

304434

2

2ej.



UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS CON ESTUDIOS
INCORPORADOS A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ECUACIONES DE COMPORTAMIENTO DE UN PROCESO DE
FERMENTACION DE ACIDO LACTICO GRADO U.S.P.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

LAURA DIANA MORALES RUIZ

Director: Ing. José Antonio González Hernández

México, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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

INTRODUCCION	5
OBJETIVOS	9
RESUMEN DE CONCLUSIONES	10
1.- MARCO DE REFERENCIA	
1.1 Definición de Modelos Cinéticos	17
1.2 Usos de los Modelos Cinéticos	17
1.3 Importancia del Uso de los Modelos Cinéticos de Fermentación	18
2.- BASES	
2.1 Definición de Fermentación	22
2.2 Fenomenología de la Fermentación del Acido Láctico	26
2.3 Microorganismos	28
2.4 Procesos de Fermentación del Acido Láctico	34
2.5 Definición de Modelos	39
2.6 Tipos de Modelos	40
2.6.1 Modelos Matemáticos	41
2.7 Modelos Generales de Fermentación	42
2.7.1 Modelos No Estructurados y Estructurados	43
2.8 Modelos Específicos de Fermentación	44
2.9 Modelos Cinéticos de Fermentación	47
2.10 Principales Variables y Parámetros	53
2.10.1 Variables	53
2.10.2 Parámetros	54

3.-	DESARROLLO	
3.1	Bases de la Simulación	56
3.1.2	Modelo General	56
3.1.3	Modelo General Mejorado	57
3.1.4	Ecuaciones Fundamentales	58
3.1.5	Manejo de las Ecuaciones	59
3.2	Sistema de Simulación y sus Respuestas	60
4.-	RESULTADOS	
4.1	Respuestas del Modelo	66
4.2	Discusión de las Respuestas	73
4.3	Aplicación de las Respuestas	74
5.-	CONCLUSIONES	75
	BIBLIOGRAFIA	83
	ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA1.-	23
Curva Típica de Crecimiento Celular Bacteriano.	
FIGURA2.-	24
Tipos de Procesos de Fermentación (Gaden).	
FIGURA3.-	25
Clasificación de Fermentaciones por Tipo de Reacción (Deindoerfer).	
FIGURA4.-	27
Diagrama de Flujo Simplificado de Producción de Acido Láctico.	
FIGURA5.-	30
Género de Bacterias Lácticas, Tipos de Fermentación y Principales Productos Obtenidos.	
FIGURA6.-	32
Vitaminas y Substancias de Crecimiento Esenciales para el Desarrollo de Bacterias Lácticas.	
FIGURA7.-	33
Temperatura Óptima para el Crecimiento del Género <i>Lactobacillus</i> .	
FIGURA8.-	61
Efecto de la Inhibición por Producto sobre el Crecimiento Celular.	
FIGURA9.-	63
Efecto de la Inhibición por Producto sobre la Formación de Acido Láctico.	
FIGURA10.-	66
Comportamiento de la Fermentación. Producción de Acido Láctico. Modelo General vs. Modelo General Modificado.	

FIGURA 11.-	67
Comportamiento de la Fermentación.	
Consumo de Fuente de Carbono.	
Modelo General vs. Modelo General Modificado.	
FIGURA 12.-	68
Comportamiento de la Fermentación.	
Crecimiento Celular.	
Modelo General vs. Modelo General Modificado.	
FIGURA 13.-	69
Comportamiento de la Fermentación.	
Consumo de Fuente de Nitrógeno.	
Modelo General vs. Modelo General Modificado.	
FIGURA 14.-	71
Efecto de la Temperatura sobre la Concentración Celular.	
FIGURA 15.-	72
Efecto del ph sobre la Formación de Acido Láctico.	

INTRODUCCION.

El ácido láctico es un ácido natural de gran importancia técnica y económica en la industria de alimentos.

Antes de ser comercialmente disponible para el procesador de alimentos como un ingrediente aislado, el ácido láctico se usó como un ácido formado *in situ* en productos fermentados como el queso, yogurt, pan, cárnicos, encurtidos, cerveza y vino.

Aunque el ácido láctico ha estado disponible comercialmente por más de 60 años, su importancia se ha reconocido en las últimas dos décadas. En la actualidad su gran uso descansa en la calidad y disponibilidad no restringida del producto.

Actualmente, la producción mundial de ácido láctico es equivalente al 10% de la producción mundial de ácido cítrico produciéndose la mitad del ácido láctico por fermentación y la otra mitad por un proceso químico. Los productores de ácido láctico se encuentran principalmente en Europa.

El ácido láctico tiene algunas ventajas interesantes sobre el ácido cítrico.

- Tiene un mayor poder conservador.
- La sal de calcio del ácido láctico, lactato de calcio, es muy soluble. El uso del ácido láctico brinda productos adecuadamente clarificados en aquellos productos en los cuales la turbidez causada por las sales de calcio es un problema.

- En forma líquida, el ácido es más fácil de manejar y medir.
- El ácido láctico producido por fermentación es ópticamente puro en la forma L(+), siendo esta forma la que se presenta en el cuerpo humano.
- Actualmente, el ácido láctico puede competir con el cítrico debido a lo económico de la producción en gran escala.

La variedad de propiedades favorables para el productor de alimentos, hacen del ácido láctico un producto de uso adecuado:

- Tiene un suave sabor ácido, en contraste con el marcado sabor ácido de otros acidulantes.
- No enmascara ni exalta otros sabores.
- Tiene una adecuada acción conservadora, y regula la microflora.
- Debido a que es el ácido natural en muchos productos, no se agregan ingredientes ajenos al producto.

Otros acidulantes importantes que pueden ser comparados con el ácido cítrico y el ácido láctico son los ácidos málico y tartárico. El ácido málico es un producto más reciente que el láctico y se obtiene por síntesis. Aunque últimamente este ácido se ha usado muy poco como acidulante, esto podría cambiar debido a las posibilidades de aplicación en las bebidas bajas en calorías.

El ácido tartárico, obtenido de los residuos de la industria vitivinícola, tiene algunas técnicas especiales de aplicación pero su importancia ha sido menor para la industria de alimentos debido a los pocos proveedores y a su elevado precio.

Usos del ácido láctico.

Actualmente, el ácido láctico se usa como acidulante en una creciente variedad de aplicaciones en casi todos los segmentos de la industria alimentaria, siendo sus principales funciones la de saborizante y conservador dentro de esta industria.

La versatilidad de las funciones del ácido láctico y sus sales no se reconocen hasta que se resumen todas las posibilidades de aplicación. A continuación se revisarán algunas de sus aplicaciones.

- En la industria del dulce la aplicación más importante es como regulador del punto de ebullición del caramelo, evitando el riesgo de la inversión del azúcar.
- En la industria de lácteos se utiliza en la acidificación directa del queso cottage.
- En la industria cárnica es ampliamente usado debido a su poder bactericida.
- En la industria cervecera se utiliza para ajustar el pH durante el malteado.
- En la industria refresquera se utiliza debido a su suave sabor ácido.
- Para panificación se aplica en acidificación directa del centeno o de los panes de trigo y centeno, además de que el lactato de calcio es el único ingrediente efectivo para formar espuma en algunos productos como en el caso de los betunes.

Por lo anterior, el estudio de la producción de ácido láctico es importante en el sector alimentario. Dentro de la producción del ácido de origen biológico, la operación de fermentación requiere de un conocimiento profundo para controlarla correctamente como etapa de proceso además de ser una etapa fundamental.

La fermentación se puede estudiar desde varios puntos de vista a saber:

- Microbiológico.
- Control de etapa de proceso.
- Integración al Desarrollo de proceso.
- Cinética de etapa de proceso.

Este trabajo centra sus objetivos en la Cinética de Fermentación de la producción de Acido Láctico y en la ayuda que se obtiene al utilizar un modelo matemático, para analizar el efecto de variables y parámetros de operación importantes.

OBJETIVOS.

- 1.- Revisar los modelos cinéticos de los fenómenos más importantes de la fermentación.
- 2.- Identificar los parámetros y variables más importantes de los modelos cinéticos de fermentación.
- 3.- Establecer un Modelo General que integre los fenómenos cinéticos más importantes de la operación de fermentación de ácido láctico.
- 4.- Simulación del proceso de fermentación con base en el Modelo General establecido.
- 5.- Analizar la aplicación del Modelo General establecido en el proceso de fermentación de ácido láctico.

RESUMEN DE CONCLUSIONES.

Existen modelos orientados a fenómenos muy específicos de la fermentación. Los modelos de fenómenos específicos son en general incompletos y conllevan el riesgo de omisiones y verificaciones de los supuestos que sustentan el desarrollo de tales.

Dentro de las aportaciones de los modelos más importantes se tiene:

- 1.- Modelo de Monod, (1942). El crecimiento celular es proporcional a la cantidad de microorganismos existentes y está limitado por la disponibilidad de sustrato en el medio.
- 2.- Modelo de Luedeking y Piret, (1958). Reconoce dos mecanismos de formación de producto.
 - a) Uno dependiente de la velocidad de crecimiento celular.
 - b) Otro dependiente de la cantidad de microorganismo en el medio.

Además de hacer hincapié en que el pH del medio afecta fuertemente la formación de producto.

- 3.- Modelo de Contois, (1959). Reconoce que la velocidad de crecimiento celular depende de la cantidad de sustrato, de la concentración celular y que está limitada por el aumento de la población celular.
- 4.- Modelo de Ierusalemky, (1961). Reconoce que el crecimiento celular puede estar inhibido por alguna sustancia (el producto, el sustrato o cualquier otra) en contacto con la célula.

- 5.- Modelo de Pirt y Callow o de respiración endógena, (1966). Introduce el fenómeno de consumo de material interno para la supervivencia del microorganismo.
- 6.- Modelo de Topiwala y Sinclair, (1971). Establece que la velocidad de crecimiento de la fermentación es función de la temperatura.
- 7.- Modelo de Andreyeva, y colaboradores, (1973). Reconoce el efecto del pH sobre el crecimiento celular.
- 8.- Modelo de Sinclair y Ryder, (1975). Establece que la respiración endógena en condiciones aerobias depende de la concentración de oxígeno.
- 9.- Modelo de S. López, (1980). Establece que la respiración endógena está inhibida por el sustrato y cuando éste se termina ésta se activa.

Como parámetros y variables más importantes se identificaron los siguientes:

Variables.

- pH del medio.
- Temperatura.
- Concentración de Sustratos (fuente de carbono, nitrógeno u otros).
- Concentración de microorganismo.
- Velocidad de transferencia de masa.
- Velocidad de transferencia de calor.
- Grado de agitación del medio.
- Tiempo de fermentación.
- Cepa a utilizar.

Parámetros.

- Volúmenes de operación.
- Tipo de operación.
- Tipo de microorganismo.

El Modelo general establecido integra los fenómenos cinéticos más importantes de la operación de fermentación de ácido láctico y consta de:

A) Crecimiento Celular

- a) modelo cinético de doble sustrato.
 - a.1) efecto del pH.
 - a.2) efecto de la temperatura.
 - a.3) inhibición por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula).
- b) modelo cinético de un sustrato.
 - b.1) efecto del pH.
 - b.2) efecto de la temperatura.
 - b.3) inhibida por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula).

