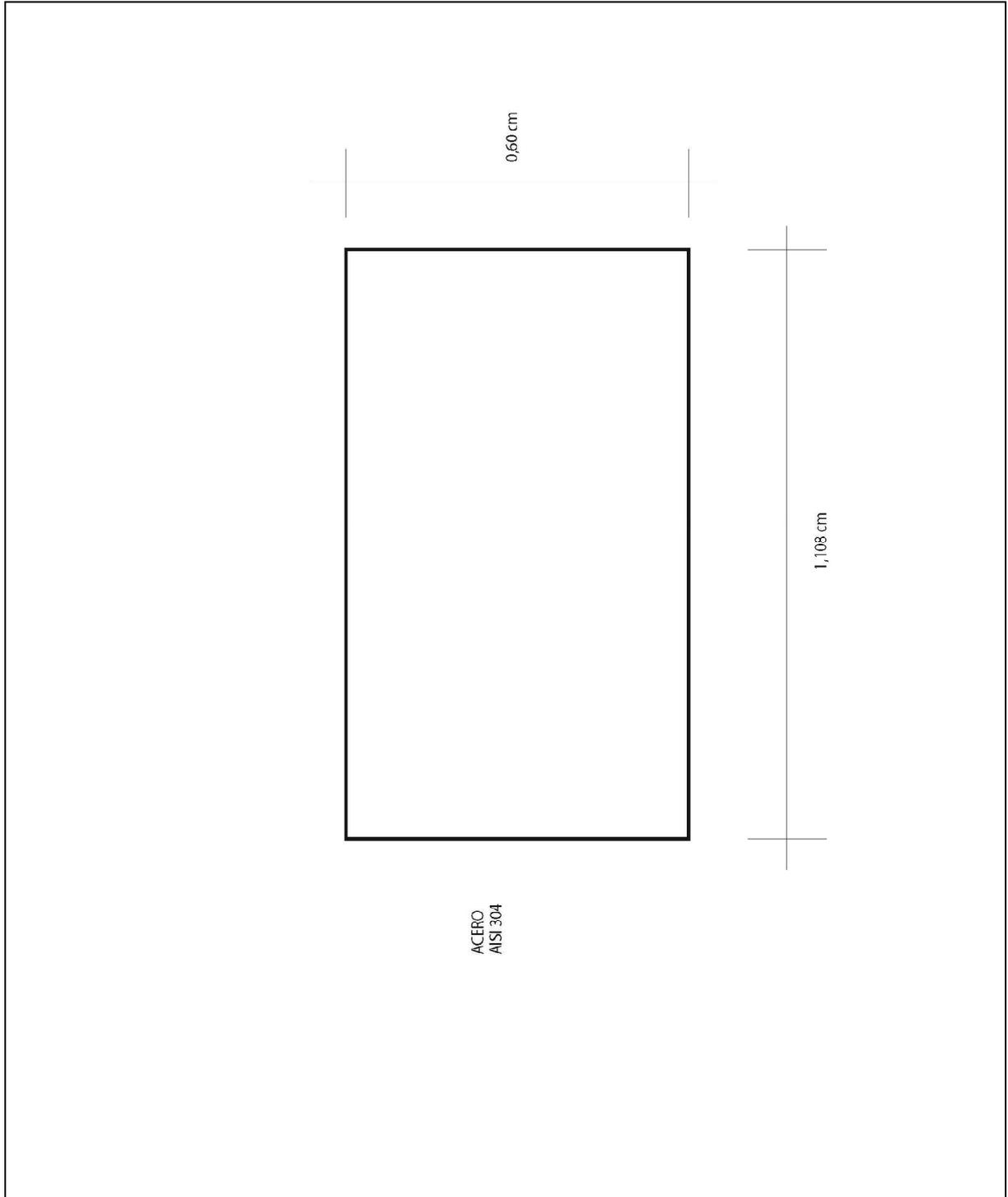
ANEXO IX

TIPO DE FILTROS

TIPOS DE FILTROS				
	Clasificación Según EN 1822	H10, H11, H12	H10, H11, H13,	H14, U15, U16
	Eficiencia	>85 % - >95,5 %	>85% - >99,95%	>99,995% - >99,99995%
	Pérdida de presión Final recomendada	650 Pa	750 Pa	600 Pa
	Máx. Temp. de Operación	70 °C	80 °C	80 °C
	Humedad Relativa máx.	100 %	100 %	100 %

