

Bioprocesos IV

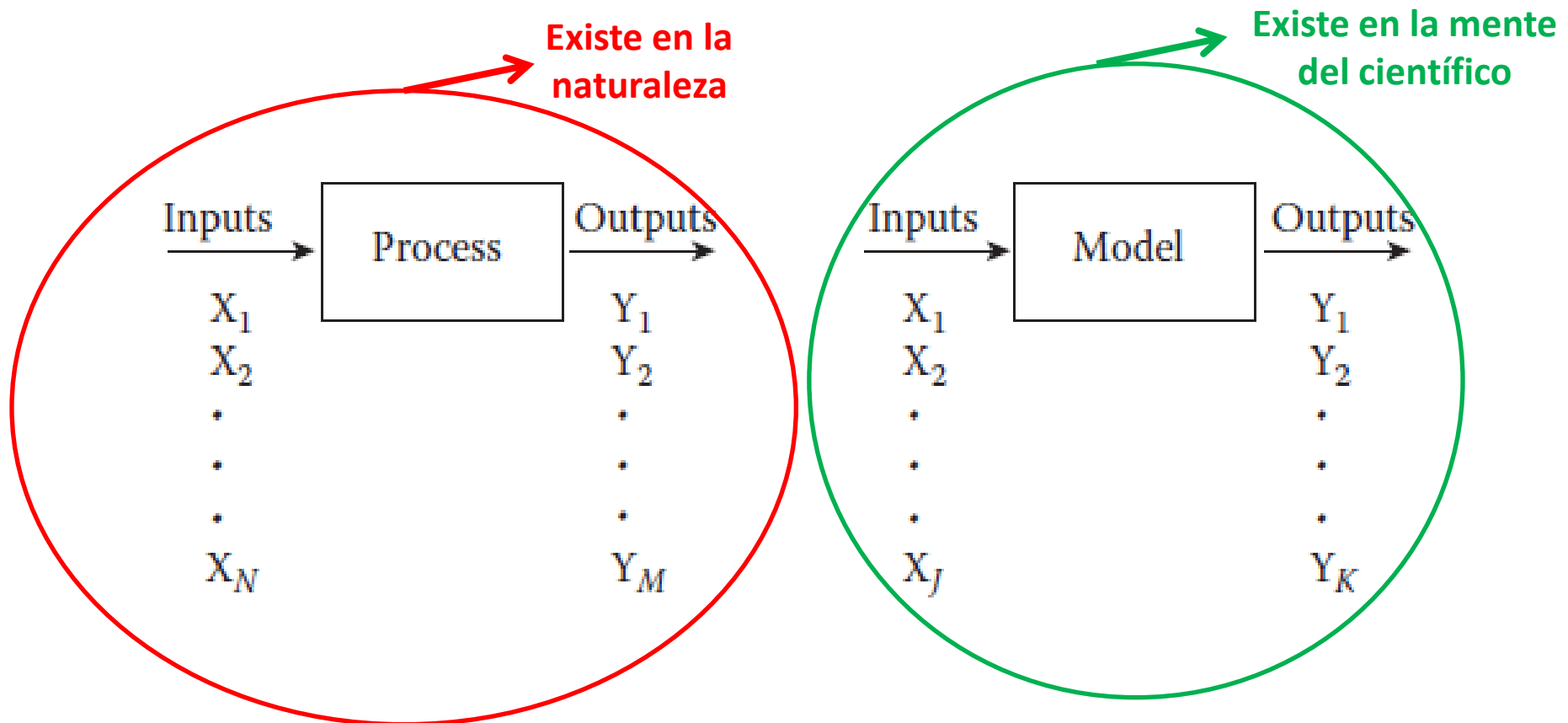
Profesor: Dr. Roberto Vega Paulino

Clase 1: introducción a la modelación
matemática en Bioprocesos

Modelo Matemático

Es una representación **aproximada** de un proceso en términos matemáticos.

Comparación de entradas y salidas para un proceso y su modelo



Los cuatro principios básicos de la modelación matemática

1. El modelo matemático solo es una aproximación del proceso de la vida real. Los modelos no son ni buenos ni malos pero deben satisfacer un objetivo definido previamente.
2. La modelación es un proceso de desarrollo continuo, del más simple a más complejo.
3. La modelación es un arte pero también un proceso de aprendizaje muy importante.
4. Los modelos deben ser realistas y robustos.

¿Por qué modelar?

- ❑ Mejora el entendimiento
- ❑ Ayuda en el diseño experimental
- ❑ Se usan predictivamente para el diseño y control.
- ❑ Se usan en el entrenamiento y educación
- ❑ Se usan en la optimización de procesos

Clasificación de Modelos

1. Modelos determinísticos y estocásticos

$$\eta = f(\theta, \xi_v)$$

Modelo Determinístico: todos los parámetros tienen valores definidos.

$$y_u = f(\theta, \xi_u) + \varepsilon_u$$

Modelo Estocástico: representan fluctuaciones ambientales aleatorias en los parámetros del modelo.

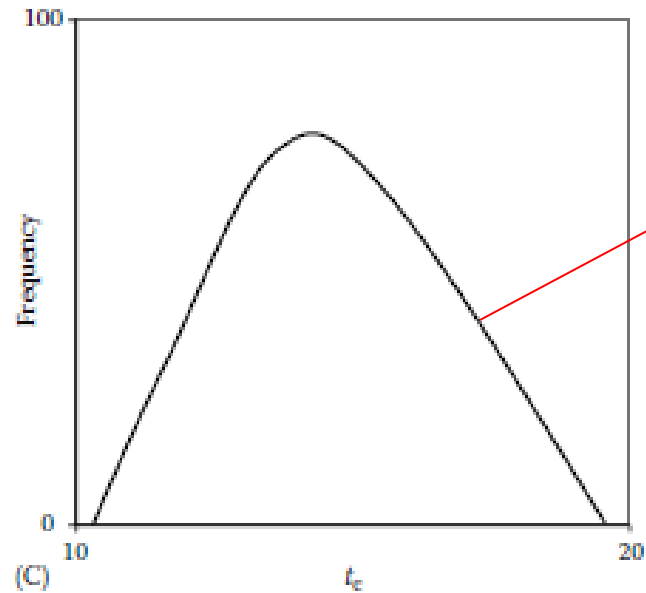
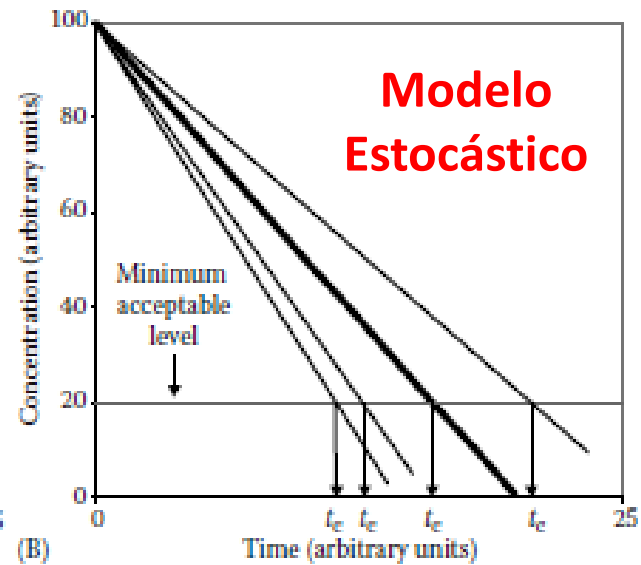
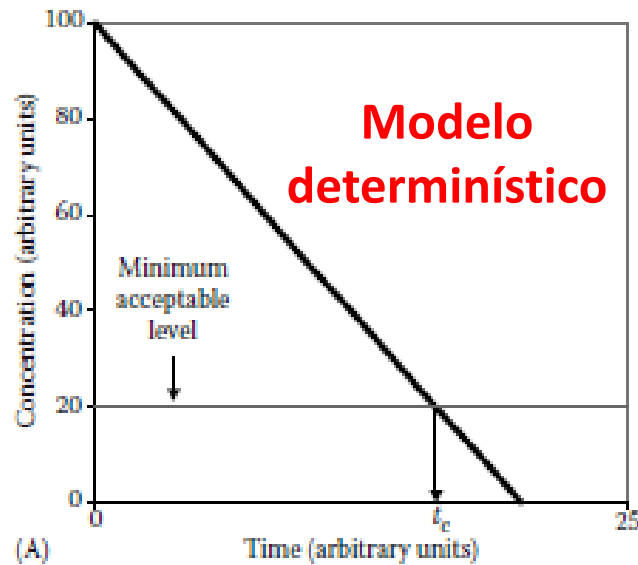


Error experimental aditivo (variable aleatoria)

Función de probabilidad

Ventaja: pueden predecir la ocurrencia de eventos de baja frecuencia que pueden ser críticos.

Desventaja: La distribución de los parámetros no es usualmente conocida con un razonable grado de cuidado que el valor medio.



Distribución de frecuencia para el t_c

Clasificación de Modelos

2. Modelos de estado estacionario y dinámicos

Dependen si las condiciones están cambiando con el tiempo

- ❑ Modelos de estado estacionario son simples y resultan un conjunto de ecuaciones algebraicas.
- ❑ Modelos dinámicos son con frecuencia muy complejos y son compuestos por ecuaciones diferenciales y algebraicas.

Clasificación de Modelos

3. Modelos empíricos y fenomenológicos

3.1 Modelos Empíricos (tipo Black-Box).

No se basan en las leyes físicas. El proceso es considerado una caja negra.

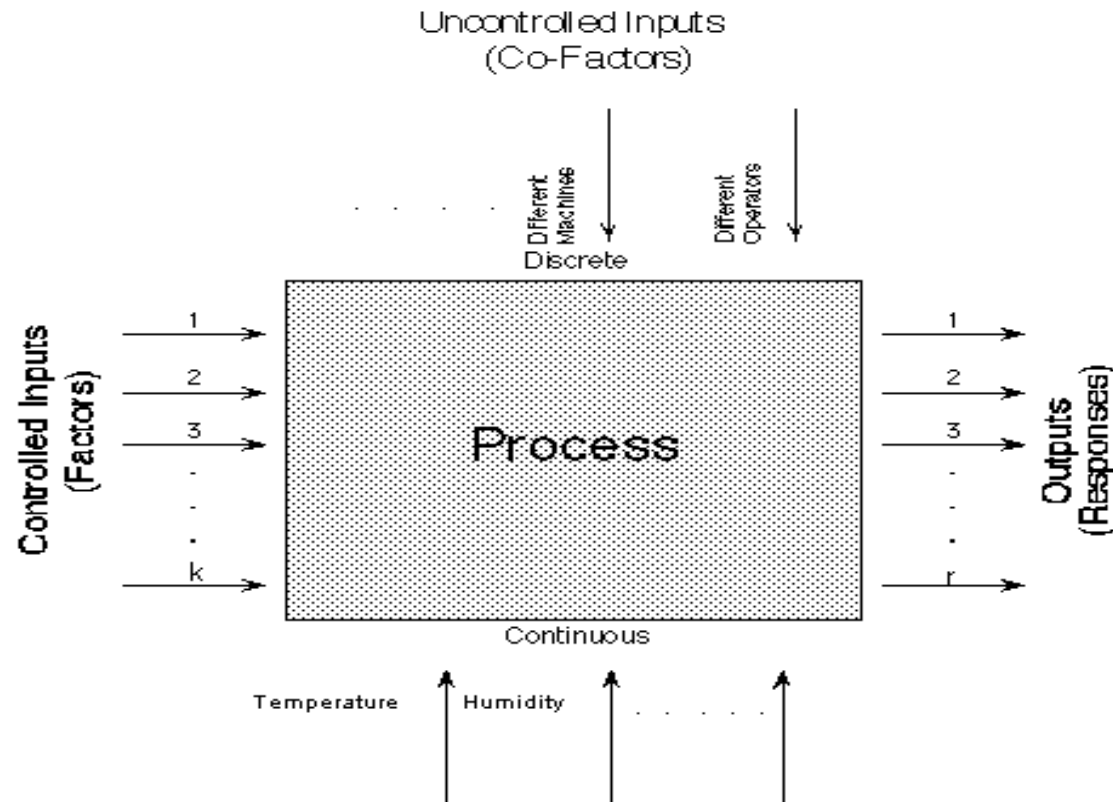
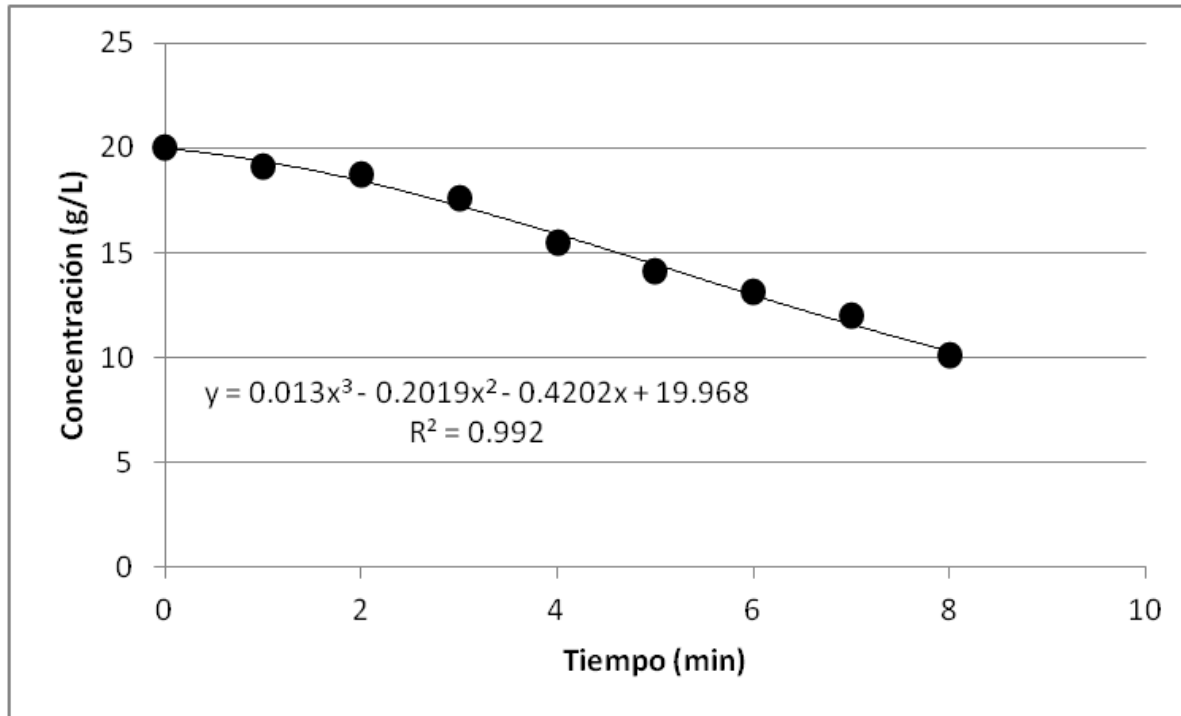