B) Respiración endógena

- a.1) simple.
- a.2) inhibición por sustrato.

C) Formación de producto

- a) proporcional al crecimiento celular.
 - a.1) efecto del pH.
 - a.2) efecto de la temperatura.
- b) proporcional a la concentración celular.
 - b.1) efecto del pH.
 - b.2) efecto de la temperatura.

D) Consumo de sustrato

La simulación del proceso de fermentación se realizó con un programa de cómputo en lenguaje Fortran utilizando el método numérico de Runge Kutta-Merson de 4º orden.

Las ecuaciones generales que lo componen están presentes en el capítulo 3 de este trabajo.

El manejo del programa da como resultados los valores de concentración celular, concentración de producto, concentración de sustrato 1 (fuente de carbono), y concentración de sustrato 2 (fuente de nitrógeno), contra tiempo de fermentación. Dentro del programa se pueden manejar distintas opciones que corresponden a los siguientes modelos:

- 1.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod.
- 2.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con metabolismo celular inhibido por producto.

- 3.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena simple.
- 4.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena inhibida por sustrato.
- 5.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto y respiración endógena simple.
- 6.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto, y respiración endógena inhibida por sustrato.
- 7.- Modelo cinético de sustrato simple con efecto de pH integrado. Anreyeva y colaboradores.
- 8.- Modelo de Topiwala y Sinclair, con efecto de temperatura integrado.

Los resultados que se obtuvieron de las primeras corridas en computadora, del Modelo General, no representaron el fenómeno de fermentación como se esperaba, las respuestas obtenidas difieren de las respuestas típicas de crecimiento, formación de producto y consumo de sustratos.

Para mejorar el comportamiento del modelo y acercarlo a una respuesta similar a la que se observa en la práctica, en este trabajo se propone que el mecanismo de producción de metabolito asociado a la concentración celular está regulado por la disponibilidad de sustrato (fuente de carbono).

La introducción del efecto mencionado dio lugar a que la respuesta del modelo fuese congruente con el observado en el fenómeno de fermentación.

De la simulación del proceso de fermentación efectuada en este trabajo se puede concluir:

- A.- Efecto de pH. En un rango de pH (4.5 a 6.0) la formación de producto se manifiesta más acelerada en valores de pH más cercanos a la neutralidad.
- B.- Efecto de la temperatura. Dentro de un rango de temperatura de 30, 40 y 50°C, la actividad microbiana se ve incrementada por la temperatura de manera que la fase estacionaria de crecimiento celular se alcanza en un período de tiempo más corto.

De la simulación se concluye que mediante ésta se visualiza el comportamiento general de la fermentación, así como los efectos que se tendrían por la modificación de algún(os) factor(es) como: temperatura, cantidad de sustrato, tipo de sustrato, etc. Esto tiene como ventaja una rápida y sencilla apreciación de los puntos críticos del proceso; siendo así posible, el controlar mejor estos puntos haciendo el proceso más productivo.

CAPITULO 1

MARCO DE REFERENCIA

DEFINICION DE CINETICA.

La cinética es el estudio de la velocidad y del mecanismo por medio de los cuales se lleva a cabo un fenómeno.

Experimentalmente se ha encontrado que la velocidad de una fermentación depende principalmente de la temperatura, el pH las concentraciones de sustratos y microorganismo.

Los estudios cinéticos ayudan a manejar adecuadamente cualquier fermentación. Los modelos cinéticos de fermentación se relacionan con las velocidades de síntesis celular y/o formación de metabolitos así como el efecto del medio en las velocidades. Los estudios cinéticos no están limitados a sistemas de crecimiento, también incluyen consumo de sustratos, formación de productos celulares, decaimiento y muerte.

USOS DE LOS MODELOS CINETICOS.

El mayor número de estudios de los modelos cinéticos de sistemas celulares aplicados a la operación industrial se han enfocado a representar o modelar el comportamiento de la célula como un todo. Los intentos para relacionar el comportamiento general a los eventos que ocurren a nivel específico dentro del sistema celular se encuentran actualmente en desarrollo.

En el medio industrial el uso de los modelos cinéticos se lleva a cabo en la mayoría de las veces, en forma empírica lo que repercute en tiempos de fermentación, (se puede estimar un tiempo mayor o menor del real, sobrediseño o subdiseño de equipo) y finalmente en costos de operación (p.e. el exceso en la adición de un sustrato).

En la práctica el uso de los modelos cinéticos es restringido. Esto no quiere decir que su uso no sea conveniente, los modelos cinéticos de fermentación pueden tener gran éxito en la aplicación de enseñanza, investigación y desarrollo; tanto a nivel de ciencia básica como para niveles industriales. Más adelante se hará mención a la importancia que tiene la aplicación de un modelo cinético.

IMPORTANCIA DEL USO DE LOS MODELOS CINÉTICOS DE FERMENTACION.

Los modelos cinéticos son necesarios para obtener conocimiento de cualquier fermentación.

Es importante hacer hincapié en que el conocimiento profundo del fenómeno, (manejarlo desde el concepto de ciencia básica, operación del proceso y llegar hasta la comercialización del producto) repercute en una mejor visión y por lo tanto en una mejor toma de decisiones, el resultado se traduce en soluciones más certeras y convenientes, un mejor cuidado de las variables o parámetros críticos y en general una mejor operación.

Manejar todos los conocimientos sobre un fenómeno en particular, requiere gran esfuerzo y más aún de una inversión considerable en tiempo. Debido a la vertiginosidad de la vida hoy en día, en muchas industrias no se concede gran importancia al estudio de su proceso. Normalmente se aprende en forma empírica un patrón de comportamiento del fenómeno en el trabajo cotidiano, esto finalmente lleva a una subutilización de recursos tanto materiales como humanos.

Cuando se maneja la información detallada de un fenómeno, la creación de un modelo se hace sencilla, así pues un experto podrá modelar un mismo fenómeno tan complejo o tan sencillo como se requiera pero siempre con la seguridad de que el modelo representará al fenómeno en cuestión con la precisión que se desea.

Debido a lo difícil que ha sido hasta la fecha, no tan solo la representación de un sistema molecular sino el conocimiento total del mecanismo celular, el uso de un modelo cinético tan complejo no es factible, por lo que se debe recurrir al empleo de modelos cinéticos que representen la generalidad de los fenómenos.

La disminución en el tiempo de fermentación, una adecuada adición de sustrato al medio, una mayor obtención de producto o un menor gasto en la energía necesaria para la fermentación son algunos ejemplos de los beneficios que se pueden obtener con el conocimiento y uso de los modelos cinéticos de fermentación.

Más aún, los modelos cinéticos ayudan a tener un mejor control sobre el proceso, cuidando así las variables críticas de operación, creando un ambiente propicio con las condiciones adecuadas, p.e. mantener el pH, oxígeno, temperatura, sustrato y medio en los niveles correctos.

Al utilizar un modelo cinético general no se debe perder de vista los aspectos particulares de una fermentación. Por lo tanto, es importante ir ajustando los modelos cinéticos generales mediante la experiencia que se tenga sobre la fermentación particular.

En la medida que se requiera mayor exactitud sobre las predicciones del fenómeno, los estudios deberán ser más complejos a fin de poder controlar la mayor cantidad de variables posibles.

Otro punto que no se debe perder de vista es la enseñanza de ciencias básicas, u otras materias para nivel universitario. Se ha insistido mucho en que la utilización de un modelo para un proceso específico ayuda mucho para alcanzar niveles más convenientes de producción; así pues, el mejor medio para difundir esta filosofía es en las universidades, éste es el lugar preciso para adquirir las bases del modelado de fenómenos.

CAPITULO 2

BASES

DEFINICION DE FERMENTACION.

La fermentación es el proceso de cambio o descomposición de sustancias producido por la acción catalítica de levaduras, mohos, bacterias, enzimas etc., generalmente con emisión de gases.

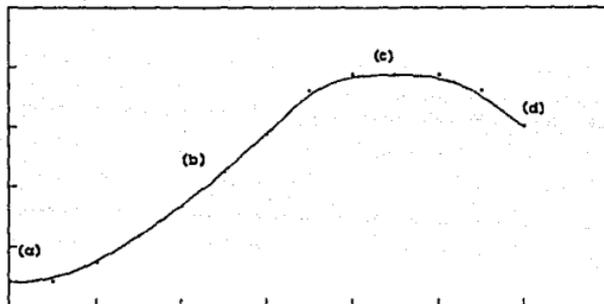
La fermentación, como método industrial para fabricar especialidades químicas, ha adquirido gran importancia. Varios productos como los antibióticos, las vitaminas, los suplementos alimenticios, etc. se obtienen por medio de fermentación. Consecuentemente, se ha vuelto importante el tener un mejor conocimiento y comprensión de los modelos de fermentación.

Fases de la fermentación.

Cuando un microorganismo se inocula en un medio rico en nutrientes, la velocidad de división celular, y por lo tanto la producción de biomasa, varía de acuerdo a una secuencia de características que se divide en cuatro fases (figura 1):

FIGURA 1 CURVA DE CRECIMIENTO CELULAR.

LOG. CONCENTRACION CELULAR.



TIEMPO (Hr.)

(a) fase de adaptación; (b) fase
logarítmica; (c) fase estacionaria;
(d) fase de decaimiento o muerte.

La fase 1, o de letargo, es la etapa de adaptación celular a las condiciones del medio. Esta etapa a menudo puede ser virtualmente eliminada aumentando el tamaño del inóculo y optimizando las condiciones físicas dentro del fermentador. En un proceso comercial la duración de la fermentación contribuye al costo del producto, por lo que una fase de letargo mínima resulta muy deseable.

La fase 2 es muy conocida como fase exponencial. Durante ésta, la división celular se lleva a cabo a velocidad constante. Bajo condiciones apropiadas, la velocidad de crecimiento es máxima durante esta fase.

A partir de este punto la velocidad del crecimiento disminuye hasta que alcanza la fase 3 o estacionaria durante la cual el crecimiento cesa. Esta tendencia a que el crecimiento cese, se puede atribuir a varias circunstancias, particularmente al agotamiento de algunos nutrientes o la producción de sustancias tóxicas durante el crecimiento celular.

Una fase de retardo correspondiente a la lisis celular sigue a la fase estacionaria, manifestándose la muerte celular. Una serie de condiciones contribuyen a la muerte celular pero las más importantes son el agotamiento de nutrientes y la formación de sustancias tóxicas durante el crecimiento celular. Durante esta fase las células mueren más rápido de lo que se producen nuevas células, en el caso que algunas células siguieran reproduciéndose.

Clasificación de procesos de fermentación.

Existen varias clasificaciones para los diferentes tipos de proceso de fermentación los cuales se presentan en las figuras 2 y 3.

FIGURA 2

Ejemplos de Tipos de Procesos de Fermentación según Gaden.