ANEXO X

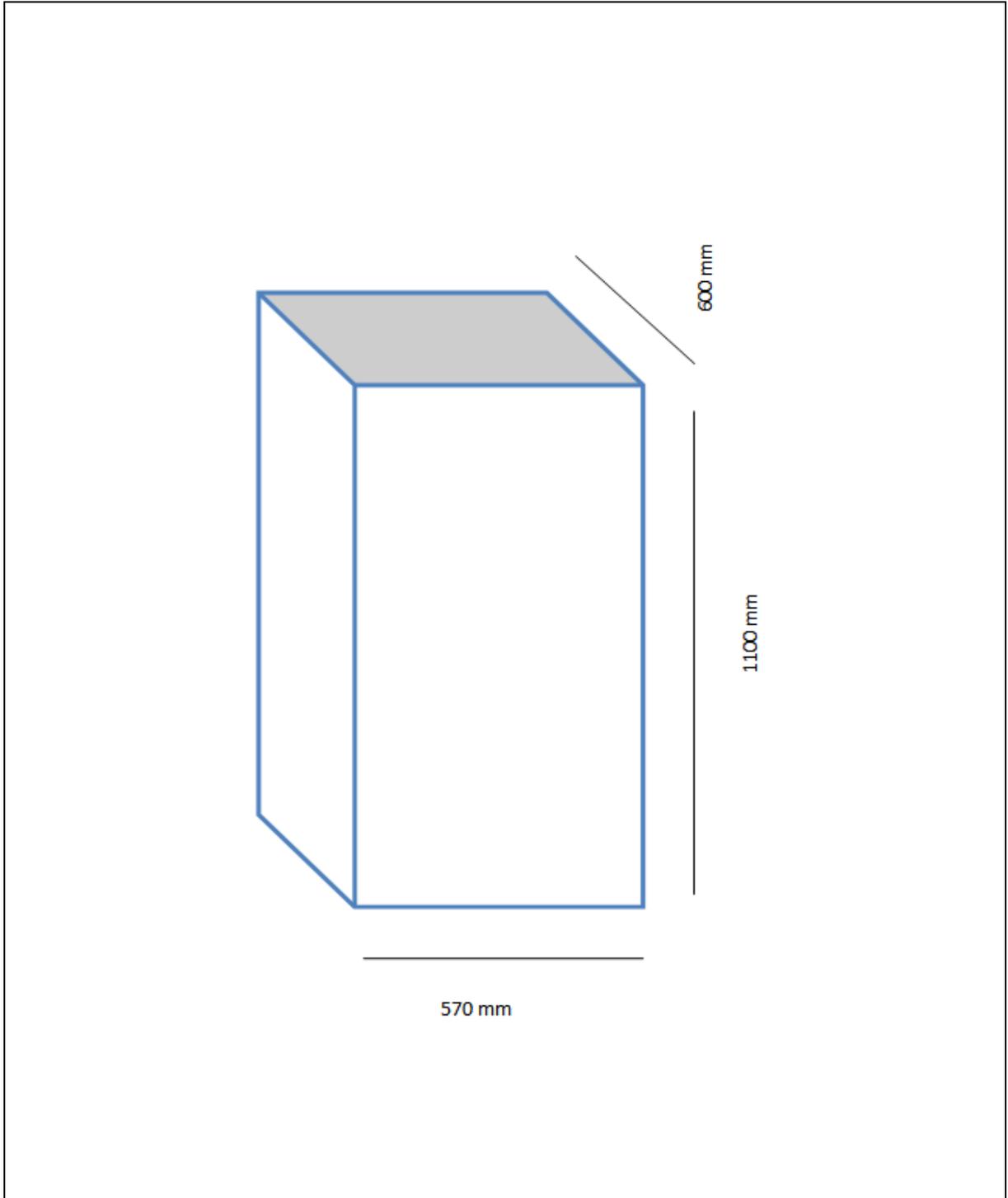
VISTA SUPERIOR SUPERFICIE DE TRABAJO



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		Área de Trabajo
		Vista Superior