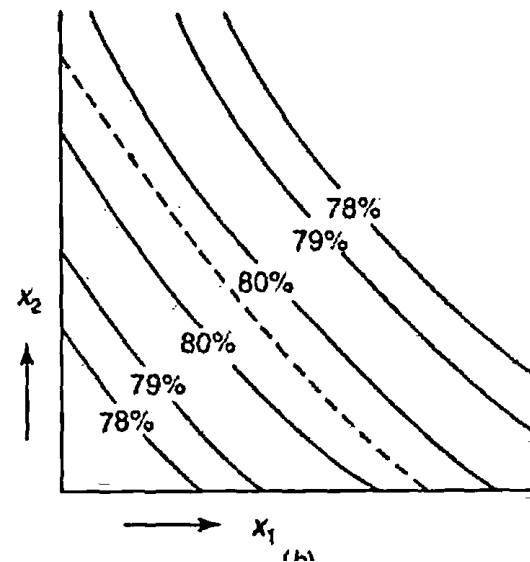
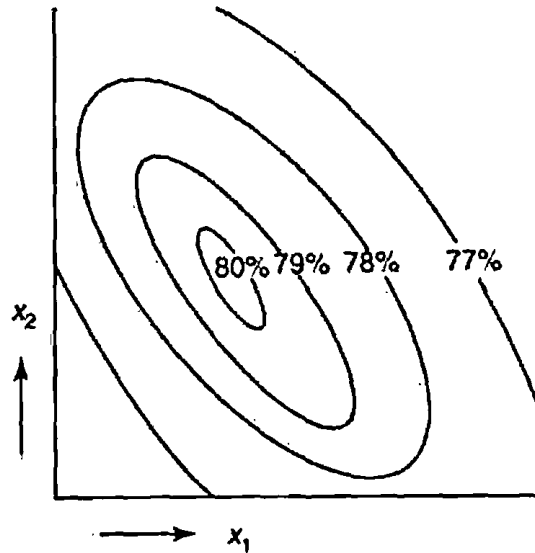
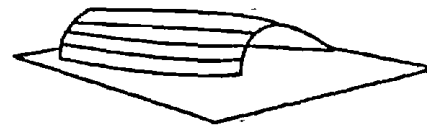
FIGURE 1.1 A 'Black Box' Process Model Schematic

Modelos Empíricos (tipo Black-Box)



Modelos Empíricos (tipo Black-Box)

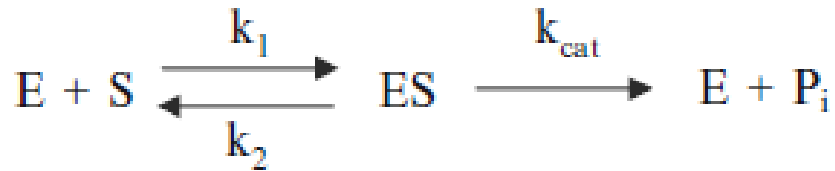
$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2$$



- ❑ Los parámetros no tienen significado físico
- ❑ Hay que tener cuidado de extrapolar los resultados fuera de la región de experimentación

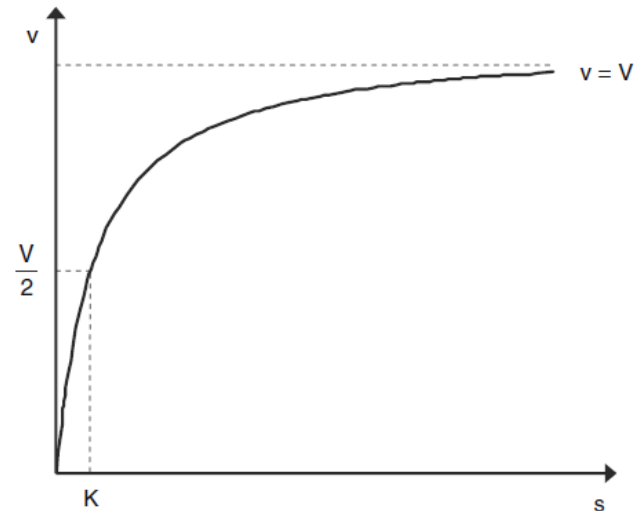
3.2 Modelos mecanísticos (fenomenológicos).

Se basan en las leyes físicas y químicas. Aplicación de balances de materia y energía.



$$v = \frac{V \cdot s}{K + s}$$

Los parámetros en el modelo tienen significado físico



Modelos empíricos y mecanísticos, representan extremos. La situación es algo intermedia

4. Modelos lineales y no lineales

Un modelo es lineal cuando la derivada parcial de la función del modelo con respecto a **todos** los parámetros es independiente del parámetro

$$y = a + bx$$

is indeed linear because

$$\frac{\partial y}{\partial a} = 1$$

and

$$\frac{\partial y}{\partial b} = x$$

However, a model such as

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3$$

Es un modelo lineal

Velocidad de reacción de primer orden para la hidrólisis de vitamina C

$$c = c_0 \exp(-kt)$$

$$\frac{\partial c}{\partial k} = -c_0 t \exp(-kt)$$

La Ec. de Monod

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S}$$

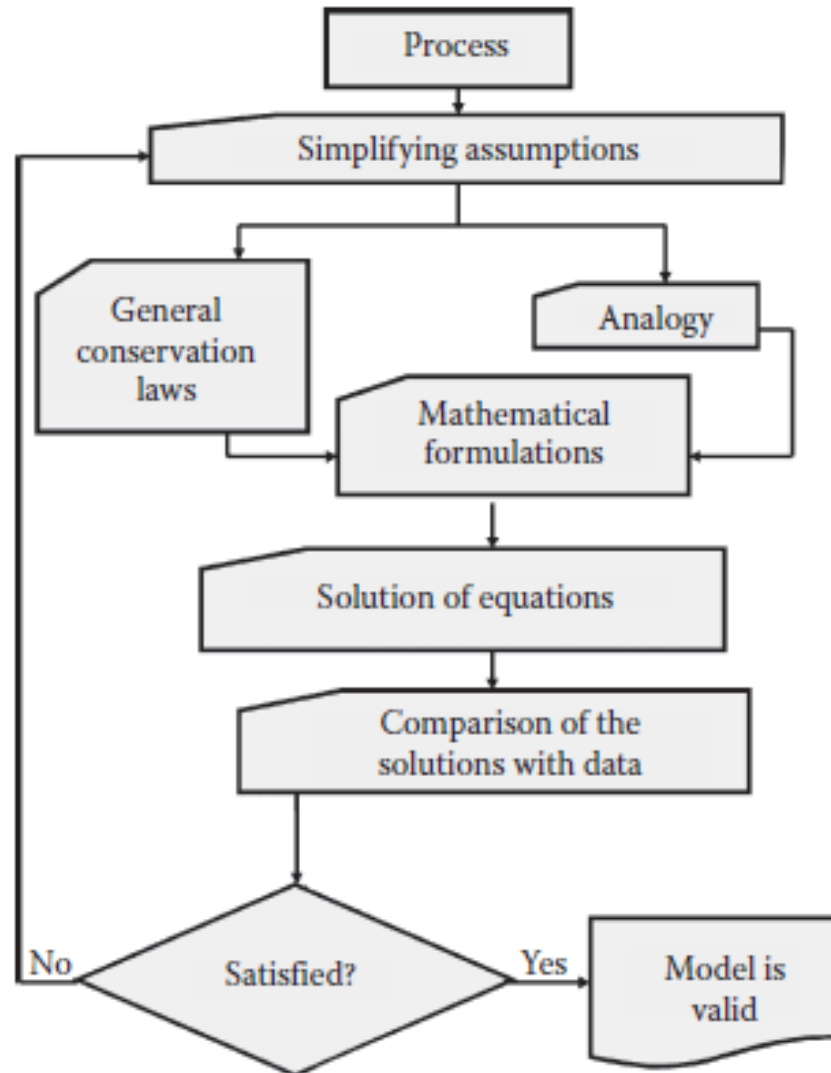
$$\frac{\partial \mu}{\partial \mu_{\max}}$$

?

$$\frac{\partial \mu}{\partial K_s}$$

?

Procedimiento General de modelación



¿Qué es Simulación?

Simulation is the process of analyzing a whole process or a part of it, using the set of equations describing it.

Simulation studies thus involve several parameters and studying the effects of these variables on the solution (i.e. response of the process).

Simulation is experimentation with the models

Herramientas de Simulación

- ❑ Muchos paquetes de software son disponibles en el mercado para aplicaciones de PC y Mac. Las herramientas modernas son numéricamente potentes, altamente interactivos y permiten tipos sofisticados de salidas gráficas y salidas numéricas.
- ❑ MATLAB y MATHEMATICA son los paquetes de software más orientados matemáticamente, permitiendo operaciones de matrices y vectores, integraciones numéricas y optimización.
- ❑ MATHEMATICA permite integración algebraica y diferenciación y precisión del cálculo definida por el usuario.
- ❑ Athena Visual Studio es un potente software para la ingeniería de procesos.

Resumen de terminología utilizada con los modelos matemáticos

Term	Description
Mechanistic model	Mathematical model based on a mechanism; a translation of a physical, chemical, and biological theory
Empirical model	Mathematical model that is optimized to give the best fit to the observed data without an underlying chemical, physical, or biological theory
Deterministic model	Gives outcomes as exact numerical values (point estimates); it produces always the same output with the same input
Probabilistic model, stochastic model	Gives an outcome with associated total uncertainty (as a probability distribution); it does not produce exactly the same output with the same input
Static/steady state/stationary model	A solution of the state equations when the time derivatives of the state variables are all set to zero, i.e., described by algebraic equations. No description of future states
Dynamic model	Results depend on time and space, described by differential equations. Representation of future system states or conditions
Linear model	A model that is linear in the parameters (not necessarily a linear relationship between x and y)
Nonlinear model	A model that is nonlinear in the parameters
Spatial models	Objects have a position in space (or a finite region in space)
State variable	Quantity describing the state of the system (e.g., concentration at a certain time)
Independent variable	Variable that determines the change in the state of the system (usually time and space) and is controlled by the modeler/experimenter
State equations	Equations that specify the particular solution (initial values, for instance) for state variables as a function of the independent variables
Transient	Temporal profile of the state variables after a perturbation on the boundary conditions
Boundary conditions	Constraints that apply to the solution of state equations (e.g., initial values, mass balances)
Parameters	Constants in the state equations (constant in a particular case, but may vary in different cases)
Sensitivity coefficient	Partial derivative of a state variable with respect to variations in a parameter
Black box model	A model that is not based on any supposed mechanism
White box model	A model that is based on a supposed mechanism
Gray box model	A model that contains both empirical and mechanistic elements

