

UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL

DE LOS LLANOS OCCIDENTALES

“EZEQUIEL ZAMORA”

VICERRECTORADO DE INFRAESTRUCTURA Y PROCESOS INDUSTRIALES

PROGRAMA DE CIENCIAS DEL AGRO Y EL MAR SAN CARLOS- VENEZUELA



**EXPLORACION DE LAS CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE UN
ANTIBIOTICO DE USO VETERINARIO EMPLEANDO HIPERCUBO
LATINO.**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
Agroindustrial

Autores.

Zuleica Manzabet C.I: 20.268.584

Eudomar Natera C.I: 21.562.181

Tutor: Ing. Llelysmar Crespo.

San Carlos, Marzo de 2018

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLA	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
SUMMARY	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I:	3
I.1.1 Planteamiento del problema.....	4
I.1.2 Formulacion de los objetivos	4
I.1.2.1 Objetivo general.....	4
I.1.2.2 Objetivos específicos	4
I.1.3 Evaluación del problema.....	5
I.1.3.1 Importancia	5
I.1.3.2 Interes.....	6
I.1.3.3 Novedad	6
I.1.3.4 Justificación	6
I.1.4 Alcances y limitacione	6
I.1.4.1 Alcances.....	7
I.1.4.2 Limitaciones.....	7
I.1.5 Ubicación Geográfica	8
CAPITULO II:	8
II.1 MARCO TEORICO	8
II.1.1. Antecedentes de la investigacion	11
II.1.2 Bases teoricas	11
II.1.2.1 Antibiótico.....	12
II.1.2.2. Criterios para el uso de antibióticos	12
II.1.2.3 Abuso de los antibióticos.....	13
II.1.2.4. Uso prudente de antibióticos	13
II.1.2.5. Antibióticos veterinarios	14
II.1.2.6. Administración de Antibióticos.....	14
II.1.2.7. Las formas de administrar antibióticos son.	14

II.1.2.8 Local	14
II.1.2.9. Oral	14
II.1.2.10. Parenteral	14
II.1.2.11. Antibiótico tipo ungüento.....	15
II.1.2.12. Indicaciones	15
II.1.2.13. Elección	15
II.1.2.14. Características.....	16
II.1.2.15. Ventajas	16
II.1.2.16. Historia de la penicilina.....	16
II.1.2.17. Penicilina	17
II.1.2.18. Estructura de la penicilina	17
II.1.2.19. Propiedades	18
II.1.2.20. Penicilina naturales y biocintéticas	19
II.1.2.21. Penicilina semisintéticas	19
II.1.2.22. Mecanismo de acción.....	19
II.1.2.23. Aplicación veterinaria.....	19
II.1.2.24. Alergia a la penicilina.....	22
II.1.2.25. <i>Penicillium Chrysogenum</i>	24
II.1.2.26. Características <i>Penicillium</i>	24
II.1.2.27. Supervivencia ambiental.....	24
II.1.2.28. Maiz. (<i>zea mays</i>).....	25
II.1.2.29. El sustrato.....	26
II.1.2.30. Crecimiento microbiano.....	26
II.1.2.31. Birreactor.....	28
II.1.2.32. Tipos de birreactores.....	29
II.1.2.33. Diseño.....	30
II.1.2.34. Clasificación de los birreactores.....	31
II.1.2.35. Clasificación operativa.....	31
II.1.2.36. Sistema de agitación en birreactores de tanque agitados.....	33
II.1.2.37. Medios de cultivo.....	33
II.1.2.38. Papa dextrosa agar (PDA).....	34
CAPITULO III	35

III.1. MARCO METODOLÓGICO	35
III.1.1. Modalidad de la Investigación	35
III.1.2. Población y Muestra	35
III.1.3. Tipo de Investigación	35
III.1.4. Técnicas e Instrumentos de la Recolección de Datos	37
III.1.5. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Información	38
III.1.3 .Materiales y métodos	39
III.1.3. Materiales, equipos y reactivos utilizados en la investigación	39
III.1.3.2. Métodos	39
III.1.3.2.1. Preparación de los medios de cultivos.(medio solido)	39
III.1.3.2.2. Proceso biotecnológico (fermentación Semicontinua	41
III.1.3.2.3. Recuento en Placas	44
III.1.3.2.4. Técnicas de análisis de datos	44
III.1.3.2.5. Hipercubo latino	44
III.1.3.2.6. ¿Qué es Aprendizaje Profundo (Deep Learning)?	44
III.1.3.2.7. ¿Qué es lo que hace que Deep Learning sea lo último en tecnología	45
III.1.3.2.8. Lo interno de una red neuronal profunda	46
III.1.3.2.9. Cómo aprende una red neuronal profunda	46
III.1.3.2.10. Capa de clasificación	46
III.1.3.2.11. ¿Cuál es la diferencia entre el aprendizaje profundo y Aprendizaje automático?	47
CAPITULO IV	48
IV.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	48
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA	57
ANEXOS	61

INDICE DE TABLAS

Cuadro 1 Estructura de la penicilina	18
Cuadro 2 Escala taxonómicas del <i>Penicillium chrysogenum</i>	25
Cuadro 3 Análisis químico y microbiológico.....	48
Cuadro 4. Matriz de diseño de tratamientos y respuestas tecnológicas medidas antibiótico de uso veterinario.....	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema tecnológico para la obtención de la lechada maíz.	
Descripción del esquema tecnológico.....	43
Figura 2. Condiciones de calidad alcanzadas para maximizar la producción de un antibiótico de uso veterinario tipo ungüento.....	51
Figura 3. Red neuronal artificial, condiciones de entrenamiento y bondad de ajuste.....	52
Figura 4. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para $Y_1=\text{pH}$ [+].	53
Figura 5. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para $Y_2=\text{POR}$ (mV)	53
Figura 6. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para $Y_3=\text{Densidad}$ (g/ml)	54
Figura 7. Parámetros del modelo genérico de la red neuronal artificial.....	54

DEDICATORIA

Este trabajo que es el resultado de mucho esfuerzo se lo dedico a Dios máxima representación en mi vida, por la fuerza, sabiduría, paciencia y salud que me brindó para poder culminar mis estudios profesionales.

A mis padres : CARLOS MANZABET Y ZULEIMA CARACHE, por darme el don de la vida y su apoyo incondicional en la búsqueda de mis metas y formarme de la mejor manera posible los amo y admiro profundamente.

A mis hermanas: Por siempre estar conmigo y siempre tener un consejo para ser mejor cada día; estoy orgullosa de ser su hermana.

A mi compañero de vida: Renzo Ruiz por ser mi amigo, mi confidente, mi complemento, gracias mi amor por estar ahí en todo momento y apoyarme siempre.

A mis tías: por siempre estar presente animandome a seguir con mi meta.

A mi abuelo: Martin Carache (QEPD) A pesar que no estas físicamente, en vida me brindaste mucho apoyo y se que desde el cielo estas orgulloso de mi.

A mis compañeros de clases que de u otra manera compartimos momentos inolvidables gracias amiga Glendys Mujicas, Eudomar Natera, Norelvis , Francys muchas gracias.

A mi amigo Henry Paez que has estado conmigo animandome a seguir con esta meta gracias por ayudarme en el transcurso de este trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

A todos gracias...

ZULEICA DEL VALLE MANZABET CARACHE

DEDICATORIA.

A:

Dios todopoderoso, por ser mi fuente, mi mano derecha, mi sustento, el que me ha dado la capacidad, la valentía y la fortaleza para que este sueño se hiciera realidad, sin ti mi dios no hubiese podido, gracias porque en ti todas las cosas son posibles.

A mi Familia; a mis padres Herminia Pineda y Euclides Natera, por su apoyo incondicional en todo momento, por sus consejos, sus valores, por sus esfuerzos y sacrificios y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien. A mis abuela; María E. Pineda (QEPD) este logro es por ti que siempre estuviste allí para mí y que hoy por circunstancia de la vida no estás presente físicamente en este logro que siempre quisiste ver concretado, María A. Calanche gracias por estar presente en todo momento. A mi tía Digna Pérez, que siempre ha estado allí para mí, y constantemente brindándome su amor y apoyo incondicional, gracias por siempre ser mi guía en todo este camino. A Douglas Pérez y Yusmeri Gil que han sido partidario de este triunfo y haber estado presente durante todo este trayecto. Y a mi familia en general porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A Mis Hermanos; Euclides, Arianny, Yurianny, Orianny, por su apoyo y contribución durante este trayecto.

A Mis Amigos; Noelba Vázquez, Eliana Daniel, Julio Medina, Carlos Medina, Jairo, Pedro, Edgar Perez, Gregorio Calanche, Elibeth M. Gregxi C. Carlos M. (Calito), Hector L. (Chino), Carlos D. Mariana García, Luis Noda, Yoleinny Rojas, Zuleica Manzabet, Glenda Linares, agradecerles a mis grandes amigos, que de una u otra forma siempre han estado presente, los cuales me enseñan que la amistad es la esencia propia de la vida.

A Mis Tutores; Ing. Llelysmar Crespo, Ing. Gabriel Cravo, por compartir sus conocimientos y prestarme su colaboración en la redacción de mi trabajo de grado, y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

EUDOMAR JOSE NATERA PINEDA.

AGRADECIMIENTO

Primeramente y ante todo agradezco a Dios por darme, la fuerza, la sabiduría y conatncia para seguir adelante y lograr tan anhelada meta.

A mis padres CARLOS MANZABET Y ZULEIMA CARACHE por ser el pilar fundamental en mi vida gracias por su amor, confianza y sacrificios siempre apoyándome en las metas y objetivos que me he propuesto en la vida para salir adelante.

A mis hermanas por su cariño, su amor por apoyarme en cada momento que he necesitado de ustedes gracias por estar siempre a mi lado.

A mi compañero de vida Renzo Ruiz mi amigo fiel el amor de vida, la persona que ha estado a mi lado en todo momento gracias por estar conmigo cuando te he necesitado.

A mis exelentes profesores y asesores Ing. Llelysmar Crespo y Ing Gabriel Cravo por inpartime sus conocimientos, gracias por brirdarme su apoyo y oportunidad de desarrollar mi trabajo de grado profesional.

A mi casa de estudio Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora por abrirme las puertas y formarme como profesional.

A mis tias gracias por formar parte de mi, por apoyarme, por sus consejos, me motivaron aseguie adelante y hoy he demostrado que valio la pena , el amor el cariño y los consejos.

A mis compañeros de clases gracias Glendys, Eudomar, Norelvis, Francys, Edimar, Genesis gracias por creer en mi y haber hecho de mi una etapa universitaria un trayecto que no olvidare.

Madre dejamer decirte que te amo, y con todo mi corazón y aunque las cosas puedan llegar a salir mal, con tu amor y anelo soy capaz de lograr lo incapaz

A todos aquellos compañeros y amigos por su apoyo, ayuda y motivación para llevar a cabo este proyecto tan importante para mi y los comportos con ustedes....Gracias!!!

ZULEICA DEL VALLE MANZABET CARACHE

AGRADECIMIENTO

Son muchas personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida.

Sin embargo mi mayor agradecimiento es a Dios por haberme guiado por el camino de la felicidad, por haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

Agradezco también la confianza y el apoyo de mi madre y hermanos, porque han contribuido positivamente para llevar a cabo esta difícil jornada.

Mi sincero agradecimiento a mis padres Herminia Pineda y Euclides Natera por su apoyo en la culminación de este trabajo.

Expreso mi más sincero agradecimiento a mis asesores Ing. Lleylismar Crespo y Ing Gabriel Cravo, por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, por los valiosos conocimientos aportados y por el apoyo incondicional brindado durante el desarrollo de cada una de las etapas de este trabajo hasta su finalización.

A la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora por su contribución técnica para la realización de esta tesis, y a todos sus docentes por haber contribuido con mi formación profesional A todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

A Mis Amigos; Noelba Vázquez, Eliana Daniel, Julio Medina, Carlos Medina, Jairo, Pedro, Edgar Perez, Gregorio Calanche, Elibeth M. Gregxi C. Carlos M. (Calito), Hector L. (Chino), Carlos D. Mariana García, Luis Noda, Yoleinny Rojas, Zuleica Manzabet, Glenda Linares, agradecerles a mis grandes amigos, que de una u otra forma siempre han estado presente, los cuales me enseñan que la amistad es la esencia propia de la vida.

A todos aquellos compañeros y amigos por su apoyo, ayuda y motivación para llevar a cabo este proyecto tan importante para mi y los comportos con ustedes.

Gracias....

EUDOMAR JOSE NATERA PINEDA

UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL

DE LOS LLANOS OCCIDENTALES

“EZEQUIEL ZAMORA”

VICERRECTORADO DE INFRAESTRUCTURA Y PROCESOS INDUSTRIALES

PROGRAMA DE CIENCIAS DEL AGRO Y EL MAR SAN CARLOS- VENEZUELA



**EXPLORACION DE LAS CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE UN
ANTIBIOTICO DE USO VETERINARIO EMPLEANDO HIPERCUBO
LATINO**

RESUMEN

El cambio climático, la aparición de nuevas patologías, la propagación de enfermedades conocidas a nuevas zonas geográficas y los nuevos conocimiento sobre la convergencia de la salud pública y la sanidad animal, son solo algunos de los problemas que debe enfrentar el mundo actual, con el empleo de fármacos seguros, eficaces y de gran calidad que tiendan a controlar y prevenir enfermedades, además de proteger el bienestar de los animales. Con esta motivación, a través de la presente investigación se pretendió explorar las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario empleado hipercubo latino. Para ello se seleccionó y caracterizó física, química, y microbiológicamente el sustrato (lechada de maíz), posteriormente se acondicionó dicho sustrato para el proceso de producción del *Penicillium chrysogenum*, asimismo se diseñó el arreglo de tratamientos óptimos hipercubo latino escalables para el proceso producción del antibiótico tipo ungüento y por último se estudió vía simulación las condiciones operativas de su proceso de producción del, permitiendo afirmar que para la obtención de dicho antibiótico de uso veterinario que posea un POR de 52,78 mV, una densidad de 0,79 g/ml y un pH alrededor de 6,57 se debe adicionar 6,77 g de *Penicillium chrysogenum* y 2,30 g de etilenglicol. De los resultados anteriores se puede concluir que heterogeneidad de la formulación, la densidad elevada y la consistencia semisólida, propia de los ungüentos, garantizará tanto las propiedades

hidratantes, oclusivas y congestivas, como la capacidad de ejercer una acción local y formar una capa impermeable sobre la piel del animal que dificulte la evaporación del agua, permitiendo así que su concentración sea más alta en la superficie, a fin de que pueda ubicarse entre los antibióticos más apropiados en procesos de epidermis y dermis superficial.

Palabras claves: *Penicillium chrysogenum*, uso veterinario, hipercubo latino.

UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL

DE LOS LLANOS OCCIDENTALES

“EZEQUIEL ZAMORA”

VICERRECTORADO DE INFRAESTRUCTURA Y PROCESOS INDUSTRIALES

PROGRAMA DE CIENCIAS DEL AGRO Y EL MAR SAN CARLOS- VENEZUELA



**EXPLORACION DE LAS CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE UN
ANTIBIOTICO DE USO VETERINARIO EMPLEANDO HIPERCUBO
LATINO**

SUMMARY

Climate change, the appearance of new pathologies, the spread of known diseases to new geographical areas and new knowledge about the convergence of public health and animal health, are just some of the problems that the current world must face, with the use of safe, effective and high quality drugs that tend to control and prevent diseases, in addition to protecting the welfare of animals. With this motivation, through the present investigation it was tried to explore the conditions for the production of an antibiotic of veterinary use used hipercubo latino. To this end, the substrate (corn slurry) was selected and characterized physically, chemically, and microbiologically, then the substrate was conditioned for the *Penicillium chrysogenum* production process, and the arrangement of scalable Latin hypercube optima treatments for the production process was designed. Ointment-type antibiotic and finally the operating conditions of its production process were studied via simulation, allowing to affirm that for the obtaining of said veterinary antibiotic that possesses a POR of 52.78 mV, a density of 0.79 g / ml and a pH around 6.57, 6.77 g of *Penicillium chrysogenum* and 2.30 g of ethylene glycol should be added. From the previous results, it can be concluded that the heterogeneity of the formulation, the high density and the semisolid consistency, typical of the ointments, will guarantee both the moisturizing, occlusive and congestive properties, as well as the ability to exert a local action and form an impermeable layer over the skin of

the animal that hinders the evaporation of water, thus allowing its concentration to be higher on the surface, so that it can be located among the most appropriate antibiotics in epidermis and superficial dermis processes.

