

95 2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

COMPORTAMIENTO DE UN FERMENTADOR PARA PRODUCCION DE PENICILINA

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: INGENIERO QUIMICO PRESENTA ANA MARIA ROMERO GUZMAN



MEXICO, D. F.

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	Pag.
1. INTRODUCCION	7
2. GENERALIDADES	11
2.1 PROCESOS DE FERMENTACION	12
Fermentación.	12
Proceso de fermentación.	16
Crecimiento y metabolismo de los microorganismos.	17
Fases del crecimiento.	18
Consideraciones para la cinética de crecimiento celular.	20
Ecuación de Monod para el crecimiento.	20
Cinética de fermentaciones.	23
Productos de interés en una fermentación.	27
Consideraciones para la formación de producto.	28
Modelos para la formación de productos.	29
Efecto de la temperatura.	31
Efecto del pH.	31
Efecto de nutrientes.	31
Inhibición por sustrato.	32
Proceso continuo.	33
Variables importantes en un cultivo continuo.	34
Velocidad específica de crecimiento en cultivos continuos.	35
Ventajas del cultivo continuo.	36
2.2 PRODUCCION DE PENICILINA	38
Condiciones de fermentación.	40
Proceso de producción.	42
Fermentación continua.	47
2.3 MODELOS CINETICOS PARA PRODUCCION DE PENICILINA	51
Modelos	51
1. Modelo basado en la Ley Logística.	52
2. Modelo basado en la Edad Celular.	54
3. Modelo basado en Balances Elementales de Materia	56
4. Modelo basado en Cinética Enzimática.	60
2.4 SIMULACION	63
Simulación	63
Pasos a seguir en una simulación	64
2.5 METODOS NUMERICOS	67
Ecuaciones Diferenciales.	67
Métodos Numéricos.	71
Métodos de solución a problemas de ecuaciones diferenciales ordinarias con valores iniciales.	71

	Pag.
Métodos explícitos.	72
Método de Euler.	73
Método de Runge-Kutta.	75
Método de Runge-Kutta para sistemas de ecuaciones diferenciales.	77
Error y estabilidad.	79
Métodos semiimplícitos.	81
Método semiimplícito de Runge-Kutta.	83
3. RESULTADOS	86
3.1 CONDICIONES DE OPERACION PARA TODOS LOS MODELOS.	88
3.2 METODOS NUMERICOS APLICADOS.	89
3.3 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA EDAD CELULAR.	90
A. Variación de la concentración inicial de biomasa.	91
B. Variación del tiempo de residencia.	93
C. Comparación de los métodos numéricos.	95
3.4 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA LEY LOGISTICA.	96
A. Variación de la concentración inicial de biomasa y del tiempo de residencia.	98
B. Comparación de los métodos numéricos.	105
3.5 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA CINETICA ENZIMATICA DE BAJPAI Y REU β .	107
A. Variación de la concentración inicial de sustrato.	109
B. Variación del tiempo de residencia.	119
C. Estrategia de alimentación de sustrato.	126
D. Efecto del cambio en el tiempo de residencia.	136
E. Estrategia de alimentación de oxígeno.	143
F. Efecto conjunto de aumento de la concentración inicial de sustrato y disminución de oxígeno simultáneamente.	147
G. Efecto conjunto de disminución de la concentración de oxígeno y de la variación del tiempo de residencia simultáneamente.	149
H. Efecto global de alimentación de sustrato, variación de tiempo de residencia y disminución de oxígeno simultáneamente.	151
I. Variación de la concentración inicial de biomasa.	152
J. Comparación de los métodos numéricos.	155

	Pag.
4. CONCLUSIONES	157
5. BIBLIOGRAFIA	163
6. APENDICE A	166
A. METODO DE RUNGE-KUTTA	167
A1. Diagrama de flujo	168
A2. Programa en Fortran 77	170
B. METODO DE MICHELSEN (SIRJO)	173
B1. Diagrama de flujo	174
B2. Programa en Fortran 77	183
7. NOMENCLATURA	190

1. INTRODUCCION

I N T R O D U C C I O N

Debido al constante desarrollo de la Biotecnología, ésta ha incorporado toda la información existente de la Ingeniería Química para un mejor entendimiento de los procesos inherentes a dicha área.

Uno de los equipos centrales para los procesos biológicos es el reactor o fermentador en donde se efectúa la transformación bioquímica. Los procesos involucrados contienen un alto grado de información secreta, de patentes y que por la naturaleza de los productos, que son de bajo volumen de producción y alto valor agregado, se realizan por lotes. Uno de los productos que se obtienen por vía fermentativa es la penicilina en cualquiera de sus variedades, proceso del cual se tiene información disponible ya que ha sido estudiado extensivamente por ser un antibiótico de uso frecuente por su efectividad.

Industrialmente la producción se efectúa por lotes, debido a que desde el descubrimiento de la penicilina el proceso se desarrolló de esta manera para tener una aceptoría adecuada y evitar una posible contaminación, se dispone también del equipo requerido como son fermentadores de gran volumen para poder obtener la producción que se demanda. Además siguiendo la estructura de las ecuaciones cinéticas microbianas (tipo Monod), estas dependen directamente de la

concentración del reactivo (sustrato), que además funciona como inhibidor ya que aparece en el denominador de la ecuación; por lo que los reactores por lotes no funcionan a la velocidad de reacción óptima.

Basándose en la información existente para procesos fermentativos, es posible transformar un proceso en lotes a un proceso semicontinuo o continuo, y para lograrlo es conveniente realizar, como primer paso, la simulación del comportamiento de dicho sistema para conocer el efecto de las variables que controlan al proceso. Debido a la complejidad del sistema y a que la tecnología y el proceso fueron desarrollados por lotes, pretender usar un sistema continuo es poco usual y reciente. Sin embargo, tiene la ventaja de considerar la posibilidad de usar fermentadores de menor tamaño y optimizar la producción de penicilina mediante diferentes estrategias de operación, que pueden simularse adecuadamente modificando las variables de control del proceso.

El presente trabajo tiene como objetivo:

- Analizar el comportamiento dinámico de un fermentador continuo para la producción de penicilina, empleando como base un reactor de tanque agitado.

- Comparar los resultados obtenidos empleando diferentes

modelos cinéticos reportados en la literatura y que de antemano se sabe que son confiables. Esta comparación nos dá como resultado un mejor entendimiento y dominio del sistema y así podrá determinarse, con un criterio más amplio, cual es la mejor cinética que describe el proceso de producción de penicilina y cómo modificar satisfactoriamente las variables que controlan dicho sistema.

Dada la naturaleza de las ecuaciones diferenciales resultantes de los balances de materia, que involucran expresiones de reacción complejas, se analizan los resultados empleando para la resolución de éstas el modelo explícito de Runge-Kutta de 4^o orden y un modelo semiimplícito desarrollado por Michelsen.

El comportamiento del reactor es estudiado variando tiempo de residencia, concentración de sustrato y de oxígeno; analizando el efecto de estas variables y la manera de modificarlas para obtener el mejor rendimiento y el mejor funcionamiento.

2. GENERALIDADES

2.1 PROCESOS DE FERMENTACION

FERMENTACION

El hombre ha utilizado los métodos biológicos para producir y conservar sus alimentos, obtener productos para mejorar su salud como antibióticos y vitaminas o procurar algún gusto como saborizantes, bebidas alcohólicas entre otros.

Luis Pasteur (1822-1895), estableció los principios de la microbiología industrial cuando a mediados del siglo pasado demostró que la fermentación alcohólica era producida por levaduras y desde ese momento, hasta la Segunda Guerra Mundial, fueron desarrollados muchos procesos industriales debido a la necesidad de producir antibióticos. Durante esta época todos estos procesos fueron más rápidos y eficientes.

El rompimiento de nutrientes para obtener energía es llamado catabolismo, muchas reacciones catabólicas ocurren bajo condiciones anaerobias (en ausencia de oxígeno). Antiguamente, los mecanismos de reacciones biológicas para extraer energía en condiciones anaerobias, eran llamadas fermentaciones. Hoy en día estos procesos indistintamente si son aerobios (en presencia de oxígeno) o anaerobios son llamados fermentaciones, lo importante es encausar estas reacciones biológicas para la obtención de algún producto o materia prima de interés comercial, cuya naturaleza es muy

variable. Estos productos pueden ser: alcoholes, ácidos, antibióticos, aminoácidos, colorantes, enzimas, entre otros.

En la tabla 1. se muestran ejemplos de algunas fermentaciones que son realizadas a nivel comercial.

TABLA 1. FERMENTACIONES

MICROORGANISMO	PRODUCTO	EJEMPLO DEL PRODUCTO	USO
<i>Penicillium citrinum</i>	ENZIMAS	Fosfodiesterasa	Hidrólisis de ácido ribonucleico RNA
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	ENZIMAS	Celulosa	Hidrólisis de celulosa (1)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ALCOHOL	Etanol	Farmacéutico bebidas (2)
<i>Lactobacillus delbrukii</i>	ACIDOS	Acido láctico	Yogurt, leche fermentada (3)
<i>Acetobacter acetii</i>	ACIDOS	Acido acético	Alimentos como conservador (4)
<i>Clostridium thermoaceticum</i>	ACIDOS	Acido acético	Alimentos como conservador (4)
<i>Penicillium chrysigenum</i>	ANTIBIOTICOS	Penicilina V Penicilina G	Farmacéuticos (5)
<i>Streptomyces averofaciens</i>	ANTIBIOTICOS	Eritromicina	Farmacéuticos
<i>Penicillium griseofulvum</i>	ANTIBIOTICOS	Griseofulvin	Farmacéuticos
<i>Neurospora crassa</i>	COLORANTES	β -caroteno	Color zanahoria, precursor de vitamina A.
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	AMINOACIDOS	Acido glutámico	Alimentos balanceados, uso farmacéutico.

En un proceso de fermentación (s) no solo son reacciones bioquímicas el factor más importante, lo es también el procedimiento que se efectúa antes y después de la fermentación y las características físicas y de operación del recipiente donde se lleva a cabo; este recipiente es un fermentador. La figura 1 muestra el diagrama de flujo de una fermentación.

En este diagrama se distinguen 3 etapas del proceso:

- a) Etapa de laboratorio
- b) Etapa del proceso de fermentación
- c) Etapa de extracción.

Estas 3 etapas siempre deberán considerarse con la misma importancia en un proceso.

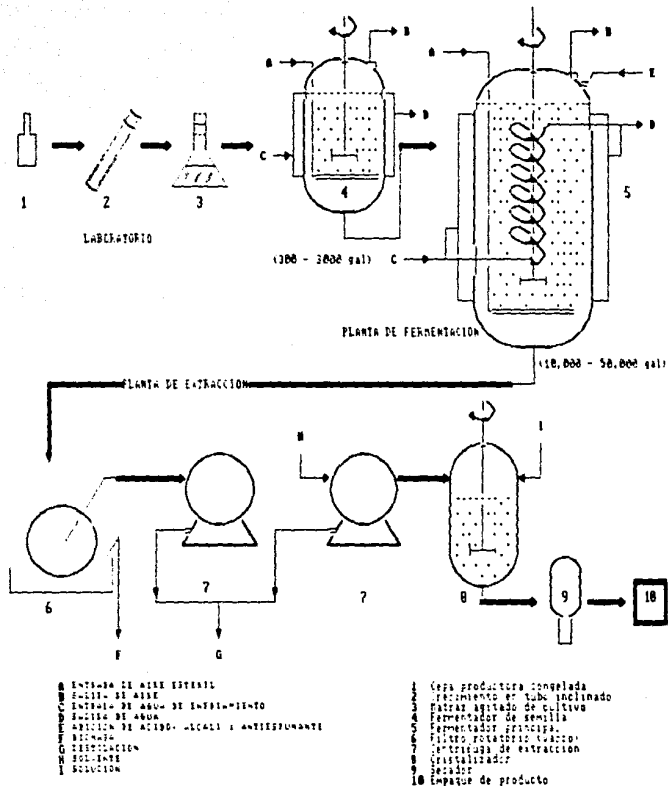


FIGURA 1 - DIAGRAMA DE FLUJO DE UN PROCESO TÍPICO DE FERMENTACION.

PROCESO DE FERMENTACION

En la misma forma que los seres vivos, los microorganismos crecen, se reproducen y segregan algunos compuestos bioquímicos de importancia para el hombre. El siguiente esquema muestra este proceso.

Microorganismos + Nutrientes + ambientales $\xrightarrow{\text{condiciones adecuadas.}}$

Microorganismos + CO₂ + Productos (intra y extra celulares)

MICROORGANISMOS: Para que una fermentación se efectúe es necesario tener un microorganismo con determinadas características para obtener el producto requerido. Estos microorganismos pueden ser: bacterias, levaduras, hongos, tejido celular, etc.

BIOMASA: Son los microorganismos obtenidos a partir de la reproducción del inóculo.

SUSTRATO: Son los elementos nutrientes que se utilizan con fines de alimentación de los microorganismos, como fuentes de materia y energía proveen un medio de cultivo adecuado en proporciones y cantidades óptimas. Algunos nutrientes son: C, H, O, N, S, P, metales, vitaminas.

CONDICIONES AMBIENTALES: Se debe establecer y controlar el medio ambiente y las condiciones fisicoquímicas necesarias para el desarrollo de la fermentación. Algunas condiciones importantes que deben ser controladas son: pH, Temperatura, ...viscosidad, oxígeno disuelto, etc.

Un factor muy importante en el proceso de fermentación es una adecuada reproducción microbiana, la cual a pesar de ser un fenómeno natural, su descripción en términos cuantitativos y cualitativos es muy compleja.

Para poder tener un crecimiento microbiano, se deben cumplir ciertos requisitos tanto biológicos como fisicoquímicos, y el manejo de estos factores encierran parte de la complejidad mencionada.

CRECIMIENTO Y METABOLISMO DE LOS MICROORGANISMOS

Los microorganismos requieren para su crecimiento, de una fuente de energía y de una fuente de materia. En la mayoría de las fermentaciones industriales la fuente de energía y de materia es la misma, por ejemplo glucosa, pero es necesario que el sustrato contenga todos los elementos constitutivos de la masa celular, en las proporciones requeridas por la composición interna del organismo.

Una vez que se proveen los nutrientes necesarios y el microorganismo, las células empiezan a crecer y/o a producir algunos metabolitos de interés. En esta forma se empieza a desarrollar el metabolismo del microorganismo, esto es, la transformación de nutrientes en células y/o productos.

La glucosa tiene una doble función, de generador de energía y como material de construcción celular. Un punto de gran interés es la conversión de sustrato a biomasa, pues controla la cantidad de oxígeno requerida, la producción de calor y el rendimiento, aunque éste último depende también de las condiciones ambientales.

FASES DEL CRECIMIENTO. (a)

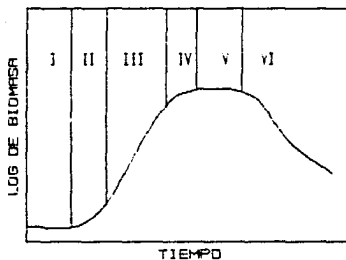
En un sistema microbiano se deben tener las mismas condiciones de temperatura, pH, concentración de sustrato, etc.

Al efectuarse el crecimiento se reflejan diferentes fases que ocurren en el sistema las cuales son resultado de cambios en la biomasa y en el medio ambiente (figura 2).

Después de un período de acondicionamiento (período lag), como el que se muestra en la zona I, el crecimiento ocurre a la misma rapidéz y se detiene (zonas II y III), esto es por carencia de sustrato, por inhibición o por algún cambio físicoquímico.

Una vez que la biomasa alcanza un máximo, (zona IV), se establece un estado estacionario, como el de la zona V, en el cual la biomasa permanece constante, disminuyendo posteriormente como consecuencia del metabolismo de mantenimiento, como se ve en la zona VI.

La duración de la fase exponencial, (zona III), depende de la concentración inicial del sustrato limitante, esto significa que la biomasa pasa de un sistema con exceso de sustrato a otro con carencia del mismo, pues ya fué consumido. Esto ocurre cuando se trata de una fermentación en lotes.



I Acondicionamiento IV Desaceleración
 II Aceleración del crecimiento V Estacionario
 III Crecimiento exponencial VI Declinación

FIGURA 2. Curva de crecimiento en lotes con 6 fases.

CONSIDERACIONES PARA LAS CINÉTICAS DE CRECIMIENTO CELULAR.

El crecimiento celular en un cultivo en lotes donde el sustrato suministrado es limitante, puede expresarse en términos de concentración de biomasa X, concentración de sustrato S, y concentración de un inhibidor I. También deben ser consideradas las condiciones de temperatura, fuerza iónica y pH que son establecidas al principio de la fermentación y es muy probable que varíen durante el transcurso de la misma, a no ser que se controlen externamente; lo anterior puede afectar en gran medida al crecimiento celular.

La expresión general para crecimiento celular es:

$$\frac{dX}{dt} = f(X, S, I, T, pH, \dots \text{etc}) \quad (1)$$

Se han propuesto varios modelos para crecimiento celular basándose en esta expresión. Uno de ellos es el de Monod.

ECUACION DE MONOD PARA EL CRECIMIENTO.

Cuando el crecimiento de un cultivo en lotes está limitado por la cantidad inicial de sustrato (S_0), la curva de crecimiento puede expresarse en términos de los parámetros de crecimiento. La ecuación de Monod describe la relación

entre la velocidad específica de crecimiento μ y la concentración del nutriente limitante (S) en un cultivo.

Modelo de Monod:
$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2)$$

donde:
$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \quad (3)$$

y:
$$X - X_0 = Y(S_0 - S) \quad (4)$$

donde Y es el rendimiento celular por unidad de sustrato, X_0 y S_0 son la concentración inicial de biomasa y sustrato respectivamente. Sustituyendo (4) en (3), para poner μ en función de X y finalmente sustituyendo en (2) tenemos:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} (YS_0 + X_0 - X)X}{K_s Y + S_0 Y + X_0 - X} \quad (5)$$

La figura 3 representa la ecuación (3) donde μ se gráfica en función de la concentración de sustrato. El valor de K_s se obtiene cuando $\mu = 0.5\mu_{\max}$.

donde: $\frac{dX}{dt}$ = velocidad de crecimiento celular

μ = velocidad específica de crecimiento la cual se mantiene constante en la fase exponencial, cuando es proporcional a la masa de células presentes.

La velocidad específica de crecimiento está en relación con el tiempo de duplicación t_d , y la ecuación (2) se integra entre los límites X y 2X.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0.693}{\mu} \quad (6)$$

$$\mu = \frac{0.693}{t_d} \quad (7)$$

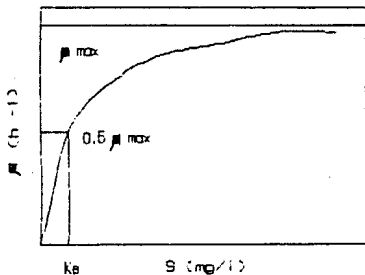


FIGURA 3. Representación de la ecuación de Monod.

Otro modelo establecido es el de crecimiento lineal, que ocurre cuando existen limitaciones debidas a velocidades de difusión o transferencia de masa. Cuando se trata de organismos filamentosos y dependiendo si crecen en forma de micelio o pastillas los modelos son diferentes. Estos modelos han sido representados por Righeirato m.

CINETICA DE FERMENTACIONES.

Para entender el comportamiento de cualquier fermentación es necesario realizar un estudio cinético, el cual consiste en medir o estimar las velocidades de síntesis de biomasa, de formación de productos y de los efectos del medio ambiente.

Las fermentaciones en lotes, han sido clasificadas por varios autores siguiendo criterios diferentes. Gaden m. realizó una clasificación considerando una relación entre la formación de productos con el consumo de sustratos, como se muestra en la tabla 2.

TABLA 2. TIPOS DE PROCESOS DE FERMENTACION DE ACUERDO CON CALDEN *et al.*

TIPO	RELACIONES ESPECIFICAS DE VELOCIDAD	EJEMPLOS
I	Formación del producto directamente relacionado con la utilización del carbohidrato.	Etanol.
II	Formación del producto indirectamente relacionado con la utilización del carbohidrato.	Acido cítrico
III	Formación del producto aparentemente no relacionado con la utilización del carbohidrato.	Penicilina

TIPO I.

La figura 4 muestra las características del tipo I. Las curvas A, B, C, son muy similares en forma y pendiente. Tanto la síntesis de alcohol como el consumo de azúcar siguen curvas muy semejantes, cuyos máximos causan un periodo de retraso respecto a la curva de crecimiento.

TIPO II.

En este caso la producción de ácido cítrico está asociada al consumo de azúcar en forma indirecta (figura 5). La curva de producción de ácido y la de consumo de azúcar indican un desfase entre los máximos no coinciden en su posición relativa respecto al tiempo).

TIPO III.

La figura 6 es un ejemplo de la producción de penicilina en la que la formación del producto ocurre en la fase estacionaria. A este tipo de productos que aparecen en la fase que sigue a la del crecimiento, se les denomina metabolitos secundarios.

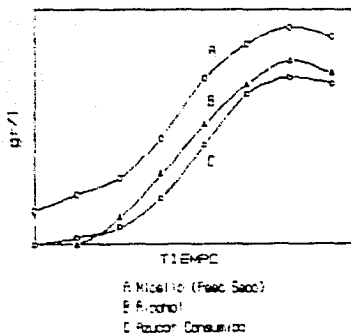


FIGURA 4. Fermentación alcohólica (TIPO I)

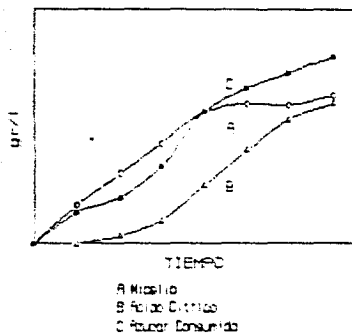


FIGURA 5. Producción de ácido cítrico (TIPD II)

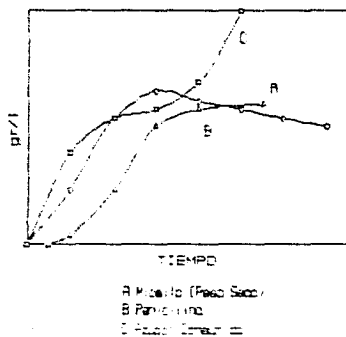


FIGURA 6. Producción de Penicilina TIPD (III).

PRODUCTOS DE INTERES DE LA FERMENTACION

Dada la gran cantidad de microorganismos utilizados en las fermentaciones es muy difícil enumerar y analizar todos los productos obtenidos por fermentación, por esta razón, sólo se indican los principales productos basándose en la estructura química y en el uso práctico.

Los productos de la fermentación se relacionan con las siguientes áreas:

- a) Alimentaria: Proteína, saborizantes, aminoácidos.
- b) Farmacéutica: Antibióticos, vitaminas, esteroides.
- c) Química: Solventes, ácidos orgánicos, enzimas.
- d) Contaminación ambiental: tratamiento de aguas y residuos tóxicos.
- e) Otros en que interaccionan indirectamente: Agricultura, ganadería, promotores del crecimiento, insecticidas biológicos, medicina. La tabla 3 muestra los principales productos obtenidos por fermentaciones a nivel industrial.

TABLA 3. PRODUCTOS OBTENIDOS POR FERMENTACION (a)

ACIDOS ORGANICOS	AMINOACIDOS	ALCOHOLES Y SOLVENTES
Acido acético	Glutamato de sodio	Acetona
Acido cítrico	L-lisina	Butanol
Acido fumarico	DL-alionina	2,3Butanediol
Acido glucónico	L-triptofano	Etanol
Acido láctico	L-valina	Glicerol
ANTIBIOTICOS	ESTEROIDES	PROTEINA CELULAR
Bacitracina	Cortisona	Alga
Estreptomicina	Hidro cortisona	Bacteria
Neomicina	Pseudomonas	Levadura
Penicilina	Testosterona	Mongoas
Tetraciclina	Triamcinolona	
VITAMINAS	OTROS	
Acido ascórbico	Alcaloides	
Cianocobalamina	Enzimas	
β -caroteno	Insecticidas biológicos	
Riboflavina	Melano	
	Nucleótidos (potenciadores de sabor)	
	Poliácridos	

CONSIDERACIONES PARA LA FORMACION DE PRODUCTO.

Para la formación de productos a partir de un proceso microbiano es necesario optimizar 3 aspectos:

- 1) El rendimiento del producto por gramo de sustrato.
- 2) Concentración del producto.
- 3) Velocidad de formación del producto.

Normalmente el metabolismo está ajustado para producir solo el mínimo necesario de metabolitos. El éxito de una fermentación consiste en interferir en la regulación metabólica y provocar una sobreproducción del compuesto deseado.

Los pasos principales para desarrollar un proceso de fermentación son:

1. Seleccionar una cepa microbiana
2. Determinar los valores óptimos de temperatura, pH, concentración de oxígeno.
3. Determinar los requisitos óptimos nutricionales y la concentración celular.
4. Modificar la estructura genética del microorganismo para aumentar la formación de productos.

MODELOS PARA LA FORMACION DE PRODUCTOS.

Se han propuesto muchos modelos para la producción de diferentes metabolitos. Dichos modelos son:

- a) Modelo asociado con el crecimiento
- b) Modelo no asociado con el crecimiento
- c) Modelo combinado
- d) Modelo que incluye distribución de edad.

Cuando el sustrato se convierte en un solo producto P, la tasa de formación está en relación con la velocidad de crecimiento por:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} \quad (8)$$

donde α = constante estequiométrica. Este es llamado modelo asociado con crecimiento.

En los casos en que la formación del producto es independiente de la velocidad de crecimiento.

$$\frac{dP}{dt} = \beta X \quad (9)$$

donde β = constante de proporcionalidad. La constante β es similar a la actividad enzimática (la célula tiene un sistema enzimático constitutivo que controla la velocidad de formación del producto por masa de biomasa).

El modelo combinado propone expresar la producción como la suma de ambas ecuaciones:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (10)$$

$$\nu = \frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \alpha \mu + \beta \quad (11)$$

donde ν = tasa específica de formación de producto.

Se han elaborado otros modelos , en los cuales α y β son variables y están en función de las condiciones ambientales como: temperatura, pH, oxígeno disuelto, velocidad de alimentación de sustrato, etc.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA

La temperatura afecta el crecimiento notablemente, porque los microorganismos de una especie dada sólo pueden crecer en un rango restringido de temperatura, si este rango no se respeta los microorganismos no solo dejan de crecer, sino pueden morir.

EFEECTO DEL pH

El pH tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento. Cada microorganismo requiere de un determinado pH llamado pH óptimo, el cual, al igual que con la temperatura, debe ser respetado pues de otra manera los microorganismos no se reproducen y mueren.