Tipo	Descripción	Ejemplo
I	<ul style="list-style-type: none">Formación de producto directamente relacionada a la utilización de carbohidratos.	<ul style="list-style-type: none">Etanol
II	<ul style="list-style-type: none">Formación de producto indirectamente relacionada a la utilización de carbohidratos.	<ul style="list-style-type: none">Acido cítrico
III	<ul style="list-style-type: none">Formación de producto aparentemente no relacionada a la utilización de carbohidratos.	<ul style="list-style-type: none">Penicilina

FIGURA 3

Clasificación de Fermentaciones por Tipo de Reacción según Deindoerfer.

Tipo	Descripción
Simple	• Nutrientes convertidos en producto con una estequiometría fija y sin acumulación de productos intermedios.
Simultánea	• Nutrientes convertidos en producto con una proporción estequiométrica variable y sin acumulación de productos intermedios.
Consecutiva	• Nutrientes convertidos en producto con acumulación de algún producto intermedio.
Intermitente	• Nutrientes completamente convertidos en producto intermedio antes de la conversión a producto final, o • Nutrientes convertidos en producto selectivamente en orden preferencial.

La clasificación propuesta por Deindoerfer está basada en el curso de la fermentación. Esta aproximación es particularmente útil en el estudio de fermentaciones por lote.

FENOMENOLOGIA.

El ácido láctico, Acido 2-hidroxipropanóico o Acido α hidroxipropiónico de peso molecular 90.8 es el hidroxiaácido más sencillo entre los que contienen un átomo de carbono asimétrico; existen dos formas ópticamente activas y una mezcla racémica, las tres son líquidas, incoloras, solubles en agua o sólidos de bajo punto de fusión en estado puro.

Se fabrica por fermentación que produce esencialmente la mezcla racémica (ópticamente inactiva). Las materias primas son mieles, hidrolizados de almidón o suero de leche. Otras materias primas investigables son la pataca (aguaturma y su fruto), el jugo de toronja, olotos, líquidos residuales de la pulpa de papel al sulfito y subproductos de almidón.

El proceso para la obtención de ácido láctico se divide en cuatro fases (Ver figura 4.):

1) Preparación de materiales.

En esta fase se selecciona la materia prima, dependiendo de la disponibilidad, precio, y grado de pureza deseado del ácido láctico. Se realiza una esterilización o pasteurización de las materias primas para su utilización.

2) Fermentación.

En esta fase se selecciona al microorganismo, llevando a cabo la fermentación en las condiciones técnica y económicamente factibles para el microorganismo seleccionado. Se profundizará más sobre esta fase en el capítulo 2.

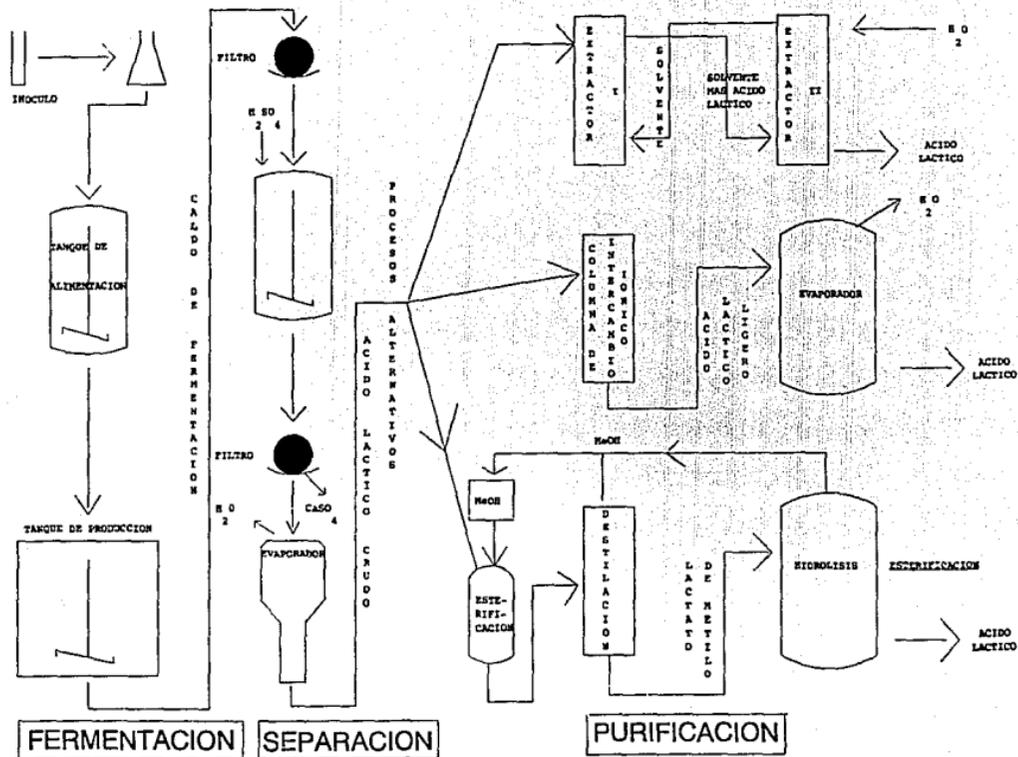


FIGURA 4.- DIAGRAMA DE FLUJO SIMPLIFICADO DE PRODUCCION DE ACIDO LACTICO.

3) Separación.

En esta fase se utilizan medios de separación como lo son la filtración, la evaporación y la cristalización, con la finalidad de obtener ácido láctico bruto, y por otro lado, el remanente del medio de cultivo.

4) Purificación.

En esta fase se eliminan las impurezas que pudiera contener el ácido láctico hasta obtener el grado de pureza deseado.

Existen tres métodos de purificación para obtener ácido láctico grado plástico o USP:

- Intercambio iónico.
- Extracción.
- Esterificación / Destilación.

MICROORGANISMOS.

Los microorganismos más importantes para la producción de ácido láctico pertenecen a la familia de los Lactobacillaceae los cuales están diferenciados en cuatro géneros (Kandler 1982). *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. Las *Bifidobacterium* también han sido propuestos debido a sus características, las cuales formalmente también pertenecen a esta familia y pueden clasificarse bajo el género *Actinomycetales* (Buchanan y Gibbons, 1974).

Las *Bifidobacteria* son prácticamente anaeróbicas, mientras que, las otras bacterias lácticas pueden consumir oxígeno en pequeñas cantidades y por lo tanto son llamadas microaerofilas.

Las bacterias lácticas morfológicamente son diplococos, tetracocos, streptococos y bacilos , los cuales se pueden presentar aislados o en cadenas (Franke y Buchta, 1960). El tipo de fermentación y la configuración del lactato producido depende de la bacteria láctica empleada, como se muestra en la Figura 5 (Kandler 1982).

Las bacterias lácticas son microorganismos muy meticulosos. Para un crecimiento normal requieren, aparte de una fuente de carbono, nitrógeno en forma de aminoácidos, varias vitaminas, factores de crecimiento y minerales. Debido a que pequeñas cantidades de ácido láctico libre inhiben el crecimiento, la presencia de un regulador de pH es necesaria para mantener el cultivo.

FIGURA 5

El Género de Bacterias Lácticas, Tipo de Fermentación y Principales Productos
Obtenidos (Kandler, 1982).

Género Subgénero	Tipo de Fermentación	Productos principales (vel.molar)	Configuración de A. láctico
<i>Streptococcus</i>	homoláctica	Lactato	L(+)
<i>Pediococcus</i>	homoláctica	Lactato	DL y L(+)
<i>Lactocacillus</i>	homoláctica	Lactato	
<i>Thermobacterium</i>	homoláctica	Lactato	D(-), L(+), DL
<i>Streptobacterium</i>	heteroláctica (facultativa)	Lactato: Acetato 1:1	D(-), L(+), DL
<i>Betabacterium</i>	heteroláctica	Lactato 1:1:1	DL
<i>Leuconostoc</i>	heteroláctica	Lactato: Acetato: 1:1:1 CO ₂	D(-)
<i>Bifidobacterium</i>	heteroláctica	Lactato: Acetato 2:3	L(+)

Las mejores fuentes de carbón son los azúcares, en una menor extensión los azúcares del alcohol; los polisacáridos prácticamente no son fermentables. Las velocidades de fermentación utilizando mono-, di- y oligosacáridos son tan diferentes que el siguiente criterio puede ser utilizado para diferenciar entre especies (Franke y Buchta, 1960). Si un precultivo es sembrado utilizando azúcares que son escasamente aceptables como fuente de carbón, esto puede llevar a que la bacteria se adapte para

posteriormente crecer eficientemente utilizando éste tipo de azúcares sin afectar su habilidad para fermentar sus fuentes normales de carbono.

La capacidad de biosíntesis de la bacteria láctica está subdesarrollada. Por esta razón el contenido de vitamina en el medio juega un papel muy importante en la síntesis de aminoácidos. Por ejemplo, muchas bacterias lácticas requieren de la adición de ácido aspártico para crecer en un medio deficiente de biotina. Sin embargo, en un medio rico de biotina no se requiere adicionar ácido aspártico. Una relación similar existe entre el ácido fólico y la serina. La vitamina B₆, que es muy importante para las bacterias lácticas en la biosíntesis de aminoácidos y también puede ser reemplazada por ciertos aminoácidos. Sin embargo, dependiendo de la especie de bacterias lácticas, una serie de aminoácidos esenciales deben estar presentes en el cultivo. Por otro lado, su ausencia provee la base para la determinación analítica de aminoácidos por medio de microorganismos. A cambio de aminoácidos libres, se pueden utilizar péptidos y amidas como fuentes de nitrógeno. En muchos casos éstos compuestos poseen las características de un factor de crecimiento; las velocidades de crecimiento resultantes son de una magnitud mayor a aquellas obtenidas con aminoácidos libres.

La dependencia de la velocidad de crecimiento de la concentración de vitaminas puede ser utilizada para su determinación microbiológica. Esta pruebas son muy sensibles, por ejemplo, se pueden detectar tanto como 20 pg de vitamina B₁₂ por ml. Una lista de las vitaminas y los factores de crecimiento requeridos para el desarrollo de las bacterias lácticas se presenta en la Figura 6 (Franke y Buchta, 1960).

Los ácidos grasos también influyen en el crecimiento de las bacterias lácticas mediante mecanismos todavía desconocidos. El fosfato es la sal más importante que requieren las bacterias lácticas. Los iones de amonio no sirven como la única fuente

de nitrógeno, pero parecen tener alguna influencia sobre el metabolismo de algunos aminoácidos. La presencia de minerales no parece ser crítica y el contenido natural en el medio es suficiente en la mayoría de los casos.

FIGURA 6

Vitaminas y Substancias de Crecimiento Esenciales para el Desarrollo de Bacterias Lácticas. (Franke y Buchta, 1960).