Keywords: *Penicillium chrysogenum*, veterinary use, Latin hypercube.

INTRODUCCION

Los antibióticos son sustancia que se obtienen por síntesis o naturalmente a partir de cultivo de microorganismo. En medicina veterinaria el uso de antibióticos es una práctica frecuente para el control de enfermedades infecciosa. (Avendaño y Silva, 2013)

En ese mismo sentido, el termino de antibiótico se restringe a compuesto químicos que son producido por microorganismo y que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o matar la bacteria u otros microorganismo para obtener una acción selectiva, los antibióticos deben seleccionarse estudiándose las diferencia entre la bioquímica del agente infectivo y la del hospedador, por ejemplo la penicilina inhibe la síntesis de la pared celular. (Navarro, 2007)

Por otra parte el empleo de la lechada busca realizar un buen aprovechamiento de su subproducto proveniente de la molienda del maíz para cachapa que es poco aprovechado a nivel nacional y que presenta alto contenidos de proteínas , vitamina A, B caroteno (liposolubles) y vitamina C , minerales en concentraciones muy bajas (78%), importantes para el desarrollo de los microorganismo . (Dickerson, 1996)

En relación con este último, nace la razón para el empleo de la lechada de maíz como materia prima, recurriendo a las grande cantidades de la misma generada en el país que permitirán el aprovechamiento eficiente de este subproducto en la parte medicinal, antes de ser desechado y convertirse en un agente altamente contaminante, cabe agregar, que este tipo de sustrato brinda la posibilidad de incorporarle un valor agregado a este subproducto

Estos procesos son bastante complejos y requiere de cierto conocimiento más allá de lo experimental lo que hace necesario implementar un control sobre las diferentes variables, tomando en consideración toda aquella característica no lineal del sistema

Para ello el estudio teórico y experimental utilizado para la construcción del sistema de control está constituido por:

Capítulo I. El problema: Este engloba todo lo concerniente al planteamiento del problema y formulación, el objetivo general y específico, la justificación, alcances y limitaciones, los datos generales que corresponda a la investigación y sus investigadores.

Capítulo II. Marco teórico: En este capítulo se presenta la información comprendida por las bases teóricas, los antecedentes teóricos, la definición de términos básicos, formulación del sistema de hipótesis.

Capítulo III. Metodología: En este capítulo se aborda el tipo, el diseño, las técnicas y los procedimientos utilizados para llevar a cabo la investigación, de manera clara y sencilla, con la finalidad de que pueda ser referencia para futuras investigaciones.

Capítulo Iv: Presentación y Discusión de Resultados: Se presentan los resultados y la discusión de los mismos a fin de validar la investigación.

Capitulo V: Finalmente se presentan las referencias bibliográficas utilizadas, que representan un indicador directo del grado de profundidad de la investigación.

CAPITULO I

I.1 EL PROBLEMA

I.1.1 Planteamiento del problema

Los medicamentos veterinarios existen desde tiempos inmemoriales, pero nunca antes habían sido tan necesarios para controlar y prevenir las enfermedades, así como para proteger el bienestar de los animales. La aparición de nuevas patologías, el cambio climático, la propagación de enfermedades conocidas a nuevas zonas geográficas y los nuevos conocimiento sobre la convergencia de la salud pública y la sanidad animal son solos algunos de los problemas que deben enfrentarse en todas las partes del mundo con un mayor números de fármacos seguros, eficaces y de gran calidad. Todos esos factores imponen un control veterinario de las enfermedades aun más eficaz. Pará lograrlo, será preciso apoyar las inversiones y la innovación en el desarrollo de nuevos medicamentos (OIE, 2010).

Así mismo la industria farmacéuticas en países como en Venezuela se encuentra pasando por una grave crisis, debido en gran medida a la carencias de insumos para lograr producir medicamentos tan esenciales como los antibióticos cuyo términos se restringe a compuestos químicos que son producidos por microorganismos y que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o matar a la bacteria u otros microorganismos (Andón, 2007), en pocas palabras su función se basa en el control y erradicación de microorganismos patógenos sensibles. Este uso terapéutico de los antibióticos es posibles a que presentan una toxicidad selectiva, es decir, que mientras que resultan dañino para el microorganismo patógeno, no afecta o son relativamente inocuos para el huésped infectados (Fernández, 2014).

De igual forma antibióticos como la penicilina proveniente de cepas de *penicillium chrysogenum* han constituido la medida terapéutica de mayor éxito en la reproducción de los porcentajes de mortalidad en seres humanos y animales (López y Alarcón, 2001)

En tal sentido a través de la presente investigación se pretende explorar las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario empleando con el hipercubo latino.

I.1.2 Formulación de objetivos

I.1.2.1 Objetivo general

- ❖ Explorar las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario empleado hipercubo latino.

I.1.2.2 Objetivos Específicos.

- ❖ Seleccionar y caracterizar química, y microbiológicamente el sustrato al ser empleado.
- ❖ Acondicionar el sustrato para el proceso de producción de un antibiótico.
- ❖ Diseñar el arreglo de tratamiento Óptimos hipercubo latino escalables para el proceso de un antibiótico tipo ungüento.
- ❖ Estudiar vía simulación las condiciones operativas del proceso de producción de un antibiótico de uso veterinario.
- ❖ Validar los resultados obtenidos

I.1.3 Evaluación del problema

I.1.3.1 Importancia

Al realizar esta investigación se requiere explorar las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario empleando como herramienta el hipercubo, latino se sabe que los antibióticos son requeridos para el tratamiento, control y prevención de las enfermedades infecciosas de humanos y animales. Con este producto de innovación que se quiere crear queremos erradicar todas las enfermedades que pueda presentar en los animales, ya que actualmente en el mercado son difíciles de conseguirlas.

También se pudo realizar como medida de sustrato la lechada de maíz ya que es de fácil adquisición, esta investigación es de gran importancia ya que aporta grandes beneficios a la población, este antibiótico ayudara a los animales que presente una infección bacteriológica y así contraer las infecciones que puedan presentar, además de prolongar una vida útil.

Los antibióticos administrados en animales tienen así mismo más posibilidad de circular en el medio ambiente a través de la disposición, en conjunto con los gérmenes resistentes que hubieren sobrevivido al antibiótico. Algunos de los antibióticos empleados con fines agropecuario inicialmente no terapéutico eran idénticos a los utilizados en seres humanos, la mayor parte de los antibióticos empleados en uso animal se focalizan en corderos, caballos, perros y gatos (Waldo, 2009)

I.1.3.2. Interés

Esta investigación tuvo como fin el aprovechamiento de un subproducto de gran importancia como la lechada de maíz, para dar origen a un antibiótico de uso veterinario a y así obtener una alternativa para ser utilizada como sustrato en el crecimiento del microorganismo como lo es el *penicillium chrysogenum* Su temperatura óptima de crecimiento es de 20°C-30°C, aunque dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5--37°C, produciendo la alteración de alimentos en refrigeración; también tolera grandes variaciones de pH entre 3,5-10, aunque crece mejor y más rápido a pH cercano a 4.

I.1.3.3. Novedad

La novedad de esta investigación es la obtención del antibiótico tipo ungüento para uso veterinario, utilizando el microorganismo *Penicillium Chrysogenun* tomando como materia prima el subproducto como la lechada de maíz.

I.1.3.4. Justificación

Esta investigación se encuentra enmarcada en la línea de investigación del programa CIENCIAS DEL AGRO Y DEL MAR de la universidad nacional experimental de los llanos occidental “Ezequiel Zamora” en el plan general de la UNELLEZ 2008 – 2012 esta área comprende las investigaciones referidas de los sistemas de producción agrícola y sus vinculaciones con los componentes socioeconómicos, a los fines de aprovechamiento y manejo sostenidos de los recursos naturales. Así mismo se corresponde con la línea de investigación que contempla los estudios biotecnológicos, molecular y celulares.

En este sentido y dirección, la investigación es de orden prioritario para el plan general de la patria, al ubicarse en el área de la salud que permite aumentar la producción de medicamentos, vacunas e insumos médicos del sistema público nacional de la salud y la formación de su demanda.

En este sentido el estudio de la cinética del microorganismo *Penicillium chrysogenum* representa un área de gran importancia para el país debido a la restricción monetaria que no permite importar dicho microorganismo.

I.1.4. Alcances y Limitaciones.

I.1.4.1 Alcances.

Esta investigación se realizó a escala de laboratorio en un birreactor tipo *NEW BRUNSWICK CO.INC.* De dos litros, con un cultivo de tipo semicontinuo o Fed- Batch debido a que este requiere soluciones simples de nutrientes, y operan de forma similar a los batch, pero solo se cosechan parcialmente intervalos regulares, reponiendo el cosechado con medio fresco.

En este mismo sentido el antibiótico obtenido se empleara para uso veterinario tipo ungüento. El ungüento es una preparación homogénea y semi solida destinada a la

aplicación externa sobre la piel o la mucosas, que actúan inhibiendo el crecimiento de mohos y favoreciendo la adsorción de grandes cantidades de agua debido a que formulan utilizando bases hidrófobas, hidrófilas o hidro emulsificantes, que incrementan su consistencia.

I.1.4.2. Limitación.

Entre las principales limitantes que se presenta en la investigación se encuentra en la adquisición de los insumos a utilizar (Papa dextrosa agar (PDA) microorganismo *Penicillium Chrysogenum* y la lechada de maíz). Debido al alto costo y escasez que atraviesa actualmente el país.

La dificultad para la adquisición de insumos como lo es el microorganismos *Penicillium Chrysogenum*, motivando en gran manera el alto costo, la escasez de divisas que impide la importancia de muchos de ellos, anudando a estos el periodo de cosecha del sustrato es muy limitado.

I.1.5. Ubicación geográfica.

Esta investigación se ejecutó en el Vicerrectorado de la UNELLEZ san Carlos estado Cojedes en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos, del Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales, (LITA –VIPI) San Carlos, estado Cojedes – Venezuela.

II.1 CAPITULO II

II.1.1 Antecedente de la investigación

- Bautista *et al.* (2008). En su investigación, DETERMINACIÓN DE PENICILINA G POR ELECTROFORESIS CAPILAR DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN. El objetivo de este trabajo fue adaptar un método de electroforesis capilar para cuantificar la producción de penicilina G, utilizando *P. chrysogenum* durante la fermentación. El medio de producción utilizado consta, básicamente, de lactosa, agua de cocimiento de maíz, farmamedia y sales minerales; se añadió ácido fenilacético al 0,05 %, se realizaron determinaciones de consumo de azúcares (DNS), pH, biomasa (peso seco) y bioensayo en placa. Para su detección por electroforesis capilar, se utilizó un equipo Beckman P/ACE MDQ Capillary Electrophoresis System, utilizando un buffer de fosfatos 10 mM, pH 7,0; un capilar de sílice de 50 cm y 75 μ m de diámetro, aplicando un voltaje de 20 kV e inyección hidrodinámica 0,5 psi por 5 seg, y fue detectada a 200 nm. El tiempo de migración de la penicilina G fue a los 3,7 min en las condiciones probadas que equivalen a 900 μ g/mL, por lo que es factible determinar la penicilina G por electroforesis capilar, donde el límite de detección fue de 6,25 μ g/mL.

Esta metodología presenta la ventaja de que no es necesario realizar ningún pretratamiento a la muestra, solamente diluirla, lo que representa una ventaja sobre el tratamiento que se les da a las muestras para determinarlas en otros métodos analíticos (HPLC). La electroforesis capilar ofrece una alternativa para su determinación, considerando las ventajas que ofrece esta técnica como son tiempos cortos de análisis, utiliza pequeñas cantidades de muestra y el uso de pequeñas cantidades de buffer, que además de ser un ahorro en reactivos, representa menor contaminación al ambiente.

Se tomo como apoyo este estudio, ya que es de gran importancia para nuestra investigación saber cómo podemos obtener el antibiótico por esta medida ya que da buenos resultados.

- **Ortega y Rivas (2013)**, utilizaron la lechada de maíz suave (*Zea mays amilácea*) choclo, como sustituto de la leche de vaca en la elaboración de dulce de leche. Este autor se fundamentó en la utilización de la leche de choclo, como sustituto de la leche de vaca para la elaboración de mangar de leche de choclo, y obtener un producto con características similar a la leche tradicional de esta manera dio a proponer una solución al incremento al valor nutricional y dar a conocer las propiedades de la leche de choclo. El factor en estudio para la elaboración de mangar de leche fue diferentes porcentaje de sustitución de leche de vaca por leche de choclo, los mismos fueron distribuidos bajo un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento un análisis funcional de prueba de Tukey al 5% .

Los tratamientos fueron 6 y la unidad experimental fue de 250 gr de dulce de leche, las variables evaluadas fueron: pH, °Brix, porciento de grasas, rendimiento. En el análisis de resultados determino que el mejor tratamiento desde el punto de vista sensorial es el T91 (90% de leche de vaca, 10% de leche de choclo), 70 °Brix; Ph 7.00; Grasa 3%; Proteínas 19,25% ; Cenizas 1.97% ; Fibra 2,72% Carbohidratos totales 42,35% Rendimiento 2,20 lt de la mezcla de leche / kilos de manjar.

Por lo antes expuesto podemos denotar la importancia de sustrato de maíz en el proceso de obtención de la penicilina , ya que es uno de los principales ingredientes para el desarrollo de esta investigación

- **Betancourt G. (2007)** En su investigación referente a la medicina veterinaria señala que La penicilina es quizás el mejor antibiótico conocido. Su descubrimiento y su posterior desarrollo han permitido a la profesión médica veterinaria tratar efectivamente muchas enfermedades infecciosas, incluyendo algunas que alguna vez amenazaron la vida. Que tienen el poder para destruir o detener el crecimiento de organismos infecciosos en el animal. Los organismos pueden bacterias, virus, hongos, o los animales minúsculos llamados protozoos por lo antes señalado Cuando el sistema de defensa del animal no puede controlar la antibiosis a su propio favor, se usan los antibióticos para desequilibrar la balanza hacia la salud.

- **Adans (1990)** en el marco de su artículo referente al efecto adversos agudos de los antibióticos señala que la penicilina es utilizada en clínica de la veterinaria, desde hace 30 años. Este hecho que puede parecer sorprendente, si se considera el gran avance, de la quimioterapia antifecciosa, está plenamente justificado por las propiedades farmacológicas y terapéuticas de las penicilinas. En efecto, sin recurrir a una exhaustiva enumeración de sus ventajas, se pueden mencionar las siguientes: amplio margen de seguridad, acción bactericida, gran potencia antimicrobiana y eficaz en presencia de materia orgánica y exudados purulentos. Se complementan estas propiedades con el bajo costo relativo, factor de gravitación en la producción animal. **Adans** señaló que entre los Principales aspectos farmacológicos de la penicilina los que toman más fuerza en su uso veterinario serian los siguientes Vías de Administración: En todas las especies animales de interés veterinario, la vía de administración es parenteral, dado que la administración oral determina una destrucción superior al 50% por su característica de labilidad frente al medio ácido. La vía venosa se ha reservado para el tratamiento de los procesos sobreagudos o para aquellos casos en que la bacteriemia constituya un factor de gravedad. En este caso la mayor parte de los autores recomiendan solubilizar la Penicilina con agua destilada de pH neutro o solución isotónica de cloruro de sodio al 9% o de Glucosa al 5%.

La vía intramuscular, de elección, permite depositar el fármaco en concentraciones medias de hasta 500.000 U. por ml de solvente. Concentraciones muy elevadas pueden ocasionar reactividad local exteriorizada por induración temporal del tejido. En los animales mayores, equinos y bovinos, la vía intramuscular no ofrece mayores problemas; sin embargo, en las especies menores es necesario proceder con cautela, pues volúmenes superiores a 3 o 4 ml y aun menos según raza, pueden provocar trastornos. Al respecto, English, un renombrado investigador británico en este campo, ha sugerido la utilización de la vía subcutánea en animales que presentan gran laxitud del tejido subcutáneo con lo cual el problema de mayores volúmenes de solvente quedaría resuelto. Experiencias en caninos, ovinos y en el hombre han demostrado que el comportamiento posterior del antibiótico administrado por esta vía es similar al que presenta cuando se inyecta por vía intramuscular. Sin embargo, la falta de experiencia comunicada en nuestro medio impide, por ahora, sugerir esta vía para su uso veterinario.