EFEECTO DE NUTRIENTES

El medio de cultivo debe contener todos los nutrientes necesarios para el adecuado crecimiento microbiano. El oxígeno es muy importante, pues permite una selección tanto de microorganismos como de productos del metabolismo (si la

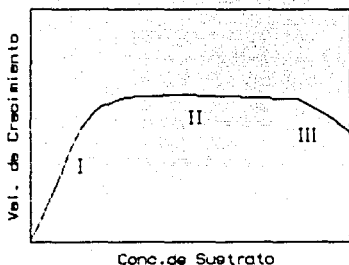
fermentación es anaeróbica la mayor parte del carbono se emplea como energía y el resto como biomasa.)

Al iniciar una fermentación es factible dirigirla y mejorarla en el sentido que se desee aumentando el rendimiento, excluyendo selectivamente ciertos productos y esto se logra con el manejo de todas estas variables mencionadas.

INHIBICION POR SUSTRATO

Las sustancias químicas que disminuyen la velocidad de crecimiento de biomasa, y que se encuentran en concentraciones apropiadas se llaman inhibidores (o). Las sustancias que ocasionan la muerte de las células se llaman toxinas.

La acción del inhibidor depende principalmente de la concentración, de esta forma sustancias que actúan como sustratos para el crecimiento, se convierten en inhibidores a altas concentraciones, como se muestra en la figura 7.



- I Concentración que estimula el crecimiento
- II Concentración que no limita la velocidad
- III Concentración que inhibe el crecimiento

FIGURA 7. Efecto de la Concentración de Sustrato.

PROCESO CONTINUO.

Antes de la Segunda Guerra Mundial existían deficiencias en el equipo usado y un mal entendimiento de la cinética de crecimiento. La contaminación en fermentaciones largas era usual y los regímenes permanentes no se lograban.

Gracias al estudio de las cinéticas de crecimiento y producción, las técnicas de cultivo continuo se han desarrollado notablemente.

Existen 2 formas básicas de cultivo continuo:

- a) Cultivo de flujo tapón: donde el cultivo viaja sin mezclarse a través de un tubo o canal. Este sistema simula un cultivo por lotes y no ofrece ventajas de control ambiental diferentes de las aplicadas a este tipo de cultivo.
- b) Cultivo en un tanque agitado: el cual contiene una suspensión de biomasa perfectamente mezclada, a la que se alimenta el sustrato a flujo constante; el producto es extraído a la misma velocidad de modo que el volumen permanezca constante. En este sistema es factible controlar la velocidad específica de crecimiento entre cero y un valor máximo.

VARIABLES IMPORTANTES EN UN CULTIVO CONTINUO

Las variables que deben ser consideradas en un cultivo continuo se muestran en la tabla 4.

TABLA 4 VARIABLES IMPORTANTES EN UN CULTIVO CONTINUO (a)

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
TIEMPO (t)	TASAS METABOLICAS (Q)
CONCENTRACION DE SUSTRATO (S)	CONCENTRACION CELULAR (X)
pH	COMPOSICION CELULAR
TEMPERATURA (T)	VELOCIDADES DE MUTACION
AERACION-AGITACION ($k_L a$)	PATRONES METABOLICOS
INHIBIDORES (I)	VELOCIDAD DE CRECIMIENTO (μ)
INDUCTORES DE ENZIMAS	CONCENTRACION DE PRODUCTO (P)
AGENTES MUTAGENICOS	SUSTRATO LIMITANTE

VELOCIDAD ESPECIFICA DE CRECIMIENTO EN CULTIVOS CONTINUOS

El cultivo está muy relacionado con la cinética de crecimiento, puesto que utiliza la correlación entre actividad metabólica y disponibilidad de sustrato. Al controlar el suministro de sustrato es posible fijar las condiciones de biosíntesis, metabolismo y regulación de la célula. La ecuación de Monod que describe esta situación es:

$$\frac{X}{X_0} = e^{\mu t} \quad (12)$$

La ecuación se cumple cuando la célula está en presencia de un exceso de sustrato, las células están creciendo y no hay inhibidores presentes.

El aumento en la biomasa está dado por el balance de biomasa siguiente:

$$\text{Acumulación} = \text{Crecimiento} - \text{Salida} \quad (13)$$

Para un intervalo infinitesimal de tiempo, dt , el balance para todo el cultivo es:

$$V dX = V \mu X dt - FX dt \quad (14)$$

El balance para el sustrato limitante es:

$$\text{Acumulación} = \text{Entrada} - \text{Salida} - \text{Consumo} \quad (15)$$

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - \frac{1}{Y} \mu X \quad (16)$$

$$\frac{dX}{dt} = -Y \frac{dS}{dt} \quad (17)$$

$$Y = \frac{\text{Peso de Células Formadas}}{\text{Peso de Sustrato Consumido}} \quad (18)$$

donde: V = volumen

F = flujo volumétrico

D = F / V tasa de dilución

Y = constante de conversión o rendimiento

en el estado estacionario se obtiene:

$$S = \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D} \quad (19)$$

$$X = Y \left[S_0 - \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D} \right] \quad (20)$$

VENTAJAS DEL CULTIVO CONTINUO.

A diferencia de los procesos en lotes, en donde no es posible controlar las reacciones debido a que la concentración de sustrato S, es función del tiempo, en el cultivo continuo:

- La velocidad específica de crecimiento μ puede establecerse (dentro de los límites del organismo) de acuerdo con las necesidades del experimento. Se puede seleccionar un estado de actividad metabólico particular y el control de éste.

- Se pueden obtener células en un estado definido independientemente del tiempo.

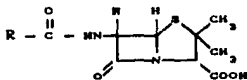
- Con equipo de laboratorio se pueden producir, comparativamente, grandes cantidades de material celular definido.

2.2 PRODUCCION DE PENICILINA.

Los productos de fermentación generalmente se hacen en procesos por lotes, pero usualmente son de bajo volumen y alto costo. Los procesos en lotes también se usan cuando se desconoce la química del producto por lo que moverse entre un proceso en lotes y uno continuo no es fácil.




Un producto que se obtiene de un proceso por lotes es la penicilina, originalmente descubierta por Alexander Fleming (1881-1955), en un hongo de pan *Penicillium notatum* en 1929, la cual resulto capaz de matar un gran rango de bacterias. El hongo fué usado pero con una producción muy baja. Esta cepa fué comparada contra otra de *Penicillium chrysogenum*, con la que se obtuvo un mejor resultado pues fué un productor superior y actualmente es la cepa más usada.

La penicilina es una familia completa de compuestos que ocurren naturalmente y otros en forma sintética su fórmula general es:



Los compuestos individuales de penicilina tienen distintos grupos en la posición R como se muestra en la tabla 5.

TABLA 5. TIPOS DE PENICILINA (5)

GRUPO R	NOMBRE QUIMICO	NOMBRE TRIVIAL
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{ = CH-CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(2-Mexanomida)	Penicilina F
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(Hexanomida)	Dihidropenicilina
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(Heptamida)	Penicilina K
 - O - $\text{CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(Fenoximasil)	Penicilina V
 - $\text{CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(fenilacetamida)	Penicilina G
 - $\text{CH}_2\text{-}$	Penicilina G-(p-Hidroxy-fenilacetamida)	Penicilina X

U = unidades internacionales de benzilpenicilina.
 MU = 1E-6 U equivalentes a (0.887 gr)
 1 mol de penicilina G = 0.884 billones de unidades de penicilina.

Los diferentes tipos de penicilina tienen propiedades particulares como antibióticos y se forman en varias concentraciones debido a la acción particular de algún nutriente a las condiciones particulares de temperatura y pH.

Aunque estas moléculas no son muy complejas no es fácil sintetizarlas en el laboratorio, debido a que la formación artificial del anillo principal presenta dificultades. Se han obtenido un gran número de penicilinas sintéticas y el costo a gran escala es prohibitivo. Por esta razón, muchas

penicilinas de uso clinico son hechas por fermentaciones por lotes a gran escala.

CONDICIONES DE FERMENTACION.

Para que exista una buena producción se encontró que debe utilizarse una fuente de carbono, la cual puede ser lactosa, glucosa o sacarosa; una fuente de nitrógeno, que es tomada de algunos aceites extraídos de la semilla de algodón, cacahuate o soya. Se encontró que el licor de maíz funciona como un gran suministro de nitrógeno y contiene fenilalanina y fenilalanina que actua como precursor de la formación de bencilpenicilina. Asimismo otro nutriente importante son las sales minerales, lactato y acetato de amonio.

La aereación y agitación son fundamentales para el proceso y la teoría de transferencia de oxígeno se debe aplicar, pues el oxígeno es uno de los parámetros importantes porque regula el nivel de producción de penicilina.

La temperatura de incubación y de proceso debe ser regulada ya que ocurre de $33^{\circ}\text{C} \pm 37^{\circ}\text{C}$.

La penicilina G (Figura B) es una de las más producidas actualmente y por lo tanto, la más importante. Se ha encontrado que si se adiciona al proceso ácido fenilacético y fenilacetazida la producción de esta penicilina aumenta.

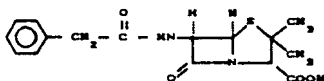


FIGURA 8. REPRESENTACION DE LA MOLECULA DE PENICILINA G

Otra penicilina que es muy usada es la penicilina V (Figura 9), la cual se prepara agregando a la fermentación ácido fenoxicético.

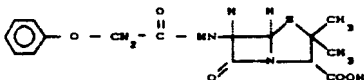


FIGURA 9. REPRESENTACION DE LA MOLECULA DE PENICILINA V

Estas penicilinas tienen buenos atributos. El primero es que por su gran estabilidad a los ácidos pueden ser administradas oralmente; en segundo lugar, bajan el índice de alergia ya que el 8% de la gente la presenta y en tercer lugar presenta resistencia a la actividad enzimática de la penicilinasa encontrada en muchas bacterias.

PROCESO DE PRODUCCION.

El proceso de producción de penicilina us) empieza con el desarrollo de un medio de cultivo para el microorganismo que la genera. Esto se hace inicialmente en tubos de cultivo o tubos de ensayo con el hongo creciendo en la superficie de la mezcla de nutrientes. El hongo que crece puede mantenerse congelado por varios años hasta que se necesite el inculo.

Este hongo se transfiere a grandes recipientes que contienen el mismo medio de cultivo. El crecimiento continúa a través de varios pasos hasta que el hongo se encuentra en suficiente cantidad para empezar la producción. Este proceso se muestra en la figura 10.

Las 4 primeras unidades del desarrollo de laboratorio son principalmente para la purificación del hongo y poder introducirlo al proceso. En las primeras tres se usa equipo de vidrio y una incubadora con agitación a temperatura constante. En la última unidad se usa un fermentador sellado donde el micelio del hongo crece y aquí se produce muy poca penicilina.

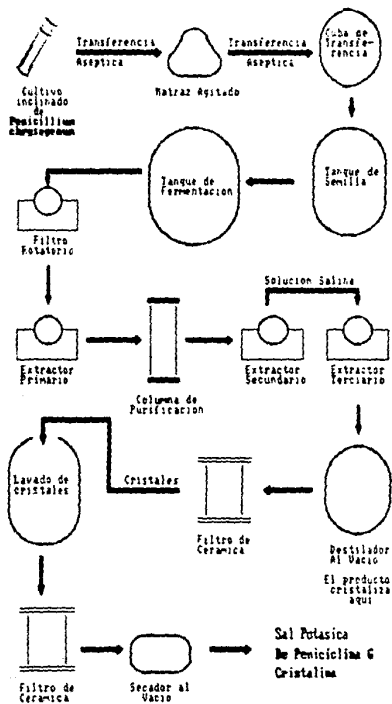


FIGURA 1.60. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE FERMENTACION DE PENICILINA G.

En el fermentador se inyecta aire violentamente agitando la mezcla que contiene el cultivo formado anteriormente, y que contiene también jarabe de maíz, lactosa, sales minerales. Los productos obtenidos de este fermentador alimentan a un gran fermentador después de un día de operación, este fermentador a veces de 50,000 galones de volumen se agita con un motor de 700 HP., agregando jarabe de maíz, lactosa, y sales minerales. El primer día de cultivo se usa para llegar a la concentración del hongo en la cual empieza a generar la producción.

Cuando el precursor de la penicilina está alterado se tiene penicilina G, en el caso de usar ácido fenilacético y si el precursor que se usa es ácido fenoxiacético se forma penicilina V.

La penicilina se forma en el fermentador durante los siguientes 3 a 7 días. La figura 11 muestra como es el crecimiento del hongo durante el primer día y como aumenta la concentración de penicilina durante los próximos 3 días, disminuyendo el contenido de azúcares de la mezcla y aumentando el pH.

Esto ocurre en un proceso en lotes. Si el proceso es continuo existen algunas modificaciones en el comportamiento de las curvas.

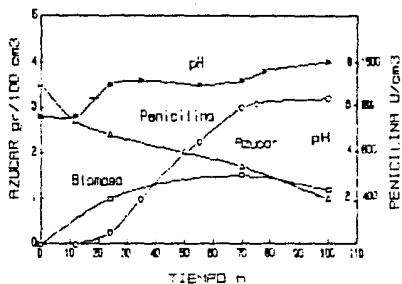


FIGURA 11. Fermentación Típica de Penicilina en Lotes.

De 3 a 5 fermentadores pueden ser alimentados del fermentador semilla. Cuando la fermentación se completa la mezcla se alimenta a un filtro rotatorio al vacío donde el micelio se quita del medio de cultivo, el líquido se enfría a 40°F con un enfriador y se manda al tanque de almacenamiento, en este punto el proceso ha operado completamente en lotes y de aquí en adelante se usa un sistema semicontinuo.

Acido y solvente (amilacetato), se añaden a la mezcla fría y el solvente colecta la penicilina, este se separa del

medio de cultivo en la centrifuga. El medio de cultivo se extrae por segunda vez con un disolvente para quitar residuos de penicilina. Este segundo proceso por lotes de solvente se usa en el primer contacto con más medio de cultivo fresco. El medio de cultivo sin penicilina se manda a la unidad de destilación para quitar toda traza de solvente. La mezcla solvente penicilina de la primera extracción se alimenta a un tanque mezclado donde se añade agua y álcali, en este medio básico, $\text{pH} > 7$, la penicilina es más soluble en agua que en el solvente. Otra vez las dos fases estan intimamente mezcladas y son separadas por centrifugación. El solvente se manda a una unidad recolectora donde se purifica para reutilizarlo.

A la mezcla ácido-penicilina se le añade otra vez ácido y solvente y la penicilina se vá con el solvente; después de la separación de las fases se hace una transferencia final del solvente a agua. Estas transferencias entre agua y solvente purifican la penicilina.

La fase agua penicilina se manda a través de un clarificador de carbón activado donde quita el color, después se vá a un cristalizador donde se usa un agente precipitante para cristalizar la penicilina. Los cristales se colectan en una centrifuga de canasta, el líquido es removido de la centrifuga se recicla a cristalizador y los sólidos se mandan al secador donde se utiliza aire caliente.

Se recogen partículas finas sólidas de esta corriente de aire con un separador de ciclón. Los sólidos obtenidos del secador y del ciclón se empaican en tambores y se venden como penicilina cruda.

Tanto la concentración, la fermentación del medio de cultivo y las condiciones varían de fabricante en fabricante y generalmente se consideran como patentes.

Una planta de fermentación típica usa 5 fermentadores de 50,000 galones cada una y agitación de 700 HP. y 3 compresores de 100,000 ft³/min que suministran el aire. Los procesos de recuperación usan extractores centrifugos continuos al vacío, filtradores al vacío, cristalización continua y secado al vacío.

FERMENTACION CONTINUA

Un gran desarrollo en la técnica de fermentación es la operación continua (12). Hay dos tipos de sistemas continuos que pueden ser adoptados a los procesos de fermentación:

Uno de ellos es el sistema tubular, en donde la masa fermentable tiene que fluir de un extremo a otro del tubo, así las condiciones sucesivas pueden ser reproducidas como fases estacionarias a lo largo del reactor, esto es, tomando incrementos pequeños de longitud y considerarlos como lotes.

El otro sistema es de tanques, donde la masa de fermentación puede ser retirada parcialmente del tanque a la misma velocidad que la masa fresca es alimentada. Con un mezclado perfecto la concentración en el tanque es uniforme y no varía con el tiempo.

El tanque agitado se prefiere al reactor tubular o flujo pistón debido a la naturaleza de la relación cinética en la producción de penicilina. En el reactor de tanque agitado la velocidad de crecimiento no es igual a la velocidad de producción, pero están íntimamente relacionadas. Para un valor de la concentración de sustrato inicial, la producción aumenta si el tiempo de residencia (θ) aumenta, hasta que llega a un valor máximo, si sobrepasa este límite la producción disminuye.

El consumo de sustrato no es función de la concentración del mismo, ya que la mayoría de éste, se utiliza para mantenimiento celular. Un aumento en la concentración inicial de sustrato provoca un aumento en la producción, porque su consumo total es mayor ya que existe más disponibilidad, siendo los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno siempre los mismos para cualquier condición inicial utilizada.

La producción obtenida con un reactor tubular es muy diferente a la obtenida con el reactor de tanque agitado.

Esto se explica por el comportamiento del sustrato en el bulto del reactor tubular, para una concentración de sustrato inicial, una porción significativa del reactor cerca de la entrada se muestra bajo la influencia de una inhibición de producción y crecimiento por exceso de sustrato, a la salida del reactor existe deficiencia del mismo, esto implica que una pequeña porción central del reactor es activa.

Si se aumenta la concentración inicial de sustrato, aumenta la inhibición a la entrada, requiriendo de un tiempo de residencia mayor para reducir los niveles de sustrato y para que la síntesis de producto ocurra. El sustrato adicional es consumido a la entrada, no para producir puesto que existe inhibición, sino para mantenimiento celular y solo una pequeña parte intermedia del reactor sigue funcionando obteniendo una producción un poco mayor, porque el sustrato es utilizado en esta zona para producción más que para mantenimiento. A la salida sigue existiendo deficiencia de sustrato en menor proporción, pero aún así nunca supera a la producción obtenida con el reactor de tanque agitado, puesto que una gran parte del reactor de flujo pistón es desaprovechado.

De aquí que el sistema de tanques es el que mejores resultados da porque puede desarrollarse rápidamente a partir del equipo tradicional de fermentación realizando pequeñas modificaciones en la técnica de operación. En el caso de un

sistema tubular el equipo es tan diferente que hace necesario manejar nuevas técnicas de operación.

En estos procesos en continuo se encuentra que el período de producción máxima de penicilina no coincide con el período de máximo crecimiento y por lo tanto en una operación continua el microorganismo tiende a ser sacado del fermentador porque no va a crecer lo suficientemente rápido para mantener su concentración en la masa fermentable. En la práctica esto se evita poniendo una membrana a la salida impidiendo que la biomasa salga antes de tiempo y facilitando la purificación de la penicilina. Otro método es usar 2 recipientes en serie, el primero para que crezca la biomasa y el segundo, con las condiciones adecuadas para la producción óptima.

2.3 MODELOS CINÉTICOS PARA PRODUCCIÓN DE PENICILINA.

Se han propuesto muchos modelos cinéticos para describir los mecanismos de producción de penicilina.

Dada la complejidad del metabolismo efectuado se desconoce el mecanismo exacto del proceso. Por esta razón todos los modelos son diferentes, conteniendo características y suposiciones que se apegan a los datos experimentales de la investigación que dió lugar a ese modelo.

A continuación se enumeran algunos de los modelos que han sido utilizados frecuentemente por proporcionar buenos resultados o por contener nuevas estrategias que describen en forma más exacta al proceso.

M O D E L O S

1. Modelos basados en la ley logística (13),(14)
 - a) Modelo de Luedeking y Piret (14)
 - b) Modelo de Constantinides (13)
2. Modelos basados en la edad celular (15),(16)
 - a) Modelo de Shu (16)
3. Modelo basado en balances elementales de materia (17)
4. Modelo basado en la cinética enzimática (18),(19),(20)
 - a) Modelo de Bajpai y Reuß (19),(20),(21)

1. MODELO BASADO EN LA LEY LOGISTICA

Este modelo fué desarrollado por Luedeking y Piret (22) y posteriormente Constantinides (23) realizó investigaciones basandose en él.

Es un modelo clásico usado específicamente para describir la producción de metabolitos secundarios. Propone que la velocidad de formación de producto está asociada a 2 fases: crecimiento y no crecimiento.

$$\frac{dP}{dt} = b_1 X + b_2 \frac{dX}{dt} \quad (21)$$

Está basado en la formación de productos como resultado del crecimiento o de reacciones enzimáticas no involucradas con el proceso de crecimiento, o ambos.

A pesar de la simplicidad de estos modelos no son tan fáciles de estudiar, porque no simulan todo el rango de condiciones que se requieren verdaderamente. Por ejemplo, no se considera como influye el descenso de oxígeno en la velocidad de formación de productos. No obstante, representa el crecimiento celular aceptablemente y es llamado ley logística o exponencial, en el cual la velocidad de crecimiento celular es $\frac{dX}{dt}$ y es proporcional a la concentración de biomasa presente en ese momento.

$$\frac{dX}{dt} = K X \quad (22)$$

En la práctica esta relación es una buena aproximación para largos períodos de crecimiento. Cuando el nutriente se agota, se acumulan los metabolitos, y el patrón de crecimiento causa una sobrepoblación, se desvía de la relación logarítmica simple y a esto se le llama fase estacionaria, donde no existe crecimiento neto. Cuando existe esta fase estacionaria aparece la ley logística.

$$\frac{dX}{dt} = b_1 \left[1 - \left(X/b_2 \right) \right] X \quad (23)$$

donde b_1 y b_2 son constantes empíricas. La relación es basada en el concepto de una población limitante, la cual crece hasta el límite b_2 , y la velocidad de crecimiento se aproxima a cero.

Ambas, ley logística y logarítmica pueden ser usadas para representar la relación entre crecimiento celular y formación de producto.

La ecuación para producción de penicilina siguiendo la ley logística es la ecuación (24) donde P representa la concentración de penicilina. Se encontró que el término $b_1 X$ es muy importante pues indica la cantidad de biomasa presente. El término $b_2 \frac{dX}{dt}$ no es necesario puesto que Piret, (22) encontró que la velocidad de producción es independiente de la velocidad de crecimiento.

$$\frac{dP}{dt} = b_3 X + b_4 \frac{dX}{dt} \quad (24)$$

Pirt y Rigeleato (22) demostraron que existe una disminución en la síntesis de penicilina y lo explicaron como un decaimiento del sistema. Con esta información la ecuación debe corregirse añadiendo el término de decaimiento $b_4 P$.

$$\frac{dP}{dt} = b_3 X - b_4 P + b_5 \frac{dX}{dt} \quad (25)$$

En conclusión basándose en las ecuaciones (23) y (25) para el sistema de producción de penicilina se tienen las 2 ecuaciones fundamentales que describen tanto el crecimiento como la producción mediante la ley logística son:

$$\frac{dX}{dt} = b_1 \left[1 - \left(X/b_2 \right) \right] X \quad (23)$$

$$\frac{dP}{dt} = b_3 X - b_4 P \quad (26)$$

Valor de los parámetros (23), (26)

$b_1 = 4.323e-02$	$b_2 = 1.740e-02$	X=conc.de biomasa
$b_3 = 3.931e+00$	$b_4 = 2.181e-02$	P=conc.de producto
		t=tiempo

2. MODELO BASADO EN LA EDAD CELULAR.

Debido a que la producción de penicilina cesa después de cierto tiempo aunque las condiciones sean favorables para la producción, fueron desarrollados modelos que involucran la edad de las células o de las poblaciones. Este modelo es aceptable debido al carácter macroscópico del microorganismo.

La edad celular significa el tiempo transcurrido desde la inyección de la célula.

Para una célula, si la velocidad de formación de producto se expresa por $r_p = F(\theta)$, la velocidad neta de formación de producto a tiempo t debe ser:

$$\frac{dP}{dt} = \int_0^{\infty} C(\theta, t) F(\theta) d\theta \quad (27)$$

donde $C(\theta, t)$ representa una función de densidad de edades de la población al tiempo t .

Shu usó propuso un modelo que consiste de una o más funciones de decaimiento para representar la formación de producto por unidad de peso de la célula.

$$F(\theta) = \sum A_i \exp(-K_i \theta) \quad (28)$$

donde A y K_i son valores positivos.

Para el sistema de producción de penicilina la ecuación de Shu, usó propone una ecuación simple en la cual la velocidad de producción esta en función a la edad del cultivo.

$$\frac{dP}{dt} = k \left[e^{k_1 t} - k_2 e^{-k_2 t} \right] \quad (29)$$

$$t = \text{horas} \quad \frac{dP}{dt} = U \text{ g}^{-1} \text{ células h}^{-1}$$

en donde k , k_1 , k_2 y k_3 son constantes, el término $e^{k_1 t}$ significa el decaimiento de la enzima y el segundo término supone la producción durante las etapas tempranas de crecimiento.

3. MODELO BASADO EN BALANCES ELEMENTALES DE MATERIA

Este modelo es un balance de materia combinando ecuaciones cinéticas simples para un proceso en lotes en la producción de penicilina. La velocidad de consumo de sustrato sigue la ecuación de *Monod* y la velocidad de producción de penicilina se asume que es una función de la velocidad de crecimiento. Este modelo presenta una estricta relación entre la velocidad de crecimiento y la producción de penicilina, la cual se observa comunmente en la fase lag. Por lo tanto, el perfil de alimentación durante la fermentación es de vital importancia, para obtener altos rendimientos.

Básicamente, como se ha visto, la estructura de un proceso de fermentación se constituye de una ecuación de velocidad de conversión de sustrato, una velocidad de producción de biomasa, y una velocidad de conversión a productos. Para obtener estas ecuaciones se realizan balances elementales usando relaciones entre varias velocidades y datos experimentales.

El primer paso consiste en decidir cuales compuestos son relevantes para la fermentación; los compuestos y valores se reportan en la tabla 6.

TABLA 6. COMPONENTES RELEVANTES EN LA FERMENTACION
PENICILINA. (17)

Compuesto	Peso mo- lecular (g)	Entalpia molar de formación (kcal/mol)	Velocidad de conver- sión (mol/h)
Glucosa	180	-303	r_g
Oxígeno	32	0	r_o
CO ₂	44	-94	r_c
Agua	18	-68	r_v
Penicilina	334	-115	r_p
Amoniaco	17	-19	r_n
Acido sulfúrico	98	-194	r_{su}
Acido fosfórico	98	-319	r_{ph}
Acido fenilacético	136	-69	r_{pa}
Acido penicílico	352	-183	r_{po}
Biomasa	24.52	-28.1	r_x

Los elementos que se consideran relevantes en esta investigación son 6 : C, H, N, O, S, P con los cuales se obtiene el siguiente balance de materia.