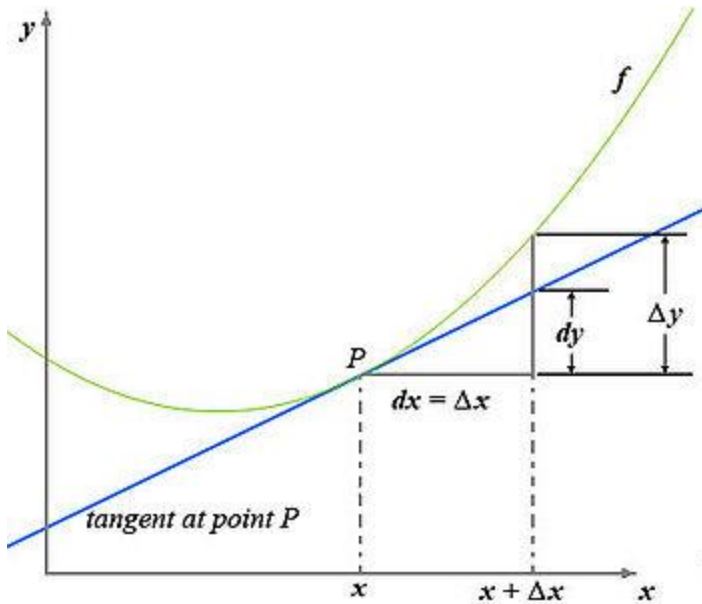
Consideraciones



➤ LEYES DE VELOCIDAD

$$v = k[A].[B]$$

➤ DERIVADA DE UNA FUNCIÓN



$$\left. \frac{dy}{dx} \right|_{x_0}$$

Diferentes Etapas en la descripción cuantitativa de los procesos de Fermentación

Especificar la complejidad del modelo



Establecer las cinéticas



Establecer los balances de masa

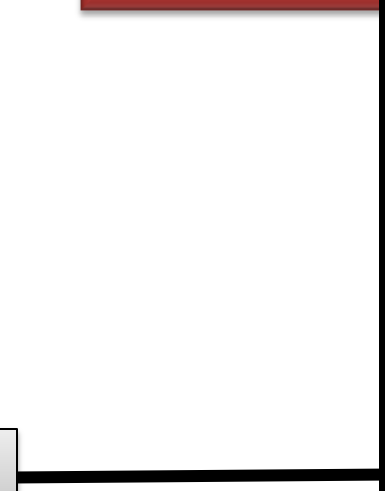


Estimar los parámetros

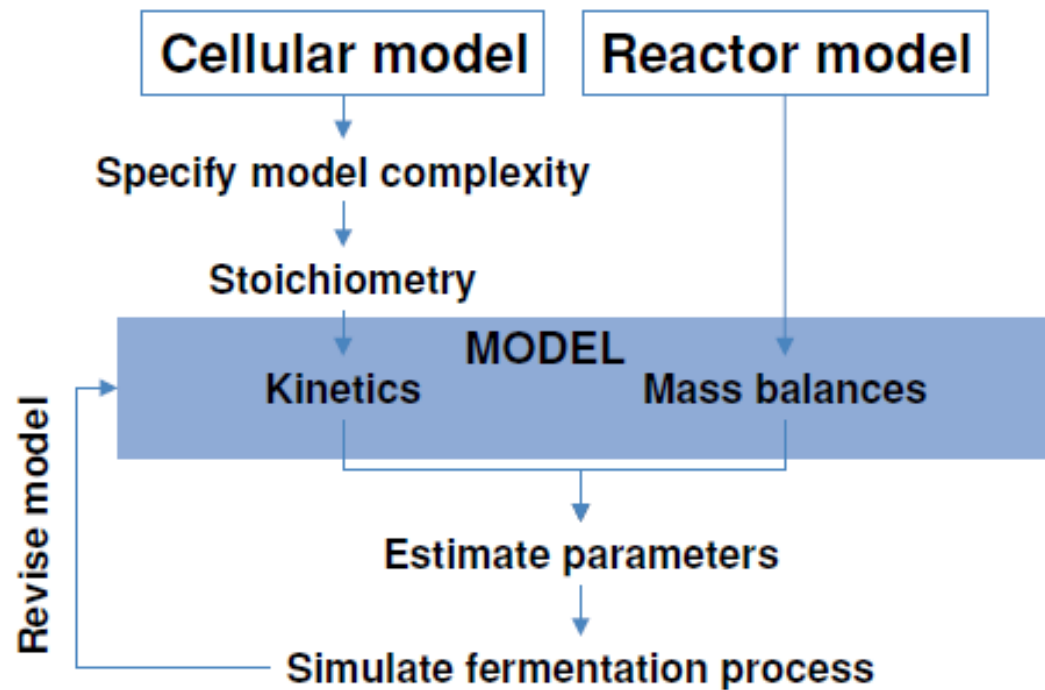


Simular el proceso de fermentación

Redefinir la complejidad del modelo



Diferentes etapas en la descripción cuantitativa de los procesos de fermentación



J. Nielsen (2006). Microbial Process Kinetics. In: Basic Biotechnology. Third edition.

Estructura del modelo y la complejidad

Estructura en el nivel celular

Estructura en el nivel poblacional

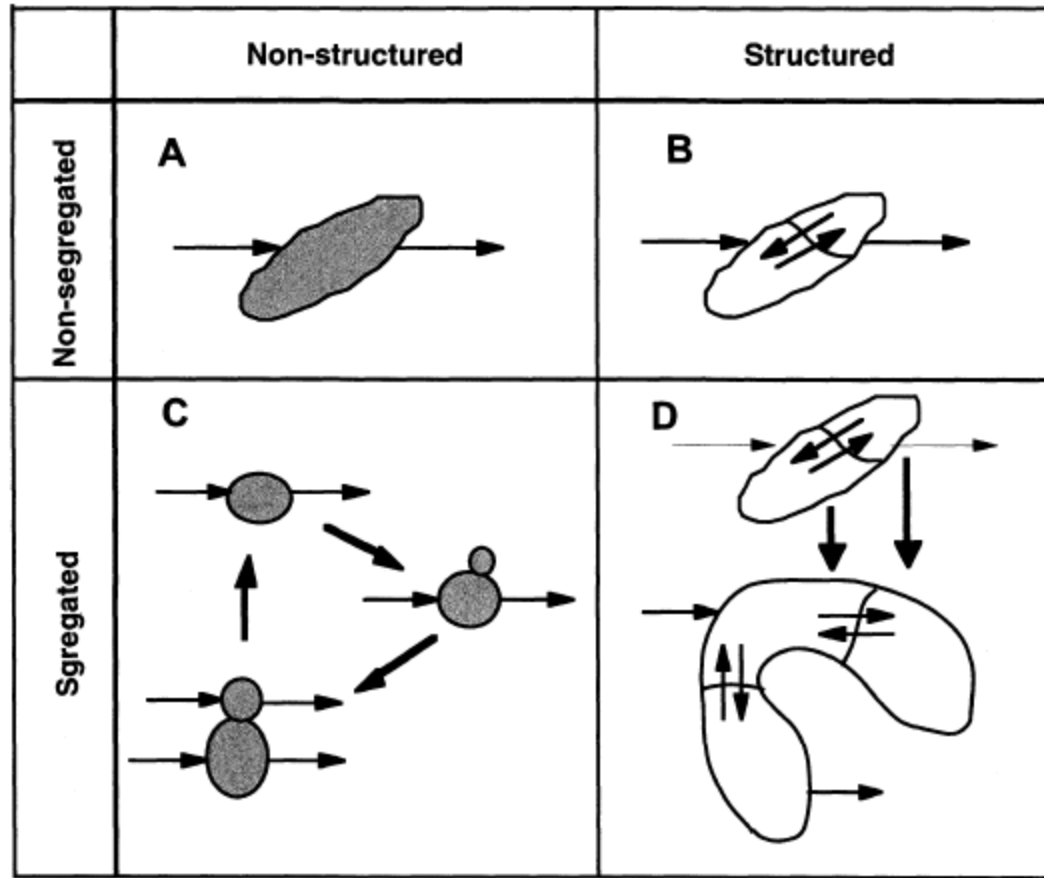
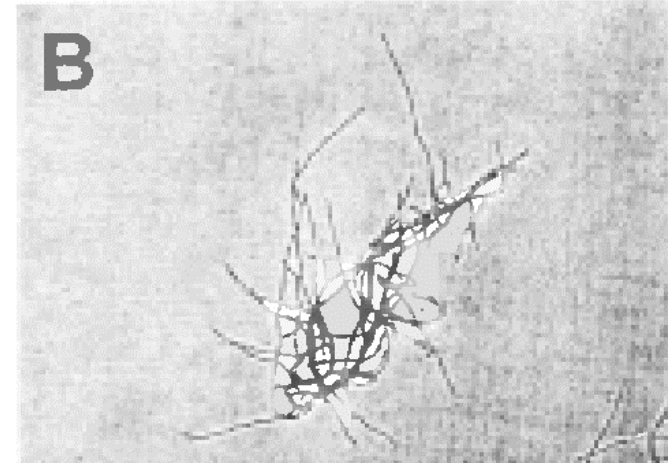
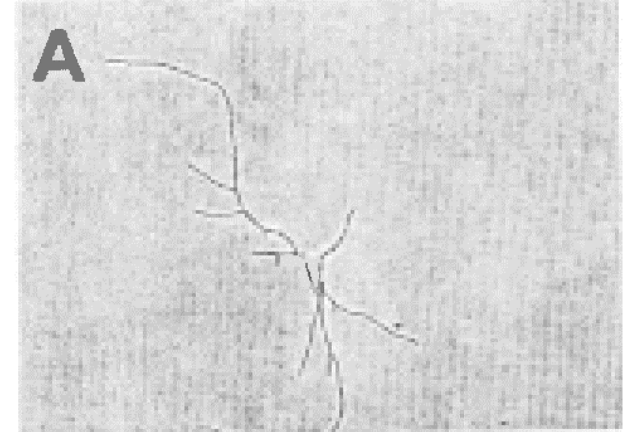
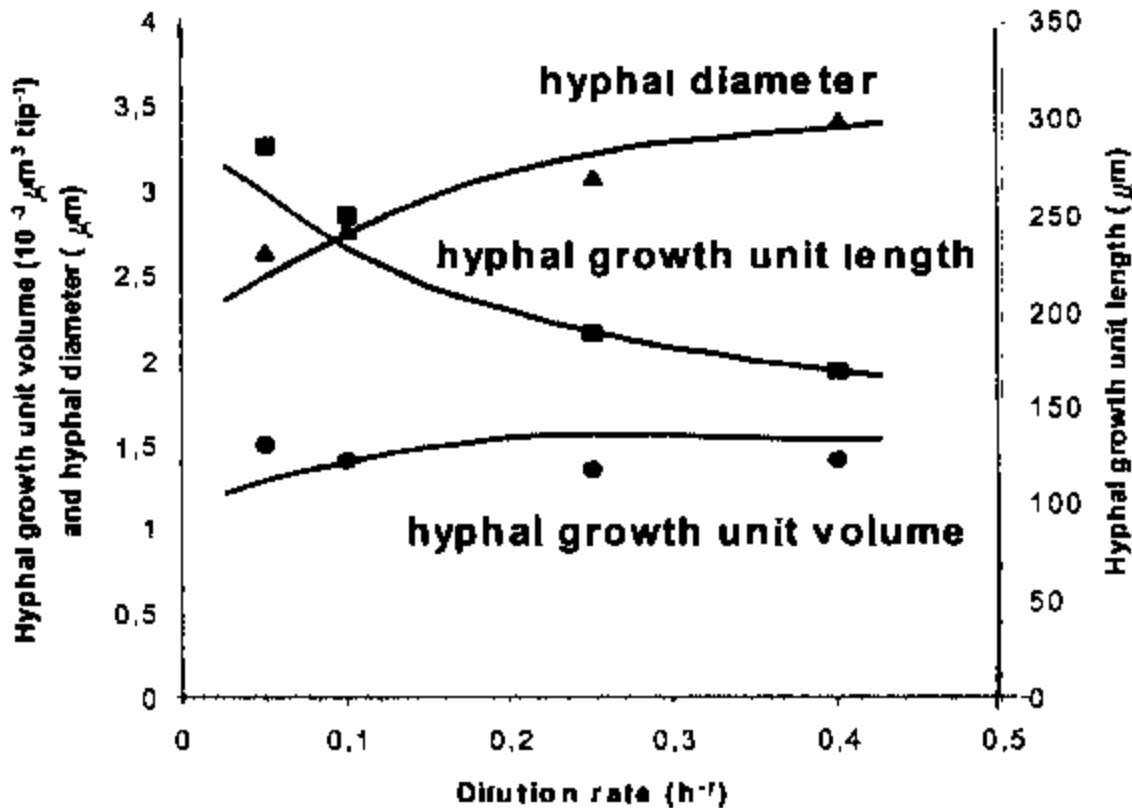


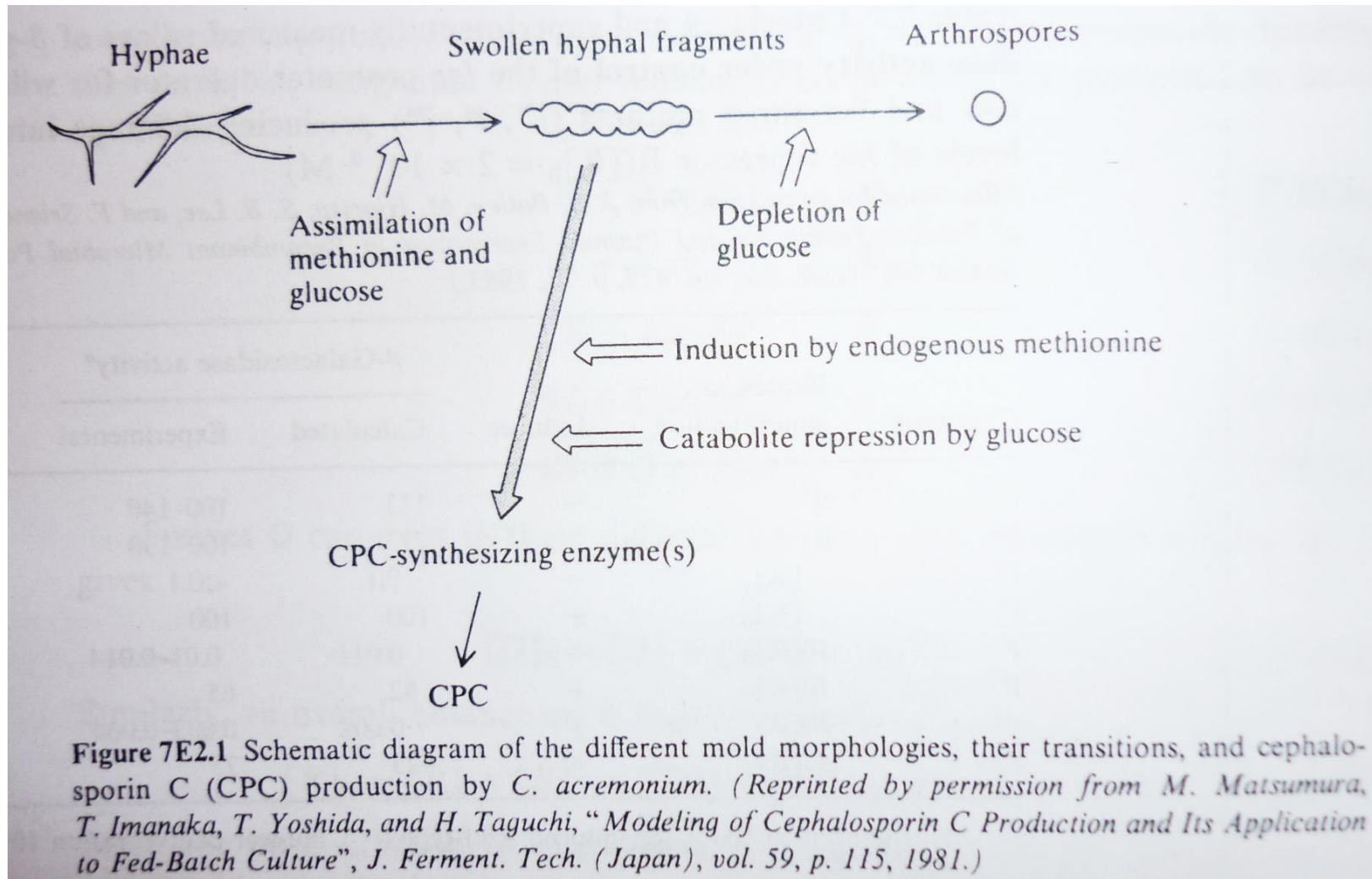
Figure 3.1. Types of kinetic models for cells. Balance regions: **A** Total cell biomass, **B** Cell parts, **C** biomass parts, **D** Biomass and cell parts.

Modelo estructurado morfológicamente: crecimiento de hongos filamentosos



Morfología de *G. candidum* como una función de la velocidad específica de crecimiento en un cultivo sumergido

Modelo cinético estructurado morfológicamente para la producción de Cefalósporina C



Mold growth and differentiation

$$\frac{dx_h}{dt} = \frac{\mu_m g}{K_g + g} x_h - \beta(g, m)x_h - k_D x_h \quad (7E2.1)$$

$$\frac{dx_s}{dt} = \beta(g, m)x_h - \gamma(g)x_s - k_D x_s \quad (7E2.2)$$

$$\frac{dx_a}{dt} = \gamma(g)x_s - k_D x_a \quad (7E2.3)$$

where

$$\beta(g, m) = \left(k_{11} + \frac{k_{12}m}{K_m + m} \right) \left(\frac{g}{K_G + g} \right) \quad (7E2.4)$$

$$\gamma(g) = k_{21} + k_{22} \left(\frac{g}{K_g + g} \right) \quad (7E2.5)$$

Note that the total biomass is partitioned here into the three different morphological types observed experimentally. Medium glucose and methionine mass concentrations are given by g and m , respectively.

The substrate utilization model presumes glucose and methionine uptake by the h and s morphological states only.

Glucose and methionine utilization

$$\frac{dg}{dt} = -\frac{\mu_m g x_h}{Y_{H/G}(g + K_g)} - \frac{v_m g x_s}{g + K_g} \quad (7E2.6)$$

$$\frac{dm}{dt} = -U_h x_h - U_s x_s \quad (7E2.7)$$

where

$$U_h = \frac{U_{mh} m}{m + K_m} \quad U_s = \frac{U_{ms} m}{m + K_m} \quad (7E2.8)$$