Basándonos en esta investigación podemos resaltar que en la medicina de uso veterinario tiene más demanda el uso de antibióticos de penicilina sódica. Partiendo de esta investigación el objetivo es lograr la formulación de un antibiótico tipo ungüento que se aplicaría de forma directa en las aéreas afectada del animal ya que esta presentación es escasa dentro del área farmacológica.

II.1.2 Bases teóricas

Las bases teóricas son el análisis sistemático y sintético de las principales teorías que explican el tema que estás investigando. (Varas, 2010)

Según Bavaresco, A. (2006) sostiene que las bases teóricas tiene que ver con las teorías que brindan al investigador el apoyo inicial dentro del conocimiento del objeto de estudio, es decir, cada problema posee algún referente teórico, lo que indica, que el investigador no puede hacer abstracción por el desconocimiento, salvo que sus estudios se soporten en investigaciones puras o bien exploratorias.

Así mismo, Arias (2012) afirma que “Las bases teóricas implican un desarrollo amplio de los conceptos y proposiciones que conforman el punto de vista o enfoque adoptado, para sustentar o explicar el problema planteado”. (p. 107).

II.1.2.1 Antibiótico:

Un antibiótico, considerando la etimología (del griego *αντί* - *anti*, "en contra" + *βιοτικός* - *biotikos*, "dado a la vida") es una sustancia química producida por un ser vivo o derivado sintético, que mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles, generalmente son fármacos usados en el tratamiento de infecciones por bacterias, de ahí que se les conozca como antibacterianos. Los antibióticos se utilizan en medicina humana, animal y horticultura para tratar infecciones provocadas por gérmenes. Normalmente los antibióticos presentan toxicidad selectiva, siendo muy superior para los organismos invasores que para los animales o los seres humanos que los hospedan, aunque ocasionalmente puede producirse una reacción adversa medicamentosa, como afectar a la flora bacteriana normal del

organismo. Los antibióticos generalmente ayudan a las defensas de un individuo hasta que las respuestas locales sean suficientes para controlar la infección. Un antibiótico es bacteriostático si impide el crecimiento de los gérmenes, y bactericida si los destruye, pudiendo generar también ambos efectos, según los casos. (Nisha AR, 2008).

Según Mensa *et al.*, (2003), los antibióticos son molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos.

El objetivo del tratamiento con antibióticos es conseguir la erradicación del microorganismo patógeno. Para ello es necesario seguir una posología que consiga que en el foco de la infección se alcance una concentración del medicamento superior a la mínima concentración capaz de inhibir al microorganismo durante el tiempo suficiente. La automedicación con antibióticos supone un serio problema de salud pública, pues la inadecuada elección del antibiótico y, especialmente, una incorrecta posología, puede generar poblaciones de bacterias resistentes a dicho antibiótico. Por otro lado, los antibióticos y antimicrobianos son totalmente inefectivos en las enfermedades virales, por lo que su uso debe evitarse en estos casos (Van Pes , 2006).

II.1.2.2. Criterios para el uso de antibióticos

Los antibióticos sólo deben ser usados bajo observación y prescripción de un especialista de la salud autorizado. En general no se puede consumir alcohol durante la terapia antibiótica, pues aunque no inhibe la acción del antibiótico en la mayoría de los casos, produce efectos secundarios muy similares a los de los antibióticos, potenciando el efecto indeseable de las reacciones adversas. El alcohol también compite con enzimas del hígado haciendo que la concentración en el plasma sanguíneo.

Otras consideraciones a tomar antes de la prescripción de antibióticos son:

1. Conocimiento bibliográfico, para dar tratamiento empírico.
2. Cultivo y antibiograma (búsqueda de la sensibilidad de antibióticos).
3. Biodisponibilidad.
4. Edad y peso del paciente.
5. Embarazo y lactancia.

6. Enfermedades concomitantes.
7. Alergias.
8. Vía de administración.
9. Condiciones generales del paciente.
10. Dosificación del medicamento.
11. Duración del tratamiento.
12. Gravedad del caso.
13. Estado inmunológico del paciente.
14. Disponibilidad del medicamento en la comunidad (Cuppett y Micki 2007).

II.1.2.3 Abuso de los antibióticos

Las formas usuales de abuso de los antibióticos incluyen la toma de antibióticos para una enfermedad no infecciosa o infección no bacteriana como fiebre, en particular el uso de antibióticos durante una infección viral, como un catarro o una gripe; así como la administración incompleta del antibiótico, generalmente debido a que el paciente se siente mejor una vez que la infección comienza a ceder. Estas situaciones pueden facilitar la aparición de poblaciones bacterianas que desarrollen resistencia antibiótica. (Mellon, 2001).

II.1.2.4. Uso prudente de antibióticos

Debido a las consecuencias y efectos adversos para la salud humana derivados del uso inadecuado de los antibióticos, se han puesto en marcha diversas acciones por parte de las autoridades sanitarias y entidades científicas y profesionales con el objetivo de promover el uso racional de estos fármacos. Estas intervenciones son de muy diversas índoles y van dirigidas al conjunto de la población; entre otras, incluye:

- Acciones de formación de profesionales.
- Acciones de información a la población general, y en particular a los sectores de la población más frecuentemente implicada en el consumo de antibióticos, por ejemplo, las infecciones respiratorias en la población infantil.
- Desarrollo de políticas institucionales y estándares de consumo de calidad de los antibióticos.

- Regulación de la dispensación de los medicamentos que contienen antibióticos en las oficinas de farmacia(Hammer ,2016)

II.1.2.5 Antibióticos veterinarios:

Son sustancias medicinales seguras que tienen el poder para destruir o detener el crecimiento de organismos infecciosos en el animal. Los organismos pueden ser bacterias, virus, hongos, o los animales minúsculos llamados protozoos. Un grupo particular de estos agentes constituyen las drogas llamadas antibióticos, del Griego anti ("contra") y bios ("vida"). Algunos antibióticos son producidos por organismos vivientes tales como bacterias, hongos, y esporas. Otros son en parte o totalmente sintéticos es decir, producidos artificialmente (Claudia 2007)

II.1.2.6 Administración de Antibióticos

Para actuar contra organismos infecciosos, un antibiótico puede aplicarse externamente, como en el caso de una cortadura sobre la superficie de la piel, o internamente, alcanzando la corriente sanguínea dentro del cuerpo. Los antibióticos se producen de varias formas y en diferentes maneras

II.1.2.7 Las formas de administrar antibióticos son:

II. 1.2.8. Local

La aplicación local significa "a un área local" tal como sobre la piel, en los ojos, o sobre la membrana mucosa. Los antibióticos para el uso local están disponibles en forma de polvos, ungüentos, o cremas.

II.1.2.9.Oral.

Las tabletas, líquidos, y cápsulas que se hacen tragar. En este caso el antibiótico se libera en el intestino delgado para ser absorbido en la corriente sanguínea.

II.1.2.10. Parenteral.

Las aplicaciones fuera del intestino se llaman parenterales. Una forma de aplicación es mediante una inyección, que puede ser subcutánea (debajo la piel), intramuscular (en un músculo), o intravenosa (en una vena). La administración Parenteral de un antibiótico se usa cuando el veterinario requiere una concentración fuerte y rápida del antibiótico en la corriente sanguínea.

II.1.2.11. Antibiótico tipo ungüento

Se encuentra dentro de un grupo de agentes antimicrobianos. Desde décadas pasadas se ha incluido con el nombre de antibiótico a todo compuesto químico elaborado por un organismo vivo o producido por síntesis, de coeficiente quimioterapico elevado, cuya actividad terapéutica se manifiesta a muy débil dosis, de una manera específica, inhibiendo ciertos procesos vitales de los virus, microorganismos y también algunas células pueden ser pluricelulares, definiendo los antibióticos ungüento son diferencias en forma evidente de los antisépticos. (Kaye, 2000)

Los antibióticos ungüentos tienen un rol muy importante, constituyen una alternativa útil frente a agentes sintéticos en infecciones cutáneas muy utilizadas y sin compromiso sintético tanto para pacientes ambulatorios como para pacientes hospitalizados. Su uso se ha extendió ampliamente y requiere ser regulado elaborándose guías terapéuticas, para promover su uso racional y así evitar la creación de resistencias, pues, ha incrementado la prevalencia de resistencia bacteriana.

II.1.2.12. Indicaciones

El uso de los antibióticos de tipo ungüento se restringe a situaciones en las que el uso de antibióticos sistémicos no es indispensable en el manejo del paciente y no requiere terapia más agresiva que evite situaciones de riesgo. Sin embargo, su elección está en función a los gérmenes más comunes causantes de infecciones cutáneas, como es el *S. aureus* el estreptococo beta-hemolítico.

II.1.2.13. Elección.

Una amplia variedad de agentes están disponibles para el tratamiento de heridas e infecciones localizadas. La elección de antibiótico tipo ungüentos apropiado está en

función al cuadro clínico sospechado y su estado de gravedad, microorganismo obtenido por cultivo o supuesto por la experiencia, la sensibilidad antibiótica del microorganismo obtenido por antibiograma opuesto por la experiencia y la consideración de resistencia bacteriana, además de toxicidad, antecedente de alergias del paciente y costo del medicamento. Muchas veces el cuadro clínico por sí solo no es determinante en la elección del antibiótico, pues, los parámetros clínicos establecidos inicialmente para un determinado agente, hoy en día son variables produciéndose incluso infecciones mixtas.

II.1.2.14. Características.

Como toda sustancia los antibióticos ungüento poseen ciertas características que lo diferencia o los hacen muy particulares, constituyéndose en ventajas o limitaciones para su empleo.

- ❖ Los antibióticos ungüento tienen toxicidad más selectivas que les permiten inhibir el desarrollo de las células bacterianas o destruirlas respetando las células del huésped
- ❖ Los antibióticos ungüento pueden crear resistencias microbianas y provocan sensibilidad por reacciones cruzadas.

II.1.2.15. Ventajas

El uso de antibióticos ungüento en la práctica con lleva a ciertas ventajas sobre tratamientos sintéticos:

- ❖ Libera las concentraciones del antibiótico directamente en el área de infección.
- ❖ Mínima absorción sistémica evitando la toxicidad y mínimo riesgo de efectos adversos sistémicos.
- ❖ Disminuye la inducción de resistencia bacteriana.
- ❖ Son excelentes para su uso en heridas abiertas.
- ❖ Conserva la humedad de las heridas.
- ❖ Proporcionan una opción segura y efectiva en la curación de las heridas,

II.1.2.16. Historia penicilina

Aunque desde hace milenios el hombre usaba empíricamente en el tratamiento de heridas y otras enfermedades, tierra y vegetales que son fuentes de mohos y bacterias productores de antibióticos y ya en el siglo pasado varios investigadores hicieron notar la acción bactericida de diversos hongos, no es hasta 1928 con el descubrimiento fortuito en el St. Mary's Hospital de Londres por Fleming de un hongo que contaminó y destruyó varios cultivos de *Staphylococcus*, que se inicia la era antibiótica en la medicina, por tratarse de hongos del tipo *Penicillium Notatum*, Fleming llamó al compuesto que producían penicilina. No es hasta 10 años después, en 1938, que se logra desarrollar como agente terapéutico y sólo hacia 1941 es posible acumular suficiente medicamento para iniciar ensayos clínicos en pacientes afectados de sepsis por *Streptococcus* y *Staphylococcus*.

Desde 1942 se comienza la expansión y desarrollo del antibiótico en los Estados Unidos, se alcanzan grandes avances en su depuración y usos clínicos en estudios efectuados en la Universidad de Yale y en la Clínica Mayo, y en 1943 se habían tratado ya 200 pacientes con el nuevo producto. Hacia 1950 se logra la producción masiva del fármaco en los Estados Unidos y se llega a 150 toneladas en ese año (200 trillones de U de penicilina (Mensa, G-,1996)

II.1.2.17. Penicilina

Las penicilinas son antibióticos del grupo de los betalactámicos empleados profusamente en el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias sensibles. La mayoría de las penicilinas son derivados del ácido 6-aminopenicilánico, difiriendo entre sí según la sustitución en la cadena lateral de su grupo amino (Bud, Robert 2007).

II.1.2.18. Estructura de la penicilina

Las penicilinas pertenecen a una familia de compuestos químicos con una estructura química peculiar que le confiere una actividad característica contra un grupo determinado de bacterias. A pesar de que existen diferentes variantes, la estructura

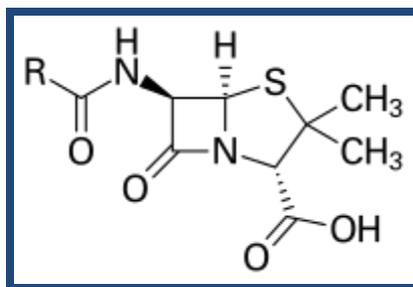
química esencial de la penicilina fue descubierta por Dorothy Crowfoot Hodgkin entre 1942 y 1945. La mayoría de las penicilinas poseen como núcleo químico el anillo 6-aminopenicilánico y difieren entre sí según la cadena lateral anclada a su grupo amino. Este núcleo 6-aminopenicilánico o núcleo *penam* consta, a su vez, de un anillo tiazolidínico (un anillo aminofenílico de los tiazoles) enlazado a un anillo β -lactámico; este último, aparentemente esencial para la actividad antimicrobiana del compuesto, es hidrolizado mediante penicilinas (enzimas tipo β -lactamasas) por las bacterias resistentes a penicilinas.

Además del nitrógeno y el azufre del anillo tiazolidínico y β -lactámico, la penicilina tiene las siguientes agrupaciones:

- Un grupo carboxilo en la posición 2.
- Un radical 2-metil en la posición 3.
- Un grupo amino en la posición 6, con distintos derivados del grupo acilo como posibles sustituyentes, que son los responsables de las diversas características de las diferentes penicilinas.

En la molécula hay tres carbonos asimétricos:

- ❖ El carbono C2, que tiene una configuración absoluta S (sentido contrario a las agujas del reloj).
- ❖ Los carbonos C5 y C6, que tienen una configuración absoluta R, presentando cada uno de sus hidrógenos e isomería cis entre ellos



Cuadro1 Estructura de la penicilina

Estructura molecular del núcleo de las penicilinas. Se muestra el anillo 6-aminopenicilánico consistente en un anillo β -lactámico (a la izquierda, con un N) y otro tiazolidínico.

II.1.2.19. Propiedades

La penicilina natural o penicilina es cristalina, totalmente soluble en agua, soluciones salinas y dextrosas isotónicas. El radical R, es el responsable de la sensibilidad a la hidrólisis por parte de las β -lactamasas, del enlace a proteínas transportadoras y del vínculo con las proteínas bacterianas *PBP* que transportan a la penicilina dentro de la célula. Además, se le asocia a la penicilina un dipéptido cisteína-valina, haciendo que la penicilina tenga la ideal afinidad por la enzima bacteriana transpeptidasa, la cual no se encuentra en el cuerpo humano y que permite la síntesis del peptidoglucano.

II.1.2.20. Penicilinas naturales y biocinéticas.

Las penicilinas naturales son aquellas generadas sin intervención biotecnológica. Entre ellas destacan la bencilpenicilina, como producto final de interés terapéutico, y los intermediarios aislables como la isopenicilina. No la penicilina N. Las biocinéticas, en cambio, se producen mediante adición de determinados compuestos en el medio de cultivo del birreactor empleado durante su producción, es decir, sin que tenga lugar un aislamiento y una modificación química *ex vivo*. Entre las biocinéticas destacan: la fenoximetilpenicilina, la alilmercaptometilpenicilina y, de nuevo, la bencilpenicilina (pues es posible inducir su síntesis aplicando ciertos precursores en el fermentador) (Jaramill 2005).

II.1.2.21. Penicilinas semisintéticas

Las penicilinas semisintéticas son aquellas generadas mediante el aislamiento de un intermediario estable durante una producción microbiológica industrial (fermentación en birreactores) continuada por la modificación química o enzimática del compuesto aislado. Se dividen según su acción antibacteriana en cinco grupos: resistentes a β -

lactamasas, amino penicilinas, antipseudomonas, amidino penicilinas y resistentes a β -lactamasas (Gran negativas)

II.1.2.22. Mecanismo de acción

La penicilina, como el resto de los β -lactámicos, ejerce una acción bactericida por alterar la pared celular bacteriana, estructura que no existe en las células humanas. La pared bacteriana se encuentra por fuera de la membrana plasmática y confiere a las bacterias la resistencia necesaria para soportar, sin romperse, la elevada presión osmótica que existe en su interior. Además, la pared bacteriana es indispensable para:

- La división celular bacteriana.
- Los procesos de transporte de sustancias a los que limita por sus características de permeabilidad.
- Capacidad patógena y antigénica de las bacterias, ya que contienen endotoxinas bacterianas.