Con estos datos se obtiene el siguiente balance de materia:

Balance de carbón:

$$6r_g + r_c + r_x + 16 r_p + 8 r_{pa} + 16 r_{po} = 0 \quad (30)$$

Balance de hidrógeno:

$$12 r_g + 2 r_v + 1.64 r_x + 16 r_p + 3 r_n + 2 r_{su} + 3 r_{ph} + 8 r_{pa} + 20 r_{po} = 0 \quad (31)$$

Balance de nitrógeno:

$$0.16 r_x + 2 r_p + r_n + 2 r_{po} = 0 \quad (32)$$

Balance de oxígeno:

$$6 r_s + 1 r_v + 0.52 r_x + 4 r_p + 2 r_c + 2 r_o + 4 r_{su} + 4 r_{ph} + 2 r_{pa} + 5 r_{po} = 0 \quad (33)$$

Balance de azufre:

$$0.0046 r_x + 1 r_p + 1 r_{su} + 1 r_{po} = 0 \quad (34)$$

Balance de fósforo:

$$0.0054 r_x + 1 r_{ph} = 0 \quad (35)$$

Balance de entalpia:

$$-303 r_s - 66 r_v - 26.1 r_x - 115 r_p - 94 r_c - 19 r_n - 194 r_{su} - 319 r_{ph} - 69 r_{pa} - 183 r_{po} + r_M = 0 \quad (36)$$

r_M es la velocidad de producción de calor (kcal/h)

Rearreglando algebraicamente se reportan las siguientes expresiones para la velocidad de conversión de oxígeno r_o , carbono r_c , amonio r_n , ac. sulfurico r_{su} y ac. ortofosfórico r_{ph} .

$$-r_o = -6 r_s - 9 r_{pa} - 1.044 r_x - 18.5 r_p - 18.5 r_n \quad (37)$$

$$r_c = -6 r_s - 8 r_{pa} - r_x - 16 r_p - 16 r_{po} \quad (38)$$

$$r_n = -669 r_s - 955 r_{pa} - 110.1 r_x - 1961 r_p - 1961 r_{po} \quad (39)$$

$$-r_{su} = 0.16 r_x + 2 r_p + 2 r_{po} \quad (40)$$

$$-r_{ph} = 0.0046 r_x + r_p + r_{po} \quad (41)$$

$$-r_{ph} = 0.0054 r_x \quad (42)$$

Las ecuaciones cinéticas muestran que usando esta estructura sólo la concentración de glucosa, penicilina y biomasa son las más importantes.

Balance para glucosa:

$$\frac{d(G C_g)}{dt} = C_g \frac{dG}{dt} + G \frac{dC_g}{dt} = r_g + \phi_g \quad (43)$$

Balance para penicilina:

$$\frac{d(G C_p)}{dt} = C_p \frac{dG}{dt} + G \frac{dC_p}{dt} = r_p \quad (44)$$

Balance para biomasa:

$$\frac{d(G C_x)}{dt} = C_x \frac{dG}{dt} + G \frac{dC_x}{dt} = r_x \quad (45)$$

Donde: G es el peso del caldo (Kg); C_g es la concentración de glucosa (mol/Kg); C_p es la concentración de penicilina (mol/kg); C_x es la concentración de biomasa (mol/Kg); y ϕ_g es el flujo de azúcar dentro del fermentador en (mol/hr).

La suposición, en este modelo, de que el crecimiento y producción de penicilina ocurren simultáneamente, no se muestra, puesto que de acuerdo a los resultados reportados (17), los cuales fueron generados por las ecuaciones del modelo, el crecimiento de biomasa y la formación de producto están aparentemente separadas.

En base a los mismos resultados generados por el modelo existe una pérdida de penicilina respecto a los datos obtenidos experimentalmente.

Por esta razón, el modelo no es confiable pues de ante mano se sabe que el crecimiento de biomasa y la formación de producto están estrictamente relacionados, por lo tanto la aparente separación que es reportada (17) indica que este modelo no es factible de ser utilizado.

4. MODELO BASADO EN CINÉTICA ENZIMÁTICA

Este modelo fue desarrollado por Bajpai y Reuß, y es el único que considera los efectos tanto de la concentración de sustrato como la de oxígeno, en las velocidades de crecimiento celular y formación de producto. La velocidad de producción de penicilina se ha encontrado que se reduce notablemente bajo condiciones de limitación por oxígeno (25), (26). Este modelo da resultados congruentes y muy semejantes a los datos experimentales los cuales fueron obtenidos en condiciones industriales (12).

Preferentemente se aplica la cinética de Contois sobre la de Monod, puesto que a altas concentraciones de células existen limitaciones difusionales, las cuales causan un valor

aparente en la constante cinética de Monod. Por esta razón y por el hecho de que cumple con los resultados experimentales, de un proceso en lotes el modelo (27) queda de la siguiente forma:

$$R_x = \frac{dX}{dt} = U_x \frac{S}{K_s X + S} \frac{D}{K_{op} X + D} X \quad (46)$$

$$R_p = \frac{dP}{dt} = U_p \frac{S}{K_p + S \left(1 + \frac{S}{K_i} \right)} \frac{D}{K_{op} X + D} X \quad (47)$$

$$R_s = - \frac{dS}{dt} = \frac{j}{Y_{x/s}} \frac{dX}{dt} + \frac{j}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} + M_s X \quad (48)$$

$$R_o = - \frac{dO}{dt} = \frac{j}{Y_{x/o}} \frac{dX}{dt} + \frac{j}{Y_{p/o}} \frac{dP}{dt} + M_o X \quad (49)$$

Donde:

R_o velocidad de consumo de oxígeno ($\mu\text{molO}_2/\text{cm}^3/\text{h}$)

R_p velocidad de formación de producto (mg penicilina/ cm^3/h)

R_s velocidad de consumo de sustrato (mg sustrato/ cm^3/h)

R_x velocidad de crecimiento de biomasa (mg célula seca/ cm^3/h)

Los parámetros para las constantes se muestran en la tabla 7.

TABLA 7. PARAMETROS DE LA CINETICA DE BAJPAI Y REUB (27)

PARAMETROS	VALOR	UNIDADES
U _k	0.1	(h ⁻¹)
U _p	4E-3	(mg penicilina/mg célula/h)
K _k	6E-3	(mg sustrato/mg célula seca)
K _p	2E-4	(mg/cm ³)
K _i	0.1	(mg/cm ³)
K _{ox}	1.11E-3 Co ⁸	(μmol O ₂ /mg célula seca)
K _{op}	3E-5	(μmol O ₂ /mg célula seca)
M _s	0.014	(mg sustrato/mg célula/h)
M _o	0.467	(μmol/mg célula/h)
Y _{k/s}	0.45	(mg célula/mg sustrato)
Y _{k/o}	0.04	(mg célula/μmol de O ₂)
Y _{p/s}	1.2	(mg penicilina/mg sustrato)
Y _{p/o}	0.2	(mg penicilina/μmol O ₂)

La solubilidad del oxígeno puro en el sustrato en fase líquida es Co = 1.38 μmol/cm³ (27), (20).

El principal atributo del modelo es la cinética de inhibición por sustrato la cual se asume que debe ser regulada para la formación de producto. Debe subrayarse que este modelo no intenta hacer una hipótesis del mecanismo bioquímico involucrado. Este es un modelo simple para estudiar la limitación del crecimiento y producción de penicilina debido al oxígeno disuelto. Aunque el modelo se ha verificado para fermentaciones en lotes, se ha considerado que puede representar muchas fermentaciones de antibióticos, y ampliarlo para fermentaciones continuas. Los parámetros descritos son una función de la cepa en gran medida y de su morfología.

Debido a que tanto la concentración de sustrato como de oxígeno son los factores limitantes, es recomendable usar algunas estrategias de alimentación dependiendo de las condiciones del sistema (25), (26).

2.4 SIMULACION.

Se ha desarrollado una gran tendencia hacia una mejor aproximación cuantitativa de los problemas de diseño y operación de equipo en la industria química; esto ha sido posible gracias al uso de computadoras para la solución de sistemas complejos de ecuaciones matemáticas.

El modelaje de un proceso puede realizarse tanto a nivel laboratorio, planta piloto y aún a nivel industrial, para ello se requiere del uso de modelos matemáticos.

En esta sección se describirá el método a seguir en la simulación de procesos químicos.

S I M U L A C I O N

El término simulación (28), (30) se refiere a la construcción de una representación simplificada de un proceso o sistema físico con el fin de facilitar su análisis.

Las representaciones matemáticas de los fenómenos naturales son lo que se conoce como Modelos Matemáticos, y se caracterizan por mostrar los efectos de las variables que son significativas para el investigador.

Un modelo matemático no contiene toda la información que el proceso pretende representar. Por ello, para elaborar el modelo se debe seleccionar cuales características del proceso

son más relevantes y capaces de ser representadas. Esto permite una fácil comprensión de los fenómenos que intervienen en el proceso.

PASOS A SEGUIR EN UNA SIMULACION.

Debido al carácter tan complejo de un sistema real, el estudio que se hace para obtener un modelo se divide en 4 etapas:

ETAPA 1. OBSERVACION DEL SISTEMA.

Esta etapa representa la fase experimental del estudio y a partir de los resultados, se plantea una serie de conclusiones que muestran cómo se comporta el sistema.

Si en el sistema real requerido es muy difícil obtener información por el alto costo o dificultad en su desarrollo, se construye un sistema pequeño con las mismas características que el real y se trabaja en él de la misma forma en que trabaja el sistema verdadero pero a escala.

ETAPA 2. ESTABLECIMIENTO DEL MODELO MATEMATICO.

De las conclusiones obtenidas de la etapa anterior se postula el modelo matemático, esto es, una serie de ecuaciones que por lo general son diferenciales o de diferencias. Se pueden establecer varios modelos para el mismo sistema, y cada uno que resuelva problemas particulares

asociados a este.

Existen 2 clasificaciones que constituyen a los modelos:

a) Modelos en estado estacionario

b) Modelos dinámicos

y en cualquier tipo el grado de detalle requerido depende de la cantidad de datos básicos disponibles.

Para elegir un Modelo Matemático se debe considerar la complejidad del modelo y el grado de dificultad que éste requiere para su solución y para ello es preciso considerar los siguientes factores:

a) El orden del modelo o número de funciones independientes requeridas para describir el proceso.

b) El número de parámetros involucrados en el modelo.

c) El número de variables independientes incluidas en el modelo.

ETAPA 3. SOLUCION DEL MODELO MATEMATICO.

La solución del modelo matemático genera información que predice el comportamiento del sistema real. Con esta información se puede conocer el grado de validez del modelo.

Una descripción muy amplia del proceso nos producirá una cantidad muy grande de ecuaciones y aunque éstas puedan ser resueltas, es recomendable usar buenos criterios ingenieriles para reducir las ecuaciones a un sistema menos complejo y obtener como resultado una buena solución semejante a los

datos que lo generaron.

Es importante arreglar las ecuaciones en una secuencia lógica para que el modelo computacional sea estable.

Cuando las ecuaciones son ensambladas existen Métodos Numéricos para resolverlas como un sistema de ecuaciones simultáneas. Este arreglo presenta claramente la secuencia del sistema y muestra la interrelación de variables que no eran tan aparentes durante las etapas anteriores.

ETAPA 4. VERIFICACION Y AJUSTE DEL MODELO.

Los resultados obtenidos en la etapa anterior, se comparan con los datos del sistema real, con los cuales se estableció el sistema (etapa 1).

Una de las corridas debiera ser desarrollada para probar la validéz del modelo y cualquier solución no esperada, debe ser racionalizada para asegurar que no se cometieron errores durante la computación.

Basándose en las 4 etapas anteriores se concluye que un sistema puede simularse por medio de un modelo, el cual resume las partes esenciales del sistema y permite comprender con más profundidad el comportamiento y predecir otro totalmente diferente sin necesidad de realizarlo experimentalmente.

2.5 METODOS NUMERICOS.

Antes de definir y explicar lo que son los métodos numéricos, conviene explicar brevemente lo que son las ecuaciones diferenciales, ya que como se mencionó anteriormente, los Modelos Matemáticos de sistemas dinámicos originan un conjunto de ecuaciones diferenciales.

ECUACIONES DIFERENCIALES

Las ecuaciones diferenciales (20), (21), (22) tienen una importancia fundamental en las aplicaciones, ya que muchas leyes y fenómenos físicos pueden modelarse matemáticamente en la forma de estas ecuaciones relacionando las variables independientes con las variables del sistema, en términos de derivadas o diferenciales.

Una variable de una ecuación diferencial es independiente, si existen una o más derivadas con respecto a esa variable. Y una variable es dependiente cuando existen derivadas de esa variable.

Si en una ecuación diferencial hay una sola variable independiente las derivadas son totales y la ecuación es ordinaria. De la misma forma en un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias la variable independiente es común a todas las ecuaciones. Por el contrario, si aparecen 2 o más variables independientes las derivadas son parciales.

Una ecuación diferencial es lineal si no aparecen potencias de la variable dependiente, por sus derivadas o productos entre derivadas.

El orden de una ecuación diferencial es el de la derivada de mayor orden que aparece en la ecuación, y el grado es el grado algebraico de la derivada de mayor orden que aparece en la ecuación.

Para dar solución a una ecuación diferencial ordinaria de orden n cuya forma general es:

$$F(x, y, y', y'', \dots, y^n) = 0 \quad (50)$$

y se establece que debe aparecer n constantes para la solución.

Gráficamente la solución es una familia de curvas planas, (51) cada una de ellas obtenida para valores particulares de las n constantes como se muestra en la figura 12.

$$G(x, y, c_1, c_2, \dots, c_n) = 0 \quad (51)$$

Cada curva corresponde a una solución particular de la ecuación diferencial (50) y analíticamente la solución se puede obtener evaluando las constantes c_1, c_2, \dots, c_n estableciendo n condiciones independientes.

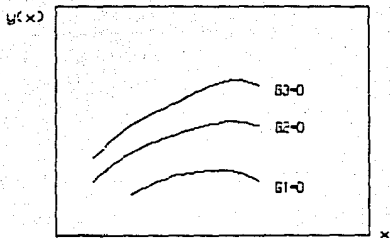


FIGURA 12. Representación Gráfica de la Solución General.

Dependiendo de cómo se establezcan estas condiciones, se pueden considerar dos tipos de problemas:

1. Problema de valores iniciales: En el cual todas las condiciones independientes son válidas en el mismo punto inicial, mostrado en la figura 13.

2. Problema de valores a la frontera: Es cuando más de un valor, de la variable independiente está involucrado en un mismo punto inicial, mostrado en la figura 14.

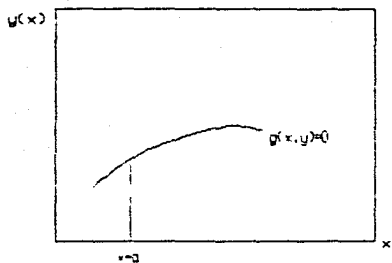


FIGURA 13. Representación de la solución de un problema de valores iniciales.

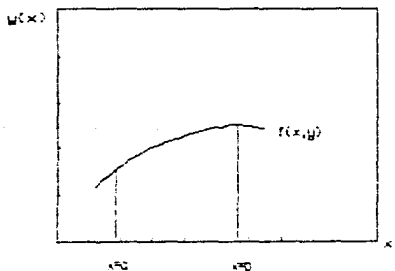


FIGURA 14. Representación de la solución de un problema de valores a la frontera.

MÉTODOS NUMÉRICOS

Una vez que se ha formulado el problema y se ha hecho el análisis matemático, se procede a la construcción de un algoritmo para solucionar las ecuaciones. Este algoritmo de solución es llamado Método Numérico, (21).

Los Métodos Numéricos utilizan sólo operaciones aritméticas y algunas operaciones lógicas tales como comparación algebraica, simplificando la solución de dichas ecuaciones, y el diseño de programas de computación.

De acuerdo al tipo de problema que se tenga existen varios Métodos Numéricos que pueden dar solución a problemas específicos.

MÉTODOS DE SOLUCIÓN A PROBLEMAS DE ECUACIONES DIFERENCIALES ORDINARIAS CON VALORES INICIALES.

Para dar solución a problemas con valores iniciales han sido desarrollados métodos explícitos (22), entre los que destacan por su uso frecuente el método de Euler (22), Runge-Kutta (23), entre otros. También métodos semiexplícitos para problemas especiales como el que desarrolló Michelsen (24).

Se ha encontrado que los Métodos Numéricos tanto explícitos como semiexplícitos antes mencionados, dan una buena solución a una gran cantidad de ecuaciones diferenciales y por esta razón son los más utilizados.

MÉTODOS EXPLÍCITOS.

Estos métodos consisten en evaluar la integral $y(x)$ en todos los puntos que están espaciados en h unidades iguales, esto se obtiene paso a paso a partir del punto inicial y es llamado Método de Integración Paso a Paso, ya que a partir de uno o más puntos iniciales conocidos se calculan los siguientes y una vez calculado se apoyan en este punto y en los anteriores para calcular uno más y así sucesivamente; esta es la razón por la que se llaman métodos explícitos, ver figura 15.

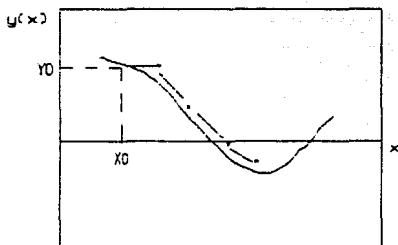


FIGURA 15. Método de solución paso a paso de un problema de valores iniciales.

Para evaluar $y(x)$ en los puntos $x_i = x_0 + ih$; $i=1,2,3,\dots$, se utilizan las fórmulas de recurrencia que usan los valores conocidos de $y(x)$ en el punto anterior. Para aplicar estas ecuaciones es necesario evaluar $y(x)$ en los primeros puntos desarrollando la función en series de potencias.

METODO DE EULER.

Uno de los métodos más sencillos y fáciles de analizar es el método de Euler (22). Sin embargo por la sencillez del método tiene la limitación de dar poca exactitud, lo que muchas veces impide su uso en algunas aplicaciones prácticas.

Considerando la ecuación diferencial:

$$dy/dx=f(x,y) \quad (52)$$

donde

$$y(x_0)=y_0$$

y

$$x_0 \leq x \leq x_N$$

dividiendo el intervalo $[x_0, x_N]$ entre N espacios iguales

los intervalos estan dados por: $h = \frac{x_N - x_0}{N}$ (53)

y $x_i = x_0 + ih$ donde $i=0,1,2,\dots,N$

el parametro h es llamado tamaño del paso.

Si $y(x)$ es la solución exacta a la ecuación (52) expandiendo $y(x)$ alrededor del punto x_i , usando la serie de Taylor se obtiene:

$$y(x_{i+1}) = y(x_i) + (x_{i+1} - x_i)y'(x_i) + \frac{(x_{i+1} - x_i)^2}{2!}y''(x_i) \quad (54)$$

substituyendo (52) y (53) en (54) se obtiene:

$$y(x_{i+1}) = y(x_i) + hf(x_i, y(x_i)) + \frac{h^2}{2!}f'(x_i, y(x_i)) \quad (55)$$

Si cortamos la serie después del segundo término y con $u_i \approx y(x_i)$ se obtiene:

$$u_{i+1} = u_i + hf(x_i, u_i) \quad (56)$$

$$i=0, 1, \dots, N-1 \quad \text{y} \quad u_0 = y_0$$

La ecuación (56) es la ecuación de recurrencia obtenida por Euler. Este método es explícito si la función f es evaluada con información conocida.

METODO DE RUNGE-KUTTA.

El método más completo usado en la integración de ecuaciones diferenciales es una serie de métodos desarrollados por Runge-kutta (24), (31), (32), los cuales son de segundo, tercer, y cuarto orden, y algunos otros que solo son variaciones.

En forma general la fórmula para integrar una ecuación diferencial se da por la ecuación de recurrencia:

$$y_{i+1} = y_i + \omega_1 k_1 + \omega_2 k_2 + \omega_3 k_3 + \dots + \omega_n k_n \quad (57)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

en donde cada una de las trayectorias k_i están evaluadas por:

$$k_1 = hf(x_i, y_i)$$

$$k_2 = hf(x_i + \alpha_1 h, y_i + \beta_{1,1} k_1)$$

$$k_3 = hf(x_i + \alpha_2 h, y_i + \beta_{2,1} k_1 + \beta_{2,2} k_2)$$

⋮

⋮

$$k_n = hf(x_i + \alpha_{n-1} h, y_i + \beta_{n-1,1} k_1 + \beta_{n-1,2} k_2 + \dots + \beta_{n-1,n-1} k_{n-1}) \quad (58)$$

siendo $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n, \alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n, \beta_{1,1}, \beta_{2,2}, \dots, \beta_{n,n-1}$

constantes que deben determinarse, de tal forma que proporcionen la mayor exactitud posible a la solución de la ecuación diferencial.

El método de Runge-Kutta de 4^o orden se obtiene al considerar $n=4$ en las expresiones (57) y (58) quedando:

$$y_{i+1} = y_i + \omega_1 k_1 + \omega_2 k_2 + \omega_3 k_3 + \omega_4 k_4 \quad (59)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

donde:

$$k_1 = hf [x_i, y_i]$$

$$k_2 = hf [x_i + \alpha_2 h, y_i + \beta_{2,1} k_1]$$

$$k_3 = hf [x_i + \alpha_3 h, y_i + \beta_{3,1} k_1 + \beta_{3,2} k_2]$$

$$k_4 = hf [x_i + \alpha_4 h, y_i + \beta_{4,1} k_1 + \beta_{4,2} k_2 + \beta_{4,3} k_3]$$

siendo: $\omega_1 = 1/6$

$\alpha_1 = \alpha_2 = 1/2$

$\omega_2 = 1/3$

$\alpha_3 = 1$

$\omega_3 = 1/3$

$\beta_{1,1} = \beta_{2,2} = 1/2 ; \beta_{3,3} = 1$

$\omega_4 = 1/6$

$\beta_{2,1} = \beta_{3,1} = \beta_{3,2} = 0$

sustituyendo en las ecuaciones anteriores:

$$y_{i+1} = y_i + 1/6 [k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4] \quad (60)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

donde:

$$k_1 = hf [x_i, y_i] \quad (61)$$

$$k_2 = hf [x_i + 1/2 h, y_i + 1/2 k_1] \quad (62)$$

$$k_3 = hf [x_i + 1/2 h, y_i + 1/2 k_2] \quad (63)$$

$$k_4 = hf [x_i + h, y_i + k_3] \quad (64)$$

El método consiste en obtener y_i de la secuencia anterior (60) a (64) partiendo de $i = 0$ y las condiciones iniciales. Con este valor de y_i y de x_i se obtiene y_{i+1} de la secuencia de ecuaciones haciendo $i = i + 1$, repitiendo el proceso hasta obtener el número deseado de puntos tomando un valor del intervalo pequeño y constante.

METODO DE RUNGE-KUTTA PARA SISTEMAS DE ECUACIONES DIFERENCIALES.

Los métodos descritos con anterioridad, se han referido a sistemas con 2 funciones desconocidas, pero dichos métodos también se aplican para resolver sistemas con cualquier número de funciones desconocidas utilizando la secuencia de ecuaciones siguiente.

Considerando el sistema de n ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$dy_1/dx = f_1(x, y_1, y_2, \dots, y_n) \quad (65)$$

$$dy_2/dx = f_2(x, y_1, y_2, \dots, y_n)$$

$$\vdots$$

$$dy_n/dx = f_n(x, y_1, y_2, \dots, y_n)$$

y expandiendo las ecuaciones de Runge-kutta se obtiene:

$$y_{i+1, j} = y_{i, j} + 1/6 \left[k_{1j} + 2k_{2j} + 2k_{3j} + k_{4j} \right] \quad (66)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, n. \quad j = \text{n\u00fam. de ecuaciones diferenciales}$$

$$k_{1j} = hf_j(x_i, y_{i,1}, y_{i,2}, \dots, y_{i,n}) \quad (67)$$

$$k_{2j} = hf_j \left[x_i + 1/2h, y_{i,1} + 1/2k_{11}, y_{i,2} + 1/2k_{12}, \dots, y_{i,n} + 1/2k_{1n} \right]$$

$$k_{3j} = hf_j \left[x_i + 1/2h, y_{i,1} + 1/2k_{21}, y_{i,2} + 1/2k_{22}, \dots, y_{i,n} + 1/2k_{2n} \right]$$

$$k_{4j} = hf_j \left[x_i + h, y_{i,1} + k_{31}, y_{i,2} + k_{32}, \dots, y_{i,n} + k_{3n} \right]$$

La ventaja de los m\u00e9todos de Runge-Kutta con respecto al de Euler, consiste en que los primeros funcionan con un orden

de error menor, pues al considerar un tamaño del intervalo pequeño, el error disminuye notablemente y en relación a la serie de Taylor, no requieren evaluar ninguna derivada, sino únicamente a la función $f(x,y)$.

ERROR Y ESTABILIDAD.

Algunos parámetros muy importantes en la integración de ecuaciones diferenciales son la estabilidad, (24), (25) propagación del error y la convergencia de sus soluciones (26).

ERROR :

En la aplicación de un método numérico están presentes 3 tipos de error, estos son:

1. ERROR DE TRUNCACION: Es una función del número de términos que son retenidos en la aproximación de la solución para una serie de expansión finita. El error de truncación puede ser reducido al retener un número mayor de términos en las series o reduciendo el valor del tamaño de paso h de la integración. La mayoría de los métodos numéricos disponibles para la integración de ecuaciones diferenciales ordinarias proveen una exactitud cada vez mayor con un bajo error de truncación.

2. ERROR DE REDONDEO: Cuando un método numérico está siendo ejecutado por una computadora se introduce el error de

redondeo, el cual depende de la exactitud de la computadora y este error puede ser reducido significativamente por el uso de doble precisión. Sin embargo siempre existirá el error de redondeo.

3. ERROR DE PROPAGACION: Los errores de truncación y redondeo se acumulan y propagan al realizar algún método de integración numérica. En algunos casos pueden crecer exponencialmente o en un patrón oscilatorio invalidando la solución correcta.

ESTABILIDAD :

Han sido considerados 2 tipos de estabilidad en la solución de ecuaciones diferenciales ordinarias las cuales son:

1. Estabilidad inherente. Esta inestabilidad es resultado de fluctuaciones propias del sistema o del fenómeno natural que se está estudiando.
2. Estabilidad numérica. Es una función de la propagación del error en el método de integración. Esto significa que el error acarreado por el método origina fluctuaciones y una solución inestable.

MÉTODOS SEMIIMPLÍCITOS :

Se han descrito varios métodos que intentan ser aplicados en problemas de valores iniciales de la forma de la ecuación (52), donde se conoce de antemano que la solución tenga determinadas propiedades. Algunos problemas de valores iniciales tienen propiedades especiales por lo cual no se pueden resolver fácilmente por los métodos antes citados.

