



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

“Simulación y Optimización de Biorreactores Enzimáticos,
Microbianos y de Células Madre, mediante Métodos de
Diferencias Finitas y LBM”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

Ixchel Garita Roa

Asesor: M. en C. Gilberto Atilano Amaya Ventura

Cuautitlán Izcalli, Edo. De Méx.

2016



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

A mi Asesor el M. en C. Gilberto A. Amaya Ventura por la fortuna de poder trabajar con él y conocer más de su trabajo como académico, por su ayuda para enfrentar esos retos que muchas veces parecían difíciles y brindarme su amistad, apoyo y tiempo en la realización de este trabajo .

A él Dr. Ricardo Paramont García y a la M. en E. Teresa Ylizaliturri Gómez Palacios por ser parte del grupo de profesores que estuvieron durante mi formación como estudiante y futura profesionista, también por su ayuda dentro y fuera de las aulas de clase y para poder concluir con este proyecto de tesis .

A la Profesora Elizabeth Cruz Ruiz por su amistad y ser un ejemplo de motivación, también por su apoyo y paciencia en la realización de este tesis.

A la Profesora Alejandra Daza González por su participación en este trabajo.

A la UNAM y muy en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

DEDICATORIA

A mis Padre Misael y Rosa María, y a mis hermanas Yaoliztli y Takutzi por su gran cariño, apoyo y confianza que siempre han tenido en mí, pues sin ustedes el estar hoy presentando esta tesis no hubiera sido posible.

A mis Amigas, Sandra y Blanca, por estar siempre presentes echándome porras aun cuando la situación ha sido difícil.

A mis Amigos y compañeros Benita, Saraí, Martha y Miguel por todos esos momentos de logros y estrés compartidos a lo largo de la carrea y por su apoyo incondicional.

Objetivo General:

Formular algoritmos computacionales basados en los métodos de Euler, Diferencias finitas y Retículas de Boltzmann, para describir el comportamiento dinámico de biorreactores enzimáticos y microbianos, utilizando modelos cinéticos tipo Michaelis-Menten y Monod; considerando reactores BATCH, CSTR, series de reactores CSTR, PFR y reactores de lecho fijo con células inmovilizadas.

Objetivos Particulares:

- Desarrollar modelos matemáticos basados en métodos de Euler para lograr una descripción exacta del comportamiento dinámico de biorreactores microbianos, tipo BATCH y CSTR; comparando los resultados con los reportados en la literatura científica.
- Utilizar balances de materia y energía infinitesimales para obtener las ecuaciones de reacción –difusión-convección, que gobiernan la dinámica de biorreactores de flujo en pistón, formulando los correspondientes algoritmos computacionales basados en métodos de diferencias finitas y retículas de Boltzmann de la teoría cinética; comparando los resultados obtenidos con cada método y con los reportados en artículos internacionales.
- Emplear un método numérico basado en autómatas celulares de retículas de Boltzmann, para describir matemáticamente la dinámica de biorreactores de flujo continuo (PFR y de células inmovilizadas).
- Introducir el uso de autómatas celulares en redes de Boltzmann en una de las aplicaciones prácticas de la Ingeniería, como lo es el diseño de reactores químicos con hidrodinámica compleja.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
1. MICROORGANISMOS INDUSTRIALES Y CÉLULAS MADRE	6
1.1 Características de la <i>Clostridium Acetobutlicum</i>	7
1.2 Características de la <i>Zymomonas Mobilis</i>	7
1.3 Células Madre.....	7
1.4 Células Madre Mesenquimales (CMM).....	9
Referencias Bibliográficas.....	10
2. BIORREACTORES Y MÉTODOS NUMÉRICOS.....	11
2.1 Reactores Enzimáticos y sus Modelos Cinéticos.....	12
2.2 Reactores Microbianos y sus Modelos Cinéticos.....	12
2.3 Cinética Microbiana.....	14
2.4 Método de Diferencias Finitas en Ingeniería de Biorreactores.....	15
2.5 Retículas de Boltzmann en Ingeniería de Biorreactores.....	15
3. REACTORES TIPO BATCH.....	21
3.1 Fases del Reactor Batch.....	21
3.2 Reactores Batch Enzimáticos con Inhibición Competitiva y no Competitiva.....	21
3.3 Modelo Generalizado para el Fenómeno de Inhibición.....	22
3.4 Inhibición Competitiva.....	23
3.4.1 Forma Reversible.....	26
3.4.2 Inhibición por parte del Producto.....	28
3.4.3 Elasticidad para Inhibición Competitiva.....	29
3.4.4 Inhibición no Competitiva.....	31
3.4.5 Forma Reversible.....	32

3.4.6 Elasticidad de un Inhibidor no Competitivo.....	32
3.5 Reactores tipo Batch Microbianos.....	34
3.5.1 Fermentador tipo Batch con Zymomonas Mobilis.....	34
4. REACTOR CONTINUO TIPO TANQUE AGITADO (CSTR).....	38
4.1 Dinámica de Biorreactor Microbiano CSTR.....	39
4.1.1 Modelo Matemático y Simulación Computacional de Ciclos Autocatalíticos Enzimáticos.....	39
4.2 Modelo Matemático para un Reactor Microbiano CSTR con Dinámica Oscilatoria.....	42
4.3 Resultados.....	43
4.4 Dinámica y Control de una Reacción Enzimática en un Conjunto de Tres Biorreactores de Mezcla completa en Serie.....	48
4.5 Conclusiones.....	55
Referencias Bibliográficas.....	56
5 REACTOR DE FLUJO EN PISTÓN (PFR).....	57
5.1 Ecuación Diferencial Gobernante.....	57
5.2 Ecuación de Convección-Difusión.....	58
5.3 Diferencias Finitas para Procesos de Convección- Difusión.....	59
5.4 Modelo de Retículas de Boltzmann para Fenómenos de Convección- Difusión.....	62
Referencias bibliográficas.....	69
6 SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DE UN REACTOR PARA LA PRODUCCIÓN DE CÉLULAS INMOVILIZADAS.....	70
6.1 Reactor de Células Madre.....	70
6.2 Sistema de Reacción.....	72
6.3 Métodos de Retículas de Boltzmann para Flujo de Fluidos Newtonianos.....	77

6.3.1 Aproximación de Bhatnagar-Gross -Krook (BGK).....	77
6.3.2 Número de Mach y Reynolds.....	78
6.4 Modelo Bidimensional y nueve direcciones de fluidización (D2Q9).....	79
6.4.1 Condiciones de Frontera.....	80
6.4.2 Rebote.....	80
6.4.3 Velocidad Conocida.....	82
6.4.4 Condición de Frontera de Salida.....	82
6.5 Modelo de Retículas de Boltzmann para Reacción-Difusión- Convección.....	82
6.6 Algoritmo Computacional.....	83
6.6.1 Comentarios.....	92
6.6.2 Resultados.....	94
6.6.3 Conclusiones.....	97
Referencias Bibliográficas.....	98
7. REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO.....	100
7.1 Antecedentes.....	100
7.2 Formulación del Modelo Computacional.....	101
7.3 Algoritmo computacional.....	102
7.4 Resultados.....	106
7.5 Conclusiones.....	108
Referencias Bibliográficas.....	109

Introducción:

El impresionante desarrollo de la tecnología computacional en los últimos 20 años, ha permitido disponer de equipos de cómputo de alta velocidad y gran capacidad de memoria, lo cual a su vez ha impulsado el desarrollo de todas las áreas de la ciencia y la tecnología, incluyendo la Ingeniería Química. Aún se usa el método clásico desarrollado en las postrimerías del siglo XIX, correspondiente al escalamiento de datos empíricos obtenidos en plantas piloto para el diseño de equipos industriales a partir de correlaciones empíricas basadas en grupos adimensionales; pero ahora, en pleno siglo XXI, es más importante comprender los fenómenos físicos que ocurren dentro de cada equipo industrial y formular los modelos físico-matemáticos. Estos modelos comúnmente están basados en ecuaciones diferenciales o integrodiferenciales. Pero el gran avance teórico y práctico de la teoría cinética de la mecánica estadística, en menos de diez años, ha dado lugar a modelos más exactos y relativamente fáciles de programar, por lo que en este trabajo, además de los métodos macroscópicos tradicionales basados en ecuaciones diferenciales, se introduce el uso de autómatas celulares en retículas de Boltzmann, dicho método posee un fundamento físico muy profundo, basado en la dinámica de colisiones entre partículas ficticias, que con el cumplimiento de los principios de conservación de momentum, masa y energía, y después de un escalamiento de Chapman-Enskog a multiescalas, permite obtener las ecuaciones diferenciales macroscópicas gobernantes, asegurando exactitud de los resultados y brindando un enfoque moderno a este trabajo, a diferencia de los métodos numéricos tradicionales desarrollados a principios del siglo XX para el diseño de biorreactores de diferentes tipos.

En este trabajo no se utiliza software comercial, ni siquiera en los problemas de hidrodinámica compleja, sino que se presentan algoritmos propios formulados con los conocimientos adquiridos en las asignaturas de fenómenos de transporte, métodos numéricos, ingeniería de reactores químicos y transferencia de masa.

En la primera parte del trabajo se presenta una pequeña introducción a los temas de cinética enzimática, cinética microbiana y de reactores de células madre, especificando las características de las especies químico-biológicas que se consideraron para el diseño de los biorreactores. En segunda instancia se comenta respecto a los diferentes tipos de biorreactores que se utilizan en la industria moderna y se da una breve introducción a los métodos numéricos que se utilizan en esta tesis, que son los métodos de Euler, diferencias finitas y retículas de Boltzmann.

Luego se formulan algoritmos computacionales para la descripción de la dinámica de la operación de reactores batch, CSTR y PFR, con base en métodos de Euler y diferencias finitas. En esta parte, por ejemplo, de entre la amplia variedad de rutas bioquímicas que se tenían como opción, se eligió a la *Zymomonas Mobilis* por exhibir una cinética microbiana oscilante cuando se utiliza en fermentadores tipo CSTR. También en esta sección se eligió un arreglo de tres fermentadores en serie con control de flujo de la alimentación de sustrato para optimizar el rendimiento del producto.

Posteriormente se elabora un modelo matemático basado en retículas de Boltzmann para el diseño de un fermentador microbiano tipo PFR que aprovecha el metabolismo de la *Zymomonas Mobilis* para producir etanol.

Finalmente se considera la dinámica de un reactor de células madre encapsulada de lecho fijo. En este caso, se utiliza primero una red de Boltzmann para calcular el perfil de velocidades de la solución de nutrientes alrededor de las cápsulas, lo cual es un problema desafiante dentro de la dinámica de fluidos; y en segundo lugar se resuelve la ecuación de reacción-difusión-convección mediante un método de diferencias finitas para tomar en cuenta la dispersión de los nutrientes dentro de las cápsulas, donde sirven de alimento a las células madre cuya población empieza a crecer.

Los modelos matemáticos formulados para los biorreactores CSTR se realizan mediante ecuaciones diferenciales ordinarias donde la variable independiente es el tiempo, mientras en los de flujo en pistón y de células inmovilizadas se presentan variaciones tanto en el espacio como en el tiempo. En un curso estándar de ingeniería de reactores se utilizan modelos estadísticos de tiempo de residencia para tomar en cuenta las no idealidades hidrodinámicas dentro de un reactor, el trabajo presentado aquí para el reactor de células madre se basa en un enfoque alternativo donde se lleva a cabo el análisis del proceso de flujo de fluidos a escala mesoscópica logrando una descripción muy exacta del campo de velocidades del fluido alrededor de las cápsulas de células madre, por lo que la descripción del funcionamiento del biorreactor es más cercano a la realidad.

1. MICROORGANISMOS INDUSTRIALES Y CÉLULAS MADRE

La mayor parte de los microorganismos no tienen uso industrial, pero aquellos que llegan a ser utilizados son porque de ellos se puede obtener o fabricar productos de interés específico siendo estos modificados metabólicamente mucho antes de ser utilizados en la industria, estas modificaciones tienen por objeto obtener una especialización más elevada para poder tener un mejor rendimiento.

Los microorganismos industriales pueden presentar algunas deficiencias a nivel bioquímico, aunque eso no les impide el desarrollarse de manera adecuada en condiciones altamente especializadas para los fermentadores industriales.^[1]

En seguida se da una breve descripción de las características de los microorganismos que se utilizan en esta tesis.

1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA *CLOSTRIDIUM ACETOBUTILICUM*

Los *clostridium* poseen la característica fisiológica de un marcador metabólico fermentativo y su relación con el oxígeno, ya que solo crecen en condiciones anaerobias. El *clostridium-acetobutylicum* es una espora gran positiva y es capaz de convertir una amplia variedad de azúcares en tres productos principales: acetona, butanol y etanol (ABE), siendo esta la fuente primaria para los procesos de fermentación y el butanol por más de 40 años, convirtiéndose así en uno de los procesos más antiguos a escala industrial. [2]

1.2 CARACTERÍSTICAS DE LA *ZYMOMONAS MOBILIS*

La síntesis tradicional por vía microbiana para el etanol es llevada a cabo por las levaduras, siendo la *Saccharomyces cerevisiae* la más utilizada. Sin embargo en la literatura ha sido reportada la producción de bioetanol utilizando *zymomonas mobilis* y bajo diferentes condiciones, obteniendo procesos con mayores ventajas comparado con la *Saccharomyces cerevisiae*.

Las *Zymomonas mobilis* son bacterias gran- negativa, poseen la característica de ser anaerobias facultativa. Predominan como parte de la flora de las savias, como lo es el agave, la palma y la caña de azúcar esto debido a sus altas concentraciones de glucosa. También se encuentran en la sidra y pera en donde actúan como flora de los desechos.

1.3 CÉLULAS MADRE

Durante etapas tempranas del desarrollo embrionario se han identificado y aislado células con capacidades (totipotenciales), término que se utiliza para indicar que a partir de ellas es posible generar tipos celulares del organismo adulto. Estas células son denominadas células madre (CM) o también conocidas como stem (del inglés), o células troncales.

Las principales características de estas células, nos permiten diferenciarlas de las demás células constitutivas y son dos. La primera es que en condiciones de cultivo adecuado, poseen una capacidad ilimitada para dividirse; así es como una CM es capaz de generar un inmenso número de células, manteniendo sus mismas características, lo que las demás células de las cuales está constituido el ser humano no puede ya que poseen un número ilimitado de divisiones (pues se calcula que solo pueden dividirse alrededor de 50 veces al cabo de las cuales mueren). La segunda es que las CM pueden generar linajes celulares de los que está constituido un individuo: células del hígado, riñón, neuronas, corazón, músculos, etc.

Hasta el momento se han identificado células con características de CM de 4 orígenes distintos: de origen embrionario, células madre germinales, células madre procedentes de carcinomas embrionarios, células madre procedentes de tejidos somáticos y las aisladas de individuos adultos, a las cuales se les denomina CMA (células madre adultas). En la actualidad, lo que ha permitido que las fronteras de estudio y evaluación de las CMA es el desarrollo de la tecnología de reprogramación genética. Lo cual permite obtener células con propiedades muy similares a las embrionarias, a partir de numerosos tipos celulares adultos [3], que incluyen fibroblastos, queratinocitos, etc. Pero aún más interesante es el hecho de que con esta misma técnica de reprogramación genética se han conseguido obtener de forma directa cardiomiocitos a partir de fibroblastos [4]. Claramente, las posibilidades que se abren están aún por desarrollarse.

Hasta hace poco, las únicas CMA de mamíferos cuya existencia había sido demostrada de forma concluyente eran las células madre hematopoyéticas (CMH, o HSC, del inglés Hematopoietic Stem Cells), responsables de la producción de todos los linajes sanguíneos. Pero en la actualidad, se sabe que la diversidad de CMA equivale prácticamente a la variedad de tejidos del organismo adulto. De hecho, probablemente es mayor, pues algunos tejidos, cómo la médula ósea, contienen más de un tipo de CMA.

La siguiente figura es una representación esquemática del uso de células madre, y la regeneración de tejido óseo. Las células madre se cultivan en biorreactores, luego se cosechan y finalmente se acondicionan mecánica y biológicamente para ser usadas en trasplantes de médula ósea, reparación de cartílago y de piel en quemados.

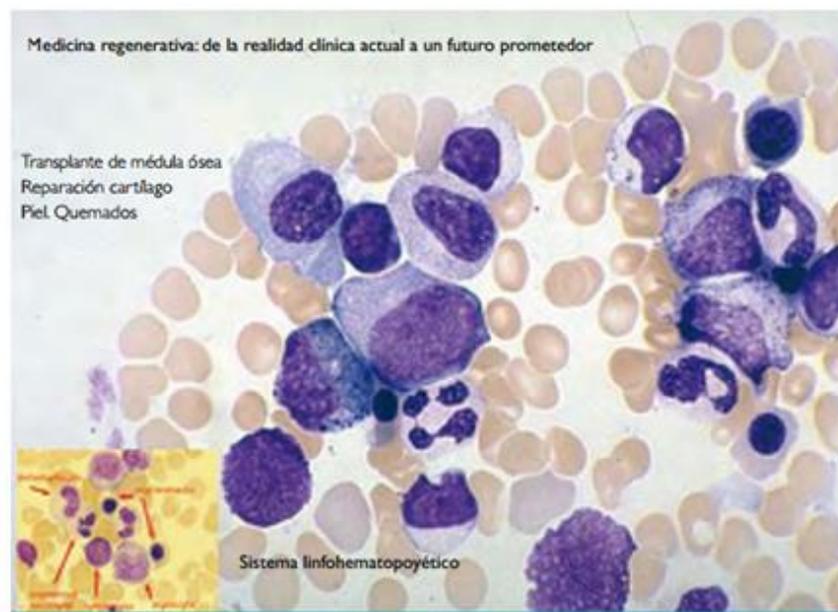


Figura1. Antecedentes de la medicina regenerativa. [4]

1.4 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES (CMM)

Existe otro tipo de células madre, denominadas células madre mesenquimales (CMM, o MSC, del inglés Mesenchymal Stem Cells), las cuales son células fibroblastoides contenidas en la médula ósea, precursoras de todos los tipos de tejidos conectivos no hematopoyéticos (hueso, grasa, cartílago, etc.) [5]. Las CMM no se encuentran sólo en la médula ósea, sino también en el estroma virtual de todos los órganos, por ejemplo en el tejido adiposo subcutáneo [6] o el cartílago articular [7]. Las CMM se obtienen generalmente mediante selección por adherencia a plástico de cultivo celular, pues son capaces de adherirse y crecer en condiciones en las que otros tipos celulares habitualmente no proliferan. Presentan un perfil homogéneo y reproducible de antígenos de superficie. Las CMM son uno de los tipos de CMA más empleados en terapia celular. Además, en determinadas condiciones experimentales, las CMM han mostrado la capacidad de diferenciarse en linajes celulares no conectivos, tales como el endotelial y el neuronal. Por último, otra propiedad interesante de las CMM, es que son capaces, tanto in vitro como in vivo, de inhibir la respuesta inmunitaria [8]. Esta capacidad de inmunorregulación incluye la inhibición de la activación de células T que son las encargadas de coordinar la respuesta inmune celular, las células B son las encargadas de dar origen a las células plasmáticas las cuales producen anticuerpos y la NK por su denominación en inglés (natural killer) son un tipo de linfocitos pertenecientes al sistema inmune, estas células destruyen células tumorales o infectadas por virus, en conjunto se encargan de la maduración de células dendríticas, así como la protección frente a patologías inflamatorias y/o autoinmunes, incluido el rechazo a trasplantes. [9]

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Roger Y, Stanier. Julio R. Villanueva. *Microbiología*. Reverté.1996
- [2] Algar, E. y R. Scopes, *Studies on cell-free metabolism: ethanol production by extracts of Zymomonas mobilis*. *J. Biotechnol.*, 2, 275–287 (1985).
- [3] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. *Multilineage potencial of adult human mesenchymal stem cells science*. 1999;284:143-7.
- [4] Park IH, Lerou PH, Zhao R, et al. *Generation of human- induced pluripotent stem cells*. *Nat Protoc*. 2008;23;1180-6.
- [5] Ieda M. Fu JD, Delgado- Olguin P, et al. *Direct Reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors*. *Cells*. 2010; 14:375-86
- [6] Pittenger MF, et al. *Multilineage ptential of adult human mesenchymal stem cells*. *Science*. 1999;284:43-7.
- [7] Zuk PA, Zhu M, et al. *Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells*. *Mol Biol Cell*. 2002;13:4279-95.
- [8] De la Fuente R, Abad JL, et al. *Dedifferentiated adult articular chondrocytes;a population of human multipotent primitive cells*, *Exp Cell Res*. 2004;297:313-28.
- [9] Rasmusson I. *immume modulation by mesenchymal stem cells*. *Exp Cell Res* 2006; 312:2169-79

2. BIORREACTORES Y MÉTODOS NUMÉRICOS

Los Biorreactores son equipos donde se lleva a cabo el proceso de cultivo (comúnmente denominado “fermentador”), sea en estado sólido o líquido. Su diseño debe ser tal que asegure homogeneidad entre los componentes del sistema y condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y la obtención del producto deseado. También es necesario considerar los problemas de transferencia de calor y de oxígeno sobre el sustrato, ya que de estos dependen de las características de la matriz que se esté utilizando para la fermentación, siendo éste, uno de los principales factores que afectan el diseño y estrategias de control. [1]

Los métodos numéricos son utilizados en ocasiones para entender esquemas numéricos a fin de resolver problemas matemáticos, de ingeniería y científicos en una computadora, así como el reducir esquemas numéricos básicos, escribir y resolverlos programas en computadora para usar correctamente el software existente para dichos métodos de tal manera que se pueda aumentar la habilidad para el uso de la computadora y con ello ampliar la pericia matemática y la comprensión de los principios científicos básicos. [2]

En los procesos de solución de problemas por medio de la computadora se requiere de los siguientes pasos:

- Especificación del problema. Se debe identificar perfectamente el problema y sus limitaciones, así como las variables que intervienen y los resultados deseados.
- Análisis. Es la formulación a la solución del problema denominada también algoritmo, este debe tener una serie de pasos que resuelvan el problema y que sean ejecutables en la computadora.
- Programación. Esto consiste en traducir el algoritmo de solución expresándolo como una serie detallada de operaciones.
- Verificación. Es la prueba del programa que permitirá eliminar todos los errores que tenga de manera que este pueda efectuarse. Los resultados de prueba se comparan con soluciones conocidas de problemas ya resueltos.
- Documentación. Consiste en preparar un instructivo del programa de manera que cualquier persona pueda conocer y utilizar el programa.
- Producción. Es la última etapa en la que solo se proporcionan datos de entrada del programa obteniéndose las soluciones correspondientes [3].

Los modelos matemáticos juegan un papel importante en la optimización de la fermentación en estado sólido (biorreactores). Los modelos para biorreactores tienen el objetivo de describir el rendimiento general del biorreactor, que se compone de dos sub-modelos: transporte/balance que describe la transferencia de masa y calor entre las diversas fases del biorreactor y el otro es el sub-modelo cinético que muestra la tasa de crecimiento de los

microorganismos y como estos dependen de las variables ambientales. Cualquiera de los dos enfoques puede ser tomado para describir la cinética de crecimiento [4].

2.1 REACTORES ENZIMÁTICOS Y SUS MODELOS CINÉTICOS

Las enzimas son proteínas o macromoléculas con varios grupos funcionales y actúan como catalizadores biológicos que aceleran una reacción, controlando la actividad de uno o varios sustratos. Los sustratos son sustancias químicas que al difundirse hacia los grupos funcionales que contienen las enzimas, reconocen químicamente tales sitios activos, transformándose en productos mediante una serie de pasos a los que se les denomina mecanismo enzimático. Algunas enzimas permiten el enlace con varios sustratos diferentes y liberar diversos productos a través de mecanismos de reacciones en serie o en paralelo. Aunque la descripción matemática de estos mecanismos puede ser muy compleja, comúnmente existe un paso limitante que gobierna toda la velocidad de reacción.

Para formular los modelos matemáticos de la cinética enzimática es conveniente conocer la estructura de las enzimas. Dicha estructura permite visualizar la forma en que sustrato y producto se mantienen unidos a la enzima durante el proceso catalítico, así como los cambios conformacionales que ocurren durante la reacción. Los mecanismos enzimáticos pueden ser divididos en mecanismo de sustrato único o de múltiples sustratos.

Los estudios cinéticos llevados a cabo en enzimas que solo unen un sustrato, pretenden medir la afinidad con la que se une el sustrato y la rapidez con la que se transforma en producto, mientras que si a la enzima se le unen varios sustratos, los estudios cinéticos buscan explicar también el orden en el que se unen los sustratos y la secuencia en que se lleva a cabo la liberación de productos.

El primer modelo matemático para explicar la acción enzimática fue propuesto en 1912 por el bioquímico y médico alemán Leonor Michaelis en colaboración con la médica canadiense Maude Menten. Dicho modelo es muy conocido y aparece en la mayoría de los libros de texto de cinética química y cinética enzimática por lo cual no se dará una explicación acerca de él solamente se puede comentar que consiste en un paso reversible para la formación del complejo enzima-sustrato y un paso irreversible para la transformación de dicho complejo en producto. La aplicación de la ley de acción de masas a este mecanismo lleva a un modelo de rapidez de reacción correspondiente a una combinación entre una cinética de orden cero y otra de orden uno.

2.2 REACTORES MICROBIANOS Y SUS MODELOS CINÉTICOS

La fermentación se lleva a cabo mediante una transformación molecular en la que la materia prima orgánica se convierte en producto por la acción directa de microorganismos o por la acción de las enzimas obtenidas de los mismos.

El objetivo de la fermentación es la producción de microorganismos (la obtención de levadura de pan), la desaparición del sustrato (depuración de agua), la producción del producto, o una

combinación de los objetivos anteriores. En los casos en los que la masa microbiana producida es un producto residual se utiliza su elevado contenido proteico.

Las reacciones biológicas, desde un punto cinético y termodinámico, presentan características propias que las diferencian sustancialmente de otros procesos de transformación química:

1. Son procesos generalmente lentos, en comparación con las reacciones químicas. Por ello, sus constantes de tiempo suelen medirse en horas, e incluso días.
2. Los procesos de fermentación tienen un carácter autocatalítico, ya que los microorganismos (producto) actúan como catalizadores del proceso.
3. La actividad específica de los biocatalizadores es, baja en comparación con los catalizadores químicos. Son procesos dependientes de las condiciones ambientales como el T, pH, oxígeno, etc.
4. Dependiendo de las condiciones de operación y de las concentraciones de trabajo, pueden presentarse problemas de inhibición o de producto
5. La naturaleza del biocatalizador puede modificarse a lo largo de un proceso relativamente prolongado. Así, puede tener lugar tanto una pérdida de la actividad (por problemas de inhibición, desactivación de enzimas extracelulares, etc.) como una activación de la misma (por adaptación de los microorganismos a las nuevas condiciones ambientales).
6. La distribución de productos puede estar fuertemente condicionada por las condiciones operativas ambientales ya que, en muchos casos, un microorganismo puede derivar su metabolismo en diferentes direcciones, dependiendo del pH, oxígeno disuelto, etc.
7. Las entalpías de reacción son bajas, por lo que el diseño de los equipos de intercambio de calor no debería suponer un problema de consideración.
8. La energía de activación de la reacción es importante, especialmente en algunos rangos de temperatura y la velocidad de reacción es dependiente de la temperatura de operación. Por lo que hay zonas en donde la desactivación es también muy dependiente de la temperatura.
9. La temperatura y presión de operación son moderadas.
10. Resulta necesario un buen contacto sólido/líquido/gas para conseguir una acción eficaz.
11. Puede resultar problemático tanto el aporte de gas como la eliminación del gas producido.
12. Las propiedades reológicas del fluido pueden variar durante el proceso de fermentación. Además, en ocasiones, los fluidos presentan un comportamiento no newtoniano.
13. En las operaciones de fermentación (tabla 1) frecuentemente se necesita una separación o, al menos, manejo de materiales sólidos.

Tabla 1 Tipo de Fermentaciones

Principales tipos de fermentaciones			
Tipo	Microorganismo	Substratos	Productos
Alcohólica	Saccharomyces Zymomonas	Hexosas	Etanol y CO ₂
Homoláctica	Pichia Lactococcus Lactobacillus casei	Pentosas Hexosas	Láctico
Heteroláctica	Leuconostoc Lactobacillus brevis	Hexosas Pentosas	Láctico, etanol, acético y y CO ₂
Propiónica	Propionibacterium	Hexosas	Propiónico, acético y CO ₂
Butírica	Clostridium butyricum	Hexosas	Butírico, acético y CO ₂
Acetona-butanol	Clostridium acetobutylicum	Hexosas	Butanol, acetona, etanol, acético, H ₂ y CO ₂
Ácido mixta	Escherichia Klebsiella Enterobacter	Hexosas	Láctico, acético, fórmico, succínico, etanol, 2,3-butanodiol, H ₂ y CO ₂
Homoacetogénica	Acetobacterium	Fructosa	Acético
Metanogénica	Methanothrix	Acético	Metano y CO ₂

2.2 CINÉTICA MICROBIANA

Los microorganismos son seres vivos, por lo que consumen una parte del sustrato disponible para mantener su existencia, otra parte para el crecimiento celular, y otra porción para formar productos a través de su metabolismo. El crecimiento celular obedece a las leyes de conservación de la materia y energía por lo que será necesario plantear los correspondientes balances.

Monod (1949) describió matemáticamente la cinética del crecimiento celular utilizando una ecuación hiperbólica parecida a la adoptada por Michaelis-Menten para describir la velocidad de las reacciones enzima-sustrato, ya que las enzimas intracelulares toman parte en la mayoría de las reacciones que tienen lugar dentro de la célula.

La siguiente ecuación (2.1) describe la velocidad específica de crecimiento celular como una función de la concentración del sustrato limitante en el medio de fermentación. Esta ecuación se conoce como el Modelo de Monod:

$$r = \frac{K_2 C_{E0} C_S}{K_M + S} \quad (2.1)$$

Velocidad específica de crecimiento (h⁻¹)

$$\mu = \frac{r_M}{C_M} = \frac{\mu_{\max} C_M}{K_S + C_M} \quad (2.2)$$

r = Velocidad de crecimiento de las células (kg células/Lh)

$$r_M = \frac{d_{CM}}{dt} = \mu_{\max} \frac{C_S C_M}{K_S + C_S} \quad (2.3)$$

μ_{\max} = velocidad específica máxima de crecimiento

C_S = concentración del nutriente limitante (mol / L)

K_S = constante de Monod (mol / L)

C_M = concentración de masa celular (kg células / L)

2.4 MÉTODO DE DIFERENCIAS FINITAS EN INGENIERÍA DE BIORREACTORES.

El método de diferencias finitas es la aproximación más simple a la solución numérica de una ecuación diferencial y por lo tanto la menos exacta, sobre todo para configuraciones de flujo complejas. Consiste en aproximar las derivadas por cocientes de incrementos. Mientras los incrementos de la variable independiente sean más pequeños, la exactitud del método aumenta. Para ecuaciones parabólicas como la ley de Fick y de Fourier, la exactitud aumenta en relación inversa con el cuadrado del incremento de la variable independiente.

El método de diferencias finitas (*DF*) para la evaluación de la evolución de las concentraciones de las diferentes especies químicas dentro de un bioreactor fue propuesto inicialmente por Brennan y Schwartz. En el método de diferencias finitas explícitas, el dominio de la solución de la ecuación diferencial se discretiza en una serie de nodos resolviendo la ecuación diferencial gobernante nodo a nodo en cada paso de tiempo. En las diferencias finitas implícitas, la ecuación diferencial es convertida en una serie de ecuaciones simultáneas algebraicas, las que son resueltas de manera iterativa ^[5] para tomar en cuenta la evolución de las concentraciones en el tiempo.

En este trabajo se formulan algunos modelos matemáticos y sus correspondientes algoritmos basados en diferencias finitas explícitas.

2.5 RETÍCULAS DE BOLTZMANN EN INGENIERÍA DE BIORREACTORES

Independientemente del método de diferencias finitas formulado en las postrimerías del siglo XVII, en años recientes se han comercializado algunos otros métodos para el diseño de biorreactores. Métodos como el de elementos finitos permiten obtener la evolución espacio-temporal de la concentración de reactivos y productos, aun en situaciones de hidrodinámica

compleja. La mayoría de los paquetes de software comercial basados en elementos finitos, son formulados principalmente para condiciones de estado estacionario; por lo que para tomar en cuenta la evolución espacio-temporal de las concentraciones, comúnmente se utiliza un híbrido con diferencias finitas. Paquetes como Ansys y Comsol ofrecen esta solución, lo cual es una buena alternativa, pues programar elementos finitos resulta un poco complicado. Pero en este trabajo de tesis no se trata de hacer uso de software comercial, sino formular algoritmos propios. En ese sentido es más conveniente utilizar el método de autómatas celulares en redes de Boltzmann, ya que permite una descripción dinámica de los procesos dentro del biorreactor, con la exactitud de los métodos de elementos finitos y la facilidad de programación de las diferencias finitas explícitas.

Cuando la suposición de mezclado perfecto no es válida, como en un CSTR, los modelos matemáticos para el diseño de reactores químicos deben considerar procesos de transporte. En ese caso, las ecuaciones diferenciales gobernantes frecuentemente son difíciles de resolver analíticamente por diversas razones: no linealidad, condiciones de frontera complejas, geometría irregular, etc. Afortunadamente se dispone de una gran variedad de métodos numéricos para llevar a cabo dicha tarea. Tales métodos numéricos se pueden clasificar en tres grupos, de acuerdo a la escala de aproximación en que se formulen:

- Enfoque macroscópico. Este es el enfoque tradicional, su origen se remonta al siglo XVII (diferencias finitas) y mediados del siglo XX (elementos finitos, volúmenes finitos, elementos espectrales). Estas son técnicas orientadas a la solución de las ecuaciones gobernantes mediante la discretización del dominio de la solución, convirtiendo el conjunto de ecuaciones diferenciales junto con las condiciones iniciales y de frontera, en un sistema de ecuaciones simultáneas algebraicas. En este enfoque macroscópico, se considera que cada nodo o elemento contiene una alta cantidad de partículas, en el orden de 10^{16} ; además, las variables a calcular del fluido reaccionante, tales como velocidad, temperatura y concentración, se aproximan mediante funciones continuas lineales, cuadráticas o sinusoidales, mientras que las propiedades termofísicas, tales como viscosidad, densidad, conductividad térmica y coeficientes de difusión, son parámetros conocidos.
- Enfoque microscópico. Estos métodos provienen del siglo XIX. El medio es considerado conformado por pequeñas partículas, átomos y moléculas, que colisionan entre sí. Por lo tanto es necesario identificar las fuerzas de interacción y resolver un conjunto gigantesco de ecuaciones diferenciales ordinarias. En cada paso de tiempo se requiere precisar la ubicación y velocidad de cada partícula, es decir, describir la trayectoria de cada átomo o molécula. En este nivel no hay definición de temperatura, presión, ni de las propiedades termofísicas del fluido tales como viscosidad, conductividad térmica, coeficientes de difusión. Por ejemplo, la temperatura y presión están relacionadas a la energía cinética de las partículas colisionantes, y a la frecuencia de las colisiones durante el bombardeo de partículas sobre las paredes del recipiente, respectivamente. Estos son los métodos de la Dinámica Molecular. Sus fundamentos fueron desarrollados a mediados del siglo XIX por Rowan Hamilton. El tiempo promedio de las colisiones es del orden de 10^{-12} s, pero las simulaciones bajo este

enfoque deben considerarse pasos de tiempo menores; por lo tanto es imposible resolver sistemas aún con tan solo 1 cm³ de volumen, pues se requerirían tiempos de cálculo varias veces la edad del universo. Sin embargo la dinámica molecular es simple y permite manejar, problemas desafiantes con geometrías complejas o transiciones de fase, por ejemplo. El principal problema para utilizar este enfoque en la descripción de sistemas relativamente grandes es la potencia de cómputo de las computadoras digitales actuales, lo cual no podrá ser resuelto en un futuro cercano.