Hay importantes diferencias en la estructura de la pared entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, de las que cabe destacar la mayor complejidad y contenido en lípidos en las Gram negativas.

La acción de la penicilina, y en general de los β -lactámicos, se desarrolla fundamentalmente en la última fase de la síntesis del peptidoglicano de la pared celular, uniéndose a una enzima transpeptidasa llamada *proteína fijadora de penicilina*, responsable de producir una serie de enlaces cruzados entre las cadenas de péptidos. La formación de estos enlaces o puentes es la que confiere, precisamente, la mayor rigidez a la pared bacteriana. Por lo tanto, los β -lactámicos como la penicilina inhiben la síntesis del peptidoglicano indispensable en la formación de la pared celular bacteriana. Las bacterias sin su pared celular estallan o son más fácilmente fagocitadas por los granulocitos.

Esta inhibición produce una acumulación de los precursores del peptidoglicano, los cuales producen una activación de enzimas como hidrolasas y autolisinas que digieren, más aún, el remanente de peptidoglicano en la bacteria. Al perder su pared celular como consecuencia de la acción de la penicilina, las bacterias Gram positivas son

denominadas protoplastos, mientras que las Gram negativas, que no llegan a perder toda su pared celular, reciben el nombre de esferoplastos.

La penicilina muestra un efecto sinérgico con los aminoglucósidos, puesto que la inhibición de la síntesis del peptidoglicano permite que los aminoglucósidos penetren la pared celular con mayor facilidad, permitiendo así trastornos en la síntesis de proteínas dentro de la célula bacteriana (hecho que resulta en una concentración menor de antibiótico que la requerida para eliminar al microorganismo susceptible) (Solensky 2003),

II.1.2.23. Aplicación veterinaria

La penicilina se administra en preparados inyectables para el tratamiento de infecciones por organismos susceptibles en múltiples especies veterinarias, incluyendo perros, gatos, conejos, erizos y aves. La penicilina sola o combinada se ha usado con éxito para tratar novillas con mastitis. Ciertas especies, incluyendo serpientes, pájaros, tortugas, conejillos de indias y chichillas, han mostrado sensibilidad a la penicilina procaína.

La penicilina es quizás el mejor antibiótico conocido. Su descubrimiento y su posterior desarrollo han permitido a la profesión médica veterinaria tratar efectivamente muchas enfermedades infecciosas, incluyendo algunas que alguna vez am Reacciones adversas.

Se han descrito diversos tipos de reacciones, algunas de ellas fatales, en personas a las que se administró penicilina. La penicilina y sus derivados son las causas más frecuentes de reacciones dependientes de la inmunoglobulina E (IgE), aunque pueden también producirse inmunoglobulinas G y M. Las reacciones adversas a la penicilina ocurren en ≤ 1 % de los pacientes que toman el antibiótico. Aunque la alergia a la penicilina es la forma más frecuente de alergia reportada en medicina, menos del 20 % de las personas que creen ser alérgicos verdaderamente lo son.⁶⁸ Entre las reacciones Reacción de hipersensibilidad o alérgica: es el efecto adverso más importante. Puede ser inmediata (2-30 minutos), acelerada (1-72 horas) o tardía (más de 72 horas). La gravedad es variable: desde simples erupciones cutáneas pasajeras (urticaria o angioedema), hasta shock anafiláctico, el cual ocurre en el 0,2 % y provoca la muerte en

el 0,001 % de los casos. Al revisar los historiales clínicos, se puede establecer que existe hasta un 50 % de la población alérgica a la penicilina. Muchos de estos eventos son crisis vaso vágales provocadas por el intenso dolor de la inyección intramuscular.

- Trastornos gastrointestinales: el más frecuente es la diarrea, ya que la penicilina elimina la flora intestinal. Puede también provocar náuseas y vómitos.
- Infecciones adicionales, incluyendo candidiasis.

Entre los efectos secundarios menos frecuentes, que se dan en el 0,1-1 % de los pacientes, están:

- Aumento reversible de enzimas aminotransferasas, que suele pasar inadvertido.
- Trastornos hematológicos: anemia, neutropenia y trombocitopenia. La penicilina puede estimular la producción de anticuerpos, principalmente IgG e IgM, los cuales causan lesiones en las células sanguíneas, ocasionando estos trastornos hematológicos.
- Hipopotasemia: poco frecuente.
- Nefritis intersticial.
- Encefalopatía: que cursa con mioclonias, convulsiones crónicas y tónico-clónicas de extremidades que pueden acompañarse de somnolencia, estupor y coma. La encefalopatía es más frecuente en pacientes con insuficiencia renal.

Los pacientes con fibrosis quística tienen mayor probabilidad de sufrir reacciones adversas a la penicilina y sus derivados. La penicilina no ha causado defectos de nacimiento por lo que con frecuencia es recetado a mujeres embarazadas. Las penicilinas pueden cruzar la barrera placentaria y solo deben ser usadas en el embarazo cuando sea absolutamente necesario y recomendado bajo supervisión médica. La penicilina puede ser tomada durante la lactancia, sin embargo, pequeñas cantidades del antibiótico pueden pasar a la leche materna y causar en el lactante indigestión, diarrea o reacciones alérgicas. (Brown, Kevin 2004).

II.1.2.24. Alergia a la penicilina

Las reacciones alérgicas informadas con cualquiera de los antibióticos β -lactámicos pueden ascender hasta un 10 % de los pacientes que reciben estos agentes.

Sin embargo, solo el 10 % de estos informes corresponden a reacciones alérgicas a estos fármacos. Se ha aceptado en el pasado que puede haber hasta un 10 % de sensibilidad cruzada entre los diferentes derivados de la penicilina, es decir, que un 10 % de pacientes hipersensibles a uno de los medicamentos, como las cefalosporinas y carbapenemas, también lo será para los otros derivados de la penicilina, por razón de que todas tienen un anillo β -lactámico. Sin embargo, hallazgos recientes han mostrado que no hay un aumento de alergias cruzadas desde las cefalosporinas de segunda generación hasta las más recientes. Ciertas investigaciones actuales han demostrado que el principal factor en la determinación de reacciones inmunitarias es la similitud que hay entre las cadenas laterales de las cefalosporinas de primera generación y las penicilinas y no necesariamente entre la estructura del β -lactámico común entre ellos. En una revisión de historias clínicas, se encontró que la alergia a la penicilina es más frecuente en las mujeres que en los hombres.

La vía de administración más frecuente con la cual aparecen estas reacciones alérgicas es la endovenosa, y raramente ocurre cuando se administra por vía oral. Para desarrollar la reacción se necesita de una exposición inicial al medicamento o sus determinantes antigénicos, por ejemplo, al ingerir leche o productos de animales tratados con penicilina, a través de la leche materna o por el contacto con la droga al administrarla al individuo.

La mayoría de los pacientes expuestos a la penicilina desarrollan anticuerpos frente a este antibiótico y, sin embargo, no manifiestan reacciones al exponerse nuevamente a ella. Quienes desarrollan reacciones alérgicas asociadas a la administración de penicilinas muestran síntomas que varían ampliamente: anafilaxia, enfermedad del sueño, anemia hemolítica, enfermedades renales, angioedema, urticaria, vasculitis entre otros, y pueden llegar a ocasionar la muerte.

Las pruebas cutáneas, como el Pre-pen y el Kremers-Urban, se diseñaron para pacientes en los que se sospechan reacciones alérgicas a la penicilina mediadas por IgE y que se anticipa su tratamiento, como en el caso de pacientes con endocarditis o mujeres embarazadas con sífilis. Cerca del 25 % de los pacientes con antecedentes de alergia a la penicilina tendrán una prueba cutánea positiva, mientras que un 6 % (del 3 al 10 %) con antecedentes negativos presenta una respuesta cutánea positiva. Otras

pruebas, como la radio alergo adsorción o pruebas *in vitro*, no ofrecen ventajas sobre las pruebas cutáneas correctamente realizadas.

Como es de esperar, un gran número de pacientes (de un 50 a un 100 %) con una prueba cutánea positiva, producen reacciones alérgicas a la penicilina de ser administrado el antibiótico, mientras que un 0,5 % de los pacientes con pruebas cutáneas negativas reaccionan al fármaco, la cual tiende a ser una reacción leve o tardía, después de la administración de penicilina. Después de varios años, hasta un 80 % de los pacientes pierde la sensibilidad anafiláctica y los anticuerpos.

II.1.2.25. Penicillium Chrysogenum:

Es el hongo del que se obtuvo un mejor rendimiento del antibiótico penicilina, descubierto por Alexander Fleming en 1928. La utilización de esta sustancia permitió tratar muchas enfermedades que, hasta bien entrado el siglo XX, se consideraban incurables.

El *Penicillium chrysogenum* como cepa súper productora de este antibiótico. Finalmente, la selección de sucesivos mutantes súper productores y la mejora en las técnicas de fermentación realizadas por la industria biotecnológica han hecho que actualmente se obtengan 60 g/L de penicilina.

II.1.2.26. Características Penicillium

Es un hongo filamentoso hialino, saprófito perteneciente al filo Ascomycota. Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido; al principio de color blanco y con el tiempo adquieren color azul, azul verdoso, verde, gris oliva o tonos rosados, con reverso amarillo cremoso. La textura puede ser plana, filamentosa, aterciopelada o algodonosa dependiendo de la especie; además puede presentar gotas de exudado. Microscópicamente presenta hifas hialinas septadas. Los conidióforos tienen ramas secundarias, denominadas métulas. Estas son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6 fiálides en forma de matraz; de las cuales surgen largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios formando el penacho o pincel característico del género. Solensky R (2003)

II.1.2.27. Viabilidad, propagación y Transmisión Reservorio

Suelo, vegetales (madera, paja), compost, alimentos (fruta, zumos, cereales, frutos secos, hortalizas, carne, leche, quesos, embutidos) y fómites (papel, pintura, paneles de yeso, gomas, fibra de vidrio e incluso gasoil).

II.1.2.28. Supervivencia ambiental

Se encuentra en el ambiente colonizando distintos sustratos. Su temperatura óptima de crecimiento es de 20°C-30°C, aunque dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5°C-37°C, produciendo la alteración de alimentos en refrigeración; también tolera grandes variaciones de pH entre 3,5 -10, aunque crece mejor y más rápido a pH cercano a 4. Sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire, con una concentración ambiental más o menos estable a lo largo del año, aunque se dan concentraciones pico en invierno y primavera. Es un contaminante habitual en los edificios formando parte del polvo; principalmente en los edificios húmedos y mohosos donde deteriora diferentes materiales de construcción o decoración (aglomerados de madera, papel de decoración, gomas o sellos aislantes de puertas y ventanas, material de aislamiento del sistema de ventilación y climatización, etc.). Además, es uno de los principales productores de mico toxinas y de compuestos orgánicos volátiles de origen microbiano (COVM) como: alcoholes, cetonas, hidrocarburos ,(Soriano2007)

Cuadro 2 Escala taxonómicas del *Penicillium chrysogenum*

Reino	Fungí
Filo	Ascomycota
Orden	Eurotiales
Clase	Eurotiomycetes
Familia	Trichocomaceae
Género	Penicillium
Especie	P. Chrysogenum

II.1.2.29. Maíz. (*zea mays*)

El maíz, *zea mays*, es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las poaceas (Gramineas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada de este género. Otras especie del genero *zea*, comúnmente llamadas teosinte y las especies del genero *Tripsacum* conocidas como arrocillo o maicillo son formas salvajes parientes de *zea mays*. Son clasificadas como del *Nuevo Mundo* porque su centro de origen en América (Paliwal 2001)

El maíz es considerado una hortaliza, cuya mazorca o choclo de granos inmaduros, tiernos y con mayor contenido de azúcar, principalmente sacarosa, se destina al consumo humano en fresco o industrializado (enlatados o congelados). Es un cultivo de verano, de rápido crecimiento, pudiendo alcanzar las plantas los dos metros de altura y produciendo por lo común uno o dos choclos por tallos según el cultivar (Paullieret *al.*, 2014)

La industrialización de la molienda & humedad & del grano de maíz está llevando a la obtención de una series de productos derivados mediante la utilización de procesos continuos e integrado. Entre ellos pueden destacarse: glucosa liquida y solida, colorantes para caramelos y confituras, almidones, dextrinas, féculas de maíz, miel de maíz y aceites refinados

El maíz es una de las especies cultivadas más productivas. Es la planta con una alta tasa de actividad fotosintética. Consideradas individualmente, su tasa de multiplicación es de 1:600-1000 (Aldritch *et al.*, 1975). El maíz tiene más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día. Fue el primer cereal al ser sometidos a rápidas e importantes transformaciones tecnológicas en su forma de cultivo.

El maíz tiene usos múltiples y variados. Es el único cereal que puede ser usado como alimento en distintas etapas de desarrollo de la planta. Las espigas jóvenes del maíz (maíz *baby*) cosechado antes de la floración de la planta es utilizado como hortaliza. Las mazorcas tiernas del maíz dulce son un manjar refinado que se consume de muchas formas. Las mazorcas verdes del maíz común también son usadas en grandes escalas, asadas o hervidas, o consumidas en el estado de pasta blanda en numerosos

países la planta de maíz, que está a un verde cuando se cosechan las mazorcas *baby* o las mazorcas verdes, proporciona un buen forraje. Este aspecto es importante, ya que la presión de la limitación de las tierras aumenta y son necesario modulo de producción que produzcan más alimentos para una población que crecen continuamente (Paliwal *et al*, 2001)

II.1.2.30. El sustrato:

Es una sustancia natural, que colocando en un birreactor a disposición de los microorganismos en forma pura o en mezcla, permite el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, interviniendo en el complejo proceso de nutrición. Cualquier material solido natural, de síntesis o residual orgánico, que colocado en un contenedor, en forma pura o mezclado, permite el anclaje del sistema radical (Noguera y Abad, 1997).

II.1.2.31. Crecimiento microbiano

Se define como el aumento ordenado de todos los componentes químicos que llevan un incremento de los constituyentes y estructuras celulares. El crecimiento es el incremento ordenado de todos los constituyentes celulares que conduce a un aumento de masa y finalmente a un aumento del número de células.

Para que el crecimiento bacteriano tenga lugar es necesario un aporte adecuado de nutrientes: Todos los microorganismos necesitan carbono, nitrógeno, hidrogeno, oxigeno, azufre, fosforo y diversos minerales para crecer. Muchos necesitan además nutrientes especiales.

Los microorganismos captan estos nutrientes mediante diversos mecanismos de transporte a través de la membrana (Inés Martin Sánchez)

Jack Parker. 2004, Se define crecimiento como un aumento en la cantidad de constituyentes y estructuras celulares, cuando hay crecimiento en ausencia de división celular hay aumento en el tamaño y peso de la célula. Mientras que cuando el crecimiento es seguido de división celular hay un aumento en el número de células. Es importante distinguir entre el crecimiento de células individuales y el crecimiento de poblaciones, ya que en los microorganismos debido a su pequeño tamaño no se hacen estudios de crecimiento individual sino estudios de crecimiento de poblaciones. El

crecimiento de una población es el aumento del número de células como consecuencia de un crecimiento individual y posterior división. El crecimiento de una población ocurre de una manera exponencial. El crecimiento exponencial es una consecuencia del hecho de que cada célula se divide dando dos (2) células hijas, las cuales al dividirse darán cada una dos células hijas, así es que en cada período de división la población se duplica. La velocidad de crecimiento exponencial se expresa como tiempo de generación (G) y este se define como el tiempo que tarda una población en duplicarse. Los tiempos de generación varían ampliamente entre los microorganismos, algunos crecen rápidamente y presentan tiempos de generación de unos 30 minutos y otros tienen tiempos de generación de varias horas o incluso días.

Las distintas especies bacterianas tienen diferentes requerimientos nutricionales (a veces específicos) y condiciones fisicoquímicas que les permiten permanecer viables.