Parámetros estimados para la formación de cefalosporina C

$$\mu_m = 0.069 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

$$Y_{H/G} = 0.45 \text{ (g-cell/g-glu)}$$

$$K_g = 0.05 \text{ (g-glu/L)}$$

$$k_{11} = 0.015 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

$$k_{12} = 0.024 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

$$k_{21} = 0.004 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

$$k_{22} = 0.028 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

$$K_m = 0.001 \text{ (g-met/L)}$$

$$V_m = 0.023 \text{ (g-glu/g-cell/h)}$$

$$U_{mh} = 0.0012 \text{ (g-met/g-cell/h)}$$

$$U_{ms} = 0.0098 \text{ (g-met/g-cell/h)}$$

$$k_D = 0.014 \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

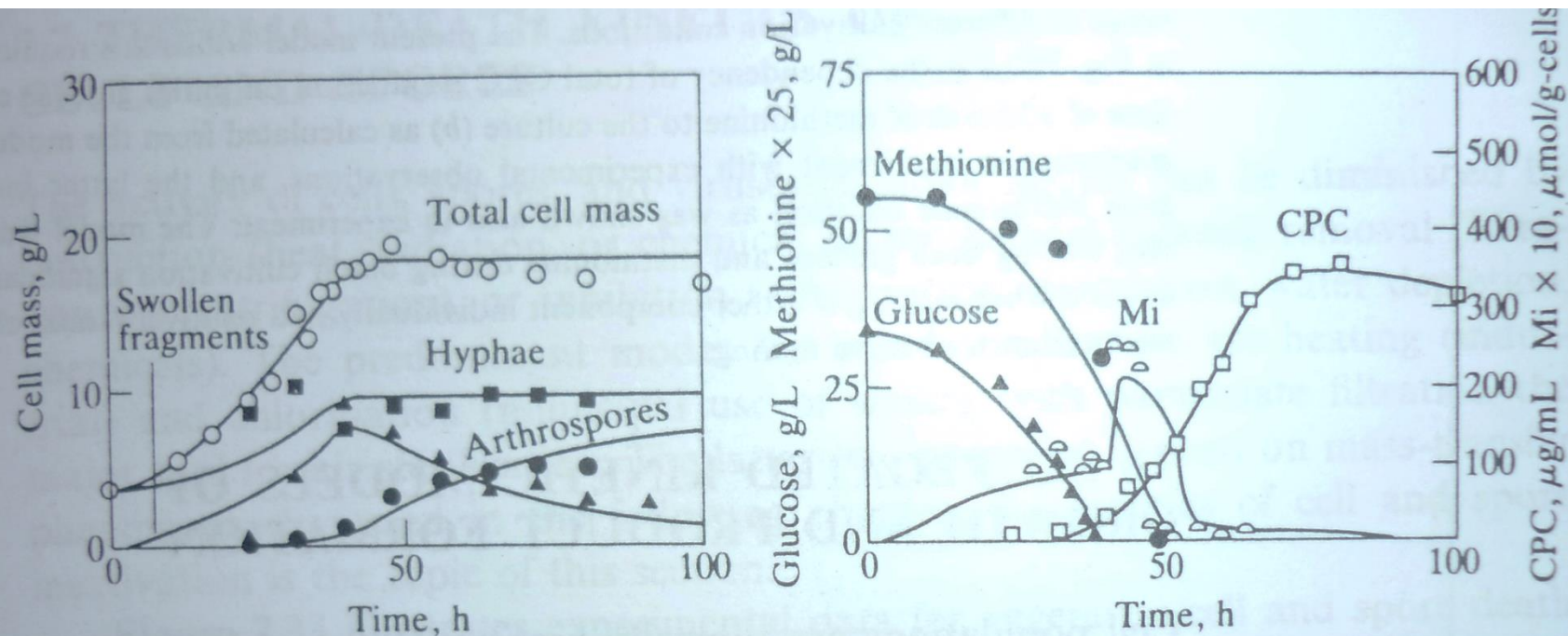
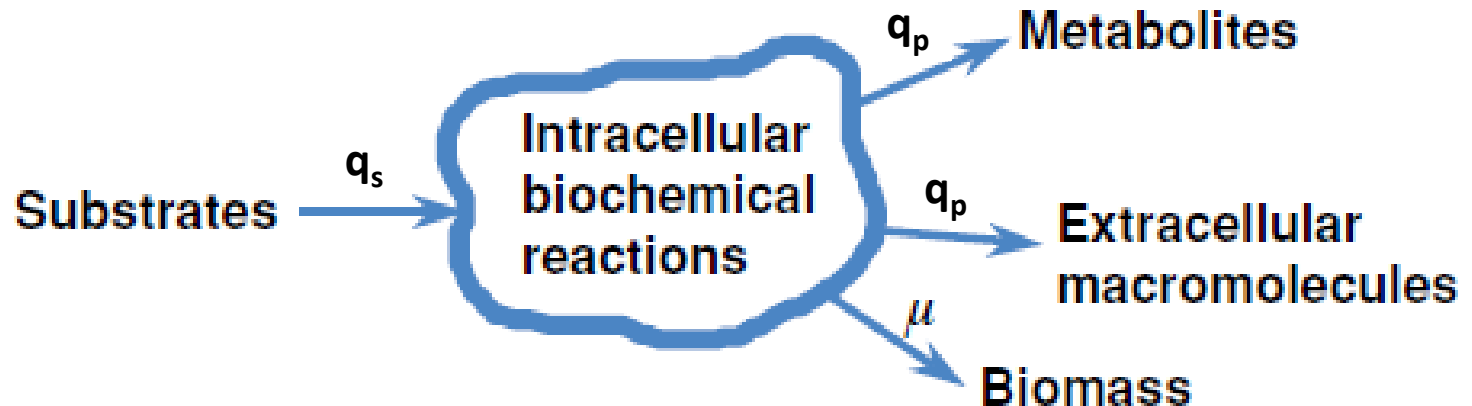
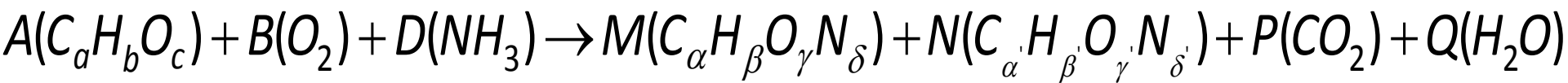
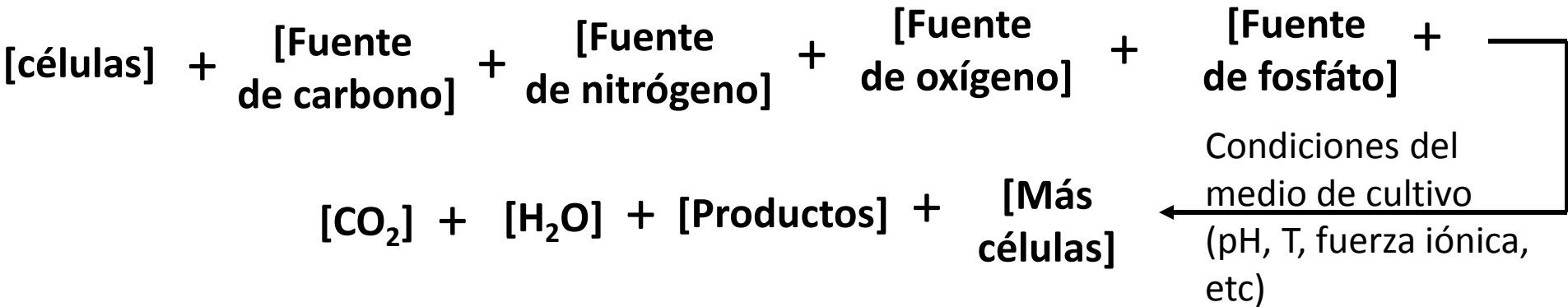


Figure 7E2.2 Model simulations (lines) and experimental data (points) for CPC production in batch culture of *C. acremonium*. M_i = intracellular methionine. (Reprinted by permission from M. Matsumura, T. Imamaka, T. Yoshida, and H. Taguchi, "Modeling of Cephalosporin C Production and Its Application to Fed-Batch Culture," *J. Ferment. Tech. (Japan)*, vol. 59, p. 115, 1981.)

Especificar la complejidad del modelo: Modelo no estructurado



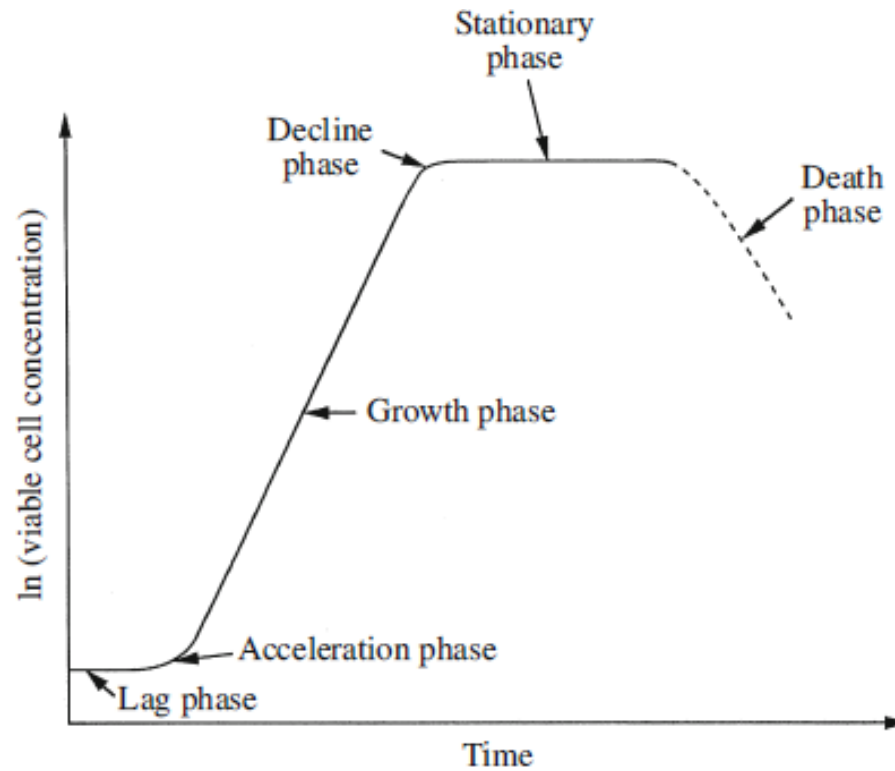
Crecimiento de un organismo aeróbico



Biomasa

Producto

Crecimiento por lotes



Typical batch growth curve.

Summary of Batch Cell Growth

Phase	Description	Specific Growth Rate
Lag	Cells adapt to the new environment; no or very little growth	$\mu \approx 0$
Acceleration	Growth starts	$\mu < \mu_{\max}$
Growth	Growth achieves its maximum rate	$\mu \approx \mu_{\max}$
Decline	Growth slows due to nutrient exhaustion or build-up of inhibitory products	$\mu < \mu_{\max}$
Stationary	Growth ceases	$\mu = 0$
Death	Cells lose viability and lyse	$\mu < 0$

Nutriente LIMITANTE (estudio cinético)

Células + sustrato \longrightarrow *más células + productos*

$$v = f(x, S, I, T, pH, \dots \text{etc})$$

$$v = \mu_{S, I, T, pH, \dots} \cdot X$$

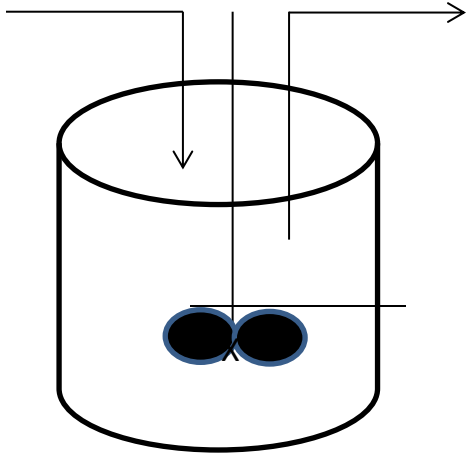
- Cinética de primer orden
- Reacción auto catalítica

v = velocidad de crecimiento de la célula (g/L.tiempo)

X = concentración de biomasa (g/L)

μ = velocidad específica de crecimiento, (tiempo⁻¹)

BALANCE DE MASA EN REACTORES



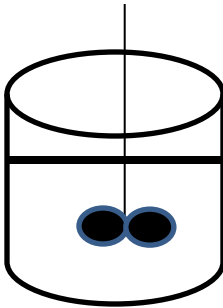
Compuesto C_i

Veloc. acumulación C_i = vel. entrada C_i – veloc salida C_i + veloc. formación C_i – veloc. descomposición C_i

$$\frac{d(C_i V)}{dt} = \text{vel. entrada } C_i - \text{veloc salida } C_i + \text{veloc. formación } C_i - \text{veloc. descomposición } C_i$$

Velocidad neta de reacción

Balance de Masa en un Reactor por Lotes



$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (1)$$

$$\Rightarrow \mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \frac{d(\ln X)}{dt}$$

En la fase exponencial la velocidad de crecimiento específica es constante

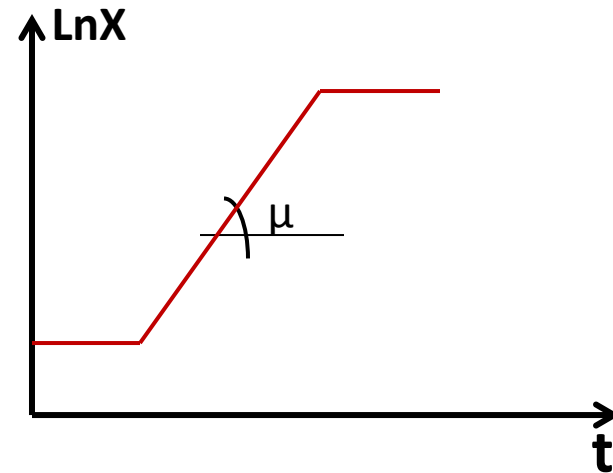
Integrando la Ecuación (1)

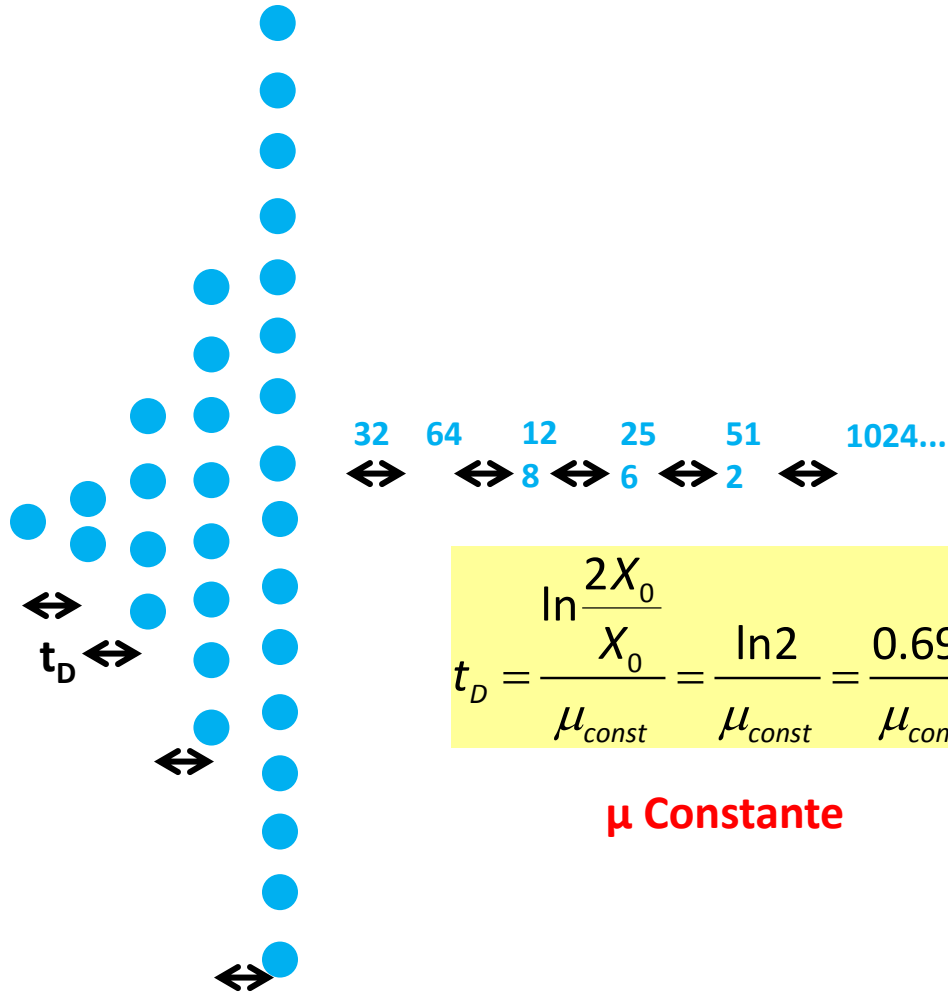
$$\int_{X_0}^X \frac{dX}{X} = \int_0^t \mu dt$$

Constante

μ
Constante

$$\left\{ \begin{array}{l} \ln \frac{X}{X_0} = \mu t \Rightarrow \ln X = \ln X_0 + \mu t \\ \Rightarrow X = X_0 e^{\mu t} \end{array} \right.$$





$$t_D = \frac{\ln \frac{2X_0}{X_0}}{\mu_{const}} = \frac{\ln 2}{\mu_{const}} = \frac{0.693}{\mu_{const}}$$

μ Constante

Tiempos de Duplicación Característicos

Tipo de célula	T_D (h)
Bacterias	0.3 – 2.5
Levaduras	1.0 – 4.0
Hongos filamentosos	1.5 – 7.0
Microalgas	18 – 35
Células animales in vitro	20 - 40