- Enfoque mesoscópico. En medio de los dos enfoques anteriores se encuentra el desarrollado por Ludwig Boltzmann en las postrimerías del siglo XIX. Se consideran partículas pero se agrupan en pequeños conjuntos para evaluar sus propiedades promedio, realizando después un escalamiento a escalas múltiples progresivamente crecientes. Las propiedades de la colección de partículas es representada por una función de distribución que indica cuántas partículas hay en cada punto del espacio y qué velocidades tienen. Este enfoque acorta muy significativamente el tiempo de cómputo sin perder precisión en los resultados. Su implementación práctica data de solo unos 20 años y aún sigue en evolución, invadiendo cada vez más campos como la ingeniería biomédica, la nanotecnología, etc.

La figura 2 representa los enfoques mencionados en los párrafos anteriores, especificándose los momentos de mayor auge en sus aplicaciones:

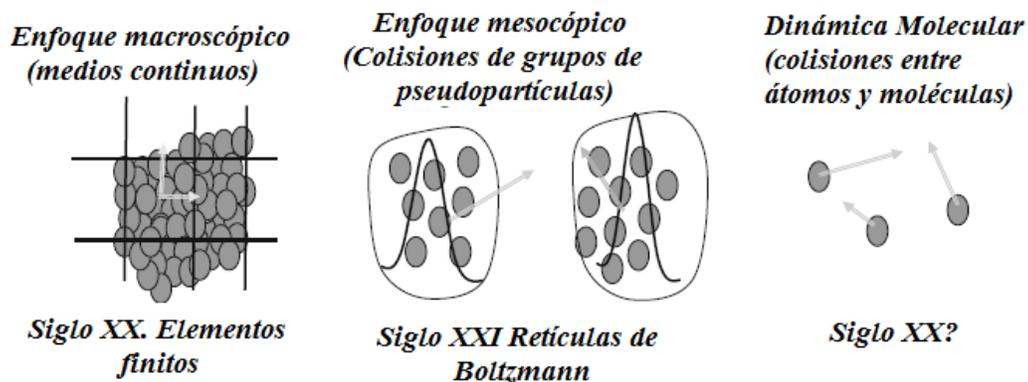


Figura 2 Diferentes enfoques para la descripción de la dinámica de fenómenos de transporte

El método de retículas de Boltzmann tiene muchas ventajas. Es fácil de aplicar a dominios complejos, adecuado para flujos multifásicos y de mezclas multicomponentes, sin necesidad de trazar las fronteras entre las diferentes fases. Además puede ser adaptado naturalmente a procesamiento de cómputo en paralelo.

Como la teoría cinética que empezó a desarrollarse en 1740 por el médico suizo Daniel Bernoulli. Su desarrollo, basado en teoría de colisiones entre las partículas hipotéticas de un gas, le permitió obtener analíticamente la ley de Boyle, que ya había sido obtenida empíricamente. Sin embargo, desde ese año y hasta mediados del siglo XIX, la teoría cinética fue olvidada. Fue en 1868 cuando James Clerck Maxwell logró un éxito sorprendente al calcular la viscosidad de un gas a baja presión utilizando dichas teorías de

colisiones. La clave fue suponer que en un espacio homogéneo se encuentran distribuidas partículas de gas con diferentes velocidades, pero que cumplen con una distribución Gaussiana adaptada a la dinámica de los gases. La ecuación (2.4) muestra la función de distribución de Maxwell:

$$f_0(v) = n \left(\frac{m}{2\pi k_B T} \right)^{3/2} v^2 \exp\left(\frac{-mv^2}{2k_B T} \right) \quad (2.4)$$

Esta función indica que el número de partículas con una velocidad específica varía con la temperatura, en la forma en que se representa en la siguiente figura 3 (gráfica no normalizada):

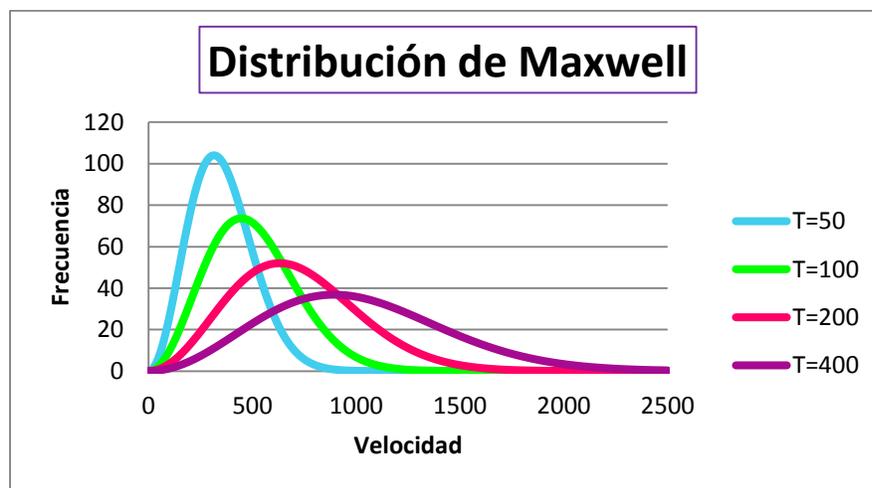


Figura 3 Distribución de Maxwell

Nótese que esta función crece parabólicamente desde cero a bajas velocidades, alcanza un máximo y después decrece exponencialmente. Conforme sube la temperatura, la posición del máximo se desplaza hacia la derecha. El área total bajo la curva es uno, por definición de distribución de frecuencias. La pregunta respecto a la probabilidad de encontrar una partícula que posea una velocidad específica no tiene sentido; lo que sí se puede calcular es el porcentaje de partículas que tienen velocidades comprendidas dentro de un intervalo, lo cual corresponde al área bajo la curva en dicho intervalo.

A diferencia de los Métodos tradicionales de Diferencias Finitas, Elementos Finitos, Volúmenes Finitos, etc., el método de Retículas de Boltzmann que se utiliza en esta tesis, es un método numérico con un gran fundamento físico, basado en un enfoque mesoscópico de los fenómenos que tienen lugar durante el avance de una reacción dentro de un equipo industrial. El sistema en fase fluida se discretiza en un conjunto de pseudopartículas que se distribuyen estadísticamente en los puntos nodales de una red discreta, permitiéndoles moverse a lo largo de las líneas de unión de dicha red para llevar a cabo colisiones entre ellas, respetando la estadística de distribución de número de partículas y velocidades en cada nodo (distribución

de Maxwell-Boltzmann) y los principios de conservación de masa, materia y energía, así como varianzas traslacionales y rotacionales.

La propuesta de una función de distribución de Maxwell-Boltzmann para los números de partículas y sus correspondientes velocidades, junto con un escalamiento no lineal de los procesos de colisión entre partículas, al que se le conoce como el escalamiento de Chapman-Enskog, permite recuperar, a nivel macroscópico las ecuaciones diferenciales gobernantes del fenómeno de transporte en cuestión, tales como la ecuación de Navier- Stokes y la ecuación de reacción-difusión-convección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Atkinson, B. *Reactores bioquímicos*. Barcelona; Reverté, cop 1986

[2] Nakamura, Shoichiro, *Métodos numéricos aplicados con software*. 1992

[3] Luthé, Olvera y Schultz, *Métodos numéricos*. Limusa México, 1981

[4] Mitchell DA, von Meien OF (2000) *Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of Zymotis packed-bed bioreactor for solid state fermentation*. *Biotech Bioeng* 68:127-135.

[5] M. Broadie and J. Detempe. "Option pricing: Valuation model and applications." *Management Science* Vol:50, pp 1145-1177. 2004

3. REACTORES TIPO BATCH

Los biorreactores tipo BATCH son recipientes agitados en los cuales los reactivos son precargados y se vacían al terminar la reacción. El enfoque común en la optimización de los biorreactores por lotes se ha basado en la cinética de la fermentación pues se asume un buen mezclado. Las reacciones bioquímicas se llevan a cabo en ambientes controlados, a una temperatura, pH, oxígeno, nutrientes y condiciones de mezcla adecuados. En un proceso de fermentación los biorreactores por lotes se caracterizan por su capacidad de transporte ya que suministran de manera óptima los nutrientes y el oxígeno necesario a los microorganismos para llevar a cabo el metabolismo y así generar los productos deseados como el etanol. [1]

Los reactores discontinuos o por lotes se caracterizan por trabajar en condiciones no estacionarias; es decir, que durante la operación la composición y la generación de calor cambian.

3.1 FASES DEL REACTOR BATCH

Un reactor Batch exotérmico se compone de cuatro fases, etapas o pasos de operación:

1. Fase inicial: elevar la temperatura del reactor mediante el uso de vapor hasta la temperatura predefinida de la reacción.
2. Reacción: mantener la temperatura mediante el uso de agua de refrigeración mientras se produce la reacción y se genera calor.
3. Digestión: mantener la temperatura mediante agua de refrigeración o vapor una vez que ha finalizado la reacción principal y acaban de reaccionar el resto de los componentes, hasta que se haya completado la reacción.
4. Fase final: bajar la temperatura para la descarga de los productos. [2]

3.2 REACTORES BATCH ENZIMÁTICOS CON INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA

Existen varias moléculas capaces de ralentizar o acelerar una reacción enzimática. Tales moléculas son denominadas inhibidores o activadores enzimáticos, respectivamente.

Un tipo de inhibición muy frecuente es la denominada inhibición competitiva, que ocurre cuando el inhibidor es estructuralmente similar al sustrato y por lo tanto compite por los sitios activos formando un complejo terminal. Sin embargo existen muchas clases de inhibidores y activadores.

Inhibidores:

Los inhibidores se clasifican en dos grandes grupos, los reversibles y los irreversibles; la inhibición competitiva es un ejemplo de un inhibidor reversible debido a que el inhibidor se enlaza reversiblemente a la enzima; este tipo de inhibición frecuentemente tiene lugar cuando se añade un exceso de sustrato. Los inhibidores irreversibles son aquellos que se enlazan covalentemente a la enzima o modifican químicamente la enzima, provocando un cambio permanente.

3.3 MODELO GENERALIZADO PARA EL FENÓMENO DE INHIBICIÓN

Existe una cantidad limitada de formas en las que una molécula de inhibidor puede interactuar con una enzima o proteína; el inhibidor puede enlazarse a:

- Un sitio activo
- Un sitio alternativo en la proteína
- Al sustrato que está unido al sitio activo

Tomando en cuenta estas alternativas, Botts y Morales formularon un modelo cinético generalizado que describe el enlace químico reversible del inhibidor (I) ya sea a la enzima libre (E) o al complejo enzima-sustrato (ES), o al complejo enzima-inhibidor (EI), o al complejo enzima-sustrato-inhibidor (ESI), considerando que los complejos ES y EIS pueden ser catalíticamente activos. La figura (3.1) representa la ruta química de las formas en que actúan los inhibidores enzimáticos:

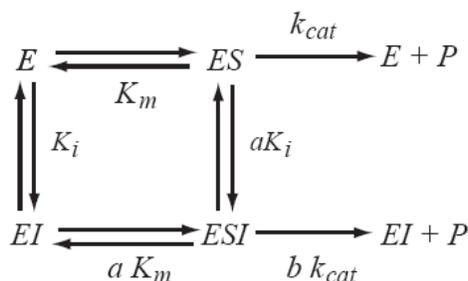


Figura 3.1 Esquema Generalizado de Inhibición

A cada paso dentro de este mecanismo le puede corresponder un diferente orden de reacción, obteniéndose diferentes modelos matemáticos. En su expresión generalizada, Botts y Morales consideraron un equilibrio rápido. La constante catalítica k_{cat} suele ser diferente para la transformación de ES o ESI en producto; dicha diferencia es tomada en cuenta con el factor b , si $b=1$, entonces ES y ESI tienen igual actividad catalítica. Si $b=0$, entonces solamente el complejo ES puede formar producto. Nótese que si $b>1$ el complejo ESI es más activo que el complejo ES. Bajo estas condiciones, el inhibidor actúa como activador. Para que actúe como un verdadero inhibidor, b debe tener un valor en el intervalo $0 \leq b \leq 1$.

En el esquema generalizado, el factor a representa la diferencia en afinidades de enlace entre el sustrato con el complejo EI y el inhibidor con el complejo ES. Cuando $a = 1$, no hay

diferencia. Cuando $a = 0$, solamente el inhibidor se puede enlazar a la enzima libre. K_i es la constante de disociación de enlace. Mientras más grande sea esta constante, menos favorable es la formación de los complejos involucrados. Modificando a y b se pueden obtener todos los modelos de inhibición y de activación comunes. La ecuación (3.1) muestra el modelo matemático correspondiente al esquema de inhibición generalizado:

$$v = \frac{V_m \frac{S}{K_m} (1 + b \frac{I}{aK_i})}{1 + \frac{S}{K_m} + \frac{I}{K_i} + \frac{SI}{aK_i K_m}} \quad (3.1)$$

Una forma alternativa muy útil de escribir esta ecuación es:

$$v = \frac{V_m S (1 + b \frac{I}{aK_i})}{K_m (1 + \frac{I}{K_i}) + S (1 + \frac{I}{aK_i})} \quad (3.2)$$

En tanto que la versión reversible es:

$$v = \frac{\frac{V_m}{K_s} (S - \frac{P}{K_{eq}}) (1 + b \frac{I}{aK_i})}{(1 + \frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p}) + \frac{I}{K_i} (1 + \frac{S}{aK_s} + \frac{P}{aK_p})} \quad (3.3)$$

A partir de simplificaciones sobre el esquema generalizado es posible obtener los modelos matemáticos para varios patrones de inhibición específicos. Los mecanismos más comúnmente descritos en los libros de texto son la inhibición competitiva y la no competitiva. En la práctica la inhibición no competitiva es muy rara mientras que la competitiva es muy frecuente.

3.4 INHIBICIÓN COMPETITIVA

Considerando $a \gg 0$ y $b=0$,

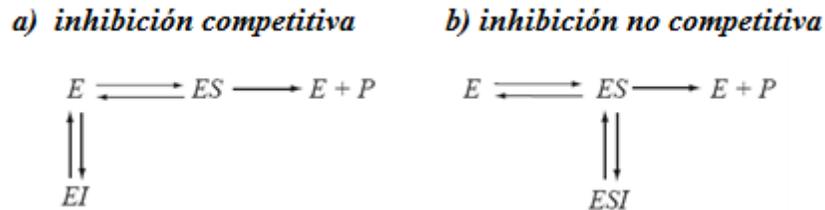


Figura 3.2 Tipos de inhibición

El mecanismo cinético para un inhibidor competitivo puro se muestra en la figura (3.2) en donde I es el inhibidor y EI el complejo inhibidor de la enzima. Haciendo que el factor a largo ($a \gg 0; b=0$) la formación de ESI puede eliminarse dejando únicamente al modelo competitivo.

Si la concentración de sustrato se incrementa, es posible que el sustrato eventualmente fuera competitivo al inhibidor. Por esta razón el inhibidor aparentemente altera a la enzima K_m pero

no el de V_m . Al igual que todos los mecanismos debe ser considerado, la ley de velocidad para los inhibidores competitivos o bien se puede derivar de nuevo utilizando la suposición de equilibrio rápido, o mediante el establecimiento de a y b para los valores adecuados en el esquema. De cualquier manera la ecuación para el inhibidor competitivo se muestra en la ecuación (3.4).

$$v = \frac{V_m S}{S + K_m \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} = \frac{V_m S / K_m}{1 + \frac{S}{K_m} + \frac{I}{K_i}} \quad (3.4)$$

En $I = 0$, la ecuación de inhibición competitiva se reduce a la ecuación normal e irreversible de Michaelis-Menten. Nótese al término $K_m (1 + I/K_i)$ en la primera ecuación se muestra un claro impacto en el inhibidor, I , sobre la K_m el inhibidor no causará efecto sobre V_m .

El siguiente algoritmo de cómputo permite visualizar gráficamente el efecto de la concentración del agente inhibidor y de la concentración de sustrato sobre la rapidez de reacción, tomando en cuenta cuatro concentraciones de inhibidor diferentes, y además, $V_m=1; K_m=1; K_i=1$:

```
function inhib1
clear all; close all; clc;
logS(1:50)=0; logv(1:50)=0;
I(1)=0; I(2)=2; I(3)=10; I(4)=50; Vm=1; Km=1; Ki=1;
for i=1:4
    for j=1:50
        logS(j)=-1+(j-1)*.1;
        S=10^(logS(j));
        v=Vm*S/(S+Km*(1+I(i)/Ki));
        logv(j)=log(v);
    end
    axis([-1 3 -2 0]);
    plot (logS, logv, '-'); hold on;
xlabel('log (Concentración de Sustrato)')
ylabel('log (velocidad de reacción)')
title('Cinética de Inhibición Competitiva')
grid on;
end
```

El desplegado gráfico que se obtiene al ejecutar este programa se presenta a continuación en la figura (3.3):

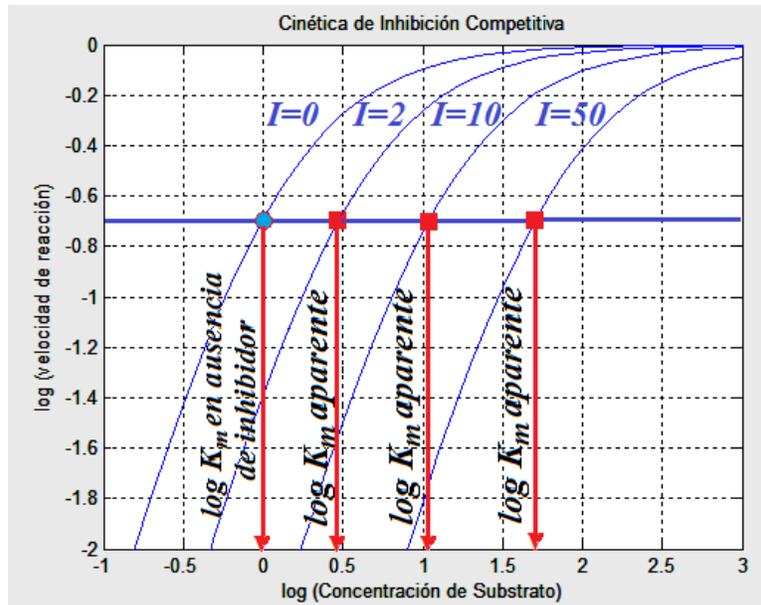


Figura 3.3 Inhibición Competitiva. Efecto de la concentración de sustrato sobre la Rapidez de reacción. A concentración de inhibidor constante la velocidad de reacción aumenta proporcionalmente con la concentración de sustrato, también se puede observar que al aumentar la concentración del inhibidor la velocidad de reacción se incrementa para una concentración de sustrato creciente.

En la figura (3.3) se muestra a la rapidez de reacción como función de los cambios en la concentración de sustrato, imponiendo una concentración constante del inhibidor para cada caso. Se señalan en el eje de las abscisas las constantes aparentes de Michaelis–Menten para resaltar el efecto del inhibidor y para que sea más fácil comparar con otros esquemas de inhibición. Las cuatro curvas de la figura alcanzan la velocidad de reacción máxima bajo concentración suficiente de S.

En ausencia de inhibidor ($I = 0$) el logaritmo de la concentración de sustrato corresponde a la constante de Michaelis-Menten; mientras que para diferentes valores de la concentración del inhibidor, las constantes aparentes se obtienen gráficamente de la manera indicada en la figura (3.3). La línea horizontal se traza a partir del punto de intersección de la curva de rapidez de reacción en ausencia del inhibidor con $\log(\text{concentración del sustrato}) = 0$.

La evolución de las concentraciones de reactivo y producto, cuando la reacción enzimática se efectúa dentro de un biorreactor tipo batch perfectamente agitado, puede calcularse mediante un algoritmo de cómputo como el que se presenta a continuación, basado en el método de Euler:

```
function inhib2
clear all; close all; clc; nit=30;
I(1)=0;I(2)=2;I(3)=10;I(4)=50;Vm=1;Km=1;Ki=1;S(1:nit)=0;P(1:nit)=0;
t(1:nit)=0; dt=.1;S(1)=1;P(1)=0;
for i=1:4
```

```

for j=2:nit
    t(j)=(j-1)*dt;
    v=Vm*S/(S+Km*(1+l(i)/Ki));
    S(j)=S(j-1)-v*dt; P(j)=P(j-1)+v*dt;
    plot (t,S,'-');hold on; plot (t,P,'-r');hold on;
xlabel('tiempo, segs'); ylabel('concentración (M)')
    title('Evolución de concentración de sustrato y producto'); grid on;pause;
end
end
end

```

Los resultados se presentan en la siguiente gráfica:

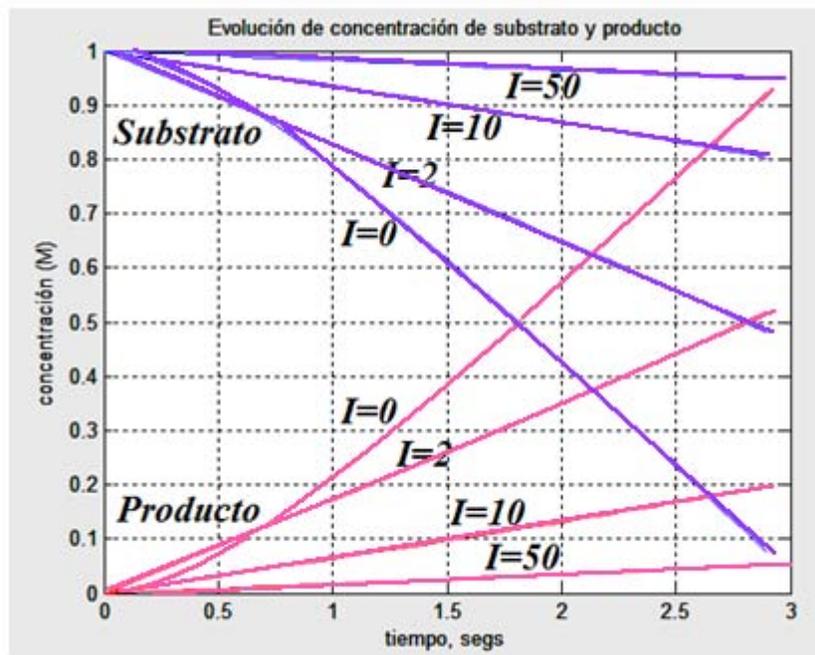


Figura 3.4 Evolución de la concentración de sustrato y producto cuando la reacción enzimática se efectúa dentro de un reactor BATCH con efectos de inhibición competitiva irreversible.

3.4.1 FORMA REVERSIBLE

La forma reversible de la ley de velocidad competitiva puede derivarse de la ecuación generalizada, especificando $a \gg 1$ y $b = 0$ obteniéndose el resultado que se muestra a continuación.

$$v = \frac{V_m(S - \frac{P}{K_{eq}})}{1 + \frac{S}{K_S} + \frac{P}{K_P} + \frac{1}{K_I}} \quad (3.5)$$

Donde V_m es la máxima velocidad hacia delante, K_s y K_p son las constantes de saturación media del sustrato y producto. Puede observarse que la velocidad de reacción depende de la

concentración del producto, la cual varía momento a momento durante el transcurso de la reacción. Utilizando el método de Euler, hemos formulado el siguiente algoritmo computacional para la inhibición competitiva reversible llevándose a cabo en un reactor BATCH.

```
function inhib3
clear all; close all; clc; nit=100;
l(1)=2;l(2)=5;l(3)=10;l(4)=20;S(1:nit)=0;P(1:nit)=0;
Vm=1;Ki=1;Ks=1/2;Keq=1/3;Kp=1; t(1:nit)=0; dt=.02;
for i=1:4
    S(1)=1;P(1)=0;
    for j=2:nit
        t(j)=(j)*dt;
        v=Vm/Ks*(S(j)-P(j)/Keq)/(1+S(j)/Ks+P(j)/Kp+l(i)/Ki);
        S(j)=S(j-1)-v*dt; P(j)=P(j-1)+v*dt;
    end
    plot (t,S,'-');hold on; plot (t,P,'-r');hold on;
xlabel('tiempo, segs'); ylabel('concentración (M)')
    title('Evolución de concentración de sustrato y producto')
    grid on;pause;
end
```

Los resultados de la ejecución de este programa se muestran a continuación en la figura (3.5) para valores de la constante de equilibrio de 2 y 1, y todos los demás parámetros unitarios. Obsérvese la tendencia asintótica de la concentración del sustrato al valor de $1/3$ y la del producto a $2/3$, en el caso de $K_{eq} = 2$; mientras que ambas concentraciones tienden a 1 cuando $K_{eq} = 1$.

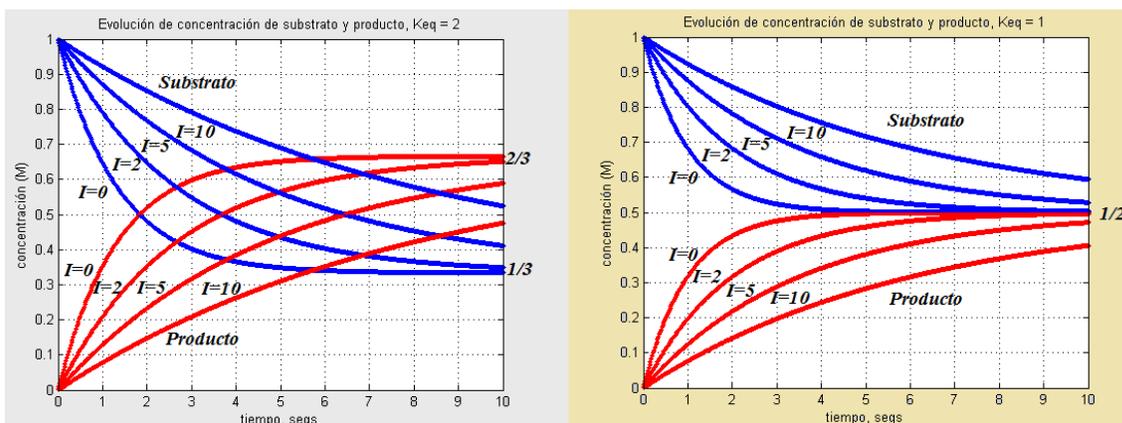


Figura 3.5 Evolución de sustrato y producto en un reactor BATCH para reacción enzimática con inhibición competitiva reversible.

La rapidez de reacción dentro del reactor BATCH, cuando la concentración inicial de producto es cero, evoluciona conforme aumenta la concentración del producto. Utilizando el programa anterior pero graficando la evolución de la rapidez de reacción, se obtienen la siguiente figura (3.6) para $K_{eq}=2$ y $K_{eq}=1$:

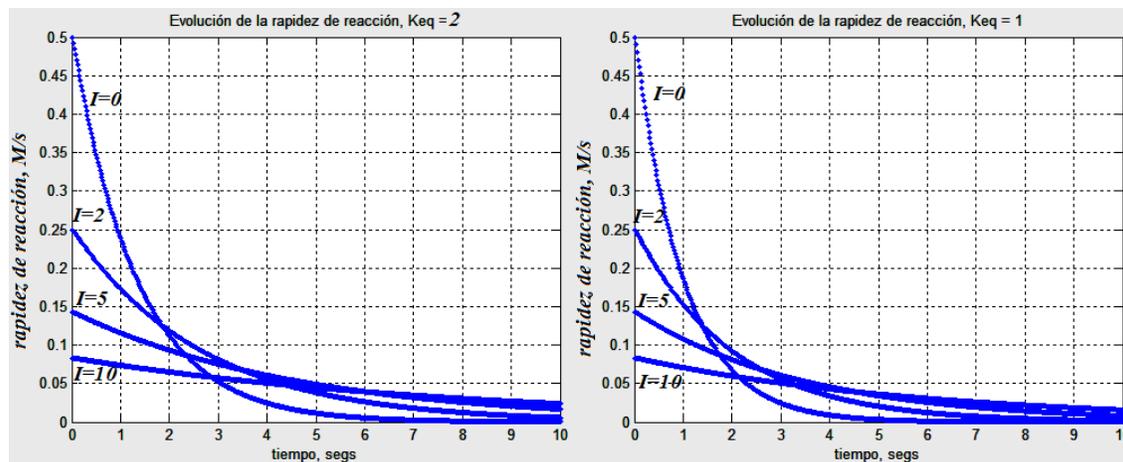


Figura 3.6 Evolución de la rapidez de reacción en un reactor BATCH para reacción enzimática con inhibición competitiva reversible.

Hay muchos ejemplos de inhibidores. El metanol es un veneno competitivo que puede ser mortal para los seres humanos en dosis de entre 100 y 125 ml. La deshidrogenasa etanólica oxida al etanol a acetaldehído pero también oxida el metanol a formaldehído y ácido fórmico a través de deshidrogenasa formaldehído. Sin embargo, el ácido fórmico es un potente inhibidor de la oxidasa mitocondrial citocrómica C, reduciendo así la respiración oxidativa y la producción de ATP. En el tratamiento de intoxicación por metanol se administra etanol ya que este puede actuar como inhibidor competitivo de la catálisis del metanol por alcohol deshidrogenasa alcohólica, reduciendo así la conversión de metanol a ácido fórmico.

3.4.2 INHIBICIÓN POR PARTE DEL PRODUCTO

A veces algunas reacciones parecen irreversibles, es decir, no se detecta una velocidad inversa discernible; y sin embargo la reacción directa es influenciada por la acumulación del producto. Este efecto es causado por la competencia del producto con el sustrato para la unión al sitio activo lo que a menudo se llama inhibición del producto. Dado que la inhibición de producto es un tipo de inhibición competitiva, se discutirá brevemente. Un importante ejemplo industrial de esto, es la conversión de lactosa y galactosa por enzima β -galactoxidasa. Donde la galactosa compete con la lactosa, disminuyendo la velocidad hacia la formación del producto.

Para describir la inhibición simple de producto con irreversibilidad, se puede establecer que P/K_{eq} en la ley de irreversibilidad de Michaelis- Menten ecuación (3.6) es igual a cero. Esto da como resultado:

$$v = \frac{V_m S}{S K_m (1 + \frac{P}{K_p})} \quad (3.6)$$

No es de sorprenderse el descubrir que esta última ecuación tiene exactamente la misma forma que la de inhibición competitiva, figura (3.4). El siguiente esquema muestra como la velocidad de reacción aumenta con la concentración de producto a una concentración fija de sustrato. Para esta gráfica se consideran $S=1$, $K_m =1$ y $K_p =1$. Conforme aumenta la concentración de producto, él compite con el sustrato y por lo tanto ralentiza la rapidez de reacción.

También se puede derivar esta ecuación mediante el uso del siguiente mecanismo y de la suposición de equilibrio rápido:



Donde la reacción de velocidad, $v \propto ES$.

La inhibición competitiva también puede ocurrir si una enzima se confronta a sustratos con estructura similar. Sustratos relacionados tienen el potencial de unirse al sitio activo y bloquear el enlace del sustrato de interés.

Debido a la equivalencia entre la inhibición competitiva y la inhibición por parte del producto, se puede aprovechar para hacer un análisis de elasticidad aplicable a ambos mecanismos de reacción.

3.4.3 ELASTICIDADES PARA INHIBICIÓN COMPETITIVA.

El parámetro que se utiliza para evaluar el efecto de la concentración de una especie química sobre la rapidez de reacción es conocido como elasticidad. En general la elasticidad (ϵ) describe cuantitativamente la sensibilidad de la rapidez de reacción a cambios en las concentraciones de reactivos, productos, inhibidores o activadores. Este parámetro permite comprender, por ejemplo, la forma en que algunas perturbaciones, tales como la introducción de una especie química dentro del mecanismo de reacción, viajan a lo largo de toda la trayectoria reaccionante. Por lo tanto, las elasticidades son muy importantes para explicar cómo funciona una serie de reacciones complejas en procesos fisiológicos o farmacocinéticos. En estas tesis no se utiliza este parámetro más que para mecanismos de reacción relativamente sencillos como las inhibiciones competitivas y no competitivas, que nos ocupan.

La elasticidad se define como el parámetro a dimensional dado por:

$$\epsilon_{S_i}^v = \left(\frac{\partial v}{\partial S_i} \frac{S_i}{v} \right)_{S_j, S_k, \dots} = \frac{\partial \ln v}{\partial \ln S_i} \approx \frac{v\%}{S_i\%} \quad (3.6)$$

Entonces, la elasticidad es el cambio fraccional de la velocidad de reacción en respuesta a un cambio fraccional en la concentración de una especie química específica, manteniendo la concentraciones de todas las demás especies constantes.

La elasticidad para una sola reacción de orden cero es cero. Para una única reacción de orden uno es 1. Para una reacción de orden dos es 2, y en general, para reacciones unimoleculares de orden n es n . Para la cinética de Michaelis-Menten, la elasticidad es dependiente de la concentración de sustrato:

$$\varepsilon_S^v = \frac{K_m}{K_m + S} \quad (3.7)$$

Las elasticidades de sustrato e inhibidor para inhibición competitiva irreversible son:

$$\varepsilon_S^v = 1 - \frac{v}{V_m} = \frac{1 + \frac{I}{K_i}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i}} = \frac{1+i}{1+\alpha+i} \quad (3.8)$$

$$\varepsilon_I^v = -\frac{\frac{I}{K_i}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i}} = -\frac{i}{1+\alpha+i} \quad (3.9)$$

Nótese que la elasticidad del inhibidor es negativa debido a que al incrementar la concentración del inhibidor se reduce la rapidez de reacción. La figura (3.7) muestra el efecto de la concentración del inhibidor sobre la elasticidad del sustrato y del inhibidor para inhibiciones competitivas, con $V_m=1$, $K_s=1$, $K_i=1$. No se presenta el algoritmo de cómputo pero corresponden a la graficación de las ecuaciones (3.8 y 3.9).