Uno de los problemas más importantes es el que presenta rigidez (26), (26), esto es, un sistema con valores propios de diferente magnitud.

Los métodos explícitos como el clásico Runge-Kutta de 4^o orden, no se deben utilizar para resolver sistemas rígidos pues por la estabilidad de estos métodos se requiere que el tamaño de paso sea muy pequeño y el número de pasos demasiado grande y no es factible de ser utilizado.

Por esta razón fueron desarrollados los métodos semiimplícitos (30) que son estables para cualquier tamaño de paso, aunque la exactitud no es excelente a menos que se usen con un procedimiento eficiente de control de tamaño de paso.

La solución de este tipo de problemas consiste en evaluar la integral $y'(x)$ implícitamente mediante el siguiente procedimiento (figura 16):

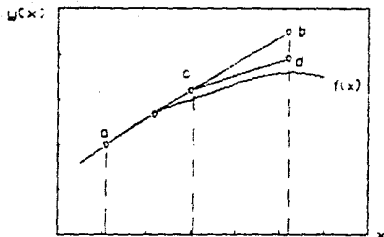


FIGURA 16. Representación del modelo Semi-implícito

1. La integración se efectúa a través del intervalo Δx y el resultado es almacenado ($a \longrightarrow b$).
2. El resultado es recalculado integrando 2 veces a a través de cada medio del intervalo total ($a \longrightarrow c \longrightarrow d$).
3. El resultado de un tamaño de paso simple y de 2 integraciones de medio paso se comparan ($b \longrightarrow d$).
4. Si la diferencia es mayor que la tolerancia especificada, el procedimiento se repite usando la mitad del tamaño de paso original.
5. El ciclo de operaciones anterior es repetido hasta que la tolerancia del error sea satisfecha por todas las variables.
6. Cuando se encuentra un tamaño de paso adecuado el cálculo

prosigue al siguiente intervalo donde se intentará con un tamaño de paso más grande.

El método intentará incrementar el tamaño del paso cuando sea posible y también bajará el tamaño de paso en regiones donde la tolerancia de error sea violada. Este método tiene las siguientes ventajas:

1. Satisface la tolerancia de error para todas las variables durante toda la integración asegurando una solución exacta.
2. Intenta incrementar el tamaño del paso para reducir el tiempo de cálculo.

METODO SEMIIMPLICITO DE RUNGE-KUTTA.

Este método es una modificación desarrollada por Michael Michelsen (34), para resolver problemas de valores iniciales en sistemas rígidos.

Considerando el sistema $\frac{d(y)}{dt} = f(y)$ (68)

con la condición inicial $y(t_n) = y_n$ (69)

y la matriz jacobiana A dada por $A_{ij} = \left[\frac{\partial f_i}{\partial y_j} \right]_{y_n}$ (70)

La solución a $t_n + h, y_{n+1}$, es encontrada del siguiente conjunto de ecuaciones:

$$k_1 = h \left[I - h\mathbf{A} \right]^{-1} f \left(y_n \right) \quad (71)$$

$$k_2 = h \left[I - h\mathbf{A} \right]^{-1} f \left(y_n + b_{21} k_1 \right) \quad (72)$$

$$k_3 = h \left[I - h\mathbf{A} \right]^{-1} \left[b_{31} k_1 + b_{32} k_2 \right] \quad (73)$$

$$y_{n+1} = y_n + R_1 k_1 + R_2 k_2 + k_3 \quad (74)$$

donde:

$$a^3 - 3a^2 + 3/2a - 1/6 = 0$$

$$a = 0.4358$$

$$b_{21} = 0.75$$

$$b_{31} = -1/6a \left[6a^2 - 2a + 1 \right]$$

$$b_{32} = 2/9a \left[6a^2 - 6a + 1 \right]$$

$$R_1 = 11/27 - b_{31}$$

$$R_2 = 16/27 - b_{32}$$

y = vector de variables dependientes

A = matriz jacobiana de ecuaciones diferenciales ordinarias

a, b_1, b_2 = coeficientes de Runge-Kutta

f = vector de función

h = tamaño de paso

k_i = vectores de Runge-Kutta

n = indicador de paso

R_i = constantes

I = matriz identidad

La matriz A es evaluada una vez solamente y el valor de f es sólo un punto intermedio necesitado.

Utilizando un método adecuado de ajuste de tamaño de paso el método funciona automáticamente y con excelentes resultados.

Estos métodos son exactos y eficientes y pueden ser usados para un amplio espectro de problemas con un mínimo de esfuerzo requerido por el usuario.

3. RESULTADOS

RESULTADOS

La producción de penicilina es uno de los procesos microbiológicos de mayor complejidad y las vías metabólicas relativas a la biosíntesis más difíciles por ser poco conocidas. No existe una buena información acerca del mecanismo involucrado y por ello, sólo puede describirse matemáticamente usando los modelos cinéticos propuestos basados en datos experimentales. La complejidad de este proceso se incrementa por el desconocimiento de los fenómenos de transporte, tanto de nutrientes como de oxígeno, CO_2 y otros productos metabólicos.

Para este sistema se consideran básicamente dos tipos de reactores, el de flujo pistón y el tanque agitado. En la literatura (27) se reporta que dada la naturaleza de las relaciones cinéticas, el reactor de tanque agitado debe considerarse como el mejor, pues existe un patrón de contacto completo que produce altas concentraciones de penicilina a la salida y actividades específicas mayores en comparación con un patrón de flujo pistón. Esto ocurre cuando el sistema está controlado por 2 nutrientes, siendo éstos glucosa y oxígeno.

Por la existencia de diversos modelos cinéticos se realizó la simulación aplicando los balances necesarios a cada modelo, pero utilizando las mismas condiciones de operación y analizando con los mismos criterios las variables comunes e importantes entre ellos.

Se analizó en esta simulación el efecto de las siguientes variables:

- a) Concentración de sustrato inicial S_0
- b) Concentración de oxígeno inicial O_0
- c) Concentración de biomasa inicial X_0
- d) Tiempo de residencia θ
- e) Modelo cinético
- f) Utilizando diferentes estrategias de alimentación de sustrato, oxígeno y variaciones en el tiempo de residencia.

3.1 CONDICIONES DE OPERACION PARA TODOS LOS MODELOS

MICROORGANISMO: *Penicillium chrysogenum*

PRODUCTO: Penicilina G, Penicilina V

MEDIO: Licor de maíz, lactosa, CaCO_3 , Na_2SO_4 ,
 $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ácido fenoxiacético,
aceites.

FERMENTADOR: Tanque agitado, acero inoxidable, completamente mezclado, con una corriente de aire o de oxígeno puro como suministro de oxígeno, control externo de pH y temperatura, con una membrana que impide la salida de biomasa.

CONDICIONES DE OPERACION: Ajuste de pH a 5.4, con ácido fenoxiacético como precursor, temperatura 33 a 37 °C.

Los modelos considerados para su comparación fueron:

1. Modelo basado en la edad celular.
2. Modelo basado en la ley logística.
3. Modelo basado en cinética enzimática de Bajpai y Reuß.

Estos modelos son de uso frecuente por ser los más completos y los que mejores resultados generan. El modelo basado en Balances de materia no fue empleado por las razones explicadas anteriormente.

3.2 METODOS NUMERICOS APLICADOS.

Dada la naturaleza de las ecuaciones diferenciales resultantes, que involucra expresiones de reacción complejas, se emplearon para su resolución el método de Runge-Kutta de 4° orden con un tamaño de paso de $1E-2$ y el método semimplicito de Michelsen, (SIRK) con un tamaño de paso inicial de $1E-4$ y tolerancia de $1E-5$.

Los tres modelos cinéticos fueron resueltos utilizando ambos métodos numéricos encontrando que el tiempo de cómputo con el Runge-Kutta, es de 2 a 3 veces mayor que con el SIRK, dependiendo de los parámetros utilizados en el sistema.

Para el modelo de la Edad celular y el de la ley logística las desviaciones de los resultados generados con el

Runge-Kutta, respecto a los del SIRK, no son grandes y para aproximar los resultados de los dos métodos numéricos es necesario disminuir el tamaño de paso en el Runge-Kutta y originando que el tiempo de cómputo aumente aún más.

Para el modelo basado en cinética enzimática de Bajpai y Reuß, existen problemas de estabilidad debido a la forma de las ecuaciones, esta inestabilidad se ve claramente al utilizar el método de Runge-Kutta de 4^{ta}. Al resolver este sistema de ecuaciones con el SIRK, se obtienen mejores resultados a un menor tiempo de cómputo. Por esta razón serán reportados los resultados obtenidos con el método de Michelsen (SIRK).

La comparación detallada de los dos métodos numéricos aplicada a cada modelo cinético se analizará posteriormente.

3.3 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA EDAD CELULAR.

El modelo trata de explicar la aparición retardada de metabolitos secundarios en el medio de cultivo y el hecho de que la producción cesa después de cierto tiempo, aunque las condiciones sean favorables. Para esto, el modelo considera la relación existente entre la edad celular y producción de penicilina únicamente.

BALANCE DE MATERIA:

PRODUCTO: ACUMULACION = ENTRADA - SALIDA + REACCION
ENTRADA = 0

$$\frac{dP}{dt} = R_{pen} X - \frac{P}{\theta} \quad (75)$$

$\frac{dP}{dt}$ = producción de penicilina (mg/h)

P = concentración de penicilina a la salida (mg)

R_{pen} = velocidad de producción (mg/gcel h)

θ = tiempo de residencia en (h)

X = concentración de biomasa (mgcel)

$$R_{pen} = k(e^{-k_1 t} - k_2 e^{-k_3 t}) \quad (28)$$

$$k = 10. \quad k_1 = 0.015 \quad k_2 = 15. \quad k_3 = 0.07$$

A. VARIACION DE LA CONCENTRACION INICIAL DE BIOMASA

El primer paso en la simulación fue variar la concentración inicial de biomasa manteniendo θ constante, con valores de biomasa X = 1, 10, 20, 50 mgcel, para obtener la mejor producción posible siendo esta la concentración de producto a la salida en determinado tiempo de proceso.

Con estos resultados se encontró que se alcanza la máxima producción en un mismo lapso de tiempo de proceso, no importando la cantidad inicial de inóculo como se muestra en la figura 17.

El tiempo que tarda en llegar a la máxima producción, es aproximadamente 50 horas, logrando concentraciones altas cuando mayor sea la cantidad de inóculo inicial en este caso con $X = 50 \text{ mg/ml}$ se obtuvo la concentración de producto más alta.

Alcanzar este valor máximo en la producción en tan poco tiempo comparado con el tiempo total de duración del proceso significa que el crecimiento es rápido y por eso la producción es grande, pero, después, empieza a decaer posiblemente por exceso de biomasa, falta de sustrato o porque la biomasa muere después del largo tiempo de proceso. En base al modelo utilizado, es factible pensar en el hecho de que el microorganismo envejece a un determinado tiempo, sin importar la cantidad de inóculo inicial. Por lo tanto, al aumentar la concentración de inóculo aumenta la producción hasta llegar a la fase de declinación o decaimiento que es cuando la biomasa termina el ciclo de vida.

El sistema depende del tiempo de residencia y de la estabilidad de la enzima principalmente y de estos factores, depende la estabilidad a la formación de productos. Se observa que los primeros 7 días son en los que se obtiene la mejor producción.

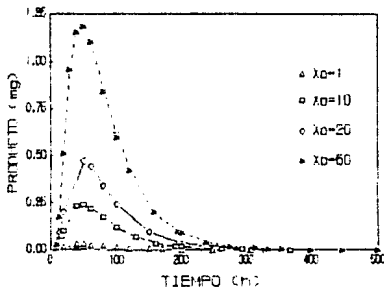


Figura 17. Modelo de la edad celular
 Variación de la concentración inicial de biomasa
 Tiempo de residencia = 10 h

B. VARIACION DEL TIEMPO DE RESIDENCIA

El segundo paso fue mantener constante la concentración inicial de biomasa y variar el tiempo de residencia (θ), encontrando que a medida que θ aumenta, se incrementa la producción y también el tiempo de proceso para alcanzar la producción máxima (Figura 18).

A tiempos de residencia pequeños la producción es mínima y el punto máximo no se distingue, usando tiempos de residencia mayores la producción aumenta a un mayor tiempo de proceso y, posteriormente, disminuye lentamente a medida que θ aumenta.

Con este análisis se demuestra que el modelo, por estar basado en la edad celular sólo puede dar información concerniente de como afecta la concentración inicial de biomasa y el tiempo de residencia a la producción. No da información sobre el crecimiento como tal, aunque se supone un mejor crecimiento a tiempos de residencia grandes. Tampoco da información sobre el consumo de sustrato, ni de la concentración inicial de sustrato (S_0) que debe ser utilizada.

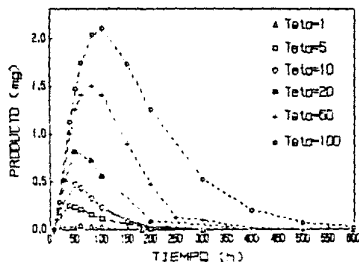


Figura 18. Modelo de la edad celular
 Variación del tiempo de residencia
 Concentración inicial de biomasa $X_0=20$ mgcel

C. COMPARACION DE LOS METODOS NUMERICOS.

Para dar solución de este modelo fueron empleados los métodos de Runge-Kutta de 4° orden, con un tamaño de paso de $1E-3$ y el método desarrollado por Michelsen (SIRK), con una tolerancia de $1.E-5$ y tamaño de paso inicial de $1.E-4$.

En la figura 19 se muestra un pequeño defasamiento del método de Runge-Kutta respecto del SIRK, puesto que la precisión es menor, esto es posible corregirlo disminuyendo el tamaño de paso. El Método de Runge-Kutta, tiene la limitación de que el tiempo requerido para procesar los datos es dos veces mayor que el SIRK.

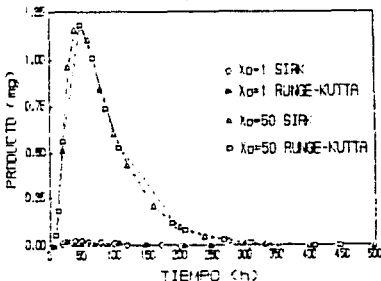


Figura 18. Modelo de la edad celular
Comparación de los métodos numéricos
Tiempo de residencia = 10 h

3.4 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA LEY LOGISTICA.

La ley logarítmica es uno de los primeros modelos utilizados para representar el crecimiento celular en un cultivo, en el cual la velocidad de formación celular en cualquier tiempo es proporcional a la masa celular presente en ese tiempo. En la práctica, esta es una buena aproximación para largos periodos de crecimiento en una fermentación en lotes; sin embargo, las cosas no permanecen constantes pues existe acumulación de metabolitos, falta de nutrientes, sobrepoblación, entre otras cosas y esta ley no funciona pues existe también una fase estacionaria donde no hay crecimiento neto, por lo tanto, al incorporar la existencia de la fase estacionaria a la ley logarítmica, se obtiene la ley logística, con la cual es posible obtener información del crecimiento celular y producción de penicilina simultáneamente.

ECUACIONES CINÉTICAS:

$$\text{BIOMASA: } R_x = \frac{dX}{dt} = b_1 X \left(1 - \frac{X}{b_2} \right)$$

$$\text{PRODUCTO: } R_p = \frac{dP}{dt} = b_3 X - b_4 P$$

BALANCES DE MATERIA:

BALANCE PARA BIOMASA:

Entrada = 0

Salida = 0

ACUMULACION = REPRODUCCION

$$\frac{dX}{dt} = b_s X \left(1 - \frac{X}{b_s} \right) \quad (76)$$

BALANCE PARA PRODUCTO:

ENTRADA = 0

ACUMULACION = REACCION - DECAIMIENTO - SALIDA

$$\frac{dP}{dt} = b_p X - b_d P - \frac{P}{\theta} \quad (77)$$

X = concentración de biomasa (mgcel)

P = concentración de penicilina a la salida (mg)

θ = tiempo de residencia (h)

$b_s X$ = producción de penicilina debido al crecimiento de biomasa

$b_d P$ = decaimiento.

R_p = velocidad de producción (mg/h)

R_x = velocidad de crecimiento celular (mgcel/h)

A. VARIACION DE LA CONCENTRACION INICIAL DE BIOMASA Y DEL TIEMPO DE RESIDENCIA.

El primer paso para conocer el efecto causado por el tiempo de residencia y la concentración inicial de biomasa fue mantener X_0 constante y variar el tiempo de residencia con los valores de $\theta = 1, 5, 10, 15, 20, 50$ h.

Dadas las características de este modelo la ecuación para crecimiento de biomasa, bajo cualquier condición, tiende a llegar al valor estable de 3.93, ya sea aumentando si X_0 es menor de dicho valor o disminuyendo si X_0 es mayor. Esto se debe a la forma de la ecuación y a los valores de las constantes, por esta razón es importante el valor de X al inicio ya que de este depende el comportamiento del sistema y el tiempo en alcanzar la producción máxima como se muestra en la figura 20.

En las 20 primeras horas la biomasa crece o decrece rápido dependiendo de la condición inicial, en las 40 horas siguientes decrece lentamente hasta llegar al valor estable, o crece rápidamente hasta llegar a dicho valor.

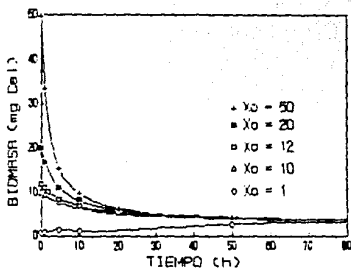


Figura 20. Modelo de la ley Logística
Variación de la concentración inicial de biomasa sobre el crecimiento. Tiempo de residencia = 10 h

Otro factor importante es la variación del tiempo de residencia, pues de este valor depende enormemente el tiempo requerido para el proceso y la concentración de producto máxima. A este respecto se analizan varios casos.

CASO 1. Para valores de X_0 pequeños como $X_0 = 1$ mgcel, el tiempo de proceso para alcanzar producciones altas oscila entre 200 y 500 horas, disminuyendo a medida que aumenta el valor de θ .

Esto es porque X es menor del valor estable, sin embargo, se obtiene la máxima producción de este modelo a $\theta = 50$ h y $X_0 = 1$ mgcel, en un tiempo de proceso de 500 h, la cantidad de

biomasa y producto son: $X = 3.93$ mgcel y $P = 1.68$ mg como se ve en la Figura 21.

En esta figura se vé que las 100 primeras horas la producción es rápida, desacelerando posteriormente, hasta llegar al estado estacionario.

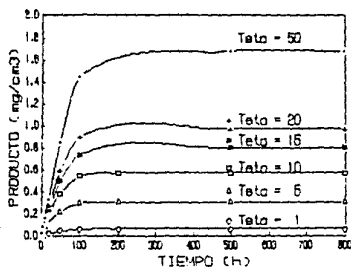


Figura 21. Modelo de la ley Logística
Efecto del tiempo de residencia para concentraciones de biomasa menores del valor estable. $X_0=1$ mgcel.

CASO 2. Para valores de X_0 mayores del valor estable, por ejemplo: $X_0 = 20$ mgcel a medida que aumenta el tiempo de residencia aumenta también el tiempo de proceso y la producción, obteniendo mejores resultados que con X_0 pequeñas, pues el tiempo de proceso oscila entre 5-50 horas. Como en el caso anterior, ocurre el mismo fenómeno pero a un tiempo de proceso menor, pues en las primeras 50 horas el

máximo en la producción es alcanzado rápidamente para tiempos de residencia pequeños y lentamente para tiempos de residencia grandes como $\theta = 50$ h.

La producción mejora a la obtenida con valores de X_0 pequeños. En la figura 22 se muestra este efecto obteniendo el punto máximo a las siguientes condiciones: $\theta = 50$ h, $X_0 = 20$ mg, $t = 50$ h, $X = 4.43$ mgcel, $P = 2.04$ mg.

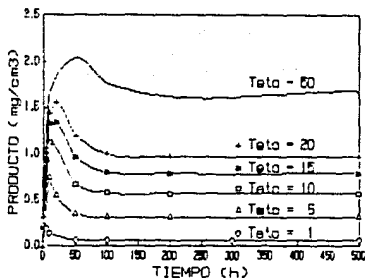


Figura 22. Modelo de la ley Logística
Efecto del tiempo de residencia para concentraciones de biomasa mayores del valor estable, $X_0=20$ mgcel.

CASO 3. Para valores de X_0 mucho mayores del valor estable, baja aún más el tiempo de proceso, oscilando entre 1-20 horas y aumenta más la producción que en el segundo caso.

En las primeras 20 horas la producción es acelerada alcanzando el máximo rápidamente. Ocurre el mismo fenómeno que en el caso anterior existiendo una desaceleración pronunciada hasta llegar al estado estacionario el cual es el mismo que para el caso antes señalado, obteniendo el punto máximo con $\Theta = 50$ h, $X_0 = 50$ mgcel, $t = 20$ h, $X = 6.42$ mgcel, $P = 2.80$ mg como se muestra en la figura 23.

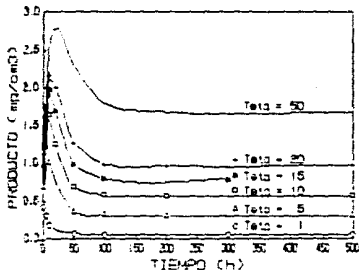


Figura 23. Modelo de la ley Logística
Efecto del tiempo de residencia para concentraciones de X_0 mucho mayores del valor estacionario. $X_0=50$ mgcel.

encuentra a valores de Θ grandes, $\Theta = 50$ h, como se vé en la figura 23. En el primer caso la producción decrece lentamente en 450 horas, en el segundo caso, decrece entre 50 y 100 horas y en el tercer caso entre 20 y 50 horas; siendo este el mejor pues alcanza producciones altas.

La máxima producción se encuentra con valores de X cada vez mayores del valor estable, (Figura 24), donde la diferencia es el tiempo de proceso, llegando a la misma concentración de producto.

Si X es menor del valor estable la producción máxima se logra al llegar al estado estacionario, si X es mayor de este valor la concentración de producto aumenta notablemente. En esta figura se vé que después de 200 horas para cualquier caso, se alcanza el mismo estado estacionario.

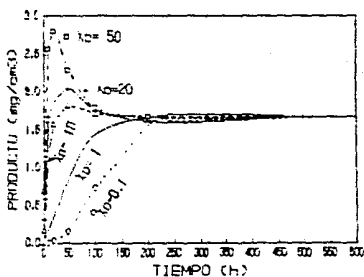


Figura 24. Modelo de la Ley Logística
Máxima producción a distintos valores de X
Tiempo de residencia = 60 h.

En la figura 25 se muestra el comportamiento de la biomasa, como decrece rápidamente en las primeras 20 horas si es mayor del valor estable, pero si es menor aumenta lentamente hasta llegar al estado estacionario.

Por lo tanto si se requiere de un proceso rápido y producción alta es conveniente usar gran cantidad de biomasa inicial. Si lo que importa es una producción más alta sin importar el tiempo de duración de proceso, deben suministrarse concentraciones de biomasa menores del valor estable, para que puedan crecer y producir desde el momento en que se desarrollan.

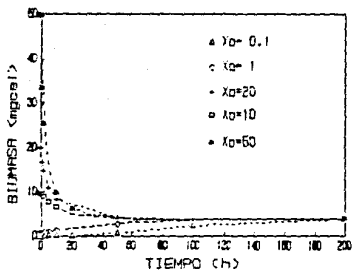
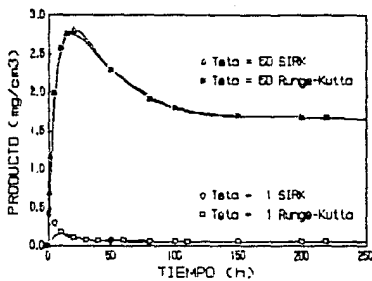


Figura 25. Modelo de la Ley Logística
Variación de la concentración inicial de biomasa
Tiempo de residencia = 50 h.

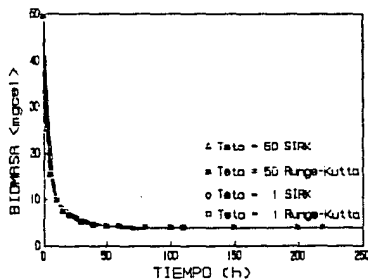
Este modelo dá información sobre el crecimiento o muerte de los microorganismos con la limitación de que siempre llega a un valor estable para cualquier concentración de biomasa inicial y para cualquier tiempo de residencia; pero, no dá información sobre la concentración necesaria de sustrato que debe ser suministrado ni del consumo del mismo.

B. COMPARACION DE LOS METODOS NUMERICOS.

Fueron probados ambos métodos numéricos el de Runge-Kutta de 4^o orden y el de Michelsen (SIRK). En este modelo cinético, se encontró que ambos métodos dan los mismos resultados como se ve en la figura 26, utilizando tamaños de paso de $1E-2$ para Runge-Kutta y $1E-4$ para el SIRK, con la limitación de que el tiempo de proceso es el doble para el Runge-Kutta respecto del SIRK.



(A)



(B)

Figura 26. Modelo de la ley Logística

Comparación de los métodos numéricos. $X_0 = 60$ mg/ml.

(A) Producción de penicilina

(B) Crecimiento de biomasa

3.5 SIMULACION DEL MODELO BASADO EN LA CINETICA ENZIMATICA DE BAJPAI Y REU β .

El modelo basado en cinética enzimática es el más completo puesto que combina los modelos bioquímicos de crecimiento, formación de productos y consumo de sustrato y oxígeno. En este modelo se combina la ecuación cinética de crecimiento acopiada al modelo de inhibición por sustrato para la formación de producto, lográndose predecir los datos para la fermentación en lotes, incorporando la limitación causada por el oxígeno en el crecimiento y formación de producto.

De esta manera se pueden conocer los efectos de la velocidad de alimentación, concentración inicial de sustrato y biomasa. Así se ha logrado predecir cuantitativamente muchos resultados observados experimentalmente en la fermentación de penicilina; por esta razón, se probará este modelo cinético para un proceso continuo.

ECUACIONES CINÉTICAS.

$$\text{BIOMASA: } R_x = \frac{dX}{dt} = U_x \frac{S}{k_x X + S} \frac{O}{k_{ox} X + O} X$$

$$\text{PRODUCTO: } R_p = \frac{dP}{dt} = U_p \frac{S}{K_p + S \left(1 + \frac{S}{K_i} \right)} \frac{O}{K_{op} X + O} X$$

$$\text{SUSTRATO: } R_s = - \frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{x/o}} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{p/o}} \frac{dP}{dt} + M_s X$$

$$\text{OXIGENO: } R_o = - \frac{dO}{dt} = \frac{1}{Y_{x/o}} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{p/o}} \frac{dP}{dt} + M_o X$$

Los parámetros para las constantes se muestran en la tabla 7.

