

## Trabajo Práctico: Modelos de bioprocesos

### Consideraciones preliminares

El objetivo de este trabajo práctico es familiarizarse con los procesos y sus modelos. Para esto se deberán obtener sus ecuaciones diferenciales y simularlos en distintas condiciones de operación para observar su comportamiento.

Cada alumno deberá entregar un breve reporte mostrando las ecuaciones diferenciales obtenidas y los resultados de las simulaciones solicitadas para el proceso correspondiente. Recuerde realizar gráficos con escalas adecuadas y etiquetas legibles. En caso de comparar curvas, graficar ambas en los mismos ejes. Por ejemplo, una referencia con la salida obtenida.

De manera general, recordar:

- Un proceso batch no cuenta con caudales de entrada o salida de medio de cultivo. Los sustratos tienen una condición inicial alta y la biomasa y productos una baja.
- Un proceso fed-batch tiene caudal de ingreso de medio de cultivo y su volumen se incrementa. Normalmente empieza al finalizar el batch, por lo que el sustrato limitante comienza con una concentración baja, casi nula, mientras que la biomasa puede tener una condición inicial media a alta. En este tipo de procesos es interesante calcular la masa de microorganismos, además de su concentración.
- Un proceso continuo tiene caudales de entrada y salida de medio. Su volumen es constante. Normalmente tiene larga duración y podemos esperar que las concentraciones alcancen valores de estado estacionario, dependientes de la tasa de dilución seleccionada. Las condiciones iniciales son aquellas que se obtienen al finalizar el batch, al igual que en el proceso fed-batch.

### Procesos

A continuación se describen los distintos procesos con los que se trabajará en la práctica.

(I) Respiración de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*:



donde  $S$  es la fuente de carbono y energía (FCE),  $N$  es la fuente de nitrógeno (FN),  $C$  es el oxígeno disuelto y  $X$  la biomasa.

Considere el siguiente modelo cinético:

$$r_x = \mu(s)x \longrightarrow \mu(s) = \mu_{max} \frac{s}{K_s + s}, \quad (2)$$

y los parámetros listados en la Tabla 1

Parámetros			Condiciones iniciales batch		
$k_1$	1/0.45	[g/g]	$x(0)$	1	[g/l]
$k_2$	0.108	[g/g]	$s(0)$	50	[g/l]
$k_3$	1.34	[g/g]	$n(0)$	10	[g/l]
$s_{in}$	50	[g/l]			
$n_{in}$	5	[g/l]			
$\mu_{max}$	0.5	[h <sup>-1</sup> ]			
$K_s$	0.5	[g/l]			

Tabla 1: Parámetros proceso I

**(II) Producción bacteriana de bioplástico PHB (*polihidroxibutirato*)**

donde  $S$  es la FCE,  $N$  es la FN,  $X$  la biomasa y  $P$  es el PHB. En este caso hay producción asociada al crecimiento y producción no asociada al crecimiento.

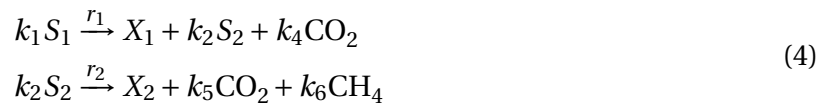
Utilice los modelos cinéticos:

$$\begin{aligned} r_x = \mu(s, n)x &\longrightarrow \mu(s, n) = \mu_{max} \frac{s}{K_s + s + \frac{s^2}{K_{is}}} \frac{n}{K_n + n} \\ r_p = q_p(s, n)x &\longrightarrow q_p(s, n) = q_{pmax} \frac{s}{K_{ps} + s + \frac{s^2}{K_{ips}}} \frac{K_{ipn}}{K_{ipn} + n} \end{aligned}$$

y los parámetros de la Tabla 2.

Parámetros			Parámetros			Condiciones iniciales batch		
$k_{S1}$	1/0.48	[g/g]	$\mu_{max}$	0.46	[1/h]	$x(0)$	1	[g/l]
$k_{S2}$	1/0.3	[g/g]	$K_s$	1.2	[g/l]	$s(0)$	50	[g/l]
$k_N$	1/8.9	[g/g]	$K_{is}$	16.728	[g/l]	$n(0)$	5	[g/l]
$k_{P1}$	0.0657	[g/l]	$K_n$	0.254	[g/l]	$p(0)$	0	[g/l]
$s_{in}$	25	[g/l]	$K_{in}$	1.5	[g/l]			
$n_{in}$	0	[g/l]	$q_{pmax}$	0.126	[1/h]			
			$K_{ps}$	4.1	[g/l]			
			$K_{ips}$	80	[g/l]			
			$K_{ipn}$	0.262	[g/l]			

Tabla 2: Parámetros proceso II

**(III) Digestión anaeróbica**

donde  $S_1$  es la materia orgánica (COD),  $S_2$  son ácidos grasos (VFA),  $X_1$  son las bacterias acidogénicas y  $X_2$  las bacterias metanogénicas.