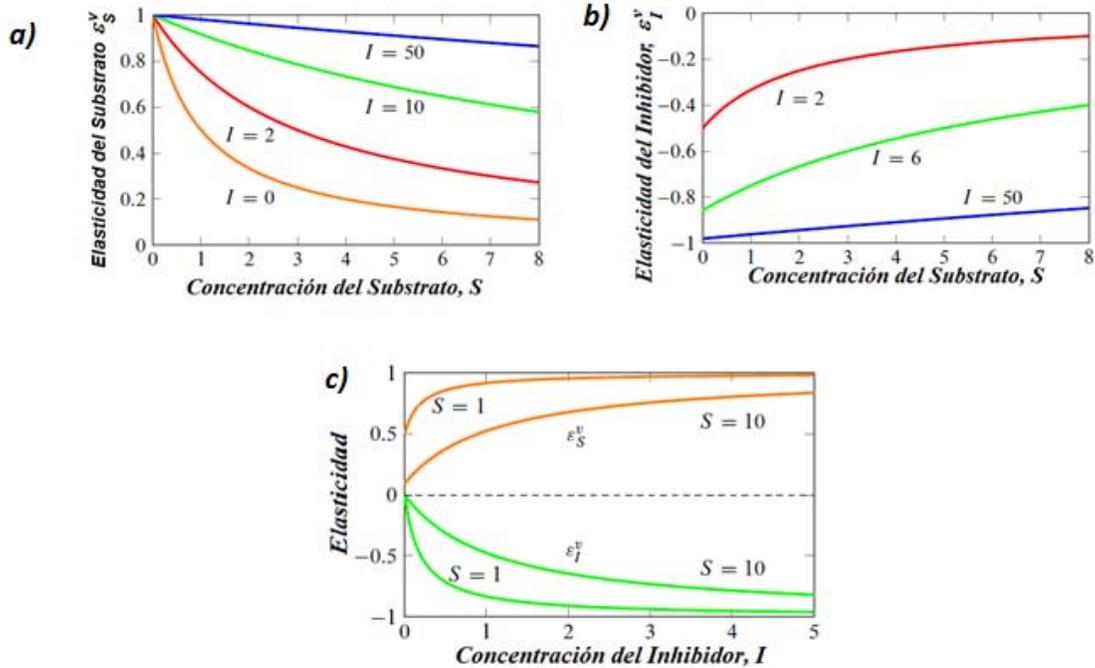


Figura 3.7 a) Evolución de la elasticidad del sustrato con respecto a la concentración del sustrato a diferentes concentraciones de inhibidor **b)** efecto de la concentración de sustrato sobre la elasticidad del inhibidora diferentes concentraciones de inhibidor **c)** Efecto de la concentración del inhibidor sobre la elasticidad del sustrato (par de curvas superiores) y sobre la elasticidad del inhibidor (par de curvas inferiores).

3.4.4 INHIBICIÓN NO COMPETITIVA

La inhibición no competitiva tiene lugar cuando una especie inhibidora se enlaza al sustrato únicamente cuando ya dicho sustrato se ha unido a la enzima. Se podría hipotetizar que el enlazamiento del sustrato a la enzima provoca un cambio conformacional que permite que el inhibidor se una posteriormente. Esto puede involucrar ya sea un enlace a un sitio completamente separado o al sustrato enlazado a la enzima. En cualquier caso, el inhibidor no compite directamente con el sustrato por los sitios activos. En realidad, la inhibición no competitiva es muy rara, pero un ejemplo bien conocido es el uso de litio para el tratamiento de la depresión maniaca. Se cree que el litio actúa como un inhibidor no competitivo de la mio-inositol-monofosfatasa. Otro ejemplo es la acción de la fosfatasa alcalina que cataliza la hidrólisis del fosfato a partir de diferentes moléculas pequeñas. Esta acción puede ser inhibida por la fenilalanina o por el L-triptofano vía mecanismo no competitivo.

En el esquema de Botts-Morales, se especifica $b=0$, y $a \rightarrow 0$, asumiendo además que K_i tiende a infinito. Esto significa que $K_i \gg \alpha K_i$ y asegura que el enlace de I a E es muy raro que ocurra, mientras que el producto αK_i tiene un valor finito, por lo que I puede enlazarse a ES . Cuando se toman en cuenta estas consideraciones, se obtiene la siguiente expresión matemática para la inhibición no competitiva:

$$v = \frac{V_m S}{K_m + S \left(1 + \frac{I}{aK_i}\right)} \quad (3.10)$$

La figura (3.8) muestra como varía la rapidez de reacción a diferentes concentraciones de inhibidor no competitivo, en escala bilogarítmica. En esta gráfica, la abscisa señalada con la quinta flecha corresponde a la constante de Michaelis-Menten en ausencia de inhibidor, mientras que las cuatro primeras corresponden a constantes aparentes para cada una de las concentraciones de inhibidor indicadas.

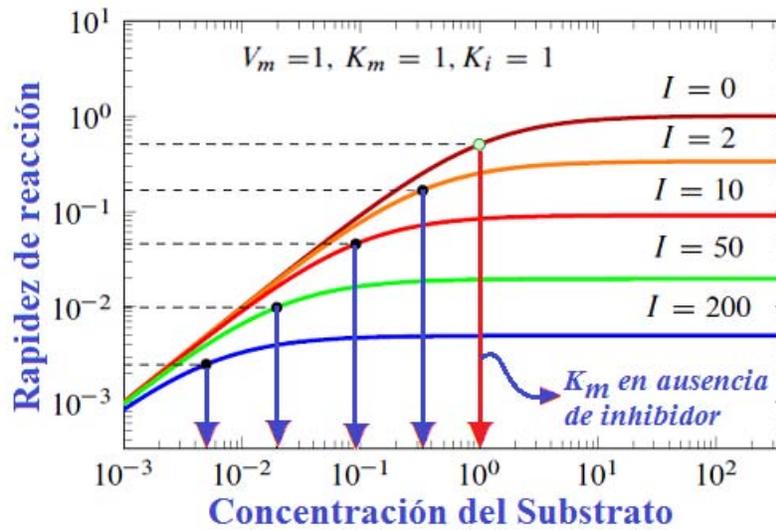


Figura 3.8 Evolución de la rapidez de la reacción vs la concentración del sustrato para diferentes concentraciones del inhibidor.

3.4.5 FORMA REVERSIBLE

La forma reversible de la ley de velocidad no competitiva puede derivarse de la ecuación, mostrándose la igualdad:

$$v = \frac{\frac{V_m}{K_s} \left(S - \frac{P}{K_{eq}} \right)}{1 + \left(\frac{S}{K_s} + \frac{P}{K_p} \right) \left(1 + \frac{I}{aK_i} \right)} \quad (3.11)$$

Donde V_m es la velocidad máxima, K_s y K_p las constantes de saturación media del sustrato y el producto.

3.4.6 ELASTICIDAD DE UN INHIBIDOR NO COMPETITIVO

Las elasticidades para sustrato e inhibidor correspondientes al mecanismo no competitivo irreversible están dadas por:

$$\varepsilon_S^v = 1 - \frac{v}{V_m} \left(1 + \frac{I}{K_i} \right) = \frac{1}{1 + \frac{S}{K_m} + \frac{I}{K_i} \frac{S}{K_m}} = \frac{1}{1 + \alpha + i\alpha} \quad (3.12)$$

$$\varepsilon_I^v = -\frac{\frac{I}{K_i} \frac{S}{K_m}}{1 + \frac{S}{K_m} + \frac{I}{K_i} \frac{S}{K_m}} = -\frac{-i\alpha}{1 + \alpha + i\alpha} \quad (3.13)$$

La figura (3.9) muestra la respuesta de la elasticidad del inhibidor y el sustrato como una función de la concentración del inhibidor. A diferencia de un inhibidor competitivo, la elasticidad del sustrato disminuye a medida que va aumentando la concentración del inhibidor. Esto significa que al aumentar la concentración del inhibidor es menos probable que la concentración del sustrato sea neutralizada. En comparación con un inhibidor competitivo, el inhibidor no competitivo debería en principio ser más efectivo.

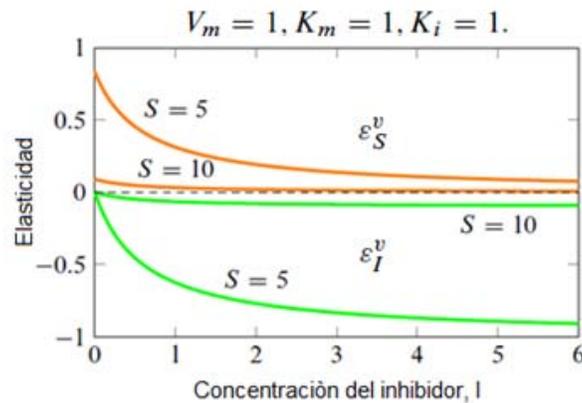


Figura 3.9 Variación de la Elasticidad de sustrato e inhibidor, con respecto a la concentración del inhibidor. Las dos curvas de arriba corresponden a la elasticidad del sustrato, mientras que las dos curvas de abajo representan la elasticidad del inhibidor.

Por otra parte, la figura (3.10) muestra el efecto de la concentración del inhibidor sobre la elasticidad del sustrato, como función de la concentración de sustrato para el mecanismo de inhibición no competitiva. [3]

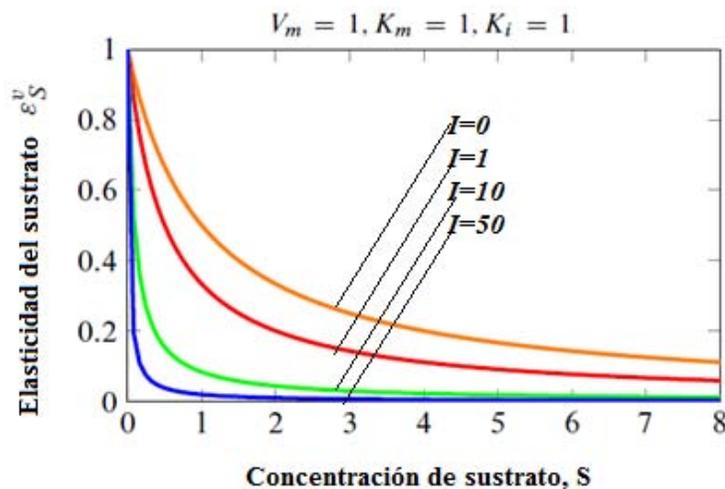


Figura 3.10 Evolución de la elasticidad del sustrato vs la concentración del sustrato para diferentes concentraciones de inhibidor.

3.5 REACTORES TIPO BATCH MICROBIANOS

Los procesos con flóculos microbianos se llevan a cabo inevitablemente de forma que las partículas están suspendidas libremente. Generalmente esto no es demasiado difícil de conseguir dada la similitud en las densidades de los flóculos húmedos y del medio acuoso.

El fermentador de mezcla completa contiene flóculos microbianos suspendidos por la acción del agitador. Cuando se usa de forma discontinua este fermentador es adecuado casi para cualquier fermentación.

Los productos deseados de las fermentaciones más complejas son generalmente más fáciles de conseguir en un sistema cerrado tal como un fermentador discontinuo puede terminarse en el momento conveniente, lo que depende generalmente de las concentraciones máximas del producto de interés.^[4]

3.5.1 FERMENTADOR MICROBIANO TIPO BATCH CON ZYMOMONAS MOBILIS

Como ejemplo se presenta la simulación computacional de la dinámica de un biorreactor BATCH para la fermentación de azúcar utilizando una bacteria llamada zymomonas mobilis. Los datos cinéticos de la dinámica poblacional y las reacciones de fermentación se encuentran reportados en el artículo publicado en 2004 por Garhyan P., y Elnashaie S.S.E.H, *Utilization of mathematical models to investigate the bifurcation and chaotic behavior of ethanol fermentors.*

La ecuación diferencial que describe el comportamiento del reactor BATCH es el modelo cinético químico que esta dado por las siguientes ecuaciones.

$$\frac{dC_s}{dt} = -R_s \quad (3.14)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = R_p \quad (3.15)$$

$$\frac{dC_x}{dt} = R_x \quad (3.16)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = R_e \quad (3.17)$$

$$R_s = \left(\frac{1}{Y_{sa}} \mu + ms \right) a \quad (3.18)$$

$$R_p = \left(\frac{1}{Y_{pa}} \mu + mp \right) a \quad (3.19)$$

$$R_a = \mu a \quad (3.20)$$

$$R_e = (K_1 - K_2 p + K_3 p^2) \mu a \quad (3.21)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{s}{K_S + s} \frac{e}{a} \quad (3.22)$$

Para modelar el reactor tipo Batch se formuló el siguiente algoritmo computacional

```
function zymomonasbatch
clear all;
close all;clc;
mumax=1;Ysx=2.44498e-2;Ypx=5.26315e-2;ms=2.16;mp=1.1;
k1=16;k2=0.497;k3=3.83e-3;ks=.5;
Cs=60;Ce=0.001;Cx=7;Cp=20;%condiciones iniciales
deltat=.0025;%condiciones de la alimentación
for t=1:200000*7.5/125*4
mu=mumax*Cs/(ks+Cs)*Ce/Cx;
Rs=(1/Ysx*mu+ms)*Cx;
Rp=(1/Ypx*mu+mp)*Cx;
Rx=mu*Cx;
Re=(k1-k2*Cp+k3*Cp^2)*mu*Cx;
Cs=Cs+deltat*(-Rs);
%%
Cp=Cp+deltat*Rp;
Cx=Cx+deltat*Rx;
Ce=Ce+deltat*Re;
contar =t/100;
if (contar-ceil(contar))==0
figure (1)
plot (t*deltat,Cs, '.');hold on;
figure (2)
plot (t*deltat,Cp, '.r');hold on;
figure (3)
plot (t*deltat,Ce, '.r');hold on;
figure (4)
plot (t*deltat,Cx, '.g');hold on;
figure (5)
plot (Cx,Cs, '.m');hold on;
else
end
end
```

Los resultados de la ejecución de este programa se presentan en las siguientes figuras:

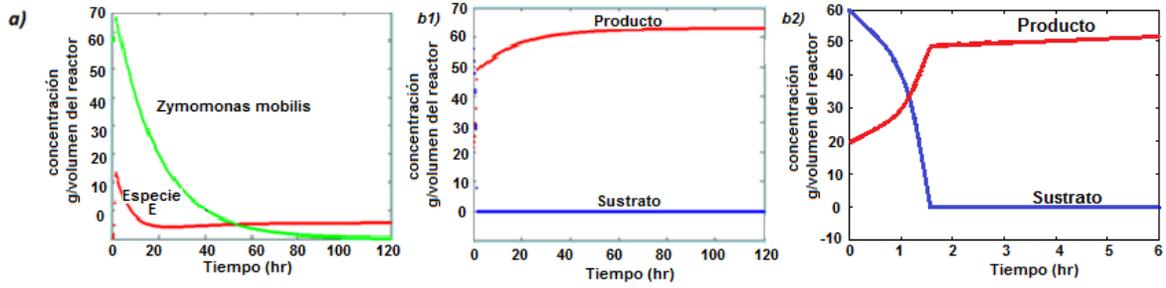


Figura 3.11 a) muestra como la concentración de *Zymomonas mobilis* va disminuyendo rápidamente dentro del reactor, tendiendo a cero después de un tiempo suficientemente largo; mientras que la concentración de la especie *E* disminuye y luego aumenta a un valor pequeño donde se mantiene constante **b1)** en ella se visualiza como la concentración del producto va cambiando respecto a la del sustrato que se mantiene constante con respecto al tiempo. **b2)** acercamiento de la evolución de la concentración de sustrato y producto a corto tiempo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Lubbert, A. (1992). *Advanced method for bioreactor characterization*. *Journal of Biotechnology* 25, 145-182.

[2] <http://isaw.isa.cie.uva.es/ecisimjava/reactor.htm>. [modelo reactor] Septiembre 2004.

[3] Herbert M. Sauro. *Enzyme kinetics for systems biology*. University of Washigton. Ambrosius Publishing. 2009-2011

[4] Atkinson, B. *Reactores bioquímicos*. Barcelona: Reverté, cop 1986

4. REACTOR CONTINUO TIPO TANQUE AGITADO (CSTR)

Los reactores de tanque agitado o también conocido como reactor de mezcla completa de flujo continuo y por sus siglas en inglés CSTR (continuos stirred tank reactor). En la mayor parte de su tiempo de operación, estos reactores trabajan en estado estacionario, es decir, que sus propiedades no varían con el tiempo. Este modelo de mezclado supone que la reacción alcanza la máxima conversión en el instante en que la alimentación entra al tanque. Es decir, que en cualquier punto de este equipo las concentraciones son iguales a las de la corriente de salida. Además para este tipo de reactor se considera que la velocidad de reacción para cualquier punto dentro del tanque es la misma y suele evaluarse a la concentración de salida. Para este reactor se asume que existe un mezclado perfecto, en la práctica esto no es así, pero puede crearse un mezclado de alta eficiencia que se aproxima a las condiciones ideales.

Los reactores tipo CSTR se utilizan preferentemente en sistemas de fase líquida a presiones bajas o medias. Pueden usarse cuando el calor de reacción es alto, pero sólo si el nivel de temperatura en la operación isotérmica es adecuado desde otros puntos de vista del proceso (como por ejemplo, que la temperatura no sea tan alta que ponga en riesgo la seguridad del reactor). También pueden emplearse para reacciones altamente exotérmicas y con altas velocidades de reacción, en cuyo caso se puede ajustar la velocidad de la alimentación y el volumen del reactor (etapa de diseño) a fin de eliminar el calor necesario para que la masa reaccionante se mantenga dentro los valores de temperatura permitidos.

Existe una distribución de tiempo de residencia (RTD). Dicha distribución puede apreciarse intuitivamente considerando lo siguiente:

- a) Un elemento de fluido puede moverse directamente desde la entrada a la salida. Puede existir un tiempo de residencia muy corto.
- b) Otro elemento del fluido puede participar en el movimiento de reciclado producto de la agitación y por lo tanto, presentar un tiempo de residencia largo. Dicha distribución puede representarse matemáticamente.

Para reactores CSTR en régimen isotérmico la ecuación diferencial gobernante que describe la dinámica de la operación en estado transitorio es:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{\tau}(S_{entrada} - S) - r \quad (4.0)$$

4.1 DINÁMICA DE BIOREACTORES MICROBIANOS CSTR

En 2010 Isabel Cristina Paz Astudillo presentó un trabajo de tesis doctoral en la universidad de Colombia sede Manizales, en el que realizó un análisis de estabilidad de biorreactores CSTR en los cuales se lleva a cabo la fermentación de glucosa con la bacteria *Zymomonas mobilis*, tratando de optimizar las condiciones de operación para obtener un mejor rendimiento de producto, utilizando como variables al tiempo de residencia (la inversa de la velocidad de dilución) y la concentración del sustrato en la alimentación. La formulación del modelo que ella usó se basa en la inhibición de un componente clave denominado "E", el cual se asume, que está directamente relacionado con la producción de etanol. La interacción biológica entre la *Zymomonas Mobilis* y la Especie E es similar a un sistema depredador-presa y al comportamiento cooperativo alostérico ampliamente estudiado por la comunidad científica desde 1954. [1]

Un ejemplo de comportamiento cooperativo alostérico podemos encontrarlo en varios fenómenos fisiológicos, algunos han sido explicados mediante un mecanismo relativamente sencillo como el que se describe a continuación:

4.1.1 MODELO MATEMÁTICO Y SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DE CICLOS AUTOCATALÍTICOS ENZIMÁTICOS

Desde la década de 1950, varios investigadores descubrieron oscilaciones debido a enzimas alostéricas en sistemas fisiológicos.

COMPORTAMIENTO ALOSTÉRICO

Las *enzimas alostéricas* son enzimas que cambian su conformación al unirse a un efector (una molécula que actúa directamente sobre una segunda, provocando una modificación en el comportamiento de ésta), lo que conduce a un cambio aparente en la afinidad de unión de otro ligando en un sitio distinto de la molécula. Esta "acción a distancia" de la unión de un ligando que afecta a la unión de otro en un sitio claramente diferente es la esencia del concepto de alostería o alosterismo. El alosterismo juega un papel crucial en muchos procesos biológicos fundamentales, incluyendo la señalización celular y la regulación del metabolismo, entre otros. Las enzimas alostéricas no necesitan ser oligómeros como se pensaba anteriormente, [2] y de hecho muchos sistemas han demostrado alostería en enzimas de una sola subunidad. [3]

La mayoría de las enzimas alostéricas tienen varios dominios o subunidades acoplados que muestran una unión cooperativa. En general, la cooperatividad en las enzimas alostéricas muestran una dependencia sigmoideal con respecto a la concentración de sus sustratos en los sistemas positivamente cooperativos. Esto permite que las enzimas más alostéricas varíen mucho su actividad catalítica en respuesta a pequeños cambios en la concentración del efector. Las moléculas efectoras, que pueden ser el propio sustrato (efector homotrópico) o

alguna otra molécula pequeña (efector heterotrópico), pueden hacer que la enzima sea más o menos activa alterando el equilibrio entre los estados de mayor y menor afinidad. Los sitios de unión para los efectores heterotrópicos, llamados sitios alostéricos, son generalmente independientes del sitio activo todavía acoplado termodinámicamente.

PROPIEDADES CINÉTICAS

Las propiedades cinéticas de las enzimas alostéricas se han explicado en términos de un cambio de conformación entre un estado de baja actividad, baja afinidad, "tenso" o T y un estado de alta actividad, alta afinidad, "relajado" o R. Aunque se ha demostrado que existen estas formas estructuralmente diferentes en varios enzimas alostéricas conocidas, se tienen incógnitas respecto a la base molecular de la interconversión entre los dos estados. Se han propuesto principalmente dos modelos para describir el mecanismo básico de la enzima alostérica. En el modelo concertado de Monod, Wyman y Changeux, ^[4] se propone que la proteína tiene solo dos estados globales de "todo o nada", mientras que el modelo secuencial de Koshland, Nemethy, y Filmer ^[5] admite un número de diferentes estados conformacionales globales. Recientemente, el uso combinado de técnicas físicas (por ejemplo, la cristalografía de rayos X y la difracción de rayos X en ángulos pequeños, o SAXS) y de técnicas genéticas (mutagénesis dirigida) ha permitido a los investigadores estudiar más profundamente la base molecular de la alostería.

El comportamiento alostérico puede deberse a dos diferentes mecanismos, ya sea que la enzima actúe como el núcleo de la reacción o que sea impulsada por alguna influencia externa. El ejemplo típico para el primero de los casos es el de la fosfofructoquinasa (FKP), a la cual se le puede asociar un mecanismo de reacción como el siguiente:

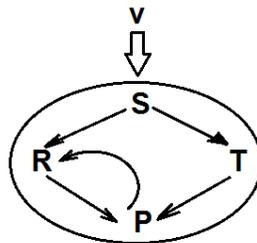


Figura 4.1 Esquema del mecanismo de reacción del comportamiento alostérico

El sustrato llega a una región en donde se encuentra una enzima, representada por la elipse en la figura (4.1); una vez ahí la enzima favorece la conversión del sustrato a dos productos intermedios, R y T, entre los cuales la conversión hacia R se ve favorecida cinéticamente; luego la enzima favorece la conversión de R al producto P; sin embargo, el producto P participa en una reacción con R para producir dos moléculas de P; es decir mientras más P haya se favorece la producción de P vía R; este es el comportamiento alostérico, y se trata de un paso auto catalítico.

Este esquema se puede resumir en el siguiente con junto de ecuaciones:



Se ha identificado que cuando existe un paso auto catalítico es muy probable que la reacción global sea oscilante. [6]

De acuerdo al artículo publicado por Goldbeter en 2013, las ecuaciones que describen el comportamiento alostérico para este mecanismo de reacciones son:

$$\frac{dS}{dt} = v - \sigma\phi \quad (4.5)$$

$$\frac{dP}{dt} = q\sigma\phi - f(P) \quad (4.6)$$

$$\phi = \frac{S(1+S)^{n-1}(1+P)^n}{L+(1+S)^n(1+P)^n} \quad (4.7)$$

Con:

$$f(P) = \frac{v_d P}{K_m P} \quad (4.8)$$

El siguiente algoritmo de cómputo en Matlab permite simular la dinámica de este sistema de ecuaciones diferenciales:

```
function febs
clear all;close all;clc;
L=1e6;sigma=5.075;q=3;ks=3.81;v=0.5;n=2;km=20;dt=1;vd=10;
S=10;P=1;
for t=1:1000
    fi=(S*(1+S)^(n-1)*(1+P)^n)/(L+(1+S)^n*(1+P)^n);
    S=S+dt*(v-sigma*fi);
    P=P+dt*(q*sigma*fi-ks*P/(km+P));
    plot (t,S, '.');hold on;
    plot (t,P, '.r');hold on;
end
```

Los parámetros v y km correspondientes a la velocidad con la que llega el sustrato a la región en la que se encuentra la enzima y a la constante de Michaelis-Menten, se pueden modificar dando lugar a oscilaciones sostenidas o amortiguadas como se muestra en la siguiente figura (4.2).

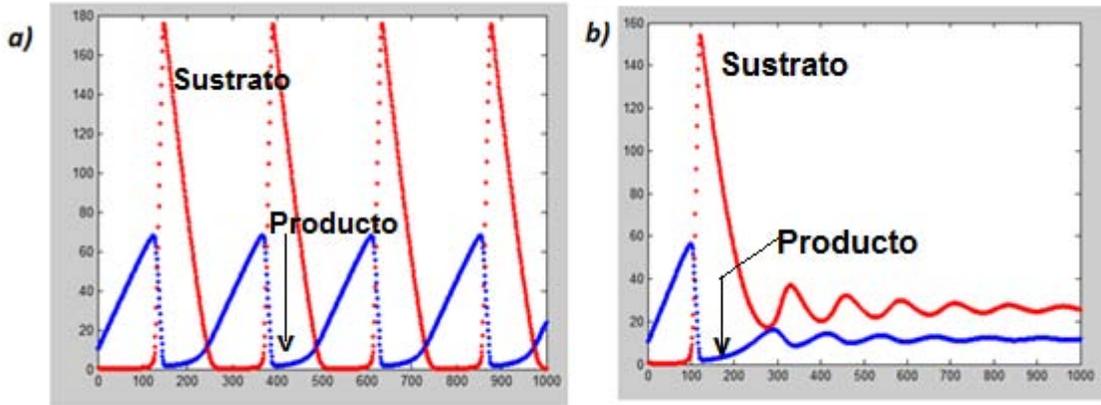


Figura 4.2 oscilaciones de la concentraciones de sustrato y producto bajo diferentes valores de km . En el inciso a) $km=40$ y en el inciso b) $km=20$.

Este sencillo mecanismo cinético se ha utilizado para explicar fenómenos como el ciclo del sueño.

4.2 MODELO MATEMÁTICO PARA UN REACTOR MICROBIANO CSTR CON DINÁMICA OSCILATORIA

Las expresiones cinéticas de la dinámica microbiana desarrollándose dentro de un reactor de flujo continuo de mezcla completa, son las que se presentan a continuación.

$$\frac{dc_s}{dt} = D(C_{sf} - C_s) - R_s \quad (4.9)$$

$$\frac{dc_p}{dt} = D(C_{pf} - C_p) + R_p \quad (4.10)$$

$$\frac{dc_x}{dt} = D(C_{xf} - C_x) + R_x \quad (4.11)$$

$$\frac{dc_e}{dt} = D(C_{ef} - C_e) + R_e \quad (4.12)$$

$$R_s = \left(\frac{1}{Y_{sx}} \mu + m_s \right) C_x \quad (4.13)$$

$$R_p = \left(\frac{1}{Y_{px}} \mu + m_p \right) C_x \quad (4.14)$$

$$R_s = \mu C_s \quad (4.15)$$

$$R_x = \mu C_x \quad (4.16)$$

$$R_e = (K_1 - K_2 C_p + K_3 C_p^2) \mu C_x \quad (4.17)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_s C_e}{K_s + C_s C_x} \quad (4.18)$$

Este es un sistema de ecuaciones diferenciales acopladas no lineales que pueden resolverse mediante los tradicionales métodos de Euler o Runge-Kutta. El siguiente algoritmo formulado en matlab permite analizar la dinámica del reactor CSTR operando en condiciones que dan lugar a oscilaciones en las concentraciones reactivo, producto y microorganismos:

```
function zym1
clear all;close all;clc;
mumax=1;Ysx=2.44498e-2;Ypx=5.26315e-2;ms=2.16;mp=1.1;
k1=16;k2=0.497;k3=3.83e-3;ks=.5;
deltat=.00025;Cxf=0;Cpf=0;Cef=0;%condiciones de la alimentación
D=.05;
Cxf=0;Cpf=0;Cef=0;Csf=140;
Cs=120;Ce=0.00001;Cx=7;Cp=50;%condiciones iniciales
for t=1:800000
mu=mumax*Cs/(ks+Cs)*Ce/Cx;
Rs=(1/Ysx*mu+ms)*Cx;
Rp=(1/Ypx*mu+mp)*Cx;
Rx=mu*Cx;
Re=(k1-k2*Cp+k3*Cp^2)*mu*Cx;
Cs=Cs+deltat*(D*(Csf-Cs)-Rs);
%%
Cp=Cp+deltat*(D*(Cpf-Cp)+Rp);
Cx=Cx+deltat*(D*(Cxf-Cx)+Rx);
Ce=Ce+deltat*(D*(Cef-Ce)+Re);
contar =t/1000;
if (contar-ceil(contar))==0)
figure (1)
plot (t*deltat,Cs, '.');hold on;
%figure (2)
plot (t*deltat,Cp, '.r');hold on;
figure (3)
plot (t*deltat,Ce, '.r');hold on;
%figure (4)
plot (t*deltat,Cx, '.g');hold on;
figure (5)
plot (Cx,Cs, '.m');hold on;
else
end
end
figure (1)
grid on;
figure (3)
grid on;
```

4.3 RESULTADOS

Ejecutando este programa bajo las siguientes condiciones iniciales dentro del bioreactor: $C_{s0} = 120$ g/volumen de reactor; (concentración inicial de sustrato). $C_e = 10^{-5}$ g/volumen de reactor; (concentración inicial de especie E). $C_x = 7$ g/volumen de reactor; (concentración inicial de *Zymomonas Mobilis*). $C_p = 50$ g/volumen de reactor; (concentración inicial de producto). Utilizando además una rapidez de dilución $D = 0.05$ (tiempo de residencia de 20

horas), e introduciendo una cantidad de 140 g/hora por caudal de alimentación, se obtiene la siguiente evolución temporal de reactivo, producto y microorganismos:

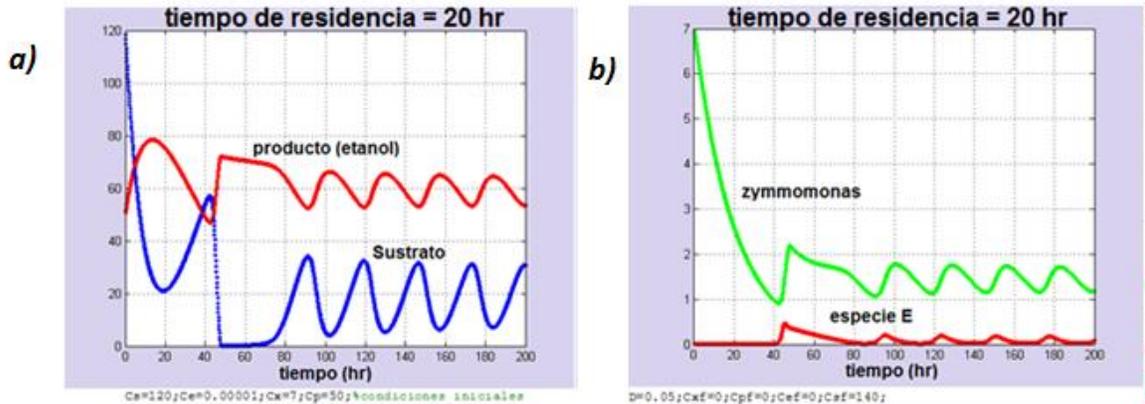


Figura 4.3 a) Evolución de la concentración del sustrato y producto dentro del reactor a un tiempo de residencia fijo, **b)** variación de la concentración de las zymomonas y la especie E con respecto al tiempo.

Al programa se le pueden cambiar los datos de entrada para obtener un comportamiento diferente como se muestra en las siguientes figuras de la dinámica del reactor acompañada del diagrama espacio-fase. El único cambio fue el de la concentración inicial de sustrato dentro del biorreactor, considerándose 60 en lugar de 120 gr/volumen de reactor.

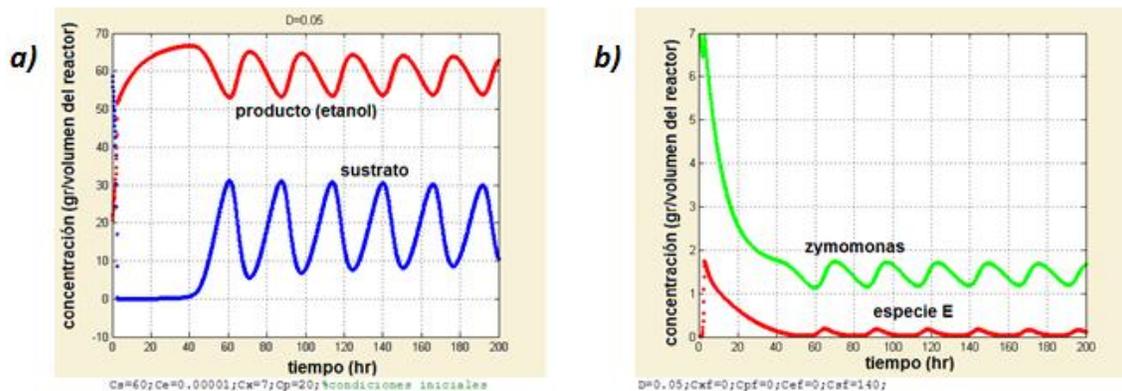


Figura 4.4 a) comportamiento de la concentración del producto y el sustrato cuando los datos de entrada son modificados, **b)** Muestra como la concentración de las zymomonas y la especie E tienen un comportamiento diferente al de la figura (4.3)b ya que las condiciones de entrada pueden cambiarse.

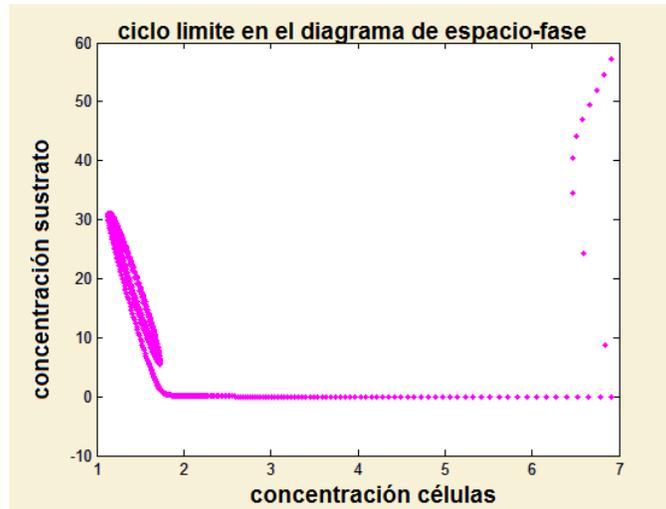


Figura 4.5 Diagrama de espacio-fase para la concentración de células y sustrato con ciclo limite

El siguiente conjunto de figuras (4.6) muestra como al cambiar la rapidez de dilución el sistema evoluciona hacia un comportamiento oscilatorio amortiguado de cada una de las especies con periodo constante y con una concentración de producto en estado estacionario de 57gr/volumen de reactor, bajo una rapidez de dilución $D = 0.1$.

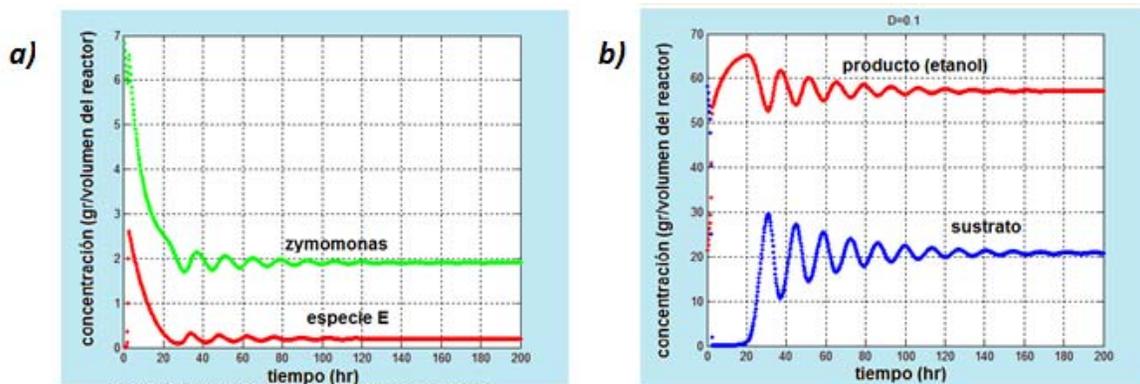


Figura 4.6 a) Evolución de las zymomonas y la especie E cuando la rapidez de dilución es modificada, **b)** muestra un comportamiento oscilatorio de la concentración del producto y la del sustrato al cambiar la rapidez de velocidad.