ANEXO XI

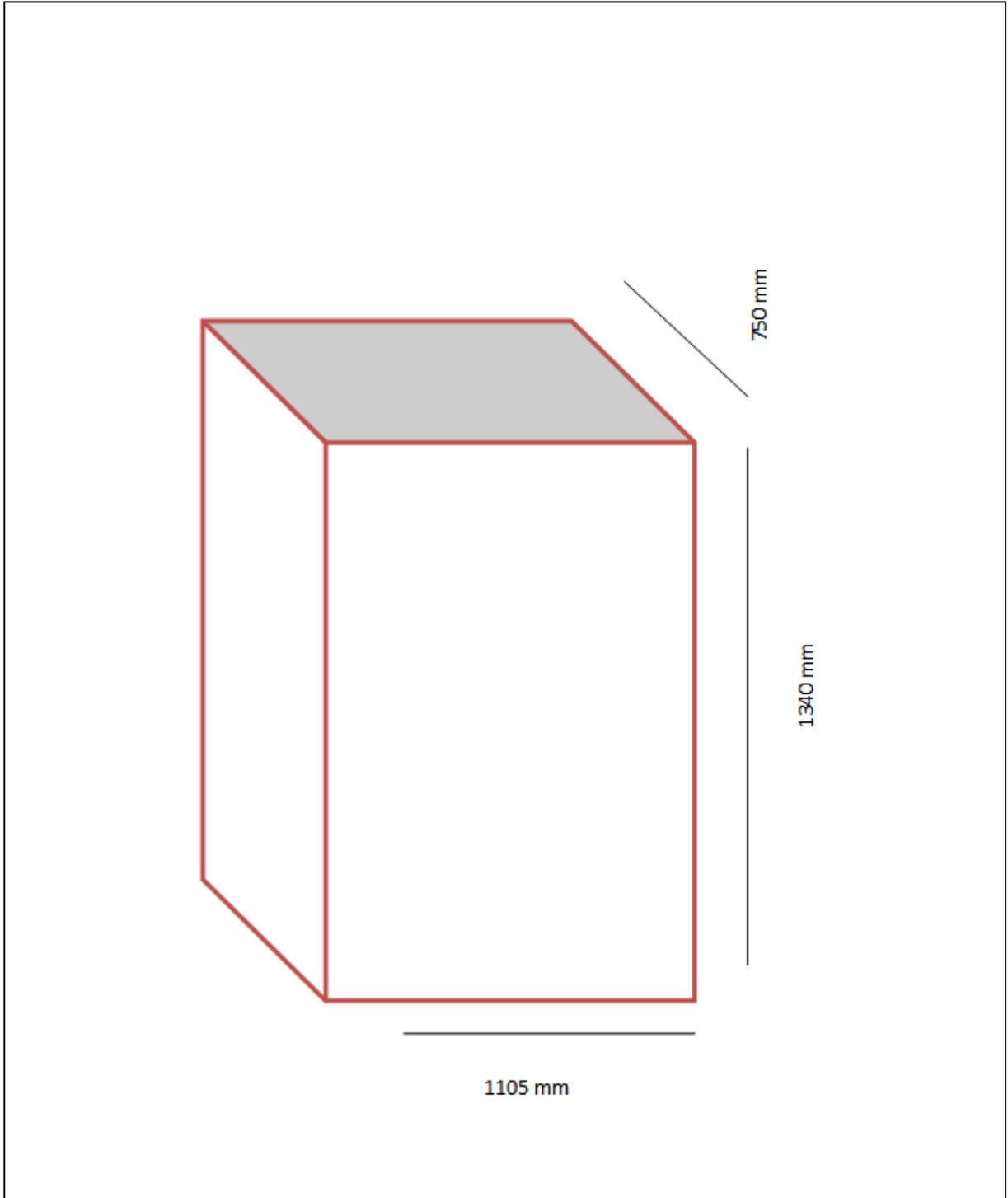
VISTA INTERNA DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		CFLH
		Vista Interna