Substancia	Microorganismos típicos
• Acido <i>p</i> -aminobenzóico	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus arabinosus</i>
• Acido fólico	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Acido 5-formil-5, 6, 7, 8-tetra-hidrofólico	<i>Leuconostoc citrovorum</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Leucovorine	<i>Lactobacillus casei</i>
• Acido nicotínico	<i>Lactobacillus arabinosus</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Riboflavina	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Streptococcus lactis</i>
• Acido pantoténico	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Pantoteína, Pantetina	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
• Acido lipóico	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Tiamina	<i>Lactobacillus fermenti</i> <i>Streptococcus lactis</i>
• Biotina	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
• Biocitina	<i>Lactobacillus arabinosus</i> <i>Lactobacillus casei</i>

La temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en el crecimiento. Dependiendo de las temperaturas óptimas para fermentación y crecimiento, las bacterias lácticas están clasificadas como termofílicas o mesofílicas. La Figura 7 muestra la temperatura óptima para crecimiento del género *Lactobacillus*.

FIGURA 7
Temperatura Óptima para Crecimiento del Género *Lactobacillus*.

Tipo Homoláctico		Tipo Heteroláctico
<i>Thermobacterium</i>	<i>Streptobacterium</i>	<i>Betabacterium</i>
Mesofílico		
37-45°C	28-32°C	28-32°C
<i>L. caucasicus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. lactis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. leichmannii</i>	<i>L. pastorianus</i>
<i>L. acidophilus</i>		35-40°C
<i>L. bifidus</i>		<i>L. fermenti</i>
Termofílico		
45-62 °C		
<i>L. bulgaricus</i>		
<i>L. thermophilus</i>		
<i>L. delbrueckii</i>		

Como se mencionó anteriormente, el ácido láctico formado debe ser continuamente neutralizado. Para una fermentación rápida y completa el rango óptimo de pH es entre 5.5 y 6.0. La fermentación es fuertemente inhibida a un pH de 5.0 y se detiene en valores de pH menores a 4.5 (Buchta, 1974).

La selección del microorganismo se basa en que cuando éste se desarrolle en un cultivo puro produzca el ácido láctico deseado con buen rendimiento.

Los criterios para la selección son los siguientes:

- a) Velocidad de crecimiento.
- b) Toxicidad.
- c) Contenido Proteínico.
- d) Eficiencia de la conversión de carbohidratos.
- e) Tolerancia de las altas temperaturas.
- f) Requerimiento de nutrientes.
- g) Rendimiento.
- h) Mutagénesis.

PROCESO DE FERMENTACION DEL ACIDO LACTICO.

El proceso de fermentación de ácido láctico en forma general obedece la ecuación:

Fuente de Carbono $\xrightarrow{\text{Microorganismo}}$ Acido Láctico

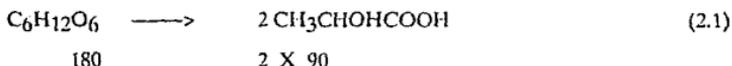
Con pH y temperatura regulados y en un medio con nutrientes complejos o simples.

Existen diferentes procesos de fermentación para la obtención de Acido Láctico, los cuales serán descritos a continuación.

Fermentación del ácido láctico según Pekham.

Para este tipo de fermentación pueden usarse cepas de *Lactobacillus* y son adaptables algunos mohos. Se hace fermentar un carbohidrato al que se le han añadido nutrientes minerales, proteínas y carbonato de calcio en exceso. Generalmente se prefieren bacterias termófilas del tipo *delbrueckii* que muestran su actividad óptima a 50°C. Esta fermentación elimina la mayor parte de los problemas de contaminación y permite usar un medio pasteurizado, por oposición a los medios de desarrollo esterilizados que suele exigir la fermentación mesofílica. A medida que se forma, el ácido es neutralizado por el carbonato de calcio con formación de lactato de calcio y dióxido de carbono, éste impide el descenso del pH, el cual inhibiría la fermentación. El líquido de fermentación contiene aproximadamente 15% de lactato de calcio.

El rendimiento teórico es 100% del peso de la hexosa fermentable según se muestra en la ecuación (2.1)



Realmente una parte del carbono es metabolizado por las bacterias, y se producen otras pérdidas durante el tratamiento subsiguiente, de modo que en la industria se considera normal un rendimiento del 85%.

Fermentación según Wehmer.

C. Wehmer, propuso el uso de *Lactobacillus delbrueckii* para la producción de ácido láctico en la planta de Ingelheim. Esta bacteria es homoláctica, y su rango óptimo de temperatura es entre 45 y 48°C, lo cual es una ventaja para prevenir infecciones como ya se había mencionado. Hoy en día se prefiere el uso de *Lactobacillus leichmannii* y *Lactobacillus bulgaricus*.

El almidón y el azúcar pueden ser usados como materias primas. Por mucho tiempo, las melazas, principalmente la remolacha, han sido el medio de cultivo, pero una buena calidad de ácido láctico solo es obtenida después de la extracción del ácido láctico con solventes. Las materias primas provenientes del almidón deben degradarse primero por medios enzimáticos o por medios ácidos, ya que el *Lactobacillus* no posee enzimas amilolíticas. Este paso adicional implica un alto costo además de dejar impurezas en el medio. El uso 12 a 18% de sacarosa da como resultado un medio más puro y el menor gasto para la purificación del ácido. La adición de compuestos orgánicos e inorgánicos de nitrógeno, como el licor de maíz, los brotes de malta y/o el sulfato de amonio pueden mantenerse al mínimo. Después de calentar a 90–95°C por un período de 1 a 2 horas, la temperatura debe descender a 48–50°C, se adiciona con un ligero exceso el carbonato de calcio (CaCO_3) previamente esterilizado en una solución reguladora de pH y el medio se inocula con un cultivo activo de *Lactobacillus delbrueckii*. Durante la fermentación principal la temperatura debe ser mantenida a 48–50°C, el caldo debe de agitarse para evitar la precipitación del carbonato de calcio. Normalmente después de dos o tres días el azúcar es totalmente metabolizado.

La producción de ácido láctico se lleva a cabo en fermentadores con capacidad de 20 a 100 m³. Se liberan grandes cantidades de dióxido de carbono lo cual ocasiona problemas de seguridad en la planta. Por otra parte, el dióxido de carbono crea condiciones semianaeróbicas en el fermentador, lo cual es necesario para un proceso óptimo.

El *Lactobacillus bulgaricus* es la bacteria deseable debido a que puede fermentar la lactosa efectivamente. Sin embargo, el alto contenido de sales en el suero repercute en altos costos de purificación.

Otros procesos de fermentación

Yamada y Yagi, (1979), encontraron que el 1,2-propanodiol puede ser usado como fuente de carbono para la producción de ácido láctico pero exclusivamente con cepas de *Arthrobacter oxidans*, *Alcaligenes faecalis* o *Fusarium solani*. Este proceso difiere del clásico ya que es un proceso aeróbico, el cual, se lleva a cabo a 25–37°C en un medio conteniendo 3% de 1,2-propanodiol; 0.4% de urea; 0.1% K₂HPO₄; 0.05% MgSO₄·7H₂O; 0.05% de KCl; 0.001% de FeSO₄·7H₂O y 0.05% de extracto de levadura. El proceso se inicia a un pH de 7–9 sin ninguna otra corrección de pH. Después de 72 h se puede encontrar 0.9% de ácido láctico en el medio a 30°C.

Childs y Welsby, (1966), describieron un proceso continuo de fermentación con *Lactobacillus delbrueckii* a 50°C. El medio consistió de un hidrolizado hecho de 9 partes de almidón y una parte de harina de cebada con ácido sulfúrico 0.5 N. Después de diluir el medio a aproximadamente 9% del contenido total de azúcar y la adición

de pequeñas cantidades de sulfato de amonio y sulfuro de sodio, se esterilizó e inoculó el medio. La neutralización del ácido producido se llevó a cabo por medio de la adición de una solución de carbonato de sodio. La velocidad de producción fue de 89 g/l/d para un proceso de una etapa. Sin embargo, la concentración del azúcar residual debió haber sido más baja de 0.1%, por lo tanto, a nivel producción el proceso se tuvo que llevar a cabo en dos o tres etapas. El tiempo de residencia pudo ser disminuido a menos de 2 días comparado con los 5 días o más del proceso por lote.

La empresa Rhone-Poulenc, (París 1971), patentó un procedimiento en el cual las cepas adaptadas de *Lactobacillus leichmanii* son inoculadas en un medio usual de producción de D(-)-ácido láctico. Después de la separación y la purificación se obtiene un rendimiento del 77% y el ácido obtenido contiene menos de 1.6% del isómero L(+).

Recientemente Stenroos y colaboradores, (1982), propusieron el uso de células inmovilizadas para la producción a nivel laboratorio de ácido láctico. Se cultivó una cepa especial de *Lactobacillus delbrueckii*. La masa celular húmeda, con un contenido de 4 a 7.7% de materia seca, fue suspendida en una solución de alginato de sodio al 6% a temperatura ambiente. Posteriormente la solución fue obligada a pasar a través de columnas con un diámetro interior de 0.6 mm en una solución de 0.5 M de cloruro de calcio. Se formaron gotas de lactato de calcio de 2 mm de diámetro que se prepararon por filtración y secado parcial. El proceso en sí puede ser llevado a cabo por lotes o continuamente. En ambos casos las microesferas para la inmovilización celular fueron procesados en columnas a 43°C y un pH de 5.7. En el método por lote la solución de azúcar fue reciclada. La producción más alta fue 97% basada en la glucosa y más del 90% del ácido láctico era del isómero L(+).

Martínez-González y colaboradores, (1988), propusieron un proceso de fermentación por lotes para la producción de ácido láctico a partir de melaza de caña y licor o agua de cocimiento de maíz utilizando una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* (ATCC-9649). Para conseguir la biodisponibilidad del sustrato, la melaza se trató con ácido sulfúrico diluido al 10 y 20% seguidos de calentamiento a 60°C. Con éste tratamiento se consiguió hasta 98% de azúcares invertidos. Consecuentemente, éste procedimiento reporta una eficiencia de 95 g/l melaza tratada que corresponde a un 98% con respecto a los azúcares consumidos. Los parámetros fueron los siguientes: temperatura 40°C, agitación 150 r.p.m., pH 5.8 y la adición de NH₄OH al 10% sin aereación.

DEFINICION DE MODELOS.

Se define a un modelo como la representación de un fenómeno o sistema determinado.

Por lo general los estudios de fenómenos se realizan con un modelo del mismo. Para fines de casi todos los estudios, no es necesario tener en cuenta todos los detalles de un sistema; por lo tanto, un modelo no sólo es la representación de un sistema o fenómeno, sino también una simplificación del mismo.

Es muy difícil suministrar reglas según las cuales se construyan modelos, aunque sí se pueden expresar algunos principios de guía.

a) **Formación en bloques.**

La descripción del fenómeno se debe organizar en una serie de bloques. El propósito de formar los bloques es simplificar las interacciones específicas de las variables. Cada bloque describe parte del fenómeno que depende de pocas, preferiblemente una, variable de entrada y produce unas pocas variables de salida.

b) **Relevancia.**

El modelo sólo debe incluir los aspectos del fenómeno que son relevantes para los objetivos del estudio. Aunque la información irrelevante no perjudica, se debe de excluir debido a que aumenta la complejidad de éste y genera más trabajo en el manejo del mismo.

c) **Exactitud.**

Debe tenerse en cuenta la exactitud de la información que se recabe. Los datos deben ser representativos para el problema en cuestión, se debe diferenciar entre un problema que requiera gran precisión y otro que requiera un cálculo aproximado.