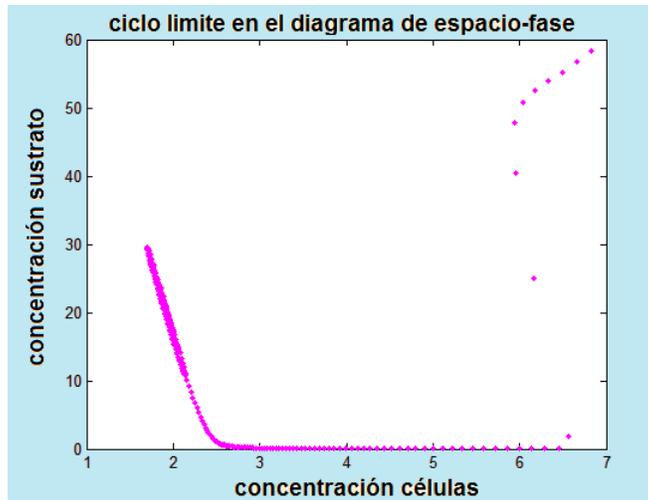


Figura 4.7 Ciclo límite en un diagrama de espacio-fase para la concentración del sustrato vs concentración de las células

Para la velocidad de dilución $=0.5$ se obtienen las siguientes gráficas:

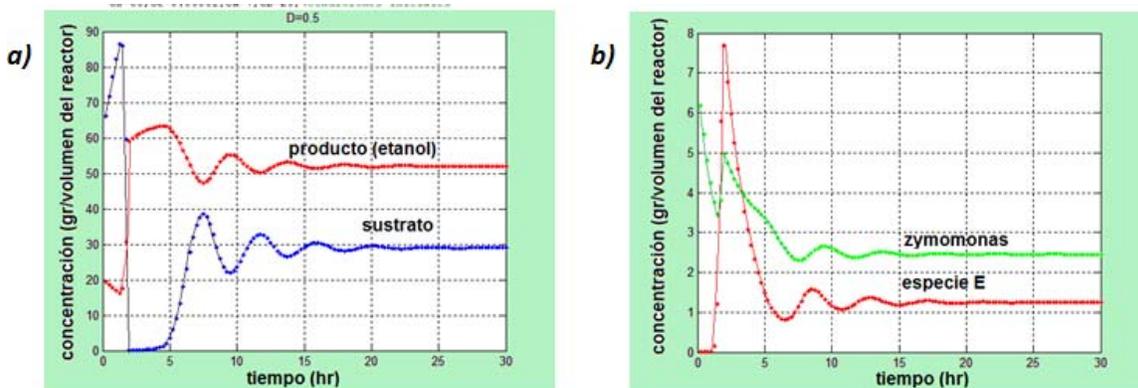


Figura 4.8 a) Muestra como la concentración del producto y del sustrato van teniendo oscilaciones más pausadas al modificar nuevamente la velocidad de dilución, lo mismo que en la figura b) pero en este caso con la concentración de las zymomonas y la especie E.

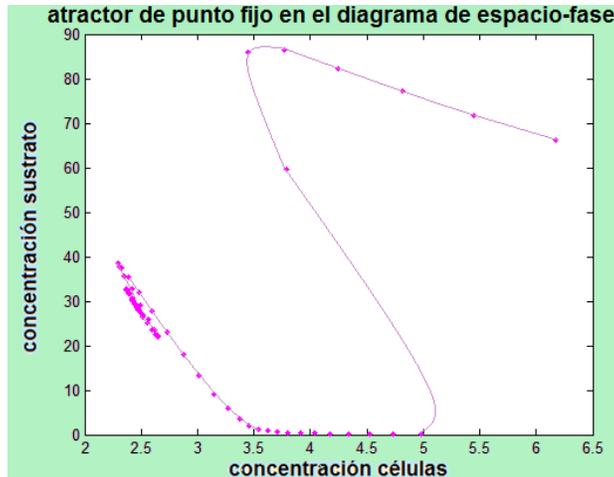


Figura 4.9 Atractor de punto fijo en un diagrama de espacio- fase

Como se puede observar al variar la rapidez de dilución se obtiene una concentración de producto diferente a la salida. Es posible optimizar el rendimiento o productividad del producto, por ejemplo para una concentración de sustrato invariable en la alimentación. Llevando a cabo una implementación de un ciclo externo para variar progresivamente la velocidad de dilución se obtiene la siguiente grafica correspondiente a una concentración de sustrato de 80 gr/volumen de reactor:

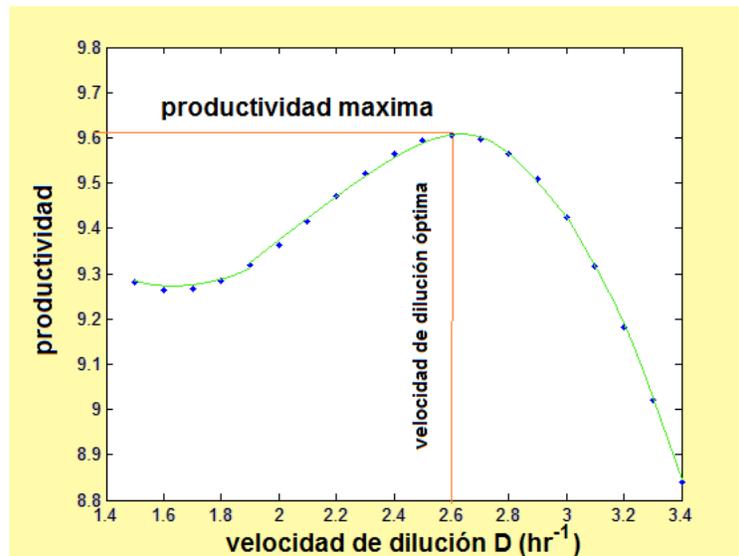


Figura 4.10 Productividad vs la velocidad de dilución para la obtención de productividad máxima de la concentración de sustrato

Para diferentes concentraciones de sustrato en la alimentación se pueden obtener otros valores de la velocidad de dilución óptima. La influencia de la concentración de sustrato en la alimentación sobre la productividad se puede observar en la siguiente gráfica. Nótese que cuando la concentración de sustrato es mayor a 100 la productividad aumenta muy poco alcanzando un máximo de 9.7 para la velocidad de dilución óptima.

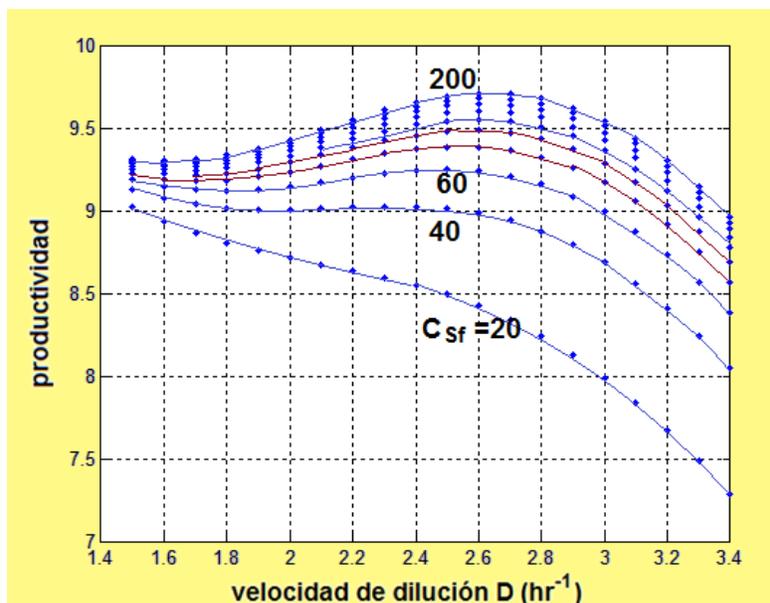


Figura 4.11 Productividad vs velocidad de dilución a diferentes concentraciones del sustrato

4.4 DINÁMICA Y CONTROL DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA EN UN CONJUNTO DE TRES BIOREACTORES DE MEZCLA COMPLETA EN SERIE.

Por razones económicas, la mayoría de los procesos en la Industria Alimentaria moderna se diseñan para producción continua; cada vez es menos frecuente encontrar procesos que lleven a cabo una producción por lotes.

Las exigencias de control de calidad de productos y de seguridad en la planta industrial imponen fuertes condiciones para el diseño de los equipos industriales y las operaciones unitarias que en ellos se llevan a cabo. Sin embargo en la industria de los alimentos, el problema de la seguridad no es tan grave, como por ejemplo en una fábrica de explosivos donde una reacción fuera de control puede provocar explosiones o incendios con consecuencias fatales. En su metabolismo, la dinámica de los sistemas bioquímicos provee de reguladores naturales que impiden que la temperatura se eleve más allá de una decena de grados. Entonces el problema principal en la industria de los alimentos es el aseguramiento de la calidad de los productos.

En procesos continuos es conveniente diseñar sistemas de control automático que respondan eficientemente a cualquier perturbación que se presente, por ejemplo, en la calidad de la materia prima. En este trabajo se presenta el diseño de un controlador proporcional-integral (PI) para un conjunto de tres biorreactores de mezcla completa conectados en serie en los que se lleva a cabo una reacción enzimática tipo Michaelis-Menten.

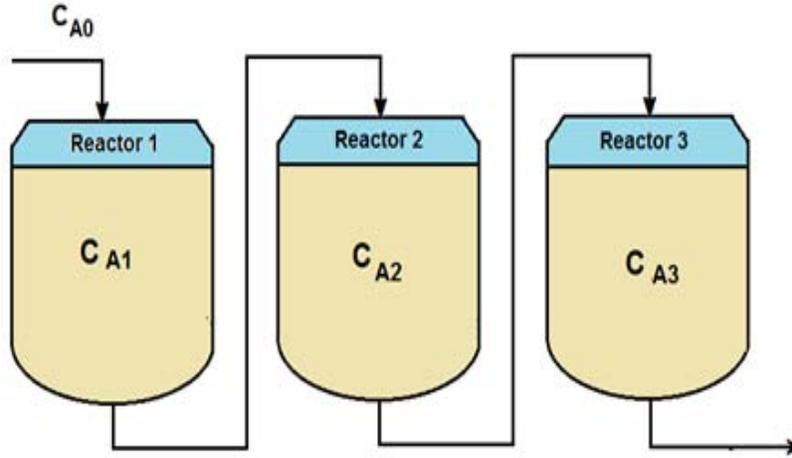


Figura 4.12 Conjunto de tres biorreactores conectados en serie en donde se lleva a cabo la reacción enzimática

En 2008, Aranda y Salgado de la UPIBI, IPN publicaron un artículo en el que proponen un modelo Michaeliano para la cinética de una enzima alostérica, con los parámetros cinéticos para la acción catalítica del aspartato transcarboamilasa de *Escherichia Coli*. Con dichos datos, la cinética enzimática y con el balance infinitesimal de materia sobre el conjunto de tres reactores de flujo continuo, se puede formular el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales que describen matemáticamente la evolución de la concentración de las especies químicas dentro de cada uno de los biorreactores, cuya solución puede encontrarse analítica o numéricamente:

$$\frac{dS_1}{dt} = \frac{1}{\tau} (S_0 - S_1) - r_{11} \quad (4.15)$$

$$\frac{dS_2}{dt} = \frac{1}{\tau} (S_1 - S_2) - r_{12} \quad (4.16)$$

$$\frac{dS_3}{dt} = \frac{1}{\tau} (S_2 - S_3) - r_{13} \quad (4.17)$$

$$\frac{dP_{11}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{10} - P_{11}) + r_{11} - r_{21} \quad (4.18)$$

$$\frac{dP_{12}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{11} - P_{12}) + r_{12} - r_{22} \quad (4.19)$$

$$\frac{dP_{13}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{12} - P_{13}) + r_{13} - r_{23} \quad (4.20)$$

$$\frac{dP_{21}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{20} - P_{21}) + r_{21} \quad (4.21)$$

$$\frac{dP_{22}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{21} - P_{22}) + r_{22} \quad (4.22)$$

$$\frac{dP_{23}}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{22} - P_{23}) + r_{23} \quad (4.23)$$

Ecuaciones en las cuales r_{1i} y r_{2i} , con $i=1, 2, 3$, corresponden a:

$$r_{2i} = \frac{r_{2max}P_{1i}}{P_{1i}+k_m} \quad (4.24)$$

$$r_{1i} = \frac{r_{1max}S_i}{S_i+k_{m'}} - r_{2i} \left(1 + \frac{S_i}{S_i+k_{m'}} \right) \quad (4.25)$$

En estas expresiones matemáticas τ es el tiempo de residencia (τ = flujo volumétrico dividido entre el volumen del reactor). Si τ es pequeño, el fluido atraviesa muy rápido los biorreactores, sin dar oportunidad a que reaccione completamente, mientras que para τ grande se alcanzan grandes conversiones pero en tiempos muy largos. Debe haber un tiempo de residencia óptimo que maximice el cociente conversión dividida entre el tiempo de residencia.

El siguiente programa en Matlab simula el comportamiento dinámico de esta serie de reactores:

```
function seriealostericacstr
clear all;close all;clc;
% 3 reactores cstr, enzima alostérica, modelo de Michaelis-Menten
r1max=1.5;r2max=.05;kmprim=.16;kmdiprim=.001;
nit=200;dt=.01;S=.5;P1=0;P2=0;S2=.5;P12=0;P22=0;S3=.5;P13=0;P23=0;
Sf=.5;P1f=0;P2f=0;tres=0.1;D=1/tres;
for t=1:nit
    %1er bioreactor
    r2=r2max*P1/(P1+kmdiprim);
    r1=r1max*S/(S+kmprim)-r2*(1+S/(S+kmprim));
    S=S+(D*(Sf-S)-r1)*dt;P1=P1+(D*(P1f-P1)+(r1-r2))*dt;
    P2=P2+(D*(P2f-P2)+r2)*dt;
    %2o bioreactor
    r22=r2max*P12/(P12+kmdiprim);
    r12=r1max*S2/(S2+kmprim)-r22*(1+S2/(S2+kmprim));
    S2=S2+(D*(S-S2)-r12)*dt;P12=P12+(D*(P1-P12)+(r12-r22))*dt;
    P22=P22+(D*(P2-P22)+r22)*dt;
    %3er bioreactor
    r23=r2max*P13/(P13+kmdiprim);
    r13=r1max*S3/(S3+kmprim)-r23*(1+S3/(S3+kmprim));
    S3=S3+(D*(S2-S3)-r13)*dt;P13=P13+(D*(P12-P13)+(r13-r23))*dt;
    P23=P23+(D*(P22-P23)+r23)*dt;
    figure (1)
    plot (t,S,'.');hold on;plot (t,P1,'or');hold on;
    plot (t,P2,'*g');hold on;
    figure (2)
    plot (t,S2,'.');hold on;plot (t,P12,'or');hold on;
    plot (t,P22,'*g');hold on;
    figure (3)
    plot (t,S3,'.');hold on;plot (t,P13,'or');hold on;
```

```

plot (t,P23,'*g');hold on;
end
figure (1);grid on;figure (2);grid on;figure (3);grid on;

```

Por ejemplo, para un tiempo de residencia de 0.1 hr, las conversiones en cada uno de los tres reactores son ilustradas en la siguiente figura. Obsérvese que en todos los reactores se alcanza rápidamente el régimen de operación en estado estacionario:

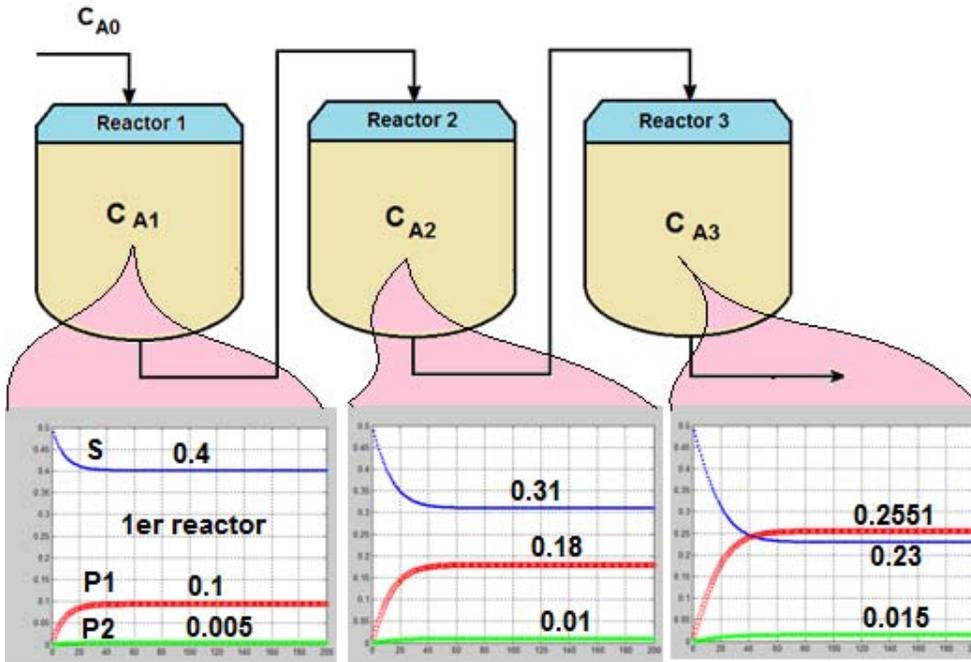


Figura 4.13 Conjunto de tres reactores conectados en serie en los cuales se obtienen diferentes conversiones llegando a un estado estacionario

En cambio, con un tiempo de residencia de 1, se obtiene el siguiente comportamiento:

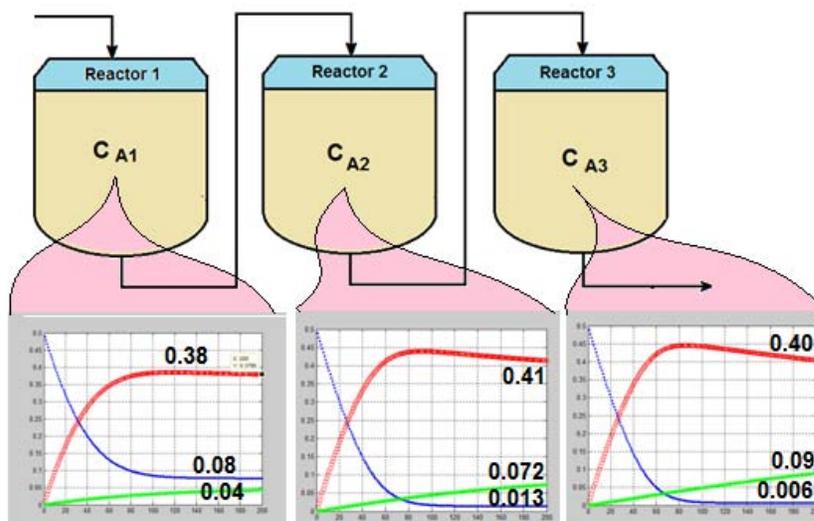


Figura 4.14 Esquema de tres reactores en serie en donde se muestra la disminución de la conversión conforme va avanzando la concentración de sustrato

Se obtiene una conversión alta, más alta en el segundo reactor que en el tercero; pero no se ha alcanzado el estado estacionario más que en el primer reactor. Obsérvese que el sustrato en el tercer reactor prácticamente se ha agotado, mientras que en los dos primeros las concentraciones son bajas.

Un problema desafiante sería optimizar el arreglo de tres reactores, probando con diferentes tiempos de residencia, es decir, diferentes tamaños de los equipos. Sin embargo, otro problema interesante es cuando al sistema se le añade un controlador por retroalimentación (“feedback controller”), tal como se ilustra en la siguiente figura:

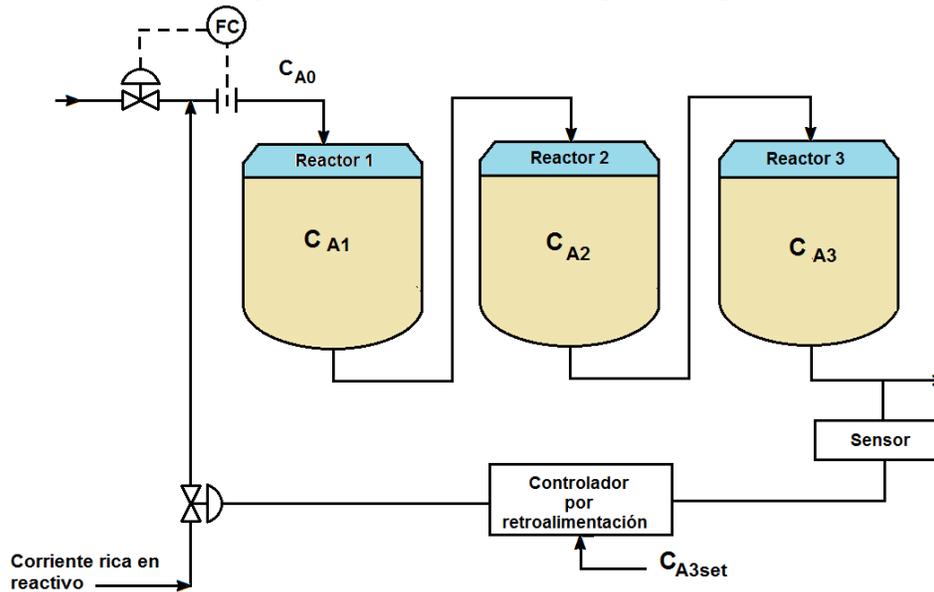


Figura 4.15 Optimización en un arreglo de tres reactores utilizando un controlador por retroalimentación

El sensor en el sistema de control (por ejemplo un medidor de pH) analiza la concentración de reactivo en la salida del tercer reactor, C_{A3} , y realiza un ajuste en la concentración de entrada al primer reactor, C_{A0} , permitiendo la entrada de una corriente rica en sustrato, con la finalidad de mantener la concentración C_{A3} cerca de un valor deseado C_{A3set} . Para simular la acción del sistema de control, introduciremos una perturbación, C_{AD} , de la concentración en la alimentación, y una concentración manipulable C_{AM} que cambia por la acción del controlador. Entonces:

$$C_{A0} = C_{AM} + C_{AD} \quad (4.26)$$

En el sistema físico real la señal eléctrica o neumática, proveniente del controlador, mueve el pistón de la válvula de control que permite el mezclado de la corriente de entrada al proceso con una corriente de reactivo A de alta concentración, para dar lugar a la corriente que entra al primer reactor.

En nuestro ejemplo se considera un controlador con acciones proporcional e integral. Con dicho sistema de control, la concentración manipulable C_{AM} cambia con la magnitud del error (E), que corresponde a la diferencia entre el punto de ajuste y la concentración de salida del tercer reactor. La acción del controlador es proporcional a la magnitud del error, E, pero también cuenta el error acumulado históricamente:

$$C_{AM} = Bias + K_C \left[E + \frac{1}{\tau_I} \int E(t) dt \right] \quad (4.27)$$

Donde:

$$E = C_{A3set} - C_{A3} \quad (4.28)$$

K_C (adimensional) es la constante del controlador o ganancia, mientras que τ_I es la constante de tiempo de la acción integral o tiempo de reajuste. Bias es el valor de C_{AM} en el tiempo cero. Los parámetros del controlador K_C y τ_I deben ser afinados por el ingeniero de proceso.

El siguiente programa en Matlab, permite resolver el conjunto de ecuaciones diferenciales gobernantes para el conjunto de tres biorreactores, considerando un tiempo de residencia dentro de los tres reactores igual a 2.5 minutos en cada uno, concentraciones iniciales en los tres reactores iguales a 0.5, un punto de ajuste de 0.15 g/lit de reactivo en el último reactor, una perturbación de 0.05 mol/lit, constante de tiempo de acción integral de 5 minutos, un bias de 0.25 g/lit, una constante del controlador igual a 20, y una integral del error inicial igual a 0, ya que dentro del algoritmo se evalúa dicha integral en cada paso de tiempo:

```
function tresbioreactorcstrscontrolalosteric
%simulación computacional de tres biorreactores en serie
%para enzima alosterica
clear all;close all;clc;
r1max=1.5;r2max=.05;kmprim=.16;kmdiprim=.001;
CA1=0.5;CA2=0.5;CA3=0.5;
CA3SET=.15;ERINT=0;BIAS=.4;
CB1=0;CB2=0;CB3=0;
CAD=0.05;CBD=0.5;%PERTURBACIÓN
TAU=2.5;KC=1.25;TAUI=.25;
DELTAT=.01;nit=1500;
for t=1:nit*10
    r21=r2max*CB1/(CB1+kmdiprim);
    r11=r1max*CA1/(CA1+kmprim)-r21*(1+CA1/(CA1+kmprim));
    r22=r2max*CB2/(CB2+kmdiprim);
    r12=r1max*CA2/(CA2+kmprim)-r22*(1+CA2/(CA2+kmprim));
    r23=r2max*CB3/(CB3+kmdiprim);
    r13=r1max*CA3/(CA3+kmprim)-r23*(1+CA3/(CA3+kmprim));
    E=CA3SET-CA3;
    CAM=BIAS+KC*(E+ERINT/TAUI);CBM=BIAS/2+KC*(E+ERINT/TAUI);
```

```

CA0=CAM+CAD;CB0=CBM+CBD;
CA1=DELTAT*((CA0-CA1)/TAU-r11)+CA1;
CA2=DELTAT*((CA1-CA2)/TAU-r12)+CA2;
CA3=DELTAT*((CA2-CA3)/TAU-r13)+CA3;
CB1=DELTAT*((CB0-CB1)/TAU+r11-r21)+CB1;
CB2=DELTAT*((CB1-CB2)/TAU+r12-r22)+CB2;
CB3=DELTAT*((CB2-CB3)/TAU+r13-r23)+CB3;
T=t*DELTAT;
ERINT=ERINT+E*DELTAT;% evaluación de la integral del error
contar=t/50;
if ((contar-ceil(contar))==0)
    figure (1)
    plot (T, CA0,'.r');hold on
    plot (T,CA1,'.b');hold on;
    plot (T,CA2,'.r');hold on;
    plot (T,CA3,'.g');hold on;
    figure (2)
    plot (T, CA0,'.r');hold on
    plot (T,CB1,'.b');hold on;
    plot (T,CB2,'.r');hold on;
    plot (T,CB3,'.g');hold on;
else
end
end
end

```

La ejecución de este algoritmo permite visualizar la forma en que se lleva a cabo el control de la variable deseada, la concentración del reactivo en la corriente de salida del último reactor:

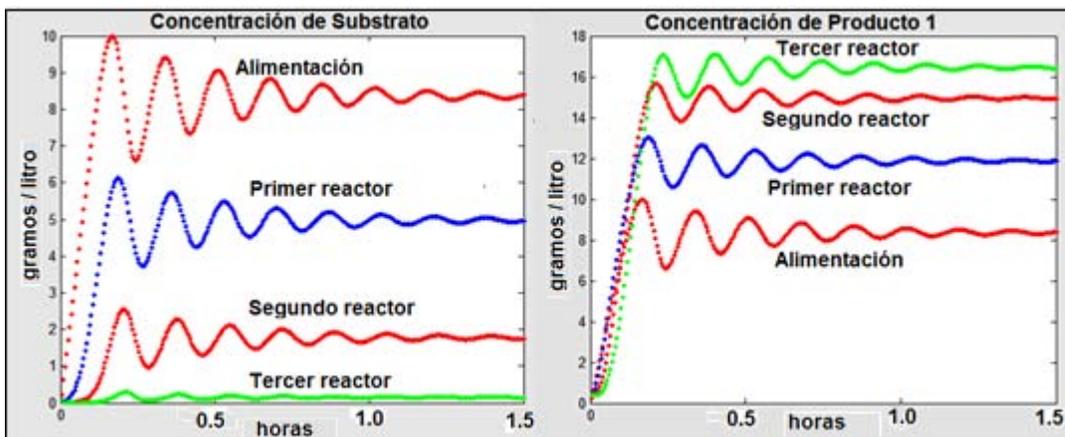


Figura 4.16 Dinámica y control de las variables deseadas como son las concentraciones de sustrato y producto dentro de los tres reactores

La dinámica de las concentraciones de sustrato y productos dentro de los tres reactores corresponde a oscilaciones amortiguadas. Obsérvese que la corriente de alimentación que entra al primer reactor, CA_0 , después de haber sido mezclada con la corriente rica en reactivo,

es manipulada durante el transcurso del tiempo y acondicionada para poder obtener la concentración deseada a la salida del tercer reactor, que operará después de hora y media en régimen estacionario.

De acuerdo a este diseño, controlar la concentración de substrato en el tercer reactor para que sea de 0.15 g/litro al alcanzar el estado estacionario, mediante la adición de substrato fresco, permite alcanzar muy buenos valores en la concentración el producto deseado (P1), alcanzando el valor de 16.2 g/litro cuando se alcanza el estado estacionario.

4.5 Conclusiones

En este capítulo se presentaron un par de ejemplos de la ingeniería de reactores, correspondientes al comportamiento dinámico de sistemas de bioreactores CSTR que conducen a una dinámica oscilatoria. En el primer caso se logró la optimización de las condiciones de operación simplemente especificando los valores adecuados de las concentraciones del substrato y el tiempo de residencia; mientras que en el segundo caso se ejemplificó la importancia de la implementación de un sistema de control. Cada sistema de reacción requeriría de un análisis específico para su optimización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

[1] Paz Astudillo, Isabel Cristina. Tesis Doctoral: "Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado Aplicado a Procesos de Fermentación". Universidad de Colombia, Sede Manizales, 2010.

[2] Monod, J., Wyman, J, Changeux, J.P. (1965). On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J Mol Biol.* 12:88-118.

[3] Gohara, D.W., Di Cera, E. (2011). Allostery in trypsin-like proteases suggests new therapeutic strategies. "Trends Biotechnol".

[4] Monod, J., Wyman, J, Changeux, J.P. (1965). On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J Mol Biol.* 12:88-118.

[5] Koshland DE Jr, Némethy G, Filmer D. (1966). Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. *Biochemistry* 5(1):365-85.

[6] Modelación de Catálisis Enzimática con Enzimas Alostéricas. J. S. Aranda y E. Salgado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química. AMIDIQ Vol 7 Num 1, (2008) 21-27.*

5. REACTOR DE FLUJO EN PISTÓN (PFR)

El reactor de flujo en pistón también recibe el nombre de reactor tubular o PFR (plug flow reactor). Es básicamente un tubo donde se realiza una reacción con cambios en la concentración, la presión y la temperatura, en la dirección axial. Los reactores PFR, a menudo se construyen de muchos tubos de pequeños diámetros y de grandes longitudes y se emplean con fluidos a grandes velocidades y pequeños tiempos espaciales. Esto minimiza el mezclado axial del fluido, limita los perfiles radiales de temperatura y provee el área de transferencia de calor necesaria. Los tubos se arreglan en un banco como en los intercambiadores de calor. Si no se desea intercambio calórico en la zona de reacción, puede utilizarse uno o una serie de lechos empacados de diámetros más grandes. Estos reactores trabajan en estado estacionario. Es decir, las propiedades en un punto determinado del reactor son constantes con el tiempo. Este modelo supone un flujo ideal de pistón, y la conversión es función de la posición. En este tipo de reactor la composición del fluido varía de un punto a otro a través de la dirección del flujo, esto implica que el balance para un componente dado de la o las reacciones químicas implicadas, debe realizarse en un elemento diferencial de volumen.

El volumen de un tubo se calcula como un cilindro y tratándose de un reactor con flujo pistón a través de un lecho poroso se requiere de la especificación de la porosidad para la determinación del volumen real de reacción. Si el volumen total requerido se construye con varios tubos se requiere la fijación del número de ellos. La conversión que se alcanza en un reactor depende del volumen, el tiempo espacial y la velocidad de reacción en el reactor, además del flujo y la concentración de la materia prima.

Para un reactor de flujo en pistón operando en régimen transitorio la ecuación diferencial gobernante es una ecuación de reacción difusión-convección, como la siguiente:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{\partial c}{\partial x} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + r \quad (5.0)$$

5.1 ECUACIÓN DIFERENCIAL GOBERNANTE

Ludwig Edward Boltzmann (1844–1906), fue un físico Austriaco cuyo mayor logro fue en el desarrollo de la mecánica estadística, que explica y predice las propiedades de átomos y moléculas (propiedades microscópicas), y permite determinar las propiedades fenomenológicas (macroscópicas) de la materia, como la viscosidad, conductividad térmica, y coeficientes de difusión. La función de distribución (probabilidad de encontrar partículas dentro de un cierto rango de velocidad en una cierta gama de ubicaciones en un momento dado) sustituye a cada partícula, como en las simulaciones dinámicas moleculares. El método ahorra los recursos de la computadora (memoria y tiempo de ejecución) drásticamente. [1]

La convección es el transporte de calor, masa y momentum asociado al movimiento de las masas del fluido. La ecuación gobernante para convección en una sola dimensión (1-D) en el sistema de coordenadas cartesianas puede expresarse como.

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \frac{\partial \phi}{\partial x} = 0 \quad (5.1)$$

Donde ϕ es una variable dependiente (masa, momentum, energía, concentración de especies, etc.) y u es la velocidad de convección, la velocidad del fluido. Esta ecuación incluye derivadas de primer orden en espacio y tiempo: por lo tanto únicamente son necesarias una condición de frontera y una condición inicial. La ecuación anterior indica que el perfil de distribución de la variable ϕ es trasladado de un punto a otro en el espacio conforme avanza el tiempo, sin distorsionarse por efectos de difusión como se indica en la siguiente figura.

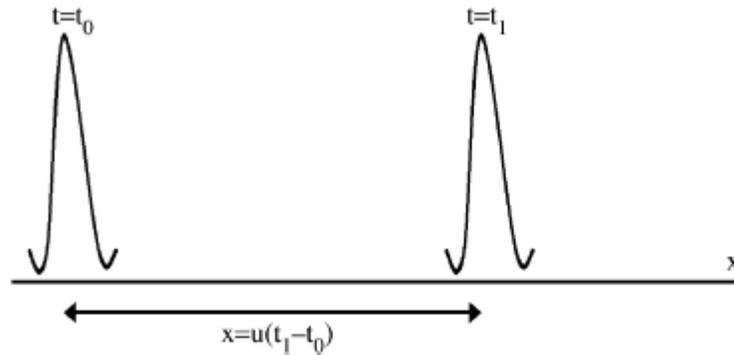


Figura 5.1 diagrama del perfil de distribución de la variable f de un punto a otro en el espacio

Si u no es una función de ϕ , entonces la ecuación es lineal y puede obtenerse una solución analítica. Por ejemplo si $\phi(0, x) = g(x)$, entonces la solución es $g(x-ut)$, siendo $g(x)$ el perfil de la función en $t=0$.

Por ejemplo si una gota de aceite es colocada en una corriente de agua, la gota será arrastrada sin difusión; conservará su forma y densidad conforme se mueve con la corriente de agua.

