

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

EVALUACIÓN Y REDISEÑO DEL SISTEMA DE CALENTAMIENTO Y ENFRIAMIENTO DEL BIORREACTOR LiFlus GX

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL SISTEMA DE ACONDICIONAMIENTO DE TEMPERATURA DEL BIORREACTOR TIPO TANQUE AGITADO LiFlus GX

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA QUÍMICA**

STEPHANIE GABRIELA PANCHI PURUNCAJAS

stephanie.panchi@epn.edu.ec

DIRECTOR: MARÍA AUGUSTA PÁEZ LARA

maria.paez@epn.edu.ec

DMQ, febrero 2023

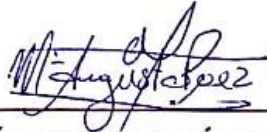
CERTIFICACIONES

Yo, STEPHANIE GABRIELA PANCHI PURUNCAJAS declaro que el trabajo de integración curricular aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.



STEPHANIE GABRIELA PANCHI PURUNCAJAS

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por STEPHANIE GABRIELA PANCHI PURUNCAJAS, bajo mi supervisión.



MARÍA AUGUSTA PÁEZ LARA
DIRECTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el (los) producto(s) resultante(s) del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

STEPHANIE GABRIELA PANCHI PURUNCAJAS

MARÍA AUGUSTA PÁEZ LARA

DEDICATORIA

Para todas las mujeres de mi familia que no tuvieron la oportunidad de estudiar, pero que confiaron en que sus hijas llegarían lejos.

Y, para May, porque este sueño era nuestro.

AGRADECIMIENTO

A mis padres, Beatriz y Wilson, por su apoyo en este largo camino. Este logro no habría sido posible sin mi madre. Gracias por cuidarme en todo momento y creer en mí siempre. Y a mis hermanitos, Nathaly y Andrés, por las risas y el cariño que me ayudaron a sobrellevar los días difíciles.

Gracias a Grace y May, que me acompañaron durante los primeros semestres, y, aunque la vida nos puso en caminos diferentes, siempre recuerdo los momentos que pasamos juntas.

Gracias a mi mejor amigo, Kevin. Sin las risas, las conversaciones y los consejos, jamás habría sobrevivido a este trágico, pero divertido viaje. Sé que en el futuro celebraremos muchos más logros juntos.

Gracias a mis amigas de toda la vida: Carlita, Nicole, Karen, Pame, Mish, Daisy, Kathy y Poleth, por entender cuando no tenía tiempo, y por siempre estar cuando las necesitaba. Jamás me sentí más reconfortada que cuando pasaba tiempo a su lado.

Gracias a Raúl, porque incluso antes de lograrlo ya estaba orgulloso de mí. En estos últimos años has sido mi roca, mi hogar y mi lugar seguro, gracias por tu infinita ternura y por darme calma en los momentos más duros, por entender y ordenar mi desastre.

Finalmente, gracias a todos mis profesores, que durante estos últimos años me dieron las herramientas para enfrentarme al mundo y enorgullecer a la Escuela Politécnica Nacional. Gracias por enseñarme todo lo maravilloso de esta profesión. Sobre todo, gracias a la Ing. María Augusta Páez por su dirección en este trabajo y por ser la mejor docente de balance de energía, no habría llegado a la meta sin esos valiosos conocimientos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1 DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO.....	1
1.1 Objetivo general.....	1
1.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Alcance	2
1.4 Marco teórico	2
1.4.1 Fase de adaptación de los microorganismos.....	2
1.4.2 Sistemas de acondicionamiento de temperatura en biorreactores STR	7
1.4.3 Comportamiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en presencia de oxígeno.....	10
2 METODOLOGÍA.....	12
2.1 Formulación del modelo matemático	12
2.2 Determinación de las dimensiones geométricas del biorreactor LiFlus GX.....	12
2.3 Determinación de los coeficientes globales de transferencia de calor en el biorreactor LiFlus GX.....	13
2.4 Validación del modelo matemático.....	16
2.4.1 Fermentaciones aerobias con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
2.4.2 Determinación e incorporación de parámetros cinéticos al modelo matemático	17
2.4.3 Determinación de la potencia de la niquelina.....	18
3 RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	20
3.1 Modelo matemático para el comportamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura en el biorreactor LiFlus GX	20
3.1.1. Configuración del biorreactor LiFlus GX	20
3.1.2. Descripción matemática del crecimiento microbiano con la influencia de la temperatura	24
3.1.3 Descripción matemática del comportamiento de la temperatura en los sistemas del biorreactor	25
3.2 Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura propuesto por el fabricante	27
3.3 Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura con agua de calentamiento y sin neopreno.....	30

3.4	Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura con agua de calentamiento y neopreno	33
3.5	Conclusiones.....	38
3.6	Recomendaciones	38
4	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
5	ANEXOS.....	42
	ANEXO I	43
	ANEXO II	44
	ANEXO III	45
	ANEXO IV.....	46
	ANEXO V.....	55
	ANEXO VI.....	57
	ANEXO VII.....	59
	ANEXO VII.....	63
	ANEXO VIII.....	67

RESUMEN

El biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX ubicado en el Laboratorio de Bioprocesos posee un sistema de acondicionamiento de temperatura ineficiente, lo que evita que durante la fase de adaptación un microorganismo alcance su temperatura óptima de crecimiento. En este trabajo se evalúa el desempeño del sistema de acondicionamiento de temperatura en el biorreactor mediante modelado matemático con la incorporación de agua de calentamiento y un aro de neopreno como aislante en la chaqueta.

Se midieron las dimensiones del equipo para establecer parámetros de operación como área de transferencia de calor, volumen de trabajo y potencia de agitación. Se analizó el comportamiento de la niquelina como actuador del sistema de acondicionamiento para establecer su capacidad operativa. El modelo matemático se formuló en el contexto de un proceso fermentativo aerobio y se validó mediante pruebas experimentales con *Saccharomyces cerevisiae* marca DistilaMax® en un medio de YPD al 5 % de glucosa.

Se determinó que sin fluido de calentamiento el espacio entre la chaqueta y el recipiente de vidrio es un reservorio de aire que actúa como aislante térmico y expone a la resistencia a sobrecalentamiento. El agua de calentamiento permite el desarrollo de fermentaciones a temperatura óptima con duración de 450 min sin interrupciones y con la niquelina operativa con 0,21 % de su capacidad. La fase de adaptación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, donde el efecto de la temperatura es marcado, se describe con mayor aproximación mediante el modelo de Hills y Wright, con una desviación de apenas 4,25 % cuando no se utilizó empaque de neopreno y del 4,60 % cuando sí se lo utilizó. Además, el uso del empaque de neopreno minimiza las pérdidas de calor, y en consecuencia reduce el tiempo de la fase de latencia en 30 min.

PALABRAS CLAVE: acondicionamiento de temperatura, fermentación aerobia, *Saccharomyces cerevisiae*, modelo matemático.

ABSTRACT

The LiFlus GX stirred tank bioreactor located in the Bioprocess Laboratory has an inefficient temperature conditioning system, which prevents a microorganism from reaching its optimum growth temperature during the adaptation phase. In this work, the performance of the temperature conditioning system in the bioreactor is evaluated through mathematical modeling with the incorporation of heating water and a neoprene ring as insulation in the jacket.

The dimensions of the equipment were measured to establish operating parameters such as heat transfer area, work volume and stirring power. The behavior of nickeline as an actuator of the conditioning system was analyzed to establish its operational capacity. The mathematical model was formulated in the context of an aerobic fermentative process and validated through experimental tests with *Saccharomyces cerevisiae* brand DistilaMax® in a YPD medium at 5% glucose.

It was determined that without heating fluid, the space between the jacket and the glass container is an air reservoir that acts as a thermal insulator and exposes the resistance to overheating. The heating water allows the development of fermentations at optimum temperature with a duration of 450 min without interruptions and with operative nickeline with 0.21% of its capacity. The adaptation phase of the *Saccharomyces cerevisiae* yeast, where the effect of temperature is marked, is more closely described by the Hills and Wright model, with a deviation of only 4.25 % when neoprene packing was not used, and the 4.60% when it was used. In addition, the use of neoprene packing minimizes heat losses, and consequently reduces the lag phase time by 30 min.

KEYWORDS: temperature conditioning, aerobic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, mathematical model.

1 DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO

El biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX ubicado en el Laboratorio de Bioprocesos tiene una capacidad nominal de 2,5 L; está conformado por un tanque de vidrio, un cabezal para la incorporación de sensores de pH, oxígeno disuelto y temperatura, un sistema de agitación triple, y un aspersor de aire tipo anillo con orificios.

El equipo permite un control de temperatura en un rango de 8 °C a 80 °C (Hanil Scientific Inc, 2021); sin embargo, durante la puesta en marcha se evidenció este control resulta ineficiente. Para el calentamiento se emplea una chaqueta metálica con una resistencia eléctrica que, en principio, tiene la función de transferir calor y permitir que el contenido del tanque alcance temperaturas entre 30 °C y 37 °C, que es el rango dentro del que ocurren la mayoría de las fermentaciones (Doran, 2013; Palomo, 2017). No obstante, al no permitir la circulación de un fluido de calentamiento, se convierte en un reservorio de aire que actúa como aislante.

Por otra parte, la cinética de crecimiento microbiano puede estudiarse en sus cuatro fases: adaptación, exponencial, estacionaria y muerte. Es en la fase de adaptación donde se introduce un inóculo en un medio de cultivo y la célula sintetiza nuevos componentes, replica su ADN y se prepara para duplicarse; para ello, requiere de concentraciones de nutrientes y condiciones ambientales específicas (Prescott et al., 2004).

Microorganismos como las levaduras requieren de fuentes de carbono orgánico, nitrógeno, oxígeno y otros minerales, así como un pH y temperatura adecuados para un crecimiento óptimo. La levadura de panificación del género *Saccharomyces cerevisiae*, es capaz de utilizar glucosa como medio de crecimiento con un tiempo de duplicación aproximado de 2 horas cuando se alcanza una temperatura óptima de 30 °C; de otro modo, su crecimiento se ve limitado (Aguilar et al., 2015; Doran, 2013; Prescott et al., 2004).

En este sentido, el diseño del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor LiFlus GX evita que durante la fase de adaptación se alcance la temperatura óptima para el crecimiento microbiano y, por consiguiente, se limita su aplicación para fermentaciones que logren un desempeño satisfactorio a temperatura ambiente.

1.1 Objetivo general

Evaluar el desempeño del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX ubicado en el Laboratorio de Bioprocesos.

1.2 Objetivos específicos

- Plantear un modelo matemático que describa el comportamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX en ausencia y cuando se utiliza agua a temperatura de ebullición como fluido de calentamiento.
- Analizar el efecto de la ineficiencia del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor en el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Validar el modelo matemático a través de pruebas experimentales de crecimiento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* en el biorreactor.

1.3 Alcance

Para evaluar el desempeño del biorreactor se medirán las dimensiones del equipo relacionadas con el tanque, los agitadores y la chaqueta para establecer parámetros de operación como área de transferencia de calor, volumen de trabajo y potencia de agitación. Se formulará un modelo matemático que represente el intercambio de calor que existe entre el sistema de calentamiento y el tanque agitado durante el crecimiento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae*, sin la circulación de un fluido de calentamiento y sin activar el control automático de temperatura. Luego, se incorporará al modelo matemático la influencia de agua a temperatura de ebullición como fluido de calentamiento. Los perfiles dinámicos de temperatura se validarán mediante la comparación con resultados de pruebas experimentales de crecimiento microbiano con *Saccharomyces cerevisiae* utilizando glucosa como sustrato en el biorreactor LiFlus GX sin activación de control automático de temperatura y con fluido de calentamiento.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Fase de adaptación de los microorganismos

El ciclo completo de crecimiento de la población microbiana puede representarse mediante su *curva de crecimiento*, que incluye cuatro fases: adaptación o latencia, exponencial, estacionaria y de muerte.

Durante la fase de latencia, el microorganismo es colocado en el medio de cultivo, no hay aumento de células inmediato, pero no deja de ser un proceso activo en el que se sintetizan componentes, se replica ADN y la masa de las células incrementa para finalmente permitir su reproducción. Cuando las células alcanzan la fase exponencial se duplican en intervalos regulares mientras tengan sustrato disponible; una vez que este se agota, la población microbiana entra en fase estacionaria, en donde no se produce aumento o disminución del número de células aunque los procesos de biosíntesis pueden continuar a velocidad reducida. Finalmente, para completar el ciclo de crecimiento, el microorganismo entra en fase de muerte (Blach y Clark, 1996; Madigan et al., 2015).

Factores que afectan la fase de adaptación

La fase de latencia puede ser un intervalo breve o extenso, algunos factores que pueden afectar su duración son la temperatura, la composición del medio y el estado fisiológico del microorganismo.

Todos los microorganismos requieren de fuentes de energía y nutrientes para llevar a cabo sus funciones vitales y elaborar componentes celulares; además de carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno, fósforo, entre otros macro y micronutrientes. Al modificar las concentraciones de nutrientes se origina un desequilibrio en el crecimiento celular, por lo que el microorganismo debe regular o modificar su metabolismo para ser capaz de multiplicarse durante la fase exponencial, esto significa que el tiempo de duración de la fase de adaptación se prolonga (Prescott et al., 2004). Respecto al estado fisiológico, este se refiere a la condición en la que el microorganismo puede realizar sus funciones celulares con normalidad. Un inóculo que se encuentra en un medio de cultivo rico en nutrientes, a temperatura y pH óptimos requiere un tiempo de adaptación menor; sin embargo, un inóculo con pocas células viables, que contiene células dañadas por agentes como altas o bajas temperaturas, radiación o sustancias tóxicas, prolongará la fase de latencia (Madigan et al., 2015).