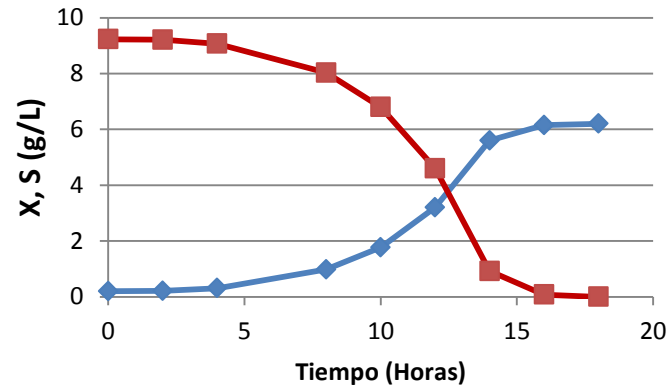
Fuente: Acevedo et al. (2002)

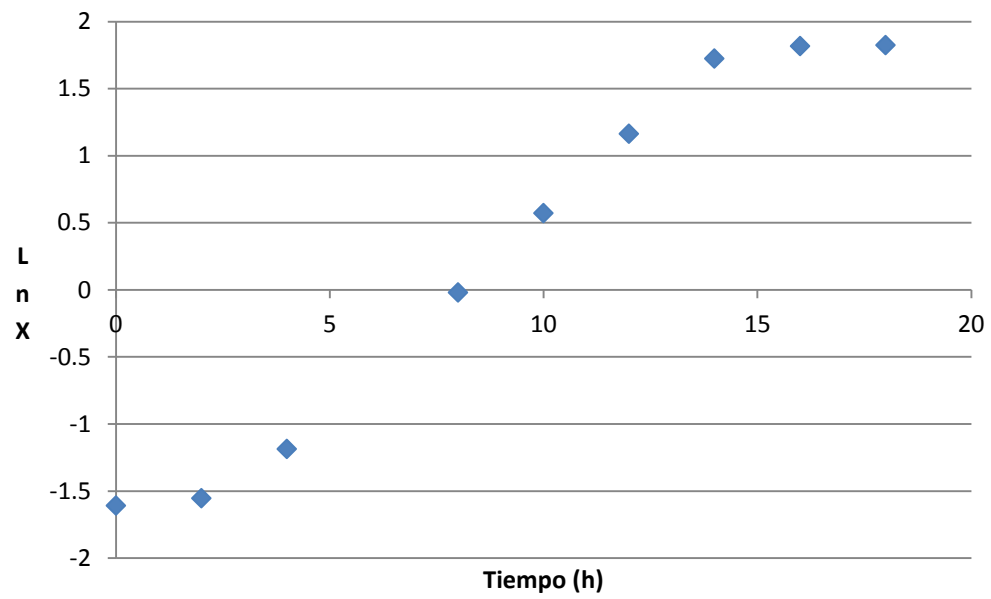
Ejercicios

Una simple fermentación por lote de una bacteria aeróbica creciendo sobre metanol dio los resultados mostrados en la tabla. Calcule:

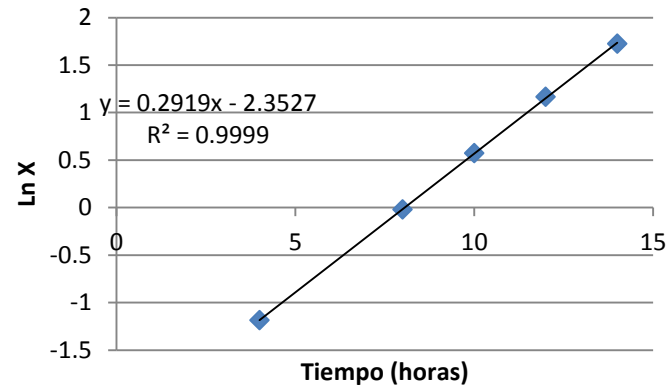
- Velocidad de crecimiento máxima (μ_m)
- El rendimiento sobre el sustrato ($Y_{x/s}$)
- Tiempo de duplicación (t_d)

Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	Ln (X)
0	0.2	9.23	-1.60943791
2	0.211	9.21	-1.55589715
4	0.305	9.07	-1.1874435
8	0.98	8.03	-0.02020271
10	1.77	6.8	0.57097955
12	3.2	4.6	1.16315081
14	5.6	0.92	1.7227666
16	6.15	0.077	1.81645208
18	6.2	0	1.82454929





a)



$$\mu_m = 0.292 \text{ h}^{-1}$$

b)

$$Y_{x/s} = \frac{6.2 - 0.2}{9.23 - 0} = 0.65 \text{ gbiomasa / gsustrato}$$

c)

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu_M} = \frac{0.693}{0.292} = 2.4 \text{ h}$$

Influencia de los factores ambientales sobre μ

μ es función del m.o y las condiciones ambientales

- Concentración de sustrato
- Temperatura
- pH
- Actividad de Agua
- Inhibidores
- Potencial Redox
- Oxígeno disuelto
- Otros factores

Efecto de la Concentración del Sustrato sobre μ

Efecto cuantitativo fuente carbono y energía Ec. MONOD (1949)

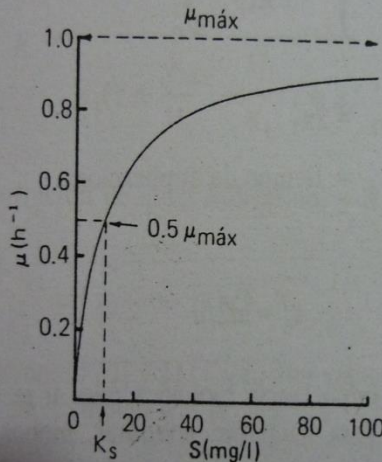


Figura 2.3. Ecuación de Monod, ecuación [2], donde $\mu_{máx} = 1.0 h^{-1}$ y $K_s = 10 mg/l$.

$$\mu = \frac{\mu_M S}{K_S + S}$$

μ_M = velocidad específica de crecimiento máxima (tiempo⁻¹)

S = concentración de sustrato (g/L)

K_s = constante de Monod (g/L)

EFFECTO DE K_s EN LA EC. MONOD

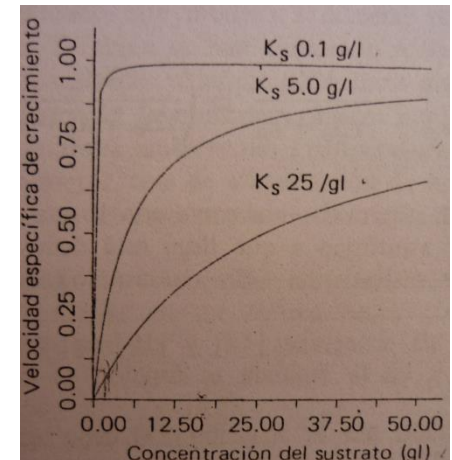


Table 3.6. Typical values of μ_{\max} and K_S for various organisms and substrates (at the optimum growth temperatures).

Organism and growth temperature	Limiting nutrient	μ_{\max} (hr^{-1})	K_S (mg/liter)
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	glucose	0.8-1.4	2-4
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	glycerol	0.87	2
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	lactose	0.8	20
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (30°C)	glucose	0.5-0.6	25
<i>Candida tropicalis</i> (30°C)	glucose	0.5	25-75
<i>Candida</i> sp.	oxygen	0.5	0.045-0.45
	hexadecane	0.5	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	glucose		
<i>Klebsiella aerogenes</i>	glycerol	0.85	9
<i>Aerobacter aerogenes</i>	glucose	1.22	1-10

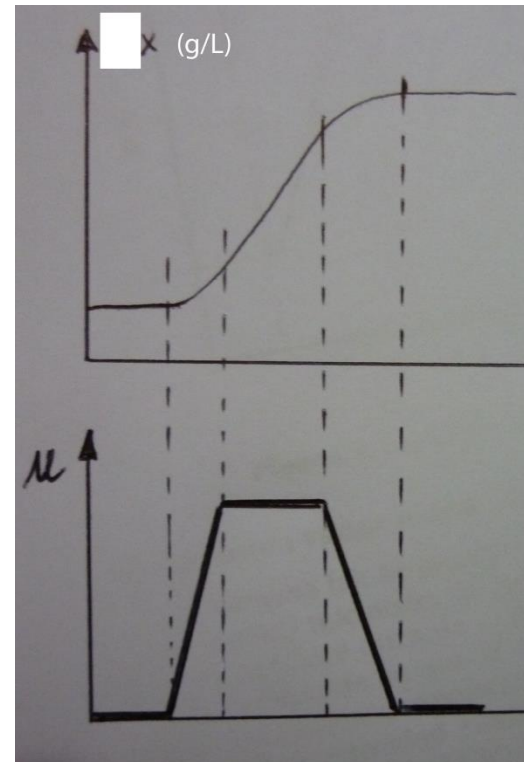
Si $S \gg K_s$

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_M S}{K_s + S} X$$



$$\frac{dX}{dt} = \mu_M X$$

Representa la curva: Fase
exponencial, desaceleración y
estacionaria



Otras formas de Cinéticas de Crecimiento

Ec. Blackman

$$\mu = \mu_m, \quad \text{if } S \geq 2K_s$$

$$\mu = \frac{\mu_m}{2K_s} S, \quad \text{if } S < 2K_s$$

Ec. Tessier

$$\mu = \mu_m (1 - e^{-KS})$$

Ec. Moser

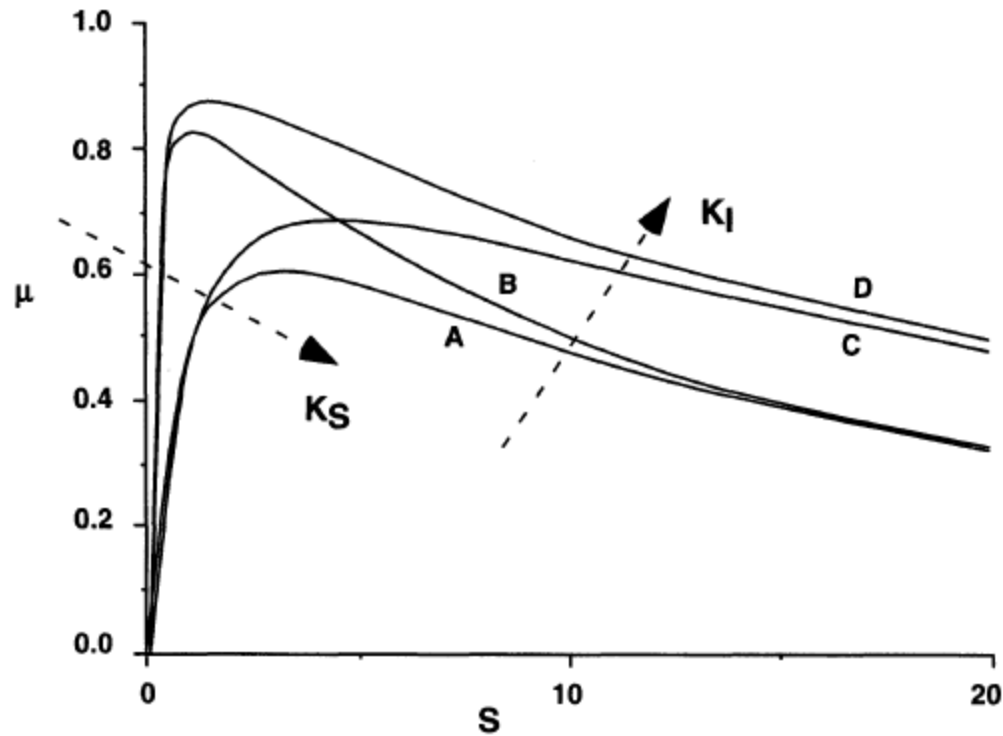
$$\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_s + S^n} = \mu_m (1 + K_s S^{-n})^{-1}$$

Ec. Contois

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_{sx} X + S}$$

Inhibición por sustrato

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S + S^2 / K_i}$$



3) The maximum occurs at $S = (K_S K_I)^{0.5}$

Figure 3.7. Substrate inhibition kinetics for various values of K_S and K_I . The parameters used are as follows: For all curves $\mu_m = 1.0$ 1/h. Curve A: $K_S = 1$ and $K_I = 10$, Curve B: $K_S = 0.1$ and $K_I = 10$; Curve C: $K_S = 1$ and $K_I = 20$; Curve D: $K_S = 0.1$ and $K_I = 20$. The units of K_S , K_I and S are g/m^3 .

Inhibición por producto
Fermentación alcohólica

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \frac{K_p}{K_p + P}$$

$$\mu = \frac{\mu_m S}{(K_S + S + P/K_I)}$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \exp(-Kp)$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right)$$

Multiple-Substrate Monod kinetics

can be used to describe the influence of many substrates, which for two substrates takes the form,

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S_1}{K_1 + S_1} \right) \left(\frac{S_2}{K_2 + S_2} \right)$$

Limitación por dos sustratos
Mankad y Bungay (1988)

$$\mu = \mu_m \frac{S_1}{K_1 + S_1} \frac{S_2}{K_2 + S_2} \left[\frac{2K_1K_2}{K_1S_2 + K_2S_1} + 1 \right]$$

J. Biotechnology 1988, 7: 161-166

Diauxic Monod Growth can be modelled for two substrates by the relation

$$\mu = \mu_{m1} \frac{S_1}{K_1 + S_1} + \mu_{m2} \frac{S_2}{K_2 + S_2 + S_1^2 / K_1}$$

Fuente: Duan et al., 2003

$$\frac{dX}{dt} = (\mu_1 + \mu_2)X$$

$$\mu_1 = \frac{\mu_{\max 1} S_1}{K_1 + S_1}$$

$$\mu_2 = \frac{\mu_{\max 2} S_2}{K_2 [1 + (S_1 / K_i)] + S_2}$$

Fuente: Asenjo A. y Merchuk J.C. (1995)

$$\mu = \{\mu_{\max}[S_1/(S_1 + K_{S1})][(S_2)^{n1}/((S_2)^{n1} + (K_{S2})^{n1})]\}$$

$$dX/dT = \mu_{\max}[S_1/(S_1 + K_{S1})][(S_2)^{n1}/((S_2)^{n1} + (K_{S2})^{n1})]\}X$$

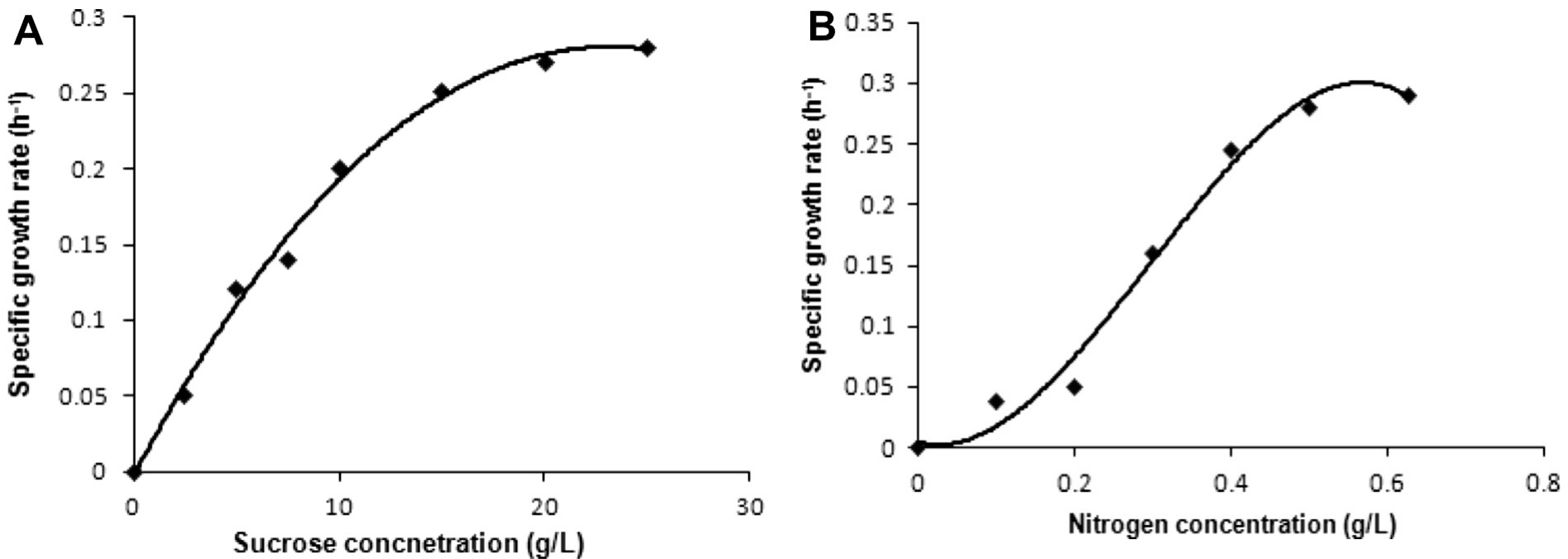


Fig. 2. Variation in specific growth rate as a function of concentration of limiting substrates (A) sucrose and (B) nitrogen. In case of sucrose, Monod model equation was able to fit the experimental data very well, whereas in case of nitrogen sigmoidal kinetics provides a close fit to the experimental data. Smooth lines represent the fitted values.