5.2 ECUACION DE CONVECCION-DIFUSIÓN

El fenómeno de convección -difusión es un proceso físico en el que se llevan a cabo simultáneamente la convección y difusión; por ejemplo, si una gota de tinta se añade a una corriente de agua, la mancha de tinta empezará a aumentar de tamaño por efectos de difusión y al mismo tiempo será deformada por efectos de convección. El fenómeno de convección -difusión con y sin reacción química es muy común en la naturaleza y en aplicaciones industriales.

La ecuación de convección- difusión unidimensional en coordenadas cartesianas es:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \frac{\partial \phi}{\partial x} = \alpha \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} \quad (5.2)$$

Donde α es el coeficiente de difusión. La siguiente figura ilustra el fenómeno de convección-difusión. Para la ecuación anterior se requiere una condición inicial y dos condiciones de frontera.

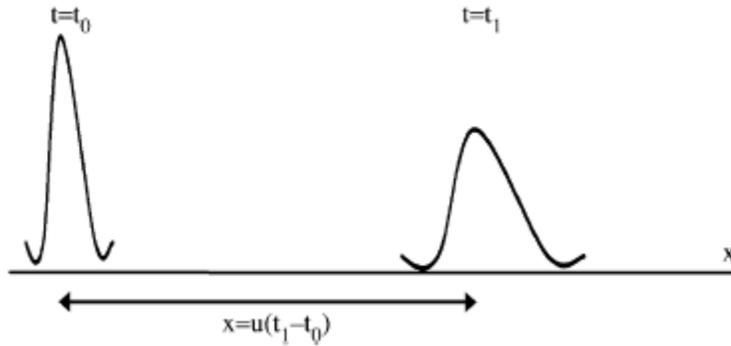


Figura 5.2 Diagrama del fenómeno de difusión -convección

5.3 DIFERENCIAS FINITAS PARA PROCESOS DE CONVECCIÓN - DIFUSIÓN

En métodos numéricos el término de convección puede provocar problemas si no es adecuadamente formulado. La dirección del flujo afecta el flujo de información; la corriente arriba debe tener efecto sobre la corriente abajo, mientras que el efecto de las condiciones corriente abajo sobre la corriente abajo depende de la intensidad de flujo. En términos más precisos depende de la proporción entre convección y difusión, o sea el número de Peclet; utilizando diferencias centrales: Para aproximar la primera derivada en el espacio, se escribe:

$$\left(\frac{\phi(i+1) - \phi(i-1)}{2\Delta x} \right) \quad (5.3)$$

Esta formulación podría conducir a una solución inestable debido a que se le está dando igual importancia tanto al incremento de la función ϕ tanto adelante como hacia atrás. Es decir, no se está tomando en cuenta que la información proviene de la izquierda. Con el fin de considerar la dirección del flujo de información es más apropiado utilizar el esquema de diferencias finitas atrasadas (corriente arriba).

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = \begin{cases} \frac{\phi(i) - \phi(i-1)}{\Delta x} & \text{if } u > 0 \\ \frac{\phi(i+1) - \phi(i)}{\Delta x} & \text{if } u \leq 0 \end{cases} \quad (5.4)$$

Nótese que esta es una ecuación con exactitud a primer orden y en general provoca una difusión artificial (falsa difusión). En otras palabras la exactitud de la solución depende de la proporción entre el coeficiente de difusión introducido numéricamente y el coeficiente de difusión físico (α). El remedio para este problema es utilizar un esquema de corriente arriba de más alto orden en el que se involucren más nodos para formular la ecuación de convección-difusión. Para más detalle se deben consultar libros de dinámica de fluidos computacional. Sin embargo nosotros presentamos enseguida un modelo con exactitud a primer orden de un proceso convección-difusión. [2]

Ejemplo de un fenómeno de difusión- convección. Se considera un fenómeno de difusión- convección unidimensional, tomando en cuenta que dentro de un tubo de 1 m de largo, el cuál inicialmente se encuentra lleno de disolvente, se añade un flujo de una corriente a una velocidad de 10cm/s, que contiene una sustancia química soluble con concentración 0.1 molar y que posee un coeficiente de difusión de $1e-4$ m²/s. para este caso la ecuación diferencial gobernante es:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + v \frac{\partial c}{\partial x} = D * \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (5.5)$$

Cuya formulación en diferencia finita de primer orden corriente arriba es:

$$\frac{c_i^{t+\Delta t} - c_i^t}{\Delta t} + v \frac{c_i^t - c_{i-1}^t}{\Delta x} = D \frac{c_{i-1}^t - 2*c_i^t + c_{i+1}^t}{\Delta x^2} \quad (5.6)$$

La ecuación de recurrencia para los cálculos iterativos se obtienen al despejar la concentración en el nodo i al tiempo t + Δt, obteniéndose el siguiente algoritmo de cómputo, considerando condiciones de frontera de concentración invariante en la entrada al tubo, igual a 10⁻¹ molar, y frontera no difusiva a la salida:

```
function difconv
clear all; close all;clc;
cent=1e-1;co=0;nx=100;
v=.01;D=1e-4;dt=.1;dx=.01;
c(1:nx)=co;c(1)=cent;
for i=1:nx
    x(i)=(i-1)*dx;
end
for t=1:1000
    for i=2:nx-1
        dcdx=(c(i)-c(i-1))/dx;
        lap=D*(c(i+1)-2*c(i)+c(i-1))/dx^2;
        c(i)=(lap-v*dcdx)*dt+c(i);
    end
    c(nx)=c(nx-1);
    contar=t/50;
    if ((contar-ceil(contar))==0)
        plot(x,c,'-');hold on;pause(.1);
    else
        end
    end
end
```

Los resultados de la ejecución de este programa se muestran en la figura (5.3)

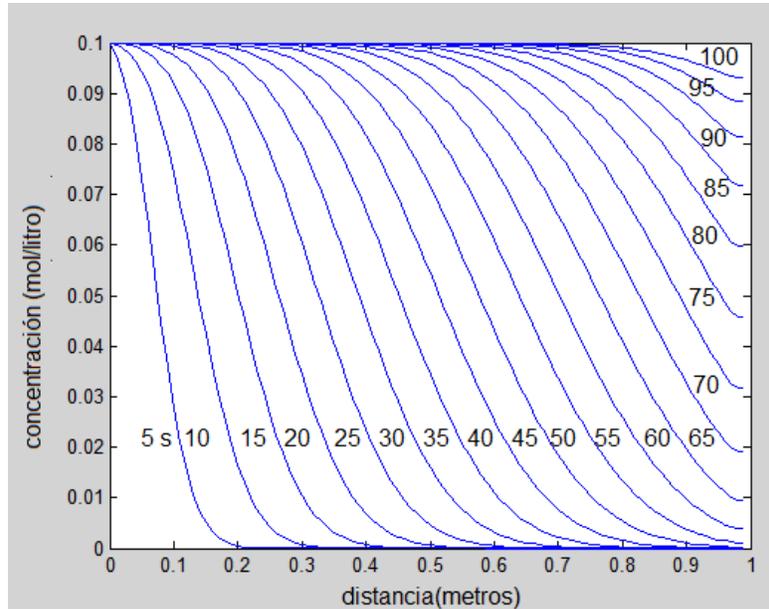


Figura 5.3 Evolución de los perfiles de concentración en un proceso de difusión-convección a lo largo de una tubería

La ecuación retículas de Boltzmann para el fenómeno de convección-difusión es:

$$f_k(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_k(x, t) = f_k(x, t)[1 - \omega] + \omega f_k^{eq}(x, t) \quad (5.7)$$

Donde la función de distribución al equilibrio incluye un término de convección:

$$f_k^{eq} = w_k \phi(x, t) \left[1 + \frac{c_k \cdot u}{c_s^2} \right] \quad (5.8)$$

Donde \mathbf{u} es el vector velocidad de la corriente convectiva. Por ejemplo para el caso bidimensional el vector $\mathbf{u} = u\mathbf{i} + v\mathbf{j}$, siendo \mathbf{i} y \mathbf{j} los vectores unitarios a lo largo de los ejes x e y . mientras que c_k es el vector unitario a lo largo de cada una de las direcciones de movimiento del autómata celular.

$$c_k = \frac{\Delta x}{\Delta t} \mathbf{i} + \frac{\Delta y}{\Delta t} \mathbf{j} \quad (5.9)$$

Para $c_k = 1$, la velocidad del sonido c_s , es como sigue para: D1Q2, D2Q4, y D3Q6

$$c_s = \frac{1}{\sqrt{2}} \quad (5.10)$$

Para D1Q3, D2Q5, D2Q9, y D3Q15,

$$c_s = \frac{1}{\sqrt{3}} \quad (5.11)$$

Cuando existe reacción química en el fluido, se le añade un término cinético a la ecuación de retículas de Boltzmann quedando:

$$f_k(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_k(x, t) = f_k(x, t)[1 - \omega] + \omega f_k^{eq}(x, t) + Rq * \Delta t / Q \quad (5.12)$$

Donde Rq es el término cinético químico y Q es el número de direcciones de movimiento del autómatas celular. El signo positivo en Rq se utiliza cuando la sustancia involucrada es un producto, mientras que se utiliza un signo negativo si se trata de un reactivo. Se requiere una ecuación de recurrencia para cada una de las especies químicas que participan en la reacción.

5.4 MODELO EN RETÍCULAS DE BOLTZMANN PARA EL FENÓMENO DE REACCIÓN CONVECCIÓN-DIFUSIÓN

En este apartado se utiliza un algoritmo basado en el método de retículas de Boltzmann para describir la dinámica del comportamiento de las concentraciones de sustrato, producto y especies biológicas dentro de un biorreactor de flujo en pistón en el que se lleva a cabo la producción de etanol a partir de glucosa por medio del metabolismo de las *zymmomonas mobilis*.

La ecuación diferencial gobernante para el funcionamiento del biorreactor de flujo en pistón es:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + v \frac{\partial c}{\partial x} = D * \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + Rq \quad (5.13)$$

Donde Rq representa la cinética de cada una de las especies la cual ya se discutió en el caso del reactor CSTR.

La ecuación de recurrencia para el autómatas de retículas de Boltzmann que describe el fenómeno de difusión - convección, puede ser fácilmente modificarla para añadirle el efecto de la reacción química; lo único que hay que hacer es escribir el termino cinético dividido entre el número de direcciones de movimiento del autómatas; para el modelo D1Q2, que es el que se ha estado trabajando, dicho número es 2. [3]

Por ejemplo para las *zymmomonas mobilis*, las cuatro ecuaciones que describen la variación de las concentraciones de las dos especies químicas y las dos especies biológicas del reactor de flujo en pistón son:

$$\frac{\partial s}{\partial t} + v \frac{\partial s}{\partial z} = D \frac{\partial^2 s}{\partial z^2} - Rs \quad (5.14)$$

$$\frac{\partial p}{\partial t} + v \frac{\partial p}{\partial z} = D \frac{\partial^2 p}{\partial z^2} + Rp \quad (5.15)$$

$$\frac{\partial a}{\partial t} + v \frac{\partial a}{\partial z} = D \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} + Ra \quad (5.16)$$

$$\frac{\partial e}{\partial t} + v \frac{\partial e}{\partial z} = D \frac{\partial^2 e}{\partial z^2} + Re \quad (5.17)$$

La formulación de estas ecuaciones diferenciales parciales en el modelo de retículas de Boltzmann son:

$$f_s(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_s(x, t) = f_s(x, t)[1 - \omega] + \omega f_s^{eq}(x, t) - Rs * \Delta t/Q \quad (5.18)$$

$$f_p(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_p(x, t) = f_p(x, t)[1 - \omega] + \omega f_p^{eq}(x, t) + Rp * \Delta t/Q \quad (5.19)$$

$$f_a(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_a(x, t) = f_a(x, t)[1 - \omega] + \omega f_a^{eq}(x, t) + Ra * \Delta t/Q \quad (5.20)$$

$$f_e(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_e(x, t) = f_e(x, t)[1 - \omega] + \omega f_e^{eq}(x, t) + Re * \Delta t/Q \quad (5.21)$$

Con las funciones de distribución al equilibrio dadas por:

$$f_s^{eq} = w_s \phi(x, t) \left[1 + \frac{s \cdot u}{c_s^2} \right] \quad (5.22)$$

$$f_p^{eq} = w_p \phi(x, t) \left[1 + \frac{p \cdot u}{c_s^2} \right] \quad (5.23)$$

$$f_a^{eq} = w_a \phi(x, t) \left[1 + \frac{a \cdot u}{c_s^2} \right] \quad (5.24)$$

$$f_e^{eq} = w_e \phi(x, t) \left[1 + \frac{e \cdot u}{c_s^2} \right] \quad (5.25)$$

Con las velocidades de reacción:

$$Rs = \left(\frac{1}{Y_{sa}} \mu + ms \right) a \quad (5.26)$$

$$Rp = \left(\frac{1}{Y_{pa}} \mu + mp \right) a \quad (5.27)$$

$$Ra = \mu a \quad (5.28)$$

$$Re = (K_1 - K_2 p + K_3 p^2) \mu a \quad (5.29)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{s}{K_S + s} \frac{e}{a} \quad (5.30)$$

El siguiente algoritmo en retículas de Boltzmann permite calcular la evolución espacio temporal de las 2 especies químicas (sustrato y producto) así como de las especies biológicas (microbios y especie extra) a lo largo de un reactor de flujo en pistón, considerando una velocidad de flujo constante:

```
function rdalmbioreactor1dixchel
clear all; close all;clc;
m=102;f1(1:m)=0;f2(1:m)=0;rho(1:m)=0;x(1:m)=0;
dt=.0001;dx=.01;
for i=1:m;x(i)=i*dx;end
mumax=1;Ysx=2.44498e-2;Ypx=5.26315e-2;ms=2.16;mp=1.1;
k1=16;k2=0.497;k3=3.83e-3;ks=.5;Cx(1:m)=0.02;Cp(1:m)=0;Ce(1:m)=1e-5;
Cr(1:m)=.5;u=0.5;
ck=dx/dt;csq=ck*ck;alfar=1e-4*dt/dx^2;alfap=1e-4*dt/dx^2;
alfax=1e-4*dt/dx^2;alfae=1e-4*dt/dx^2;
omegar=1/(alfar/(dt*csq)+0.5);omegap=1/(alfap/(dt*csq)+0.5);
omegax=1/(alfax/(dt*csq)+0.5);omegae=1/(alfae/(dt*csq)+0.5);
mstep=200000;
% funciones de dist para reactivo
rho(1:m)=.5;f1(1:m)=1/2*rho(1:m);f2(1:m)=1/2*rho(1:m);
% funciones de dist para producto
rhop(1:m)=0;f1p(1:m)=1/2*rhop(1:m);f2p(1:m)=1/2*rhop(1:m);
% funciones de dist para celulas
rhex(1:m)=0.02;f1x(1:m)=1/2*rhex(1:m);f2x(1:m)=1/2*rhex(1:m);
% funciones de dist especie e
rhoe(1:m)=1e-5;f1e(1:m)=1/2*rhoe(1:m);f2e(1:m)=1/2*rhoe(1:m);
Crent=1;Cpent=0;Cxent=0.01;Ceent=0;
for t=1:mstep
%colisión
for i=1:m
rho(i)=f1(i)+f2(i);rhop(i)=f1p(i)+f2p(i);
rhex(i)=f1x(i)+f2x(i);rhoe(i)=f1e(i)+f2e(i);
mu=mumax*Cr(i)/(ks+Cr(i))*Ce(i)/Cx(i);
Rr=(1/Ysx*mu+ms)*Cx(i);
Rp=(1/Ypx*mu+mp)*Cx(i);
Rx=mu*Cx(i);
Re=(k1-k2*Cp(i)+k3*Cp(i)^2)*mu*Cx(i);
feq1=1/2*rho(i)*(1+u/ck);
feq2=1/2*rho(i)*(1-u/ck);
f1(i)=(1-omegar)*f1(i)+omegar*feq1-Rr*dt/2;
f2(i)=(1-omegar)*f2(i)+omegar*feq2-Rr*dt/2;
feq1p=1/2*rhop(i)*(1+u/ck);
feq2p=1/2*rhop(i)*(1-u/ck);
f1p(i)=(1-omegap)*f1p(i)+omegap*feq1p+Rp*dt/2;
f2p(i)=(1-omegap)*f2p(i)+omegap*feq2p+Rp*dt/2;
feq1x=1/2*rhex(i)*(1+u/ck);
```

```

    feq2x=1/2*rhox(i)*(1-u/ck);
    f1x(i)=(1-omegax)*f1x(i)+omegax*feq1x+Rx*dt/2;
    f2x(i)=(1-omegax)*f2x(i)+omegax*feq2x+Rx*dt/2;
feq1e=1/2*rhoe(i)*(1+u/ck);
    feq2e=1/2*rhoe(i)*(1-u/ck);
    f1e(i)=(1-omegae)*f1e(i)+omegae*feq1e+Re*dt/2;
    f2e(i)=(1-omegae)*f2e(i)+omegae*feq2e+Re*dt/2;
end
%fluidización
for i=2:m-2
    f1(m-i)=f1(m-i-1);
    f2(i-1)=f2(i);
    f1p(m-i)=f1p(m-i-1);
    f2p(i-1)=f2p(i);
    f1x(m-i)=f1x(m-i-1);
    f2x(i-1)=f2x(i);
    f1e(m-i)=f1e(m-i-1);
    f2e(i-1)=f2e(i);
end
%cond.frontera
f1(1)=Crent/2;f1(2)=Crent/2; %cond.frontera(dirichlet)
f1p(1)=Cpent/2;f1p(2)=Cpent/2;
f1x(1)=Cxent/2;f1x(2)=Cxent/2; %cond.frontera(dirichlet)
f1e(1)=Ceent/2;f1e(2)=Ceent/2;
f1(m)=f1(m-1);%cond.frontera no difusiva(neumann)
f2(m)=f2(m-1);
f1p(m)=f1p(m-1);%cond.frontera adiabatica(neumann)
f2p(m)=f2p(m-1);
f1x(m)=f1x(m-1);%cond.frontera no difusiva(neumann)
f2x(m)=f2x(m-1);
f1e(m)=f1e(m-1);%cond.frontera adiabatica(neumann)
f2e(m)=f2e(m-1);
contar =t/3000;
if (contar-ceil(contar))==0)
    figure (1)
    plot (x(1:m-2),rho(1:m-2),'-');hold on
    figure (2)
    plot (x(1:m-2),rhop(1:m-2),'-r');hold on
    title(['tiempo=' num2str(t*dt),'segs']);grid on;
    figure (3)
    plot (x(1:m-2),rhox(1:m-2),'-');hold on;
    figure (4)
    plot (x(1:m-2),rhoe(1:m-2),'-r');hold on;
else
    end
end
end

```

Los resultados de la ejecución de este programa se ilustran en el siguiente conjunto de figuras.

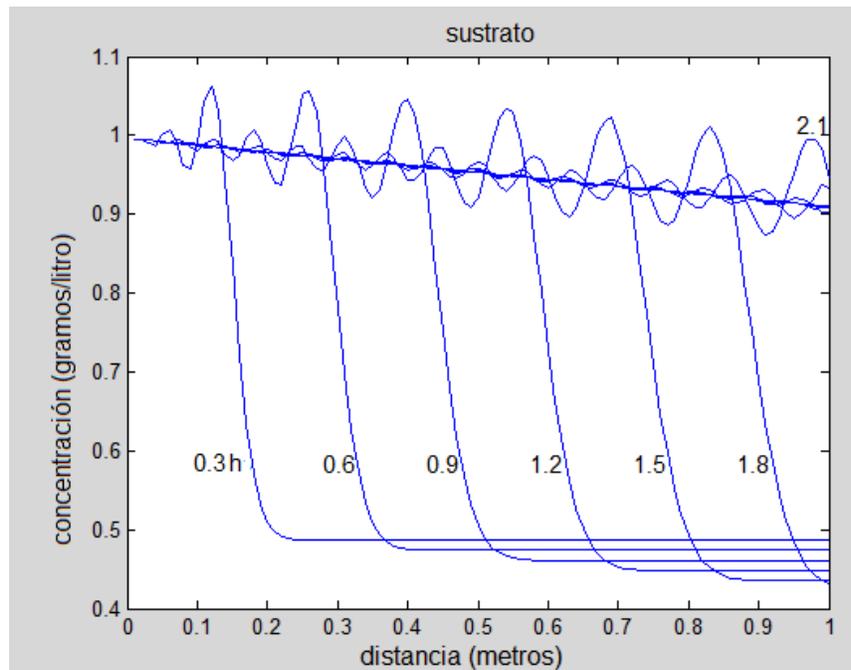


Figura 5.4 Evolución de los perfiles de concentración del sustrato en un reactor PFR para la producción de etanol a partir de glucosa con *zymomonas mobilis*

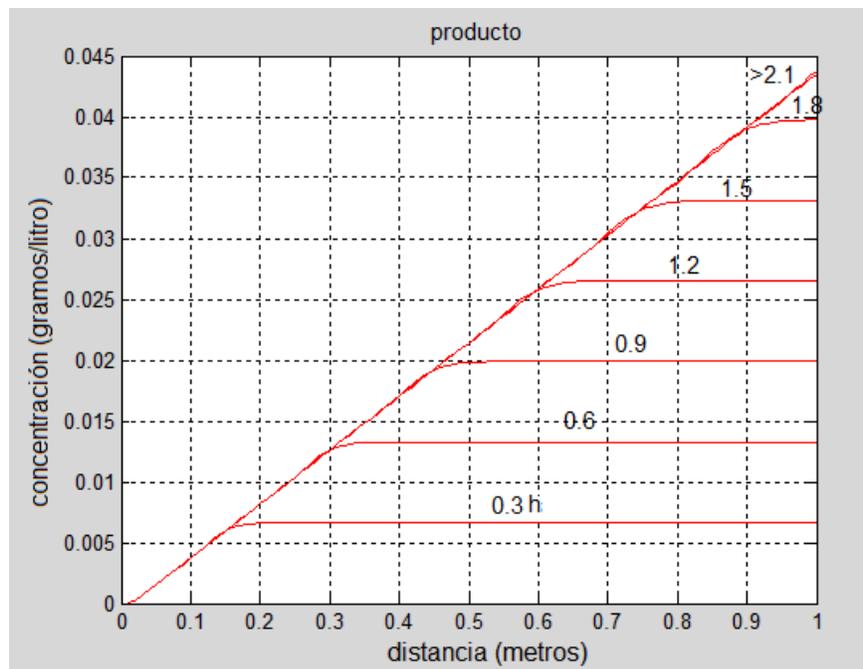


Figura 5.5 Evolución de los perfiles de concentración del producto en un reactor PFR para la producción de etanol a partir de glucosa con *zymomonas mobilis*

Obsérvese que la concentración del sustrato (glucosa) oscila a lo largo del reactor en un corto periodo de arranque de la operación, alcanzándose un estado estacionario después de algunas (2.7) horas; el producto también exhibe oscilaciones pero más pequeñas. Igualmente la concentración de microbios (*zymomonas mobilis*) y la especie extra e muestran oscilaciones espacio-temporales siendo más marcadas al inicio del funcionamiento del birreactor, alcanzando finalmente condiciones de estado estacionario.

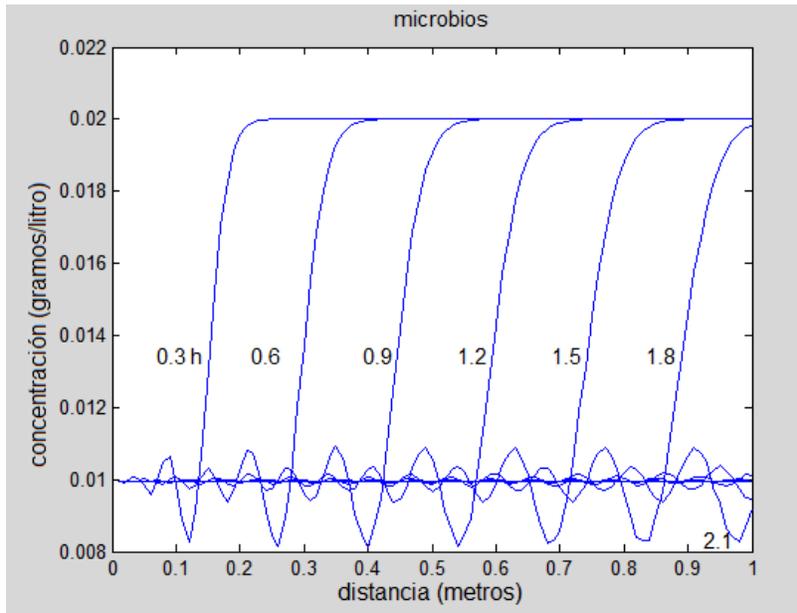


Figura 5.6 Evolución del crecimiento de la concentración de microbios en un reactor de flujo en pistón para la producción de etanol a partir de glucosa con *zymomonas mobilis*

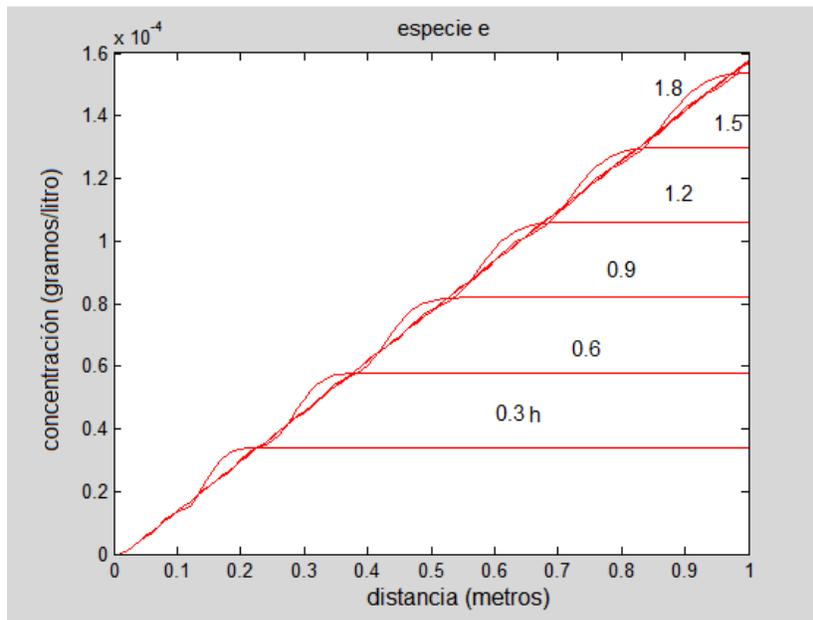


Figura 5.7 Evolución del crecimiento de la concentración de la especie E en un reactor de flujo en pistón para la producción de etanol a partir de glucosa con *zymomonas mobilis*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Dawson SP, Chen S, Doolen GD. Lattice Boltzmann computation for reaction- diffusion equations. *J Chem Phys.* 1993;98(2):1514-23.

[2] Wolf - Gladrow D.A. Lattice Boltzmann equation for diffusions. *J Stat Phys.* 1995; 79(5/6): 1023-32.

[3] Chen S, Doolen G D, Lattice Boltzmann method for fluid flows. *Annu Rev. Fluid mech.* 1998;30;329-64.

6. SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DE UN REACTOR PARA LA PRODUCCIÓN DE CÉLULAS MADRE ENCAPSULADAS

En este capítulo se formulan modelos matemáticos para la *hidrodinámica del flujo de nutrientes* alrededor de las células encapsuladas esféricas dentro de un *biorreactor de células inmovilizadas*, posteriormente se evalúa la velocidad promedio alrededor de cada célula y a partir de dicho valor, se formulan y resuelven las ecuaciones de *reacción-difusión-convección*, con cinética tipo Monod, para obtener la descripción de la dinámica del crecimiento de la población de células madre, útiles para Ingeniería de Tejidos.

Debido a que se trata de un problema de hidrodinámica de flujos con geometría compleja se utilizara el método de retículas de Boltzman por lo que es necesario establecer los fundamentos teóricos que permitan formular un modelo para flujo bidimensional.

6.1 REACTOR DE CÉLULAS MADRE

La terapia celular es un tratamiento muy prometedor para enfermedades como la diabetes melitus, el Parkinson e infartos cerebrales. La microencapsulación de las células las protege contra reacciones postimplante y habilita el uso de líneas celulares alogénicas para la producción de implantes terapéuticos celulares. El proceso de producción de dichos implantes consiste de tres pasos: (a) la expansión de las células; (b) su encapsulación; y (c) el cultivo de las células encapsuladas para incrementar su vitalidad y calidad. Este trabajo está dedicado a la formulación de un modelo matemático para la descripción del funcionamiento de un biorreactor de lecho fijo basado en procedimientos de cultivo celular. El sistema de expansión del reactor está basado en esferas vítreas no porosas que mantienen el crecimiento de células pulmonares con alto rendimiento y vitalidad, permitiendo además un protocolo de diferenciación basado en el medio.

La terapia celular puede ser definida como el implante de células autólogas, alogénicas o xenogénicas, para reemplazar células dañadas y mejorar funciones fisiológicas. Las células implantadas son capaces de llevar a cabo dichas funciones fisiológicas por sí mismas o estimular otras células, permitiendo la regeneración de tejidos y la recuperación de la actividad orgánica. Algunos ejemplos son:

- a) el tratamiento de la diabetes melitus con insulina y células secretantes GLP-1,
- b) el trasplante de células que secreten dopamina para disminuir los efectos del síndrome de Parkinson,
- c) el implante de células madre de mesenquimal para la regeneración de tejidos en el corazón, cartílagos y huesos ^[1,2].

El implante de células alogénicas y xenogénicas demanda una protección contra reacciones de rechazo entre células huésped y células nuevas; dicha protección puede lograrse mediante la supresión del sistema inmune del huésped o por encapsulación de las células trasplantadas.

Además, el microencapsulamiento de células madre es una opción muy prometedora para el tratamiento de enfermedades endócrinas y degenerativas; por ejemplo, el sistema CellBead® desarrollado en Alemania, que consiste de cuentas esféricas que contienen un núcleo celular interno rodeado por una cápsula de alginato (Fig.6.1). Cada cuenta contiene alrededor de dos mil a tres mil células en estado de no proliferación. El diámetro del núcleo que contiene células es de alrededor de 400 μm y el diámetro de la cápsula de alginato entre 500 y 600 μm .

La línea celular de producción alogénica está basada en células madre humanas mesenquimales, las cuales son transferidas con el gen de la subunidad catalítica de telomerasa humana. La actividad de la telomerasa contrarresta el acortamiento de los telómeros después de cada ciclo celular, lo cual indica una transformación de las células hacia una línea celular permanente [3]. Dependiendo del uso asignado a las células, ellas pueden ser genéticamente modificadas con genes terapéuticos adicionales.

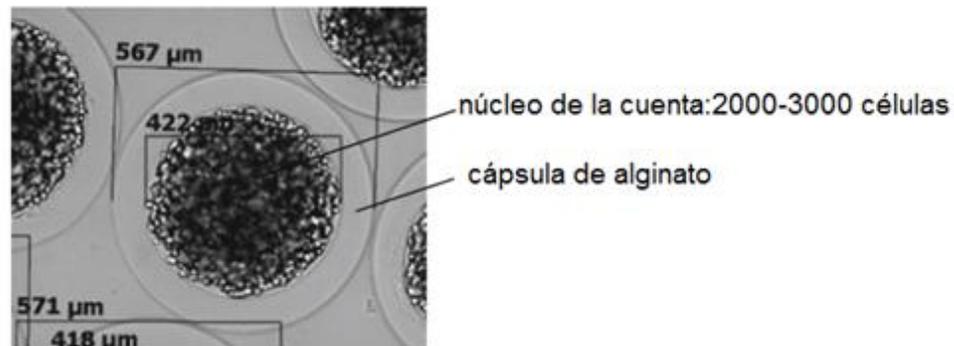


Figura 6.1 Imagen microscópica de las cuentas celulares

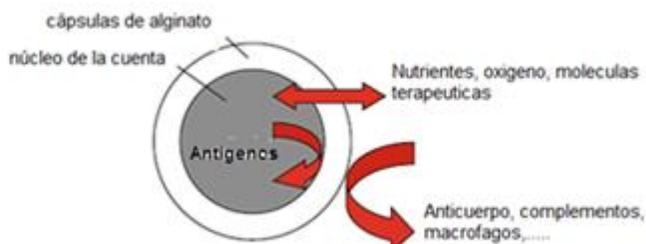


Figura 6.2 La cápsula de alginato de la cuenta celular actúa como una membrana semipermeable

Las cuentas pueden ser implantadas mediante inyección usando una jeringa estéril. En el sitio de implante las células son provistas con nutrientes mediante difusión a través de la cápsula y a su vez liberan células terapéuticas. Los antígenos y componentes del sistema inmune del huésped no pueden penetrar la cápsula (figura 6.2). Las ventajas de este sistema terapéutico

son una liberación continua de medicamento y, debido a que se trata de una aplicación local, se obtiene alta concentración de fármaco en los puntos de implantación. En aplicaciones avanzadas es posible lograr una producción en stock cuando se utiliza esta línea celular.

El implante de estas células terapéuticas al lado de la barrera cerebro-flujo sanguíneo, provee de un sistema adecuado para el tratamiento de accidentes médicos como los infartos cerebrales. Estudios en fase clínica han revelado que la implantación de células encapsuladas GLP-1 han reducido pérdida de células neuronales en impactos corticales controlados aplicados a ratas [2]. Originalmente las células intestinales secretan GLP-1 en respuesta a la ingestión de alimentos. Las GLP-1 realzan la secreción de insulina por parte de las células beta y promueven la sensibilidad a la insulina. Además, el implante de células encapsuladas en el cerebro de mamíferos puede tener efectos neurotróficos y neuroprotectores.

El procedimiento de cultivo y cosecha para la expansión de las células madre, basado en la producción de linaje celular debe ser muy gentil con la finalidad de obtener altos rendimientos y vitalidades en las células cosechadas en transportador utilizado deberá ser no poroso para facilitar la separación de las células adheridas al transportador.

El proceso de cultivo en el lecho celular ayuda a incrementar la vitalidad de las células encapsuladas. Un decremento de la vitalidad celular de los implantes puede ser causado por el procedimiento de cultivo y cosecha. Las células apópticas se descomponen durante el cultivo. Una diferenciación opcional de las células puede ayudar a su supervivencia en el lugar de trasplante. Además una diferenciación puede inducir la expresión de moléculas terapéuticas.

Debido a que las células por sí mismas son el producto, los requerimientos para los procesos de expansión de células madre son diferentes a aquellos para el cultivo de células mamarias comunes, donde el producto es un virus o una proteína.