Influencia de la temperatura y el tamaño del inóculo en la duración de la fase de adaptación

En 1993, Shelford estableció que un organismo se puede desarrollar dentro de los límites ambientales que está capacitado para tolerar y su habilidad para subsistir depende no solo de su ambiente, sino de sus características propias. De acuerdo con la Ley de la tolerancia de Shelford, un microorganismo no puede sobrevivir o crecer si supera los límites de sus factores ambientales, incluso si tiene un suministro disponible de nutrientes. Estos límites determinan un rango de tolerancia que adopta una forma parabólica como se muestra en

la Figura 1.1, en donde se observa que los extremos de la curva corresponden a los límites inferior y superior respectivamente, y el máximo corresponde al valor óptimo (Gazzano y Grafr, 2006).

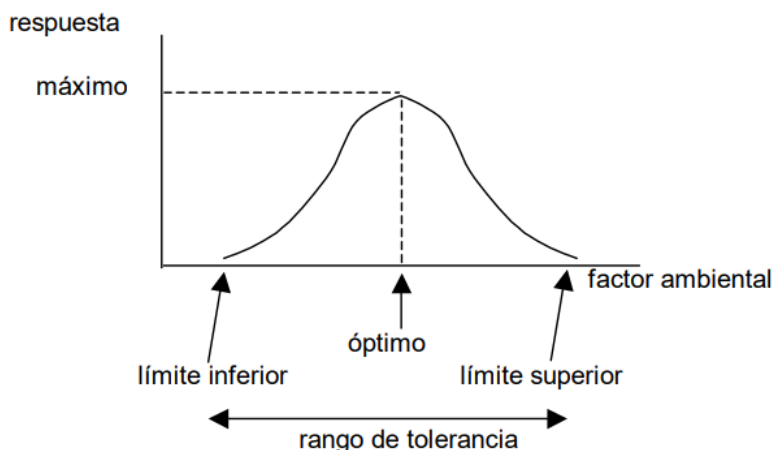


Figura 1.1. Respuesta de un organismo a la variación de un factor ambiental

Un factor ambiental que afecta a los microorganismos es la temperatura, ya que compromete la integridad de su membrana celular semipermeable y la termosensibilidad de las enzimas que operan dentro de la célula. Altas temperaturas desnaturalizan enzimas y proteínas transportadoras, la bicapa lipídica puede fundirse hasta desintegrarse; en contraste, bajas temperaturas gelifican la membrana celular y las enzimas ralentizan sus funciones pero su composición química y estructura no necesariamente se ve afectada (Prescott et al., 2004; Walsh y Martin, 1977).

Debido a esta dependencia con la temperatura, existen valores cardinales: mínima, óptima y máxima que en el caso particular de las levaduras son 1-3 °C, 28-30 °C y 40 °C respectivamente. Cuando el inóculo es colocado en un medio en condiciones de temperatura mínima, el tiempo de fase de adaptación se prolonga, mientras que cuando se opera a temperaturas máximas la duración de la fase se reduce, pero exceder esta temperatura resulta letal (Salvadó et al., 2011).

El tamaño del inóculo por su parte afecta la duración de la fase de latencia, que se extiende o reduce cuando existe una alta o baja densidad de células respectivamente. Tahir et al. (2010) menciona que en procesos fermentativos a escala industrial el inóculo influye el rendimiento de biomasa y la calidad del producto. Así, un inóculo de 3 % (v/v) es suficiente para un crecimiento rápido de la levadura con un rendimiento de producto máximo; sin embargo, inóculos mayores al 5 % (v/v) no presentan mejoras considerables. Además,

concentraciones de biomasa inicial elevadas agotarían mucho más rápido los nutrientes del medio (Bidlas et al., 2008; de Albuquerque et al., 2014).

Modelos para describir la fase de adaptación

Los parámetros utilizados para describir matemáticamente la fase de adaptación son la duración de la fase de adaptación (λ) y el estado fisiológico del inóculo (q_0). Para determinarlos se han propuesto varios modelos. Los primeros modelos surgieron de curvas sigmoideas empíricas, posteriormente, se formularon modelos más complejos basados en fenómenos estocásticos. En la práctica, los modelos determinísticos resultan interesantes debido a que poseen parámetros con significado biológico, y se prefieren porque pueden ser fácilmente validados (Baty y Delignette-Muller, 2004).

- *Modelos sigmoideos*

Se usaron para describir el incremento del logaritmo de la densidad celular en el tiempo, el modelo más conocido es el Logístico de Gompertz. El principal inconveniente con las curvas sigmoideas es que poseen un punto de inflexión que resulta inapropiado para describir la fase de crecimiento exponencial (Baty y Delignette-Muller, 2004).

- *Modelos con una función de ajuste*

Son modelos semi-empíricos, como el propuesto por Baranyi et al. (1993) y que está basado en la ecuación diferencial a continuación.

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{max} \alpha(t) f(x) x$$

Ecuación 1.1. Modelo con función de ajuste para la fase de adaptación

Donde $\alpha(t)$ es la función de ajuste que describe la adaptación de los microorganismos cuando son colocados en un nuevo medio. $f(x)$ es la función logística que describe la transición de la fase de crecimiento exponencial a la fase estacionaria por inhibición de sustrato. q_0 representa el estado fisiológico del inóculo y x la concentración de biomasa.

$$\alpha(t) = \frac{q_0}{q_0 + (e^{-\mu_{max} \lambda})}$$

Ecuación 1.2. Relación matemática para la función de ajuste en la fase de adaptación

$$f(x) = 1 - \frac{x}{x_{max}}$$

Ecuación 1.3. Función logística para inhibición de crecimiento por sustrato

- *Modelos compartimentales*

Hills y Wright (1994) desarrollaron un modelo celular estructurado para la fase de latencia con 2 compartimentos, que permite diferenciar entre la generación de biomasa y el número de células viables. Los autores establecen que la fase de adaptación es una consecuencia de los fenómenos intracelulares.

Al añadir más sustrato a un microorganismo que está por agotarlo, se observa un aumento inmediato de la masa celular, pero el incremento de la síntesis de ADN y de número de células no se generan a la misma velocidad. Es decir, cada célula tiene una cantidad de biomasa total (s^*), que considera una cantidad de biomasa mínima (s_{smin}) bajo la cual las células dejan de ser viables, y un exceso de biomasa (s), dada por el incremento de la cantidad de AND, ARN, componentes estructurales y masa citoplasmática. En este sentido, para determinar la concentración de biomasa total de un cultivo microbiano (m) se debe multiplicar el número total de células del cultivo por la biomasa total por célula, tal como se muestra en la Ecuación 1.4 (Hills y Wright, 1994).

$$m = N s^* = N (s_{smin} + s)$$

Ecuación 1.4. Concentración de biomasa total de un cultivo microbiano

La biomasa mínima de la célula le permite su supervivencia, solo cuando la célula se encuentra en condiciones que satisfacen sus requerimientos nutricionales, el exceso de biomasa se utiliza para iniciar la replicación. Por ello, Hills y Wright asumen que, al inicio de la fase de latencia, la cantidad de biomasa por célula es mínima, y se incrementa al absorber nutrientes del medio y convertirlo en material no cromosómico (Baty y Delignette-Muller, 2004).

$$\frac{dx}{dt} = v \left(\frac{m - x}{x} \right) x t$$

Ecuación 1.5. Modelo compartimental de Hills y Wright para el crecimiento microbiano

Donde, v es la tasa de replicación de material cromosómico y m se calcula a partir de la Ecuación 1.6.

$$\frac{dm}{dt} = \mu_{max} m$$

Ecuación 1.6. Concentración de biomasa total de un cultivo microbiano

Donde, ν es la tasa de replicación de material cromosómico, y μ_{max} es la tasa de replicación de material no cromosómico.

- *Formulación unificada de modelos*

Aunque los modelos fueran formulados bajo hipótesis biológicas diferentes, son matemáticamente equivalentes, de modo que los modelos que describen la fase de latencia propuestos por Baranyi et al. (1993) y Hills y Wright (1994) se pueden escribir de forma similar, tal como se mostró en la Ecuación 1.1. En ambos casos, $\alpha(t)$ es la función que describe el ajuste del inóculo en el medio y $f(x)$ la función logística. Además, ν puede ser escribirse en función de μ_{max} debido a que representa la generación biomasa una vez concluida la fase de adaptación (Baty y Delignette-Muller, 2004). La Tabla 1.1 muestra la unificación de estos modelos.

Tabla 1.1. Formulación unificada de los modelos propuestos por Baranyi et al. (1993) y Hills y Wright (1994)

$\frac{dx}{dt} = \mu_{max} \alpha(t) f(x) x$		
Función	Baranyi et al. (1993)	Hills y Wright (1994)
De ajuste	$\alpha(t) = \frac{q_0}{q_0 + (e^{-\mu_{max} \lambda})}$ Donde: $q_0 = \frac{1}{(e^{\mu_{max} \lambda}) - 1}$	$\alpha(t) = \nu \left(\frac{m-x}{x} \right) x t$ Donde: $\nu = \frac{\mu_{max}}{e^{\mu_{max} \lambda} - 1}$
Logística	$f(x) = 1 - \frac{x}{x_{max}}$	$f(x) = 1 - \frac{x}{x_{max}}$

1.4.2 Sistemas de acondicionamiento de temperatura en biorreactores STR

El biorreactor tipo tanque agitado (STR) es un equipo que operan de forma discontinua y en el que se carga un medio de cultivo previamente esterilizado, éste se inocula y una vez que el sustrato se agota, se descarga. Este tipo de biorreactores consiste en un recipiente de vidrio o acero que contiene un agitador impulsado por un motor, cuando el proceso es aerobio, está provisto de un sistema de aireación que inyecta oxígeno al medio mediante aspersión. La combinación de agitación y burbujeo de aire debe ser lo suficientemente intensa para que las condiciones de velocidad de reacción y concentración sean

homogéneas dentro del recipiente. El equipo está provisto con deflectores que impiden la formación de vórtices; un sistema de calentamiento y enfriamiento; puertos para medidores de pH, temperatura y sensores oxígeno disuelto, conexiones para agentes antiespumantes e inóculo (García et al., 2011; Müller et al., 2018; Wang y Zhong, 2007).

Un punto importante para el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos dentro de biorreactores STR es la transferencia de calor. Durante la primera parte de la operación, cuando el microorganismo se adapta al medio, es necesario calentar para alcanzar la temperatura óptima de crecimiento, lo que se traduce en suministro de energía; luego, el microorganismo comienza a multiplicarse y su actividad metabólica genera calor de fermentación que debe ser removido para que la temperatura se mantenga constante (Müller et al., 2018).

En biorreactores de escala laboratorio se tiene una relación área/volumen mayor por lo que el calor perdido a través de las paredes es significativo, es decir, se requiere de sistemas de calentamiento eficientes (Doran, 2013; Müller et al., 2018). En la Figura 1.2 se muestran diferentes configuraciones para llevar a cabo el control de temperatura.

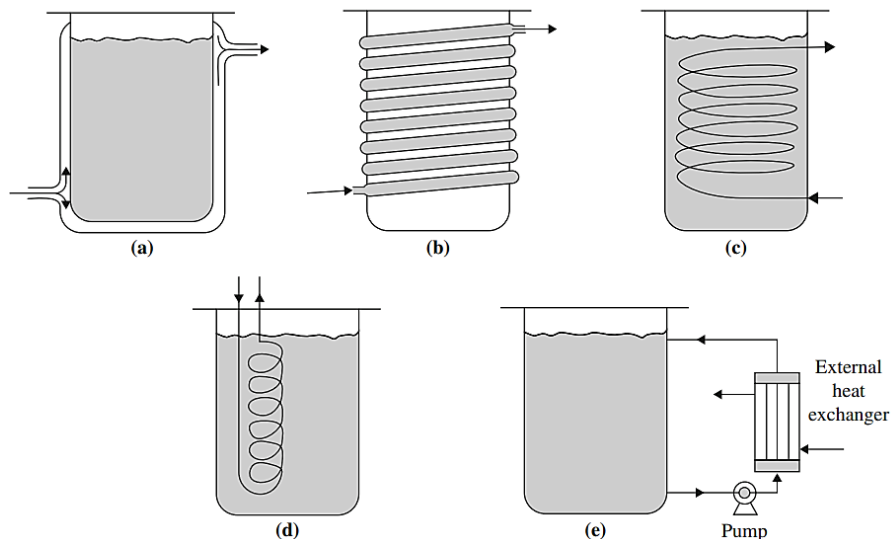


Figura 1.2. Configuraciones para transferencia de calor en biorreactores. (a) chaqueta (b) serpentín externo (c) serpentín interno (d) serpentín interno tipo deflector (e) intercambiador de calor externo (Doran, 2013)

La desventaja de las configuraciones internas es que interfieren con la agitación y dificultan la limpieza del biorreactor, por lo que se prefiere una chaqueta externa.

Actualmente, marcas como SOLARIS en su modelo GENESIS (Figura 1.3) presenta un tanque de doble pared, fabricado en vidrio de borosilicato, que funciona como una chaqueta

y en su interior circula un fluido que es calentado gracias a una placa de calentamiento eléctrica de acero inoxidable ubicada en la parte inferior.