Ec. Logística

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)$$

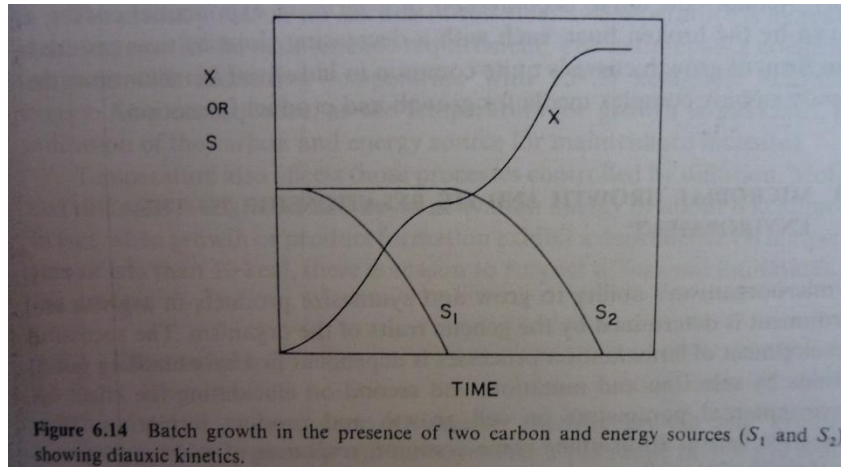
$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} X \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)$$

Integrando:

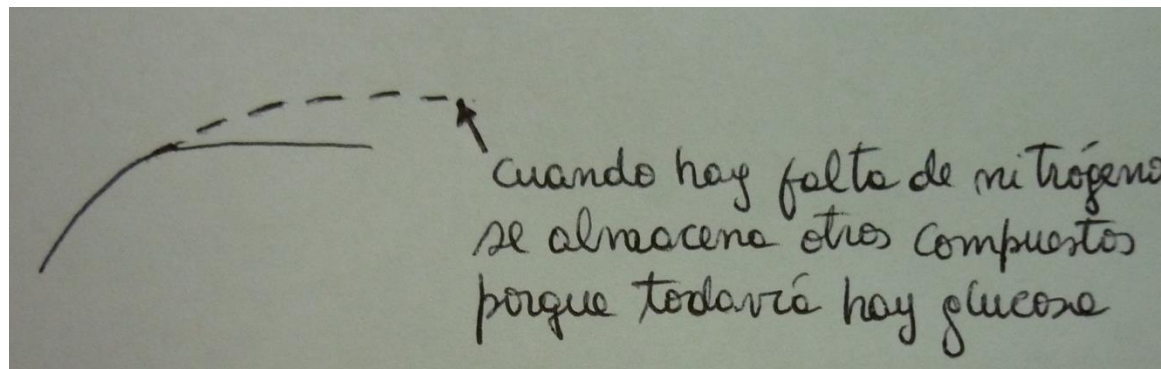
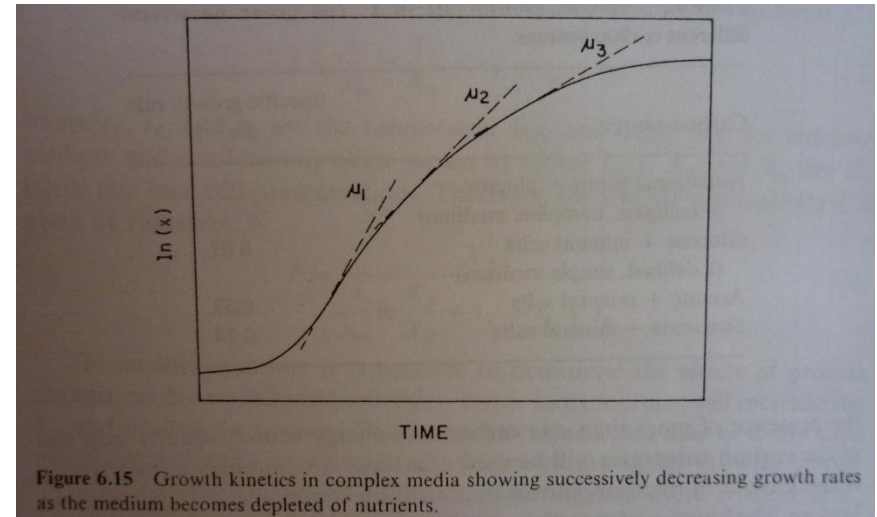
$$X = \frac{X_0 e^{\mu_{\max} t}}{1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{\mu_{\max} t})}$$

Desviaciones de la curva de crecimiento microbiano

■ Crecimiento Diáuxico



■ Medio complejo



Efecto de la Temperatura sobre μ

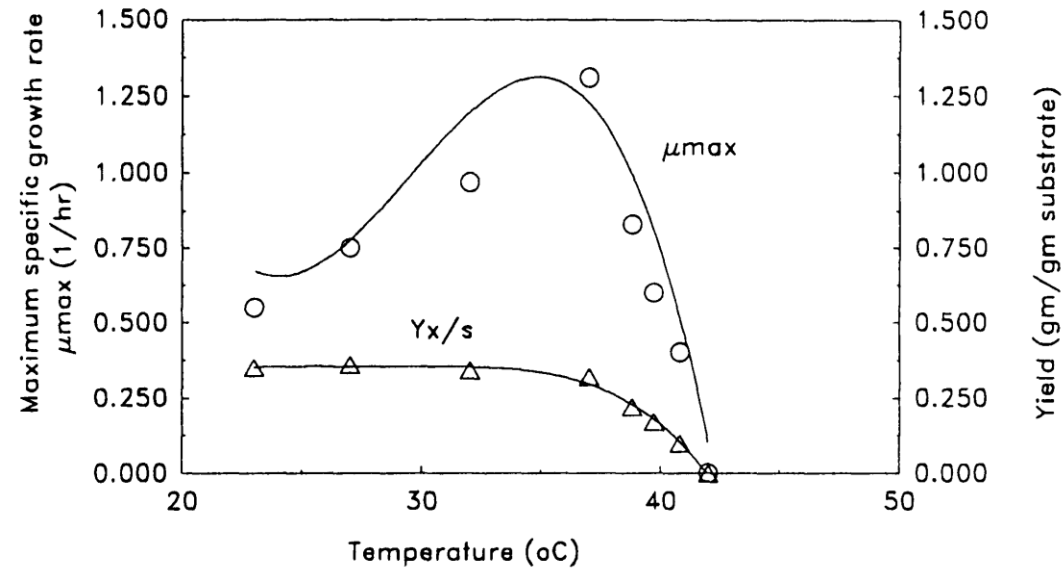


Figure 3.8. The effect of temperature on the growth rate (μ_{max}) of *Aerobacter aerogenes*; aerobic growth on glucose. [From W.J. Payne, *Ann. Rev. Microbiol.* **24**, 17 (1970)].

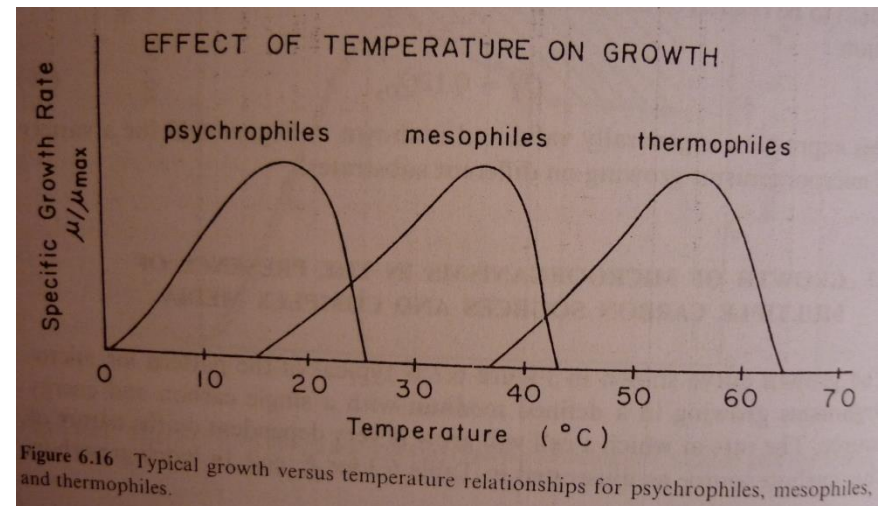
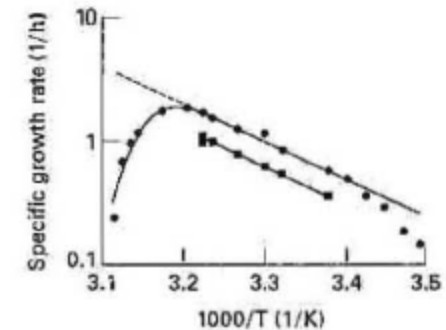


Figure 6.16 Typical growth versus temperature relationships for psychrophiles, mesophiles, and thermophiles.

Efecto de la Temperatura sobre μ

Classification	Growth Temperature (°C)		
	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophiles	-5 to 5	15 to 18	19 to 22
Mesophiles	10 to 15	30 to 45	35 to 45
Thermophiles	25	45 to 75	60 to 80
Extreme thermophiles	50	60 to 75	75 to 95
Hyperthermophiles			≥ 100



Ec. Del tipo Arrhenius

$$\mu = Ae^{-E_a/RT}$$

$$\ln \mu = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T}$$

E_a : Energía de activación

R : constante gases $R = 1.98 \text{ cal/mol.K}$

T : temperatura absoluta (K)

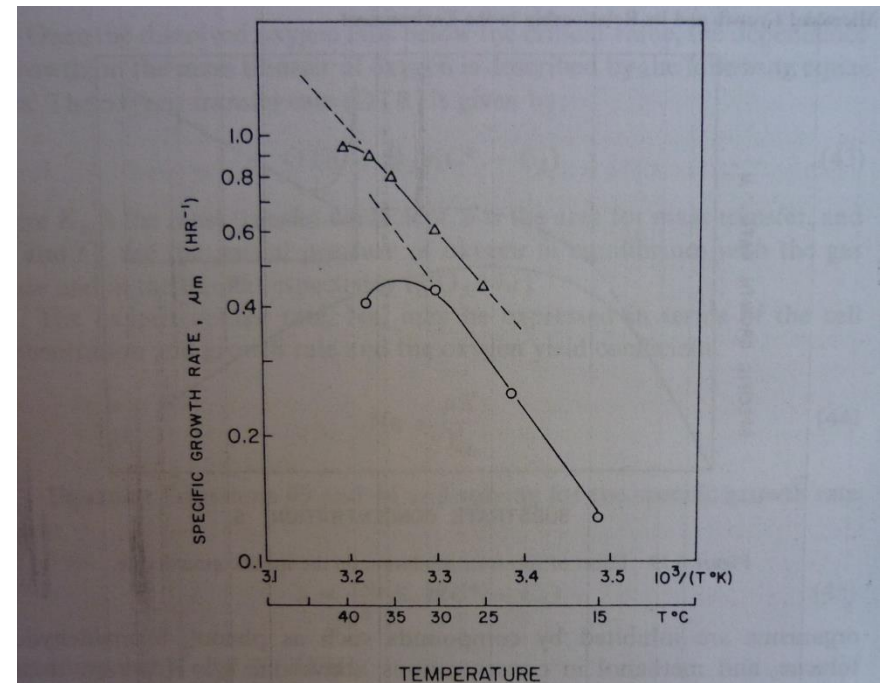


Figure 6.17 Arrhenius plot of growth versus absolute temperature for *Enterobacter aerogenes* (Δ) and *Candida utilis* (\circ).

Efecto de la Temperatura sobre μ

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - k'_d)X$$

$$\frac{dX}{dt} = (Ae^{(-E_a/RT)} - A'e^{(-E_d/RT)})X$$

- E_a para el crecimiento 15-20 Kcal/mol
- E_a para la muerte 60-70 Kcal/mol

Table 3.7. Values of the activation energy for various microorganisms¹².

Organism	Temperature Range (°C)	Activation energy E_A (kcal/mole)
<i>Aspergillus nidulans</i>	20-37	14.0
<i>E. coli</i>	23-37	13.1
<i>K. aerogenes</i>	20-40	14.2
<i>Psychrophilic pseudo-monad</i>	2-12	23.8

Problema 1

A continuación se dan los datos experimentales de un cultivo continuo en estado estacionario para la producción de biomasa:

Encuentre los parámetros cinéticos de este organismo suponiendo una cinética de Monod.

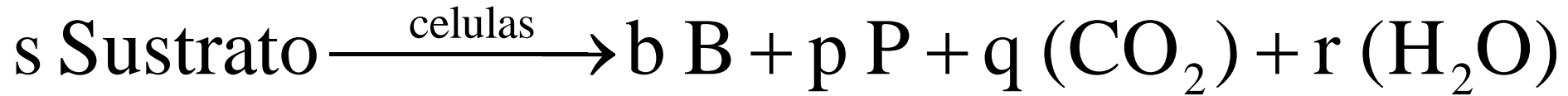
S (g/L)	μ (h ⁻¹)
0.04	0.026
0.06	0.035
0.11	0.054
0.16	0.077
0.29	0.114
0.89	0.161
1.07	0.172

Problema 2

A continuación se dan los datos experimentales de la velocidad específica de crecimiento de *E. coli* en diferentes condiciones de concentración de sustrato. Identifique qué tipo de cinética de crecimiento es y determine los parámetros cinéticos

S	μ (h ⁻¹)
0	0
0.05	0.21
0.1	0.26
0.2	0.25
0.4	0.24
0.6	0.22
0.8	0.16
1	0.172
1.2	0.14
1.4	0.13

Cinética de consumo del nutriente limitante



Rendimiento
teórico:

$$Y_{x/s} = \frac{b}{s}$$

Rendimiento práctico:

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} = \frac{X_f - X_o}{S_o - S_f}$$

Se cumple:

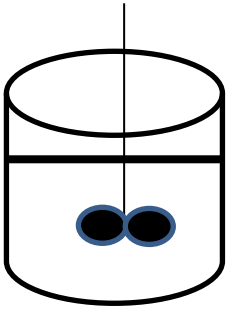
$$\frac{V_s}{-s} = \frac{V_B}{b}$$

Se deduce:

$$V_s = \frac{V_B}{\frac{b}{-s}} = -\frac{V_B}{Y_{x/s}}$$

$$V_s = -\frac{\mu X}{Y_{x/s}} = -q_s X$$

Balance de masa del nutriente limitante en cultivo por lote



$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \mu X \quad \dots(1)$$

q_s : Velocidad específica de consumo de nutriente
(h^{-1}) = g sustrato/g biomasa.h)

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{x/s}} = -\frac{1}{X} \frac{dS}{dt}$$

Considerando solo crecimiento exponencial, integrar la Ec. (1).