TIPOS DE MODELOS.

En los estudios se han utilizado una amplia variedad de tipos de modelos, además de haberse clasificado en una diversidad de maneras. A veces la clasificación se realiza en términos de la naturaleza del fenómeno o sistema que modelan y algunas otras características.

Las categorías de análisis de modelos pueden ser las siguientes:

- Modelo conceptual.
- Modelo empírico.
- Modelo matemático.
- Modelo físico.
- Modelo no dinámico: No incluye al tiempo.
- Modelo dinámico: Si incluye al tiempo.
- Modelo no mecanístico:
- Modelo mecanístico: Analiza la causa-efecto del fenómeno.
- Modelo estructurado: Contempla la estructura interior de la célula y su comportamiento
- Modelo no estructurado: Considera la célula como un todo.
- Modelo determinista.
- Modelo estocástico o probabilístico.
- Modelo extrapolativo.
- Modelo interpolativo.
- Modelo lineal.
- Modelo no lineal.
- Modelo estadístico.

Modelos Matemáticos.

En un modelo matemático los elementos que lo componen se representan mediante variables matemáticas. Las interacciones se describen mediante funciones matemáticas que interrelacionan las variables.

Un modelo matemático estático indica las relaciones, entre las partes que conforman al modelo cuando el fenómeno o sistema se encuentra en reposo.

Si se cambia el punto de equilibrio alterando una o más variables, el modelo permite deducir los nuevos valores de todos los atributos, pero no muestra la forma en que se llegó a ellos.

Un modelo matemático dinámico permite deducir los cambios de las variables del sistema en función del tiempo. Dependiendo de la complejidad del modelo, la deducción puede hacerse con una solución analítica o con un cómputo numérico.

MODELOS GENERALES DE FERMENTACION.

Los modelos matemáticos han sido ampliamente usados para análisis del comportamiento de estructuras complejas cuando éstas no pueden ser analizadas experimentalmente en forma completa o directa. Por otro lado, en sistemas de fermentación los modelos matemáticos se han caracterizado por ser difíciles de construir debido a la complejidad del sistema viviente. Sin embargo, recientemente, la aplicabilidad y necesidad de modelos matemáticos en procesos microbianos se ha enfatizado enormemente a fin de encontrar las condiciones operacionales óptimas para alcanzar la máxima productividad de la sustancia en estudio cuando éstos modelos son utilizados junto con técnicas modernas de cómputo y análisis de control automáticos.

Al mismo tiempo se debe reconocer que hay todavía una brecha entre la teoría científica fundamental y los datos determinados experimentalmente en sistemas biológicos. Como resultado, los modelos matemáticos se construyen enfocándose en una limitada información biológica para controlar la productividad de una sustancia determinada. En este contexto, es de gran importancia la selección precisa de las características de los sistemas biológicos así como su adecuada incorporación a los modelos matemáticos.

Muchos investigadores del área microbiológica han dudado del valor de los modelos matemáticos simplificados, los cuales no pueden representar completamente las complejas características de los sistemas biológicos. Sin embargo, el tremendo desarrollo de instrumentos para la detección y control de los procesos de cultivo han reducido la brecha entre la microbiología y la ingeniería, y se han comprobado que los modelos matemáticos se pueden aplicar efectivamente cuando son acoplados a técnicas adecuadas a fin de buscar y establecer las condiciones óptimas de producción. Los modelos matemáticos se han desarrollado para utilizarse como un medio práctico para predecir los sucesos que ocurren durante el cultivo y para mejorar el control de los procesos logrando así una elevada productividad de la sustancia en cuestión. Basándose en esto, es de gran importancia construir modelos matemáticos apropiados utilizando una cantidad limitada de datos experimentales así como el conocimiento de los fundamentos de las reacciones bioquímicas.

Modelos no estructurados y estructurados.

Los modelos matemáticos de cinética de fermentación propuestos hasta ahora pueden ser divididos en dos grupos: no estructurados y estructurados.

Los modelos no estructurados escasamente toman en cuenta los aspectos biológicos y fisiológicos de un sistema vivo y consecuentemente fueron construidos utilizando ecuaciones arbitrarias o logísticas que se ajustaran a los datos experimentales.

Los modelos estructurados se pueden subdividir en dos tipos. El primero consiste de relaciones estequiométricas teniendo como base aspectos macroscópicos relacionados con el crecimiento, consumo de sustrato, respiración y otros componentes del sistema. El segundo puede estar basado en aspectos microscópicos que impliquen la biología molecular y la teoría de la cinética molecular. Como resultado de las consideraciones microscópicas, este último tipo de modelos generalmente se vuelve muy complejo y consecuentemente el número de variables involucradas es tan grande que no se pueden decidir sus valores mediante experimentación. Esto debe de hacerse con la ayuda de una computadora y así poder establecer constantes del modelo cinético.

MODELOS ESPECIFICOS DE FERMENTACION.

Modelos estructurados de crecimiento.

Se ha sugerido que los modelos de crecimiento deberían estar estructurados para incluir la distribución de edades. El concepto de edad es muy difícil de visualizar con células que se reproducen bajo fisión celular, excepto por la idea de edad en términos de tiempo a partir de la división. Por otro lado, la edad de las levaduras puede ser determinada por el número de cicatrices que presenta la célula madre.

Sin embargo, hay varios cambios en la composición de las células dependiendo del ambiente y la velocidad en la que crecen. Esto ha llevado a que se desarrollen modelos con actividades celulares estructuradas. Por estructuradas se refiere a que varios de los componentes celulares pueden ser utilizados para representar diferentes capacidades celulares. Por ejemplo, RNA es indicativo de la capacidad de síntesis enzimática. La composición de proteína indica concentración enzimática. Dichos modelos son útiles para correlacionar actividades celulares con productividad.

Debido a la dificultad que implica el estudio o establecimiento de un modelo estructurado es necesario mencionar que el uso de un modelo no estructurado presenta facilidades para la medición de las características macroscópicas por lo cual se debe establecer qué precisión se requiere de los resultados y así determinar cuál es el conveniente a usar en cada caso.

Modelos basados en la formación de producto.

Se han propuesto muchos modelos para la producción de varios metabolitos. Tres de estos modelos han sido muy útiles para expresar el comportamiento de sistemas simples. Estos son :

- a) modelo de crecimiento asociado.
- b) modelo no asociado con crecimiento.
- c) modelo combinado.

a) Cuando un sustrato es convertido estequiométricamente a producto, P, la velocidad de formación de producto está relacionada a la velocidad de crecimiento por:

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} \quad (2.2)$$

Dado:

α = constante estequiométrica.

C_p = concentración de producto (g/l).

C_x = concentración de microorganismo en base seca (g/l).

t = tiempo (h).

b) Para los casos donde la velocidad de formación de producto es dependiente de la concentración, la célula tiene un sistema enzimático que controla la formación de producto, entonces:

$$\frac{dC_p}{dt} = \beta C_x \quad (2.3)$$

Dado: β = constante de proporcionalidad.

c) Luedeking y Piret propusieron que las ecuaciones (2.2) y (2.3) se combinaran para expresar la productividad de las fermentaciones de ácido láctico.

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} + \beta C_x \quad (2.4)$$

o

$$v \equiv \frac{1}{C_x} \frac{dC_p}{dt} = \alpha \mu + \beta \quad (2.5)$$

donde :

v = velocidad específica de formación de producto.

μ = velocidad específica de crecimiento.

Un uso más complicado de los modelos combinados ha resultado de considerar las constantes α y β como variables, teniendo valores discretos y particulares para cada una de la cuatro fases de crecimiento por lote. Las partes consideradas de crecimiento por lote fueron lenta, exponencial, constante y fase de decaimiento.

De acuerdo con la experiencia industrial, los modelos más útiles son aquellos que involucran factores ambientales como la temperatura, pH, oxígeno disuelto y la velocidad de alimentación de sustrato, ya que estos modelos pueden ser utilizados en ciclos de retroalimentación para el control del proceso mediante computadoras.

MODELOS CINÉTICOS DE FERMENTACIÓN.

Crecimiento celular.

Modelo de Monod, (1942)

Tomando la fase exponencial y la fase estacionaria de crecimiento celular, la ecuación de Monod nos indica que la velocidad de crecimiento no es constante en un cultivo intermitente y se representa por:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s} \quad (2.6)$$

donde:

μ = velocidad específica de crecimiento.

μ_{\max} = velocidad específica máxima de crecimiento.

C_s = concentración del nutriente limitante del crecimiento.

K_s = constante de saturación.

Modelo de Contois, (1959)

Reconoce que la velocidad de crecimiento celular depende de la cantidad de sustrato, de la concentración celular y que está limitada por el aumento de la población celular.

$$r_x = \mu_{\max} C_x \frac{C_s}{B C_x + C_s} \quad (2.7)$$

Modelo de Jerusalemky, (1961)

Reconoce que el crecimiento celular puede estar inhibido por alguna sustancia (el producto, el sustrato o cualquier otra), en contacto con la célula.

r_x = función con inhibición.

Modelo de Topiwala y Sinclair, (1971)

Estudiaron el comportamiento de un cultivo continuo de *Aerobacter aerogenes* con respecto a la temperatura. Encontraron que el rendimiento, la velocidad de crecimiento celular, y la velocidad máxima de dilución para un cultivo de tipo continuo, dependen de la temperatura.

Los resultados se ajustaron al modelo cinético de Monod para la velocidad de crecimiento celular dependiendo de la concentración de un sustrato incluyendo el término de metabolismo endógeno. Los parámetros cinéticos presentaron una relación de tipo Arrhenius con respecto a la temperatura.

$$\mu_{\max} = A e^{-B/T} \quad (2.8)$$

Modelo de Andreyeva y colaboradores

Andreyeva y colaboradores propusieron algunos modelos matemáticos basados en el efecto del pH sobre el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios. Estos metabolitos están basados en varios mecanismos cinéticos enzimáticos. Seleccionando el mecanismo cinético enzimático llamado de inhibición competitiva, se tiene como base la siguiente reacción enzimática y la siguiente expresión cinética para la velocidad de crecimiento celular.

donde:

r_e = velocidad de consumo de material biológico por respiración endógena.

k_e = constante.

C_x = concentración celular.

Modelo de Sinclair y Ryder. (1975)

Establece que la respiración endógena en condiciones aerobias dependen de la concentración de oxígeno.

$$r_e = k_e C_x \frac{C_{O_2}}{k_o + C_{O_2}} \quad (2.12)$$

Modelo de S. López. (1980)

Establece que la respiración endógena está inhibida por el sustrato cuando éste se termina, ésta se activa.

$$r_e = k_e C_x \frac{k_i}{k_i + C_s} \quad (2.13)$$

k_i = constante.

Formación de Producto.