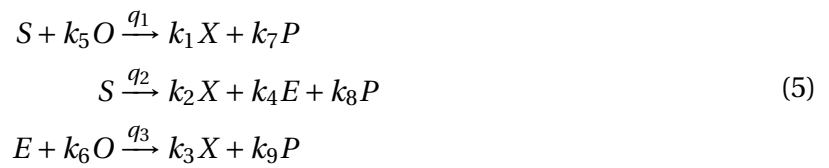
Utilice los modelos cinéticos:

$$\begin{aligned} r_1 = \mu_1(s_1)x_1 &\longrightarrow \mu_1(s_1) = \mu_{1max} \frac{s_1}{K_{s1} + s_1} \\ r_2 = \mu_2(s_2)x_2 &\longrightarrow \mu_2(s_2) = \mu_{2max} \frac{s_2}{K_{s2} + s_2 + \frac{s_2^2}{K_{i2}}} \end{aligned}$$

y los parámetros de la Tabla 3

Parámetros			Parámetros			Condiciones iniciales batch		
$k_1$	42.14	gg <sup>-1</sup>	$\mu_{1max}$	1.2	d <sup>-1</sup>	$x_1(0)$	1	gL <sup>-1</sup>
$k_2$	116.5	mmolg <sup>-1</sup>	$K_{s1}$	7.1	gL <sup>-1</sup>	$x_2(0)$	0.1	gL <sup>-1</sup>
$k_3$	268	mmolg <sup>-1</sup>	$\mu_{2max}$	0.74	d <sup>-1</sup>	$s_1(0)$	2	gL <sup>-1</sup>
$k_6$	453.0	mmolg <sup>-1</sup>	$K_{s2}$	9.28	mmolL <sup>-1</sup>	$s_2(0)$	4	mmolL <sup>-1</sup>
$s_{1in}$	10	gL <sup>-1</sup>	$K_{i2}$	256	mmolL <sup>-1</sup>			
$s_{2in}$	100	mmolL <sup>-1</sup>						

Tabla 3: Parámetros proceso III

(IV) Metabolismo oxido/fermentativo de *Saccharomyces cerevisiae*:

donde  $S$  es la fuente de carbono y energía (FCE),  $O$  es el oxígeno disuelto,  $X$  la biomasa,  $E$  es el etanol y  $P$  es el dióxido de carbono disuelto.

Los modelos cinéticos por su parte son:

$$\begin{aligned}
 q_1 &= \min(q_s, \frac{q_o}{k_5}) \\
 q_2 &= \max(0, q_s - \frac{q_o}{k_5}) \\
 q_3 &= \max(0, \min(q_e, \frac{q_o - k_5 q_s}{k_6}))
 \end{aligned}$$

donde

$$\begin{aligned}
 q_s &= q_s^{max} \frac{s}{s + K_s} \\
 q_o &= q_o^{max} \frac{o}{o + K_o} \\
 q_e &= q_e^{max} \frac{e}{e + K_e} \frac{s}{s + K_i}
 \end{aligned}$$

y los parámetros de la Tabla 4

Parámetros			Parámetros			Condiciones iniciales batch		
$k_1$	0.49	$\text{gg}^{-1}$	$q_s^{max}$	3.5	$\text{h}^{-1}$	$x_1(0)$	1	$\text{gL}^{-1}$
$k_2$	0.05	$\text{gg}^{-1}$	$K_s$	0.1-0.5	$\text{gL}^{-1}$	$s_1(0)$	10	$\text{gL}^{-1}$
$k_3$	0.72	$\text{gg}^{-1}$	$q_o^{max}$	256	$\text{mgg}^{-1} \text{h}^{-1}$			
$k_4$	0.510	$\text{gg}^{-1}$	$K_o$	0.1	$\text{mgL}^{-1}$			
$k_5$	1.067	$\text{gg}^{-1}$	$q_e^{max}$	0.236	$\text{h}^{-1}$	$s_{lin}$	10	$\text{gL}^{-1}$
$k_6$	2.087	$\text{gg}^{-1}$	$K_e$	0.1	$\text{gL}^{-1}$			
			$K_i$	0.1	$\text{gL}^{-1}$			

Tabla 4: Parámetros proceso III

## Ejercicio 1:

- (a) Tomando como variables de estado a las concentraciones de cada compuesto, obtener las ecuaciones diferenciales de cada proceso y su expresión matricial. Considerar caudales de alimentación ( $F_{in}$ ) y de extracción ( $F_{out}$ ) de medio de cultivo no nulos. Considere concentraciones de alimentación de sustratos no nulas. En esta etapa puede asignar un valor constante al oxígeno disuelto, como si estuviese siendo regulado de forma perfecta.