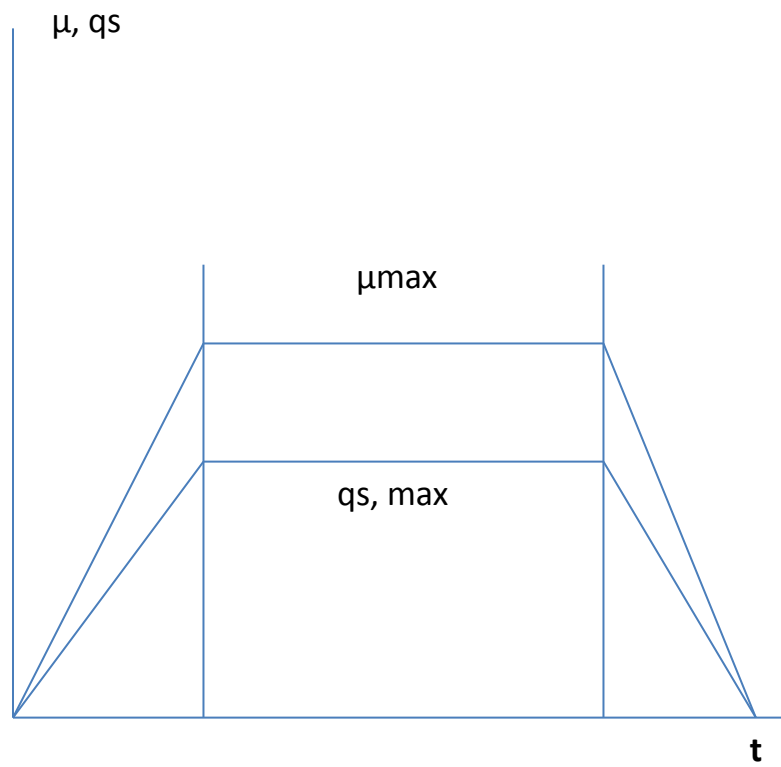
?

$$S = S_0 - \frac{X_0}{Y_{x/s}} (e^{\mu t} - 1)$$

*Rendimientos para fuentes de carbono, Y_c .
Casos generales y particulares.*

<i>Sustrato</i>	<i>Y_c (promedio) (g células/g sustrato)</i>	<i>Y_c (rango)</i>
Azúcares	0.5	0.18 – 0.65
Alcoholes	0.4	0.19 – 0.70
n-parafinas	1.0	0.7 – 1.3
Metano	1.0	0.3 – 1.4

<i>Sustrato</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Y_c</i>	<i>Referencia</i>
Glucosa	<i>Candida utilis</i>	0.45	6
Sacarosa	<i>Saccharomyces fragilis</i>	0.50	6
Metanol	<i>Cultivo mixto (bacteria)</i>	0.42	7
Etanol	<i>Candida utilis</i>	0.68	8
n-hexade- cano	<i>Micrococcus ceri- ficans</i>	1.2	9
mezcla $C_{14} - C_{17}$	<i>Candida lipolytica</i>	0.90	10
Metano	<i>Pseudomonas methanica</i>	0.60	11



Análisis de la fuente de carbono y energía (heterótrofos)

$$-\Delta S_T = -\Delta S_C + -\Delta S_M + -\Delta S_P$$

Si el Producto es asociado al metabolismo energético (etanol, ácido láctico),

$$-\Delta S_P = 0$$

$$\left. \frac{dS}{dt} \right|_T = \left. \frac{dS}{dt} \right|_C + \left. \frac{dS}{dt} \right|_m$$

$$-q_s X = -\frac{\mu X}{Y_{x/s}^0} + -mX \quad \Rightarrow \quad q_s = \frac{\mu}{Y_{x/s}^0} + m$$

m : coeficiente de mantención (g sustrato/g biomasa. h)

Análisis de la fuente de carbono y energía (heterótrofos)

$$\frac{\mu}{Y_{x/S}} = \frac{\mu}{Y_{x/s}^0} + m$$

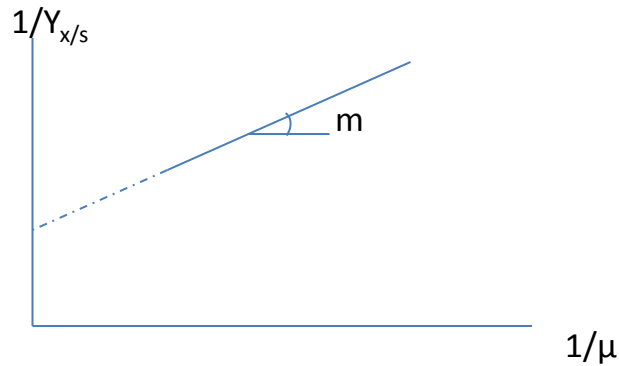
m: coeficiente de mantención (h^{-1})=g fuente C y energía/g biomasa. h)

$$\frac{1}{Y_{x/S}} = \frac{1}{Y_{x/s}^0} + \frac{m}{\mu}$$

$$Y_{x/s} = \Delta X / \Delta S_T$$

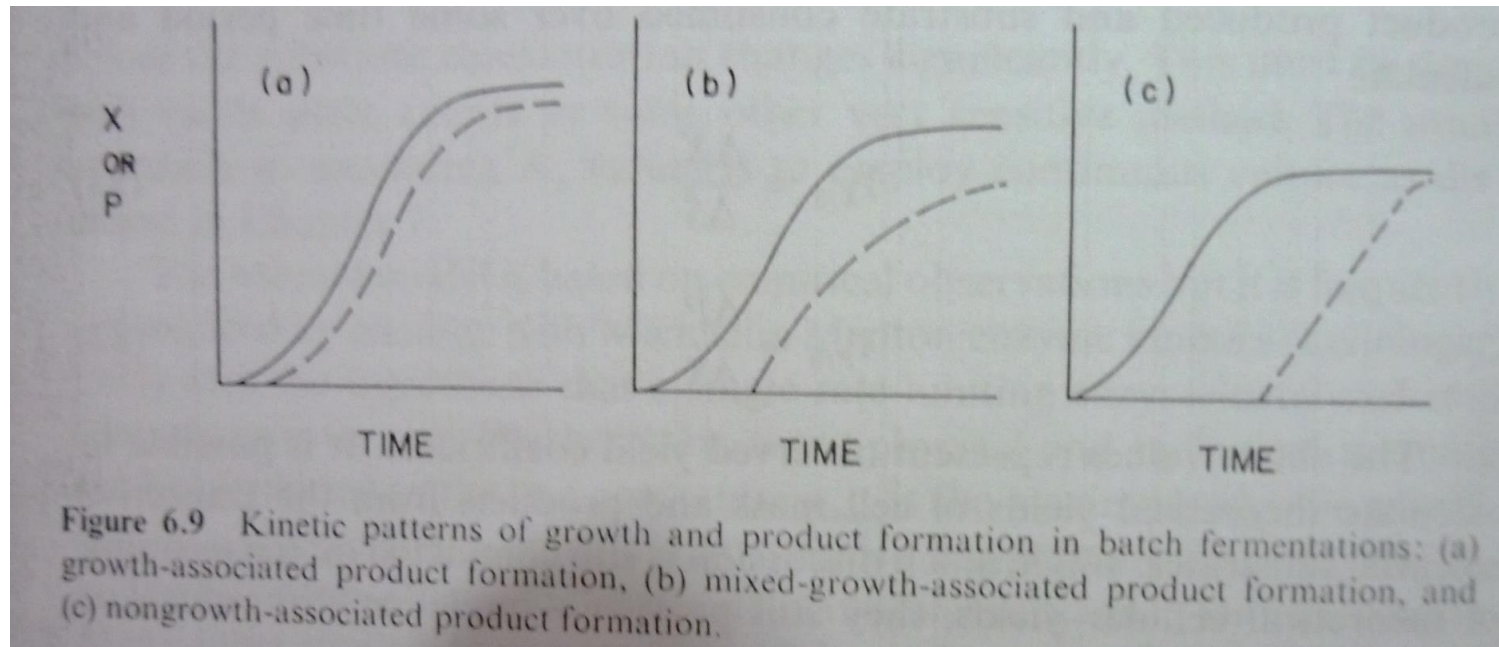
$$Y_{x/s}^0 = \Delta X / \Delta S_C$$

$$Y_{x/S}^0 > Y_{x/s}$$



Cinética de Formación de Productos

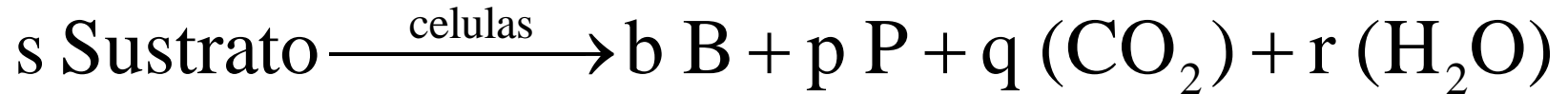
Tipo	Relaciones específicas de velocidad	Ejemplo
I	Formación del producto directamente relacionado con la utilización del carbohidrato	Etanol
II	Formación del producto indirectamente relacionado con la utilización del carbohidrato	Ácido cítrico
III	Formación del producto aparentemente no relacionado con la utilización del carbohidrato	Penicilina



Metabolito primario: son los productos finales e intermediarios de las vías, utilizados para construir las macromoléculas o son convertidos en coenzimas.

Metabolito secundario: producto de fermentación no necesario para el crecimiento del m.o.

Producto asociado al nutriente limitante



Rendimiento
teórico:

$$Y_{p/s} = \frac{p}{s}$$

Rendimiento práctico:

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{-\Delta S} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f}$$

Se cumple:

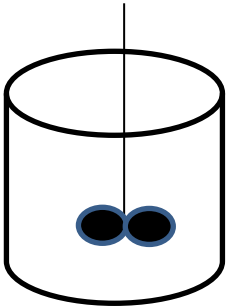
$$\frac{V_P}{p} = \frac{V_B}{b} \Rightarrow V_P = \frac{p}{b} \mu X = \frac{p/s}{b/s} \mu X$$

$$V_P = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}} \mu X$$

$$V_P = q_P X$$

$$q_p = Y_{p/s} q_s$$

Balance de masa del producto en cultivo por lote



$$\frac{dP}{dt} = q_p X$$



$$q_p = \frac{1}{X} \frac{dP}{dt}$$

q_p : velocidad específica de formación de producto= g producto/g biomasa.h =h⁻¹

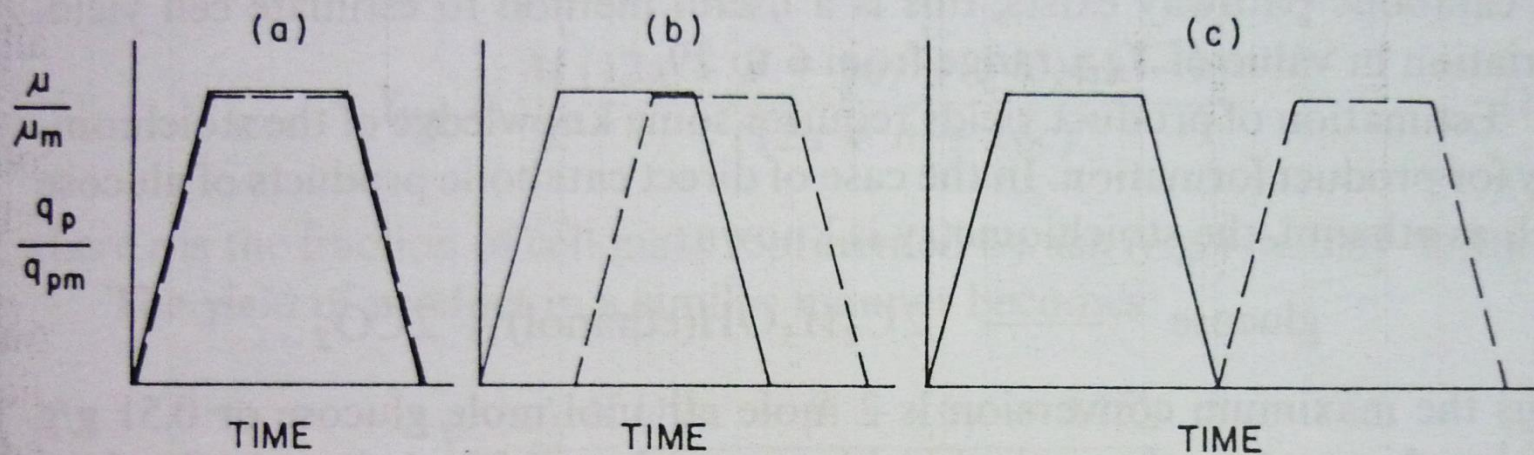


Figure 6.10 Relationship of specific growth rate μ and specific product synthesis rate q_p for (a) growth-associated, (b) mixed-growth-associated, and (c) nongrowth-associated product fermentations.