BALANCE DE MATERIA

BALANCE PARA BIOMASA:

ENTRADA=0

SALIDA=0

ACUMULACION = REPRODUCCION

$$\frac{dX}{dt} = R_x \quad (78)$$

BALANCE PARA PRODUCTO:

ENTRADA=0

ACUMULACION = REPRODUCCION - DECAIMIENTO - SALIDA

$$\frac{dP}{dt} = R_p - R_d - \frac{P}{\theta} \quad (79)$$

$$R_d = K_d P$$

$$K_d = 0.01 \text{ h}^{-1}$$

BALANCE PARA SUSTRATO:

ACUMULACION = REACCION + ENTRADA - SALIDA

$$\frac{dS}{dt} = -R_x - R_p + \frac{1}{\theta} (S_0 - S) \quad (80)$$

BALANCE PARA OXIGENO:

ACUMULACION = REACCION + ENTRADA - SALIDA

$$\frac{dO}{dt} = \frac{1}{\theta} (O_0 - O) + (-R_x - R_p) \quad (81)$$

A. VARIACION DE LA CONCENTRACION INICIAL DE SUSTRATO.

Para analizar el efecto de la concentración inicial de sustrato fueron tomados diferentes valores de S_0 (2, 5, 10, 20, 50 mg/cm^3), manteniendo θ constante en cada caso con los siguientes valores $\theta = 1, 10, 50$ h, $D_0 = 1.26 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$, $X_0 = 20 \text{ mgcel}/\text{cm}^2$ y de los resultados obtenidos se encontró lo siguiente:

Cuando el tiempo de residencia es pequeño, $\theta = 1$ h, la formación de producto es baja al usar concentraciones de sustrato inicial chicas, por ejemplo $S_0 = 2 \text{ mg}/\text{cm}^3$ como se muestra en la figura 27(a). Al aumentar la concentración inicial de sustrato a $S_0 = 10$ y/o $20 \text{ mg}/\text{cm}^3$ en las primeras 300 horas la producción aumenta lentamente hasta llegar a un punto en el cual las 2 curvas se separan.

Cuando se utilizan concentraciones de sustrato grandes, por ejemplo $S_0 = 50 \text{ mg}/\text{cm}^3$ en las primeras 400 horas la producción es inferior a la obtenida con $S_0 = 10 \text{ mg}/\text{cm}^3$, pero a tiempos grandes la velocidad se incrementa alcanzando producciones mayores. Todas las curvas llegan a un valor máximo permaneciendo constante durante algún tiempo.

En la figura 27(a) se observa que el proceso alcanza el valor máximo para $S_0 = 2 \text{ mg}/\text{cm}^3$ a 500 horas, con $S_0 = 10$ y/o $20 \text{ mg}/\text{cm}^3$ en 900 horas y usando $S_0 = 50 \text{ mg}/\text{cm}^3$ en 1300 horas.

lo cual indica que al usar concentraciones de sustrato grandes el proceso dura más tiempo y se alcanzarán mejores concentraciones de producto.

En cuanto al comportamiento de la biomasa para este mismo tiempo de residencia, la figura 27(b) muestra que para $S_0 = 2 \text{ mg/cm}^3$ el crecimiento es mínimo lo cual explica porque la producción es pequeña para este caso.

Al aumentar S_0 a 10 o 20 mg/cm^3 el crecimiento es mayor para la concentración más grande, pero en ambos casos al llegar a 300 horas el crecimiento llega al estado estacionario y así se mantienen durante algún tiempo, aquí se puede observar que al llegar a este estado estacionario tanto la concentración de biomasa, como la concentración de producto aumentan notablemente, lo mismo ocurre en el caso en que se utiliza $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$, el crecimiento de biomasa es mucho mayor, pero tarda más tiempo de proceso en alcanzar el estado estacionario, por esta razón la curva de producción es menor las primeras 400 horas y después de este tiempo crece rápidamente.

La figura 27(c) presenta el comportamiento del consumo de sustrato. En esta figura vemos que para cualquier concentración de sustrato alimentado el consumo es muy

rápido, y al llegar al estado estacionario alcanza concentraciones mínimas a la salida, manteniéndose esta concentración casi constante durante todo el proceso.

Debido a que son organismos vivos, el sustrato es utilizado por la biomasa principalmente para reproducirse y mantenerse viva el mayor tiempo posible, transformando este sustrato no sólo en penicilina, sino probablemente también en otros productos metabólicos, energía y biomasa; por esta razón es tan importante la concentración de sustrato suministrado. Este comportamiento está íntimamente relacionado con el comportamiento de los microorganismos. (1)

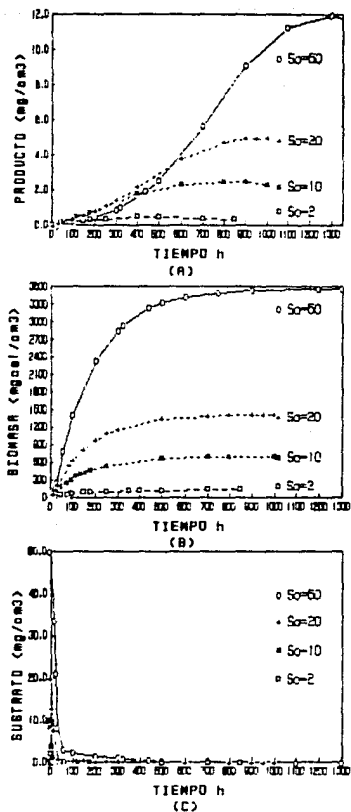


Figura 27. Modelo basado en cinética enzimática
 Variación de la concentración inicial de sustrato
 Tiempo de residencia = 1 h.
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa
 (C) Consumo de sustrato

Utilizando un tiempo de residencia mayor, $\theta = 10$ horas, como el que presenta la figura 28, vemos que el comportamiento es el mismo que el mostrado anteriormente (figura 27), Pero a diferencia del sistema anterior cuando se alizena una concentración de sustrato pequeña como $S_0 = 2$ mg/cm^3 la curva ya no aparece debido a que el consumo es inmediato pues permanece más tiempo en el fermentador y una concentración tan pequeña durante tanto tiempo no es suficiente para que los microorganismos crezcan, por lo tanto, no producen y el proceso termina inmediatamente.

Se puede observar en la figura 28(a) que la concentración de producto aumenta comparada con la de $\theta = 1$ h, (figura 27), alcanzando producciones más altas y a menor tiempo de proceso, pero el valor de la producción máxima es menor y decae tempranamente haciendo que todo el proceso dure menos tiempo.

En un lapso de 50 horas aproximadamente, las curvas de $S_0 = 10$ y 20 mg/cm^3 se separan, alcanzando una alta concentración de producto con $S_0 = 20$ mg/cm^3 .

Para $S_0 = 50$ mg/cm^3 la curva de producción crece alcanzando concentraciones mayores que cuando se usa una concentración inicial de sustrato menor. Pero la producción máxima es levemente menor que la obtenida con $\theta = 1$ h.

En cuanto al comportamiento de la biomasa, la figura 28(b) muestra que para $S_0 = 2 \text{ mg/cm}^3$, la biomasa no alcanza a crecer y el proceso termina.

Cuando se suministran concentraciones de 10, 20 y 50 mg/cm^3 el comportamiento es el mismo del caso en que se uso $\theta = 1 \text{ h}$, pero la diferencia es que la concentración necesaria de biomasa para alcanzar la misma producción es casi 10 veces menor y se alcanza a un tiempo de proceso también menor.

La figura 28(c) muestra el consumo de sustrato el cual es muy rápido y por esta razón, la biomasa crece y produce a un menor tiempo de proceso, en las primeras 10 horas el consumo es casi completo llegando a concentraciones a la salida muy cercanas a cero y se mantienen así durante todo el tiempo de proceso dependiendo de la cantidad de sustrato inicial que se alimenta.

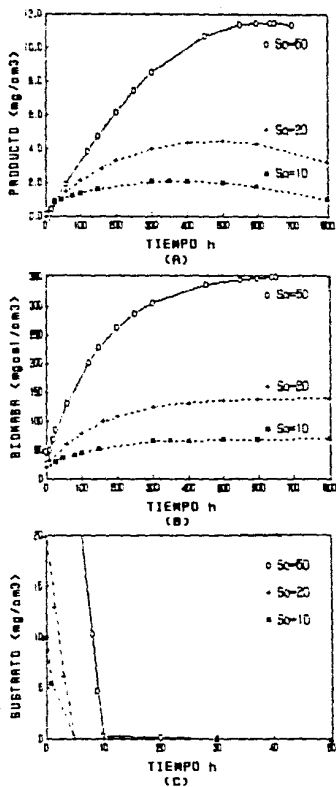


Figura 28. Modelo basado en cinética enzimática.
 Variación de la concentración inicial de sustrato.
 Tiempo de residencia = 10 h.
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa
 (C) Consumo de sustrato

Para valores de θ mayores como $\theta = 50$ h, sólo es posible usar concentraciones de sustrato inicial grandes, pues de otra manera el consumo es inmediato, y no existe crecimiento de biomasa, ni producción de penicilina.

La figura 29 indica el comportamiento para $S_0 = 50$ mg/cm³, en este caso el máximo en la producción es de 8 mg/cm³ que es menor que el alcanzado en los casos anteriores donde la producción era de 12 mg/cm³ para $\theta = 1$ h y 11.7 mg/cm³, para $\theta = 10$ h. El crecimiento de biomasa es muy rápido para las primeras 10 horas y después lo hace lentamente, esto está íntimamente relacionado con el consumo de sustrato pues este es aprovechado en las primeras 10 horas hasta un valor muy cercano a cero.

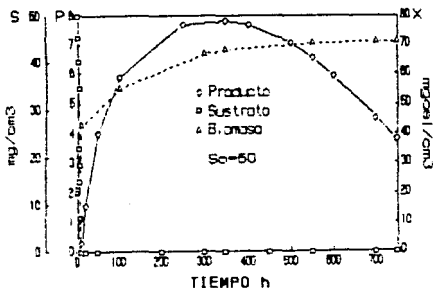


Figura 29. Modelo basado en cinética enzimática
 variación de la concentración inicial de sustrato
 Tiempo de residencia = 50 h

Del análisis anterior se observó que al utilizar valores de S_0 cada vez mayores, la concentración de X , S , P a la salida aumentan. Esto se debe a que el tiempo de proceso es cada vez mayor pues se dispone de más cantidad de sustrato, por lo tanto, a θ constante la biomasa crece más y la producción es mayor.

Para cualquier valor de θ ocurre el mismo comportamiento, de aquí que para alcanzar producciones buenas es conveniente usar concentraciones iniciales de sustrato grandes.

La figura 30 muestra este comportamiento ya que al graficar θ vs P o θ vs X se pueden encontrar los valores óptimos tanto de S_0 como de θ .

Analizando la figura 30(a), se observa que las producciones más altas se alcanzan con valores de S_0 grandes y depende del valor de θ utilizado.

En la figura 30(b) se vé como a valores de S_0 grandes la biomasa alcanza concentraciones altas, por esta razón la producción también es alta y de la misma forma que el producto, depende en gran medida del tiempo de residencia.

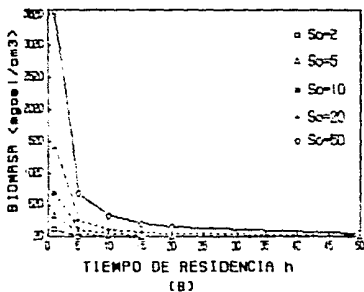
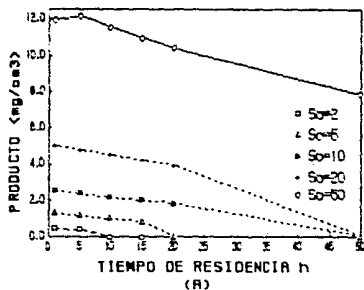


Figura 30. Modelo basado en cinética enzimática
 Efecto del tiempo de residencia y de la concentración inicial de sustrato sobre:
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa

B. VARIACION DEL TIEMPO DE RESIDENCIA.

El efecto del tiempo de residencia se analizó tomando valores de 1, 5, 10, 20, 50 h.

Después de analizar la variación de la concentración inicial de sustrato, se observó que el comportamiento del sistema varía en gran parte por el tiempo de residencia y no sólo por la concentración inicial de sustrato, dado que para cualquier valor de θ la mejor producción se obtiene cuando S_0 es grande, para analizar este efecto se escogió el sistema con $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$.

La figura 31 muestra la variación del tiempo de residencia y el efecto que causa sobre la producción, el crecimiento de biomasa y el consumo de sustrato.

Para la formación de producto, figura 31(a), muestra el efecto tan grande que causa la variación del tiempo de residencia en el mismo sistema. Por ejemplo, cuando $\theta = 1 \text{ h}$, existe un periodo donde la producción es mínima, aproximadamente 300 horas, después empieza a acelerar la producción hasta llegar al valor máximo de 11.95 mg/cm^3 que es alcanzado en 1300 horas decayendo después de este tiempo.

Al usar tiempos de residencia mayores como 5 o 10 horas, se observó que en las primeras 620 horas de proceso la

producción es mayor para $\Theta = 10$ h respecto a $\Theta = 5$ h y en ambos casos es mucho mayor que para $\Theta = 1$ h. A este tiempo, la curva de producción a $\Theta = 10$ h alcanza el valor máximo de 11.56 mg/cm^3 y empieza a decaer; sin embargo para $\Theta = 5$ h se prolonga el tiempo de proceso hasta 750 horas en donde es alcanzado el valor máximo de 12.16 mg/cm^3 .

En ambos sistemas el tiempo de proceso se reduce en gran medida respecto a $\Theta = 1$ h alcanzando producciones muy parecidas e incluso mayores, lo que significa que no es conveniente usar tiempos de residencia pequeños. Por otra parte, la diferencia en el valor máximo de producción no es grande (0.21 mg/cm^3), como lo es la diferencia en tiempo de proceso, (130 horas). Por lo tanto, aunque ambos tiempos de residencia dan buenos resultados sería recomendable usar $\Theta = 10$ h.

Si se incrementa el tiempo de residencia aún más, $\Theta = 50$ h, el efecto es drástico, pues aunque el tiempo de proceso requerido en alcanzar el valor máximo disminuye notablemente, a 350 horas la producción también lo hace a 7.85 mg/cm^3 , usar tiempos de residencia muy grandes no es conveniente pues con este mismo sistema es posible obtener producciones mejores.

El efecto que ocurre en la producción es posible explicarlo analizando el comportamiento del crecimiento de la biomasa, figura 31(b). En esta figura se nota que para $\Theta = 1$

h el crecimiento es acelerado las primeras 620 horas, llegando a una concentración de células de 3568 mgcel/cm^3 y en un tiempo de 1300 horas llega al estado estacionario, por esto la producción es muy lenta las primeras 620 horas y una vez que el crecimiento desacelera, la producción aumenta y por ello el tiempo de proceso es largo. Lo que significa que al permanecer tan poco tiempo el sustrato dentro del fermentador es aprovechado para crecer en mayor proporción que para producir, lo cual significa que la fase de crecimiento exponencial es muy rápida existiendo gran cantidad de biomasa, siendo la fase de desaceleración y la estacionaria muy prolongadas.

Cuando se aumenta a $\theta = 5$ horas disminuye notziamente la fase de crecimiento alcanzando valores de 708 mgcel/cm^3 aproximadamente, y se llega a la fase estacionaria tan rápido y ésta es tan larga que el tiempo de proceso disminuye, la producción aparece tempranamente y es muy parecida a la obtenida anteriormente. Por lo cual, usar un tiempo de residencia mayor, ocasiona que el sustrato permanezca más tiempo dentro del fermentador y la biomasa no solo lo aprovecha para crecer sino para crecer y producir simultáneamente.

Al incrementar a $\theta = 10$ horas el resultado se mejora aún más, pues desde el momento en que la biomasa empieza a crecer, también empieza a producir logrando aprovechar el

sustrato y la concentración de biomasa obtenida es de 350 mgcel/cm³.

Sin embargo, al aumentar demasiado el tiempo de residencia $\Theta = 50$ horas el crecimiento es pequeño, (68 mgcel/cm³), la fase de acondicionamiento, la de desaceleración y crecimiento exponencial no se distinguen en ningún momento y tal parece que sólo existe la fase estacionaria, por esta razón, la producción es baja. Este comportamiento probablemente sea ocasionado por alguna inhibición de producto por exceso de sustrato debido al tiempo que permanece dentro del fermentador.

La figura 31(c), indica el consumo de sustrato en el que se vé como es aprovechado lentamente cuando $\Theta = 1$ h hasta llegar al estado estacionario, en este caso, como se mencionó en la sección 3.5 A., el sustrato es utilizado no solo para crecer y producir.

Cuando $\Theta = 5, 10, 20$ y 50 horas el consumo es rápido, hasta llegar al estado estacionario y en este punto es cuando la biomasa acelera su crecimiento y la producción, entre más grande sea el tiempo de residencia mayor será el consumo de sustrato.

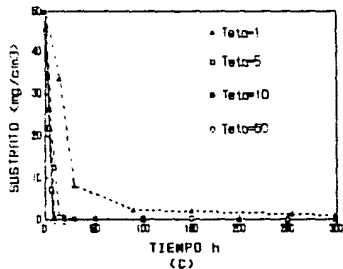
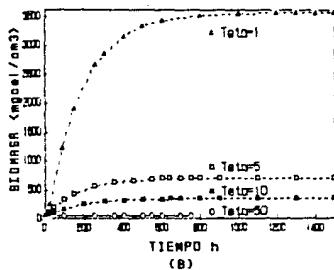
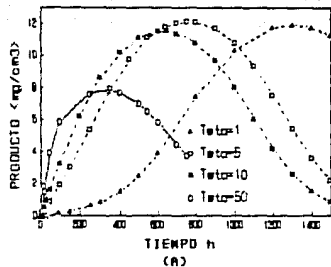


Figura 31. Modelo basado en cinética enzimática
 Variación del Tiempo de residencia (Teta=n)
 Concentración inicial de sustrato $S_0=50$ mg/cm³
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa
 (C) Consumo de sustrato

De este análisis se encontró que para el sistema con $X_0 = 20 \text{ mgcel/cm}^3$ y $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$ el tiempo de proceso se reduce cuando se usan valores grandes de θ ; en algunos casos la producción mejora y en otros disminuye dependiendo del valor de θ utilizado, esto significa que debe existir un valor de θ óptimo en el cual el tiempo de proceso se minimice y la producción sea máxima.

Para encontrar este valor de θ es necesario conocer la productividad, la cual se define como la producción total obtenida durante el tiempo total de proceso y se obtuvo sacando el área bajo la curva para todos los valores de S_0 y θ utilizados, resultando la figura 32.

Esta figura trata de resumir ambos efectos, tanto de concentración inicial de sustrato como de tiempo de residencia.

Se observa que la productividad disminuye a medida que el tiempo de residencia aumenta. Este comportamiento ocurre para cualquier concentración de sustrato inicial, existiendo algunas desviaciones principalmente para valores de S_0 grandes.

La productividad mayor con todos los valores de S_0 se obtiene a $\theta = 1$ hora, y de aquí en adelante, depende del tiempo de residencia y de la concentración inicial de sustrato que se disponga

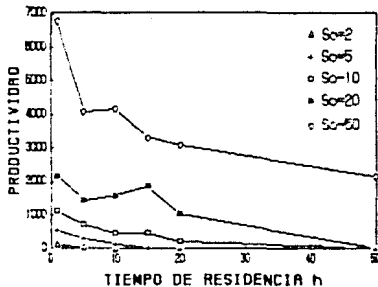


Figura 32. Modelo basado en cinética enzimática
Efecto del Tiempo de residencia y de la concentración inicial de sustrato sobre la productividad

Esta figura es muy importante porque muestra claramente que usar concentraciones altas de sustrato inicial da producciones altas, pero más aún porque permite conocer cual es la productividad máxima que se puede alcanzar y en que tiempo de residencia. Aunque no solo debe basarse en esto para decidir cual es el tiempo de residencia que se debe utilizar, es necesario analizar también el tiempo de duración de proceso, crecimiento de biomasa y máxima producción principalmente, para de aquí tomar la decisión adecuada. En consecuencia a lo antes dicho, el sistema $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$ $X_0 = 20 \text{ mgcel/cm}^3$ y $\Theta = 10 \text{ h}$ es el de mejores resultados.

C. ESTRATEGIA DE ALIMENTACION DE SUSTRATO.

Con los resultados anteriores se mostró la importancia que tiene el tiempo de residencia y la concentración inicial de sustrato sobre el sistema, también el efecto del consumo de sustrato, ya que es aprovechado casi en su totalidad llegando a valores muy pequeños a la salida. Por esta razón se intentó probar una estrategia de alimentación de sustrato para mejorar la producción y el tiempo de procesos principalmente.

La estrategia consiste en realizar una segunda alimentación de sustrato mayor a la original, una vez que el sustrato llega al estado estacionario, por ejemplo, en la figura 28(c) para el sistema con $\theta = 10$ h, $S_0 = 50$ mg/cm³ y $X_0 = 20$ mgcel/cm³ se vé que en las primeras 10 horas es consumido el sustrato y llega al estado estacionario, en este momento las concentraciones a la salida son: para sustrato $S = 0.31$ mg/cm³, producto $P=0.016$ mg/cm³, y biomasa $X = 51.11$ mgcel/cm³ en este momento se efectua la segunda alimentación partiendo de estas condiciones como iniciales pero con $S_0 = 100$ mg/cm³.

La figura 33, presenta, como la biomasa acelera su crecimiento llegando a una concentración de 700 mg/cm^3 , la producción incrementa también de 12 a 22.63 mg/cm^3 en el mismo tiempo de proceso (650 h) que para la curva de $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$.

Para la curva de $S_0 = 50-100 \text{ mg/cm}^3$, el máximo se alcanza tiempo después que el alcanzado con $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$ lo cual origina que el proceso dure más tiempo. Este comportamiento es natural porque los microorganismos ya pasaron la fase de crecimiento exponencial o es interrumpida, por lo tanto la producción es acelerada, al suministrar más sustrato, vuelve a generarse en poco tiempo otra curva de crecimiento de biomasa logrando mejorar la producción.

Por lo tanto, es recomendable aumentar la concentración inicial de sustrato, pues en cualquier caso la producción se incrementa.

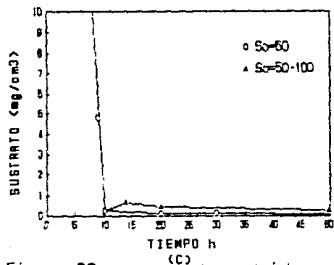
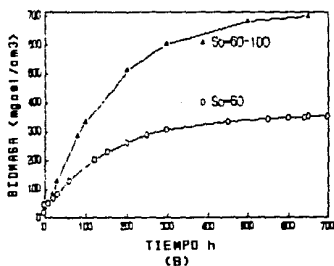
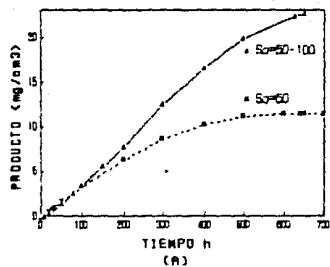


Figura 33. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de S_o .
Tiempo de residencia = 10 h.
(A) Producción de penicilina
(B) Crecimiento de biomasa
(C) Consumo de sustrato

Otra forma de analizar y aprovechar este comportamiento, es comparar los resultados obtenidos originalmente utilizando una concentración constante de sustrato durante todo el proceso, (sec.3.5 A), por ejemplo $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$, contra los resultados generados partiendo de una concentración inicial menor $S_0 = 20 \text{ mg/cm}^3$ y en la segunda alimentación suministrar la misma concentración del proceso anterior, $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$.

La figura 34 representa esta comparación, obteniendo en ambos casos la misma concentración de producto y de biomasa.

Este comportamiento ocurre porque la biomasa crece lo suficiente durante la primera alimentación para empezar a producir y al realizar la segunda alimentación de sustrato el crecimiento continúa y la producción aumenta de la misma manera que cuando se alimenta la misma concentración constante desde el principio.

Los valores de la concentración de biomasa son levemente menores que los de la curva original, pero alcanzan el mismo máximo de producción y de crecimiento al mismo tiempo de proceso. Gracias a este comportamiento se obtiene un ahorro de sustrato y un mejor aprovechamiento del tiempo y del sistema, pues aunque el tiempo de proceso se incrementa, da la posibilidad de prolongar la fase de producción, aprovechando la misma cantidad de biomasa y obteniendo mejores concentraciones de producto.

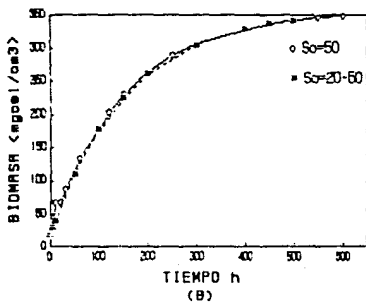
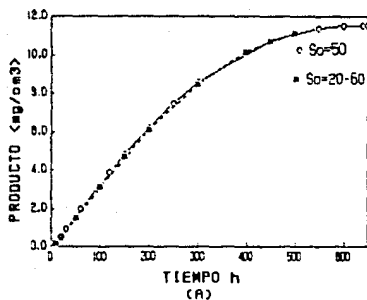


Figura 34. Modelo basado en cinética enzimática

Estrategia de alimentación de Sustrato.

Tiempo de residencia = 10 h.

(A) Producción de penicilina

(B) Crecimiento de biomasa

Cuando se usan estrategias de alimentación es necesario tener cuidado en utilizar un tiempo de residencia adecuado, pues comparando con los resultados obtenidos en las secciones 3.3 A. y B. se encontro que:

- Cuando el tiempo de residencia es pequeño, por ejemplo $\Theta = 1$ h, se presenta el mismo comportamiento descrito no importando la concentración de sustrato con la que se inicie el proceso. Aumentar este valor en la segunda alimentación origina un aumento en la producción, respecto a los resultados del procedimiento original. Se alcanza también la misma producción que la obtenida empleando la concentración de la segunda alimentación y manteniendola constante, como el procedimiento original.

Este comportamiento se muestra en las figuras 35 y 36.