Modelo de Luedeking y Piret. (1958)

Luedeking y Piret propusieron un modelo cinético de la fermentación de glucosa a ácido láctico. Su modelo cinético (representado en la ecuación 2.14) se basó en estudios que consideraban seis niveles constantes de pH entre 4.5 y 6.0 mediante la medición de las velocidades instantáneas de crecimiento bacteriano y en la formación de ácido láctico durante la fermentación.

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} + \beta C_x \quad (2.14)$$

donde:

dC_p/dt = velocidad de formación de producto.

dC_x/dt = velocidad de crecimiento celular.

C_x = concentración de microorganismo.

α y β = constantes determinadas por el pH del medio.

Este modelo reconoce dos mecanismos de formación de producto:

- Uno dependiente de la velocidad de crecimiento celular.
- Otro dependiente de la cantidad de microorganismo en el medio.

Además indica que el pH del medio afecta la formación de producto.

Consumo de sustrato.

Es función de la velocidad de crecimiento celular.

PRINCIPALES VARIABLES Y PARAMETROS.

Como parámetros y variables más importantes se identificaron los siguientes:

Variables.

- pH del medio.
- Temperatura del medio.
- Concentración de sustratos, (fuente de carbono y nitrógeno u otros).
- Concentración de microorganismo.
- Velocidad de transferencia de masa.
- Velocidad de transferencia de calor.
- Grado de agitación del medio.
- Tiempo de fermentación.
- Cepa a utilizar.
- Oxigenación del medio.

Parámetros.

- Volúmenes de operación.
- Tipo de operación.
- Tipo de microorganismo.

CAPITULO 3

DESARROLLO

BASES DE LA SIMULACION.

Modelo general.

El Modelo General establecido integra los fenómenos cinéticos más importantes de la operación de fermentación de ácido láctico y consta de:

A) Crecimiento celular

- a) modelo cinético de doble sustrato.
 - a.1) efecto del pH.
 - a.2) efecto de la temperatura.
 - a.3) inhibición por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula).
- b) modelo cinético de un sustrato.
 - b.1) efecto del pH.
 - b.2) efecto de la temperatura.
 - b.3) inhibición por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula).

B) Respiración endógena

- a.1) simple.
- a.2) inhibición por sustrato.

C) Formación de producto

- a) proporcional al crecimiento celular.
 - a.1) efecto del pH.
 - a.2) efecto de la temperatura.

b) proporcional a la concentración celular.

b.1) efecto del pH.

b.2) efecto de la temperatura.

D) Consumo de sustrato

Modelo general mejorado.

Los resultados que se obtuvieron en las primeras corridas en computadora no representaron el fenómeno de fermentación como se esperaba, las respuestas obtenidas diferían de las respuestas típicas de crecimiento celular, formación de producto y consumo de sustratos.

Para mejorar el comportamiento del modelo y acercarlo a una respuesta similar a la observada en la realidad, en este trabajo se propone que el mecanismo de producción de metabolito asociado a la concentración celular esté regulado por la disponibilidad de sustrato (fuente de carbono), bajo la estructura siguiente.

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} + \beta C_x \frac{C_{s_1}}{k_d + C_{s_1}} \quad (3.1)$$

dado: C_{s_1} = concentración de sustrato (fuente de carbono).

En los modelos cinéticos revisados ninguno reconoce la importancia de la cantidad de sustrato relacionada a la producción de metabolito. Estos modelos consideran la producción de metabolito aún cuando el sustrato se ha terminado, lo cual, en la

realidad no es posible. La inclusión de éste término regula la cantidad de metabolito producido según la cantidad de sustrato (fuente de carbono) disponible.

Ecuaciones fundamentales.

El modelo general establecido se representa en las ecuaciones fundamentales (3.2) a (3.5).

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu_{\max} C_X \frac{C_{S_1}}{K_{S_1} + C_{S_1}} \cdot \frac{C_{S_2}}{K_{S_2} + C_{S_2}} \cdot \frac{K_i}{K_i + C_p} - k_e C_X \frac{K_{ii}}{K_{ii} + C_{S_1}} \quad \dots (3.2)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \mu_{\max} C_X \frac{C_{S_1}}{K_{S_1} + C_{S_1}} \cdot \frac{C_{S_2}}{K_{S_2} + C_{S_2}} \cdot \frac{K_i}{K_i + C_p} + \beta C_X \frac{C_{S_1}}{K_d + C_{S_1}} \quad \dots (3.3)$$

$$\frac{dC_{S_1}}{dt} = - m_1 \mu_{\max} C_X \frac{C_{S_1}}{K_{S_1} + C_{S_1}} \cdot \frac{C_{S_2}}{K_{S_2} + C_{S_2}} \cdot \frac{K_i}{K_i + C_p} - m_p \frac{dC_p}{dt} \quad \dots (3.4)$$

$$\frac{dC_{S_2}}{dt} = - m_2 \mu_{\max} C_X \frac{C_{S_1}}{K_{S_1} + C_{S_1}} \cdot \frac{C_{S_2}}{K_{S_2} + C_{S_2}} \cdot \frac{K_i}{K_i + C_p} \quad \dots (3.5)$$

La ecuación (3.6) representa el crecimiento celular basado en el modelo cinético de Andreyeva y colaboradores.

$$\frac{dCx}{dt} = \frac{\mu_m C_{S1}}{k_s (1 + k_a/C_H + C_H/k_b) + C_{S1}} \quad (3.6)$$

Manejo de las ecuaciones.

El Modelo General propuesto se integró en un programa de cómputo. El programa se escribió en lenguaje Fortran y el método numérico que se aplica para la solución de ecuaciones es el de Runge Kutta-Merson de 4º orden.

El programa da como resultados los valores de concentración celular, concentración de producto, concentración de sustrato 1 (fuente de carbono), y concentración de sustrato 2 (fuente de nitrógeno), contra tiempo. Dentro del programa se pueden manejar distintas opciones que corresponden a los siguientes modelos, además de las variaciones en los parámetros y variables principales como lo son la temperatura, pH, concentración de sustrato, concentración celular.

- 1.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod.
- 2.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto.
- 3.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena simple.

- 4.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena inhibida por sustrato.
- 5.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto y respiración endógena simple.
- 6.- Modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto, y respiración endógena inhibida por sustrato.
- 7.- Cinética de crecimiento celular con efecto de pH integrado (un solo sustrato).
- 8.- Modelo de Topiwala y Sinclair con efecto de temperatura integrado.

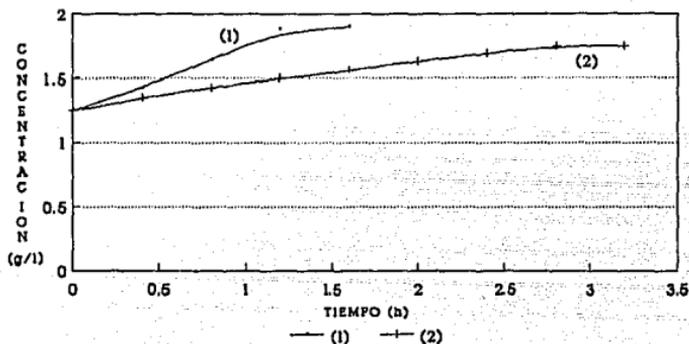
Como se puede apreciar el modelo general propuesto en este trabajo integra los modelos cinéticos más importantes propuestos hasta la fecha.

El programa realizado para simular el modelo general propuesto desarrolla los cálculos requeridos de manera rápida y con solo algunos datos de información inicial, lo cual permite visualizar los efectos del cambio de alguna variable y/o su comportamiento general.

SISTEMA DE SIMULACION Y SUS RESPUESTAS.

El modelo general propuesto en este trabajo nos permite la simulación de diversas posibilidades; a continuación se analizarán las respuestas del comportamiento de algunas de éstas. La simulación se hizo tomando valores típicos de los parámetros reportados en la literatura.

EFECTO DE LA INHIBICION POR PRODUCTO SOBRE EL CRECIMIENTO CELULAR.



(1) SIN INHIBICION

(2) CON CRECIMIENTO CELULAR INHIBIDO POR PRODUCTO

FIGURA 8

A manera de ejemplo de las respuestas que se obtienen, se presenta el efecto de la inhibición por producto sobre el crecimiento celular y sobre la formación de producto.

Del comportamiento de la concentración celular del modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod, (1); y, con metabolismo endógeno inhibido por producto, (2); que se muestran en la figura 8, se concluye:

- 1.- Cuando el metabolismo está inhibido por producto el aumento en el tiempo de la fermentación para alcanzar la fase estacionaria de crecimiento celular es de 1.2 h mayor que en el modelo doble sustrato Monod-Monod sencillo, lo cual equivale a un 75% en tiempo de proceso.

- 2.- No se alcanzan los niveles de producción de biomasa cuando ésta está inhibida por alguna sustancia siendo de un 8.57% menor que en el modelo doble sustrato Monod-Monod.

Estos resultados son muy importantes, ya que si el interés primordial de la fermentación radica en la cantidad de biomasa producida, el aumento de tiempo en proceso y la disminución de biomasa afectan significativamente los costos.

EFECTO DE LA INHIBICION POR PRODUCTO SOBRE LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO.

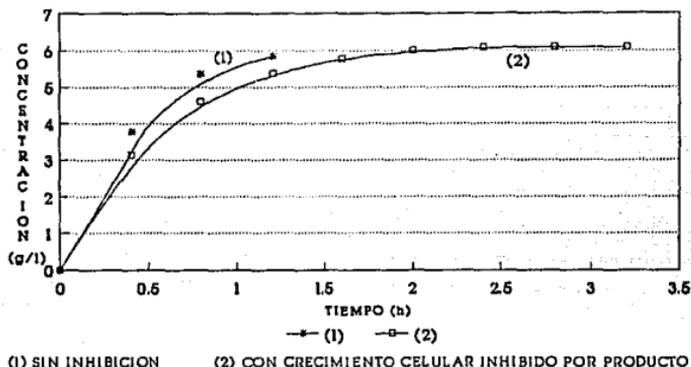


FIGURA 9

Del comportamiento de la producción de ácido láctico del modelo cinético de doble sustrato Monod-Monod (1), y con metabolismo endógeno inhibido por producto (2), que se muestran en la figura 9, se concluye:

La producción de ácido láctico tiene una velocidad mayor, la diferencia en tiempo para alcanzar el mismo de producción de ácido láctico es del 25% aproximadamente del tiempo de proceso.

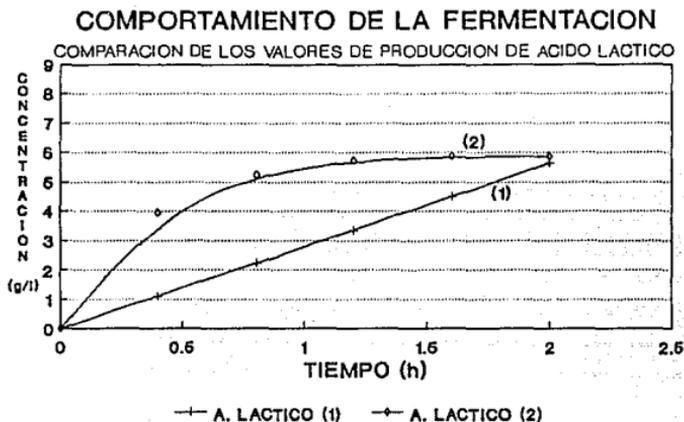
Asociando el comportamiento de las gráficas 1 y 2, es importante señalar que en el caso del Modelo General Modificado se obtiene la misma cantidad de ácido láctico

en un tiempo similar con una cantidad menor de biomasa, esto es una característica importante de proceso ya que si se logra controlar la fermentación con estas características se hace más sencillo y por lo tanto económico, el proceso de separación para la obtención de ácido láctico.