Figura 1.3. Biorreactor serie GENESIS fabricado por Solaris (SOLARIS, 2022a)

Otra configuración que ofrece esta marca es el biorreactor JUPITER. Este equipo posee un tanque de vidrio de boro silicato cubierto por una chaqueta de acero inoxidable, con chaqueta doble (parte inferior) para una mayor eficiencia de transferencia de calor y un control óptimo de la temperatura. Además, permite esterilizar el medio in situ (SOLARIS, 2022b).

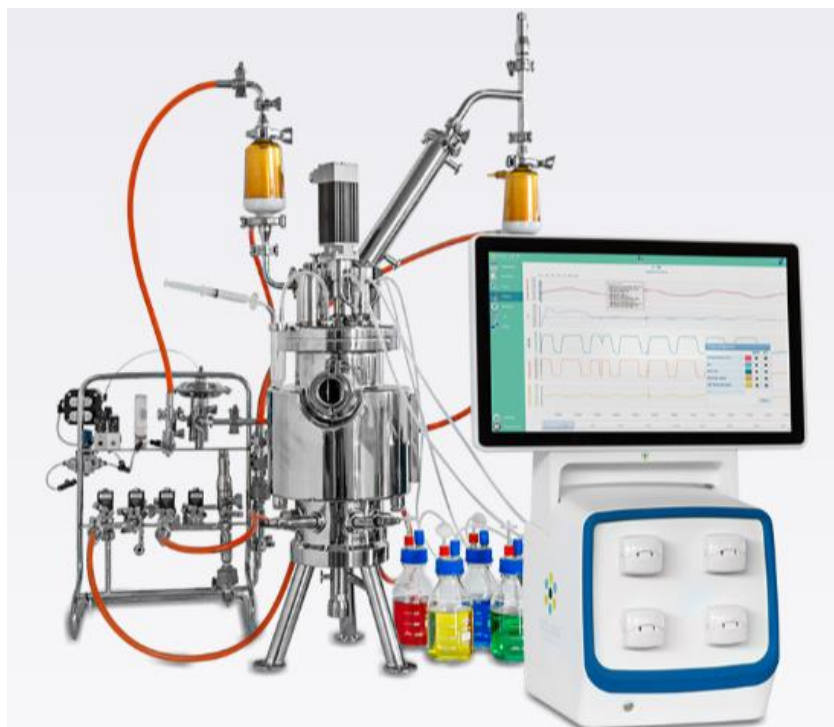


Figura 1.4. Biorreactor esterilizable in situ JUPITER (SOLARIS, 2022a)

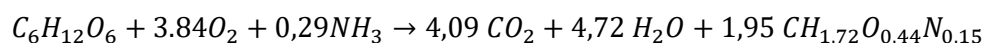
Independientemente de la configuración usada, el fluido de calentamiento que se prefiere es agua y los materiales de las partes que se encuentran en contacto con el medio son acero inoxidable AISI 316 y vidrio de borosilicato (Doran, 2013).

1.4.3 Comportamiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en presencia de oxígeno

La fermentación aerobia con *Saccharomyces cerevisiae* ocurre a una temperatura óptima de 30 °C (Zaldegui, 1975). A esta temperatura, Salvadó et al. (2011) reporta una velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}) igual a 0,36 h⁻¹. Las levaduras crecen favorablemente en sustratos con azúcares disponibles, el género *Saccharomyces cerevisiae* crece en un medio de YPD cuya composición por litro es de 1 % de extracto de levadura, 2 % de peptona y 2 % de glucosa; aunque esta última puede variar de acuerdo con el ensayo. La solución debe tener un pH de 6,5 y antes de ser inoculada debe ser esterilizada durante 15 min, a 121°C y 15 psi (Atlas, 2010).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es anaerobia facultativa. Cuando se encuentra en condiciones anaerobias (en ausencia de oxígeno) su ruta metabólica es la fermentación alcohólica; mientras que, bajo condiciones completamente aerobias (en presencia de oxígeno) cambia su metabolismo de fermentación a respiración, la finalidad de este proceso metabólico es la producción de energía para propiciar el crecimiento celular. La presencia de 0,5-1 % (v/v) de oxígeno en la corriente de aireación es suficiente para promover el crecimiento celular. Adicionalmente, se requiere de un sistema de agitación que permita una correcta difusión de las moléculas de oxígeno en el medio. Para fermentaciones aerobias las condiciones de aireación y agitación típicas son 1 – 2 VVM y 100 – 200 rpm respectivamente (Estela et al., 2012).

La presencia de oxígeno permite facilitar la oxidación completa de los sustratos orgánicos a dióxido de carbono (CO₂). Esta oxidación libera energía en forma de calor, conocido como calor de fermentación. La reacción que describe la fermentación aerobia de *Saccharomyces cerevisiae* en glucosa es la que se muestra en la Ecuación 1.7.



Ecuación 1.7. Rección para la fermentación aerobia de *Saccharomyces cerevisiae* que utiliza glucosa como sustrato (Nagai, 1979)

El calor de fermentación de esta reacción es $\Delta H_{fermentación} = 5,3 \frac{kcal}{g \text{ biomasa}}$ (Blach y Clark, 1996).

2 METODOLOGÍA

La evaluación del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX se trata de un estudio con enfoque mixto, de carácter cualitativo y cuantitativo, mediante el cual se analizó el comportamiento dinámico de la temperatura del medio de cultivo. Fermentaciones de crecimiento microbiano se llevaron a cabo con la presencia y ausencia de un empaque de neopreno para evitar evaporación del agua de calentamiento. Además, se dedujeron ecuaciones diferenciales y algebraicas para el desarrollo del modelo matemático que describa el sistema de acondicionamiento de temperatura, cuyos resultados se compararon con los datos experimentales mediante la desviación punto a punto con respecto al tiempo.

2.1 Formulación del modelo matemático

Para formular el modelo matemático se definieron dos sistemas: uno para el medio de cultivo y otro para el fluido de calentamiento en el espacio entre la chaqueta de calentamiento y el tanque. Se plantearon los balances de masa y energía en estado transitorio para cada uno de los sistemas. Luego, se revisó la consistencia dimensional de las ecuaciones y se realizó un análisis de los grados de libertad. Se evaluaron dos casos de estudio: con y sin empaque neopreno, y con dos modelos cinéticos para la fase de adaptación microbiana.

2.2 Determinación de las dimensiones geométricas del biorreactor LiFlus GX

Las dimensiones geométricas del biorreactor LiFlus GX referidas a la altura y diámetro del tanque y de la chaqueta de calentamiento fueron medidas con un flexómetro y un pie de rey. Con estas dimensiones fueron calculadas las áreas del fondo de la chaqueta y del tanque, a partir de las ecuaciones de volumen y área descritas en las reglas para la construcción de recipientes a presión de la Sección VIII – División 1 del Código Internacional ASME que se muestran en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Ecuaciones de volumen y área para el fondo de la chaqueta y del tanque (ASME, 2019)

Parámetro	Fondo de la chaqueta	Fondo del tanque
Forma curva	Elipsoidal	Toriesférica
Volumen	$0,13385 D_i^3$	$0,513 H_t D_i^2$
Área	$1,1713 D_i^2$	$0,9578 D_i^2$

Donde D_i es el diámetro interno y H_t la altura de la tapa

2.3 Determinación de los coeficientes globales de transferencia de calor en el biorreactor LiFlus GX

La transferencia de calor del medio de cultivo y del fluido de calentamiento, como sistemas bajo análisis, se definió mediante analogías con resistencias eléctricas como se muestra en la Figura 2.1.

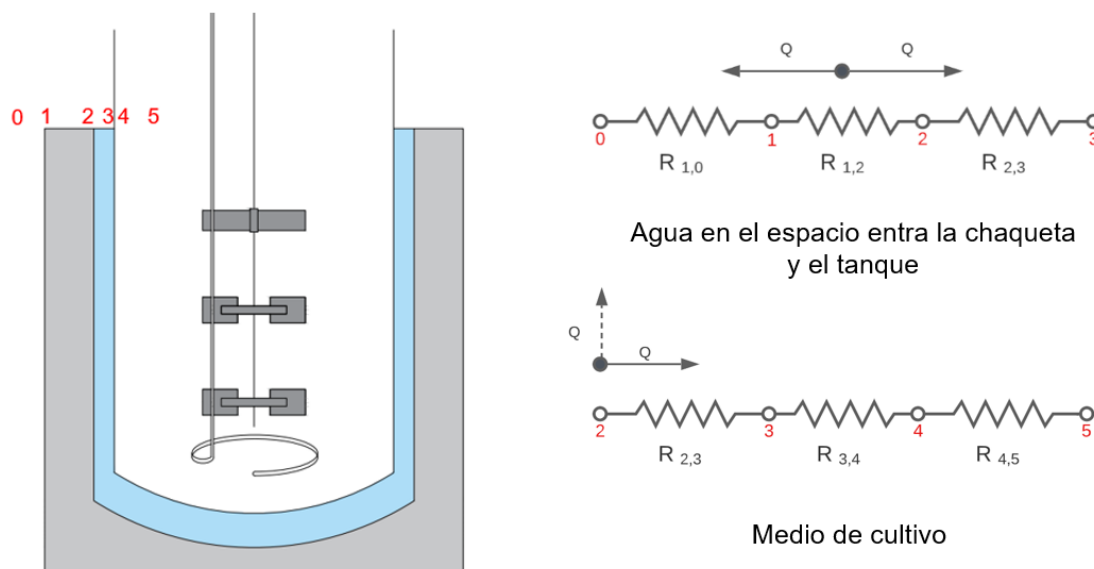


Figura 2.1. Analogía con resistencias eléctricas de la transferencia de calor en los sistemas bajo análisis

De esta manera en la Tabla 2.2 se sintetizan las resistencias a transferencia de calor por conducción y convección para cada sistema. Para evaluar el efecto del empaque de neopreno se consideró la pérdida de calor del agua al ambiente.

Tabla 2.2. Resistencias a la transferencia de calor con agua como fluido de calentamiento y con empaque de neopreno como aislante térmico

Sistema	Resistencias a la transferencia de calor
Medio de cultivo	$U_1 * A_1 = \frac{1}{\underbrace{\frac{1}{2\pi r_3 L_1 h_{conv1}}}_{R_{2,3}} + \underbrace{\frac{\ln\left(\frac{r_3}{r_4}\right)}{2\pi L_4 k_{vidrio}}}_{R_{3,4}} + \underbrace{\frac{1}{2\pi r_4 L_4 h_{conv2}}}_{R_{4,5}}}$ <p>R_{2,3}: Convección del agua en el espacio entre la chaqueta y el tanque R_{3,4}: Conducción a través de la pared de vidrio del tanque R_{4,5}: Convección en el medio de cultivo</p>
Agua de calentamiento	$U_2 * A_2 = \frac{1}{\underbrace{\frac{1}{2\pi r_1 L_1 h_{conv\ aire}}}_{R_{1,0}} + \underbrace{\frac{\ln\left(\frac{r_1}{r_2}\right)}{2\pi L_2 k_{acero}}}_{R_{1,2}} + \underbrace{\frac{1}{2\pi r_2 L_2 h_{conv1}}}_{R_{2,3}}}$ <p>R_{1,0}: Convección de la chaqueta al ambiente. R_{1,2}: Conducción a través de la pared de la chaqueta.</p>
Agua de calentamiento al ambiente (con neopreno)	$U_p = \frac{1}{\underbrace{\frac{1}{h_{conv\ aire\ 2}}}_{R_{2,0}} + \underbrace{\frac{L_{neopreno}}{k_{neopreno}}}_{R_n}}$ <p>R_{2,0}: Convección del agua al ambiente R_n: Conducción a través del neopreno</p>
Agua de calentamiento al ambiente (sin neopreno)	$U_p = \frac{1}{\frac{1}{h_{conv\ aire\ 2}}}$

U_i : coeficiente global de transferencia de calor, $h_{conv\ i}$: coeficiente de convección, k_i : conductividad térmica del material i , r_i : radio, L_i : longitud de la pared por la que existe transferencia de calor.

El coeficiente de transferencia de calor por convección dentro del tanque (h_{conv2}) se determinó con la Ecuación 2.1 que corresponde a la correlación propuesta por da Silva et al. (2017) en tanques con agitadores tipo Rushton. Esta ecuación incluye los números adimensionales de Nusselt (Nu), Reynolds (Re), Prandtl (Pr) y la relación entre las viscosidades del fluido agitado y de la pared externa de la superficie de transferencia de calor (V_i).

$$Nu = \frac{h_{conv2} L^*}{k} = 0,10 Re^{0,83} Pr^{0,33} Vi^{0,14}$$

Ecuación 2.1. Coeficiente de transferencia de calor por convección tanques con agitadores Rushton (da Silva et al., 2017)

Donde L^* se define como la relación volumen sobre área en contacto con el fluido o fuente de radiación y k es la conductividad térmica del medio de cultivo.

Por otra parte, los coeficientes de transferencia de calor por convección natural fueron calculados a partir de las correlaciones específicas que se presentan en la Tabla 2.3 para el número de Nusselt.