ANEXO XII

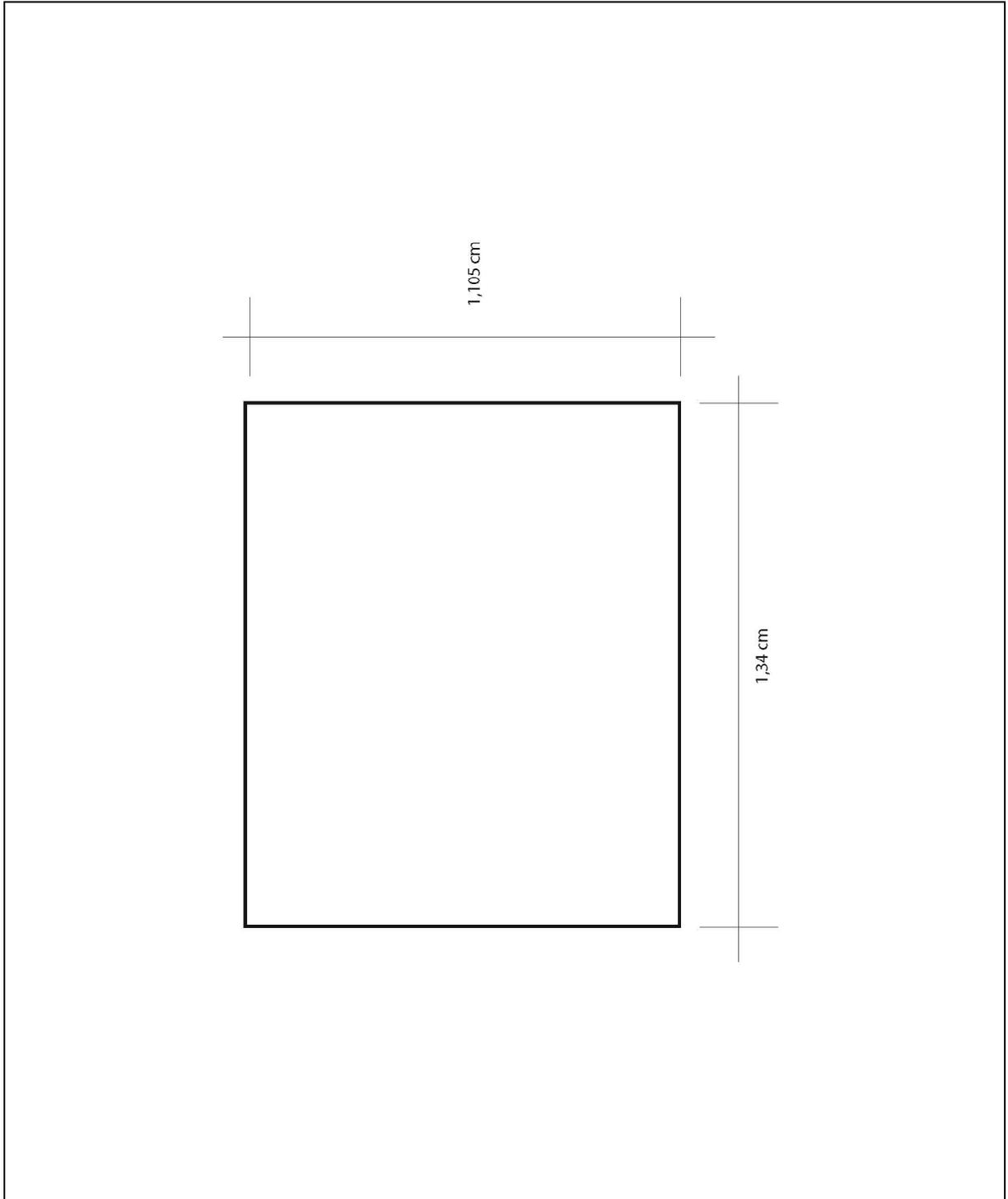
VISTA EXTERNA DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		CFLH
		Vista Externa