Los nutrientes requeridos en grandes cantidades son denominados macronutrientes mientras que los micronutrientes son necesarios en cantidades trazas. Entre los primeros se encuentran C, H, O, N (los más abundantes), P, S, K, Ca, Fe y Na, y entre los segundos se cita Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V, Zn. Algunos organismos, además de los minerales, necesitan muy pequeñas cantidades de nutrientes de naturaleza orgánica llamados factores de crecimiento. Éstos son vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas. Los organismos que tienen tales requerimientos se denominan autótrofos para diferenciarse de los protótrofos que son independientes de tales factores. Estos dos conceptos no son suficientes para caracterizar los distintos tipos de nutrición existentes en los microorganismos.

La nutrición es el proceso por el cual los seres vivos toman, del medio donde habitan, los nutrientes que necesitan para crecer. Estos nutrientes se requieren para dos fines: energéticos (reacciones de mantenimiento) y biosintéticos (reacciones plásticas o anabolismo).

II.1.2.32. Birreactor

Un birreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un birreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos. Este proceso puede ser aeróbico o anaeróbico. En

términos generales, un birreactor busca mantener ciertas condiciones ambientales propicias (pH, temperatura, concentración de oxígeno,) al organismo o sustancia química que se cultiva. En función de los flujos de entrada y salida, la operación de un birreactor puede ser de tres modos distintos: discontinuo (*batch*), semicontinuo (*fed-batch*) o continuo (quimiostato). (Ertola, y Mignone 1994).

II.1.2.33. Objetivos del Birreactor.

- Mantener el material biológico (microorganismos) distribuidas uniformemente en todo el volumen del cultivo.
- Mantener la temperatura constante en el cultivo.
- Minimizar la sedimentación y la floculación.
- Permitir la difusión de gases nutrientes a la velocidad requerida por el cultivo.
- Mantener el cultivo puro.
- Mantener el cultivo en un ambiente aséptico.
- Maximizar el rendimiento y la producción (Michelle *al*, 1992)

II.1.2.34. Tipos de birreactores

Según Rodríguez *et al.*, (2003) existen distintos tipos de birreactores, básicamente tres:

- ✓ Fermentadores bucle agitado por aire (air-lift).
- ✓ Fermentadores de torre.
- ✓ Fermentadores con agitación mecánica.

Los fermentadores con agitación básicamente consisten de un tubo cilíndrico con un agitador en el fondo o en la parte superior, estos son los fermentadores más comúnmente usados debido a su fácil operación, confiabilidad y duración. Por estas características se eligió este tipo de birreactor para la investigación. Estos birreactores pueden variar en capacidad desde 1 litro hasta 30 litros. En estos tipos de fermentadores es necesario un motor para poder llevar a cabo la agitación, el motor deberá generar la suficiente potencia para asegurar que el medio de cultivo en el fermentador permanezca como una mezcla homogénea, para un birreactor de 20 litros, un motor de 1 kwatt es suficiente.

Las operaciones realizadas por estos birreactores son las siguientes:

1. Homogeneización, para mantener temperatura y distribución de concentración uniformes.
2. Mezcla sólido/líquido, para mantener una suspensión con una distribución de sólidos uniforme.
3. Procesos líquido/líquido, para dispersar una fase en otra, formar emulsiones y realizar extracciones.
4. Procesos gaseoso/líquido, para dispersar el gas en los líquidos, airear el líquido.
5. Intercambio de calor.

Estos birreactores cuentan con un sistema de agitación mecánico, y el número de propelas tiene que ver con el tamaño del mismo, se coloca a lo largo del eje cilíndrico del reactor, lo cual favorece también el intercambio de calor. Asimismo, cuentan con baffles (deflectores), los cuales son cortadores de corriente para prevenir la formación de vórtices en el medio. Generalmente se colocan cuatro deflectores. La temperatura del medio se mantiene por la camisa de metal o vidrio. Existen distintos tipos de agitadores, algunos mantienen el flujo en alineación axial y otros en alineación tangencial o radial. La forma de dichos agitadores depende de la viscosidad del líquido. Dependiendo del tipo de agitador que se seleccione, será el patrón de flujo y de los vórtices generados; todo esto se calcula por parámetros como tiempo de mezclado, transferencia de masa y de calor, entre otros. En esta investigación, el tipo de agitador utilizado es turbina plana con deflectores laterales.

II.1.2.35. Diseño

El diseño de los birreactores es una tarea de ingeniería relativamente compleja y difícil. Los microorganismos o células son capaces de realizar su función deseada con gran eficiencia bajo condiciones óptimas. Las condiciones ambientales de un birreactor tales como flujo de gases (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono, etc.), temperatura, pH, oxígeno disuelto y velocidad de agitación o circulación, deben ser cuidadosamente monitoreadas y controladas.

La mayoría de los fabricantes industriales de birreactores usan recipientes, sensores, controladores y un sistema de control interconectados para su funcionamiento en el sistema de biorreacción.

En un proceso de aeróbico, la transferencia óptima de oxígeno es tal vez la tarea más difícil de lograr. El oxígeno se disuelve poco en agua (y aún menos en caldos fermentados) y es relativamente escaso en el aire (20,8 %). La transferencia de oxígeno usualmente se facilita por la agitación que se requiere también para mezclar los nutrientes y mantener la fermentación homogénea. Sin embargo, existen límites para la velocidad de agitación, debidos tanto al alto consumo de energía (que es proporcional al cubo de la velocidad del motor) como al daño ocasionado a los organismos debido a un esfuerzo de corte excesivo.

Los birreactores industriales usualmente emplean bacterias u otros organismos simples que pueden resistir la fuerza de agitación. También son fáciles de mantener ya que requieren sólo soluciones simples de nutrientes y pueden crecer a grandes velocidades.

En los birreactores utilizados para crecer células o tejidos, el diseño es significativamente distinto al de los birreactores industriales. Muchas células y tejidos, especialmente de mamífero, requieren una superficie u otro soporte estructural para poder crecer y los ambientes agitados son comúnmente dañinos para estos tipos de células y tejidos. Los organismos superiores también requieren medios de cultivo más complejos.

II.1.2.36. Clasificación de los birreactores.

II.1.2.37. Clasificación operativa

Se clasifican de acuerdo al modo de operación: discontinuo, semicontinuo, continuo. Esta es una clasificación operativa y se aplica a cualquier reactor, sea químico o biológico. En este último, el modo de operación define el sistema de cultivo que es el mismo y delimita la clasificación procesal-productiva del cultivo. Al operar un birreactor en cualquier modo de operación, automáticamente queda determinado el modo de cultivo del sistema y se definen los parámetros y las características operativas

y de diseño que intervienen en el proceso productivo del sistema.

II.1.2.38. Clasificación biológica

Los birreactores se clasifican biológicamente de acuerdo al metabolismo procesal del sistema cultivo: *anaeróbico*, *facultativo*, *aeróbico*. Los bioprocesos de cultivo y las fermentaciones están basados en el metabolismo celular del cultivo. El metabolismo define los parámetros y características operativas-biológicas de diseño y de operación del birreactor, y estas características son las que intervienen en la parte biológica del sistema y tienen que ver con el crecimiento, productividad y rendimiento del cultivo.

- **Discontinuo (Batch)**

Por lotes o tandas, sistema cerrado, sin alimentación (F); se coloca dentro del birreactor la carga total de cada proceso (tanda o lote) de cultivo o fermentación y se dejar que se lleve a cabo el proceso productivo o la fermentación por el tiempo que sea necesario, este tiempo se denomina tiempo de retención. Son sistemas cerrados que se caracterizan por cambiar las condiciones fisiológicas y ambientales. No hay entrada ni salida de medio de cultivo.

A estos reactores se los carga una vez de forma total o por intervalos durante varios días. Este tipo de reactores son aplicables cuando hay problemas de falta de personal o cuando el material para degradar no existe de forma continúa.

- ❖ **Ventajas:**

- Procesamiento de una gran variedad de sustratos.
- Admite cargas secas y con alta humedad.
- Trabajo en ciclos para una operación menos personalizada.

- ❖ **Desventajas:**

- La carga y descarga requiere de una mayor operación de manera personalizada.

❖ **Semicontinuo** (batch alimentado):

- Por lotes alimentados, con alimentación de entrada (F_1); se alimenta una línea de entrada (F_1) para que el sistema de cultivo tenga un producto con máximo de crecimiento (exponencial) y aumente la productividad. Estos sistemas operan adicionando medio fresco, pero sin remoción del existente. Son muy útiles cuando se requiere una elevada densidad celular en la etapa de iniciación del proceso que implica un alto consumo de nutrientes, especialmente de fuente hidrocarbonada que suele funcionar como sustrato limitante.
- Son muy útiles cuando se necesita una elevada densidad celular en la etapa de iniciación del proceso que implica un alto consumo de nutrientes (fuente hidrocarbonada que suele funcionar como sustrato limitante).
- Consiste en remover, al final de la operación entre un 80 y un 90 % del cultivo y reemplazarlo por medio fresco.
- De esta manera puede satisfacerse sencillamente la necesidad de contar con inóculos de gran tamaño y a su vez evitar la esterilización del reactor entre dos ciclos.

❖ **Continuo:**

Por quimioestato, se alimenta una línea de entrada F_1 o alimentación y se drena una línea de salida F_2 lavado; de manera que los flujos o caudales de ambas líneas sean iguales y la producción sea continua. El caudal de entrada de medio fresco es igual al de salida de medio utilizado. Son utilizados en cultivos donde la velocidad de crecimiento celular es constante por lo que existe un suministro constante de nutrientes o para la remoción permanente de producto sobre todo en sistemas inmovilizados.

❖ **Ventajas:**

- Son utilizados en cultivos donde la velocidad de crecimiento celular es constante ya que hay un constante ingreso de nutrientes o para la remoción permanente de producto sobre todo en sistemas inmovilizados.
- Para su buena aplicación se requiere minimizar lo que se denomina lavado del cultivo.

- Una variante es la Perfusión que implica la remoción y suministro de medio dejando la biomasa ocluída en una malla.

❖ **Desventajas:**

- Presenta inconvenientes con respecto al mantenimiento de las condiciones de asepsia del proceso, y se dificulta debido a la tendencia a formar agregados de las células vegetales en cultivo, la formación de merengue y el lento crecimiento celular.
- Para su buena aplicación se requiere del diseño de sistemas que permitan suplementar continuamente el medio de cultivo evitando la remoción de las células y así minimizar lo que se denomina lavado del cultivo.

II.1.2.39. Sistema de agitación en birreactores de tanque agitados

- Genera la potencia necesaria para producir una mezcla perfecta para el sistema de cultivo
- Maximiza la difusión de gases en el líquido y minimiza la producción de esfuerzos cortantes y la presión hidrodinámica local y global, para optimizar los fenómenos de transferencia de calor y masa. (Menzella 2015).

II.1.2.40. Medios de cultivo

Es un sustrato o una solución de nutrientes que permite el desarrollo de microorganismos. En las condiciones de laboratorio para realizar un cultivo, se debe sembrar sobre el medio de cultivo elegido las muestras en las que los microorganismos van a crecer y multiplicarse para dar colonias (López, 2006).

II.1.2.41. Papa dextrosa agar (PDA)

Es un medio muy usado que sirve para aislar todo tipo de hongos. *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium* (*Verticillium*) y *Metarhizium*, los más importantes hongos parásitos de insectos, al igual que los parásitos de plantas y los hongos saprofitos crecen muy bien y esporulan en este medio. Cuando se aíslan hongos a partir de insectos colectados del suelo, es recomendable acidificar el medio con ácido láctico al 25%. Se

agregan 3 ó 4 gotas sobre el agar solidificado de la placa con el objeto de evitar el desarrollo de bacterias. (Cañedo, 2004)

Es el medio más eficiente por el desarrollo en la producción de conidias, y el desarrollo diametral. Además, por su fácil preparación y bajo costo de sus ingredientes, es el más indicado para iniciar el aislamiento y producción de *Beauveria brongniartii* y así propiciar su mejor desarrollo masal. (Narrea *et al*, 2006).

CAPITULO III

III.1 MARCO METODOLÓGICO.

III.1. Modalidad de la investigación

Esta investigación se encuentra enmarcada según Hurtado de Barrera (2000), dentro de la investigación exploratoria, la cual indica que se utiliza dentro del tema a investigar es muy poco conocido, o está escasamente definido debido a la escasez de

conocimientos. Una investigación es exploratoria cuando el objetivo del investigador es explorar, sondear, descubrir posibilidades. La investigación exploratoria prepara el camino para otras investigaciones.

III.1.2. Población y muestra

La población de la investigación consistió en (2000ml) de lechada de maíz y la muestra 10 ml para cada tratamiento empleado .

III.1.3. Tipos de investigaciones.

Esta investigación es del campo y experimental, es decir consiste en la manipulación de una (o más) variable experimental no comprobada en condiciones rigurosamente controlada, con el fin de describir de qué modo o por que causa se produce una situación o acontecimiento particular dando como objetivo principal explorar las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario empleando hipercubo latino

El trabajo se desarrollo mediante la siguiente fase:

Fase I: Selección y caracterización química y microbiológica del sustrato hacer empleado. En esta fase se determino el pH, (°Brix), coliformes totales y fecales, en otros., empleando lo establecido en las normas venezolanas COVENIN.

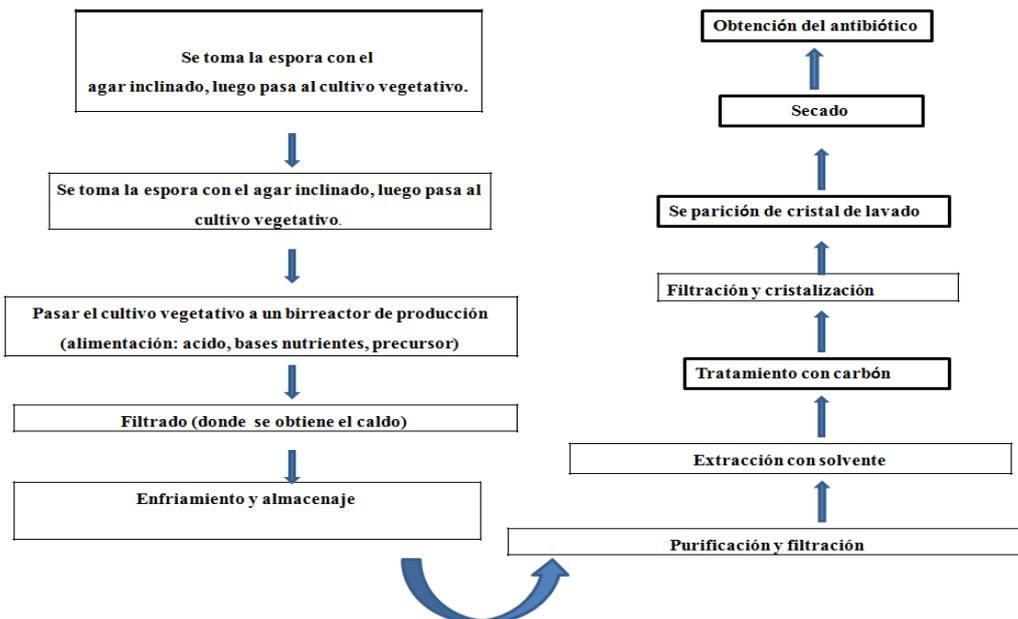
Fase II: Acondicionamiento del sustrato para el proceso de producción de antibiótico. En esta fase se empleara como sustrato como el maíz para ello se separaran los granos y se procederá a la moliendo. Una vez obtenida la masa, con ayuda de un liencillo se exprime para obtener una solución clarificada, posteriormente se le medirá lo solido soluble (°Brix) y se esterilizara.

Fase III: Diseño del arreglo de tratamiento óptimas hipercubo latino escalable para el proceso de producción del antibiótico. Se empleara el diseño método hipercubo latino (Latin Hyhipercube) debido a que maximiza la distancia mínima entre los punto del diseño (igual espaciamiento de los niveles de cada factor). Este método produce diseño que imitan la distribución uniforme. El método Latin Hipercube es un compromiso entre el método Sphere-embalaje y el método de construcción homogéneo. El diseño Latín Hipercube Designs (LHD), se recomienda implementar, si,

- a. Si esperamos, si, la respuesta depende solo de algunos de los insumos (factor de escasez), los puntos deben estar espaciado de manera uniforme cuando se proyectan en la región experimental en estos factores.
- b. Si asumimos modelos aditivos (aproximadamente), también queremos un diseño cuyos puntos se proyectan de manera uniforme sobre los valores de entradas individuales se pueden demostrar que (al menos en algunos supuesto), LHD son mejores que diseño de igual tamaño, obtenido de un muestreo aleatorio simple.