Tabla 2.3. Número de Nusselt para convección natural (Holman, 1999)

Coeficiente de convección	Correlación	Observaciones de la aplicación
h_{conv1}	$Nu = 0,046 (Gr Pr)^{1/3}$	Para convección natural en espacio cerrado Validez: $Gr Pr = 10^6 - 10^9$
$h_{conv aire}$	$Nu = 0,59 (Gr Pr)^{1/4}$	Para convección natural en espacio abierto Validez: $10^4 < Gr Pr < 10^9$
$h_{conv aire 2}$	$Nu = 0,68 + \frac{0,670 (Gr Pr)^{1/4}}{\left[1 + \left(\frac{0,492}{Pr}\right)^{9/16}\right]^{4/9}}$	Para convección natural en espacio abierto Validez: $Gr Pr < 10^9$
$h_{conv aire1}$	$Nu = 0,42 (Gr Pr)^{1/4} Pr^{0,012} \left(\frac{L}{\delta}\right)^{-0,3}$	Para convección natural en espacio cerrado Validez: $Gr Pr = 10^4 - 10^7$

Como parte de la evaluación se consideró el análisis del aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque. En la Tabla 2.4 se indican las resistencias a la transferencia de calor para este caso.

Tabla 2.4. Resistencias a la transferencia de calor con aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque

Sistema	Resistencias a la transferencia de calor
Medio de cultivo	$U_1 A_1 = \frac{1}{\underbrace{\frac{1}{2\pi r_3 L_1 h_{conv\ aire1}}}_{R_{2,3_aire}} + \frac{\ln\left(\frac{r_3}{r_4}\right)}{2\pi L_4 k_{vidrio}} + \frac{1}{2\pi r_4 L_4 h_{conv2}}}$ <p>$R_{2,3_aire}$: Convección del aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque</p>
Espacio de la chaqueta y el tanque	$U_2 * A_2 = \frac{1}{\frac{1}{2\pi r_1 L_1 h_{conv\ aire}} + \frac{\ln\left(\frac{r_1}{r_2}\right)}{2\pi L_2 k_{acero}} + \frac{1}{2\pi r_2 L h_{conv\ aire\ 1}}}$

Las dimensiones geométricas y los coeficientes globales de transferencia de calor en el biorreactor LiFlus GX se incorporaron al modelo matemático formulado y se revisó la consistencia dimensional.

2.4 Validación del modelo matemático

El modelo matemático que pretende evaluar el desempeño del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor LiFlus GX se validó en el contexto de crecimiento microbiano. Sin embargo, al tratarse de un proceso biotecnológico, parte de los datos para la resolución del modelo constituyeron los parámetros cinéticos de fermentación obtenidos experimentalmente.

2.4.1 Fermentaciones aerobias con *Saccharomyces cerevisiae*

Se realizó una verificación técnica del funcionamiento del biorreactor que incluyó pruebas con el sensor de temperatura, revisión de fugas en los puertos del cabezal y la parte inferior, y verificación del correcto funcionamiento del compresor y aspersor de aire. Luego, se llevaron a cabo fermentaciones con levadura seca activa comercial, cepa *Saccharomyces cerevisiae* marca DistilaMax® en 1 litro de medio YPD con glucosa al 5 %, previamente esterilizado en el autoclave BOYN Industrial. Se fijó la temperatura en 30 °C, con una velocidad de agitación de 200 rpm y una tasa de aireación de 1 VVM; con y sin empaque de neopreno que cubra el agua en el espacio entre la chaqueta de calentamiento y el tanque. En cada ensayo se tomaron muestras cada 30 min para determinar la generación de biomasa mediante OD a 600 nm, previa construcción de la curva de calibración en el

espectrofotómetro GENESYS 20 marca Thermo Spectronic (Ver Anexo I). El consumo de sustrato se determinó mediante el método DNS al inicio y al final de la fermentación. La temperatura del medio de cultivo se registró cada 15 min con el sensor del biorreactor; mientras que la temperatura del espacio entre la chaqueta de calentamiento y el tanque se registró con la termocupla digital portable Tipo K de la marca DIGI-SENSE también cada 15 min. En todos los casos, la fermentación se suspendió cuando la levadura ingresó a fase de crecimiento exponencial.

2.4.2 Determinación e incorporación de parámetros cinéticos al modelo matemático

Con los resultados de cada ensayo se determinó la velocidad de crecimiento específica máxima (μ_{max}) y la duración de la fase de adaptación (λ).

La duración de la fase de adaptación (λ) se estimó en forma geométrica como la intersección entre una línea tangente a la fase exponencial y una tangente horizontal a la fase de adaptación al tiempo inicial (t_0), como se ilustra en la Figura 2.2.

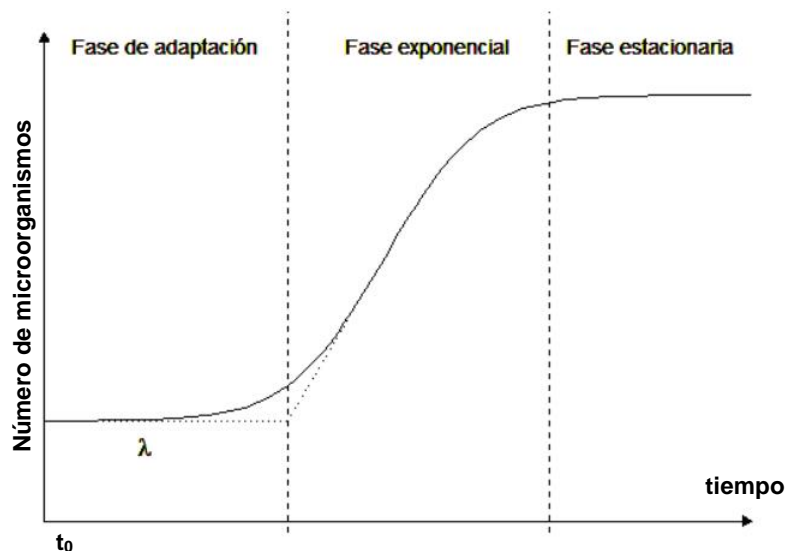


Figura 2.2. Definición geométrica de la duración de la fase de adaptación (Garre et al., 2016)

Por otro lado, debido a la dependencia directa de la velocidad de crecimiento específica máxima (μ_{max}) con la temperatura, se determinaron la energía de activación y el factor pre exponencial de la ecuación de Arrhenius, mediante la regresión lineal de $\ln(\mu_{max})$ versus $\left(\frac{1}{T}\right)$, aplicada a los datos de Salvadó et al. (2011) que se muestran en la Figura 2.3.

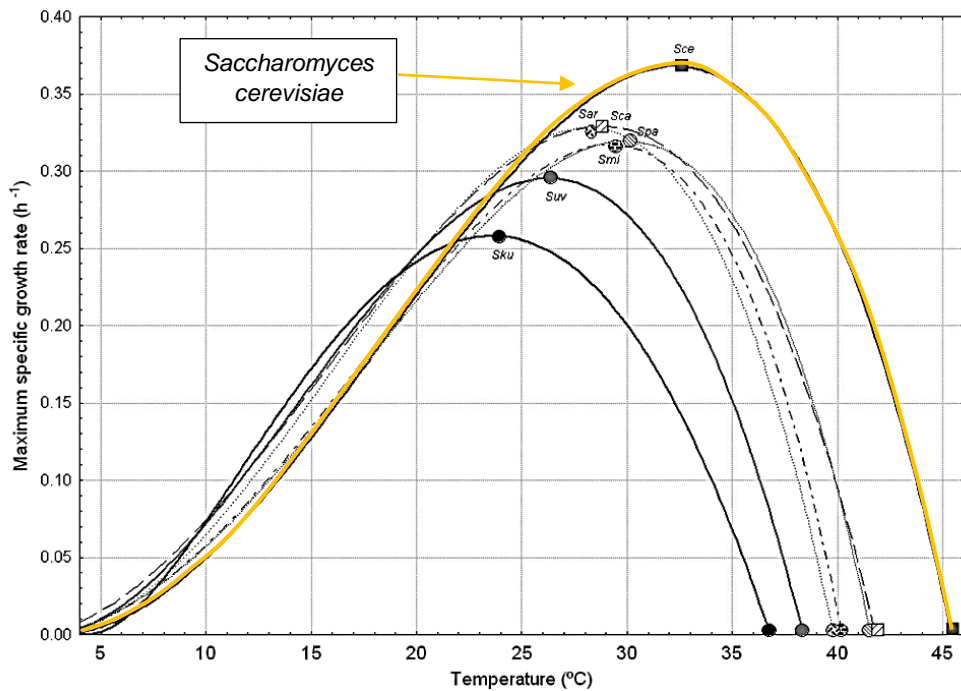


Figura 2.3. Dependencia de la constante de velocidad de crecimiento específica máxima con la temperatura (Salvadó et al., 2011)

Los parámetros cinéticos se incorporaron al modelo matemático que se implementó en el software MatLab R2018a. Todas las ecuaciones del modelo se depuraron y validaron mediante la verificación de la respuesta dinámica de generación de biomasa, temperatura del medio de cultivo y temperatura del agua en el espacio entre la niquelina y el tanque mediante el cálculo de la desviación en cada punto.

2.4.3 Determinación de la potencia de la niquelina

Para determinar la energía que puede entregar la niquelina, se colocaron 250 mL de agua a temperatura de ebullición en el espacio entre la niquelina y el tanque, se colocó agua en el tanque y se fijó la temperatura de set point en 30 °C, velocidad de agitación de 200 rpm, sin aireación. La temperatura del medio de cultivo se registró cada 10 segundos con el sensor del biorreactor durante 5 min.

La energía suministrada por la niquelina ($W_{niquelina}$) se determinó mediante el balance de energía en estado estacionario planteado en el agua de calentamiento.

$$W_{niquelina} = \frac{m_{H_2O_2}}{\Delta t} C_{p_{H_2O_2}} \Delta T_2 + U_1 A_1 (T_{ch1} - T_5)$$

Ecuación 2.3. Energía suministrada por la niquelina

Donde:

$m_{H_2O 2}$: es la masa de agua contenida en el espacio entre la chaqueta y el tanque

Δt : intervalo de tiempo en el ensayo, medido en segundos

ΔT_2 : diferencia entre la temperatura final y la inicial del agua de calentamiento en el intervalo de tiempo

U_1 : coeficiente global de transferencia de calor en el agua de calentamiento

A_1 : área de transferencia de calor del tanque

T_5 : temperatura del medio de cultivo

$W_{niquelina}$: energía que suministra la niquelina

T_{ch1} : temperatura de la chaqueta de calentamiento, que se obtiene a partir de la Ecuación 2.3 correspondiente al balance de energía del medio de cultivo en estado estacionario

$$Q_{medio} = \frac{m_{H_2O 2}}{\Delta t} C_{p_{H_2O 2}} \Delta T_1 = U_1 A_1 (T_{ch1} - T_5)$$

Ecuación 2.3. Balance de energía en estado estacionario en el medio de cultivo

Donde:

$m_{H_2O 1}$: masa de agua contenida en el tanque

ΔT_1 : diferencia entre la temperatura final y la inicial del agua en el tanque en el intervalo de tiempo

Así, a partir de los valores de voltaje y amperaje del relé de estado sólido marca RU US y luego de graficar $W_{niquelina}$ vs tiempo, se determinó la potencia real de la niquelina mediante la Ecuación 2.4 como un porcentaje del spam del fabricante.

$$W_{niquelina} = \%E I Volt$$

Ecuación 2.4. Energía real suministrada por la niquelina

Donde:

$\%E$: es el porcentaje de energía que puede entregar la niquelina

I: intensidad, 25 A.

Volt: diferencia del límite superior e inferior (spam) de voltaje, 24 - 240V.

3 RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1 Modelo matemático para el comportamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura en el biorreactor LiFlus GX

3.1.1. Configuración del biorreactor LiFlus GX

El biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX, cuyo esquema se muestra en la Figura 3.1, tiene una capacidad nominal de 2,5 L, está conformado por un tanque de vidrio, un cabezal para la incorporación de sensores de pH, oxígeno disuelto y temperatura y con un puerto que permite tomar muestras (Hanil Scientific Inc, 2021).