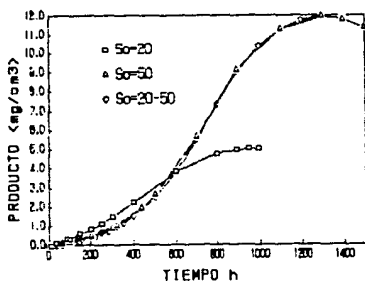


FIGURA 35. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de sustrato
Tiempo de residencia = 1 h

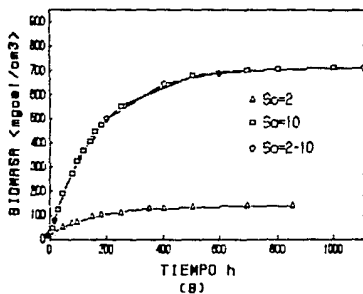
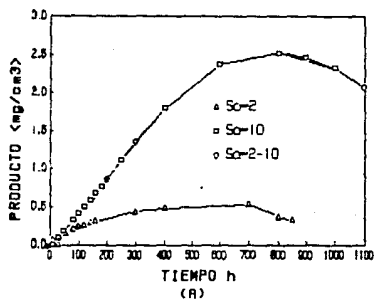


Figura 36. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de Sustrato.
Tiempo de residencia = 1 h.
(A) Producción de penicilina
(B) Crecimiento de biomasa

- Cuando el tiempo de residencia es mayor $\theta = 10$ h el comportamiento es el mismo que el señalado, como se muestra en la figura 37.

En dicha figura se puede observar que no es muy importante el valor del que se parta, por ejemplo: $S_0 = 5$ o 10 mg/cm^3 , puesto que al realizar la segunda alimentación $S_0 = 20$, las curvas tienen un ligero defasamiento las primeras 300 horas, pero al llegar a la producción máxima se obtiene la misma concentración de penicilina.

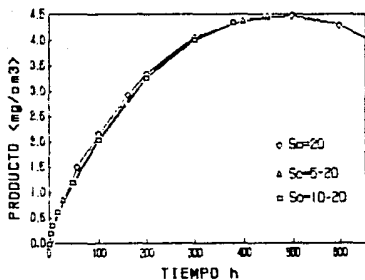


Figura 37. Modelo basado en cinética enzimática.
Estrategia de alimentación de sustrato.
Tiempo de residencia -10 h

- Si el tiempo de residencia es grande, por ejemplo, $\Theta = 50$ h el aumentar la concentración de sustrato es una buena estrategia, siempre y cuando la concentración inicial de sustrato no sea grande; ya que como se muestra en la figura 38, con un tiempo de residencia grande, la concentración de sustrato $S_0 = 10$ y 20 mg/cm^3 , es consumida rápidamente en un tiempo de 4 horas y al ser incrementado de $S_0 = 10$ a $S_0 = 20 \text{ mg/cm}^3$ el comportamiento cambia, separándose de la curva de $S_0 = 20 \text{ mg/cm}^3$ y no llega al mismo valor máximo sino a un valor más alto alargando el proceso.

Como se explicó anteriormente, cuando se usan tiempos de residencia grandes es necesario usar concentraciones iniciales de sustrato grandes, por esta razón si S_0 de la primera alimentación es pequeña conviene usar esta estrategia.

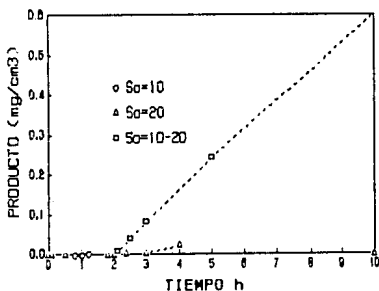


Figura 38. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de sustrato.
Tiempo de residencia = 50 h

Por otra parte, si partimos de concentraciones grandes por ejemplo $S_0 = 20 \text{ mg/cm}^3$ y se aumenta a $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$ durante las primeras 50 horas los resultados son iguales a los obtenidos en la sección, 3.5 A., las 400 horas siguientes se obtiene menor producción que el original hasta llegar a la producción máxima, la cual es la misma para ambos sistemas y de aquí en adelante el decaimiento en la producción es menor para el segundo sistema. Pero aún así en gran parte de tiempo de proceso se obtienen concentraciones menores usando esta estrategia, por esta razón no es recomendable usarla cuando se usan concentraciones iniciales de sustrato grandes. Este efecto se representa en la figura 39.

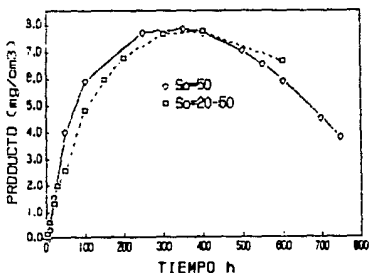


Figura 39. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de sustrato
Tiempo de residencia = 80 h

D. EFECTO DEL CAMBIO EN EL TIEMPO DE RESIDENCIA.

Basándose en los resultados obtenidos al variar la concentración inicial de sustrato y el tiempo de residencia, se utilizó una estrategia de aumento o disminución del tiempo de residencia de la misma manera que fue realizada al variar la concentración de sustrato inicial, S_0 .

Los experimentos numéricos se realizaron tomando el mismo criterio y valores de estado estacionario que para la alimentación de sustrato, pero en este caso manteniendo S_0 constante.

De los resultados reportados en la sección 3.3 A. se nota que sin usar ninguna estrategia, cuando se usan concentraciones de sustrato inicial grandes, la producción de 11.7 mg/cm^3 , se obtiene con un tiempo de residencia de 10 horas, si se aplica la estrategia a este sistema disminuyendo θ de 10 a 1 horas, se nota que la producción aumenta lentamente de la misma manera que lo hace el sistema normal con θ constante de 1 h, llegando a una concentración máxima de producción muy similar a la obtenida al usar $\theta = 10$ horas con un ahorro de 600 horas de proceso. La figura 40(A) muestra el comportamiento de esta estrategia.

En lo referente al crecimiento de biomasa, éste es mayor si se disminuye el tiempo de residencia puesto que el sustrato sólo es aprovechado para reproducirse, esto se vé en la figura 40(B).

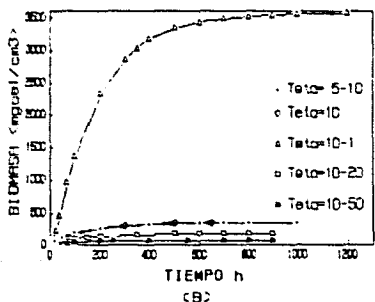
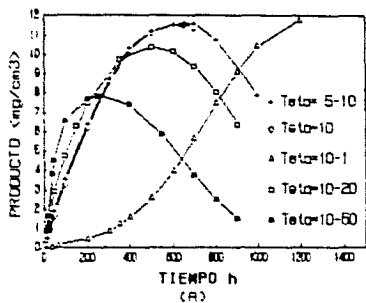


Figura 40. Modelo basado en cinética enzimática
 Efecto del cambio en el tiempo de residencia
 Concentración inicial de sustrato=50 mg/cm³
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa

Si por el contrario, se aumenta el tiempo de residencia de 10 a 20 horas o de 10 a 50 horas, en las 300 primeras horas de proceso la producción es mayor a la que se obtiene con Θ constante de 10 horas, pero alcanza su valor máximo rápidamente y disminuye, lo que no ocurre con $\Theta = 10$ h. (figura 40(A)). Esto se explica al analizar la figura 40(B), en donde se vé claramente cómo el crecimiento de biomasa en estos dos experimentos es menor que para 10 horas de tiempo de residencia.

Si se parte de un tiempo de residencia menor, por ejemplo $\Theta = 5$ horas y al llegar la curva de sustrato al estado estacionario se aumenta a 10 horas, se obtienen los mismos resultados que cuando se usa $\Theta = 10$ horas desde el principio y este mismo comportamiento se observa con el crecimiento de biomasa en la figura 40(B).

Esto ocurre debido a que para $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$ existe un tiempo de residencia óptimo y a que el cambio se realiza dentro de las primeras 100 horas del proceso, donde la curva de crecimiento todavía no llega a la fase de crecimiento exponencial y al usar la estrategia se comporta de la misma forma que cuando se usa el segundo valor de Θ desde el principio.

Cuando se parte de otro valor de tiempo de residencia por ejemplo $\theta = 20$ horas, la figura 41 indica cual es el efecto del tiempo de proceso sobre el comportamiento; en las primeras 200 horas es conveniente aumentar el tiempo de proceso pues la producción de penicilina es mayor que cuando θ es constante (20 h.), al aumentar el tiempo a 500 horas de proceso se obtienen mejores resultados y después de un tiempo de proceso de 600 horas se alcanza mejor producción si se disminuye θ . Dicho comportamiento demuestra la importancia de usar un tiempo de residencia adecuado.

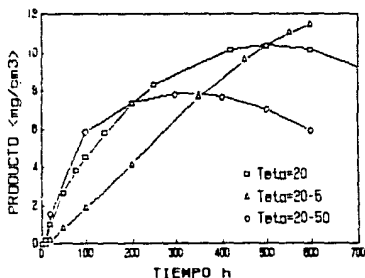


Figura 41. Modelo basado en cinética enzimática
Efecto del cambio en el Tiempo de Residencia
Concentración Inicial de sustrato $S_0=50 \text{ mg/cm}^3$

Tomando una concentración menor de sustrato inicial por ejemplo $S_0 = 10 \text{ mg/cm}^3$ con un tiempo de residencia de 10 horas, como el que representa la figura 42(A), se observa que en las 200 primeras horas de proceso es conveniente aumentar θ de 10 a 20 horas, si es disminuido de 10 a 5 horas en este mismo lapso de tiempo la producción es menor y baja aún más cuando el tiempo de residencia baja de 10 a 1 hora, pero el valor máximo alcanzado en este último es mayor que en los casos anteriores aunque a un mayor tiempo de proceso.

En este caso la mejor estrategia es disminuir de 10 a 5 horas, ya que cuando la disminución es muy grande el proceso es largo y la diferencia entre las producciones máximas de $\theta = 10-5$ y $\theta = 10-1$ horas no es apreciable.

Por el contrario, si se aumenta θ , el proceso dura menos tiempo y la producción es menor que la que se obtiene con $\theta = 10$ horas constante, como la mostrada en la figura 42(A). En la figura 42(B) se muestra el mismo sistema con $S_0 = 10 \text{ mg/cm}^3$ y $\theta = 50 \text{ h}$ en donde la producción es muy pequeña y sólo se distingue en las 20 primeras horas, al disminuir a 10 o 20 horas el tiempo de residencia la producción aumenta notablemente y se deduce que es conveniente usar esta estrategia cuando el tiempo de residencia es grande y la concentración de sustrato pequeña.

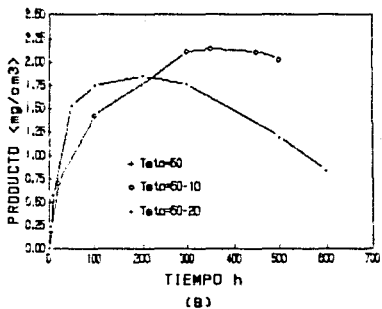
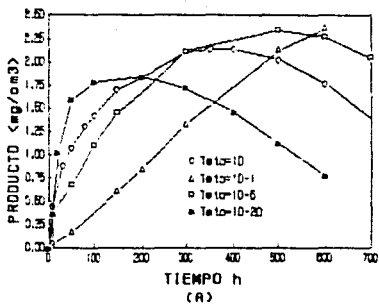


Figura 42. Modelo basado en cinética enzimática
 Efecto del cambio en el Tiempo de Residencia.
 Concentración inicial de sustrato 50=10 mg/cm³
 (A) Tiempos de residencia pequeños
 (B) Tiempos de residencia grandes

La figura 43 representa el sistema utilizando una concentración inicial de sustrato pequeña, $S_0 = 2 \text{ mg/cm}^3$, y se muestra que es conveniente disminuir el tiempo de residencia pues se incrementa la producción como ocurre en los sistemas usando $\Theta = 5-1 \text{ h}$ o $\Theta = 10-1 \text{ h}$, y ocurre lo contrario con los sistemas usando $\Theta = 1-5 \text{ h}$ y $\Theta = 1-10 \text{ h}$ respecto al sistema normal.

Al existir una concentración pequeña dentro del reactor no es posible usar tiempos de residencia grandes porque el sustrato se consume inmediatamente no existiendo crecimiento ni producción y de ser así, es conveniente disminuir Θ para aumentar el crecimiento y la producción aprovechando mejor el sustrato.

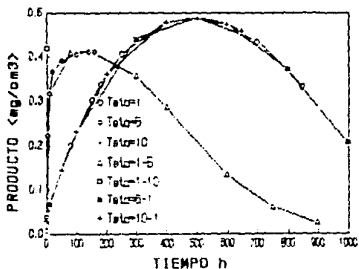


Figura 43. Modelo basado en cinética enzimática. Efecto del cambio en el Tiempo de Residencia. Concentración inicial de sustrato $S_0=2 \text{ mg/cm}^3$

E. ESTRATEGIA DE ALIMENTACION DE OXIGENO.

Debido a que la concentración de oxígeno disuelto en el medio es indispensable para el crecimiento y producción de biomasa, es necesario conocer como afecta al proceso la disminución y aumento del mismo comparándolo con el proceso normal.

Considerando que la agitación es perfecta, que no existen problemas difusionales en el medio y que se trabaja con la concentración óptima y constante de oxígeno puro $O_2^* = 1.26 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$, se obtiene una producción y crecimiento de los microorganismos estable.

En este experimento se utilizó una estrategia de alimentación de oxígeno en la cual se parte de $1.26 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ y al llegar al estado estacionario se disminuye a $0.1 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$. Ya que la disminución fué muy grande, la producción bajó y el tiempo de proceso aumentó. Este comportamiento se observa en la figura 44(A). En lo que se refiere al crecimiento de biomasa, la figura 44(B) indica como la concentración de biomasa no se afecta al disminuir a $0.1 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ni usando esta concentración de oxígeno constante desde el principio.

Se disminuyó la concentración de 1.26 a 0.5 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ dando mejores resultados que en el caso anterior, pero aún así la producción no mejora la del proceso normal y la reproducción de los microorganismos es la misma. Esto demuestra que los microorganismos aprovechan el oxígeno para vivir y reproducirse principalmente afectando a la producción.

Si la segunda alimentación se disminuye de 1.26 a 1.0 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$, los resultados de crecimiento de la biomasa, producción y consumo de sustrato son muy parecidos a los obtenidos en el proceso normal, pero el tiempo de proceso es mayor.

Esto se debe a que los microorganismos requieren de determinada cantidad de oxígeno para crecer, producir y consumir el sustrato, y de no ser suministrada la concentración de oxígeno adecuada, la biomasa lo aprovecha totalmente para crecer y la producción se efectúa lentamente o decrece, como se muestra en la figura 44(B).

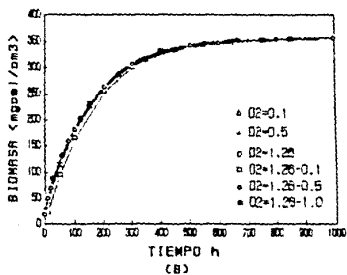
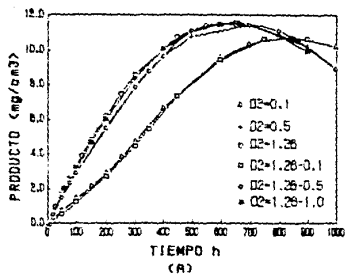


Figura 44. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de oxígeno (O₂resolución)
Tiempo de residencia = 10 h.
Concentración inicial de sustrato = 50 mg/cm³.
(A) Producción de penicilina
(B) Crecimiento de biomasa

Si se alimenta una concentración mayor a $1.26 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$, los resultados que se obtienen son los mismos que los del proceso normal, ya que sólo se disuelve esta cantidad, pues es la concentración de saturación de oxígeno disuelto en el sustrato, por ello no es conveniente utilizar este procedimiento porque el exceso de oxígeno que es burbujeado se pierde. Este fenómeno es representado en la figura 45.

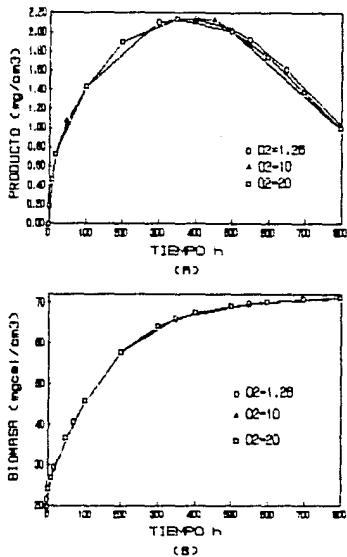


Figura 45. Modelo basado en cinética enzimática
Estrategia de alimentación de oxígeno (Aumento).
Tiempo de residencia = 10 h.
Concentración inicial de sustrato = $10 \text{ mg}/\text{cm}^3$.
(A) Producción de penicilina
(B) Crecimiento de biomasa

E. EFECTO CONJUNTO DE AUMENTO DE LA CONCENTRACION INICIAL DE SUSTRATO Y DISMINUCION DE OXIGENO SIMULTANEAMENTE.

El efecto del aumento de la concentración de sustrato, como se mencionó anteriormente, proporciona mayor producción respecto al proceso normal y se obtiene la misma producción que si se alimenta la concentración alta desde el inicio del proceso manteniéndola constante. Por otra parte, también se observó que al disminuir la concentración de oxígeno la producción disminuye. Al combinar ambos procedimientos ocurre el mismo comportamiento, el cual se vé en la figura 46.

Quando S_0 es igual a 50 mg/cm^3 se alcanza la producción máxima en 620 horas de proceso siendo de 11.56 mg/cm^3 , lo mismo ocurre para el sistema donde se aplicó la estrategia de alimentación de sustrato de 20 a 50 mg/cm^3 con $1.25 \text{ } \mu\text{mol/cm}^3$ de oxígeno, pero al disminuir el oxígeno a $0.1 \text{ } \mu\text{mol/cm}^3$ la producción baja a 9.66 mg/cm^3 , como se vé en la figura 46(A).

En lo referente al crecimiento de biomasa, la figura 46(B) indica cómo en los tres casos se llega a la misma concentración sin importar si el oxígeno es disminuído. Ocurre así porque los microorganismos utilizan tanto el sustrato como el oxígeno para mantenerse vivos y reproducirse y si la concentración de oxígeno es óptima, la producción mejora; de no ser así la producción disminuye, lo que indica que la concentración de oxígeno es importante para la reproducción de los microorganismos, pero más aún para la producción.

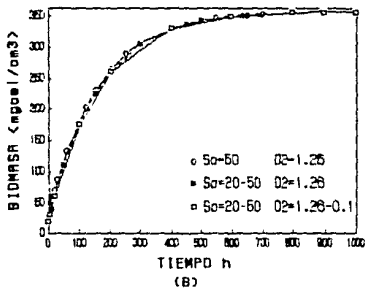
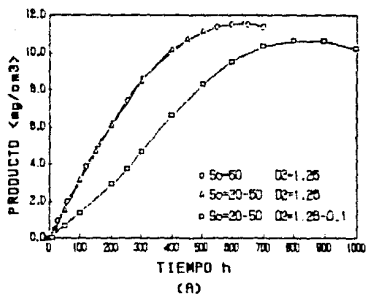


Figura 4B. Modelo basado en cinética enzimática
 Efecto conjunto de aumento de So y disminución
 de oxígeno simultáneamente.
 Tiempo de residencia = 10 h.
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa

G. EFECTO CONJUNTO DE DISMINUCION DE LA CONCENTRACION
DE OXIGENO Y DE LA VARIACION DEL TIEMPO DE RESIDENCIA
SIMULTANEAMENTE.

La producción obviamente se ve afectada cuando la concentración de oxígeno disminuye y el tiempo de residencia varía, representando este comportamiento en la figura 47(A), en donde se vé claramente el defasamiento que existe entre las curvas generadas usando la concentración de oxígeno constante de $1.26 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ y las obtenidas al disminuir la concentración de D_0 de 1.26 a $0.1 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$. El oxígeno es aprovechado principalmente para el crecimiento de la biomasa como se indica en la figura 47(B).

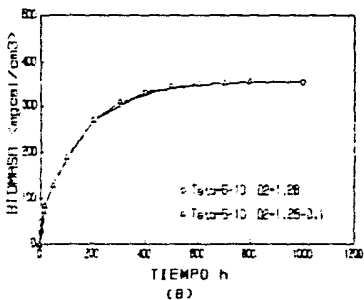
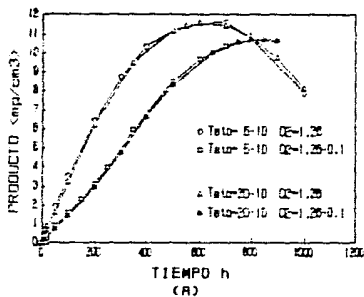


Figura 47. Modelo basado en cinética enzimática.
 Efecto conjunto de disminución de Oxígeno y variación del tiempo de residencia simultáneamente.
 Concentración de sustrato inicial = 50 g/gr³
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de células

H. EFECTO GLOBAL DE ALIMENTACION DE SUSTRATO, VARIACION DEL TIEMPO DE RESIDENCIA Y DISMINUCION DE OXIGENO SIMULTANEAMENTE.

Como se vió en las estrategias anteriores, la de alimentación de sustrato es conveniente usarla siempre y cuando se realice con la concentración óptima y constante de oxígeno, puesto que de ser disminuído baja la producción. El aumento o disminución del tiempo de residencia es aconsejable dependiendo de las condiciones iniciales que se tengan y ocurre la misma disminución en la concentración de producto que la observada cuando la cantidad de oxígeno baja.

Si se usan las tres estrategias simultaneamente el comportamiento sigue la misma tendencia que cuando se usan por separado, la figura 4B representa como con la estrategia de alimentación de $S_0 = 20-50 \text{ mg/cm}^3$ y la variación del tiempo de residencia de $\theta = 5-10 \text{ h}$, $\theta = 20-10 \text{ h}$ y $\theta = 10-20 \text{ h}$ con la concentración de oxígeno constante se obtiene una mayor producción, que cuando se usan los mismos sistemas pero disminuyendo la concentración de oxígeno, ocurriendo los mismos fenómenos antes descritos.

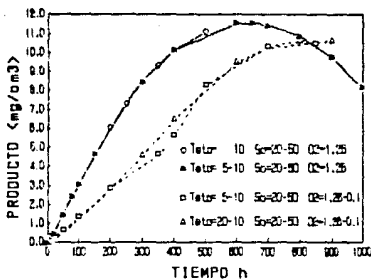


Figura 48. Modelo basado en cinética enzimática
Efecto global de variación del tiempo de residencia
disminución de oxígeno y alimentación de sustrato
simultáneamente.

I. VARIACION DE LA CONCENTRACION INICIAL DE BIOMASA.

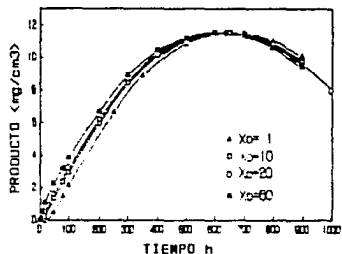
Hasta este paso la concentración inicial de biomasa X_0 ha sido considerada como constante e igual a 20 mgcel/cm^3 , pero es necesario conocer como afecta esta variable al proceso.

Se tomaron los valores de $X_0 = 1, 10, 20, 50 \text{ mgcel/cm}^3$, tomando como base de comparación el sistema con $\theta = 10 \text{ h}$, $X_0 = 20 \text{ mgcel/cm}^3$, $S_0 = 50 \text{ mg/cm}^3$, $O_2 = 1.25 \text{ } \mu\text{mol/cm}^3$.

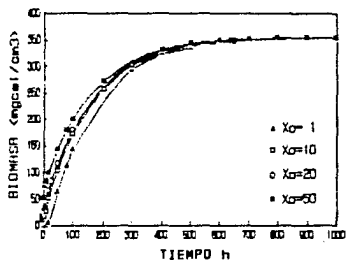
En la figura 49 se muestra que en la primera fase el crecimiento y la producción son lentos al usar concentraciones de biomasa pequeñas y al aumentarla el proceso se realiza rápido, llegando en cualquier caso al mismo valor máximo de producción de penicilina y de crecimiento de biomasa, figura 49(B).

La figura 49(C), muestra como el sustrato es consumido lentamente con valores de X_0 pequeños, por ejemplo: $X_0 = 1 \text{ mgcel/cm}^3$, pero el crecimiento es el mismo, lo cual indica que el proceso se ve afectado en mayor proporción por las condiciones de tiempo de residencia y concentración de sustrato inicial.

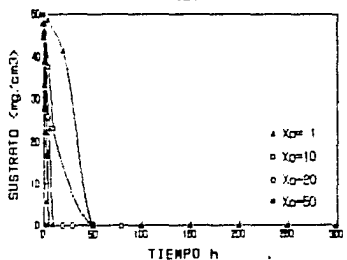
Es natural que al existir menor concentración de biomasa el sustrato se consuma lentamente hasta llegar a una concentración de biomasa en el estado estacionario. Si la concentración de biomasa es mayor, el consumo de sustrato también lo es, pero la producción y el crecimiento de la biomasa en el estado estacionario son los mismos no importando la concentración de biomasa inicial. Esto ocurre porque siendo la concentración de sustrato inicial y el tiempo de residencia constantes, el sustrato es consumido favorablemente para la reproducción de biomasa, hasta cierta concentración, la cual limita a la producción.



(A)



(B)



(C)

Figura 49. Modelo basado en cinética enzimática
 Variación de la concentración inicial de biomasa
 Tiempo de residencia = 10 h. $S_0 = 60 \text{ mg/cm}^3$.
 (A) Producción de penicilina
 (B) Crecimiento de biomasa
 (C) Consumo de sustrato

J. COMPARACION DE LOS METODOS NUMERICOS.

Para este modelo fueron también comparados los 2 métodos numéricos, el de Runge-Kutta 4^o orden con tamaño de paso de $1E-2$ y el de Michelsen (SIRK), con tamaño de paso inicial de $1E-4$ y tolerancia de $1E-5$.

Dada la forma de las ecuaciones, las cuales dependen simultáneamente de muchas variables y constantes, existen problemas de estabilidad, lo cual origina desviaciones del método de Runge-Kutta respecto del SIRK. En la figura 50, se muestran estas desviaciones, que ocurren de acuerdo al tamaño de paso utilizado en el método numérico y a los valores de los parámetros de las ecuaciones diferenciales involucradas.

Utilizando dicho tamaño de paso en el Runge-Kutta, el tiempo de proceso de datos es aproximadamente de 2 a 3 veces mayor respecto del SIRK. Para disminuir las desviaciones es necesario disminuir el tamaño de paso, originando que el tiempo de cómputo sea aún mayor (4 a 5 veces); por lo tanto, para este modelo el método SIRK es más confiable, pues la tolerancia puede disminuirse obteniendo mejor precisión y un tiempo de procesamiento de datos razonable.