6.2 SISTEMA DE REACCIÓN

Se puede utilizar una gran variedad de reactores para el cultivo de células animales adherentes, por ejemplo, matraces T, botellas de enrollamiento, reactores de ondas, reactores de tanque agitado o matraces giratorios, mostrando mayor o menor problemas de operación. Los matraces T requieren atención durante su operación o un sistema de control muy complejo; los reactores de suspensión en combinación con microtransportadores tienen la desventaja de que se requiere un sistema especial para la separación de las células adheridas enzimáticamente al transportador; esto impide un diseño sencillo como lo requeriría una manufactura fácilmente operable

En 2010 Weber y colaboradores publicaron un artículo titulado *Production Process for Stem Cell Based Therapeutic Implants*. En la *Adv. Biochemical Engin/Biotechnol*, donde dan una descripción de un proceso a nivel planta piloto para la producción de células madre como el que se muestra en la figura (6.3):

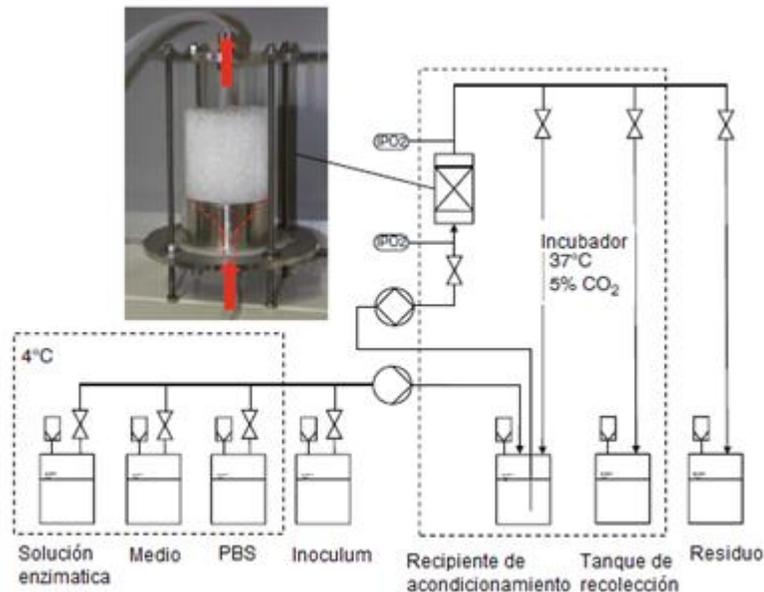


Figura 6.3 Diagrama del proceso para el reactor de lecho fijo de células inmobilizadas

La figura anterior muestra un prototipo de un reactor de lecho fijo. Consiste en un cilindro de vidrio con una tapa y fondo de acero inoxidable. Está equipado con mangueras conectoras para la entrada y salida del medio de cultivo. Un distribuidor a la entrada produce un flujo cercanamente uniforme. La periferia del lecho fijo consiste de algunos matraces que actúan como: tanque de acondicionamiento, tanque de recolección, tanque de residuos, recipiente de almacenamiento. También se instalaron algunas tuberías y válvulas de control de flujo así como dos bombas peristálticas y un sensor de oxígeno para el monitoreo del proceso. Todas las partes excepto las válvulas y las bombas son disponibles comercialmente. Una de las ventajas adicionales de este sistema es la posibilidad de una automatización confortable de todo el proceso incluyendo los procedimientos de inoculación, cultivo y cosecha.

El oxígeno puede ser suministrado mediante aereación superficial, mediante el uso de una membrana oxigenadora. Las burbujas producidas deberán ser retiradas para que no se forme espuma principalmente cuando se utilice suero como medio. El sistema de reacción puede ser operado en un incubadora humidificada a 37°C y 5% de CO₂. A veces es necesario el ajuste del pH por medio de soluciones reguladoras de bicarbonato de sodio.

Para la determinación de la dinámica del crecimiento y consumo así como para los cálculos de escalamiento, Weber et al. Propusieron un modelo simplificado

Como primer aproximación Weber et al. Suponen que la distribución de velocidad dentro del reactor es homogénea, o sea que tiene la misma magnitud en todos los puntos del lecho encapsulado y por lo tanto, formulan un modelo tipo flujo en pistón.

El sistema está compuesto principalmente de compartimentos interactuantes, el lecho fijo y el recipiente de acondicionamiento. La concentración C de cualquier nutriente en el lecho fijo depende del tiempo y de la coordenada de posición axial, z ; y puede ser expresado por la siguiente ecuación de reacción-convección.

$$\varepsilon \frac{\delta c}{\delta t} = -v \frac{\delta c}{\delta z} - \eta q X_{FB} \quad (6.0)$$

Con la velocidad superficial v siendo definida como la velocidad del flujo dentro del reactor sin el lecho empacado, la rapidez de consumo específica q del nutriente considera y la densidad celular c de las células, dado por:

$$X_{FB} = X_{FB}^0 e^{\mu t} \quad (6.1)$$

El factor de efectividad n , considera la resistencia a la transferencia de masa. La rapidez de crecimiento m y la rapidez de consumo de glucosa q_{Glc} pueden ser descritas mediante la cinética de Monod:

$$\mu = \mu_{max} \frac{[Glc]}{[Glc] + k_{M\mu}} \quad (6.2)$$

$$q_{Glc} = q_{Glc\ max} \frac{[Glc]}{[Glc] + k_{MqGlc}} \quad (6.3)$$

Siendo k_{MqGlc} y $k_{M\mu}$, coeficientes de Monod, mientras que la rapidez de consumo de oxígeno corresponde a una reacción de orden cero

$$q_{Ox} = \text{constante}$$

Aunque Weber et al. Consideran los balances de materia infinitesimales en el recipiente de acondicionamiento, en este trabajo solamente se tomara en cuenta la operación del biorreactor de células encapsuladas.

El siguiente algoritmo computacional basado en diferencias finitas permite obtener la rapidez de crecimiento de la población celular a lo largo del reactor conforme transcurre el tiempo así como la evolución espacio-temporal de la concentración de nutrientes:

Algoritmo PFR para biorreactor de células encapsuladas

Weber et al reportaron los parámetros necesarios para la resolución de las ecuaciones diferenciales que gobiernan la dinámica del biorreactor de células madre encapsuladas, los cuales se resumen en la tabla 2:

Tabla 2: Cinética de las células madre dentro de las cápsulas

Cinética y consumo de crecimiento de células madre hMSC-TERT cultivadas dentro de cápsulas de borosilicato de 2 mm de diámetro en reactores de lecho fijo de 15, 60 y 300 cm ³ de volumen. Los datos se obtuvieron mediante ajuste de los parámetros del modelo a los datos experimentales.		
Rapidez máxima de crecimiento, m_{max}	0.55 – 0.69	Días ⁻¹
Constante de Monod, $k_{M\text{glc}}$	0.135 – 0.160	mg mL ⁻¹
Máxima rapidez de consumo de glucosa, q_{Glcmax}	8.0 – 11.8 x 10 ⁻⁸	mg h ⁻¹ células ⁻¹
Constante de Monod, k_{MqGlc}	0.10 – 0.16	mg mL ⁻¹
Rapidez de consumo de oxígeno q_{Ox}	0.98 – 0.124 x 10 ⁻⁸	mg h ⁻¹ células ⁻¹
hMSC-TERT = células madre mesensquimales humanas con unidad catalítica de transcriptasa inversa telomerasa.		

Se consideraron factores η y $\varepsilon = 0.7$.

```
function stemcells
clear all;close all;clc;
n=100;c(1:n)=.10;Gl(1:n)=0;
mumax=0.6;%dias-1
mumax=mumax/24/60; % min-1
kmmu=0.145;%mg/ml;
qglcmax=9e-8;%mg/h/cel
qglcmax=qglcmax/60;%mg/min/cel
km=0.12;%mg/ml
%qox=1.2e-8/60;%mg/min/cel
Xf0=50000; %número inicial de células
Gl(1)=01; %miligramos de glucosa en la corriente de entrada
deltat=1;etha=.7;
v=.0001;dx=.01;
for t=1:10000
    for i=2:n-1
        mu=mumax*Gl(i)/(Gl(i)+kmmu);
        Xfb=Xf0*exp(mu*t*deltat);
        qgl=qglcmax*Gl(i)/(Gl(i)+km);
        conv=-v*(c(i)-c(i-1))/dx;
        conv2=-v*(Gl(i)-Gl(i-1))/dx;
        r=qgl*Xfb;
        c(i)=c(i)+deltat*(0*conv+etha*r);
        Gl(i)=Gl(i)+deltat*(conv2-etha*qgl);
    end
end
```

```

    contar=(t/1000);
    if (contar-ceil(contar))==0;
c(n)=c(n-1);Gl(n)=Gl(n-1);
figure (1)
    plot (c(2:n),'-'); hold on;
    figure (2)
    plot (Gl,'-'); hold on;
    else
    end
    title(['tiempo=' num2str(t*deltat),'mins']);
end

```

Los resultados de la evolución de las concentraciones de las células y de la glucosa se reportan en la siguiente figura. Obsérvese que después de 8 000 minutos, el sistema se ha saturado de glucosa.

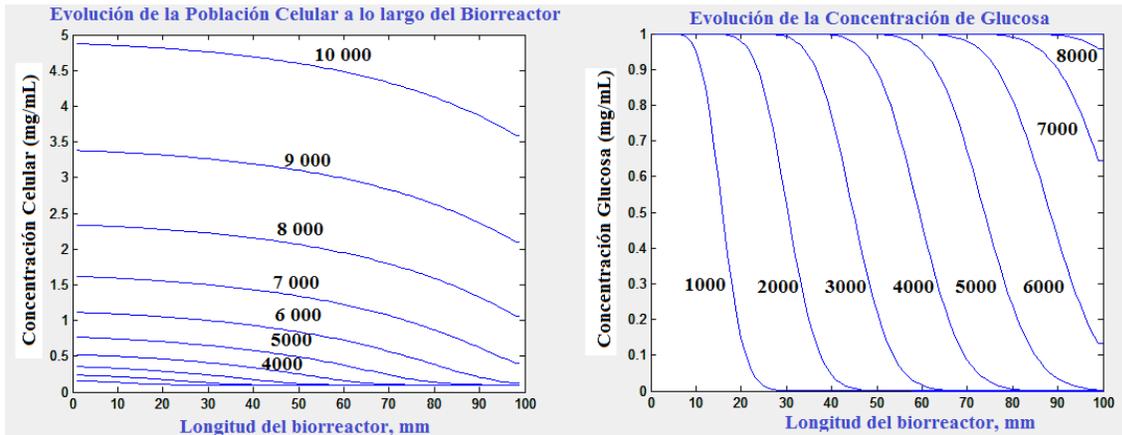


Figura 6.4 Evolución de la concentración de células y glucosa en un reactor de células madre inmovilizadas

Estas gráficas representan el crecimiento de las células en cada una de las cápsulas, a lo largo del bioreactor. Se trata de un modelo simplificado en el cual se ha supuesto que el reactor tiene un comportamiento idealizado del tipo de flujo en pistón. Además, se ha considerado la aplicación del método de diferencias finitas explícitas. En este caso no se tuvo problemas para la cinética involucrada como en el caso de la *Zymomonas Mobilis*, aunque se trata de una aproximación unidimensional muy sencilla.

En seguida, se formula un modelo más elaborado, considerando un caso bidimensional. El modelo matemático se dividirá en dos partes. Primero se determinará numéricamente el perfil de velocidades del flujo de nutrientes alrededor de las cápsulas esféricas, simuladas como círculos dentro del campo de velocidad bidimensional. Luego, con la velocidad promedio del fluido alrededor de cada esfera, se formulará un modelo de reacción-difusión-convección en coordenadas esféricas para describir la rapidez de crecimiento local de las

células madre. Antes se da una descripción de cómo se formulan los modelos en retículas de Boltzmann para flujo bidimensional, método útil para la hidrodinámica compleja.

6.3 MÉTODOS DE RETÍCULAS DE BOLTZMAN PARA FLUJO DE FLUIDOS NEWTONIANOS

La ecuación de Navier –Stockes es no lineal mientras que la ecuación de Lattice Boltzmann es lineal, de hecho la no linealidad ha sido absorbida por el lado izquierdo de la ecuación discreta de Boltzmann. El término de convección en el enfoque macroscópico es reemplazado por un proceso de fluidización lineal en el método de retículas de Boltzmann, de manera similar a los métodos característicos para resolver flujo de fluidos compresibles. No es necesario resolver una ecuación de Poisson en cada paso de tiempo lo cual reduce drásticamente el tiempo de computo. El método de retículas de Boltzmann puede ser considerado un método explícito, en el que no se necesita resolver sistemas de ecuaciones simultaneas en cada paso de tiempo, debido a que los procesos de fluidización y colisión son locales, el método podría ser fácilmente formulado para máquina de procesamiento en paralelo [5].

6.3.1 LA APROXIMACIÓN DE BHATNAGAR-GROSS -KROOK (BGK)

La ecuación de Boltzmann es una ecuación integro-diferencial. Uno de los problemas en la resolución de la ecuación de Boltzmann es la naturaleza compleja de la integral de colisión, el procedimiento más utilizado para resolver dicha dificultad es usar la aproximación BGK. Las retículas de Boltzmann simulan eficientemente flujos incompresibles a bajos números de Mach y variaciones leves de la densidad ($Ma=u/c_s$, donde u es la velocidad macroscópica del fluido y c_s es la velocidad del sonido) por lo tanto en la simulación deben elegirse valores pequeños para la velocidades características del flujo del (orden 0.1) con la finalidad de reducir el error de cálculo, consecuentemente al simular altos números de Reynolds debe incrementarse el número de unidades de red o debe disminuirse la velocidad cinemática del fluido, v . Sin embargo, debe tenerse cuidado en no elegir valores muy pequeños de la velocidad cinemática porque podría provocar inestabilidad numérica.

En los siguientes párrafos se discute el modelo D2Q9, BKG- LBM

La ecuación en retículas de Boltzmann puede ser escrita como:

$$f_k(x + \Delta x, t + \Delta t) = f_k(x, t)[1 - w] + wf_k^{eq}(x, t) \quad (6.4)$$

La única diferencia son los términos extra añadidos a la función de distribución al equilibrio:

$$f_k^{eq} = w_k \rho(x, t) \left[1 + \frac{c_k \cdot u}{c_s^2} + \frac{1}{2} \frac{(c_k \cdot u)^2}{c_s^4} - \frac{1}{2} \frac{u^2}{c_s^2} \right] \quad (6.5)$$

Donde

$$c_s = \frac{c_k}{\sqrt{3}} \quad (6.6)$$

$$c_k = \frac{\Delta x}{\Delta t} i + \frac{\Delta y}{\Delta t} j \quad (6.7)$$

Y

$$u = ui + vj \quad (6.8)$$

Nótese que la ecuación anterior es la misma que la ecuación difusión – convección del capítulo anterior pero la de este capítulo toma en cuenta la conservación de momentum y la no linealidad en la velocidad. También obsérvese que es necesario utilizar un arreglo de D2Q9 para conservar isotropía, invariancia galileana e independencia de la presión con la velocidad en la ecuación de Navier-Stokes.

Los parámetros que controlan el flujo incompresible son el número de Reynolds y las restricciones geométricas del sistema. Esto puede ser deducido a partir de la ecuación de Navier Stokes utilizando escalas de longitud y velocidad características. Por lo tanto para cualquier flujo incompresible es necesario considerar el número de Reynolds y la similitud geométrica.

6.3.2 NÚMEROS DE MACH Y REYNOLDS

El análisis de error de las retículas de Boltzmann requieren de varias expansiones a multiescala. Sin embargo, en esta sección se omite el análisis detallado, y solamente se enfatizan a aplicaciones prácticas del análisis de error.

El análisis demuestra que luego de una serie de expansiones a escalas múltiples el autómata de retículas de Boltzmann recupera la ecuación de Navier Stokes a escala macroscópica para flujos incompresibles a bajos números de Mach. El error en retículas de Boltzmann es en el orden del número de Mach.

La velocidad del fluido está relacionada a la frecuencia de relajación.

$$\nu = \frac{\Delta x^2}{3\Delta t} (w - 0.5) \quad (6.9)$$

El número de Reynolds, $Re=UL/\nu$, donde U y L son las velocidades y longitud características en escala macroscópica, respectivamente.

La ecuación anterior puede ser manipulada dividiendo ambos lados de la ecuación entre UL, para obtener.

$$Ma = \frac{\Delta x}{L\sqrt{3}} \left(w - \frac{1}{2} \right) Re \quad (6.10)$$

El valor de $L/\Delta x$ es igual al número de unidades de red en dirección de la longitud característica, digamos N . para Δx unitaria como es costumbre en retículas de Boltzmann, $L=N$, por lo tanto, el número de Reynolds es igual UN/v (a este número de Reynolds se le denomina Reynolds de la retícula). Para una solución adecuada el número de Mach debe ser suficientemente pequeño de manera que ω y N debe ser elegida apropiadamente para asegurar un bajo valor de Ma . En general U deberá ser del orden 0.1 o 0.2, sin estar relacionado a la velocidad macroscópica. En la práctica el número de Reynolds macroscópico debe elegirse igual al número de Reynolds reticular. Consecuentemente U y v pueden ser elegidos arbitrariamente dentro de un intervalo que asegure la estabilidad de la solución.

6.4 MODELO BIDIMENSIONAL Y NUEVE DIRECCIONES DE FLUIDIZACION (D2Q9)

La siguiente figura ilustra las direcciones de fluidización junto con los factores de ponderación (w) y c_k . Los coeficientes de ponderación son:

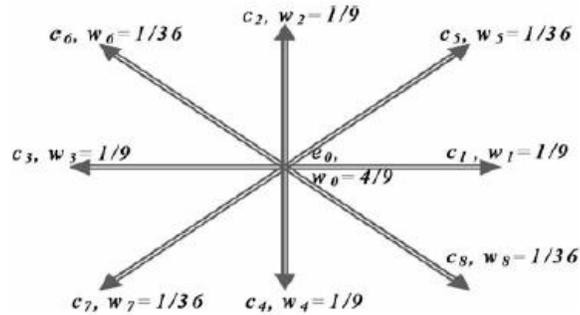


Figura 6.5 Estencil unitario para el modelo D2Q9 de retículas de Boltzmann

Como en las ecuaciones de redes de Boltzmann se lleva a cabo el producto punto entre los componentes de la velocidad del autómata con la velocidad macroscópica del fluido, es conveniente detallar como se lleva a cabo dicho producto punto. Por ejemplo si los componentes x y y de un vector u son 3 y -2 ($u=3, v=-2$), respectivamente, entonces

$$c_1 \cdot u = (1,0) \cdot (3,-2) = 3, \quad (6.11)$$

$$c_3 \cdot u = (-1,0) \cdot (3,-2) = -3, \quad (6.12)$$

$$c_5 \cdot u = (1,1) \cdot (3,-2) = 3 - 2 = 1 \quad (6.13)$$

$$c_6 \cdot u = (-1,1) \cdot (3,-2) = -3 - 2 = -5 \quad (6.14)$$

$$Y \quad u^2 = u \cdot u = (3, -2) \cdot (3, -2) = 9 + 4 = 13. \quad (6.15)$$

$$\left[1 + \frac{c_k \cdot u}{c_s^2} + \frac{1}{2} \frac{(c_s \cdot u)^2}{c_s^4} - \frac{1}{2} \frac{u^2}{c_s^2} \right] \quad (6.16)$$

6.4.1 CONDICIONES DE FRONTERA

Una cuestión importante y crucial en retículas de Boltzmann para la simulación de flujo es el modelado preciso de las condiciones de frontera. Especificando las condiciones de frontera para la ecuación de Navier- Stokes la cual es de alguna manera directa. Este no es el caso para retículas de Boltzmann, donde la función de distribución y el dominio de integración deberán determinarse en los límites. Por lo tanto, necesitamos determinar las ecuaciones necesarias para el cálculo de las funciones de distribución en los límites de las condiciones de frontera. En la literatura se prueban y proponen diferentes enfoques.

6.4.2 REBOTE

El rebote se utiliza para modelar sistemas sólidos en estado estacionario o con condiciones de frontera en movimiento, condiciones antideslizantes u obstáculos en flujo apagado. En los siguientes párrafos serán discutidos los métodos de límite fijo. El método es muy simple e implica que una partícula entrante hacia el límite solido se recupere en el dominio del flujo. En la literatura se han sugerido algunas versiones sobre el esquema de rebote. Uno de los esquemas habla sobre localizar la pared a la mitad de la distancia de los sitios de Lattice , como se muestra en la figura 6.6 de la función de distribución, f_4 , f_7 y f_8 , se conocen como fluidización. Se supone que cuando estas funciones de distribución golpean la pared estas rebotan al dominio de solución.

Por lo tanto, $f_5 = f_7$, $f_2 = f_4$ y $f_6 = f_8$. Nótese que f_7 en el nodo (i, j) es igual a f_7 del nodo $(i+1, j+1)$. Después de la fluidización, es válido un argumento similar para f_8 , que viene desde el nodo $(i-1, j+1)$. Por lo tanto, las condiciones de frontera deben aplicarse después de la fluidización.

La parte posterior del rebote asegura conservación de masa y momentum en el límite. Otro posible argumento se muestra en la figura 6.6, sin embargo, la pared en el camino medio entre dos sitios de lattice. No obstante, el dominio se extiende dentro de la pared sólida. El rebote ocurre de nuevo dentro de la pared.

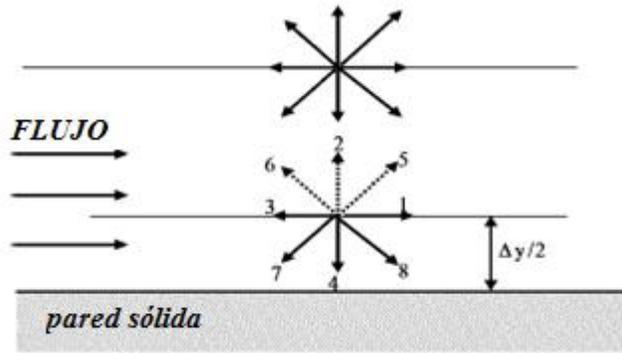


Figura 6.6 Condición de frontera de rebote esquema I

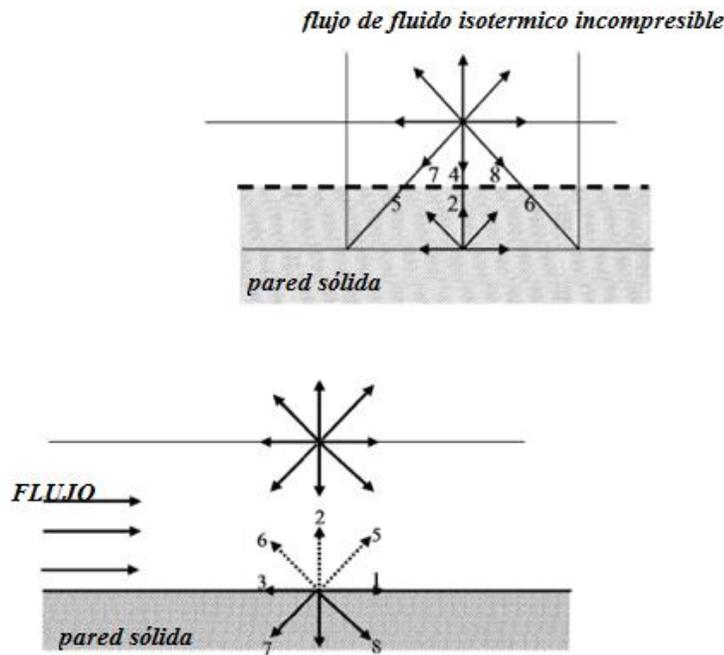


Figura 6.7 y 6.8 respectivamente muestran las condiciones de frontera de rebote esquema II y Esquema simple de las condiciones de frontera

Entonces, $f_2=f_4, f_5=f_7$ y $f_6=f_8$.

Nótese que f_7 rebota desde el lado izquierdo en la pared sólida, mientras que f_8 rebota desde la derecha, con referencia a la ubicación del nodo central en el estencil unitario. Es útil imaginar el efecto del proceso de fluidización como si se llevara a cabo en el interior de la pared sólida, como se ilustra en la figura (6.7).

Entonces $f_5=f_7, f_6=f_8$ y $f_2=f_4$ para los nodos en el interior de la pared.

Otra imagen ilustrativa aun dentro del esquema de rebote (III) se muestra en la figura 6.8, donde los estenciles están ubicados directamente en la superficie sólida y no en el plano medio. Simplemente se establece que $f_5 = f_7, f_2 = f_4$ y $f_6 = f_8$, donde se conocen los valores de f_4 ,

f_7 y f_8 a partir del proceso de fluidización. Algunos autores dicen que este esquema tiene precisión de primer orden. Este esquema es muy simple comparado a los previamente discutidos y será adoptado para la implementación del algoritmo computacional.

6.4.3 VELOCIDAD CONOCIDA

Es muy común en aplicaciones prácticas conocer la velocidad en alguna de las fronteras, por ejemplo, la velocidad de entrada a un canal o equipo industrial como es el caso de un biorreactor. La implementación de dicha condición de frontera en el método de retículas de Boltzmann se lleva a cabo estableciendo el valor de dicha velocidad en los estencils unitarios correspondientes a los nodos adyacentes a la entrada, y repartiéndolo entre las Q direcciones de la función de distribución.

6.4.4 CONDICIÓN DE FRONTERA DE SALIDA

La condición de frontera de salida puede establecerse en forma macroscópica o mesoscópica. Algunos autores como Sauro Succi dan una descripción bastante amplia de cómo seleccionar e implementar condiciones de frontera tipo ajuste polinomial de segundo orden, frontera periódica y frontera simétrica. Sin embargo, en este trabajo se utilizara una condición de gradiente de velocidad cero en los nodos que correspondan a la salida del fluido.

6.5 MODELO DE RETÍCULAS DE BOLTZMANN PARA REACCIÓN-DIFUSIÓN-CONVECCIÓN

Una vez obtenida la distribución de velocidades se utiliza un segundo autómatas celular en retículas de Boltzmann para llevar a cabo los cálculos de la concentración de reactivos y productos durante los procesos de reacción-difusión-convección dentro del reactor de células madre. Basándonos en la teoría desarrollada por (Chen S, Dawson SP, Doolen GD, Janecky DR, Lawniczak A (1995)) *Lattice methods and their applications to reacting systems. Comput Chem Eng 19:617-646* [6,8] el procedimiento consiste en proponer una función de distribución de partículas reaccionantes a escala mesoscópica y aplicar los escalamientos no lineales de Chapman-Enskog. En el artículo de Chen et al se propone la siguiente ecuación de recurrencia: para el autómatas celular de reacción-difusión-convección:

$$g_{\alpha}^s(\mathbf{x} + \mathbf{e}_{\alpha} \Delta t, t + \Delta t) - g_{\alpha}^s(\mathbf{x}, t) = - \frac{g_{\alpha}^s(\mathbf{x}, t) - g_{\alpha}^{s,eq}(c_s, \mathbf{u})}{\tau_s + \frac{1}{2}} + r \quad (6.17)$$

Aquí g_{α}^s es la función de distribución de la especie s y τ_s es el tiempo de relajación. La función de distribución al equilibrio está dada por [5,6,7,8]:

$$g_{\alpha}^{eq}(c_s, \mathbf{u}) = w_{\alpha} c_s \left[1 + \frac{e_{\alpha} \cdot \mathbf{u}}{RT} + \frac{(e_{\alpha} \cdot \mathbf{u})^2}{2(RT)^2} - \frac{\mathbf{u}^2}{2RT} \right] \quad (6.18)$$

w_{α} es el factor de ponderación para la α -ésima dirección del espacio; \mathbf{u} es el vector de velocidad macroscópica del fluido, R es la constante universal de los gases y T es la

temperatura absoluta. El autómata celular se mueve a lo largo de las líneas de enlace de la red de Boltzmann con una velocidad unitaria c_s

La concentración de las especies es calculada, usando un balance de materia, por el principio de conservación de masa:

$$C_s = \sum_{\alpha} g_{\alpha}^s \quad (6.19)$$

Usando una expansión a multiescala de Chapman-Enskog. La ecuación anterior de redes de Boltzmann permite recuperar la ecuación de Reacción-Difusión-Convección a escala macroscópica:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u \cdot \nabla C = D \nabla^2 C + r \quad (6.20)$$

El primer término del lado izquierdo de esta ecuación corresponde a la rapidez de aumento de la concentración de una especie química; el segundo término del lado izquierdo representa el transporte convectivo de las especies químicas, es decir, el arrastre de las especies químicas por el flujo de las corrientes de fluido; el primer término del lado derecho representa al transporte molecular de las especies químicas debido a gradientes de concentración; finalmente el segundo término de lado derecho representa a la cinética química de las reacciones que se llevan a cabo dentro del sistema. En la formulación de retículas de Boltzmann este término corresponde a:

$$r = R \cdot \Delta t / Q$$

Donde R es la ley de velocidad cinética química y Q es el número de direcciones de velocidad en la red unitaria (9 en el caso de D2Q9) (figura 6.5)

6.6 ALGORITMO COMPUTACIONAL

Utilizando los conceptos revisados en los apartados anteriores se procede a formular un algoritmo de cómputo para calcular el perfil de velocidad de un fluido newtoniano que fluye en el interior de un biorreactor con células inmovilizadas en su interior. Dicho algoritmo es el siguiente:

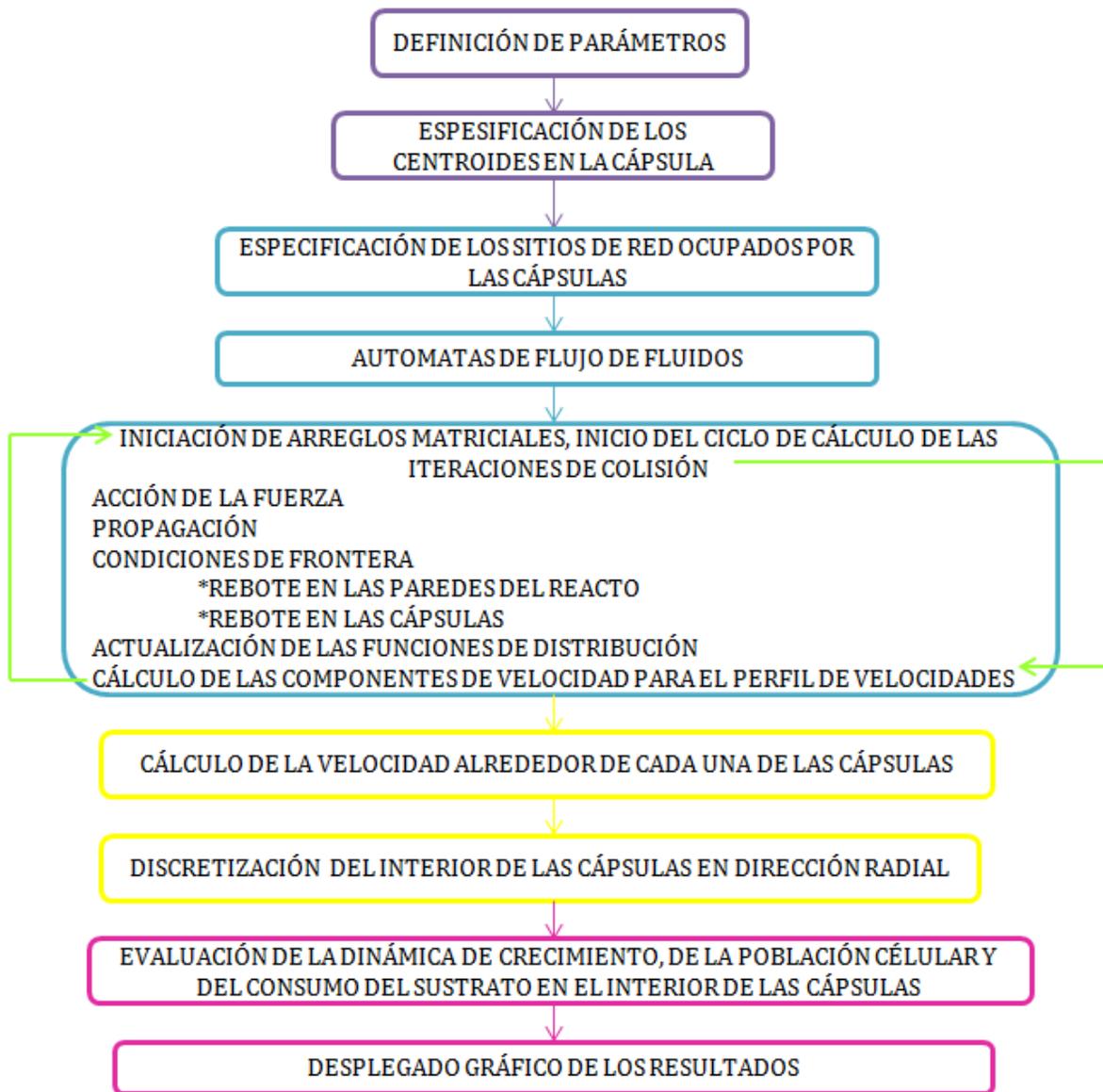


Diagrama 1. Algoritmo para el cálculo de perfil de velocidades alrededor de las cápsulas

El bloque de definición de parámetros consiste en especificar los valores de el operador de colisión (ω), el número de iteraciones para que converja el cálculo del perfil de velocidades, el número de nodos horizontales y verticales en la retícula, el espaciamiento entre nodos, el intervalo de tiempo para la simulación, la apertura de arreglos matriciales para guardar los datos de densidad de partículas y las funciones de distribución que se vayan calculando.

El segundo bloque que corresponde a la especificación de los centroides de la posición de las cápsulas, permite distribuir el conjunto de células a lo largo del reactor; se eligió un arreglo ordenado con filas de 9 y 10 cápsulas posicionadas de manera alternativa y haciendo que los centroides de las filas de 10 coincidan con las distancia media de separación entre dos cápsulas de las filas de 9, y viceversa, en un arreglo tipo ladrillo-argamasa.

El tercer bloque consiste en darle forma a las cápsulas (las cápsulas esféricas dan lugar a una proyección circular en el plano bidimensional); para ello se describen nodo a nodo los sitios ocupados por la cápsula alrededor del centroide de posición.

El siguiente conjunto de bloques corresponde a la introducción del algoritmo de retículas de Boltzmann D2Q9. En primer lugar se inicializan los arreglos matriciales para la función de distribución al equilibrio y la velocidad macroscópica del fluido. Luego se implementa el operador de colisión con base en la ecuación de recurrencia del autómata de redes de Boltzmann. Luego se implementa la acción de la fuerza externa que le da dirección al movimiento del fluido. En seguida se implementa el paso de fluidización del autómata con base a las 9 direcciones del modelo D2Q9; cada partícula se mueve en alguna dirección del espacio hacia el primer sitio vecino y colisiona interactuando con las partículas que se encuentren ahí. Se consideran condiciones de frontera de rebote en las paredes solidas del reactor y de las cápsulas. El resultado de la colisión entre partículas se guarda en las mismas variables que se tenían antes de la colisión, en lo que se conoce como proceso de actualización. Una vez actualizadas las funciones de distribución se lleva a cabo el cálculo de los componentes de velocidad del fluido en cada uno de los nodos y se grafica, obteniendo el perfil de velocidades. Este proceso es iterativo y se lleva a cabo el número suficiente de veces hasta que la velocidad en cada nodo no cambie de una iteración a otra.

Una vez obtenida la distribución de velocidades alrededor de cada cápsula, se calcula la velocidad promedio en dicha vecindad, para implementar una subrutina de diferencias finitas que permita obtener la concentración de células y sustrato en el interior de las cápsulas, resolviendo ecuaciones de reacción-difusión-convección considerando el modelo matemático para la cinética del crecimiento de población de células madre.