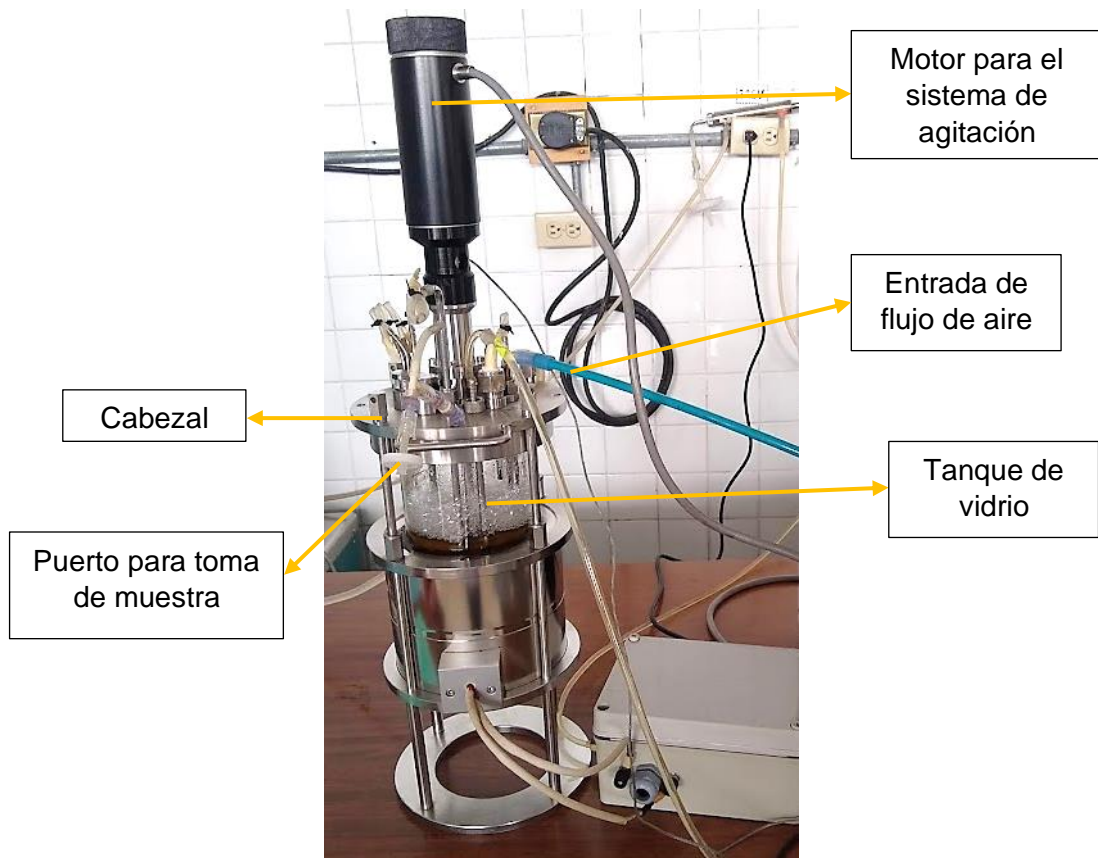


Figura 3.1. Esquema en perspectiva frontal del biorreactor LiFlus GX

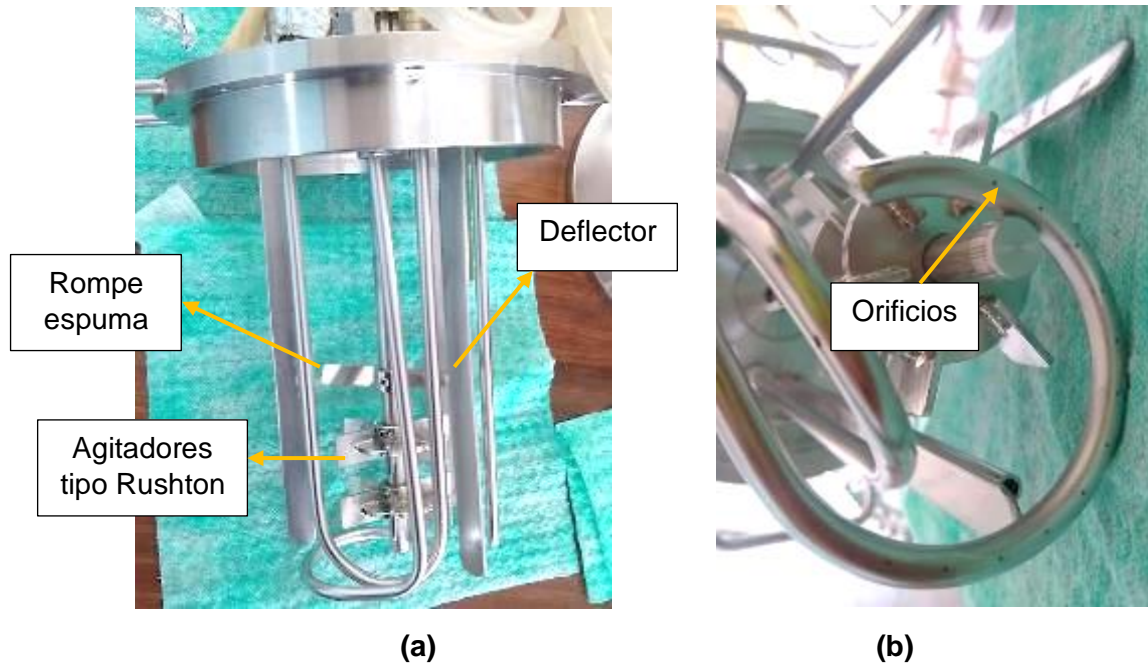


Figura 3.2. (a) Sistema de agitación y **(b)** Sistema de aireación del biorreactor Liflus GX

El sistema de agitación que se detalla en la Figura 3.2(a) está compuesto por dos agitadores de disco de seis paletas planas tipo Rushton, un rompe espuma de dos paletas y tres deflectores planos verticales. Por otro lado el sistema de aireación que se indica en la Figura 3.2 (b) consiste en un aspersion tipo anillo con 12 orificios ubicados en la parte inferior del anillo.

Para el acondicionamiento de temperatura, el biorreactor posee un controlador SI/NO cuyos componentes se muestran en la Figura 3.3, que se caracteriza por permitir únicamente dos señales de salida: encendido o apagado.

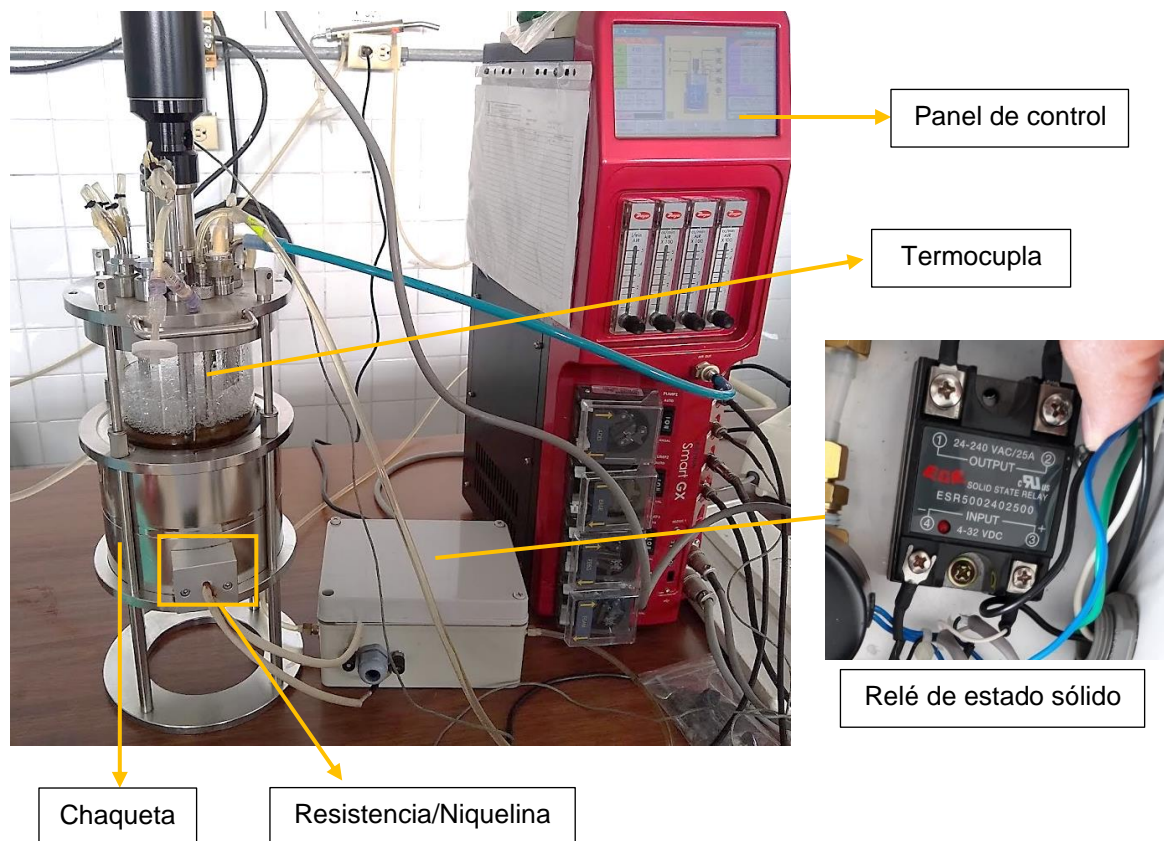


Figura 3.3. Componentes del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX

El sensor (termocupla) se ubica en el interior del tanque y capta la señal del proceso, que es transmitida y transformada a una señal digital para ser enviada al controlador (panel de control), que compara la temperatura medida con la de referencia (valor deseado o set point) para determinar el error. Luego, el controlador envía una señal al actuador (relé de estado sólido) que se enciende (“ON”) y permite paso de corriente eléctrica a través de la resistencia que se encuentra en la parte inferior de la chaqueta de calentamiento cuando la temperatura se encuentra por debajo del valor deseado (posición abierta). Cuando la temperatura alcanza el valor deseado el relé se apaga (“OFF”) y no permite el paso de corriente eléctrica (posición cerrada) (Creus, 2010).

El comportamiento del sistema de calentamiento del biorreactor puede describirse como normal cuando el trabajo suministrado por la niquelina exhibe una tendencia como la que se muestra Figura 3.4.

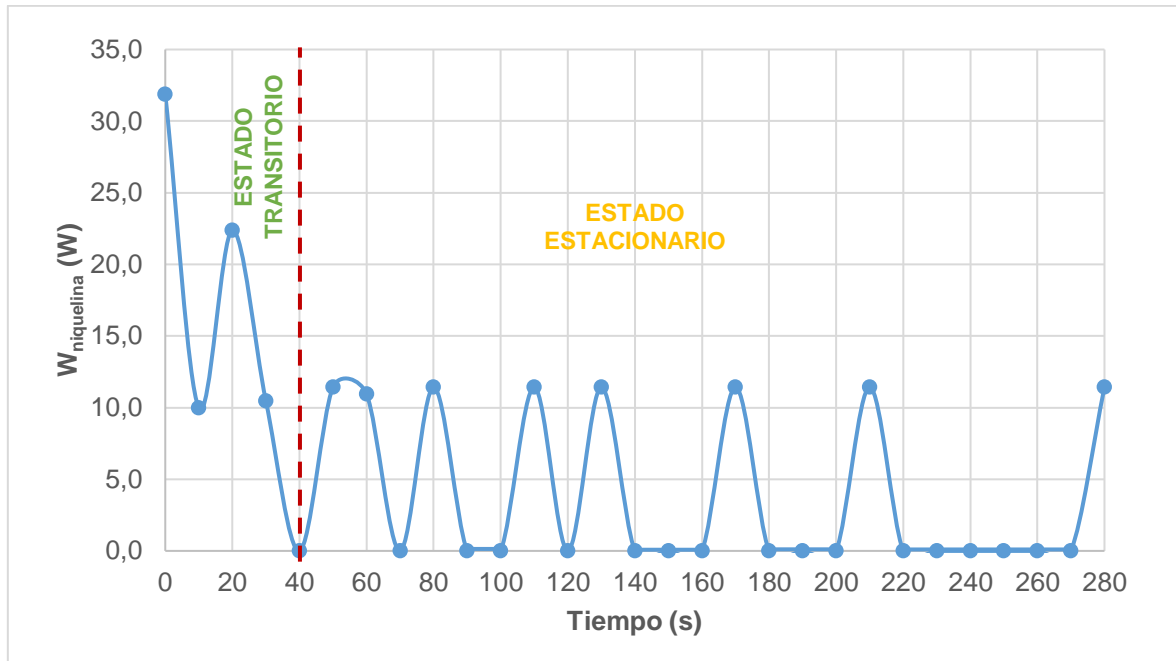


Figura 3.4. Trabajo suministrado por la niquelina en función del tiempo durante su comportamiento normal

Se observa que durante los primeros segundos, cuando el equipo se pone en marcha, la niquelina suministra mayor cantidad de energía para vencer la inercia del biorreactor que depende del volumen y propiedades termo físicas del fluido, a esto se le conoce como estado transitorio. Posteriormente, entra en estado estacionario o permanente, denominado así porque se alcanza un valor constante o que se repite periódicamente (Soler y Cano, 2020)

Para calentar el agua, la niquelina se enciende durante 2 segundos cada 10 segundos y entrega energía; el resto del tiempo permanece apagada. Conforme transcurre el tiempo, el relé pasa más tiempo en posición cerrada debido a que el error disminuye al acercarse a la temperatura deseada, de modo que la niquelina suministra energía con menos frecuencia porque el microorganismo supera la fase de adaptación y entra en la fase de crecimiento exponencial donde como resultado de su metabolismo genera calor que debe ser removido.

A partir del comportamiento patrón se determinó que la niquelina no entrega el 100 % de la energía para la que se diseñó, dado que la diferencia entre los valores superior e inferior del voltaje (spam) es de 5400 V, y su amperaje es 25 V. Es decir, en promedio la niquelina entrega un 0,21 % de su energía total.

3.1.2. Descripción matemática del crecimiento microbiano con la influencia de la temperatura

Para modelar el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en la fase de adaptación con glucosa como sustrato se utilizan dos modelos: el de Baranyi et al. (1993), que es un modelo semi-empírico con una función de ajuste; y el de Hills y Wright (1994), que es un modelo compartimental. Estos modelos se escriben de forma similar como consecuencia de la *Formulación Unificada de Modelos*, donde la función logística $f(x)$ se fija en 1 porque no se incluye la inhibición por agotamiento del sustrato (Baty y Delignette-Muller, 2004).

Ambos modelos quedan reducidos a la forma que se muestra en las Ecuaciones 3.1. y 3.2 respectivamente.

$$\frac{dx}{dt} = \underbrace{\mu_{max} \left(\frac{\frac{1}{(e^{\mu_{max} \lambda}) - 1}}{\frac{1}{(e^{\mu_{max} \lambda}) - 1} + (e^{-\mu_{max} t})} \right)}_{r_x} x$$

Ecuación 3.1. Modelo de Baranyi et al. (1993) para la fase de latencia

$$\frac{dx}{dt} = \underbrace{\mu_{max} \left(\frac{\mu_{max}}{e^{\mu_{max} \lambda} - 1} \right) \left(\frac{m - x}{x} \right)}_{r_x} x$$

Ecuación 3.2. Modelo de Hills y Wright (1994) para la fase de latencia

Donde m es la concentración de biomasa total del cultivo microbiano y se calcula mediante la ecuación diferencial: $\frac{dm}{dt} = \mu_{max} m$.