- (b) Para los dos primeros procesos, encontrar la ecuación diferencial de la masa de microorganismos ( $X$ ). Considerar operación Fed-Batch ( $F_{in} \neq 0, F_{out} \neq 0$ ).

**Ejercicio 2:** Para el modelo del proceso I:

- (a) Simule la operación batch. Verifique el crecimiento exponencial y el correspondiente decremento de la FCE. Verifique también si  $\mu(t)$  es constante y máxima.
- (b) Simule la operación batch con  $n(0) = 1 \text{ g/l}$ . ¿Qué puede decir de la validez del modelo en esta condición?
- (c) Simule la operación fed-batch con  $F_{in} = cte$ . Verifique el crecimiento lineal y que no haya acumulación de sustrato. Compare  $X(t)$  con  $x(t)$ . ¿Qué valores toma  $\mu(t)$ ?
- (d) Simule la operación continua, evaluando diversos valores de  $D$ . Verifique si los puntos de equilibrio alcanzados son los predichos con el modelo.

**Ejercicio 3:**

Para el modelo del proceso II:

- (a) Simule la operación batch y verifique los perfiles temporales de los estados, en particular el crecimiento.
- ¿Cómo es la formación de producto y  $q_p$ ?
  - ¿Es  $\mu(t)$  constante y máximo?
  - Mientras hay exceso de FN, ¿se puede simplificar de alguna forma el modelo?
- (b) Simule la operación fed-batch a partir del momento en que  $n(t) = 0 \text{ g/l}$ . Para esto alimente solamente FCE con un caudal constante.
- Verifique que no se produzca crecimiento, pero sí producto.
  - ¿Por qué el producto no se genera exponencialmente?
- (c) Simule la operación fed-batch con alimentación exponencial. Elija si desea hacerlo para generar crecimiento ( $n_{in} = 5 \text{ g/l}$ ) o producción de PHB ( $n_{in} = 0 \text{ g/l}$ ).
- Verifique que no se produzca crecimiento, pero sí producto.
  - ¿Por qué el producto no se genera exponencialmente?
- (d) Simular la operación continua alimentando FCE y FN mediante el mismo caudal y  $n_{in} = 5 \text{ g/l}$ .
- Evalúe diversos valores de  $D$  (uno por simulación). Grafique los valores de estado estacionario de cada estado en función de  $D$ .
  - ¿Existen condiciones iniciales que hacen que el sistema sea inestable?

Tener en cuenta que para un modelo Haldane la tasa específica óptima se da para una concentración de  $\sqrt{K_s K_i}$ .

**Ejercicio 4:**

Para el modelo del proceso III, simular la operación continua:

- (a) Solamente con el fin de estudiar el modelo, simule la operación batch del proceso.

- Que valores toman las tasas de crecimiento de cada grupo de microorganismos.
- (b) Simule la operación continua Utilizando diversos valores de  $D$  ( $D < 0,74\text{h}^{-1}$ ,  $D > 0,74\text{h}^{-1}$ , etc.).
- Verifique la supervivencia de ambas especies de microorganismos. ¿Existen condiciones en las que solamente un grupo sobrevive?
  - Grafique las concentraciones de estado estacionario en función de  $D$ . Verifique el efecto cualitativo de  $D$  sobre las concentraciones de estado estacionario de todas las variables de estado, sin que se produzca wash-out de microorganismos.
  - Agregue un factor  $\alpha$  multiplicando a  $D$  en las ecuaciones de los microorganismos para representar la retención de biomasa y compare con los resultados de simulación obtenidos sin retención.
- (c) Solamente con el fin de estudiar el modelo, simule la operación batch del proceso con alimentación exponencial buscando un crecimiento exponencial de las bacterias acidogénicas ( $X_1$ ).

**Ejercicio 5:** Para el modelo del proceso IV:

- (a) Simule la operación batch.
- Verifique el crecimiento exponencial y el correspondiente decremento de la FCE.
  - Verifique también si  $\mu(t)$  (o  $q_s$ ) es constante y máxima durante toda la etapa.
- (b) Simule la operación fed-batch con  $F_{in} = cte$ .
- Verifique el crecimiento lineal y que no haya acumulación de sustrato.
  - Compare  $X(t)$  con  $x(t)$ .
  - ¿Qué valores toma  $\mu(t)$ ?
- (c) Simule la operación Fed-Batch con alimentación exponencial y verifique el seguimiento del perfil deseado.
- (d) Simule el cultivo continuo para diversos valores de dilución.
- Grafique los valores de estado estacionario de cada concentración en función de  $D$ .
  - Analice el comportamiento observado. ¿Puede simplificarse el modelo en alguna condición?