En la siguiente figura se representa esquemáticamente el diagrama de bloques del algoritmo escrito para la simulación del crecimiento de células madre dentro del reactor de células encapsuladas:



Diagrama 2. Descripción del algoritmo computacional para el fenómeno de reacción-difusión-convección dentro del biorreactor

A continuación se despliega el código en Matlab de este algoritmo:

```
function lbmesfericasix
clear all;close all;clc;
OMEGA=1.2;%frecuencia de colisiones
XMAX=100;YMAX=199;%dimensiones del mallado
F(1:XMAX,1:YMAX,1:9)=0;%Dimensionamiento Función de distribución
FQ(1:XMAX,1:YMAX,1:9)=0; %Dimensionamiento Función de dist al equilibrio
FUERZA=0.0024/YMAX^3;FORCING=FUERZA; %Fuerza que induce movimiento del fluido
TIMEST=200; %tiempo estimado en que se alcanza el estado estacionario
%VX=1e-4; %velocidad del fluido en el distribuidor de la entrada
%sitios ocupados por enzima
ncap=57;%ncap = número de cápsulas rellenas con células
cx(1:ncap)=0;cy(1:ncap)=0;% dimensionamiento de los centroides de las cápsulas
NOBSTAC=7809;XOBST(1:7809)=0;YOBST(1:7809)=0; %dimensionamiento de las matrices para los
nodos ocupados por las cápsulas
concel(1:XMAX,1:YMAX)=0; %dimensionamiento de matriz para el coloreo de células
for i=1:9 % especificación de los centroides para filas de 9 cápsulas
cy(i)=20*i;cy(i+19)=20*i;cy(i+38)=20*i;
cx(i)=20;cx(i+19)=46;cx(i+38)=72;
end
for i=1:10 % especificación de los centroides para filas de 10 cápsulas
cy(9+i)=10+20*(i-1);cx(9+i)=33;
cy(28+i)=10+20*(i-1);cx(28+i)=59;
cy(47+i)=10+20*(i-1);cx(47+i)=85;
end
for i=1:57 %formación de las cápsulas esféricas
XOBST((i-1)*137+(1:13))=cx(i)-6:cx(i)+6;YOBST((i-1)*137+(1:13))=cy(i);
XOBST((i-1)*137+(14:26))=cx(i)-6:cx(i)+6;YOBST((i-1)*137+(14:26))=cy(i)+1;
XOBST((i-1)*137+(27:39))=cx(i)-6:cx(i)+6;YOBST((i-1)*137+(27:39))=cy(i)+2;
XOBST((i-1)*137+(40:50))=cx(i)-5:cx(i)+5;YOBST((i-1)*137+(40:50))=cy(i)+3;
XOBST((i-1)*137+(51:61))=cx(i)-5:cx(i)+5;YOBST((i-1)*137+(51:61))=cy(i)+4;
XOBST((i-1)*137+(62:70))=cx(i)-4:cx(i)+4;YOBST((i-1)*137+(62:70))=cy(i)+5;
XOBST((i-1)*137+(71:75))=cx(i)-2:cx(i)+2;YOBST((i-1)*137+(71:75))=cy(i)+6;
XOBST((i-1)*137+(76:88))=cx(i)-6:cx(i)+6;YOBST((i-1)*137+(76:88))=cy(i)-1;
XOBST((i-1)*137+(89:101))=cx(i)-6:cx(i)+6;YOBST((i-1)*137+(89:101))=cy(i)-2;
XOBST((i-1)*137+(102:112))=cx(i)-5:cx(i)+5;YOBST((i-1)*137+(102:112))=cy(i)-3;
XOBST((i-1)*137+(113:123))=cx(i)-5:cx(i)+5;YOBST((i-1)*137+(113:123))=cy(i)-4;
XOBST((i-1)*137+(124:132))=cx(i)-4:cx(i)+4;YOBST((i-1)*137+(124:132))=cy(i)-5;
XOBST((i-1)*137+(133:137))=cx(i)-2:cx(i)+2;YOBST((i-1)*137+(133:137))=cy(i)-6;
end
% "SIMULACIÓN CON MODELO BGK EN RETÍCULAS DE BOLTZMANN D2Q9"
%'***** INICIALIZACIÓN DE LOS ARREGLOS MATRICIALES *****'
RHO(1:XMAX,1:YMAX)=1;JX(1:XMAX,1:YMAX)=0;JY(1:XMAX,1:YMAX)=0;
```

```

for Y = 1 : YMAX
for X = 1 : XMAX
U = JX(X,Y)/ RHO(X,Y);V=JY(X,Y)/ RHO(X,Y);
F(X,Y,1)=RHO(X,Y)/9*(1+3*U+9/2*U^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,2)=RHO(X,Y)/9*(1+3*V+9/2*V^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,3)=RHO(X,Y)/9*(1-3*U+9/2*U^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,4)=RHO(X,Y)/9*(1-3*V+9/2*V^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,5)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(U+V)+9/2*(U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,6)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(-U+V)+9/2*(-U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,7)=RHO(X,Y)/36*(1-3*(U+V)+9/2*(U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,8)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(U-V)+9/2*(U-V)^2-3/2*(U^2+V^2));
F(X,Y,9)=4/9*RHO(X,Y)*(1-3/2*(U^2+V^2));
end
end
FPROP(:,,:)=F(:,,:); % inicialización de la función de propagación
% *****
% inicio de iteraciones para el cálculo del perfil de velocidades
% *****
for TIME = 1 : TIMEST
% proceso de colisión: %se utilize la ecuación de recurrencia del autómata LBM
for Y = 2 : YMAX-1
for X = 1 : XMAX
U = JX(X, Y) / RHO(X, Y);V = JY(X, Y) / RHO(X, Y);
% cálculo de la función de distribución al equilibrio
FQ(1)=RHO(X,Y)/9*(1+3*U+9/2*U^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(2)=RHO(X,Y)/9*(1+3*V+9/2*V^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(3)=RHO(X,Y)/9*(1-3*U+9/2*U^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(4)=RHO(X,Y)/9*(1-3*V+9/2*V^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(5)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(U+V)+9/2*(U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(6)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(-U+V)+9/2*(-U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(7)=RHO(X,Y)/36*(1-3*(U+V)+9/2*(U+V)^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(8)=RHO(X,Y)/36*(1+3*(U-V)+9/2*(U-V)^2-3/2*(U^2+V^2));
FQ(9)=4/9*RHO(X,Y)*(1-3/2*(U^2+V^2));
% colisión
FPROP(X,Y,1)=(1-OMEGA)*F(X,Y,1)+OMEGA*FQ(1);
FPROP(X,Y,2)=(1-OMEGA)*F(X,Y,2)+OMEGA*FQ(2);
FPROP(X,Y,3)=(1-OMEGA)*F(X,Y,3)+OMEGA*FQ(3);
FPROP(X,Y,4)=(1-OMEGA)*F(X,Y,4)+OMEGA*FQ(4);
FPROP(X,Y,5)=(1-OMEGA)*F(X,Y,5)+OMEGA*FQ(5);
FPROP(X,Y,6)=(1-OMEGA)*F(X,Y,6)+OMEGA*FQ(6);
FPROP(X,Y,7)=(1-OMEGA)*F(X,Y,7)+OMEGA*FQ(7);
FPROP(X,Y,8)=(1-OMEGA)*F(X,Y,8)+OMEGA*FQ(8);
FPROP(X,Y,9)=(1-OMEGA)*F(X,Y,9)+OMEGA*FQ(9);
end
end
%ACCIÓN DE FUERZA
FUERZA=FORCING/6; % Ver comentario 1 anexo
FPROP(:,2:YMAX-1,1)=FPROP(:,2:YMAX-1,1)+FUERZA;

```

```

FPROP(:,2:YMAX-1,3)=FPROP(:,2:YMAX-1,3)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,5)=FPROP(:,2:YMAX-1,5)+FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,6)=FPROP(:,2:YMAX-1,6)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,7)=FPROP(:,2:YMAX-1,7)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,8)=FPROP(:,2:YMAX-1,8)+FUERZA;
%% Propagación
FPROP(:,1,:)=F(:,1,:);FPROP(:,YMAX,:)=F(:,YMAX,:); % CENTRO
F(2:XMAX,,:)=FPROP((2:XMAX)-1,,:); %%' * * * * ESTE * * * *
F(:,2:YMAX,2)=FPROP(:,(2:YMAX)-1,2); %%' * * * * NORTE * * * *
F(1:XMAX-1,,:)=FPROP((1:XMAX-1)+1,,:); %%' * * * * OESTE * *
F(:,1:YMAX-1,4)=FPROP(:,(1:YMAX-1)+1,4); %%' * * * * SUR * * * *
F(2:XMAX,2:YMAX,5)=FPROP((2:XMAX)-1,(2:YMAX)-1,5); %%' * * NORESTE * *
F(1:XMAX-1,2:YMAX,6)=FPROP((1:XMAX-1)+1,(2:YMAX)-1,6); % *NOROESTE * *
F(1:XMAX-1,1:YMAX-1,7)=FPROP((1:XMAX-1)+1,(1:YMAX-1)+1,7); % *SUROESTE * *
F(2:XMAX,1:YMAX-1,8)=FPROP((2:XMAX)-1,(1:YMAX-1)+1,8); %%' *SURESTE * *
F(:,:,9)=FPROP(:,:,9); %%' * * | * * * * CENTRO * * * * *

```

%' condiciones de frontera

% condición de rebote en las paredes del reactor:

```

%%' * * * * * NORTE * * * * *
AJX=F(1:XMAX,1,2);F(1:XMAX,1,2)=F(1:XMAX,1,4);F(1:XMAX,1,4)=AJX;
Y = YMAX; %%' * * * * * SUR * * * * *
AJX=F(1:XMAX,Y,4);F(1:XMAX,Y,4)=F(1:XMAX,Y,2);F(1:XMAX,Y,2)=AJX;
%%' * * * * * NORESTE * * * * *
AJX=F(1:XMAX,1,5);F(1:XMAX,1,5)=F(1:XMAX,1,7);F(1:XMAX,1,7)=AJX;
%%' * * * * * NOROESTE * * * * *
AJX=F(1:XMAX,1,6);F(1:XMAX,1,6)=F(1:XMAX,1,8);F(1:XMAX,1,8)=AJX;
Y = YMAX; %%' * * * * * SUROESTE * * * * *
AJX=F(1:XMAX,Y,7);F(1:XMAX,Y,7)=F(1:XMAX,Y,5);F(1:XMAX,Y,5)=AJX;
Y = YMAX; %%' * * * * * SURESTE * * * * *
AJX=F(1:XMAX,Y,8);F(1:XMAX,Y,8)=F(1:XMAX,Y,6);F(1:XMAX,Y,6)=AJX;
%%' * * condición de frontera de rebote en las paredes de las cápsulas
for K = 1:NOBSTAC

```

```

AJX1=F(XOBST(K),YOBST(K),2); %*****NORTE*****
F(XOBST(K),YOBST(K),2)=F(XOBST(K),YOBST(K),4);
F(XOBST(K),YOBST(K),4)=AJX1;
AJX2=F(XOBST(K),YOBST(K),4); %*****SUR*****
F(XOBST(K),YOBST(K),4)=F(XOBST(K),YOBST(K),2);
F(XOBST(K),YOBST(K),2)=AJX2;
AJX3=F(XOBST(K),YOBST(K),3); %*****OESTE*****
F(XOBST(K),YOBST(K),3)=F(XOBST(K),YOBST(K),1);
F(XOBST(K),YOBST(K),1)=AJX3;
AJX4=F(XOBST(K),YOBST(K),1); %*****ESTE*****
F(XOBST(K),YOBST(K),1)=F(XOBST(K),YOBST(K), 3);
F(XOBST(K),YOBST(K),3)=AJX4;
AJX5=F(XOBST(K),YOBST(K),5); %*****NORESTE*****
F(XOBST(K),YOBST(K),5)= F(XOBST(K),YOBST(K),7);
F(XOBST(K),YOBST(K),7)=AJX5;

```

```

AJX6=F(XOBST(K),YOBST(K),7); %****SUROESTE****
F(XOBST(K),YOBST(K),7)=F(XOBST(K),YOBST(K),5);
F(XOBST(K),YOBST(K),5)=AJX6;
AJX7=F(XOBST(K),YOBST(K),6); %****NOROESTE****
F(XOBST(K),YOBST(K),6)=F(XOBST(K),YOBST(K),8);
F(XOBST(K),YOBST(K),8)=AJX7;
AJX8=F(XOBST(K),YOBST(K),8); %****SURESTE****
F(XOBST(K),YOBST(K),8)=F(XOBST(K),YOBST(K),6);
F(XOBST(K),YOBST(K),6) =AJX8;
end
%actualización de las funciones de distribución
RHO(:,:)=F(:,:,1)+F(:,:,2)+F(:,:,3)+F(:,:,4)+F(:,:,5)+F(:,:,6)+ F(:,:,7)+F(:,:,8)+F(:,:,9);
JX(:,:)=F(:,:,1)-F(:,:,3)+F(:,:,5)-F(:,:,6)-F(:,:,7)+F(:,:,8);
JY(:,:)=F(:,:,2)-F(:,:,4)+F(:,:,5)+F(:,:,6)-F(:,:,7)-F(:,:,8);
%cálculo de la magnitud de velocidad en cada punto
for Y=1:YMAX;for X=1:XMAX;vmag(X,Y)=1e4*(JX(X,Y)^2+JY(X,Y)^2)^(1/2);end;end
% cálculo de las componentes de velocidad para el perfil de velocidades
for K=1:NOBSTAC
  JX(XOBST(K),YOBST(K))=0;JY(XOBST(K),YOBST(K))=0;
end
%desplegado gráfico
if (fix(TIME/100)-TIME/100==0)
figure(1);quiver(JY,JX);
  figure (7);contourf(vmag);colorbar;
  pause(0.1)
else
end
end
end
% cálculo de la velocidad promedio al rededor de las células
v(1:57)=0; % dimensionamiento de matriz para cálculo de velocidad promedio
for i=1:57
  for j=1:3;v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-2+j,cy(i)-8)^2+JY(cx(i)-2+j,cy(i)-8)^2);end
  for j=1:3;v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-2+j,cy(i)+8)^2+JY(cx(i)-2+j,cy(i)+8)^2);end
  for j=1:7;v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-5,cy(i)-4+j)^2+JY(cx(i)-5,cy(i)-4+j)^2);end
  for j=1:7;v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+5,cy(i)-4+j)^2+JY(cx(i)+5,cy(i)-4+j)^2);end
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)-7)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)+7)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)+7)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)-7)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)-8)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)-8)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)+8)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)+8)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)-8)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)-8)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)+8)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)+8)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-3,cy(i)-6)^2+JY(cx(i)-3,cy(i)-6)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+3,cy(i)-6)^2+JY(cx(i)+3,cy(i)-6)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-3,cy(i)+6)^2+JY(cx(i)-3,cy(i)+6)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+3,cy(i)+6)^2+JY(cx(i)+3,cy(i)+6)^2);
  v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-2,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)-2,cy(i)-7)^2);

```

```

v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+2,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)+2,cy(i)-7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-2,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)-2,cy(i)+7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+2,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)+2,cy(i)+7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)-7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)-7,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)-7,cy(i)+7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)-7)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)-7)^2);
v(i)=v(i)+sqrt(JX(cx(i)+7,cy(i)+7)^2+JY(cx(i)+7,cy(i)+7)^2);
end
v(1:57)=v(1:57);figure (4);plot (v,'-');grid on;
% *****
% *****
%subrutina para el proceso de reacción-difusión-convección
% *****
% *****
D=1e-7; %especificación del coeficiente de dispersión del sustrato (ver comentario 2)
nnodos=100; %especificación del número de nodos dentro de la célula
%especificación del número de células, de la concentración inicial de
%células y de la concentración inicial de glucosa dentro de las células
nc=57;c(1:nc,1:nnodos)=0.1;glent(1:nc)=1;glinic=1e-4;
%especificación de parametros cinéticos (ver comentario 3)
mumax=0.6/24/60;kmmu=0.145;qglmax=9e-8/60;km=0.12;
Xfo=50000000; % número inicial de células dentro de las cápsulas
deltat=.1;dr=1e-5; %especificación del paso de tiempo y espacio entre nodos
%inicialización de velocidades totales alrededor de las células
vtot1=0;vtot2=0;vtot3=0;vtot4=0;vtot5=0;vtot6=0;
Xfb(1:nc)=0; %inicialización del vector de número de células por cápsulas
%inicialización de matriz de glucosa consumida y glucosa a la salida de cada célula
glcons(1:nc)=0;glsal(1:nc)=0;
%cálculo de la velocidad total que llega a cada fila de cápsulas
for i=1:9;vtot1=vtot1+v(i);end;for i=10:19;vtot2=vtot2+v(i);end
for i=20:28;vtot3=vtot3+v(i);end;for i=29:38;vtot4=vtot4+v(i);end
for i=39:47;vtot5=vtot5+v(i);end;for i=48:57;vtot6=vtot6+v(i);end
%cálculo de la concentración de entrada a cada cápsula
for i=1:nc;gl(i,100)=glinic*v(i)/vtot1;end;
%inicio de cálculos iterativos en el tiempo
for t=1:500
    for n=1:nc
        for i=nnodos-1:-1:2
%cálculo de crecimiento de población y consumo de glucosa
mu=mumax*gl(n,i)/(gl(n,i)+kmmu);
Xfb(n)=Xfo*exp(mu*t*deltat);
qgl=qglmax*gl(n,i)/(gl(n,i)+km);
r=qgl*Xfb(n);
c(n,i)=c(n,i)+deltat*r;
%cálculo del término convectivo para la glucosa
conv2=-v(n)*(gl(n,i)-gl(n,i-1))/dr;
%cálculo de la dispersión de la glucosa
dispg=D*(gl(n,i+1)-2*gl(n,i)+gl(n,i-1))/dr^2;

```

```

%evolución espacio-temporal de la concentración de glucosa
gl(n,i)=gl(n,i)+deltat*(conv2+dispg-qgl)/100;
    if gl(n,i)<0
        gl(n,i)=glinic;
    else
        end
    end
    glcons(n)=qgl*deltat;%cálculo de la glucosa consumida
end
%cálculo de la glucosa a la salida de cada célula
glsal(1:nc)=glent-glcons(1:nc);
%condiciones de frontera: no difusión en el centro de la cápsula
c(1:nc,1)=c(1:nc,2);gl(1:nc,1)=gl(1:nc,2);
for i=1:57
    concel(XOBST((i-1)*137+(1:13)),YOBST((i-1)*137+(1:13)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(14:26)),YOBST((i-1)*137+(14:26)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(27:39)),YOBST((i-1)*137+(27:39)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(40:50)),YOBST((i-1)*137+(40:50)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(51:61)),YOBST((i-1)*137+(51:61)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(62:70)),YOBST((i-1)*137+(62:70)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(71:75)),YOBST((i-1)*137+(71:75)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(76:88)),YOBST((i-1)*137+(76:88)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(89:101)),YOBST((i-1)*137+(89:101)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(102:112)),YOBST((i-1)*137+(102:112)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(113:123)),YOBST((i-1)*137+(113:123)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(124:132)),YOBST((i-1)*137+(124:132)))=c(i,40)-concelinic;
    concel(XOBST((i-1)*137+(133:137)),YOBST((i-1)*137+(133:137)))=c(i,40)-concelinic;
end
%desplegado gráfico
contar =t/100;
if (contar-ceil(contar)==0)
    figure(5)
    plot (c,'-');hold on;
    figure (6)
    plot (Xfb,'-');hold on;
    title(['tiempo',num2str(t*deltat),'min'])
    figure (8)
    plot (gl,'-');hold on;
    figure (9)
    plot (glcons,'-');hold on;
else
    end
end

```

6.6.1 COMENTARIOS:

1.- La acción de la fuerza externa que sirve para darle dirección al fluido se implementa con base en el siguiente esquema:

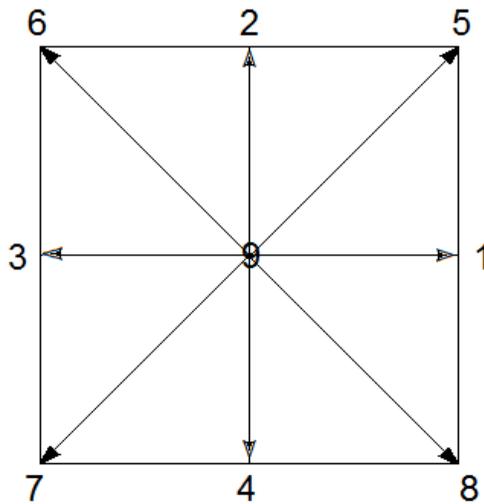


Figura 6.9 esquema del estencil unitario D2Q9 con direcciones de velocidad

Cuando el fluido se mueve de abajo hacia arriba en el conjunto de instrucciones:

%ACCIÓN DE FUERZA

```
FUERZA=FORCING/6; % Ver comentario anexo
FPROP(:,2:YMAX-1,1)=FPROP(:,2:YMAX-1,1)+FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,3)=FPROP(:,2:YMAX-1,3)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,5)=FPROP(:,2:YMAX-1,5)+FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,6)=FPROP(:,2:YMAX-1,6)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,7)=FPROP(:,2:YMAX-1,7)-FUERZA;
FPROP(:,2:YMAX-1,8)=FPROP(:,2:YMAX-1,8)+FUERZA;
```

El movimiento horizontal esta dado por 6 direcciones: 2, 5, 6, 4, 7 y 8

Por lo tanto a la fuerza impulsora se le divide entre 6, y al momento de sumarla a FPROP, a las direcciones 2,5 y 6 se les considera un signo positivo ya que van en la dirección del flujo, mientras que en las direcciones 4,7 y 8 se les considera signo negativo por ir en sentido opuesto.

Cuando el flujo es horizontal, como en el caso del programa lbmesfericasixchel4, las direcciones de flujo son: 1,5 y 8 positivas, y 3,6 y 7 negativas.

2.- Se introduce un coeficiente de dispersión en lugar de un coeficiente de difusión ya que se considera que las cápsulas son porosas. Este procedimiento es común en los libros de ingeniería de la cinética química.

3.- Se utiliza el modelo cinético-poblacional reportado en el libro de: Cornelia Kasper(Tissue Engineering, volume II).

6.6.2 RESULTADOS:

La siguiente secuencia de graficas muestra el perfil de velocidades que se obtiene dentro del reactor y una secuencia de close ups alrededor de algunas células junto con un diagrama de magnitudes de velocidad:

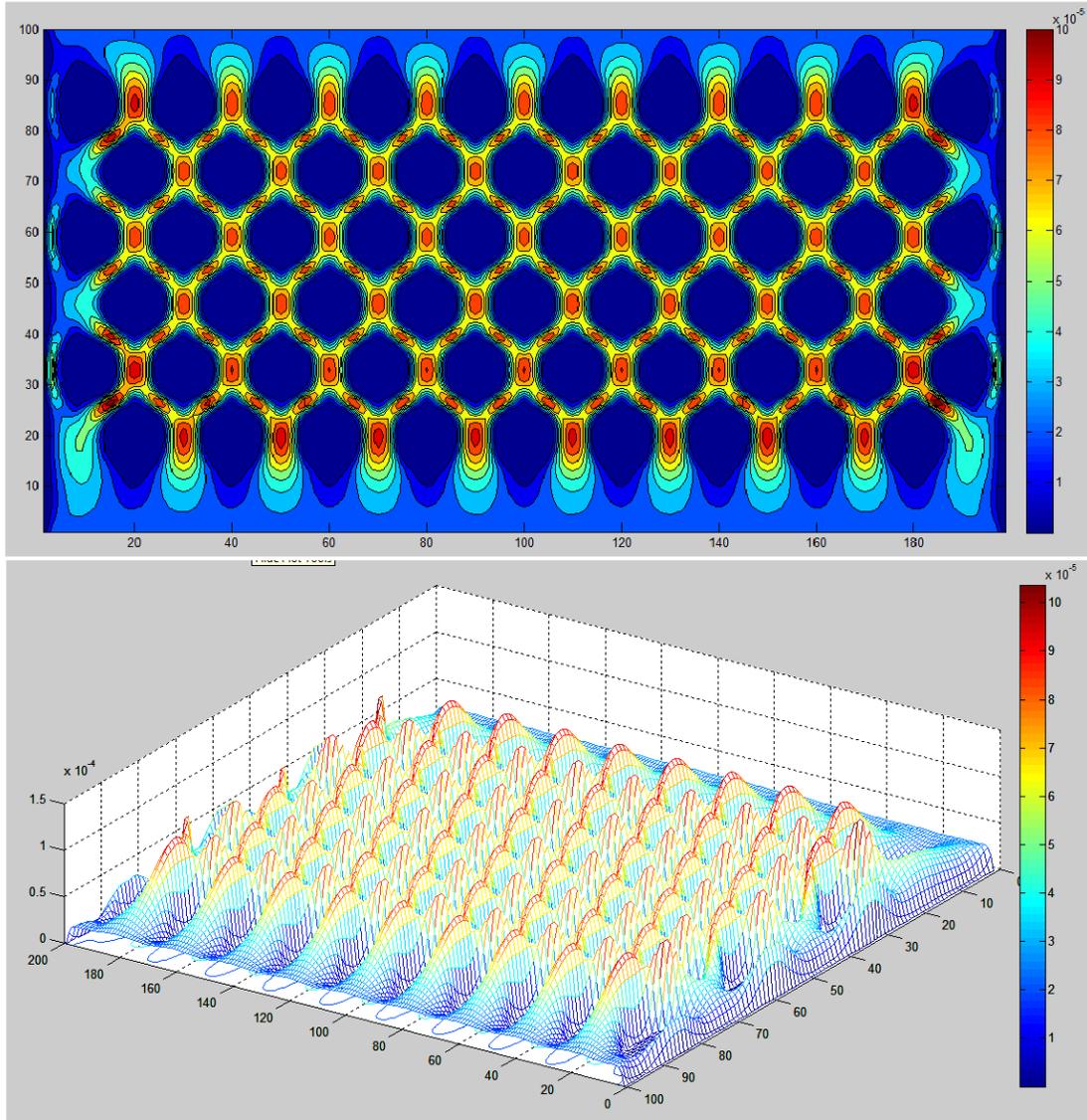


Figura 6.10 magnitud de la velocidad dentro del biorreactor. Gráfica superior corresponde a la representación en un diagrama bidimensional, mientras que la gráfica inferior es una representación tridimensional

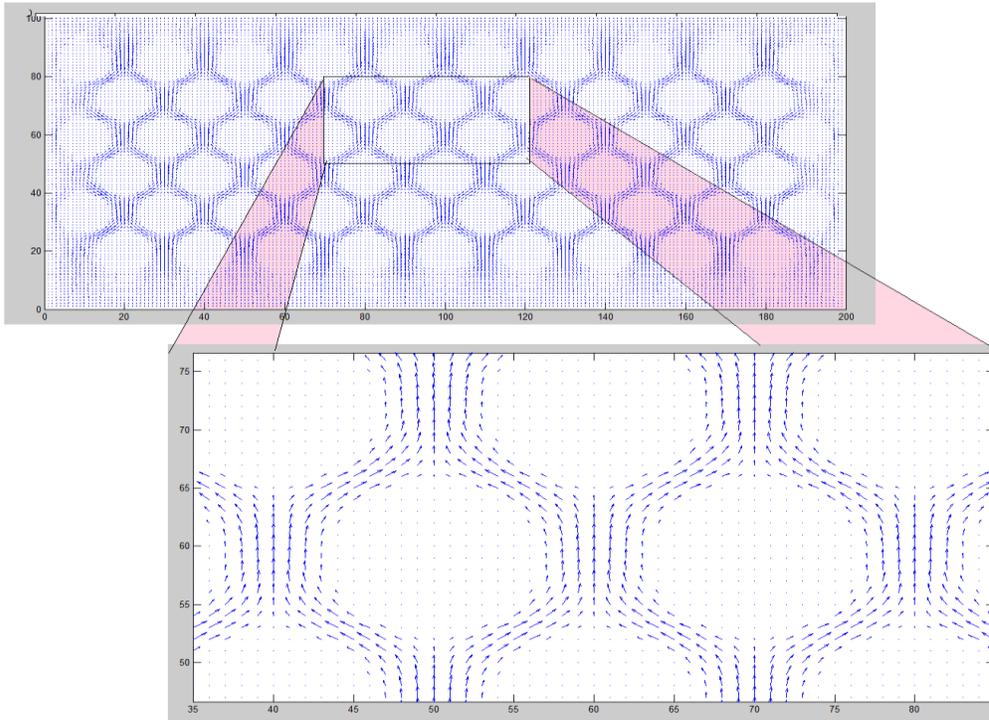


Figura 6.11 close up del campo de velocidades dentro del biorreactor

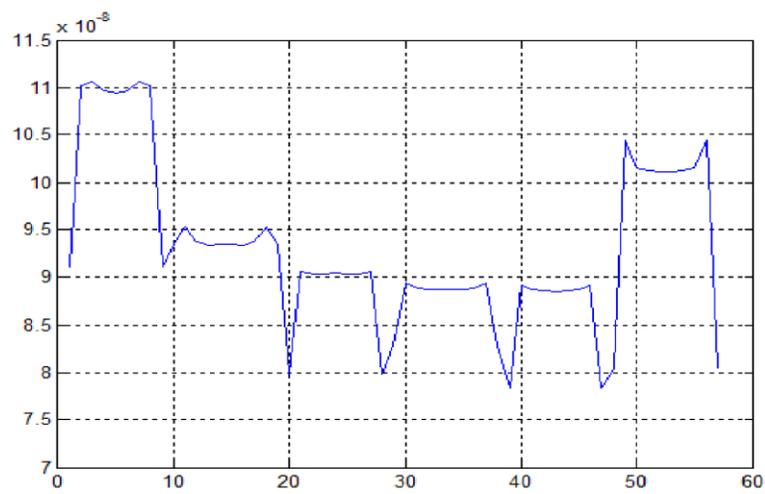


Figura 6.12 velocidad promedio alrededor de las cápsulas

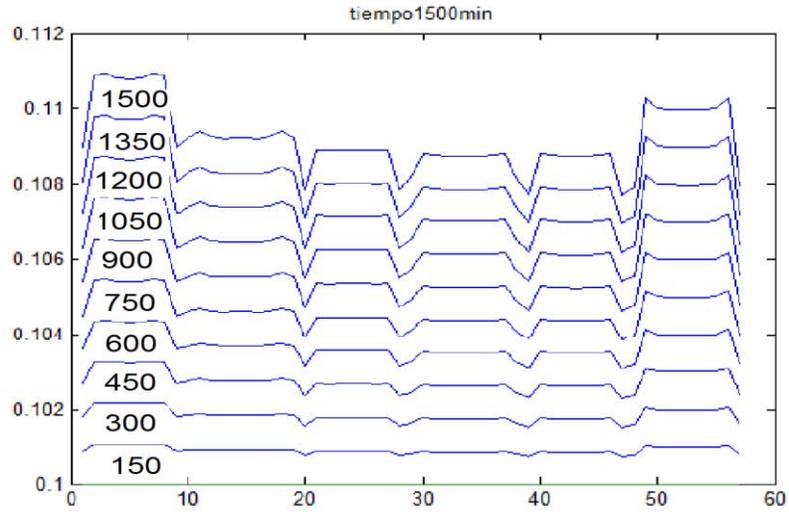


Figura 6.13 Evolución de la Concentración celular dentro del biorreactor

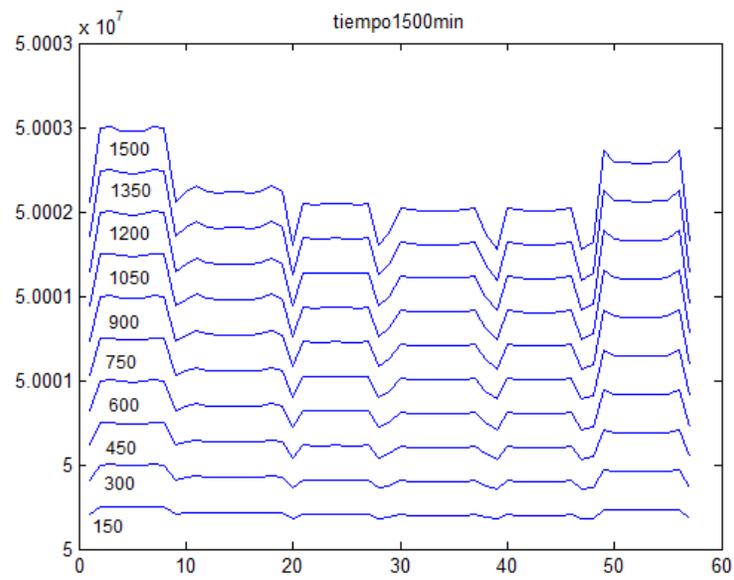


Figura 6.14 Evolución de la población de células dentro del biorreactor

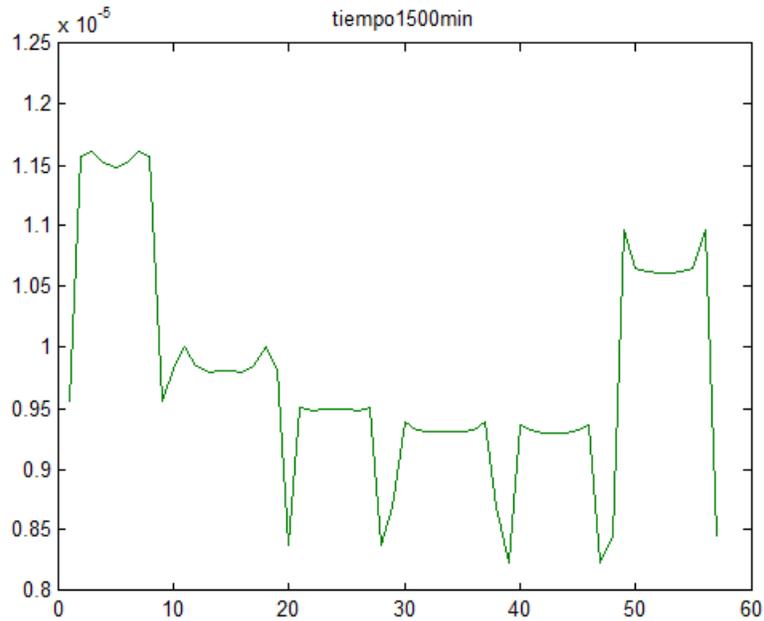


Figura 6.15 Concentración de glucosa dentro del biorreactor

6.6.3 CONCLUSIONES

Con este algoritmo de cómputo se puede simular el crecimiento de las células madre dentro de las cápsulas que son alimentadas con una corriente de nutriente en un reactor de lecho fijo. Puede observarse que la velocidad de velocidades es fundamental para evaluar la cantidad de nutrientes que llegan a cada cápsula, notándose que llegan más nutrientes a la primera y última fila, para las 57 cápsulas consideradas, lo cual da como resultado que crezcan con mayor rapidez las células en esas filas. Se observó también que las cápsulas se saturan rápidamente con nutriente llegando a un estado estacionario de concentración.

El cálculo de perfil de velocidades es muy difícil hacerlo con otra técnica diferente a las Retículas de Boltzmann. Comúnmente se lleva a cabo mediante métodos de elementos finitos en los paquetes de software comercial. También resolver la ecuación de reacción-difusión-convección es un problema desafiante, por lo que en este trabajo se ha utilizado el método numérico más adecuado

Para una simulación más completa se tiene que considera un mayor número de cápsulas, alrededor de unas 10000 dentro del biorreactor. Sin embargo esto requeriría de mayor potencia de cómputo o llevar a cabo la programación para procesamiento en paralelo.

Además se implemento una subrutina para colorear el interior de las cápsulas de acuerdo a la evolución de las células, coloreando nodo por nodo, el resultado se muestra en el conjunto de gráficas de la figura 6.16.