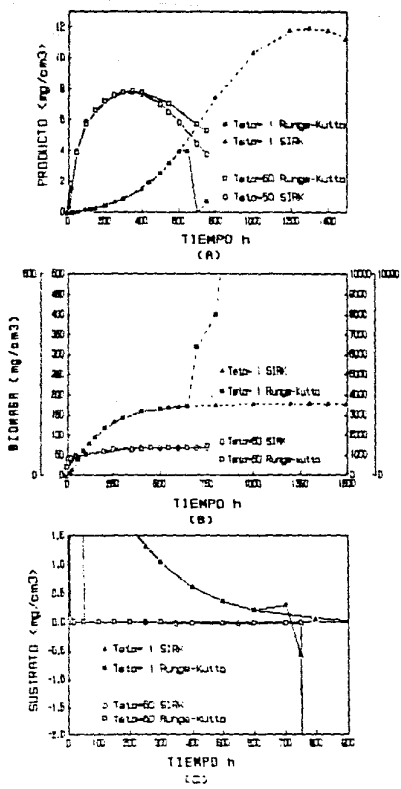


Figura 50. Modelo basado en cinética enzimática. Comparación de los métodos numéricos. Concentración inicial de sustrato = 50 mg/cm³. (A) Producción de penicilina (B) Crecimiento de la biomasa (C) Consumo de sustrato

4. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Apartir del análisis del comportamiento de un reactor continuo para producción de penicilina basado en los modelos cinéticos y utilizando los métodos numéricos citados anteriormente, emergen las siguientes conclusiones:

- El modelo de la edad celular sólo considera la producción de penicilina en función de la concentración inicial de biomasa, no da información sobre la reproducción como tal, pero sí del tiempo de vida útil del microorganismo, dependiendo de las condiciones de tiempo de residencia y concentración de biomasa inicial. Por lo tanto, este modelo sólo es útil analizarlo para encontrar el rango de tiempo adecuado en el cual el microorganismo está en condiciones óptimas para producir.

- El modelo basado en la ley logística a pesar de dar información sobre reproducción de la biomasa y producción de penicilina no es suficiente, puesto que para cualquier caso llega al valor estable de 3.93 mgcel/cm^3 y no hay forma de modificar dicho valor debido a que las constantes de este modelo, fueron obtenidas por un método numérico basándose en datos experimentales obtenidos de diferentes corridas pero con condiciones fijas o variables en un rango muy pequeño. Por lo tanto, con este modelo sólo es factible encontrar el mejor tiempo de residencia y el rango de tiempo en el que el microorganismo está en condiciones óptimas para producir.

- El modelo basado en cinética enzimática de Bajpai y Reuβ es el más completo, por esta razón el análisis basado en este modelo fué más amplio y dá oportunidad de modelar el sistema completamente.

En base a este modelo se encontró que es factible usar estrategias de alimentación de sustrato y oxígeno, variando el tiempo de residencia.

Para alcanzar producciones altas de penicilina, deben utilizarse tiempos de residencia intermedios y concentraciones de sustrato altas. El tiempo de residencia óptimo está entre 5 y 10 horas, la concentración inicial de biomasa 20-50 mgcel/cm³, concentración inicial de sustrato 50 mg/cm³, concentración de oxígeno constante de 1.26 μmol/cm³.

Considerando que son organismos vivos que crecen, se reproducen y mueren en un tiempo muy corto y dependiendo de las necesidades que se tengan, será la estrategia a utilizar tanto de variación de Θ , So, Oz e inoculo inicial.

La mejor estrategia utilizada fué aumentar la concentración inicial de sustrato en el estado estacionario, pues se ahorra sustrato y se obtiene la misma producción que del sistema original.

La estrategia de variación de tiempo de residencia es conveniente utilizarla cuando no se trabaja desde el inicio con las condiciones óptimas y al moverlos es factible mejorar el proceso.

La concentración de oxígeno es muy importante pues de ella depende enormemente la producción de penicilina y no el crecimiento, pues sólo es aprovechado el oxígeno disuelto en mayor proporción para vivir y reproducirse, y no para producir penicilina. Por esta razón, en ningún caso es conveniente usar esta estrategia de disminución de oxígeno. En el caso en que la concentración de oxígeno alimentado sea mayor que la concentración de oxígeno en equilibrio con el sustrato ($1.25 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$) el exceso de oxígeno no es aprovechado y se elimina.

La concentración inicial de biomasa no es un factor que afecta en gran medida al proceso porque se alcanza la misma producción y el mismo crecimiento no importando la concentración inicial que se utiliza, lo único que cambia es el tiempo de proceso para la fase de crecimiento de los microorganismos.

Este análisis es muy importante para poder realizar posteriormente el diseño óptimo del equipo considerando los resultados obtenidos de este trabajo (tiempo de residencia, crecimiento de la biomasa y cantidad de producto obtenido) y

del proceso en general y para poder escalar de nivel laboratorio a planta piloto e a nivel industrial.

Para realizar este escalamiento es necesario profundizar más sobre las condiciones del reactor, como son las resistencias a la transferencia de oxígeno, y sustrato causadas por factores como la viscosidad, mala agitación, etc. y como afectan estas resistencias al crecimiento microbiano y por lo tanto, a la producción.

También es recomendable analizar como serán empacados los microorganismos ya sea con soporte o no, y cual es el tipo de soporte adecuado (dimensiones, geometría, material, etc.); conocer cual es el espesor óptimo para alcanzar el mejor crecimiento, basandose en los resultados obtenidos.

Además es necesario vigilar a los microorganismos durante el proceso para evitar posibles mutaciones o muerte causadas por fluctuaciones en el pH, temperatura, agitación, inhibiciones por exceso de sustrato.

- Los métodos numéricos dan resultados iguales para los modelos de edad celular y ley logística pues no tienen problemas de estabilidad, la única limitación para el Runge-Kutta es el tiempo de procesamiento de los datos. El modelo de la cinética enzimática tiene grandes problemas de estabilidad sobre todo en las ecuaciones de consumo de

sustrato y producción de penicilina, por esta razón es recomendable usar el método semimplícito (SIRK) para resolver este sistema.

En base a esta simulación no sólo es factible modelar el proceso de producción de penicilina puede realizarse también este estudio para cualquier otro metabolito secundario, o cualquier otra fermentación que tenga características similares, puesto que se tiene el algoritmo de solución de los balances de materia. Usando las ecuaciones cinéticas correspondientes a la fermentación que se desee modelar y definiendo cuales son las variables de control, es posible conocer el comportamiento de un gran número de fermentaciones sin necesidad de realizarlas prácticamente ahorrando trabajo tiempo y dinero.

Finalmente el desarrollo de este trabajo es atractivo pues el proceso de producción de penicilina y metabolitos secundarios es de alto valor agregado y baja producción, por lo cual realizar un proceso continuo aumenta la producción, y permite la operación del reactor durante un tiempo más largo que el que se tiene en la operación por lotes y permite un mejor control de las variables.

5. BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

1. Gusakov A., Sinitsyn A., *Biotechnol. & Bioeng.*, 28, (1987), pp. 898-900.
2. Fournier R., *Biotechnol. & Bioeng.*, 28, (1986), pp. 1206-1212.
3. Bailey J., Ollis P., *Biochemical Engineering Fundamentals* Mc. Graw Hill, Book Co. 1977.
4. Sugaya K., Tusé D., *Biotechnol. & Bioeng.*, 28, (1986), pp. 678-683.
5. Peppier H., Perلمان D., *Microbial Technology V.1, Microbial Process. Segunda edición.* 1979.
6. Quintero R., *Ingeniería Bioquímica.* Ed Alhambra. 1981.
7. Righelato R., *The Filamentous Fungi. V. 1,* Eduard Arnold, Londres, 1975.
8. Aiba S., Humphrey A., *Biochemical Engineering.* Academic Press. New York. 1973.
9. Atkinson B., *Biochemical Reactors.* Pion Limited, Londres. 1974.
10. Lapidus L. Amundson N., *Chemical Reactor Theory. A Review.* Prentice-Hall. 1977.
11. Luyben W., Wenzel L., *Chemical Process Analysis. Mass and Energy Balances.* Prentice-Hall. 1988.
12. Steel R., *Development of aerobic fermentation process: Penicillin.* Biochemical Engineering. New York. 1958.
13. Constantínides A. Jr. *Biotechnol. & Bioeng.*, 12, (1970), pp. 803.
14. Luedeking R., Piret E. J. *Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, 1, (1959), pp. 393.
15. Calam C., Ismail B., *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 30, pp. 249, (1980).
16. Shu P., *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.* 3, p.95 (1961).
17. Heijnen I., *J. Biotechnol. & Bioeng.*, 21, 2175 (1979).
18. Fisherman V., Biryudov V., *Biotechnol. & Bioeng. Symp.* 4, 647, (1974).

19. Bajpai R., Reuß M., J. Chem. Tech. Biotechnol., 30, 332 (1980).
20. Bajpai R., Reuß M., Biotechnol. Bioeng., 23, 717 (1981).
21. Davis M., Wallis D., Biotechnol. & Bioeng., 26, pp. 468-476 (1984).
22. Pirt S. Callow D., J. Appl. Microbiol., 23, 87 (1960).
23. Pirt S., Righelato R., J. Appl. Microbiol., 15, 1284-1290 (1967).
24. Constantinides A., Applied Numerical Methods with Personal Computers. Mc. Graw-Hill, 1987.
25. Giona A., Morrelli L., J. Biotechnol. & Bioeng., 18, 473 (1976).
26. Ryu D., Humphrey A., J. Ferment. Technol., 50, 424 (1972).
27. Park Y., Davis M., Wallis D., J. Biotechnol. & Bioeng., 26, pp. 457-470 (1984).
28. Giona A., Morrelli L., J. Biotechnol. & Bioeng., 19, 1225, (1977).
29. Luthé R., Olivera A., Métodos Numéricos. Ed. Limusa, 1986.
30. Franks R. Modeling and Simulation in Chemical Engineering. Wiley-Inter Science, 1972.
31. Iriarte R., Borrás H., Apuntes de Métodos Numéricos. Editado por el Departamento de Matemáticas Aplicadas de la Facultad de Ingeniería de la UNAM, 1984.
32. Davis E. Numerical Methods and Modeling for Chemical Engineers. John Wiley & Sons, 1984.
33. Lapidus L., Seinfeld J. Numerical Solutions of Ordinary Differential Equations. Mathematics in Science and Engineering. Academic Press, New York, 1971.
34. Michelsen M. AIChE Journal, V.22, # 3, PP. 594-597. May 1976.
35. Fried I., Numerical Solution of Differential Equations. Academic Press, 1979.
36. Lambert J., Computational Methods in Ordinary Differential Equations. Ed. J. Wiley & Sons, 1973.

6. A P E N D I C E A

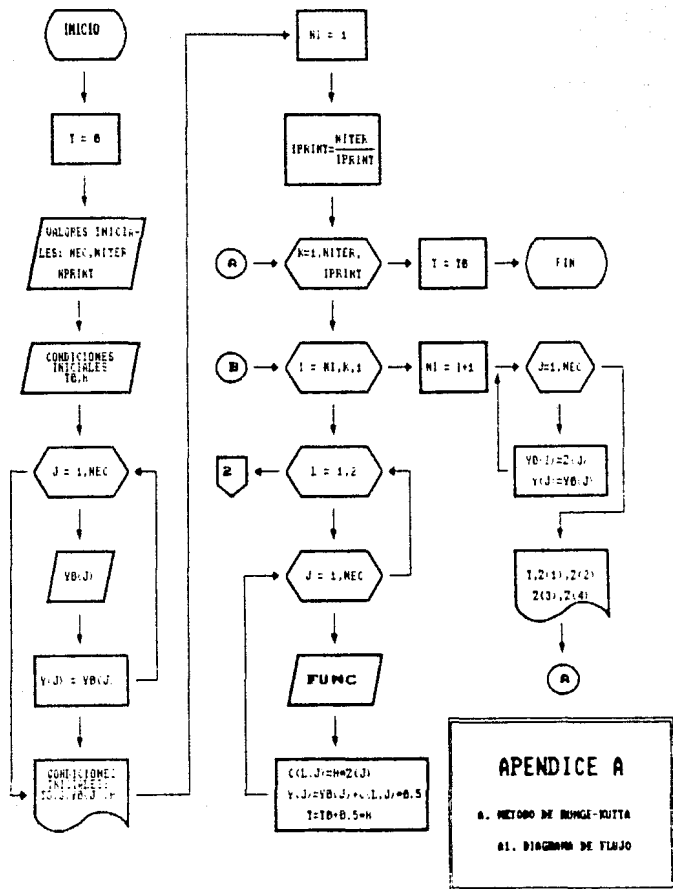
APENDICE A

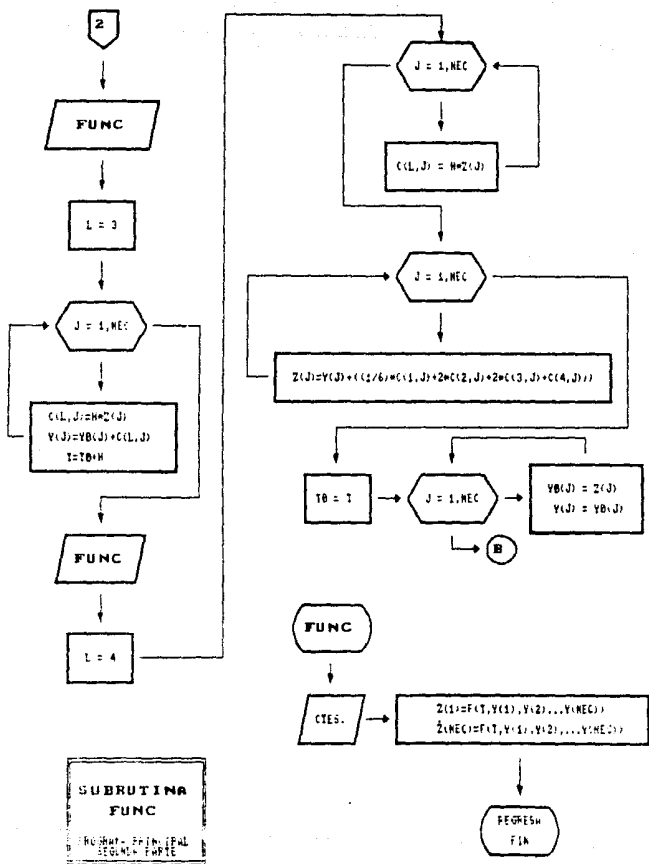
Esta sección muestra los diagramas de flujo y los listados de los métodos numéricos utilizados en este trabajo.

En base a los diagramas de flujo fueron estructurados los programas en lenguaje FORTRAN 77; a continuación se indican los pasos a seguir para utilizar estos programas.

- A. RUNGE-KUTTA DE 4° ORDEN

- PASO 1. Introducir en la subrutina FUNC las ecuaciones a resolver $Z(1), Z(2), \dots, Z(NEC)$, en función de las variables dependientes $y(1), y(2), \dots, Y(NEC)$. Esta subrutina debe contener todas las constantes requeridas.
- PASO 2. Una vez que el programa contiene las funciones, se debe correr introduciendo los valores iniciales:
NEC: Número de ecuaciones a ser integradas.
NITER: Número total de iteraciones.
NPRINT: Número de impresiones.
T0: Variable independiente.
H: Incremento o tamaño de paso.
J: Contador del número de ecuaciones.
- PASO 3. Introducir las condiciones iniciales $YO(J)$, de las variables dependientes.
- PASO 4. El programa imprime las condiciones iniciales alimentadas y a continuación los resultados que dan solución a las ecuaciones de acuerdo al número de impresiones alimentadas.





A2. PROGRAMA EN FORTRAN 77

```

DIMENSION C(50,50),Y(50),YO(50),Z(50),U(50)
OPEN(8,FILE='FM',STATUS='NEW',ACCESS='SEQUENTIAL',
*  FORM='FORMATTED')
T=0
WRITE(8,5)
5  FORMAT(5X,'TIEMPO DE RESIDENCIA=?',50 INIC=?',50 INIC=?',/)
READ(8,5)ITETA,SIN,OIN
6  FORMAT(10,0,2F12.8)
WRITE(8,6)
10 FORMAT(2X,'INTRODUCIR VALORES INICIALES',/)
WRITE(8,6)
15 FORMAT(5X,'NUM. DE ECUACIONES A SER INTEGRADAS=?',/)
READ(8,30)NEC
WRITE(8,6)
40 FORMAT(5X,'NUM. DE ITERACIONES',/)
READ(8,30)NITER
WRITE(8,6)
45 FORMAT(5X,'NUM. DE IMPRESIONES',/)
READ(8,30)NPRINT
50 FORMAT(15)
WRITE(8,6)
30 FORMAT(5X,'INTRODUCIR VALORES INICIALES DE LAS FUNCIONES',/)
32 FORMAT(5X,'TIEMPO INIC., X0, Y0, Z0, OO, INCREMENTO',/)
READ(8,18)TO,M
18 FORMAT(2(F12.8))
DO 33 J=1,NEC
READ(8,21)YO(J)
21 FORMAT(F12.8)
Y(J)=YO(J)
33 CONTINUE
WRITE(8,22)
WRITE(8,22)
22 FORMAT(5X,'RESULTADOS DE LAS FUNCIONES',/)
DO 35 J=1,NEC
WRITE(8,24)TO,J,YO(J)
WRITE(8,24)TO,J,YO(J)
24 FORMAT(5X,'T=',F12.8,'Z(',F12.8,')=',F12.8)
35 CONTINUE
I=0
WRITE(8,25)ITETA,M
N1=1
WRITE(8,71)
WRITE(8,71)
71 FORMAT(5X,'*',7X,'T',5X,'*',5X,'X',5X,'*',7X,'Y',5X,'*',7X,'Z')
WRITE(8,70)
WRITE(8,70)
70 FORMAT(5X,'*****')
IPRINT=NITER/NPRINT
DO 42 K=1,NITER,IPRINT

```

```

DO 41 J=1,K,1
DO 44 L=1,2
DO 44 J=1,NEC
CALL FUNC(T,E,YO,Y,sln,ltela,o)
C(L,J)=N*Z(J)
Y(J)=YO(J)+C(L,J)*O.S
T=TO+O.5*H
44 CONTINUE
CALL FUNC(T,E,YO,Y,sln,ltela,o)
L=3
DO 55 J=1,NEC,1
C(L,J)=N*Z(J)
Y(J)=YO(J)+C(L,J)
T=TO+H
55 CONTINUE
CALL FUNC(T,E,YO,Y,sln,ltela,o)
L=4
DO 46 J=1,NEC
C(L,J)=N*Z(J)
46 CONTINUE
DO 47 J=1,NEC
Z(J)=YO(J)+((1./8.)*(C(1,J)+2.*C(2,J)+2.*C(3,J)+C(4,J)))
47 CONTINUE
TO=T
DO 48 J=1,NEC
YO(J)=Z(J)
Y(J)=YO(J)
48 CONTINUE
C
*****
C
*          FORMATO DE RESULTADOS          *
C
*****
41 CONTINUE
75 FORMAT('X','TIEMPO DE RESIDENCIA = ',I4,3X,'INC=',F10.4,/)
NI=NI+1
DO 43 J=1,NEC
YO(J)=Z(J)
Y(J)=YO(J)
43 CONTINUE
WRITE(0,50)T,Z(1),Z(2),Z(3)
WRITE(0,50)T,Z(1),Z(2),Z(3)
50 FORMAT(' ',F12.8,' ',F12.8,' ',F12.8,' ',F12.8,' ')
42 CONTINUE
T=TO
END
*****
C
* METER LAS FUNCIONES dx/dt,d^2/dt^2,d^3/dt^3 *
C
* EN LAS LINEAS *
C
*****
SUBROUTINE FUNC(T,E,YO,Y,sln,ltela,o)
DIMENSION C(50,50),Y(50),YO(50),Z(50),U(50)
UX=O.1
AKX=8.E-2
AKOX=1.11E-3*1.28
UP=4.E-3

```

```

AKP=E.E-6
AKI=0.1
AKOP=E.E-5
AKD=0.01
YKE=0.49
YPE=1.2
AME=0.016
YKD=0.04
YPO=0.2
AMD=0.487
AKYM=300.
COSAT=1.28
O=1.28
Z(1)=UX*Y(1)*(Y(2)/(AKX*Y(1)+Y(2))*(O/(AKOX*Y(1)+O))
U(2)=UPPY(1)*(Y(2)/(AKP+Y(2))*IS*(Y(2)/AKI))*(O/(AKOP*Y(1)+O))
Z(2)=U(2)-AKD*Y(2)-Y(2)/ITETA
Z(3)=(1./YKE)*E(1)-(1./YPE)*E(2)-AME*Y(1)*(1./ITETA)*(SIN-Y(2))
RETURN
END

```

- B. MICHELSEN (SIRK).

Las principales variables utilizadas son:

W: Multiplicadores de error.
HO: Paso medio inicial.
XST: Valor inicial de la variable independiente.
EPS: Tolerancia.
Y(O): Valores iniciales de las variables dependientes.
NCOM: Número de ecuaciones a ser integradas.
NTAB: Número de intervalos.
XTAB: Intervalos deseados.
NPRINT: Número de impresiones.

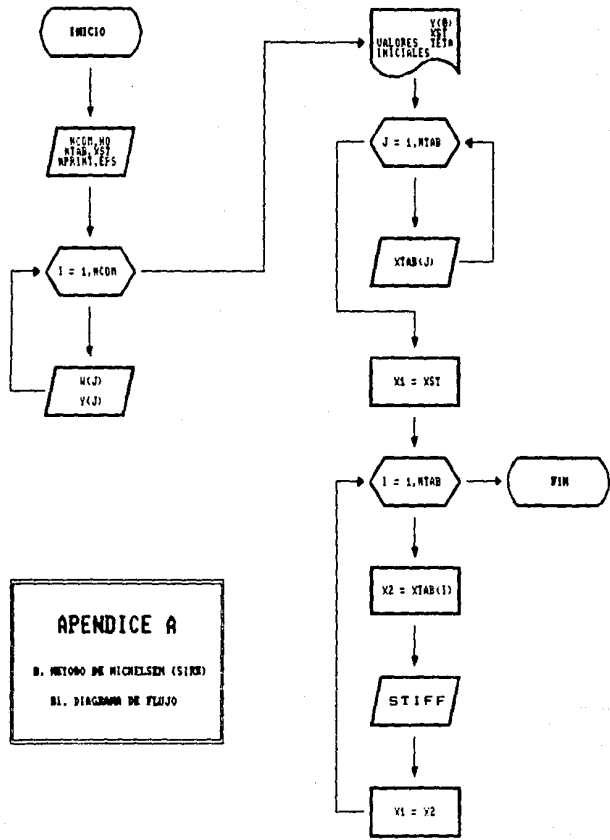
PASO 1. Introducir las funciones a ser resueltas dentro de la subrutina FUN conteniendo las constantes necesarias.

PASO 2. Cambiar la salida a impresión en la subrutina OUT.

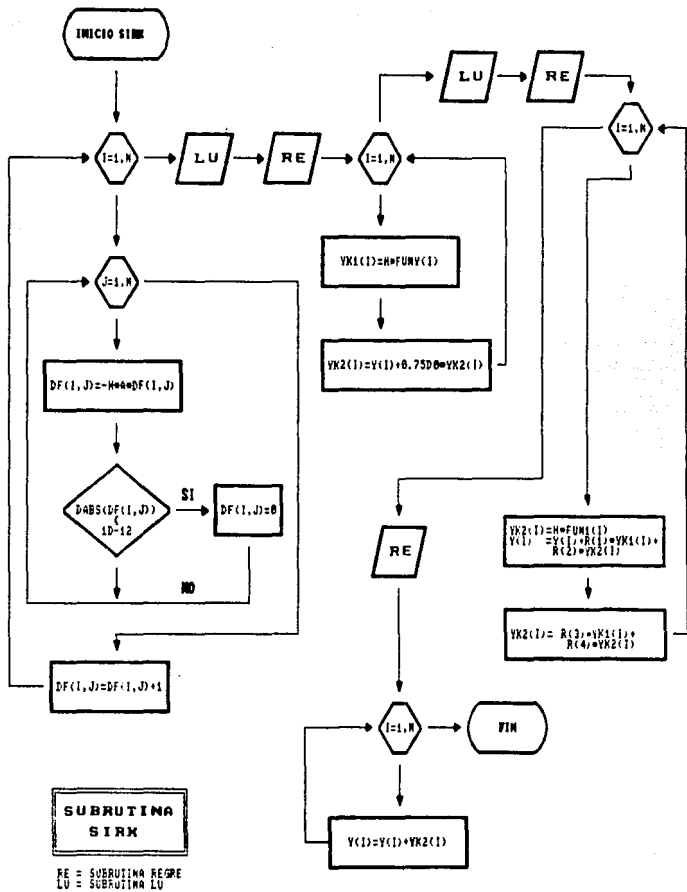
PASO 3. Correr el programa introduciendo las variables que indica el programa incluyendo los valores iniciales.

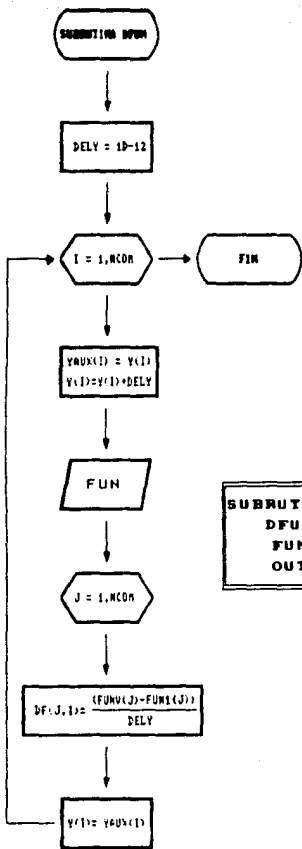
PASO 4. Introducir los valores de la variable independiente de los cuales se requiera obtener los resultados de las funciones y que se deseen imprimir.

El programa imprimirá los resultados obtenidos en los puntos indicados anteriormente.