La duración de la fase de adaptación determinada experimentalmente fue $\lambda_1 = 270$ min sin empaque de neopreno y $\lambda_2 = 240$ min con empaque de neopreno. Los detalles de su estimación se encuentran en el Anexo II. En todas las fermentaciones el tamaño de inóculo (x_0) se mantuvo relativamente constante en 0,5 g/L para tener resultados comparables.

Por otro lado, a partir de la linealización de la ecuación de Arrhenius (Anexo III), la energía de activación (E_a) y el factor pre exponencial (A) se estimaron en 7373,4 J/mol y $1,4 \times 10^{10} \text{ h}^{-1}$ respectivamente.

3.1.3 Descripción matemática del comportamiento de la temperatura en los sistemas del biorreactor

La Ecuación 3.3 describe el cambio de temperatura del medio de cultivo en el tiempo mediante el balance de energía en estado transitorio.

$$\frac{dT_5}{dt} = \frac{U_1 A_1 (T_2 - T_5)}{\rho V C_p} + \frac{\Delta H_{fermentación} r_x}{\rho C_p}$$

Ecuación 3.3. Variación de la temperatura del medio de cultivo en el tiempo

Donde:

ρ : densidad del medio de cultivo, 995,54 kg/m³ (Perry et al., 1984)

V : volumen, 0,001 m³

C_p : calor específico del medio de cultivo, 4030,18 J/kg K (Boerio-Goates, 1991)

T_2 : temperatura del agua en el espacio entre la chaqueta y el tanque, en °C

T_5 : temperatura del medio de cultivo, en °C

U_1 : coeficiente global de transferencia de calor, 76,73 W/m² K

A_1 : área de transferencia de calor, 0,0585 m²

$\Delta H_{fermentación}$: calor de fermentación generado por multiplicación del microorganismo y su actividad metabólica, y es igual a 5.3 kcal/g biomasa (Blach y Clark, 1996).

Los cálculos de los coeficientes globales, así como las áreas de transferencia de calor se detallan en el Anexo IV.

Además, en la Ecuación 3.4 se presenta la variación de la temperatura del agua de calentamiento en el tiempo a través del balance de energía en estado transitorio.

$$\frac{dT_2}{dt} = \frac{W_{niquelina} - U_1 A_1 (T_2 - T_5) - U_2 A_2 (T_2 - T_{\infty}) - Q_{perdido}}{m_{H_2O 2} C_{p_{H_2O 2}}}$$

Ecuación 3.4. Variación de la temperatura del agua de calentamiento en el tiempo

Donde:

$m_{H_2O 2}$: es la masa de agua contenida en el espacio entre la chaqueta y el tanque y es igual a 0,25 kg

Cp_{H_2O} : calor específico del agua, 4177,52 J/kg K (Perry et al., 1984)

U_2 : coeficiente global de transferencia de calor, 4,66 W/m² K

A_2 : área de transferencia de calor 0,0613 m²

T_∞ : temperatura ambiente, 18 °C

W : la energía que suministra la niquelina, 7,25 W (Ver Anexo V)

La pérdida de calor al ambiente ($Q_{perdido}$) por parte del agua de calentamiento está dada por la ecuación a continuación.

$$Q_{perdido} = U_p A_p (T_2 - T_\infty)$$

Ecuación 3.5. Calor que pierde el agua de calentamiento por convección hacia el ambiente

Donde:

U_p : coeficiente global de transferencia de calor, 4,26 W/m² K (sin empaque de neopreno) o 3,48 W/m² K (con empaque de neopreno)

A_p : es el área superficial del empaque de neopreno, 0,0044 m².

El modelo matemático formulado posee 5 incógnitas, 3 ecuaciones diferenciales y 2 ecuaciones algebraicas, lo que resulta en 0 grados de libertad cuando se escoge el modelo de Baranyi para modelar la fase de adaptación. En el caso de seleccionar el modelo de Hills y Wright para la fase de adaptación se tienen 6 incógnitas, 4 ecuaciones diferenciales y 2 ecuaciones algebraicas, por lo que el modelo resulta en 0 grados de libertad.

Cuando no se utiliza agua en el espacio entre la chaqueta y el tanque, el balance de energía que describe el comportamiento dinámico de la temperatura del medio de cultivo se mantiene igual a la Ecuación 3.3, pero el balance de energía del fluido en el espacio cambia como se muestra a continuación.

$$\frac{dT_{ch}}{dt} = \frac{W_{niquelina} - U_1 A_1 (T_{ch} - T_1) - U_2 A_2 (T_{ch} - T_\infty)}{m_{aire} C_{p_{aire}}}$$

Ecuación 3.6. Variación de la temperatura del aire en espacio entre la chaqueta y el tanque en el tiempo

Donde:

T_{ch} : temperatura del aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque, en °C

m_{aire} : masa de aire contenida en el espacio entre la chaqueta y el tanque, $3,075 \times 10^{-4}$ kg

$C_{p_{aire}}$: calor específico del aire, 1008,82 J/kg K (Perry et al., 1984).

En este caso, resulta adecuado utilizar el modelo de Hills y Wright (1994) para la fase de adaptación del microorganismo, de modo que el modelo tiene 4 incógnitas (x , m , T_1 y T_{ch}) y 4 ecuaciones diferenciales, lo que resulta en 0 grados de libertad; por lo que el modelo tiene solución única.

Los códigos de programación implementados en MatLab para la resolución del modelo matemáticos con las diferentes variantes analizadas se presentan en los Anexos VI, VII y VIII.

3.2 Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura propuesto por el fabricante

El biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX fue diseñado con un espacio entre la chaqueta de calentamiento y el tanque de vidrio sin la configuración necesaria para la circulación de un fluido adecuado para el calentamiento, tal como se muestra en la Figura 3.5. Este espacio de 5,5 mm de espesor funciona como un reservorio de aire que resulta por naturaleza un aislante térmico.

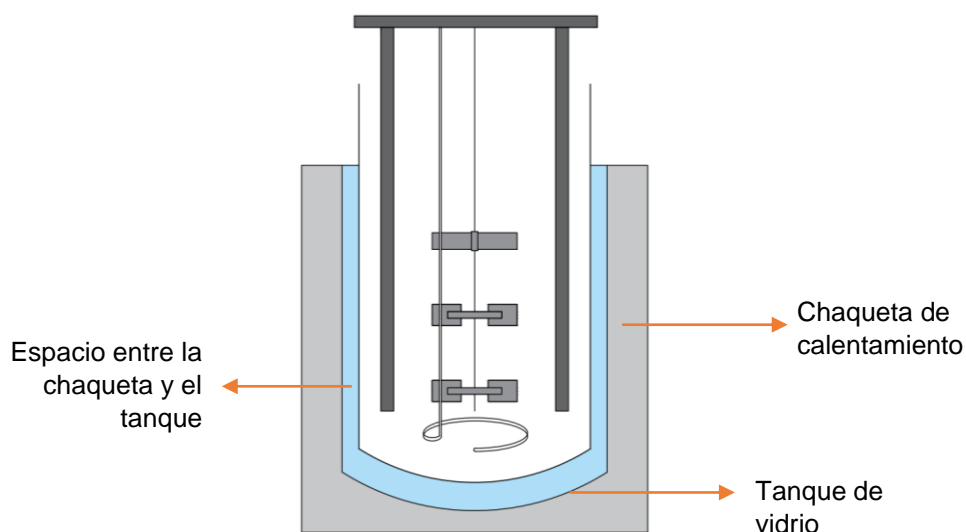


Figura 3.5. Esquema simplificado de la configuración original del biorreactor LiFlus GX

De utilizar la configuración propuesta por el fabricante, la niquelina sigue la tendencia que muestra en la Figura 3.6, donde el suministro de energía es permanente. A diferencia del comportamiento normal mostrado en la Figura 3.4, en este escenario el estado transitorio

se prolonga hasta 150 min. Durante este tiempo, el relé de estado sólido permite el paso de corriente eléctrica hacia la niquelina, que debe calentar el aire almacenado en el espacio entre la chaqueta y el tanque para calentar el medio de cultivo. Al no conseguir que la temperatura del medio suba, el relé permanece encendido y el flujo de corriente a través de la niquelina es constante; en este momento se alcanza un estado estacionario inseguro para la niquelina, que terminaría por quemarse.

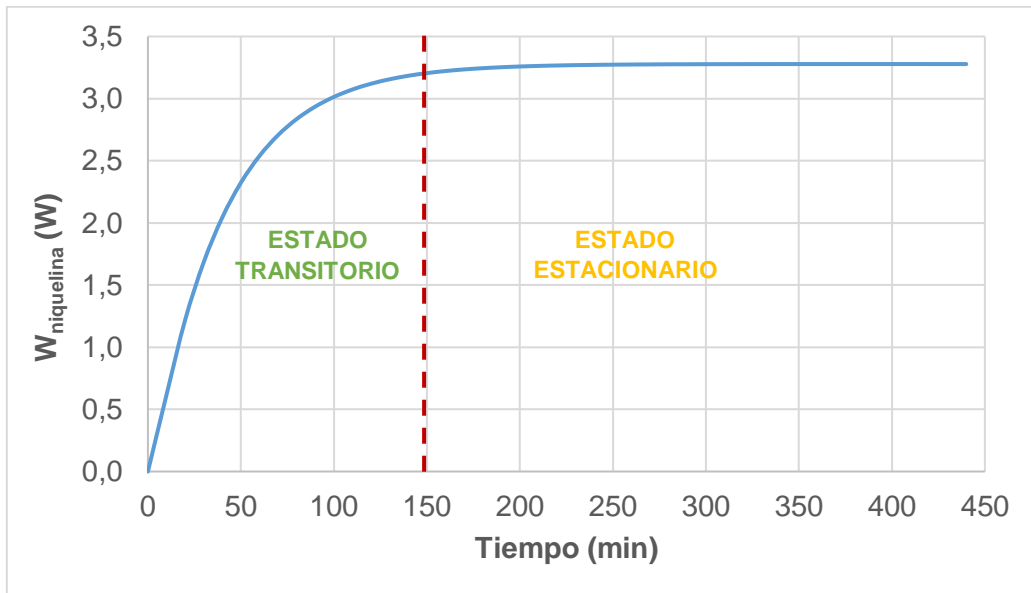


Figura 3.6. Energía suministrada por la niquelina cuando no existe fluido de calentamiento en el espacio entre la chaqueta y el tanque

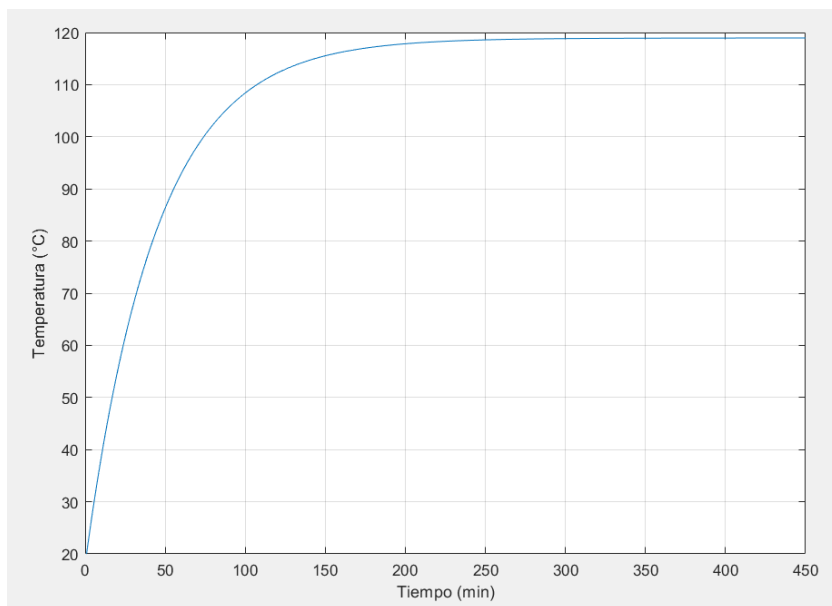


Figura 3.7. Temperatura de la chaqueta de calentamiento cuando no existe fluido de calentamiento en el espacio entre la chaqueta y el tanque

Durante los primeros 150 min, la temperatura del aire asciende de 18 °C a 115 °C gracias a la energía proporcionada por la niquelina; luego de este tiempo, la temperatura se mantiene constante en 118 °C. Sin embargo, esa energía no logra transmitirse al medio de cultivo cuya temperatura aumenta apenas 0,04 °C como se muestra en la Figura 3.8. Es decir, el aire acumulado en el espacio entre la chaqueta y el tanque actúa como un aislante térmico.