CAPITULO 4

RESULTADOS

RESPUESTAS DEL MODELO.



- (1) MODELO GENERAL
(2) MODELO GENERAL MODIFICADO

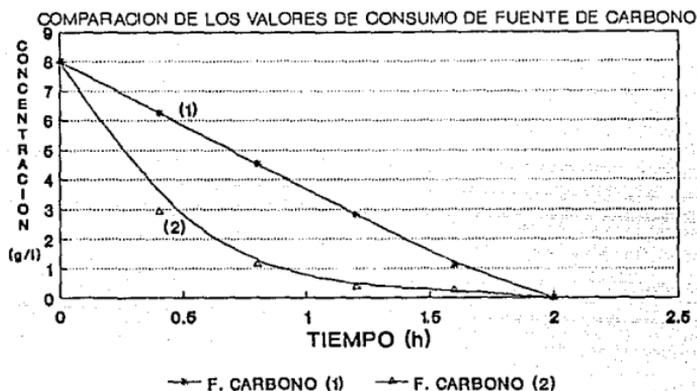
FIGURA 10

Comportamiento del Modelo General vs. Modelo General Modificado

Producción de Acido Láctico, (figura 10).

En el caso del Modelo General Modificado, la disponibilidad de sustrato regula la producción de metabolito, de forma tal que, cuando se tiene cantidad suficiente de sustrato, la producción de metabolito se acelera; al disminuir la disponibilidad de sustrato, la producción de metabolito disminuye hasta llegar a cero; así pues la velocidad de formación de metabolito no es constante, y difiere del planteamiento del modelo general, en el cual, la velocidad de formación de producto es constante. Al ser acelerada la producción de metabolito durante las primeras fases del proceso se obtienen cantidades mayores de producto en tiempos más cortos.

COMPORTAMIENTO DE LA FERMENTACION

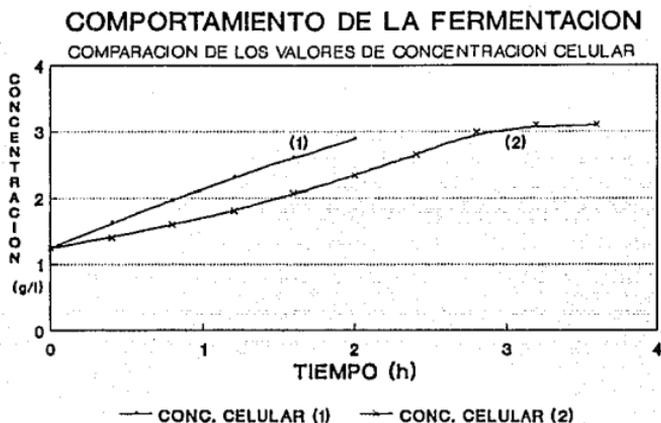


- (1) MODELO GENERAL
(2) MODELO GENERAL MODIFICADO

FIGURA 11

Consumo de fuente de carbono, (figura 11).

En el Modelo General Modificado, el consumo de sustrato (fuente de carbono), aumenta al tener mayor disponibilidad de éste, y disminuye de forma asintótica cuando el sustrato se agota. En el caso del Modelo General, el consumo de este sustrato se manifiesta constante a lo largo de la fermentación. Debido a que el consumo del sustrato es mayor en las primeras fases del proceso, éste se agota en tiempos menores.



(1) MODELO GENERAL
 (2) MODELO GENERAL MODIFICADO

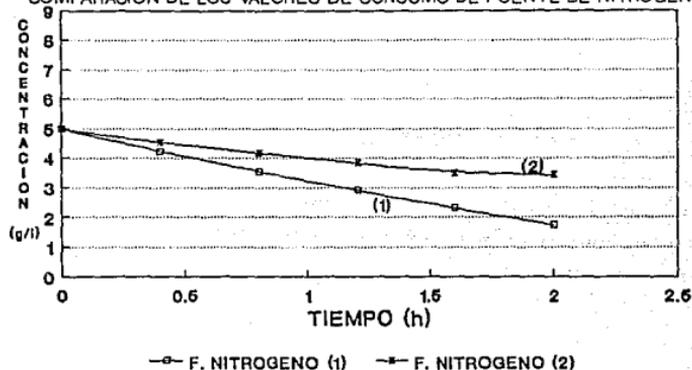
FIGURA 12

Crecimiento celular, (figura 12).

En el caso del Modelo General Modificado, al estar relacionada la formación de producto a la disponibilidad de sustrato, fuente de carbono, se utiliza éste tanto para el crecimiento celular como para la formación de producto, por lo que disminuye la cantidad de biomasa producida.

COMPORTAMIENTO DE LA FERMENTACION

COMPARACION DE LOS VALORES DE CONSUMO DE FUENTE DE NITROGENO



(1) MODELO GENERAL
(2) MODELO GENERAL MODIFICADO

FIGURA 13

Consumo de fuente de Nitrógeno, (figura 13).

El consumo de la fuente de nitrógeno disminuye en el caso del Modelo General Modificado debido a que al ser menor la cantidad de biomasa (como se observa en la figura 12) el requerimiento de este sustrato disminuye. Cabe recalcar que este sustrato se utiliza básicamente para el crecimiento celular.

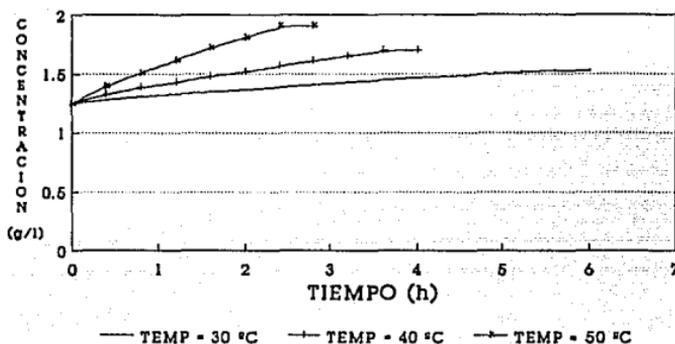
Efecto de la Temperatura

La influencia de la temperatura en la actividad microbiana tiene gran importancia en el aspecto económico.

Los procesos industriales de fermentación se pueden llevar a cabo a una temperatura óptima para cualquier síntesis en particular. La temperatura es un importante factor ambiental que afecta el crecimiento bacteriano. La mayoría de las bacterias crecen sólo en un rango restringido de temperatura. Además del efecto de la temperatura en las velocidades de reacción se pueden generar efectos altamente selectivos en el metabolismo.

Las temperaturas se seleccionaron en un rango de 30, 40 y 50°C con la finalidad de representar un modelo cercano a la realidad.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO CELULAR.



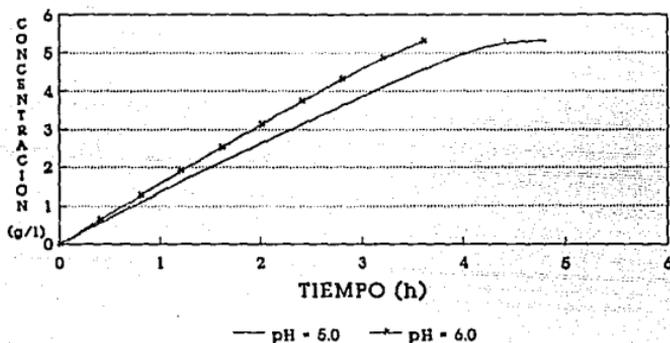
MODELO GENERAL MODIFICADO

FIGURA 14

De los resultados obtenidos en la figura 14 se observa que:

A mayor temperatura, mayor concentración celular en un período de tiempo más corto. A 50°C la fase estacionaria de crecimiento celular se alcanza en 2.5 h, en cambio, a 40°C la fase estacionaria se alcanza en 4 h lo cual representa un aumento de 60% en el tiempo de proceso.

EFFECTO DEL pH SOBRE LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO.



MODELO CINETICO LUEDEKING Y PIRET.

FIGURA 15

Efecto del pH.

De los resultados obtenidos en la figura 15 se observa que:

Efecto de pH. En un rango de pH (4.5 a 6.0) la formación de producto se manifiesta más acelerada en valores de pH más cercanos a la neutralidad. La diferencia en el tiempo de proceso por cada unidad de pH es del 20% aproximadamente.

DISCUSION DE LAS RESPUESTAS.

En la realidad existen parámetros que ya establecidos no pueden ser modificados, tales como, la velocidad máxima de crecimiento; pero también existen variables operacionales tales como el pH, la temperatura, cantidad de sustratos iniciales, cantidad del inóculo, que pueden ser corregidas, ajustadas o controladas para obtener niveles convenientes de producción.

Los resultados se evaluaron basándose en las variables antes mencionadas no así en los parámetros o constantes cinéticas que se pueden cambiar hipotéticamente en el programa y que en la práctica son fijos.

Los resultados que se obtuvieron del Modelo General, no representaron el fenómeno de fermentación como se esperaba. Las curvas obtenidas difieren de las curvas típicas de crecimiento, formación de producto y consumo de sustratos como se puede apreciar en las figuras 10 a 13 de este trabajo.

De los resultados obtenidos en la simulación del Modelo General Modificado se puede concluir que representa el fenómeno de fermentación de ácido láctico de forma conveniente ya que sus respuestas se ajustan a las curvas típicas de crecimiento, producción de metabolito y consumo de sustrato.

APLICACION DE LAS RESPUESTAS.

El Modelo Cinético General propuesto en este trabajo brinda gran ayuda tanto para la simulación de la producción de ácido láctico debido a que proporciona los resultados de tiempo de proceso, cantidad de producto obtenido, cantidad de biomasa producida y volúmenes de sustrato consumido. Todos estos datos son de suma importancia en el cálculo del rendimiento, tiempos de proceso y por lo tanto en costos.

El Modelo General se puede adecuar a otras fermentaciones cambiando los datos iniciales y la correcta selección de los parámetros del modelo cinético, por lo que su utilización no está restringida a un sólo tipo de fermentación.

Con la simulación se puede observar que cambios se obtendrán en el comportamiento general de la fermentación, controlando así alguno, o algunos, de los parámetros y/o variables. Se pueden controlar factores como la temperatura, cantidad de sustrato, tipo de sustrato, agitación, velocidad de aereación, viscosidad del medio, etc. para hacer más conveniente la fermentación. Esto tiene como ventaja una rápida y sencilla apreciación de los puntos críticos del proceso; así, se podrá controlar mejor para que sea más rentable y/o productivo.