Cuando un producto es un catabolito de la fuente de carbono

**Formación de producto parcialmente
asociado al crecimiento**

El modelo de Luedeking-Piret

$$q_p = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}^0} \mu + Y_{p/s} m$$



$$q_p = \alpha \mu + \beta$$



Asociado al crecimiento



No asociado al crecimiento

Análisis de la fuente de carbono y energía

Si el producto es un metabolito secundario

$$-\Delta S_T = -\Delta S_C + -\Delta S_M + -\Delta S_P$$

$$\left. \frac{dS}{dt} \right|_T = \left. \frac{dS}{dt} \right|_C + \left. \frac{dS}{dt} \right|_m + \left. \frac{dS}{dt} \right|_p$$

$$q_s X = \frac{\mu X}{Y_{x/s}^0} + mX + \frac{q_p X}{Y_{p/s}^0} \quad Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{-\Delta S}, Y_{p/s}^0 = \frac{\Delta P}{-\Delta S_p}$$

$$Y_{p/s} < Y_{p/s}^0$$

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{x/s}^0} + m + \frac{q_p}{Y_{p/s}^0}$$

$$\frac{1}{Y_{x/S}} = \frac{1}{Y_{x/s}^0} + \left(m + \frac{q_p}{Y_{p/s}^0}\right) \frac{1}{\mu}$$

Análisis de la fuente de carbono y energía

Si el producto es un metabolito secundario

$$q_s = \frac{\frac{\mu}{Y_{x/s}^0} + m}{1 - \frac{Y_{p/s}}{Y_{p/s}^0}}$$

$$\rho = 1 - \frac{Y_{p/s}}{Y_{p/s}^0}$$

$$q_s = \frac{\mu}{\rho Y_{x/s}^0} + \frac{m}{\rho}$$

$$\frac{1}{Y_{x/S}} = \frac{1}{\rho Y_{x/s}^0} + \frac{m}{\rho} \frac{1}{\mu}$$
$$Y_{x/S} = \frac{\rho Y_{x/s}^0 \mu}{m Y_{x/s}^0 + \mu}$$

$$q_p = \frac{1}{\rho} \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}^0} \mu + \frac{1}{\rho} Y_{p/s} m$$

$$q_p = \alpha \mu + \beta$$

Velocidad de Producción

$$q_p = \frac{1}{x} \frac{dP}{dt}$$

Velocidad específica de formación de producto g/g células.h

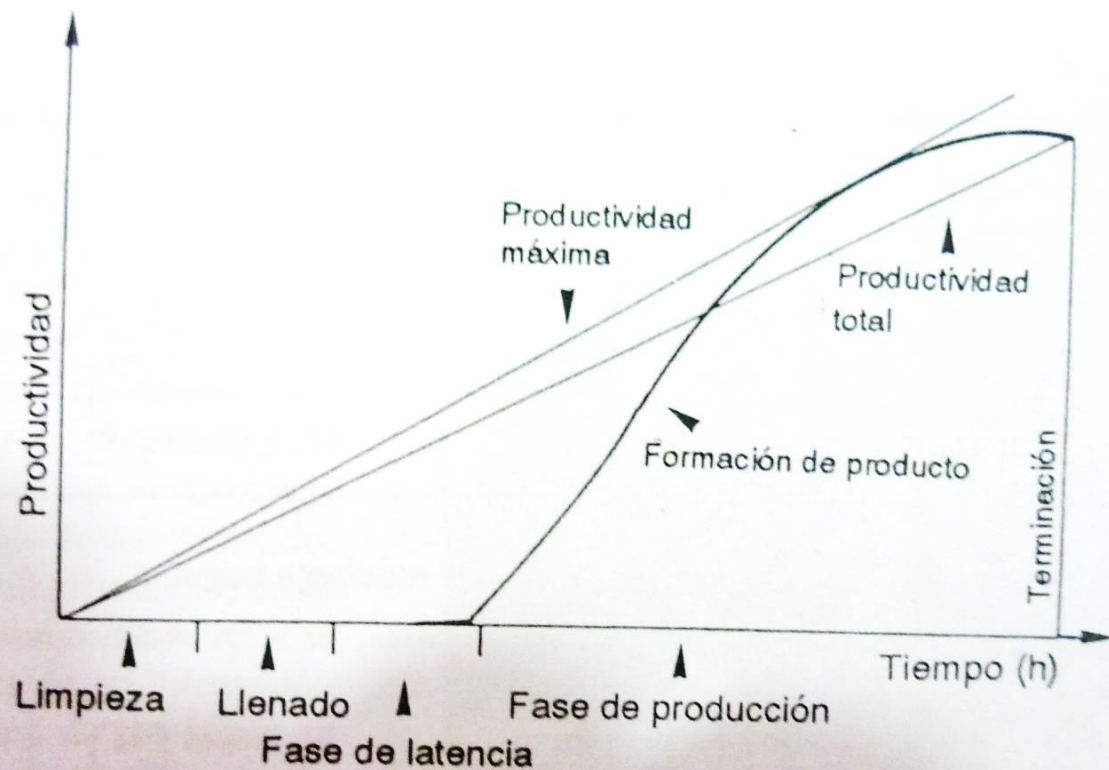
Es independiente de la concentración de masa celular y describe la efectividad de las células en la síntesis de productos o la utilización del material (q_s). Es útil para comparar resultados entre fermentaciones a ensayar.

$$Q_p = \frac{dP}{dt} = \frac{\Delta P}{\Delta t} = \frac{P_2 - P_1}{t_2 - t_1}$$

$$Q_x = \frac{dX}{dt} = \frac{\Delta X}{\Delta t} = \frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1}$$

La velocidad volumétrica o productividad volumétrica (g/L.h) es dependiente de la concentración de la masa celular, describe la velocidad de síntesis de producto o demanda de material (S) por unidad de volumen del fermentador

Figura 5.6. Productividad total y productividad máxima.



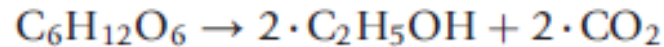
El tiempo total de fermentación puede ser calculado:

$$t = \frac{1}{\mu_m} \ln \frac{x_f}{x_0} + t_T + t_L + t_D$$

$$Q_x = \frac{\Delta X}{\frac{1}{\mu_m} \ln \frac{x_f}{x_0} + t_T + t_L + t_D}$$

$$Q_P = \frac{\Delta P}{\frac{1}{\mu_m} \ln \frac{x_f}{x_0} + t_T + t_L + t_D}$$

Ejemplo para determinar el rendimiento máximo



$$Y_{P/S}^* = \frac{2 \times 46}{180} = 0.51 \text{g}^{-1} \text{g}^{-1}$$

Table 2 Theoretical product yields from glucose (g g^{-1})

<i>product</i>	$Y_{P/S}^*$	<i>Product</i>	$Y_{P/S}^*$
Aspartic acid	0.47	Giberelic acid	0.36
Citric acid	1.07	Glutamic acid	0.80
DHA	0.24	IMP	1.11
Ethanol ^a	0.51	Pencillin-G ^c	1.10
Ethanol ^b	0.54	Pencillin-G ^d	0.66
Gamma linolenic	0.19	Phenyl-alanine	0.51

^aFrom glucose.

^bFrom sucrose.

^cAAA recycled.

^dAAA recycle.

Theoretical product yields are also useful when calculating the distribution of the consumed carbon and energy source into growth, maintenance, and extracellular production [1]. Equation 28 can be written as

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{x/s}^0} + mX + \frac{1}{Y_{p/s}^0} \frac{dP}{dt} \tag{32}$$

Integrating

$$S_0 - S = \frac{X-X_0}{Y_{x/s}^0} + m\int_0^t Xdt + \frac{1}{Y_{p/s}^0} (P-P_0) \tag{33}$$

Table 3 Sugar utilization distribution for product formation

<i>Product</i>	% <i>Growth</i>	% <i>Maintenance</i>	% <i>Product</i>
Pencillin-G	20–30	55–70	6–16
IMP	16–26	61–66	13–18
Phenyl alanine	22–29	30–50	22–45
Gilberelic acid	20–35	30–75	5–30

Problema 1

Determinación de los parámetros cinéticos μ_m y K_s , Y_{xs} en un reactor Batch

Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)
0	1.5	48.5
8	2.9	45.2
15	5.5	38.8
23	11.4	24
27	16.3	11.8
30	19.2	4.5
34	20.9	0.3

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_s + S} x$$

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y_{xs}} \cdot \frac{\mu_m S}{K_s + S} \cdot x$$

Se utiliza el método de Euler explícito (el más simple)

$$\frac{dx}{dt} = \frac{x_{i+1} - x_i}{\Delta t} = f_1(x_i, s_i)$$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{s_{i+1} - s_i}{\Delta t} = f_2(x_i, s_i)$$

$$x_{i+1} = x_i + \Delta t * f_1(x_i, s_i)$$

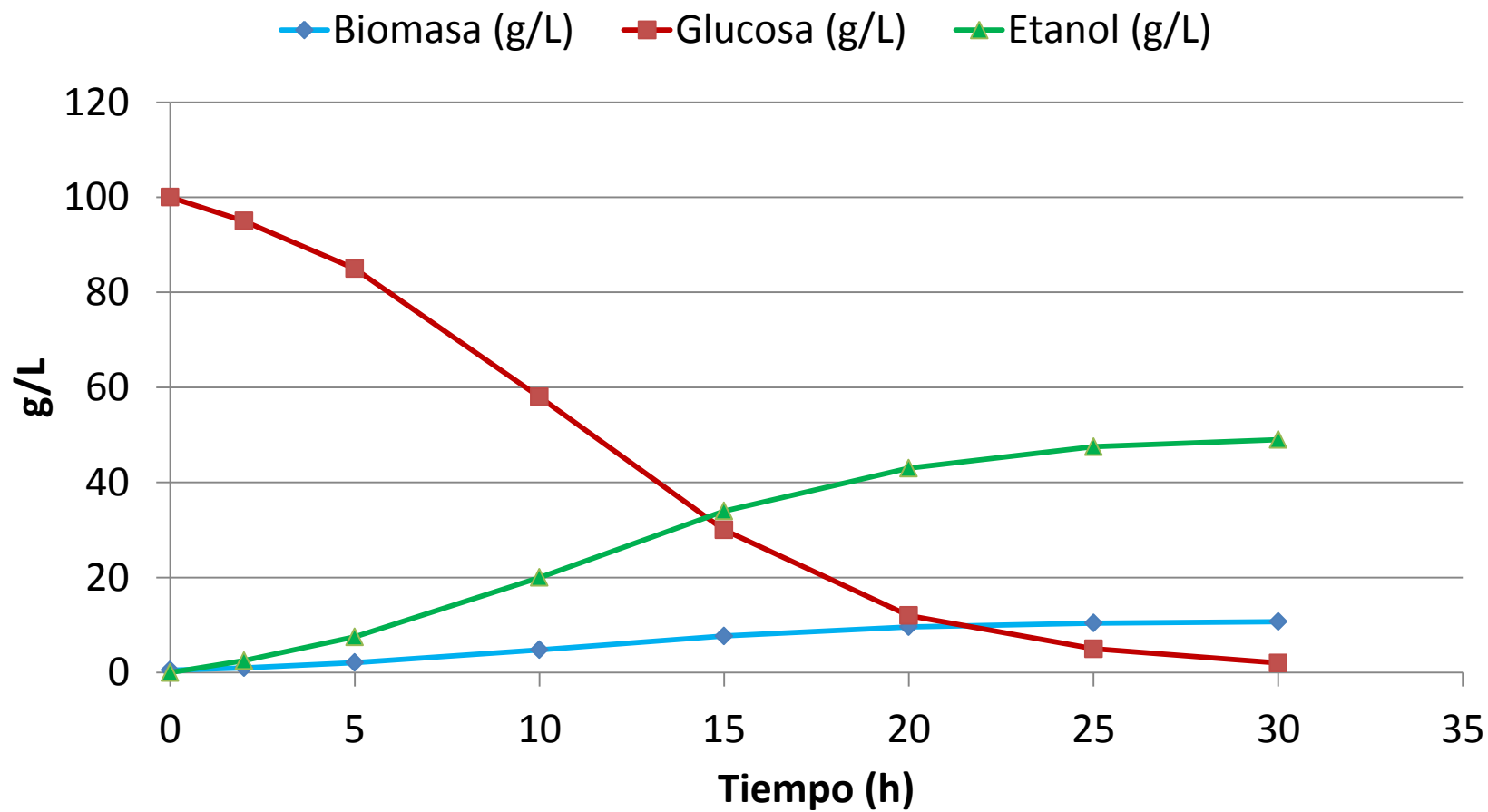
$$s_{i+1} = s_i + \Delta t * f_2(x_i, s_i)$$

Problema 2

En un cultivo por lotes de *Saccharomyces cerevisiae* se forma etanol de glucosa y los siguientes datos se obtuvieron:

Tiempo (h)	Glucosa (S), g/L	Biomasa (X), g/L	Etanol (P), g/L
0	100	0.5	0.0
2	95	1.0	2.5
5	85	2.1	7.5
10	58	4.8	20.0
15	30	7.7	34.0
20	12	9.6	43.0
25	5	10.4	47.5
30	2	10.7	49.0

- Mediante ajuste de los datos de biomasa a la ec. logística, determine el coeficiente μ_{\max} y X_{\max}
- Determine el coeficiente de rendimiento $Y_{p/s}$ y $Y_{x/s}$



Problema de Examen: Simulación con ecuaciones diferenciales

Problema 1: Cinética de producción de polihidroxibutirato (PHB) utilizando fructosa como fuente de carbono y energía, y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno.

Khanna y Srivastava (2005) propusieron un modelo matemático para la producción del biopolímero PHB utilizando una cepa de *Ralstonia eutropha*. Ellos propusieron un modelo estructurado donde la biomasa (X) tiene dos componentes (R y P) como sigue:

$$X = R + P$$

donde el componente activo catalíticamente (R) consiste de las proteínas y de los ácidos nucleicos y el producto PHB (P) es un compuesto inerte.

- La velocidad específica de crecimiento (μ) del microorganismo se expresó como una función de la concentración de dos nutrientes limitantes (fructosa y nitrógeno) por una relación sigmoideal y adicionando términos de inhibición por sustrato

$$\frac{1}{R} \frac{dR}{dt} = \mu = \mu_m \left[\frac{S_1^{n_1}}{S_1^{n_1} + K_{S_1}^{n_1}} \right] \cdot \left[\frac{S_2^{n_2}}{S_2^{n_2} + K_{S_2}^{n_2}} \right] \cdot \left[1 - \left(\frac{S_1}{S_{m1}} \right)^{a_1} \right] \cdot \left[1 - \left(\frac{S_2}{S_{m2}} \right)^{a_2} \right]$$

- La velocidad de consumo de fructosa se asumió a ser debido al crecimiento de R, la formación de P y la mantención celular (m_{S_1}). La velocidad específica de consumo de sustrato se puede representar por la siguiente ecuación:

Problema de Examen: Simulación con ecuaciones diferenciales

$$q_{S_1} = \frac{1}{R} \left(\frac{-dS_1}{dt} \right) = \alpha \cdot \mu + \gamma$$

donde

$$\alpha = \frac{1}{Y_{R/S_1}^o} + \frac{K_1}{Y_{P/S_1}^o}$$

$$\gamma = \frac{K_2}{Y_{P/S_1}^o} + m_{S_1}$$

- La formación del producto se observó en la fase de crecimiento y estacionaria. En altas concentraciones de nitrógeno la acumulación del producto fue baja, mientras en concentraciones bajas de nitrógeno grandes cantidades de producto se acumularon. La velocidad específica de formación de producto se representa por la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{R} \frac{dP}{dt} = q_P = K_1 \mu + K_2$$

- El nitrógeno se consumió debido al crecimiento de la biomasa activa catalíticamente (R) y la velocidad específica de consumo de nitrógeno se representó por la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{R} \frac{dS_2}{dt} = q_{S_2} = \frac{\mu}{Y_{R/S_2}}$$

Los parámetros cinéticos se muestran en la siguiente tabla.

Parámetros del modelo	Valor	Parámetros del modelo	Valor
μ_m (h ⁻¹)	0.198	Y_{R/S_2} (g/g)	0.73
K_{S_1} (g/L)	1.431	K_1 (g/g)	0.357
n_1 (adimensional)	0.306	K_2 (g/g.h)	0.034
K_{S_2} (g/L)	0.321	S_{m1} (g/L)	90.11
n_2 (adimensional)	2.11	a_1	3.19
Y_{P/S_1}^o (g/g)	0.48	S_{m2} (g/L)	10.70
α (g/g)	1.296	a_2	0.97
γ (g/g.h)	0.14		

Las condiciones iniciales de la fermentación son las siguientes:

$$R=0.02 \text{ g/L}$$

$$P=0$$

$$S_1=40 \text{ g/L}$$

$$S_2=0.535 \text{ g/L}$$

Realice la simulación de la fermentación y responda a las siguientes preguntas:

- Reporte las variables de estado a $t=60$ h y calcule el rendimiento global $Y_{P/S1}$ y la productividad volumétrica Q_p y Q_x en $t=60$ h. (**4 pt**)
- Realice la gráfica de la biomasa total ($R+P$) hasta las 60 h. ¿Cuánto de PHB se ha acumulado en la célula en porcentaje a las 60 h. (**2 pt**)
- ¿Cómo se distribuye el consumo de la fuente de carbono y energía?, reporte en porcentaje respecto al consumo de sustrato global a las 30 h y 60 h. (**4pt**)