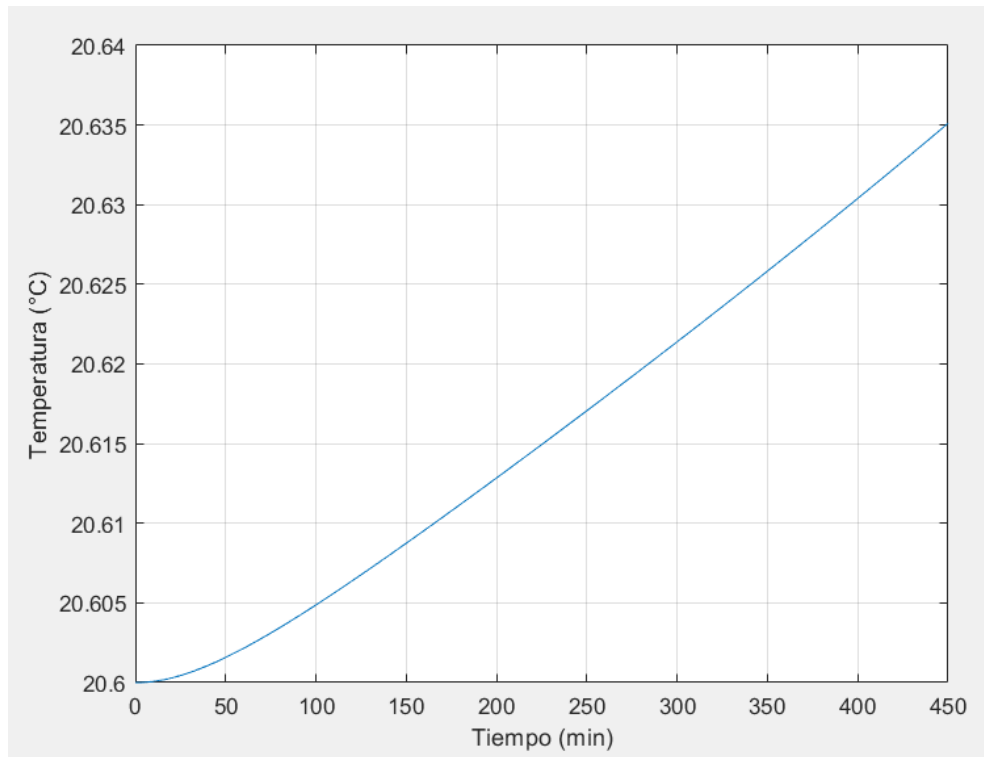


Figura 3.8. Temperatura del medio de cultivo en el tanque

Como consecuencia de la ineficiencia del sistema de acondicionamiento, el crecimiento microbiano se ralentiza sin la temperatura óptima, lo que produce tiempos de fase de adaptación más largos (Prescott et al., 2004). El microorganismo crece, de hecho, pero forzado a crecer a una temperatura casi 10 °C menor a su temperatura óptima. La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es un microorganismo mesófilo, por lo que crecer a dichas temperaturas es factible si se satisfacen sus requerimientos nutricionales, pero organismos más susceptibles podrían inhibir por completo su crecimiento (DistilaMax TQ, 2021; Salvadó et al., 2011; Walsh y Martin, 1977).

Por otro lado, un riesgo de utilizar la configuración propuesta por el fabricante es que la niquelina queda expuesta a sobrecalentamiento al no ser capaz de disipar el calor acumulado (Soler y Cano, 2020).

3.3 Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura con agua de calentamiento y sin neopreno

Para evitar que el espacio entre la chaqueta de calentamiento y el tanque sea un reservorio de aire, se propone colocar agua como fluido de calentamiento. La Figura 3.9 muestra la respuesta de cada modelo durante la fase de adaptación de *Saccharomyces cerevisiae*, cuando se utiliza agua de calentamiento y sin neopreno.

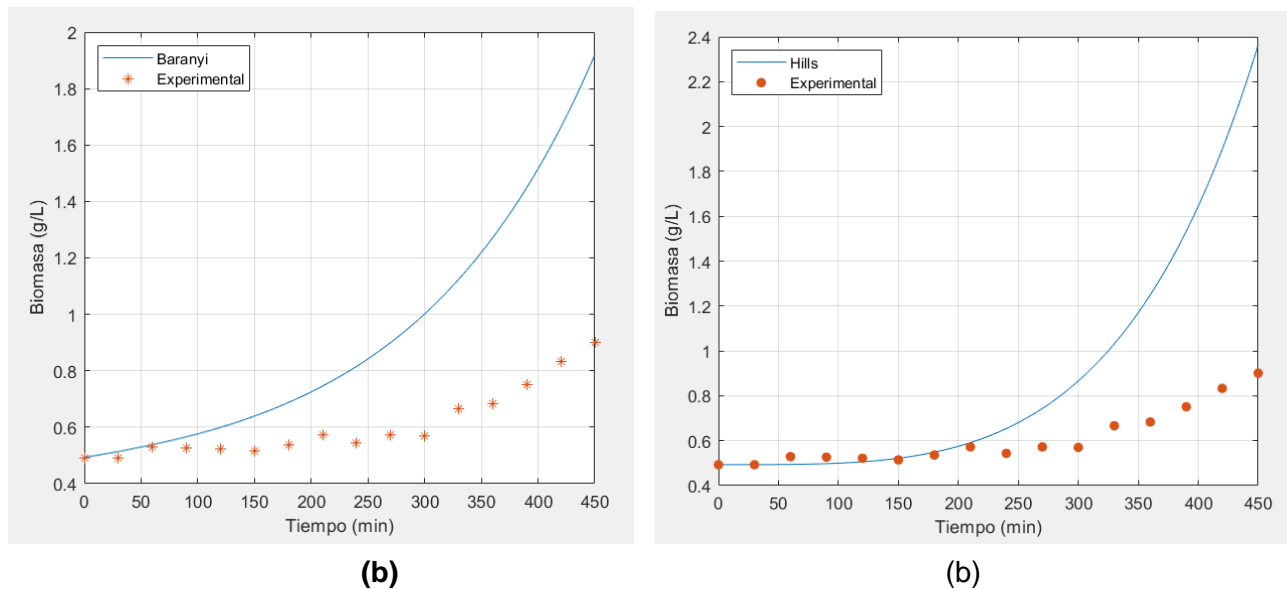


Figura 3.9. Ajuste de los modelos para la fase de adaptación (a) Baranyi et al. (1993) y (b) Hills y Wright (1994), con agua de calentamiento y sin neopreno

Sin el empaque de neopreno, la fase de latencia se prolongó hasta los 270 min luego de haber alcanzado la temperatura de crecimiento óptimo.

En la Tabla 3.1 se observa que, durante la fase de latencia, el modelo de Baranyi presenta una desviación del 21,9 % mientras para el modelo de Hills y Wright es de 4,25%. Esto se debe a la fase de latencia descrita por Hills y Wright es consecuencia de un fenómeno intracelular y tiene el potencial de considerar retrasos intermedios adicionales en condiciones ambientales cambiantes (como la temperatura y el tamaño del inóculo), mientras que el modelo de Baranyi no tiene esta versatilidad (Fakruddin et al., 2011).

Tabla 3.1. Desviación del modelo respecto a los datos experimentales de generación de biomasa sin el uso de empaque de neopreno

Tiempo (min)	Biomasa Experimental (g/L)	BARANYI ET AL. (1993)		HILLS Y WRIGHT (1994)	
		Biomasa Modelo (g/L)	Desviación (%)	Biomasa Modelo (g/L)	Desviación (%)
0	0,493	0,493	-0,08	0,493	-1,07
30	0,493	0,514	-4,32	0,493	0,48
60	0,529	0,538	-1,77	0,494	3,24
90	0,526	0,566	-7,55	0,499	2,88
120	0,522	0,599	-14,93	0,509	11,88
150	0,514	0,640	-24,34	0,529	15,55
180	0,536	0,688	-28,30	0,563	10,51
210	0,572	0,746	-30,33	0,616	3,33
240	0,543	0,816	-50,17	0,693	-5,41
270	0,572	0,900	-57,30	0,802	-8,44
300	0,570	1,002	-75,79	0,951	-15,73
330	0,666	1,124	-68,67	1,150	-29,05
360	0,683	1,272	-86,06	1,410	-39,78
390	0,751	1,449	-92,95	1,747	-59,35
420	0,833	1,663	-99,60	2,176	-74,07
450	0,901	1,920	-113,21	2,720	-102,16

Una vez que inicia la fase de crecimiento exponencial, ambos modelos muestran un crecimiento mucho más acelerado, por lo que luego de 450 min, la desviación del modelo respecto de los valores de biomasa experimentales aumenta considerablemente hasta el 63,21 % y 162,41 % para el modelo de Baranyi y Hills y Wright respectivamente. Esto se debe a que los modelos de generación de biomasa sin la función logística para inhibición por sustrato suponen las mejores condiciones en fase de crecimiento exponencial, hecho que experimentalmente no se contempló pues se forzó a la levadura a permanecer el mayor tiempo posible en fase de latencia (Fakruddin et al., 2011).

La desviación promedio del modelo respecto a los datos experimentales es de 46,21 % para el modelo de Baranyi, mientras que para el modelo de Hills y Wright es de 39,17 %; es decir, el modelo de Hills y Wright presenta un mejor ajuste. De modo que se utilizó este modelo para evaluar el sistema de acondicionamiento de temperatura.

En la Figura 3.10 se muestra el incremento de la temperatura del medio de cultivo hasta alcanzar la temperatura óptima (30 °C). Se observa que la variable controlada exhibe una respuesta cíclica como resultado del uso del controlador SI/NO (Lipták, 2006).

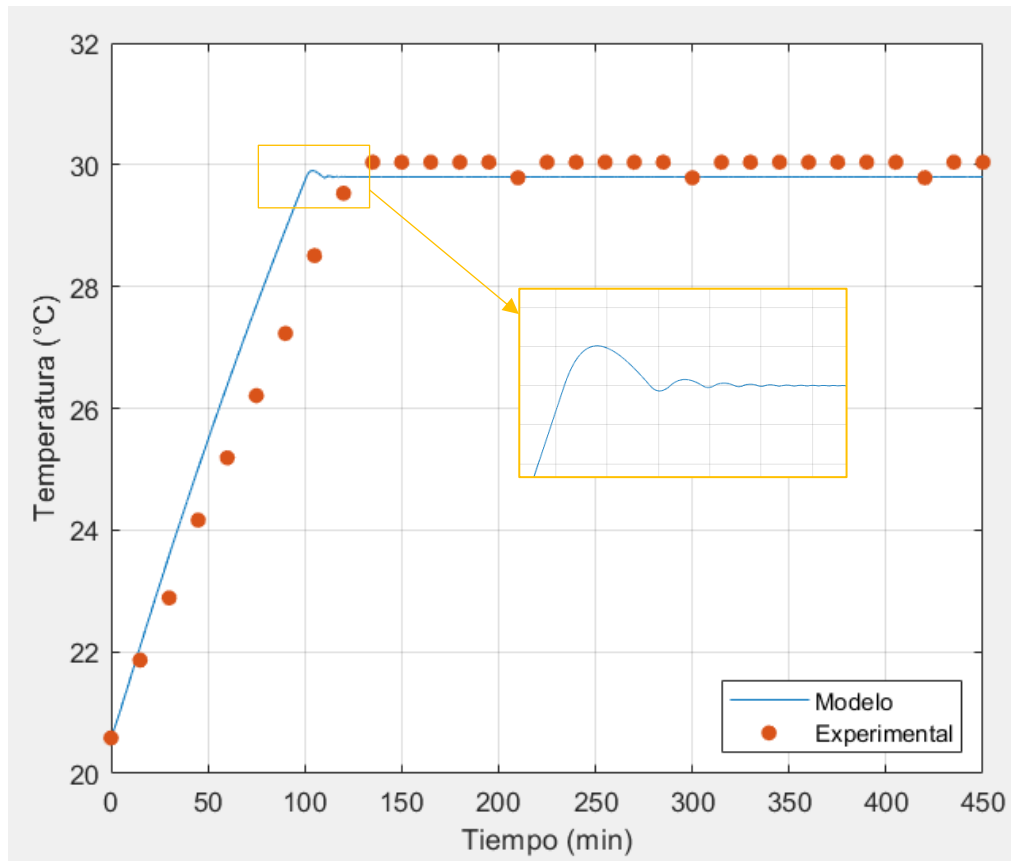


Figura 3.10. Perfil de temperatura del medio de cultivo comparado con valores experimentales, con agua como fluido de calentamiento y sin neopreno

La diferencia más notoria del modelo respecto a los datos experimentales está dada por el tiempo que el sistema tarda en alcanzar la temperatura óptima; para el modelo se requieren 100 min, pero experimentalmente, se requirieron 135 min. Esto se debe a que el modelo subestima la inercia térmica del medio de cultivo durante el arranque. Por otro lado, la desviación promedio del modelo respecto a los datos experimentales es del 0,48%, lo que implica un ajuste satisfactorio. La desviación punto por punto se muestra en el Anexo VI.

En la Figura 3.11 se muestran el incremento de la temperatura del agua de calentamiento en espacio entre la chaqueta y el tanque.