Más aún, si se considera que en la realidad no es posible cambiar variables como la velocidad máxima de crecimiento celular o que modificar el tamaño de un tanque puede ser factible pero probablemente no sea rentable, la simulación de los procesos se convierte en una herramienta muy útil para la toma de decisiones.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

Como objetivos de éste trabajo se plantearon los siguientes:

- A) Revisar los modelos cinéticos de los fenómenos más importantes de la fermentación.
- B) Identificar los parámetros y variables más importantes de los modelos cinéticos de fermentación.
- C) Establecer un Modelo General que integre los fenómenos cinéticos más importantes de la operación de fermentación de ácido láctico.
- D) Simulación del proceso de fermentación con base en el Modelo General establecido.
- E) Analizar la aplicación del Modelo General establecido en el proceso de fermentación de ácido láctico.

De los objetivos planteados se pueden concluir los siguientes resultados:

- A) **REVISION DE LOS MODELOS CINETICOS DE LOS FENOMENOS MAS IMPORTANTES DE LA FERMENTACION.**

Existen modelos orientados a fenómenos muy específicos de la fermentación. Los modelos de fenómenos específicos son en general incompletos y conllevan el riesgo de omisiones y verificaciones de los supuestos que sustentan el desarrollo de dichos modelos.

Dentro de las aportaciones de los modelos más importantes se tiene:

- 1.- Modelo de Monod, (1942). El crecimiento celular es proporcional a la cantidad de microorganismos existentes y está limitado por la disponibilidad de sustrato en el medio.
- 2.- Modelo de Luedeking y Piret, (1958). Reconoce dos mecanismos de formación de producto.
 - a) Uno dependiente de la velocidad de crecimiento celular.
 - b) Otro dependiente de la cantidad de microorganismo en el medio.Además de hacer hincapié en que el pH del medio afecta fuertemente la formación de producto.
- 3.- Modelo de Contois, (1959). Reconoce que la velocidad de crecimiento celular depende de la cantidad de sustrato, de la concentración celular y que está limitada por el aumento de la población celular.
- 4.- Modelo de Ierusalemky, (1961). Reconoce que el crecimiento celular puede estar inhibido por alguna sustancia (el producto, el sustrato o cualquier otra) en contacto con la célula.
- 5.- Modelo de Pirt y Callow o de respiración endógena, (1966). Introduce el fenómeno de consumo de material interno para la sobrevivencia del microorganismo.
- 6.- Modelo de Topiwala y Sinclair, (1971). Establece que el rendimiento, la velocidad de crecimiento celular y la velocidad máxima de dilución para un cultivo de tipo continuo, dependen de la temperatura. Los parámetros cinéticos presentaron una relación de tipo Arrhenius con respecto a la temperatura.

- 7.- Modelo de Andreyeva y colaboradores, (1973). Reconoce el efecto del pH sobre el crecimiento celular.
- 8.- Modelo de Sinclair, (1975). Establece que la respiración endógena en condiciones aerobias depende de la concentración de oxígeno.
- 9.- Modelo de S. López, (1980). Establece que la respiración endógena está inhibida por el sustrato y cuando éste se termina empieza a funcionar la respiración endógena.

B) IDENTIFICACION DE LOS PARAMETROS Y VARIABLES MAS IMPORTANTES DE LOS MODELOS CINETICOS DE FERMENTACION.

Como parámetros y variables más importantes se identificaron los siguientes:

Variables.

- pH del medio.
- Temperatura.
- Concentración de Sustratos (fuente de carbono, nitrógeno u otros).
- Concentración de microorganismo.
- Velocidad de transferencia de masa.
- Velocidad de transferencia de calor.
- Grado de agitación del medio.
- Tiempo de fermentación.
- Cepa a utilizar.

Parámetros.

- Volúmenes de operación.
- Tipo de operación.
- Tipo de microorganismo.

C) ESTABLECIMIENTO DE UN MODELO GENERAL INTEGRO LOS FENOMENOS CINÉTICOS MÁS IMPORTANTES DE LA OPERACIÓN DE FERMENTACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO.

El Modelo general establecido integra los fenómenos cinéticos más importantes de la operación de fermentación de ácido láctico y consta de:

A) Crecimiento celular

a) modelo cinético de doble sustrato.

- a.1) efecto del pH
- a.2) efecto de la temperatura
- a.3) inhibido por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula)

b) modelo cinético de un sustrato.

- b.1) efecto del pH
- b.2) efecto de la temperatura
- b.3) inhibido por alguna sustancia (producto, sustrato o alguna en contacto con la célula)

B) Respiración endógena

- a.1) simple
- a.2) inhibida por sustrato

C) Formación de producto

a) proporcional al crecimiento celular.

a.1) efecto del pH

a.2) efecto de la temperatura

b) proporcional a la concentración celular.

b.1) efecto del pH

b.2) efecto de la temperatura

D) Consumo de sustrato

D) SIMULACION DEL PROCESO DE FERMENTACION CON BASE EN EL MODELO GENERAL ESTABLECIDO.

a) Programa de cómputo.

La simulación del proceso de fermentación se realizó con un programa de cómputo en lenguaje Fortran utilizando el método numérico de Runge Kutta-Merson de 4º orden.

Las ecuaciones generales que lo componen están presentes en el capítulo 3 de este trabajo.

b) Escenarios.

El manejo del programa da como resultados los valores de concentración celular, concentración de producto, concentración de sustrato 1 (carbono), y concentración de sustrato 2 (nitrógeno), contra tiempo de fermentación. Dentro del programa se pueden manejar distintas opciones que corresponden a los siguientes escenarios:

- 1.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod.
- 2.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod con metabolismo celular inhibido por producto.
- 3.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena simple.
- 4.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod con respiración endógena inhibida por sustrato.
- 5.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto y respiración endógena simple.
- 6.- Cinética de doble sustrato Monod-Monod con crecimiento celular inhibido por producto, y respiración endógena inhibida por sustrato.
- 7.- Modelo cinético de doble sustrato simple con efecto de pH integrado (Anreyeva y colaboradores).
- 8.- Modelo de Topiwala y Sinclair con efecto de temperatura integrado.

c) Análisis del comportamiento.

Los resultados que se obtuvieron de las primeras corridas en computadora (figuras 10 a 13) no representaron el fenómeno de fermentación como se esperaba, las curvas obtenidas difieren de las curvas típicas de crecimiento, formación de producto y consumo de sustratos.

d) Aportación al Modelo General.

Para mejorar el comportamiento del modelo y acercarlo a una respuesta similar a la que se observa en la práctica, en este trabajo se propone que el mecanismo de producción de metabolito asociado a la concentración celular está regulado por la disponibilidad de sustrato (fuente de carbono).

La introducción del efecto mencionado dio lugar a que la respuesta del modelo fuese congruente con él.

E) **ANÁLISIS DE LA APLICACIÓN DEL MODELO GENERAL ESTABLECIDO EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO.**

De la simulación se concluye que mediante ésta se visualiza el comportamiento general de la fermentación, así como los efectos que se tendrían por la modificación de algún(os) factor(es) como: temperatura, cantidad de sustrato, tipo de sustrato, etc. Esto tiene como ventaja una rápida y sencilla apreciación de los puntos críticos del proceso; siendo así posible, el controlar mejor estos puntos haciendo el proceso más productivo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Luedeking, R. and Piret, E.; A Kinetic Study of the Lactic Acid Fermentation Batch Process at Controlled pH. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, vol 1 no 4, pp 393-412, (1959).
- 2.- López, S. Modeling Fermentation Kinetics Processes by Non Linear Optimization Techniques. pH D Thesis, Bath, England, 1980.
- 3.- Coote, N. Kirsop, B.P. Factors responsible for the decrease in pH during beer fermentations. Inst. Brew. May-June, 1976, vol. S2, pp 149-153.
- 4.- Nagai, S. Mass and Energy Balances for Microbial Growth Kinetics. Vol II, 1976.
- 5.- Andreyeva, L.N. and Biryokov, V.V. Analisis of Mathematical Models of the Effect of pH on Fermentation Processes and their Use for Calculating Optimal Fermentation Conditions. Biotechnol. & Bioeng. Symp. No. 4, 61-76, (1973).
- 6.- Eroshin, V.K. *et.al.* Influence of pH and Temperature on the Substrate Yield Coefficient of Yeast Growth in a Chemostat. Biotechnology and Bioengineering, vol XVIII pp 289-295, (1976).
- 7.- Mac William, I.C. pH in Malting and Brewing. J. Inst. Brew. January-February, 1975, vol. 81 pp 65-70.
- 8.- Topiwala, H. Temperature Relationship in Continuous Culture. Biotechnology and Bioengineering, vol XII pp 795-813, (1971).

- 9.- Sinclair, C.G. and Ryder, D.N. Models for the Continuous Culture of Microorganisms under both Oxygen and Carbon Limiting Conditions. Biotechnology and Bioengineering, vol XVII pp 375-398, (1975).
- 10.- Pirt, S.J. The Maintenance Energy of Bacteria in Growing Cultures. Roy Soc. Proceed Series B vol 163, (1966).
- 11.- Sinclair, C.G. and Topiwala, H.H. Model for Continuous Culture wich Considers the Viability Concept. Biotechnology and Bioengineering, vol XII pp 1969-1979, (1970).
- 12.- Jackson J.V. and Edwards V.H. Kinetics of Substrate Inhibition of Exponential Yeast Growth. Biotechnology and Bioengineering, vol XVII pp 943-964, (1975).
- 13.- Kristiansen B and Sinclair C.G. Production of Citric Acid in Continuous Culture. Biotechnology and Bioengineering vol XVII pp 943-964, (1975).
- 14.- Martínez González y colaboradores. Producción de Acido Láctico a partir de Melaza Pretratada utilizando *Lactobacillus delbrueckii*. Rev Lat. amer. Microbial. 30:209-914. 1988.
- 15.- Infotec. Lactic Acid A Versatile Ingredient. vol 7, No 11, Nov. 1985, 44 + (3p.).
- 16.- Forsyth y colaboradores. Programación Fortran. Primera edición. Editorial Limusa. México 1983.
- 17.- Linares, F. Análisis de un proceso Fermentativo para la Producción de Acido Láctico a partir de la Sacarosa. Fac Química. México 1988.

- 18.- Aiba, S. Humphrey, A. Hillis, N. Biochemical Engineering. Academic Press. Inc. Second Edition. Japan 1973.
- 19.- Braverman, J.B.S. Bioquímica de los Alimentos. Editorial El Manual Moderno. Segunda edición. México 1986.
- 20.- Wiseman, A. Principios de Biotecnología. Acribia. Primera edición. España 1986.
- 21.- Perry, R. Biblioteca del Ingeniero Químico. Quinta edición. Mac Graw Hill. México 1986.
- 22.- Pelczar, M. Reid, R. Microbiology. Mc Graw Hill. U.S.A. 1972.
- 23.- I.P.N. Manual de laboratorio de Microbiología Sanitaria. Primera edición. México 1983.
- 24.- Plummer, D. Bioquímica Práctica. Mac Graw Hill. Segunda edición. Colombia. 1981.