A diferencia de los diseños compuestos centrales los LHD son más económicos y más versátiles en ajustar casi cualquier modelos, además no requiere repeticiones para construir modelos matemáticos sustitutos.

Par la producción del microorganismo). *Penicillium chrysogenum* (H)



Fase IV: Estudio de vía de las condición de operativas para el proceso de simulación de un antibiótico de uso veterinario. En esta etapa de la investigación se establecerá el modelo ajustado al proceso experimental (meta modelo) resultando múltiples MLCIIerO+Itrip; los cuales requiere de hacerle mantenimiento en el tiempo, para ajustar con variancias y ruidos nuevos, como son los cambios en la materia prima cambio en la maquinaria entre otro; y para

ellos en general se repiten el experimento y se ajusta nuevamente el modelo; sin embargo a veces en procesos reales industriales es difícil repetir el experimento completo o es muy costoso para ellos en esta investigación se usara en principio un diseño estadístico de superficie de respuesta “ Virtual” SpaceFilling, del tipo Hipercubo Latino Optimal para la experimentación del laboratorio del alimentos (laboratorio LITA-UNELLEZ); ya que esto una vez validados, aposterioris permiten modificar los modelos ajustados y crear un modelo simplificado nuevo (modelo sustituto). Así mismo se empleara como técnica la simulación con redes neuronales, herramientas que presentan gran capacidad predictiva atreves del software SAS JMP 8.

Fase V: Validación de los resultados obtenido en esta etapa se compararon los resultados obtenidos experimentalmente, con el modelo empleado como herramienta de predicción en la producción de antibiótico de uso veterinario.

III.1.4. Técnicas e Instrumentos de la Recolección de Datos

Entre las técnicas que se utilizaron en este trabajo de investigación para el levantamiento de información están:

- La *Investigación Documental*, a través de la lectura de la bibliografía que describe el proceso de cultivo del microorganismo la especie de *penicillium chrysogenum* representado por el modelo desarrollado, y la relacionada con el estado del arte sobre el modelado, simulación y para birreactores semicontinuo.
- La *Observación Directa* en forma general y detallada de los datos resultantes en las corridas de simulación del proceso bajo diversas condiciones de funcionamiento.

III.1.5. Materiales y métodos

III.1.5. Materiales, equipos y reactivos utilizados en la investigación

- Pipeta (10ml ,1ml ,20 ml).
- Porta pipeta.
- Placas de petri.

- Frascos de vidrio.
- Varilla angular de vidrio.
- Balanza.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Papel de aluminio.
- Algodón.
- Alcohol.
- Beaker (250 ml, 500 ml, 1000 ml).
- Fiola (500ml, 1000 ml, 250 ml).
- Mechero de Bunsen.
- Estufa de incubación (31° C).
- Estufa de esterilización.
- Autoclave.
- Nevera.
- Agua destilada.
- Peptona (peptonebacteriological).
- Agar papa dextrosa.
- Bureta (50 ml).
- Micro goteros.
- Plancha de calentamiento.
- Soporte universal metálico.
- pH metro.
- Termómetro de vidrio.
- Refractómetro.
- Birreactor.
- Pizeta.
- NaOH (hidróxido de sodio).
- Cilindro graduado (100 ml, 250 ml).
- Espátula.
- Suplemento

- Gorro.
- Bata de laboratorio.
- Guantes.
- Tapa boca
- Lactosa 2-3%
- Acido acetico

III.1.6. Métodos

III.1. 7. Preparación de los medios de cultivos. (Medio solidó)

- Utilizadas las técnicas del laboratorio de microbiología de la UNELLEZ – San Carlos, y lo establecido en las normas COVENIN 1337-90. Se procedió a preparar los medios de cultivo necesarios para la siembra en las placas del microorganismo *Penicillium Chrysogenum*

- **Preparación de Agar**

El Agar utilizado para la siembra fue el Agar papa dextrosa, el cual es un medio utilizado en el crecimiento de levaduras y hongos ; dicho medio cuenta con especificaciones de preparación de la casa comercial donde se indica que se deben agregar 45 gr de Agar por cada 1000 ml de agua para su preparación.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, se preparó la cantidad de Agar a utilizar para cada proceso, tomando en cuenta que se necesita 70 placas de Petri, a las que se les adiciono 15 ml de Agar diluido para cada una, por lo que se necesitó un volumen total de Agar (900ml). Por lo tanto se calcularon los gramos de Agar a utilizar de la siguiente forma:

$$\begin{array}{l}
 45 \text{ gr de Agar} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \\
 X \longleftarrow 900 \text{ ml} \\
 x = 40,5 \text{ gr de Agar.}
 \end{array}$$

Una vez pesado el agar se diluyo en el volumen de agua necesaria, utilizando dos Fiolas de 1000 ml. Inmediatamente se procedió a su calentamiento con la ayuda de una plancha de calentamiento agitando frecuentemente hasta obtener una apariencia cristalina de la misma.

Después de dicha preparación se envasaron en frasco de vidrio con tapas cada uno con 120 ml, utilizando 13 frascos, los que fueron esterilizados en el autoclave a 121 °C y 15 lbf/pulg² por 15 min. Luego de terminar dicho proceso, el medio se enfría hasta una temperatura aproximada de 45 – 50° C

- **Preparación del agua peptonada**

Para la preparación de este medio se utilizó una concentración de 0,1 gr de peptona wáter (buffered) ISO 6579 por cada 1000 ml de agua de acuerdo a lo establecido en la norma COVENIN 1337 – 90.

Para cada proceso se requiere prepara el agua peptonada necesaria para un total de 20 frascos de vidrio con tapas con 90 ml Lo que indica que se necesita (2700 ml) para esto se realizaron lo caculos de la siguiente forma:

Frasco con 90 ml

0,1 g peptonas —————> 1000 ml

X <———— 2700 ml

x = 2,7 gr de peptona

- **Preparación del sustrato (lechada de maíz)**

La lechada de maíz para la producción del microorganismo *penicillium chrysogenum* en la elaboración de un antibiótico de uso veterinario como lo es la penicilina, obtenida en los mercados del centro de la ciudad de San Carlos del estado Cojedes. Una vez obtenido el maíz fue llevado a las instalaciones del laboratorio donde se separon los granos de la mazorca y se procedió a la molienda. Una vez obtenida la masa, con ayuda de un liencillo, se exprimió para obtener la lechada de maíz, obteniendo 1500ml de lechada. Se miden el ° Brix y luego se lleva al auto clave para la esterilización a 121°C por 15 mina 15 lbf/pulg²

- **Preparación del Inoculo (Pie de cubo)**

Consiste en el acondicionamiento del microorganismo para luego ser agregado al birreactor, con el fin de activar las células del mismo, adaptándolas a las condiciones del sustrato se inoculo a través del cultivo de microorganismo (*Penicillium Chrysogenun*) en 2000 ml del sustrato (lechada de maíz), se incubo por 30 min, y una vez activada se agregó al birreactor bajo las siguientes condiciones 200Rpm, temperatura de 30 ° C, aireación de 2 pie³/min.

Metodología empleada:

- Se tomó 2000 ml del total del sustrato lechada de maíz en una fiola
- 1 cepa del microorganismo (*Penicillium Chrysogenun*)
- Complejo vitamínico miovit
- Se tomo lactosa 2-3% compuesto inorgánico
- El precursor benceno, 2ml de fenol, 2ml de ácido acético
- Por último, se dejó reposar a una temperatura de 30° C y se observó constantemente.

III.1.8. Proceso biotecnológico (fermentación Semicontinua)

Preparado los medios de cultivo y la concentración del sustrato lechada de maíz debidamente esterilizada, y todo el material de vidrio a utilizar se da inicio al proceso de fermentación. En los siguientes pasos:

- Agregar el sustrato al recipiente de vidrio estéril del birreactor, separando 2000 ml del volumen total del sustrato para la preparación del inoculo.
- Se enciende el equipo, con el fin de estabilizar la temperatura (24 C), pH (4.5 a 5), agitación (200 rpm) y aireación (2 pie³/min) óptimos para el crecimiento y desarrollo del microorganismo.
- Una vez activo el microorganismo y estabilizada las condiciones del birreactor, se incorpora el inoculo al sustrato.
- Al iniciarse el proceso se midieron los ° Brix de inicio y se procede a la toma de

las muestras, las cuales son realizadas en intervalos de tiempo de 1 hora, desde la hora de inicio (ho) hasta la hora final (h10). Esta toma de muestra consiste en extraer 10 ml del sustrato inoculado con una pipeta estéril y agregarlo en un frasco con 90 ml de agua peptonada y de esta manera se obtiene la dilución 10^1 se homogeniza.

- Posteriormente se preparó la dilución 10^{-3} , tomando 1 ml de la dilución anterior para añadirlo en un frasco con 90 ml de agua peptonada previamente preparada y esterilizada. De igual manera se continúan preparando las diluciones 10^{-5} , 10^{-7} .
- Después de preparar todas las diluciones por duplicado se comienza con la siembra en placas de petri La misma se realizó en profundidad y consistió en agregar 1 ml de la dilución correspondiente. La siembra se realizó en el siguiente orden: 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-3} , 10^{-1} , y por duplicado.

Finalmente se incuban las placas en una estufa de a 36° C por 72 horas.

III.1.9. Instalaciones y equipos

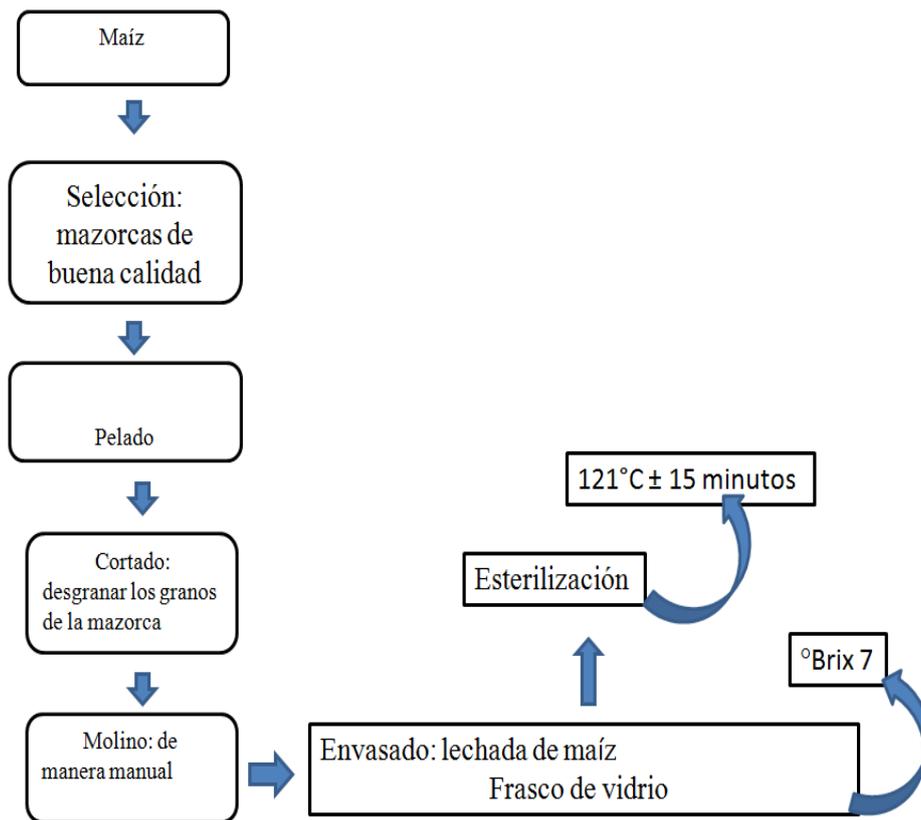
Instalaciones

El local debe ser lo suficientemente grande para albergar las siguientes áreas: recepción de procesos, empaque, bodega, laboratorio, oficina, servicios sanitarios y vestidor. La concentración debe ser en bloc repellado con acabado sanitario en la unión del piso y pared para facilitar limpieza.

Los pisos deben ser de concreto recubiertos de losetas o resina plástica, con desnivel para el desagüe. Los techos de estructura metálica, con zinc y cielorraso. Las puertas de metal o vidrio y ventanales de vidrios. Se recomienda el uso de cedazo en puertas y ventanas.

Figura 1. Esquema tecnológico para la obtención de la lechada maíz.

Descripción del esquema tecnológico.



Selección:

Consiste en la selección del jojoto que este buen estado y no tenga granos dañados con melaza.

Pelado:

Consiste en pelar el maíz en forma manual o con cuchillos que permitan las hojas de la mazorca sin penetrar los granos de la misma

Cortado:

Se procede a separar los granos de la mazorca para l obtención de la materia prima

Molienda:

Se muele la materia prima para la obtención de la lechada de maíz (zea mays)

Envasado:

Consiste en agregar la lechada de maíz en frasco de vidrio

Esterilización:

Se llevo a cabo con el fin de eliminar todo de microorganismo que pudiera estar presente durante la obtención de la materia prima, este proceso se realiza en una autoclave a una temperatura de 121 °C POR 15 min

III.1.10. Recuento en Placas

Es una técnica utilizada para estimar las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en una muestra. El recuento se realizó con la ayuda de un contador de colonia digital. Las unidades formadoras de colonias presentes en las muestras se determinan mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$UFC = N^{\circ}L*1*10 \text{ dilc}$$

III.1.11. Tecnicas de procesamiento y análisis de información

El conjunto de datos obtenidos , atraves de las técnicas empleadas para el levantamiento de información y uso de instrumento de recolección de datos fue clasificado, verificado y cotejado. sS realizo el análisis bajo la condición de concepto teorico y definiciones propias del sistema, a fin de conocer el comportamiento y tendencia del proceso. El conjunto de datos obtenidos fue rocesado mediante el so de metodod numérico y el programa SASJAMP 8del modulo de regresión de superficie de respuestas y ; para la optimización operativa se empleo el modulo de perfiles de respuesta y de deseabilidad , junto con el simulador del programa SAS JMP 8.

III.1.12. Hipercubo latino

El muestreo de hipercubo latino (LHS) es un método estadístico para generar una muestra casi aleatoria de valores de parámetros de una distribución multidimensional . El método de muestreo se usa a menudo para construir experimentos de computadora o para la integración de Monte Carlo. El LHS fue descrito por McKay en 1979. Eglājs propuso una técnica independientemente equivalente en 1977. Fue elaborada por Ronald L. Iman y coautores en 1981. Códigos informáticos y manuales detallados fueron posteriores publicado.

III.1.13. Que es Aprendizaje Profundo (Deep Learning)?

El aprendizaje profundo es un tipo de aprendizaje automático en el que un modelo aprende a realizar tareas de clasificación directamente desde imágenes, texto o sonido. El Aprendizaje Profundo generalmente se implementa utilizando una Arquitectura de Red Neuronal Artificial. El término "profundo" se refiere a la cantidad de capas en la red: más capas, cuanto más profunda es la red. Una red básica exploratoria, que consiste de una sola capa. Las redes neuronales tradicionales contienen solo 2 o 3 capas, mientras que las redes profundas pueden tener cientos.

III.1.14. ¿Qué es lo que hace que Deep Learning sea lo último en tecnología?

1. Fundamentalmente la “precisión”. Las herramientas y técnicas avanzadas tienen algoritmos de aprendizaje profundo mejorados radicalmente, hasta el punto donde pueden superar a los humanos en clasificar grandes cantidades de imágenes, capaz de ganarle en esto (en calidad y tiempo) al mejor analizador y clasificador humano del mundo. Por ejemplo, un humano entrena y habilita un control por voz asistente en Amazon Echo® y Google Home para encontrar y descargar canciones, películas o dar instrucciones para que se ejecuten a distancia, por ejemplo: encender un equipo (aparato) a distancia.

Otro ejemplo de aplicación y precisión: Un microscopio avanzado (Aprendizaje Profundo) que produce una clasificación clúster de imágenes, produciendo un gran conjunto de datos (imágenes) de alta dimensión utilizado para entrenar una red Neuronal de Aprendizaje Profundo para identificar células cancerosas de las no cancerosa, en muestras de tejido.

2. Tres habilitadores de tecnología hacen que este grado de exactitud posible:

2.1. Fácil acceso a conjuntos masivos de datos etiquetados

- Los conjuntos de datos como ImageNet y PASCAL VoC son libremente disponible, y son útiles para entrenar en muchos tipos diferentes de objetos.