ANEXO XIII

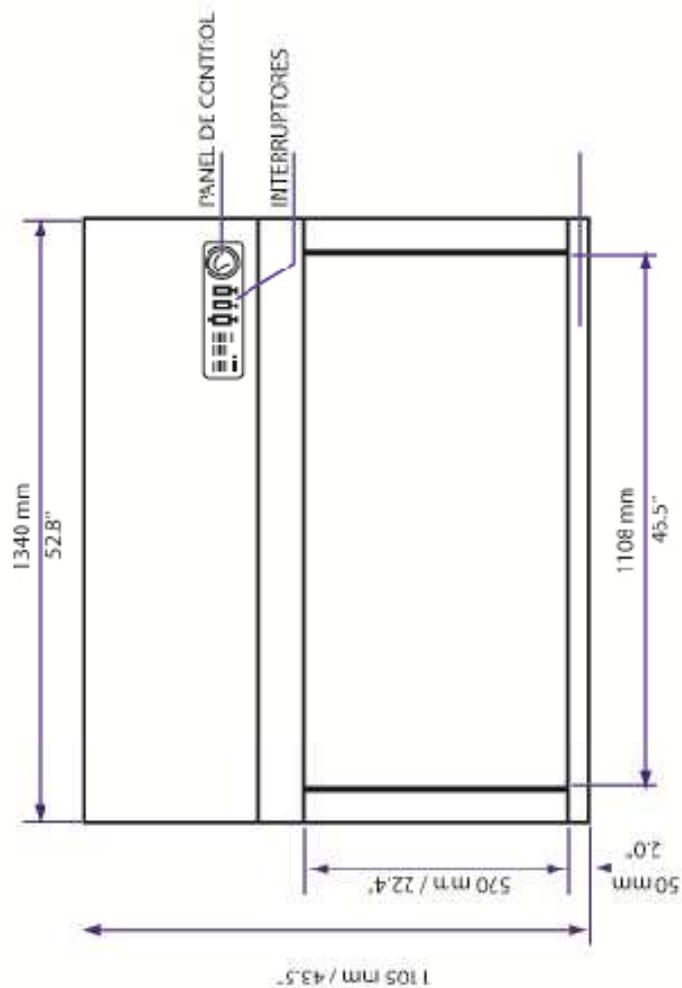
VISTA TOTAL DE LA CÁMARA



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		CFLH
		Vista Total

ANEXO XIV

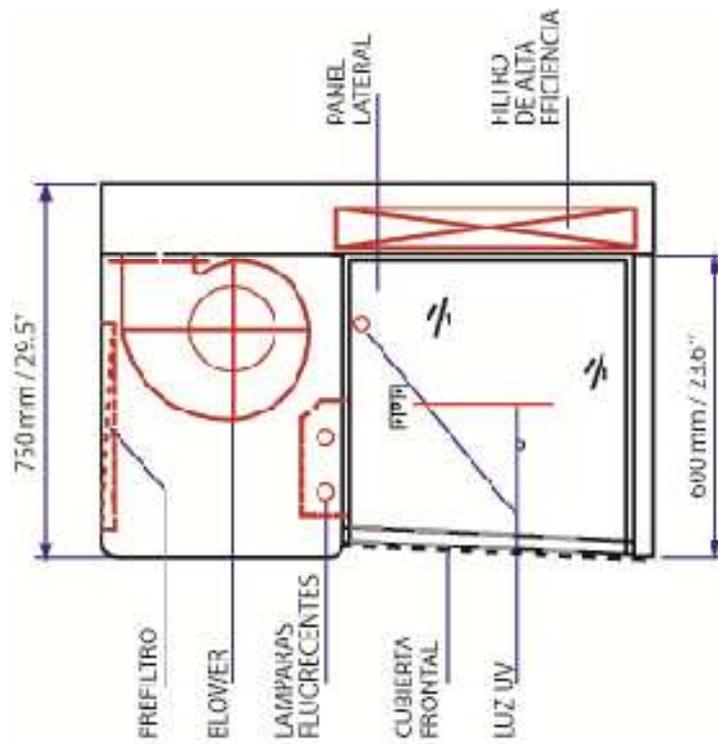
DIAGRAMA INGENIERIL DE LA CFLH



Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		Diagrama Ingenieril
		Vista Frontal

ANEXO XV

DIAGRAMA INGENIERIL DE LA CFLH



Elaborado: Adriana Santos G

Categoría: Informar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA Adriana Elizabeth Santos Gavidia	Tema:
Notas:		Diagrama Ingenieril
		Vista Lateral