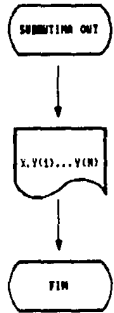
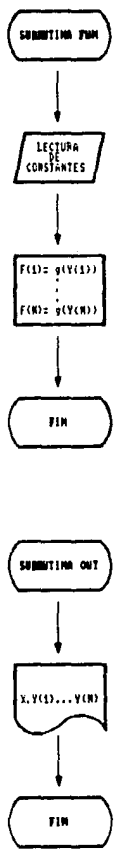


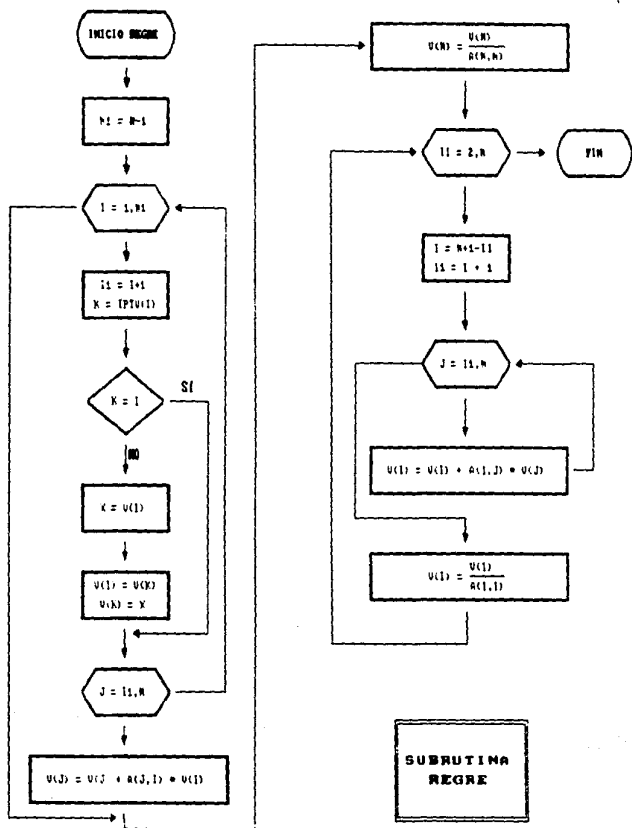
APENDICE A
 B. METODO DE RUNGE-KUTTA (SIRK)
 BI. DIAGRAMA DE FLUJO

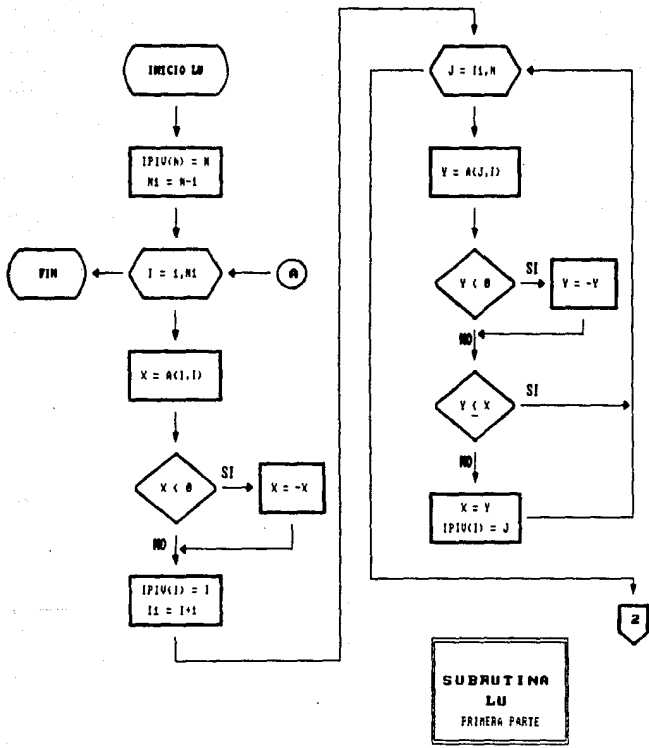




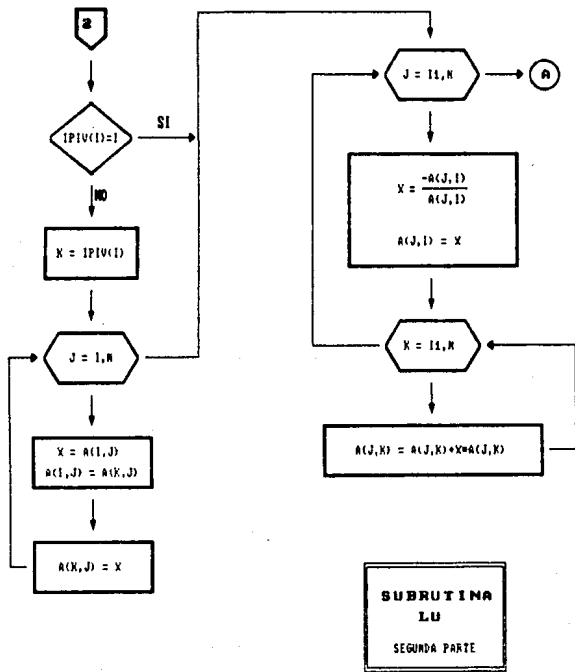
SUBROUTINAS
DFUN
FUN
OUT



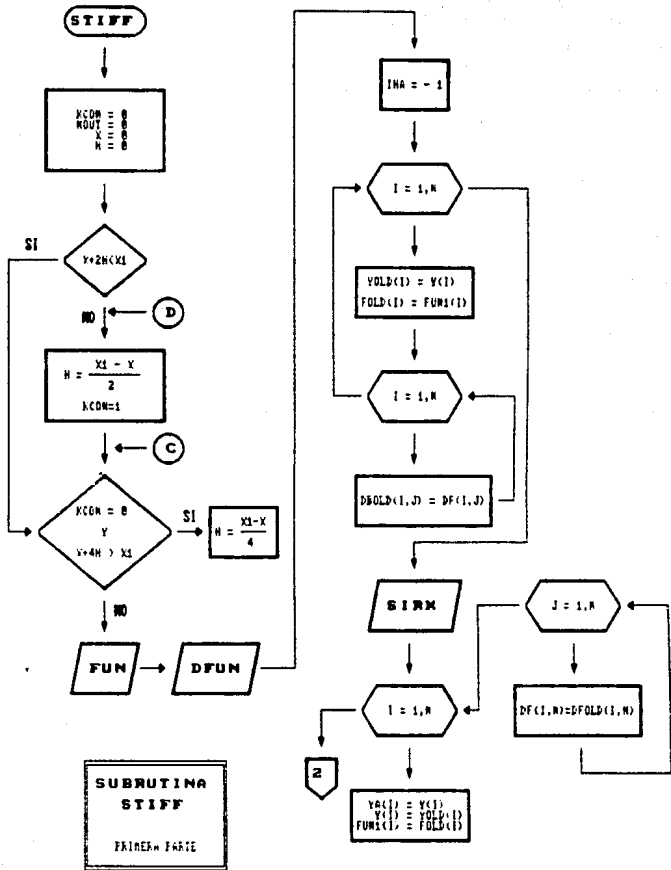


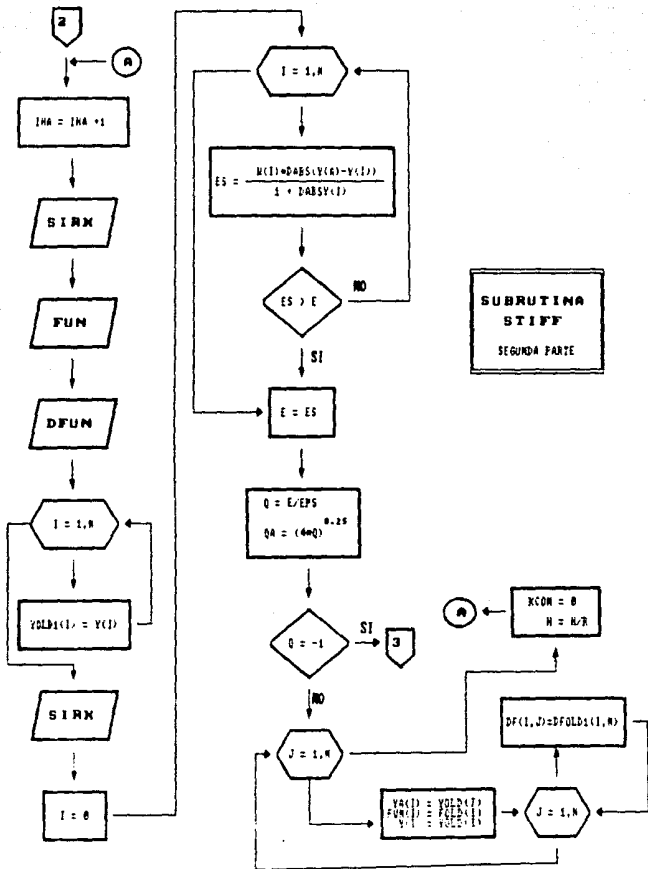


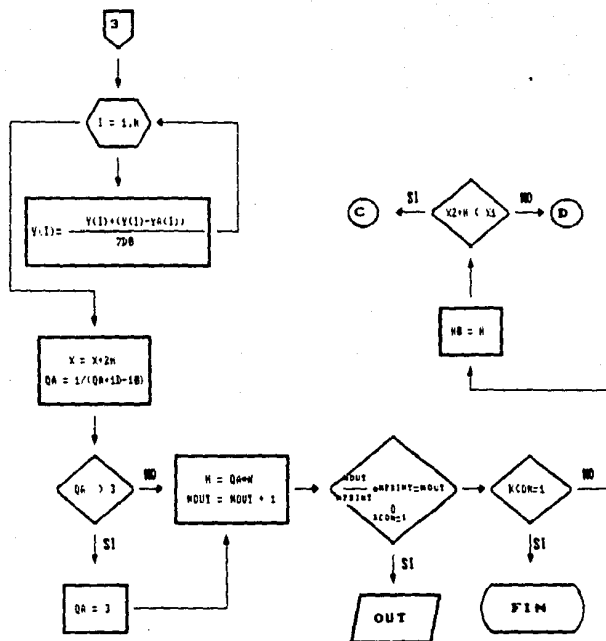
**SUBROUTINA
LU
PRIMERA PARTE**



**SUBROUTINA
LU
SEGUNDA PARTE**







**SUBROUTINA
STIFF
TERCERA PARTE**

B2. PROGRAMA EN FORTRAN 77

```

IMPLICIT REAL*8(A-N,00-S)
DIMENSION XTAB(30), IP(30), Y(30), YOLD(30), YOLDI(30), YA(30)
DIMENSION FOLD(30), YK1(30), YK2(30), YK3(30), DF(30,30), YO(30)
DIMENSION DFOLD(30,30), W(30), F(30), FUN1(30), FUNV(30), YAUX(30)
EXTERNAL FUN,DFUN,OUT
OPEN(8,FILE='PEN',STATUS='NEW',ACCESS='SEQUENTIAL',
FORM='FORMATTED')
-----
C
C          LECTURA DE DATOS
C
-----
156  FORMAT(2X, 'TETA=',F12.8,2X, 'BIN=',F12.8,2X, 'OEN=',F12.8)
      WRITE(8,150)
150  FORMAT(10X, 'LECTURA DE DATOS')
      WRITE(8,152)
152  FORMAT(5X, 'NUMERO DE ECUACIONES A SER INTEGRADAS?')
      READ(8,300)NCOM
      WRITE(8,300)
      READ(8,350)NTAB
      WRITE(8,305)
      READ(8,350)NPRINT
      WRITE(8,310)
      READ(8,380)EPS
      WRITE(8,320)
      READ(8,380)NO
      WRITE(8,315)
      READ(8,380)XST
      FORMAT(15)
350  FORMAT(F15.8)
380  FORMAT(10X, ' NUMERO DE INTERVALOS =?')
305  FORMAT(10X, ' NUMERO DE IMPRESIONES=?')
310  FORMAT(10X, ' TOLERANCIA =?')
315  FORMAT(10X, ' VALOR INICIAL DE X NST=?')
320  FORMAT(10X, ' VALOR DE NO =?')
      DO 400 J=1,NCOM
      WRITE(8,450)J
      READ(8,480)W(J)
      WRITE(8,455)J
      READ(8,480)YO(J)
      WRITE(8,452)J
400  READ(8,480)Y(J)
450  FORMAT(10X, ' MULTIPLICADOR DEL ERROR W(',IS,')=?')
452  FORMAT(10X, ' (BIOM=Y(1),P=Y(2),S=Y(3),O=Y(4)): Y(',IS,')=?')
453  FORMAT(10X, ' (YO(1)=TETA,YO(2)=OEN,YO(3)=BIN): YO(',IS,')=?')
480  FORMAT(F15.8)
      DO 500 J=1,NTAB
      WRITE(8,510)J
500  READ(8,520)XTAB(J)
520  FORMAT(F15.8)
510  FORMAT(10X, ' INTERVALO DESEADO XTAB(',IS,')=?')
      WRITE(8,605)(I,80,Y(I),V(I) , I=1,NCOM)
      WRITE(8,607)EPS,NO

```



```

F(1)=UX*(Y(1)*(Y(1)/(AKK*(Y(1)+Y(1))))*(O/(AKK*(Y(1)-O)))
F(2)=(UP*(Y(1)*Y(1)/(AKP*(Y(1)*(1.+Y(1)/AKI))))*(O/(AKOP*
Y(1)+O))-AKD*(Y(2)-Y(2))/TETA
F(3)=(1./YK)*F(1)-(1./YK)*Z2-AME*(Y(1)+(1./TETA)*Y(1)-
Y(2))
RETURN
END
-----
C          SUBROUTINA JACOBIANA
C          -----
SUBROUTINE DFUN(X,NCOM,Y, YAUX,FUN,FUN1,FUNV,DF,YO)
IMPLICIT REAL*8(A-N,O-Z)
DIMENSION Y(30),DF(30,30),YAUX(30),FUN1(30),FUNV(30),YO(30)
DELY=1.D-12
DO 10 I=1,NCOM
YAUX(I)=Y(I)
Y(I)=Y(I) + DELY
CALL FUN (X,Y,FUNV,YO)
DO 20 J=1,NCOM
DF(J,I)=(FUNV(J)-FUN1(J))/DELY
Y(I)=YAUX(I)
RETURN
END
-----
C          SUBROUTINA STIFF
C          -----
SUBROUTINE STIFF(N,ND,NPRINT,FUN,DFUN,OUT,XO,XI,ND,EPE,V,Y,
YOLD,YOLDI,IP,YA,YK1,YK2,YK3,DF,DFOLD,FUN1,FOLD,YAUX,FUNV,YO)
IMPLICIT REAL*8 (A-N,O-Z)
DIMENSION IP(ND),Y(ND),YOLD(ND),YOLDI(ND),YA(ND),YK(ND)
DIMENSION YK3(ND),V(ND),FUN1(ND),FOLD(ND),DF(ND,ND)
DIMENSION YAUX(ND),FUNV(ND),YO(ND),YK2(ND),DFOLD(ND,ND)
KCON=0
MOUT=0
X=XO
M=ND
IF(KO+2.NE.LY.XI) GO TO 1
ULTIMO PASO 0 PRIMER PASO MAYOR QUE EL INTERVALO
N=(XI-X)/2.
KCON=1
EVALUA FUNCION Y JACOBIANO
1 IF (KCON.EQ.O.AND.X+4*N.GT.XI) N=(XI-X)/4
CALL FUN(X,Y,FUN1,YO)
CALL DFUN(X,N,Y,YAUX,FUN,FUN1,FUNV,DF,YO)
IMA=-1
DO 30 I=1,N
YOLD(I)=Y(I)
FOLD(I)=FUN1(I)
DO 30 J=1,N
DFOLD(I,J)=DF(I,J)
30 CALL SIBR(X,N,ND,FUN,IP,FUN1,Y,YK1,YK2,YK3,DF,2*N,YO)
37 DO 35 I=1,N

```



```

YA(I)=Y(I)
Y(I)=YOLD(I)
FUN(I)=FOLD(I)
DO 35 J=1,N
35 DF(I,J)=DFOLD(I,J)
38 IMAIRA+1
CALL SIRK(X,N,ND,FUN,IP,FUN1,Y,YK1,YK2,YK3,DF,M,YO)
CALL FUN(X,Y,FUN1,YO)
CALL DFUN(X,M,Y,YAUX,FUN,FUN1,FUNV,DF,YO)
DO 40 I=1,N
40 YOLD(I)=Y(I)
CALL SIRK(X,N,ND,FUN,IP,FUN1,Y,YK1,YK2,YK3,DF,M,YO)
E=0.
DO 41 I=1,N
ES=Y(I)*DABS(YA(I)-Y(I))/(1.+DABS(Y(I)))
IF(ES.GT.E) E=ES
41 CONTINUE
Q=E/EPF
QA=(4.*Q)**.25
IF(Q.LE.1.) GO TO 48
DO 45 I=1,N
YA(I)=YOLD(I)
FUN(I)=FOLD(I)
Y(I)=YOLD(I)
DO 45 J=1,M
45 DF(I,J)=DFOLD(I,J)
N=N/2
KCON=0
GO TO 38
48 DO 49 I=1,N
49 Y(I)=Y(I)+(Y(I)-YA(I))/7.DO
X=X+I*Q
QA=1./(QA+1.D-10)
IF(QA.GT.9.) QA=9.
E=QA*E
NOUT=NOUT+1
IF((NOUT/NPRINT)*NPRINT.EQ.NOUT.OR.KCON.EQ.1) CALL OUT(X,Y,IMA,
* QA)
IF(KCON.EQ.1) GO TO 187
NO=N
IF((X+2.*N).LT.X1) GO TO 1
GO TO 2
187 RETURN
END
SUBROUTINE BEGR(ND,M,IPIV,A,V)
IMPLICIT REAL*8(A-N,O-Z)
DIMENSION IPIV(ND),A(ND,ND),V(ND)
N1=N-1
DO 10 I=1,M1
I1=I+1
K=IPIV(I)
IF(K.EQ.1) GO TO 11
X=V(I)
V(I)=V(K)

```

```

V(K)=X
11 DO 10 J=1,N
10 V(J)=V(J)+A(J,I)*V(I)
V(N)=V(N)/A(N,N)
DO 15 I=2,N
I=N+1-I
I=I+1
DO 18 J=1,N
V(I)=V(I)-A(I,J)*V(J)
18 V(I)=V(I)/A(I,I)
RETURN
END

```

C
C

```

SUBROUTINE LU(ND,N,IPIV,A)
IMPLICIT REAL*8(A-N,O-Z)
DIMENSION IPIV(ND),A(ND,ND)
IPIV(N)=N
M=N-1
DO 10 I=1,M
X=A(I,I)
IF(X.LT.O.) X=-X
IPIV(I)=I
I=I+1
DO 11 J=1,N
Y=A(J,I)
IF(Y.LT.O.) Y=-Y
IF(Y.LE.X) GO TO 11
X=Y
IPIV(I)=J
11 CONTINUE
IF(IPIV(I).EQ.I) GO TO 14
K=IPIV(I)
DO 12 J=I,N
X=A(I,J)
A(I,J)=A(K,J)
12 A(K,J)=X
DO 10 J=1,N
X=-A(J,I)/A(I,I)
A(J,I)=X
DO 10 K=I,N
A(J,K)=A(J,K)+X*A(I,K)
RETURN
END

```

C
C

```

SUBROUTINE SIEK(T,N,ND,FUN,IPIV,FUN1,Y,YK1,YK2,YK3,DF,N,VO)
IMPLICIT REAL*8(A-N,O-Z)
DIMENSION FUN1(ND),Y(ND),YK1(ND),YK2(ND),YK3(ND),IPIV(ND),
* DF(ND,ND),VO(ND)
DIMENSION R(4)
DATA A,R/.4358665215084588DO,1.097808488131858DO,
X .8345304838528377DO,-.830202087244523DO,-.242337851280452DO/
DO 5 I=1,N

```

```

DO 8 J=1,N
DF(I,J)=-H*A*DF(I,J)
IF(DABS(DF(I,J)).LT.1.D-12) DF(I,J)=0.
8 CONTINUE
9 DF(I,I)=DF(I,I)+1.
CALL LU(ND,N,IPIV,DF)
CALL REOR(ND,N,IPIV,DF,FUN1)
DO 8 I=1,N
YK1(I)=H*FUN1(I)
8 YK2(I)=Y(I)+.75DO*YK1(I)
CALL FUN(T,YK2,FUN1,YO)
CALL REOR(ND,N,IPIV,DF,FUN1)
DO 8 I=1,N
YK2(I)=H*FUN1(I)
Y(I)=Y(I)+R(1)*YK1(I)+R(2)*YK2(I)
9 YK2(I)=R(3)*YK1(I)+R(4)*YK2(I)
CALL REOR(ND,N,IPIV,DF,YK2)
DO 10 I=1,N
10 Y(I)=Y(I)+YK2(I)
RETURN
END
DO 11 J=1,N
Y=(J,I)
IF(Y.LT.O.) Y=-Y
IF(Y.LE.K) GO TO 11
X=Y
IPIV(I)=J
11 CONTINUE
IF(IPIV(I).EQ.1) GO TO 14
K=IPIV(I)
DO 12 J=1,N
X=A(I,J)
A(I,J)=A(K,J)
12 A(K,J)=X
14 DO 10 J=1,N
X=-A(J,I)/A(I,I)
A(J,I)=X
DO 10 K=1,N
10 A(J,K)=A(J,K)+X*A(I,K)
RETURN
END

```

```

C .....
C
SUBROUTINE BIRK(T,N,ND,FUN,IPIV,FUN1,Y,YK1,YK2,YK3,DF,M,YO)
IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
DIMENSION FUN(ND),Y(ND),YK1(ND),YK2(ND),YK3(ND),IPIV(ND),
* DF(ND,ND),YO(ND)
DIMENSION B(4)
DATA A,B/.4358885215084589DO,1.03780498131859DO,
X .8349304938528377DO,-.83020208724523DO,-.242337891280452DO/
DO 5 I=1,N
DO 8 J=1,N
DF(I,J)=-H*A*DF(I,J)
IF(DABS(DF(I,J)).LT.1.D-12) DF(I,J)=0.

```

```

6      CONTINUE
5      DF(I,I)=DF(I,I)+1.
      CALL LU(ND,N,IPIV,DF)
      CALL REORE(ND,N,IPIV,DF,FUN1)
      DO 5 I=1,N
      YK1(I)=H*FUN1(I)
8      YK2(I)=Y(I)+.75D0*YK1(I)
      CALL FUN(Y,YK2,FUN1,Y0)
      CALL REORE(ND,N,IPIV,DF,FUN1)
      DO 5 I=1,N
      YK1(I)=H*FUN1(I)
      Y(I)=Y(I)+R(1)*YK1(I)+R(2)*YK2(I)
9      YK2(I)=R(3)*YK1(I)+R(4)*YK2(I)
      CALL REORE(ND,N,IPIV,DF,YK2)
      DO 10 I=1,N
10     Y(I)=Y(I)+YK2(I)
      RETURN
      END

```

7. NOMENCLATURA

NOMENCLATURA

b_1, b_2, b_3, b_4, b_5 = Constantes determinadas a partir de datos experimentales.

$\frac{dO}{dt}$ = Velocidad de consumo de oxígeno

$\frac{dP}{dt}$ = Velocidad de producción de penicilina

$\frac{dS}{dt}$ = Velocidad de consumo de sustrato

$\frac{dX}{dt}$ = Velocidad de crecimiento celular

k_1, k_2, k_3, k = Constantes determinadas experimentalmente para la ecuación 29.

r_c = Velocidad de conversión de CO_2 (mg/h)

r_m = Velocidad de producción de calor (Kcal/h)

r_n = Velocidad de conversión de amoníaco (mg/h)

r_o = Velocidad de conversión de oxígeno (g/h)

r_p = Velocidad de conversión de Penicilina (mg/h)

r_{po} = Velocidad de conversión de ácido acético (mg/h)

r_{ph} = Velocidad de conversión de ácido fosfórico (g/h)

r_{po} = Velocidad de conversión de ácido penicílico (mg/h)

r_s = Velocidad de conversión de glucosa (mg/h)

r_{su} = Velocidad de conversión de ácido sulfúrico (mg/h)

r_v = Velocidad de conversión de agua (mg/h)

r_x = Velocidad de conversión de Biomasa (mg/h)

t = Tiempo (h)

t_d = Tiempo de duplicación celular (h)

C_p = Concentración de producto (mol/Kg)

C_s = Concentración de sustrato (mol/Kg)

C_x = Concentración de biomasa (mol/Kg)

- D = Tasa de dilución (h^{-1})
- F = Flujo volumétrico (litros/h)
- G = Peso total del caldo (Kg)
- K = Constante de velocidad
- K_D = Constante de decaimiento
- K_i = Constante de inhibición de de formación de producto por sustrato (mg/cm^3)
- K_{op} = Constante de Contois para limitación de producto por oxígeno (μmol oxígeno/mgcel seca)
- K_{ox} = Constante de Contois para limitación de biomasa por oxígeno (μmol oxígeno/mg cel seca)
- K_p = Constante de saturación de Monod para limitación de producto por sustrato. (mg/cm^3)
- K_s = Constante de Monod para crecimiento (g/l)
- K_x = Constante de saturación de Contois para limitación de la producción de biomasa (mg sustrato/mgcel seca)
- M_o = Coeficiente de mantenimiento de biomasa por oxígeno (μmol oxígeno/mgcelseca/h)
- M_s = Coeficiente de mantenimiento de biomasa por sustrato (mg sustrato/mgcelseca/h)
- O = Concentración de oxígeno ($\mu mol/cm^3$)
- O_o = Concentración de oxígeno inicial ($\mu mol/cm^3$)
- P = Penicilina obtenida (mg) (ecs. 23 a 26, 75 a 77)
- P = Concentración de penicilina (mg/cm^3) (ecs. 46 a 49, 78 a 81)
- R_D = Velocidad de decaimiento de penicilina
- R_{pen} = $\frac{dP}{dt}$ = Velocidad de producción (mg/mgcel h) (ecs. 29 y 75)
- R_x = $\frac{dX}{dt}$ R_p = $\frac{dP}{dt}$ R_s = $\frac{dS}{dt}$ R_o = $\frac{dO}{dt}$
- S = Concentración de sustrato (mg/cm^3)
- S_o = Concentración de sustrato inicial (mg/cm^3)

- U_p = Velocidad específica de formación de producto
 (mgpen/mgcelseca/h)
- U_x = Velocidad específica de crecimiento máximo (h^{-1})
- V = Volumen (litros)
- X = Biomasa generada (mgcel) (ecs. 23 a 26, 75 a 77)
- X = Concentración de biomasa (mgcel/cm³) (ecs. 46 a 49, 76 a 81)
- X_0 = Biomasa inicial (mgcel) (ecs. 23 a 26, 75 a 77)
- X_0 = Concentración de biomasa (mgcel/cm³) (ecs. 46 a 49, 76 a 81) inicial.
- Y = Rendimiento celular por unidad de sustrato
- $Y_{p/o}$ = Coeficiente de rendimiento de producto sobre oxígeno
 (mg penicilina/ μ mol de oxígeno)
- $Y_{p/s}$ = Coeficiente de mantenimiento de producto sobre sustrato
 (mg penicilina /mg sustrato)
- $Y_{x/o}$ = Coeficiente de mantenimiento de biomasa sobre oxígeno
 (mg cel seca/ μ mol oxígeno)
- $Y_{x/s}$ = Coeficiente de mantenimiento de biomasa sobre sustrato
 (mgcel seca/mg sustrato)
- α, β = Constantes de proporcionalidad en función de las condiciones ambientales del sistema.
- ν = Tasa específica de formación de producto (h^{-1})
- θ = Tiempo de residencia (h)
- ϕ_s = Flujo de sustrato al sistema (mol/h)
- μ = Velocidad específica de crecimiento (h^{-1})