2.2. Aumento de la potencia de cálculo.

- Las GPU de alto rendimiento aceleran el entrenamiento de las masivas cantidades de datos necesarios para el aprendizaje profundo, reduciendo el entrenamiento tiempo de semanas a horas, minutos o menos tiempo.

2.3. Modelos prediseñados construidos por expertos

- Modelos como AlexNet pueden ser entrenados para realizar nuevas tareas de reconocimiento utilizando una técnica llamada aprendizaje de transferencia. Mientras AlexNet fue entrenado en 1.3 millones de alta resolución imágenes para reconocer 1000 objetos diferentes, aprendizaje de transferencia precisa que el aprendizaje se puede lograr con conjuntos de datos mucho más pequeños.

III.1.15. Lo interno de una red neuronal profunda

Una red neuronal profunda combina procesamiento no lineal en múltiples capas, utilizando elementos simples que operan en paralelo e inspirados por sistemas biológicos nerviosos. Consiste en una capa de entrada, varias capas ocultas y una capa de salida. Las capas están interconectadas a través de nodos, o neuronas, con cada capa oculta usando la salida de la capa anterior como su entrada.

III.1.16. Cómo aprende una red neuronal profunda

Si, se tiene por ejemplo un conjunto de imágenes donde cada imagen contiene una de cuatro categorías diferentes de objetos (Ejemplo: Flores, Tasa, Carros y Arboles), y se quiere construir y entrenar una red de aprendizaje profundo para reconocer automáticamente qué objeto está en cada imagen. Para ello se etiquetan las imágenes para tener datos de entrenamiento para la red.

Presentando las imágenes a un lector y etiquetándola y, usando estos datos de entrenamiento, la red puede comenzar a entender las características específicas del objeto y asociarlas con el categoría correspondiente.

Cada capa en la red toma datos de la anterior capa, lo transforma y lo pasa. La red aumenta la complejidad y detalle de lo que está aprendiendo de capa a capa.

Hay que tomar en cuenta que la red aprende directamente de los datos; el investigador no tiene influencia sobre qué características se están aprendiendo.

III.1.17. Capas de clasificación

Después de la detección de características, la arquitectura de una red neuronal cambia a clasificación.

La penúltima capa es una capa (FC) totalmente conectada que produce un vector de K dimensiones donde K es el número de clases que la red podrá predecir. Este vector contiene el probabilidades para cada clase de cualquier imagen que se clasifica.

La capa final de la arquitectura de la red neuronal utiliza una función softmax (diferente a la función sigmoidea) para proporcionar la salida de clasificación.

No hay una fórmula exacta para seleccionar capas. El mejor enfoque es probar algunos y ver qué tan bien funciona, si no usar una red pre-entrenada y ajustarla a los nuevos datos.

III.1.18. Cuál es la diferencia entre el aprendizaje profundo y Aprendizaje automático?

El aprendizaje profundo es un subtipo de aprendizaje automático. Con la máquina de aprendizaje, extrae manualmente las características relevantes de una imagen.

CAPÍTULO IV

IV.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente capítulo se expone un panorama sucinto sobre el análisis de datos. Se describen de manera no exhaustiva algunos elementos de cuadros, gráficos y estadísticos útiles tanto para la organización y presentación de los datos y resultados como para el análisis de los resultados de investigación.

Se inicia el capítulo con la presentación de los datos obtenidos en laboratorio entre ellos el análisis, químico y microbiológico pH (°Brix), coliformes totales y fecales, en otros. empleando lo establecido en las normas venezolanas COVENIN

Cuadro 3 Análisis químico y microbiológico

pH	6,5	COVENIN:1315-17
(°Brix),	7	COVENIN 1031-81
coliformes totales y fecales	0	COVENIN 1104:1996

Analisis. En el cuadro anterior se puede constatar que los parámetros a evaluar se encuentra en el marco de las normas coveninin antes mencionadas.

En el cuadro 1, se muestra la matriz “D” de diseño de tratamientos, con dos repeticiones y, las respectivas respuestas tecnológicas medidas, para cada tratamiento; seguidamente se presenta un análisis preliminar de bondad de ajuste de los datos, a modelos lineales aditivos, cuadráticos; una vez mostrada la robustez de los modelos se realiza un análisis SCREENING, en la búsqueda de diagnosticar que términos del modelo lineal aditivo de alto orden son los más importante en explicar cada respuesta. Finalizando con la modelación definitiva y optimización operativa del proceso.

En el cuadro 1, se muestran los datos experimentales obtenidos en la investigación.

Cuadro 4. Matriz de diseño de tratamientos y respuestas tecnológicas medidas al antibiótico de uso veterinario

tratamiento	X1 penicilina (g)	X2 glicol (g)	Azufre (g)	Petrolato (g)	total en gr	Y1 pH [+]	Y2 POR (mV)	Y3 Dens (g/ml)
1	5	1,67	1	32,33	40	7,75	39,5	0,78
2	8,89	3	1	27,11	40	6,89	4,6	0,90
3	6,11	1	1	31,89	40	6,85	2,5	0,78
4	6,67	1,89	1	30,44	40	6,4	58,6	0,67
5	7,22	2,78	1	29	40	6,7	46,8	0,78
6	9,44	1,44	1	28,12	40	6,47	2,42	0,67
7	8,33	2,11	1	28,56	40	6,41	29,5	0,90
8	10	2,33	1	26,67	40	6,67	15,6	0,78
9	7,78	1,22	1	30	40	7,8	10,6	0,90
10	5,56	2,56	1	30,88	40	6,18	40,6	0,70

En lo siguiente, se muestra, una visualización de la bondad de ajuste de los datos a modelos lineales aditivos cuadráticos, del tipo:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{i \neq j}^j \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 + \varepsilon$$

El modelo para 02 (cuatro) factores experimentales, tendrá la siguiente estructura:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon_i$$

Una vez ajustado los modelos (uno para cada respuesta), se comprobó sus supuestos básicos de los errores de predicción: $\varepsilon_i \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

1. Normalidad: los datos obtenidos en cada nivel del factor se ajustaron razonablemente a una distribución Normal de Gauss.
2. Homocedasticidad: la variabilidad de los datos en cada nivel del factor es similar (contraste de igualdad de varianzas)
3. Linealidad: los residuos (diferencia de los datos a su media, en cada nivel del factor) se distribuyen alrededor del cero (gráfico de residuos).
4. Independencia: las observaciones se realizan de forma independiente unas de otras

En ese mismo sentido la modelación de las variables medidas, se ajustaron con mínimos cuadrados ordinarios matriciales, usando el programa SAS JMP 8, el módulo de regresión de superficie de respuesta y; para la optimización operativa el módulo de perfiles de respuesta y de deseabilidad, junto con el simulador del programa SAS JMP 8.

Se ajustaron dos modelos (uno para cada respuesta), formando el meta modelo o modelo de simulación de calidad del antibiótico de uso veterinario tipo ungüento.

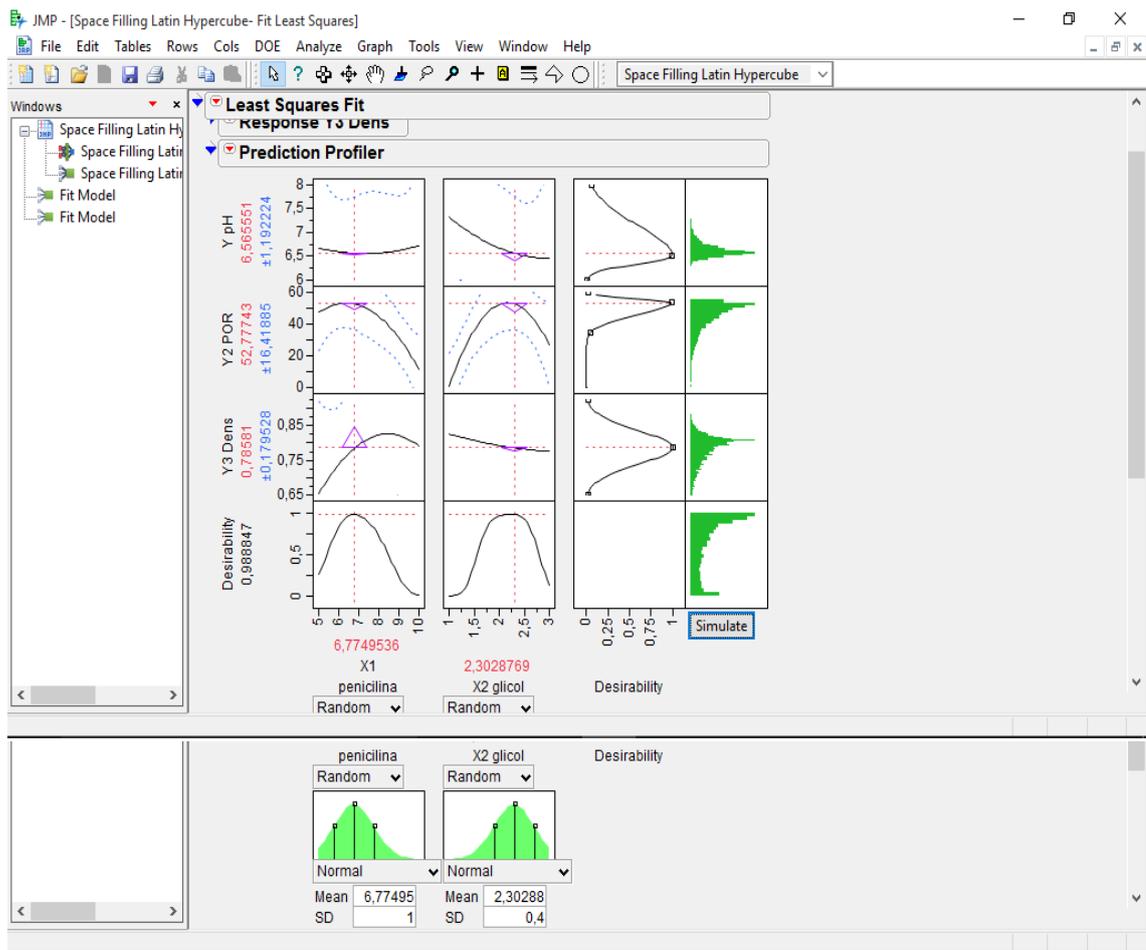


Figura 2. Condiciones de calidad alcanzadas para maximizar la producción de un antibiótico de uso veterinario tipo ungüento

En la figura 1, se muestran las condiciones alcanzadas para maximizar la producción del antibiótico, dichas condiciones experimentales son de X₁: 6,77 g; X₂: 2,30 g, para la obtención del ungüento a base de *Penicillium chrysogenum* de uso veterinario con un POR de 52,78 mV, una densidad de 0,79 g/ml y un pH alrededor de 6,57.

Con referencia a lo anterior, se observa que el antibiótico obtenido es muy heterogéneo, con una densidad elevada y una consistencia semisólida, propia de los ungüentos, lo que garantiza tanto las propiedades hidratantes, oclusivas y congestivas, como la capacidad de ejercer una acción local y formar una capa impermeable sobre la piel del animal que dificulte la evaporación del agua, permitiendo así que su concentración sea más alta en la superficie y va disminuyendo en profundidad, a fin de

que pueda ubicarse entre los antibióticos más apropiados en procesos de epidermis y dermis superficial.

Como una forma de contrastar los resultados, se procesaron los datos con una red neuronal, previamente entrenada (figura 2).

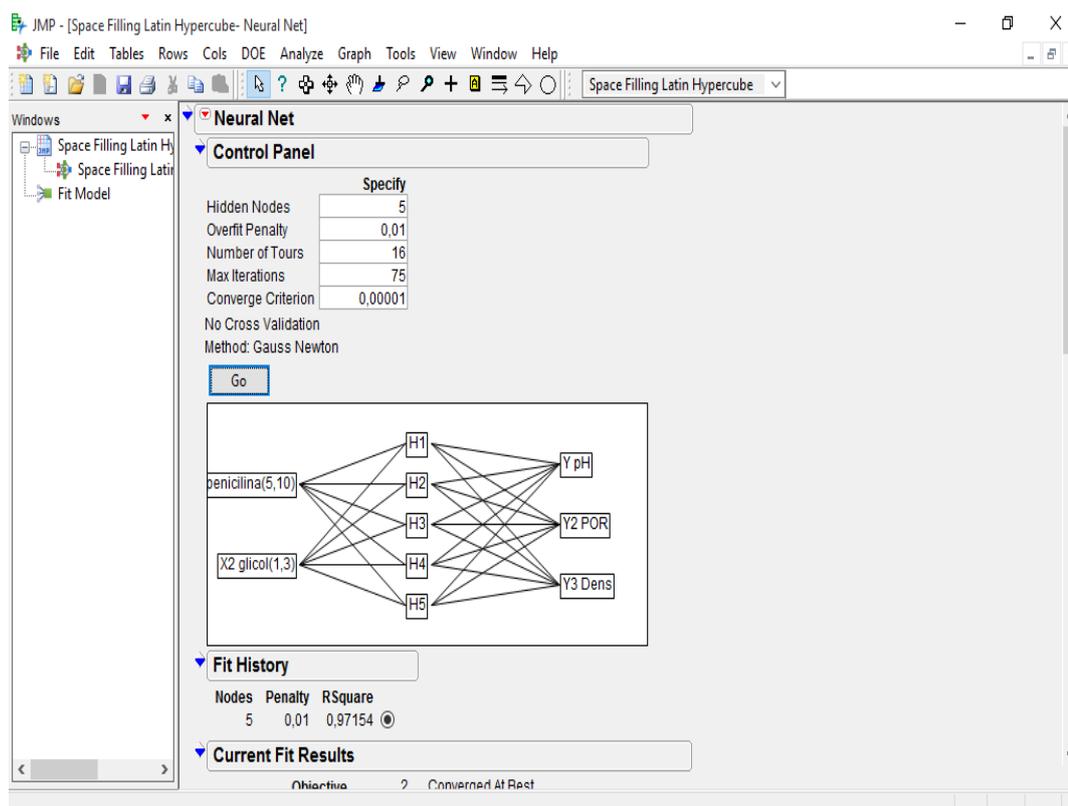


Figura 3. Red neuronal artificial, condiciones de entrenamiento y bondad de ajuste

En la figura 3 se observó que el r-cuadrado se encontraba por encima del 97,15 % por lo que refleja la bondad del ajuste del modelo empleando red neuronal y les permite a las variables (pH, POR y Densidad) que puedan explicar el proceso de exploración de las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario.

En las figuras que se muestran a continuación se observa que la bondad de ajuste del modelo estadístico describe de forma excelente el ajuste del conjunto de observaciones experimentales; es decir, resume en forma general la discrepancia entre

los valores observados y los valores esperados en el modelo para el proceso de exploración de las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario.

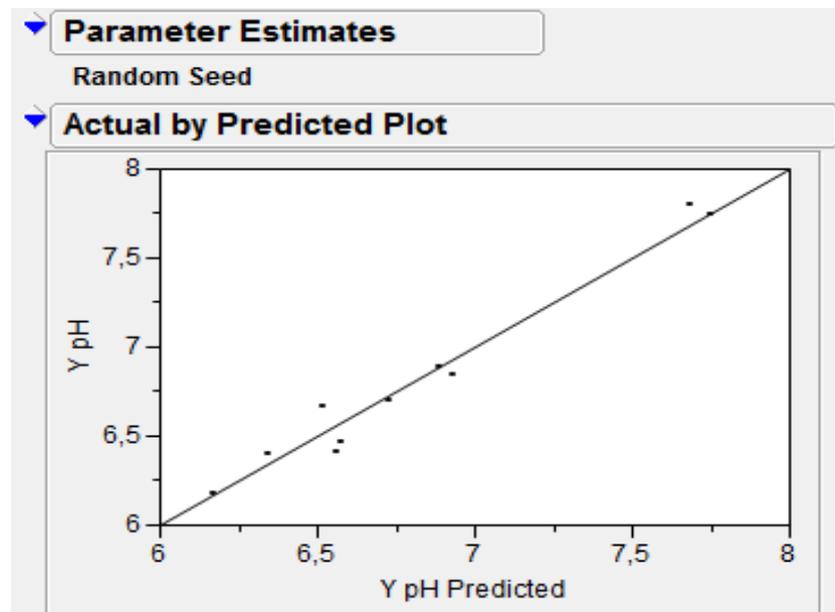


Figura 4. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para Y_1 =pH [+].