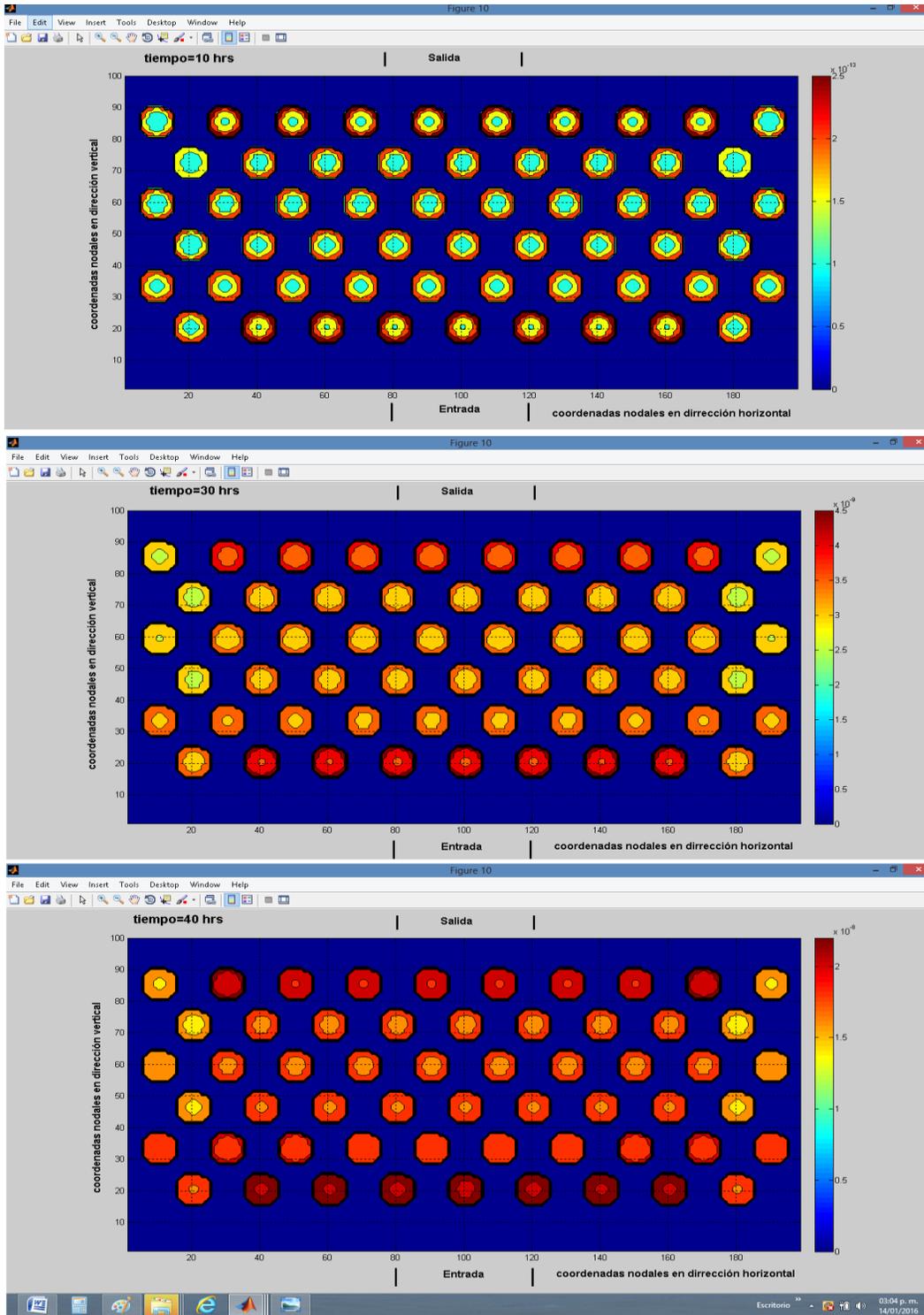


Figura 6.16 Desplegado gráfico de la evolución de la concentración de las células dentro de las cápsulas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]Weber, C. et al. *Production Process for Stem Cell Based Therapeutic Implants. Adv. Biochemical Engin/Biotechnol (2010) 123:143-162*

[2] Mimeault M, Hauke R, Batra SK (2007) *Stem cells: a revolution in therapeutics-recent advances in stem cell biology and their therapeutic application in regenerative medicine and cancer therapy. Clin pharmacol ther 821,252-264.*

[3]Simonsen JL et al (2002) *Telomerase expression extends the proliferative life-span and maintains the estereogenic potential of human bone marrow stromal cells. Nat biotechnology 20:592-596.*

[4] Heile AMBet al(2009) *Cerebral Q1 transplantation of encapsulated mesenchymal stem cells improves cellular pathology after experimental traumatic brain injury. Neurosci Lett.*

[5]Mohamad A.A. *Lattice Boltzmann Method Springer.2011.*

[6]Dawson SP, Chen S, Doolen GD. *Lattice Boltzmann computation for reaction- diffusion equations.] Chem Phys. 1993;98(2):1514-23.*

[7]Wolf - Gladrow D.A. *Lattice Boltzmann equation for diffusions. J Stat Phys. 1995; 79(5/6): 1023-32.*

[8] Chen S, Doolen G D, *Lattice Boltzmann method for fluid flows. Annv Rev. Fluid mech. 1998:30;329-64.*

7. REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO

7.1 ANTECEDENTES

Desde la década de los 80's, la biotecnología ambiental ha evolucionado gracias a los grandes avances en todas las áreas de la ciencia, pero principalmente en biología molecular, cinética microbiana, dinámica de fluidos, transporte en suelos, métodos numéricos e inteligencia artificial. Se han tenido múltiples éxitos en remediación de aguas industriales, fluviales y domésticas, así como de suelos contaminados con hidrocarburos.

Las tecnologías de limpieza y remediación modernas utilizan frecuentemente microorganismos como catalizadores en la remediación de todo tipo de ecosistema, y aunque el escalamiento de muchos de los sistemas de biorremediación aún se encuentran en evolución, investigadores de todas partes del mundo actualmente desarrollan proyectos respecto a la pertinencia y efectividad de diferentes tipos de microbios, determinando las condiciones ambientales apropiadas, tales como pH, cantidad de oxígeno y temperatura, por ejemplo.

En lo que corresponde a la remediación de fuentes naturales acuosas, la dinámica de fluidos es fundamental, teniéndose que considerar en algunos casos la presencia de rollos convectivos para una correcta evaluación, tanto para el proceso de contaminación como para la remediación. Mientras que para la remediación de suelos, es necesario tomar en cuenta el flujo de fluidos a través de lechos porosos, es decir, resolver la ecuación de Navier-Stokes en configuraciones geométricas complejas.

Como se ha ejemplificado en el caso del biorreactor de células inmovilizadas, el método de retículas de Boltzmann es una herramienta adecuada para cuantificar el campo de velocidades a través de geometrías complejas. Pero además, se puede utilizar un segundo autómatas en redes de Boltzmann para evaluar los procesos de reacción-difusión-convección que tienen lugar en el suelo, considerando el metabolismo de las entidades biológicas que se utilicen para destruir el contaminante del terreno.

Se podría tener la tentación de sobre-simplificar el problema considerando un suelo homogéneo, introduciendo un factor de porosidad, como se hace con el método de principios del siglo pasado para el diseño de reactores de membrana (Fogler^[1], Levenspiel^[2], etc), pero se tendría que evaluar empíricamente ese factor de porosidad, que en el caso de suelos no hay seguridad que sea adecuado. Lo más adecuado sería tener la topología del terreno, conociendo su composición química, animal, vegetal, microbiana y la granulometría de sus diferentes capas, pues todos esos factores del ecosistema afectarían a la dinámica poblacional de los agentes microbianos que se inyecten al terreno para su remediación. El conocimiento de dicha topología permitiría también caracterizar con precisión los procesos de difusión-adsorción-absorción que ocurrirían durante la etapa de la contaminación del suelo. Y quizá algún día no muy lejano sea factible.

En el 2011 Akpoveta O. Vincent, et al^[3], escribieron un artículo acerca de la remediación de suelos del delta del río Níger utilizando bacterias provenientes de abono de vaca, cerdos y aves, en el que reportan las condiciones óptimas de operación para favorecer el crecimiento de los microbios heterótrofos (pH, conductividad, materia orgánica, concentraciones de N,O,P, etc). Además reportan un coeficiente cinético para el crecimiento de las bacterias, el cual utilizaremos en nuestro modelo matemático.

7.2 FORMULACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO

Nosotros no utilizaremos un método tan arcaico como el del siglo XX, ni dedicaremos tiempo en esta ocasión para formular un modelo tan completo como el mencionado en el párrafo anterior; solamente, para ejemplificar la versatilidad de los autómatas celulares, formularemos un modelo con las siguientes características:

- Una distribución aleatoria de obstáculos en el suelo, simulando rocas no absorbentes que se encuentren enterradas en él. Si el modelo fuera más completo se podrían considerar rocas de diferente naturaleza química con diferentes grados de absorción del petróleo
- No se tomará en cuenta ni la flora ni la fauna subterránea; los microbios serán arrastrados por la corriente del flujo inyectado a través de los poros del terreno, comiéndose el petróleo que se encuentren en el camino, sin enfrentarse a otros microbios de los que tenga que cuidarse o competir por los recursos, ni raíces de vegetales en los que se pudieran absorber.
- Previo al proceso de remediación se implementará un modelo de contaminación por derrame de petróleo, tomando en cuenta una función exponencial decreciente con respecto a la distancia desde el origen de la fuente.
- Se recurrirá a un modelo cinético reportado en la literatura científica reciente para la acción de remediación de un microbio específico, para un suelo específico, contaminado con un petróleo específico.

Las ecuaciones diferenciales gobernantes para la descripción de los fenómenos que ocurren durante el proceso de remediación son:

- La ecuación de Navier –Stokes para la dinámica de la corriente de fluido que atraviesa los poros del suelo transportando consigo los microbios.
- La ecuación de reacción – difusión –convección que se ha estado trabajando en el diseño de reactores de flujo en pistón y biorreactores de células inmovilizadas.

La formulación en retículas de Boltzmann de estas ecuaciones diferenciales también se ha trabajado en capítulos anteriores.

Los microbios que se utilizan para la remediación son de naturaleza aerobia. Existen varios libros y artículos en la literatura científica en los que se reporta y modela la dinámica de la absorción de oxígeno en el suelo; sin embargo, nuestro modelo supone que hay suficiente cantidad de oxígeno disponible para los microbios; pero además el modelo cinético al que

tuvimos acceso no considera la concentración de este componente como factor de la cinética poblacional de los microbios.

Con base en estas suposiciones se implementó un algoritmo computacional para el proceso de remediación de suelo contaminado con petróleo, el cual se presenta a continuación con la explicación paso a paso.

7.3 ALGORITMO COMPUTACIONAL

function lbrremediacionxchel

clear all;close all;clc;

% Modelo D2Q9 de retículas de Boltzmann para remediación de suelos. Se

% utilizan 2 autómatas celulares, el primero de ellos para el cálculo del

% perfil de velocidades de la corriente de microbios que se inyecta al

% suelo; y el segundo para la resolución de la ecuación de

% reacción-difusión-convección con cinética poblacional de primer orden.

% Se considera una función exponencial decreciente para la distribución

% espacial inicial del petróleo contaminante

% c4 c3 c2 modelo D2Q9. En cada iteración, las pseudopartículas se

% \ | / propagan en las direcciones indicadas en la figura lateral.

% c5 -c9 - c1 La densidad numérica de pseudopartículas en cada

% / | \ nodo se relajan hacia al equilibrio, con una rapidez

% c6 c7 c8 proporcional al operador de colisión, omega.

omega=1.2; **%operador de colisión para el autómata hidrodinámico**

densidad=1.0;**%densidad inicial de partículas en cada nodo**

%factores de ponderación para las interacciones

w1=4/9;**%factor de ponderación para el nodo central**

w2=1/9;**%factor de ponderación para dirección hacia primeros vecinos**

w3=1/36;**%factor de ponderación para dirección de los segundos vecinos**

c2=1/3;**%cuadrado de la velocidad de las pseudopartículas en el estencil**

nx=61; ny=41;**%número de nodos en x e y en la red de Boltzmann**

F(1:nx,1:ny,1:9)=densidad/9;**%matriz función distribucn de velocidades**

Feq(1:nx,1:ny,1:9)=densidad/9;**%matriz función de distribución al equilibrio**

msize=nx*ny;**% cálculo del tamaño de la malla**

CI=(0:msize:msize*7);**% dimensionamiento matriz tridimensional CI**

%dimensionamiento matriz frontera, en esta matriz se guardan las

%coordenadas de los bordes y de los obstáculos

front=zeros(nx,ny);

%se especifican los valores de la matriz frontera se coloca uno cuando se

%trata de un obstáculo y cero si no hay obstáculo

front=rand(nx,ny)>0.75; **%asignación pseudoaleatoria de sitios obstáculo**

front(1:nx,1)=1;**%frontera inferior impermeable**

front(1:nx,ny)=1;**%frontera superior impermeable**

%La salida del tubo de inyección se encuentra en x=1 y entre y= (10,20)

front(1,1:10)=1;

front(1,20:ny)=1;

OB=find(front); **%construcción de matriz de sitios obstáculo**

% con las siguientes instrucciones se implementa condición de frontera de

```

% rebote en los sitios obstáculo.
% precol es la matriz de direcciones precolisionales
% postcol es la matriz de direcciones postcolisionales
precol=[OB+CI(1) OB+CI(2) OB+CI(3) OB+CI(4) ...
        OB+CI(5) OB+CI(6) OB+CI(7) OB+CI(8)];
postcol=[OB+CI(5) OB+CI(6) OB+CI(7) OB+CI(8) ...
         OB+CI(1) OB+CI(2) OB+CI(3) OB+CI(4)];
promv=1;promantv=1;%parámetros para detener las iteraciones si
% es que los cálculos ya convergieron
it=0;% contador de iteraciones
deltaU=1e-7;%incremento de velocidad para permitir evolución de cálculos
numact=sum(sum(1-front));%cálculo de número de nodos activos
%Inicio de cálculos iterativos del perfil de velocidad
while (it<100000 && 1e-10<abs((promantv-promv)/promv)) || it<100
    % Fluidización
    F(:,4)=F([2:nx 1],[ny 1:ny-1],4);F(:,3)=F(:,ny 1:ny-1),3);
    F(:,2)=F([nx 1:nx-1],[ny 1:ny-1],2);F(:,5)=F([2:nx 1],:,5);
    F(:,1)=F([nx 1:nx-1],:,1);F(:,6)=F([2:nx 1],[2:ny 1],6);
    F(:,7)=F(:,2:ny 1),7); F(:,8)=F([nx 1:nx-1],[2:ny 1],8);
    REBOTE=F(precol); %función de distribución a rebotar
    densidad=sum(F,3);%Cálculo de densidad de partículas
%Cálculo de los componentes de velocidad del fluido en cada nodo
    vx=(sum(F(:,[1 2 8]),3)-sum(F(:,[4 5 6]),3))./densidad;
    vy=(sum(F(:,[2 3 4]),3)-sum(F(:,[6 7 8]),3))./densidad;
%se incrementa la velocidad nodal x para permitir evolución de cálculos
    vx(1,1:ny)=vx(1,1:ny)+deltaU; %Incremento de velocidad en x
    vx(OB)=0;vy(OB)=0;%especificación de velocidad nula en los obstáculos
    densidad(OB)=0;%especificación de densidad de partículas nula en obst
    V2=vx.^2+vy.^2;%cálculo de magnitud de velocidad en cada nodo
    UC2=vx+vy; UC4=-vx+vy; UC6=-UC2; UC8=-UC4;
% Distribución al equilibrio
% nodo central
    Feq(:,9)=w1*densidad.*(1-V2/(2*c2));
% primeros vecinos
    Feq(:,1)=w2*densidad.*(1+vx/c2+0.5*(vx/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,3)=w2*densidad.*(1+vy/c2+0.5*(vy/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,5)=w2*densidad.*(1-vx/c2+0.5*(vx/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,7)=w2*densidad.*(1-vy/c2+0.5*(vy/c2).^2-V2/(2*c2));
% segundos vecinos
    Feq(:,2)=w3*densidad.*(1+UC2/c2+0.5*(UC2/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,4)=w3*densidad.*(1+UC4/c2+0.5*(UC4/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,6)=w3*densidad.*(1+UC6/c2+0.5*(UC6/c2).^2-V2/(2*c2));
    Feq(:,8)=w3*densidad.*(1+UC8/c2+0.5*(UC8/c2).^2-V2/(2*c2));
%ecuación de evolución del autómata en redes de Boltzmann
    F=omega*Feq+(1-omega)*F;%Actualización de la función de distribución
    F(postcol)=REBOTE;%cálculo de la función de distribución postcolisional
    promantv=promv;promv=sum(sum(vx))/numact;
    it=it+1;%incremento del contador de iteraciones

```

```

end
%desplegado gráfico
figure;colormap(cool(2));image(2-front');hold on;
quiver(2:nx,1:ny,vx(2:nx,:),vy(2:nx,:));
title(['Campo de velocidades después de ',num2str(it),' iteraciones']);
xlabel('x');ylabel('y');
% *****
% **** autómata para reacción-difusión-convección*****
% *****
C(1:nx,1:ny)=0; %dimensionamiento de la matriz concentración del petróleo
C1(1:nx,1:ny)=0;%dimensionamiento de matriz de concentración de microbios
C2(1:nx,1:ny)=0;%dimensionamiento de matriz de concentración de productos
%Distribución inicial del petróleo en el suelo
for i=1:nx
    for j=1:ny
        if front(i,j)==1
            C(i,j)=0;C1(i,j)=0;%concentración cero en obstáculos
        else
            %distribución exponencial decreciente
            C(i,j)=exp(-.001*((40-i)^2+(ny-j)^2));C1(i,j)=0;
        end
    end
end
end
figure(2);meshc(C);%gráfica distribución inicial del contaminante
% dimensionamiento de matrices de funciones de distribución de concentración
% G para concentración de petróleo, G1 de microbios y G2 de productos
G(1:nx,1:ny,1:9)=0;G1(1:nx,1:ny,1:9)=0;G2(1:nx,1:ny,1:9)=0;
%dimensionamiento de funciones de distribución al equilibrio
GEQ(1:nx,1:ny,1:9)=0;G1EQ(1:nx,1:ny,1:9)=0;G2EQ(1:nx,1:ny,1:9)=0;
K=0.035;%coeficiente cinético para crecimiento bacteriano de primer orden
dt=.01;%incremento de tiempo para cálculos de proceso de reac-dif-conv
omega=.01;%operador de colisión para reac-dif-conv
C1(2,10:20)=1;% concentración de microbios a la salida del tubo de inyeccn
for t=1:50
    R(:,:)=K.*C(:,:);%cinética de la dinámica poblacional
    %fluidización del autómata para partículas de petróleo
    G(:,:,4)=G([2:nx 1],[ny 1:ny-1],4);G(:,:,3)=G(:,,[ny 1:ny-1],3);
    G(:,:,2)=G([nx 1:nx-1],[ny 1:ny-1],2);G(:,:,5)=G([2:nx 1],:,5);
    G(:,:,1)=G([nx 1:nx-1],:,1);G(:,:,6)=G([2:nx 1],[2:ny 1],6);
    G(:,:,7)=G(:,[2:ny 1],7); G(:,:,8)=G([nx 1:nx-1],[2:ny 1],8);
    REBOTE=G(precol); %función de distribución G hacia operador de rebote
    densidadG=sum(G,3);%cálculo de la densidad de partículas de petróleo
    %actualización de la concentración de partículas de petróleo
    C(:,:)=C(:,:)-densidadG;%actualización para sitios no obstáculo
    C(OB)=0;densidadG(OB)=0;%actualización para sitios obstáculo
    % función de distribución al equilibrio para pseudopartículas de
    % petróleo
    %nodo central

```

```

GEQ(:, :, 9) = w1 * densidadG .* (1 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
% primeros vecinos
GEQ(:, :, 1) = w2 * densidadG .* (1 + vx / c2 + 0.5 * (vx / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 3) = w2 * densidadG .* (1 + vy / c2 + 0.5 * (vy / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 5) = w2 * densidadG .* (1 - vx / c2 + 0.5 * (vx / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 7) = w2 * densidadG .* (1 - vy / c2 + 0.5 * (vy / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
% segundos vecinos
GEQ(:, :, 2) = w3 * densidadG .* (1 + UC2 / c2 + 0.5 * (UC2 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 4) = w3 * densidadG .* (1 + UC4 / c2 + 0.5 * (UC4 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 6) = w3 * densidadG .* (1 + UC6 / c2 + 0.5 * (UC6 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
GEQ(:, :, 8) = w3 * densidadG .* (1 + UC8 / c2 + 0.5 * (UC8 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) - dt * R(:, :, 9);
G = omega * GEQ + (1 - omega) * G; % actualización de la función de distribución G
% se aplica operador de rebote ya que fronteras solidas son no difusivas
G(postcol) = REBOTE;
% fluidización del automata para particulas de microbios
G1(:, :, 4) = G1([2:nx 1], [ny 1:ny-1], 4); G1(:, :, 3) = G1(:, [ny 1:ny-1], 3);
G1(:, :, 2) = G1([nx 1:nx-1], [ny 1:ny-1], 2); G1(:, :, 5) = G1([2:nx 1], :, 5);
G1(:, :, 1) = G1([nx 1:nx-1], :, 1); G1(:, :, 6) = G1([2:nx 1], [2:ny 1], 6);
G1(:, :, 7) = G1(:, [2:ny 1], 7); G1(:, :, 8) = G1([nx 1:nx-1], [2:ny 1], 8);
REBOTE = G1(precol); % función de distribución G1 hacia operador de rebote
densidadG1 = sum(G1, 3); % cálculo de la densidad de particulas de microbios
% actualización de la concentración de particulas de microbios
C1(:, :) = C1(:, :) + densidadG1; % actualización para sitios no obstáculo
C1(OB) = 0; densidadG1(OB) = 0; % actualización para sitios obstáculo
% función de distribución al equilibrio para pseudoparticulas de
% microbios
% nodo central
G1EQ(:, :, 9) = w1 * densidadG1 .* (1 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
% primeros vecinos
G1EQ(:, :, 1) = w2 * densidadG1 .* (1 + vx / c2 + 0.5 * (vx / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 3) = w2 * densidadG1 .* (1 + vy / c2 + 0.5 * (vy / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 5) = w2 * densidadG1 .* (1 - vx / c2 + 0.5 * (vx / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 7) = w2 * densidadG1 .* (1 - vy / c2 + 0.5 * (vy / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
% segundos vecinos
G1EQ(:, :, 2) = w3 * densidadG1 .* (1 + UC2 / c2 + 0.5 * (UC2 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 4) = w3 * densidadG1 .* (1 + UC4 / c2 + 0.5 * (UC4 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 6) = w3 * densidadG1 .* (1 + UC6 / c2 + 0.5 * (UC6 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1EQ(:, :, 8) = w3 * densidadG1 .* (1 + UC8 / c2 + 0.5 * (UC8 / c2) .^ 2 - V2 / (2 * c2)) + dt * R(:, :, 9);
G1 = omega * G1EQ + (1 - omega) * G1; % actualización de función de distribución G1
% se aplica operador de rebote ya que fronteras solidas son no difusivas
G1(postcol) = REBOTE;
% fluidización del autómata para partículas de productos
G2(:, :, 4) = G2([2:nx 1], [ny 1:ny-1], 4); G2(:, :, 3) = G2(:, [ny 1:ny-1], 3);
G2(:, :, 2) = G2([nx 1:nx-1], [ny 1:ny-1], 2); G2(:, :, 5) = G2([2:nx 1], :, 5);
G2(:, :, 1) = G2([nx 1:nx-1], :, 1); G2(:, :, 6) = G2([2:nx 1], [2:ny 1], 6);
G2(:, :, 7) = G2(:, [2:ny 1], 7); G2(:, :, 8) = G2([nx 1:nx-1], [2:ny 1], 8);
REBOTE = G2(precol); % función de distribución G2 hacia operador de rebote
densidadG2 = sum(G2, 3); % calculo de la densidad de particulas de productos

```

```

%actualización de la concentración de partículas de productos
C2(:,:)=C2(:,:)+densidadG2;%actualización para sitios no obstáculo
C2(OB)=0;densidadG2(OB)=0;%actualización para sitios obstáculo
% función de distribución al equilibrio para pseudopartículas de
% microbios
%nodo central
G2EQ(:,:,9)=w1*densidadG2.*(1-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
% primeros vecinos
G2EQ(:,:,1)=w2*densidadG2.*(1+vx/c2+0.5*(vx/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,3)=w2*densidadG2.*(1+vy/c2+0.5*(vy/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,5)=w2*densidadG2.*(1-vx/c2+0.5*(vx/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,7)=w2*densidadG2.*(1-vy/c2+0.5*(vy/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
% segundos vecinos
G2EQ(:,:,2)=w3*densidadG2.*(1+UC2/c2+0.5*(UC2/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,4)=w3*densidadG2.*(1+UC4/c2+0.5*(UC4/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,6)=w3*densidadG2.*(1+UC6/c2+0.5*(UC6/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2EQ(:,:,8)=w3*densidadG2.*(1+UC8/c2+0.5*(UC8/c2).^2-V2/(2*c2))+dt*R(:,:)/9;
G2=omega*G2EQ+(1-omega)*G2;%actualización de función de distribución G2
%se aplica operador de rebote ya que fronteras solidas son no difusivas
G2(postcol)=REBOTE;
%condición de frontera invariable
C1(2,10:20)=1;
%desplegado gráfico
figure(3)
meshc(C);colorbar;
figure(4)
meshc(C1);colorbar;
figure(5)
meshc(C2);colorbar;
end

```

7.4 RESULTADOS

La siguiente figura muestra la ejecución del algoritmo computacional lbmremediacionxchel:

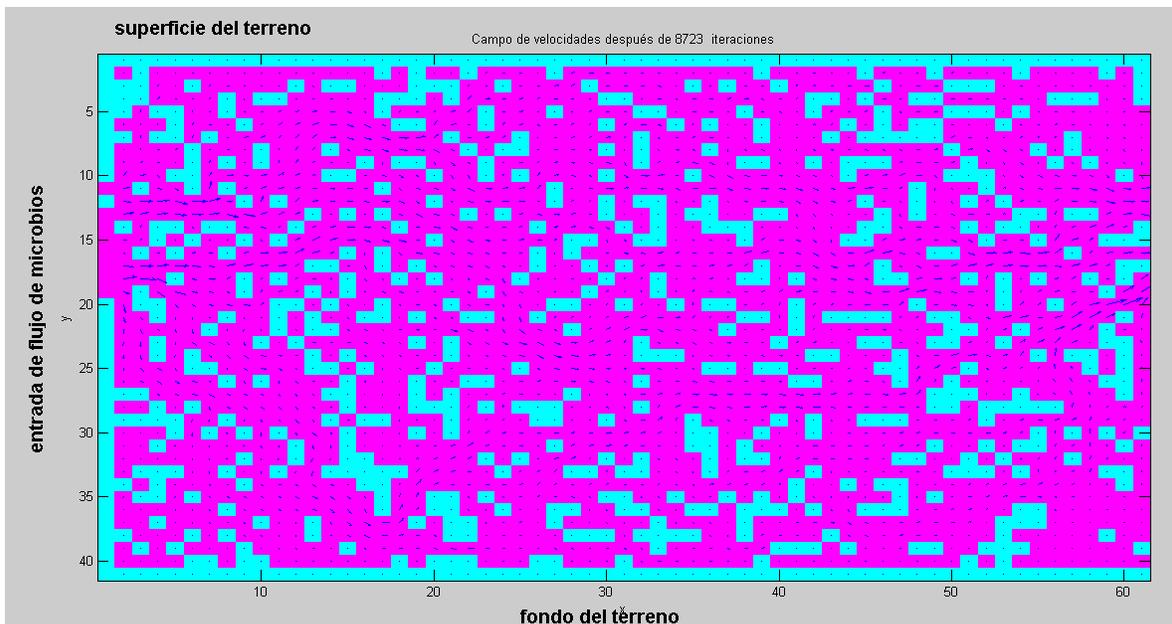


Figura 7.1 Campo de velocidades de la corriente de microbios inyectada para la remediación del suelo.

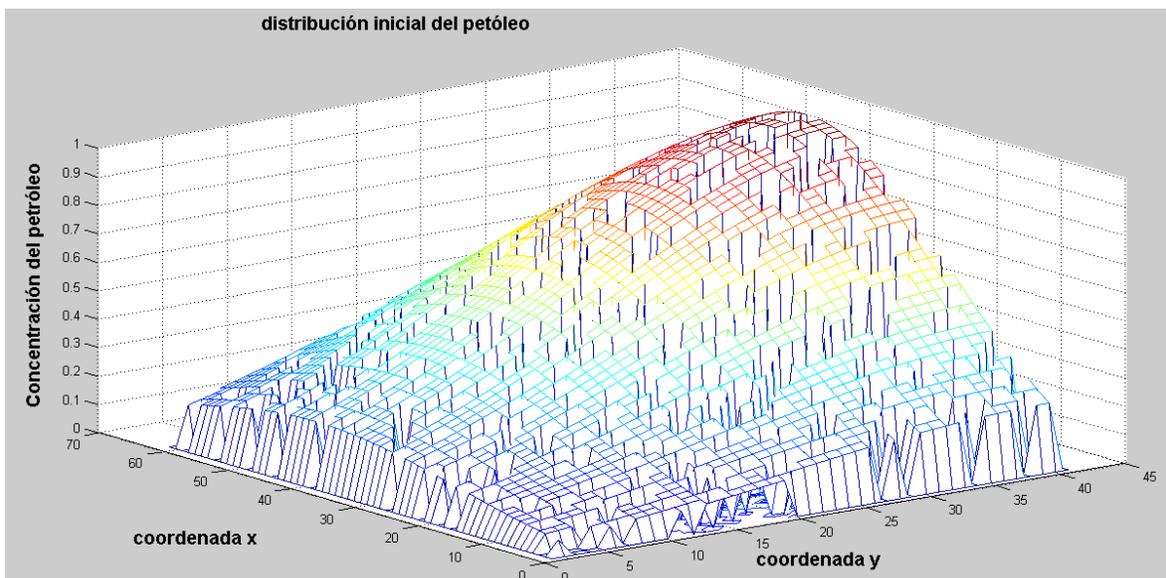


Figura 7.2 Concentración inicial de petróleo en el suelo contaminado. El máximo corresponde al punto de derrame.

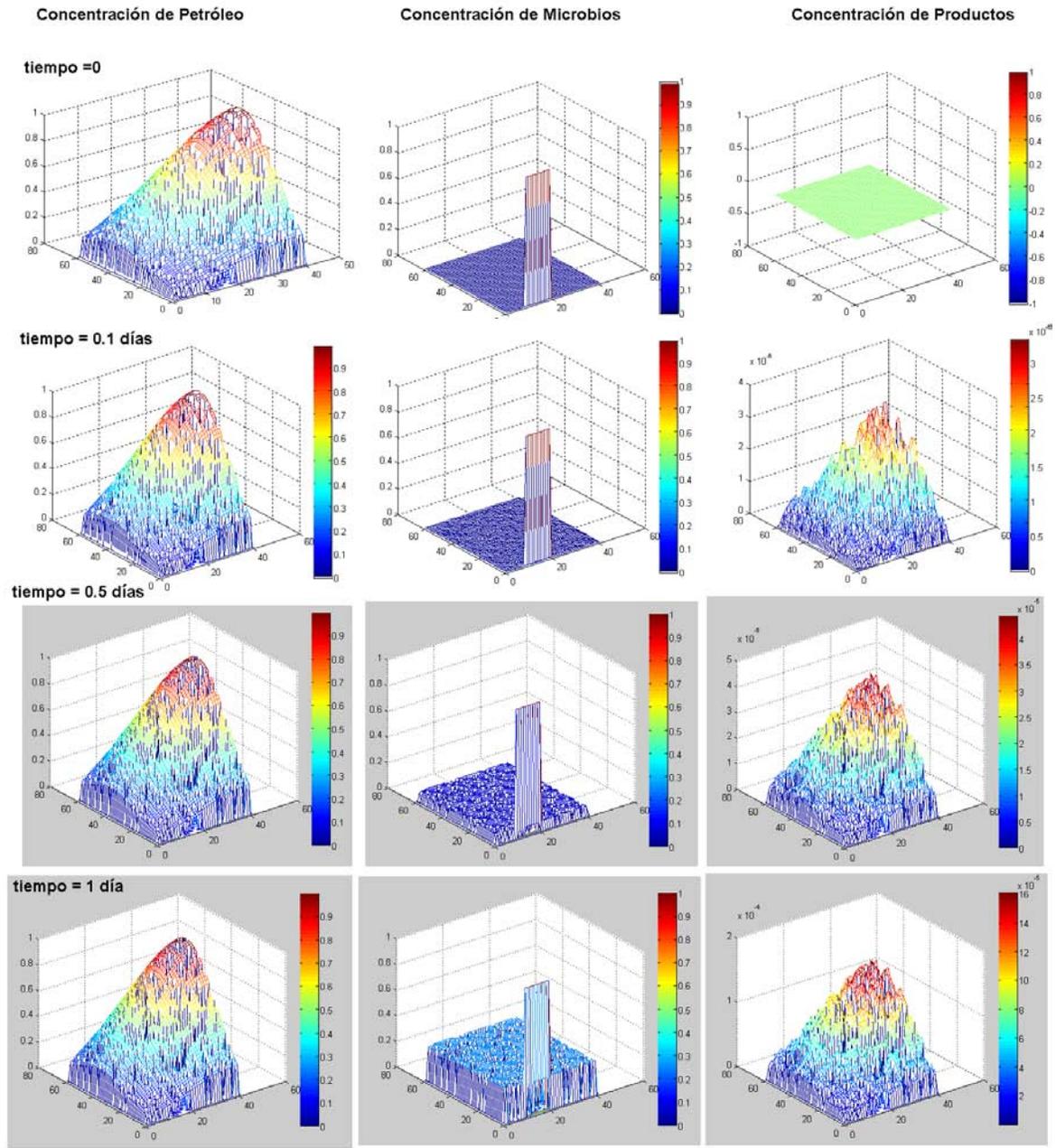


Figura 7.3 Evolución espacio-temporal de las concentraciones de las diferentes especies durante el proceso de remediación de suelo.

Puede observarse que debido a que la concentración inicial de petróleo es muy alta y el coeficiente cinético tiene un valor pequeño, la concentración de microbios que se inyecta entre los nodos 10 y 20 de la coordenada y, va creciendo, pero principalmente debido a los efectos convectivos, no tanto por el efecto del crecimiento poblacional gracias a su alimentación con petróleo. Debido también a que el coeficiente cinético es pequeño, crece muy poco la concentración de productos.

7.5 CONCLUSIONES

El algoritmo computacional presentado aquí para la simulación de procesos de remediación de suelos está basado en fundamentos físicos muy firmes, por lo que se espera que describa con precisión los fenómenos incorporados en el modelo matemático, que como ya se menciono es la dinámica de fluidos en medios porosos y los procesos de difusión-convección con una cinética poblacional para las entidades biológicas. Ya se ha comentado en la introducción de este capítulo algunas otras modificaciones que se pueden hacer al modelo matemático pero requiere de un análisis más profundo del ecosistema

El usuario que desee hacer uso de este programa podrá cambiar los parámetros fácilmente, incluso cambiar la cinética introduciendo un modelo más adecuado para la dinámica poblacional; también la incorporación del oxígeno absorbido por el suelo puede llevarse a cabo de una manera relativamente sencilla.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[1] Fogler, H (2008) ELEMENTOS DE INGENIERÍA DE LAS REACCIONES QUIMICAS. México. Pearson, Prentice Hall.

[2] Levenspiel, O (2002) INGENIERÍA DE LA CINÉTICA QUIMICA. Wiley.

[3] Akpoveta O, Vincent, et al. (2011). MICROBIAL DEGRADATION AND ITS KINETICS ON CRUDE OIL POLLUTED SOIL. Research Journal of Chemical Sciences. Vol. 1(6), 8-14, Sept (2011).