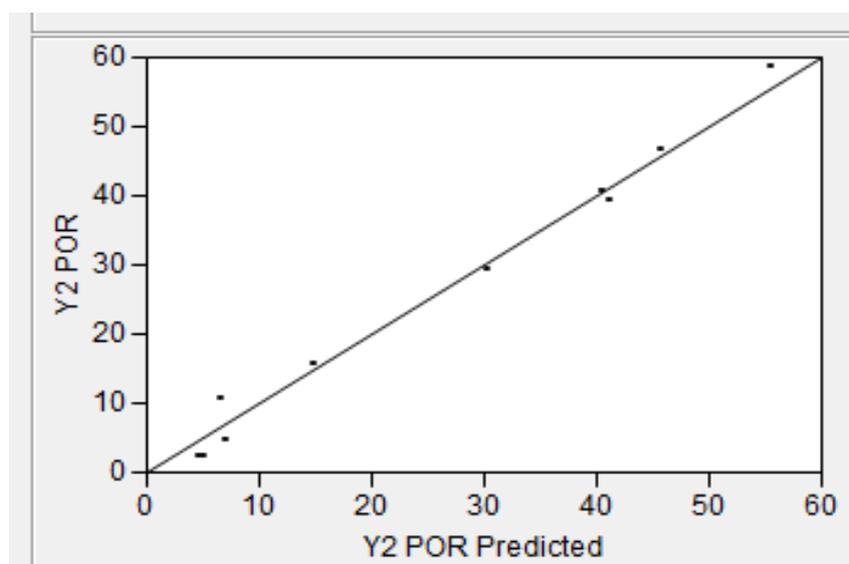


Figura 5. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para Y_2 =POR (mV).

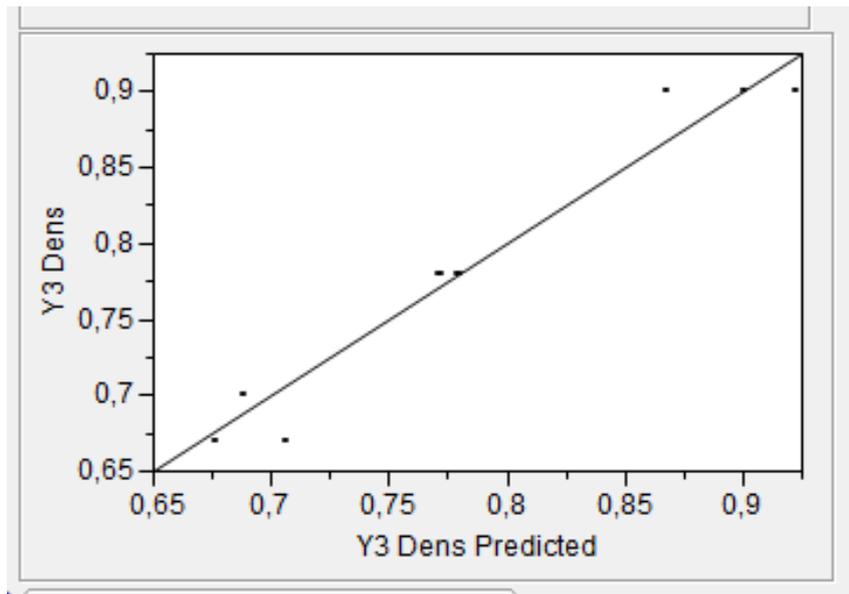


Figura 6. Visual de la Bondad de ajuste de los modelos de red neuronal artificial para Y_3 =Densidad (g/ml) .

En la figura 6, se muestra el meta modelo genérico:

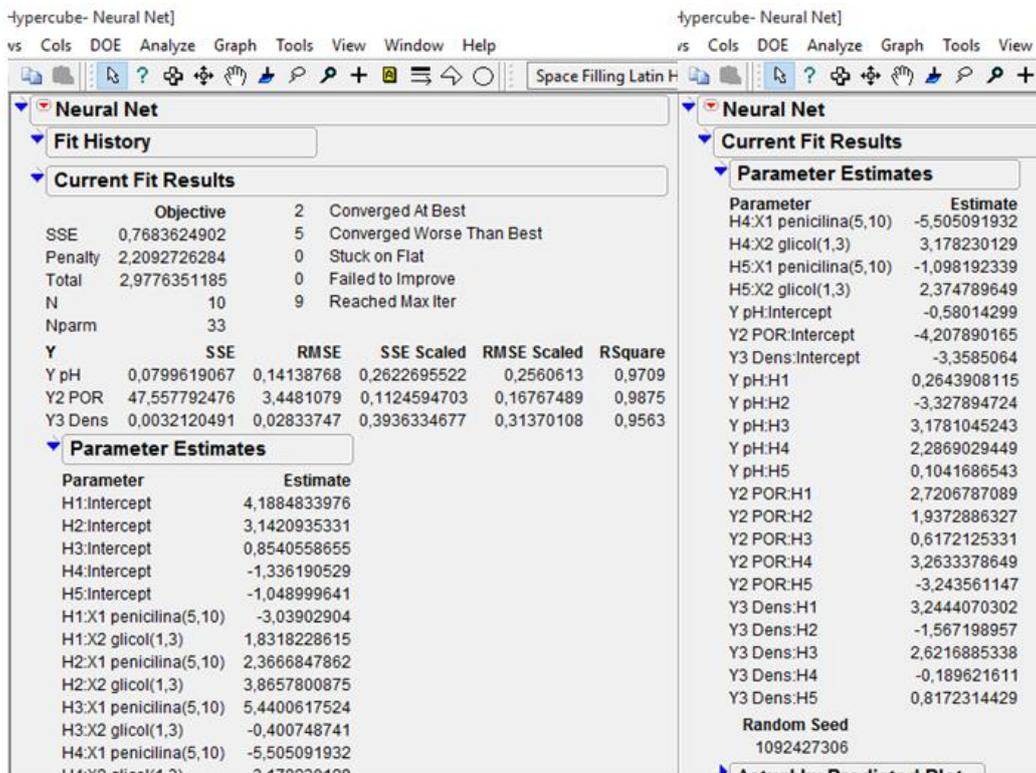


Figura 7. Parámetros del modelo genérico de la red neuronal artificial

CONCLUSIONES

Luego de los resultados obtenidos en el desarrollo del presente trabajo de grado se han establecido las siguientes conclusiones:

- El maíz es un cultivo con un gran potencial productivo en el país hasta el punto que sus subproductos son aprovechados en algunos procesos industriales, otorgándoles de esta manera un valor agregado, como es el caso de la lechada, proveniente de la molienda del maíz para cachapas y que presentan altos contenidos de proteínas, vitamina A, B – caroteno, que son compuestos necesarios para el desarrollo de microorganismos como el *Penicillium chrysogenum*
- Los arreglos de tratamientos hípercubo latino utilizados, permitieron ajustar modelos lineales aditivos de alto orden, con excelente bondad de ajuste, para el proceso de exploración de las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario.
- Los modelos ajustados y la metodología de optimización vía simulación, permitieron pronosticar las condiciones operativas óptimas para el proceso de producción del antibiótico tipo ungüento de uso veterinario, de buena tolerabilidad, baja incidencia de alergia, mínima toxicidad, alta capacidad de penetración en la piel y bajo costo.
- Por lo antes expuesto podemos señalar que la penicilina G, es un antibiótico del grupo de beta-l actámicos que sirven para combatir las infecciones provocadas por las bacterias sensibles.

RECOMENDACIONES

- Ajustar modelos lineales aditivos de alto orden y utilizarlos en la optimización vía simulación, en el pronóstico de condiciones operativas óptimas para explicar el proceso de exploración de las condiciones para la producción de un antibiótico de uso veterinario.
- Considerar la obtención del antibiótico en polvo para luego diluirlo
- Estudiar la vida útil del antibiótico tipo ungüento de uso veterinario
- Utilizar otra metodología para la obtención del microorganismo *Penicillium chrysogenum*
- Evaluar la rentabilidad del antibiótico
- Tomar precaución de higiene y seguridad al momento del desarrollo del *Penicillium chrysogenum*

BIBLIOGRAFÍAS.

- ❖ Andón, A (2010). Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública. Tesis Doctoral. Madrid– España. 135 p.
- ❖ Arias, F. (2012). El Proyecto de Investigación. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/131137657/EL-PROYECTO-DE-INVESTIGACION-Fidias-Arias#scribd>
- ❖ Arias, F. (2012). *El Proyecto de Investigación: Introducción a la investigación científica*. (6° Ed.). Caracas, Venezuela: Episteme C.A.
- ❖ Bavaresco, A. (2006). *Proceso metodológico en la investigación: Cómo hacer un Diseño de Investigación*. Maracaibo, Venezuela. Recuperado de: http://biblioteca.bcv.org.ve/cgi-win/be_alex.exe?Autor=Bavaresco+de+Prieto,+Aura&Nombred=bcv_internet
- ❖ Bud, Robert (2007). *Penicillin: Triumph and Tragedy*. Ver. capítulo: *The Brand in the Era of Propaganda*
- ❖ Cañedo, V. Ames, T. 2004 manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos disponible: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/an65216.pdf>
- ❖ Co, T. (2004). Short tutorial on Matlab. [Artículo en línea]. [26/02/2018]. Disponible en <http://www.chem.mtu.edu/~tbco/cm416/matlab/tutorialpart5.pdf>
- ❖ Cuppett, Micki; Katie M Walsh (2007). *Medicina general aplicada al deporte*. Elsevier, España
- ❖ Dickerson, G. W. 1996. Nutritional Analysis of New Mexico Blue corn and Dent Corn Kernels, Extension Horticulture Specialist. Internet. <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/689/JUANVELESMEDINA1.PDF>.
- ❖ Disponible en: <http://espanol.geocities.com/claumvz>
- ❖ Ertola, Yantorno y Mignone (1994). OEA, ed. *Microbiología Industrial*

- ❖ Fernández, J. (2014). Microalgal Biotecchnology.[Articulo en línea]. [Consulta 09/03/2018].Disponible en <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema1---generalidades/1-5-modos-de-cultivo.html>
- ❖ Fernández, M. caracterización de transportadores necesarios para la compartimentación de la biosíntesis de penicilina en *Penicillium chrysogenum* Tesis Doctoral. León- España.235 p.
- ❖ Goodman and Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica.11ava. edición, Mc Graw Hill,México 2008.
- ❖ Hammer TJ, Fierer N, Hardwick B, Simojoki A, Slade E, Taponen J, Viljanen H, Roslin T'. (2016).p. 59.Van Epps HL (2006). «René Dubos: unearthing antibiotics». *J. Exp. Med.* 203 (2): 259.
- ❖ Hernández, L. (2011). Ungüentos y Pomadas.[Articulo en línea]. [Consulta 09/03/2018].Disponible en http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/pomadas_109.pdf. Disponible en <http://es.slideshare.net/paundpro/el-proyecto-de-investigacion-fidias-ariasel-proyecto-de-investigacion-fidias-arias>
- ❖ <http://claumvz.blogspot.com/2007/06/antibioticos-utilizados-en-veterinaria.html>
- ❖ <http://www.fao.org/docrep/007/y5468s/y5468s02.htm>
- ❖ <https://esalvucci.wordpress.com/crecimiento-microbiano/>
- ❖ http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com_contnt&view=182&Itemid=225
- ❖ Jaramillo Antillón, Juan (2005). «El principio de la quimioterapia y los antibióticos». *Historia y filosofía de la Medicina*
- ❖ Kaye ET. Topical antibacterial agents. *Infect Dis Clin North Am* 2000
- ❖ López, T. 2006 trabajo practico medios de cultivos disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf>

- ❖ Madigan M.T, Martingo J. M. y Jack Parker. 2004. Décima Edición. Brock Biología de los Microorganismos Prentice Hall.

- ❖ Mellon, M *et ál.* (2001). *Hogging It!: Estimates of Antimicrobial Abuse in Livestock* (1ª edición). Cambridge, MA: Union of Concerned Scientists.

- ❖ Mensa J, Garcia E, Vila J. Macrólidos, estólidos y estreptograminas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 200-8

- ❖ Mensa J, Gateil J, Prats G, Jiménez MT, Corachan M, Secrest MC, et al. Guía de terapéutica antimicrobiana. 6 ed. Barcelona: Masson, 1996:2-14.

- ❖ Menzella, H. (2015) Procesos Biotecnológicos II Crecimiento microbiano-Esterilización-Tipos de Biorreactores disponible en: www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/123653/mod_resource/content/1/Clase%202-030915.pdf

- ❖ Mitchell, D., Lonsane, B., Durand, R., Renaud, S., Maratray, J., Desgranges, C., Crooke, P., Hong, K., Tanner, R., Malaney, G. (1992). General principles of reactor design and operation for solid substrate cultivation. In Rolz (Ed.), *Solid substrate cultivation*. Elsevier Applied Science. Amsterdam, pp. 115-139. disponible en : <http://www.redalyc.org/pdf/620/62060105.pdf>

- ❖ Paullier, J. Arboleya, J. Campelo, E. Maeso, D. (2014) Producción integrada de maíz dulce Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/3578/1/bd-106.pdf>

- ❖ Narrea, M. Malpartida, J. 2006 Evaluación de medios de cultivo en la producción de conidias y crecimiento diametral de cuatro cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/entomologia/v45/pdf/a25v45.pdf>

- ❖ Nisha AR (diciembre de 2008). «Antibiótico Residues .

- ❖ Novoa, D. 2010. Introducción a las bioseparaciones. Consultado el 4 de Enero del 2012
- ❖ OIE.(2010).Boletín Medicamentos veterinarias.[Artículo en línea]. Consulta 26/02/2018].Disponible en www.oie.int/es/publicaciones-ydocumentacion/boletines-en-linea/
- ❖ Rodríguez, A.; Cabrera, A.; Valencia, J. Diseño y construcción de los instrumentos de medición para unos birreactor prototipos. Revista Electrónica en Digital Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica. Vol. 24, 2003. Páginas
- ❖ Solensky R (2003), «Hypersensitivity reactions to beta-lactam antibiotics», *Clinical reviews in allergy & immunology* **24** (3): 201-20
- ❖ Soriano del Castillo, J.M. Micotoxinas en los alimentos. Ediciones Díaz Santos. 2007.
- ❖ Vara, A. (2010). Desde la idea hasta la sustentación: 7 pasos para una tesis exitosa: Un método efectivo para las ciencias empresariales. Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Administrativas y Recursos Humanos. Universidad de San Martín de Porres. Lima. Manual electrónico disponible en internet: www.aristidesvara.net.

Anexos



Pausterizacion de la lechada de maiz



Biorrector



Medida de (°Brix),

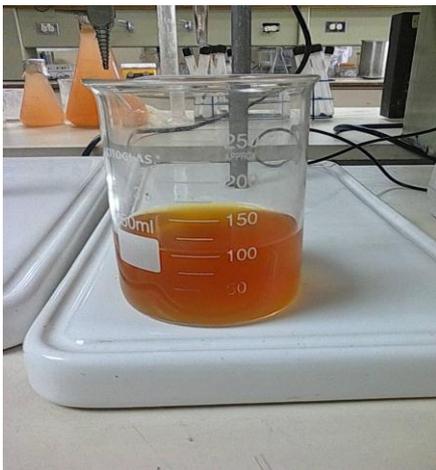


Siembra del microorganismo

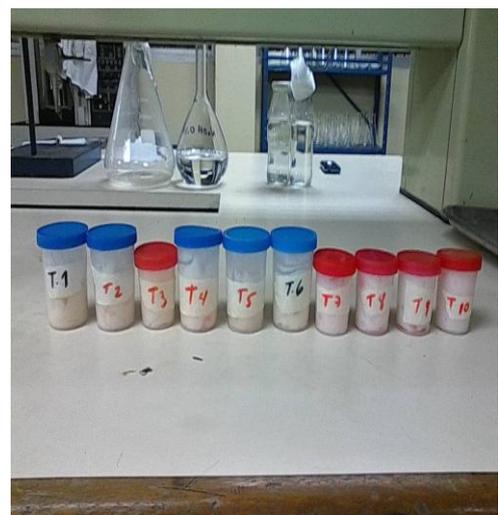




Centrifugando la muestra



Pénicilina cristalizada



Muestra de los tratamiento



Medicion de pH al tratamiento



Crecimiento del microorganismo



Producto final