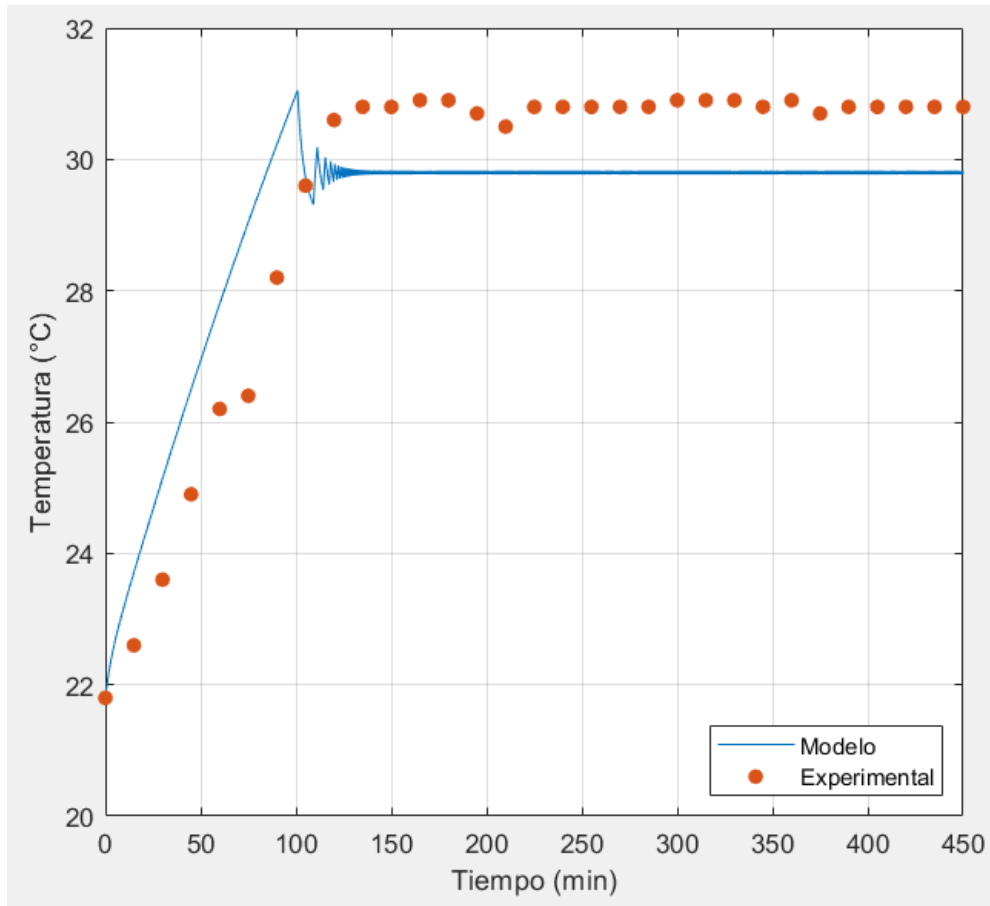


Figura 3.11. Variación de la temperatura del agua de calentamiento en el tiempo, comparado con los valores experimentales, sin neopreno

De forma similar al medio de cultivo, la desviación más notoria entre el modelo y los datos experimentales se encuentra en el tiempo que se demora el sistema en alcanzar la temperatura óptima, en el caso del modelo este tiempo es de 100 min, mientras que experimentalmente es 150 min. Esto se debe a que experimentalmente se pierde mucho más calor hacia el ambiente del que se considera en el modelo. Sin embargo, la desviación promedio del modelo respecto a los datos experimentales del 1,07 %, por lo que el ajuste es satisfactorio.

Las desviaciones punto por punto se muestra en el Anexo VI.

3.4 Funcionamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura con agua de calentamiento y neopreno

Al utilizar agua como fluido de calentamiento en el espacio entre la niquelina y el tanque, esta queda expuesta al ambiente y es propensa a perder calor por convección natural. Para

reducir esta pérdida de energía, se propone colocar un aro de neopreno que se ilustra en la Figura 3.12 que cubra el espacio expuesto al ambiente. El empaque tiene un espesor de 1 cm y una conductividad térmica baja igual a 0,19 W/m, propiedades que le confieren excelentes características como aislante térmico.

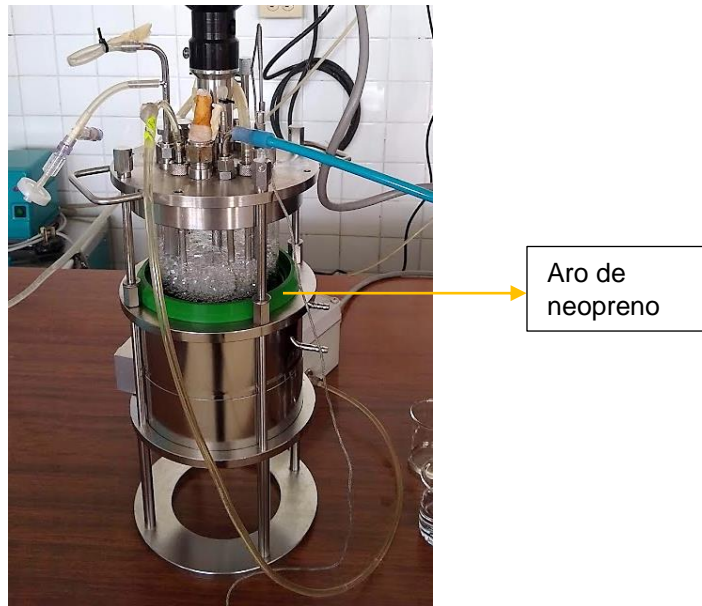
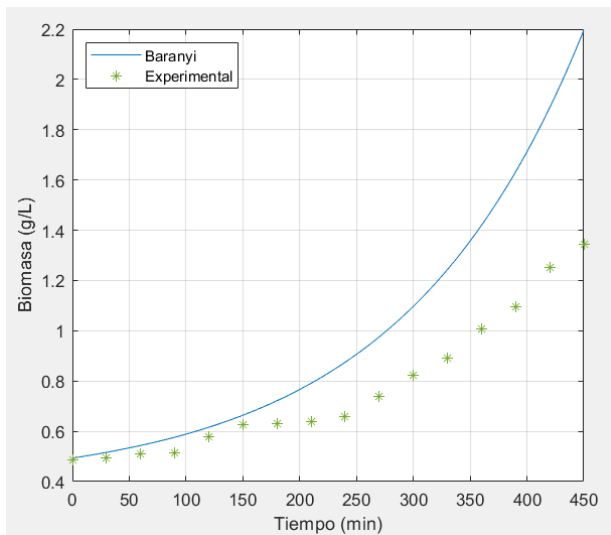
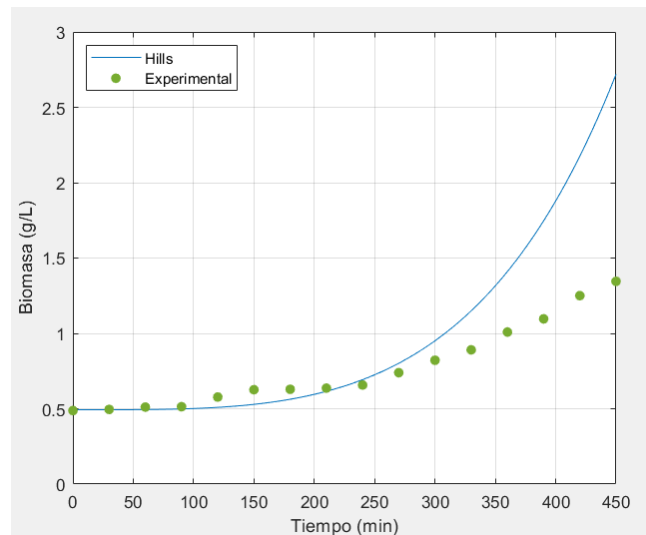


Figura 3.12. Disposición del aro de neopreno que cubre el espacio con agua expuesta al ambiente

En la Figura 3.13 se observa que el uso de neopreno influye en el perfil de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Al utilizarlo, la duración de la adaptación se reduce de 270 min a 240 min porque este aislante evita que calor suministrado al medio de cultivo se disipe con facilidad. Además, se evidencia que luego de 450 min de operación con neopreno se producirá un 12 % más de biomasa que cuando no se lo utiliza para el modelo de Baranyi; mientras que en el modelo de Hills y Wright se producirá un 13 % más de biomasa.



(a)



(b)

Figura 3.13. Modelo para la fase de adaptación propuesto por (a) Baranyi et al. (1993) y (b) Hills y Wright (1994) comparado con los valores experimentales, con agua de calentamiento y con neopreno

Durante la fase de adaptación la desviación del modelo de los datos experimentales para los modelos de Baranyi y Hills y Wright es 12,07 % y 4,60 % respectivamente como se indica en la Tabla 3.2. Luego de 450 min de operación, el modelo de Baranyi se desvía un 63,21 %, mientras que el modelo de Hills y Wright un 102,16 %. Sin embargo, la desviación promedio es 26,08 % y 17,95 % para cada modelo respectivamente. En este sentido, el modelo de Hills y Wright exhibe el mejor ajuste.

Tabla 3.2. Desviación del modelo respecto a los datos experimentales de generación de biomasa con el uso de empaque de neopreno

Tiempo (min)	Biomasa Experimental (g/L)	BARANYI ET AL. (1993)		HILLS Y WRIGHT (1994)	
		Biomasa Modelo (g/L)	Desviación (%)	Biomasa Modelo (g/L)	Desviación (%)
0	0,488	0,493	-1,07	0,493	-1,07
30	0,496	0,516	-4,18	0,493	0,48
60	0,511	0,544	-6,40	0,494	3,24
90	0,513	0,576	-12,23	0,499	2,88
120	0,578	0,616	-6,64	0,509	11,88
150	0,626	0,664	-5,98	0,529	15,55
180	0,629	0,722	-14,72	0,563	10,51
210	0,637	0,791	-24,25	0,616	3,33
240	0,657	0,875	-33,11	0,693	-5,41

270	0,739	0,976	-31,96	0,802	-8,44
300	0,822	1,097	-33,55	0,951	-15,73
330	0,891	1,243	-39,58	1,150	-29,05
360	1,009	1,420	-40,71	1,410	-39,78
390	1,096	1,632	-48,87	1,747	-59,35
420	1,250	1,888	-50,98	2,176	-74,07
450	1,345	2,196	-63,21	2,720	-102,16

El efecto del neopreno también se observa las Figuras 3.10 y 3.14, donde reduce el tiempo necesario para alcanzar la temperatura óptima de 135 a 105 min.

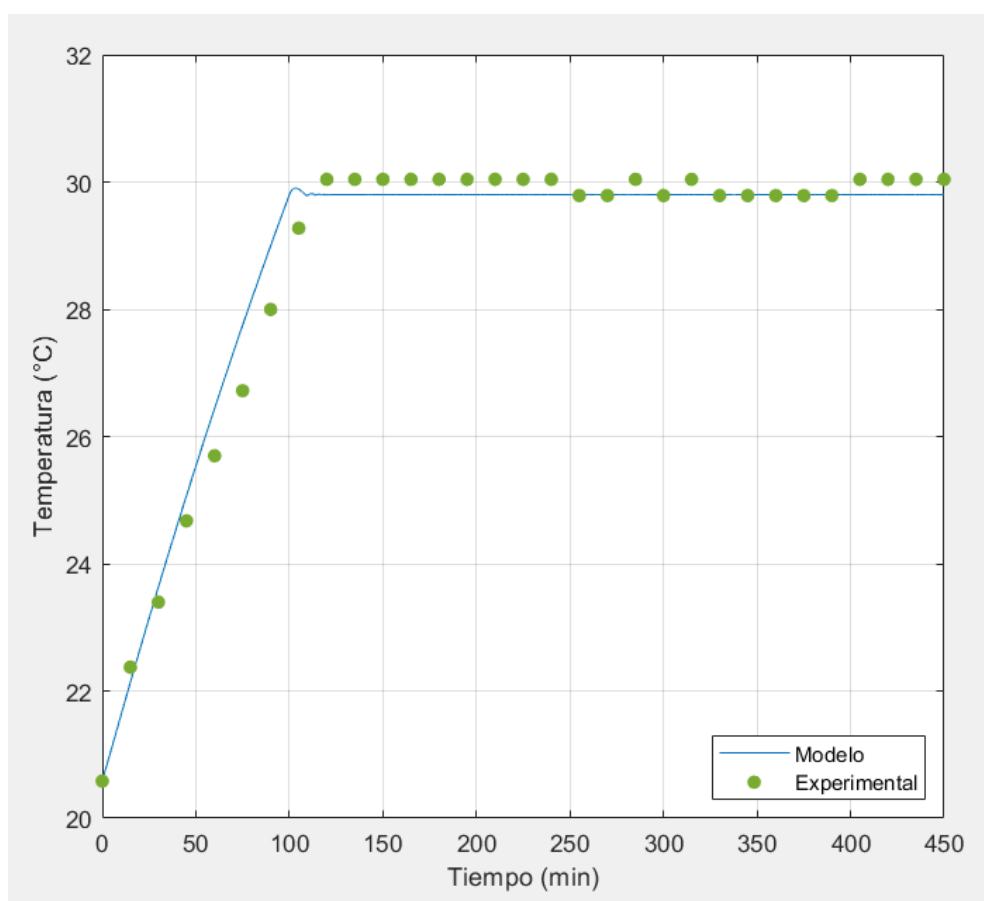


Figura 3.14. Variación de la temperatura del medio de cultivo en el tiempo, comparado con los valores experimentales, con agua como fluido de calentamiento y con neopreno

En la Figura 3.14, la desviación promedio del modelo respecto a los datos experimentales es del 0,07 %, lo que implica un ajuste adecuado. El modelo alcanza la temperatura óptima luego de 100 min, mientras que experimentalmente se requirieron de 120 min. Al utilizar el empaque de neopreno el tiempo de calentamiento se reduce en aproximadamente 30 min respecto a la ausencia del mismo; esto implica menor consumo de energía durante la

operación además de influir positivamente en el proceso fermentativo. La desviación punto por punto se muestra en el Anexo VI.

En la Figura 3.15 se muestran el incremento de la temperatura del agua de calentamiento en espacio entre la chaqueta y el tanque cuando se utiliza neopreno, donde la desviación promedio del modelo respecto a los datos experimentales del 1,35 %, esta refleja la subestimación en la pérdida de calor hacia el ambiente y a que el empaque de neopreno no cubre por completo la superficie expuesta, pero sí la reduce, por lo que el ajuste es satisfactorio. Las desviaciones punto por punto se muestra en el Anexo VI.

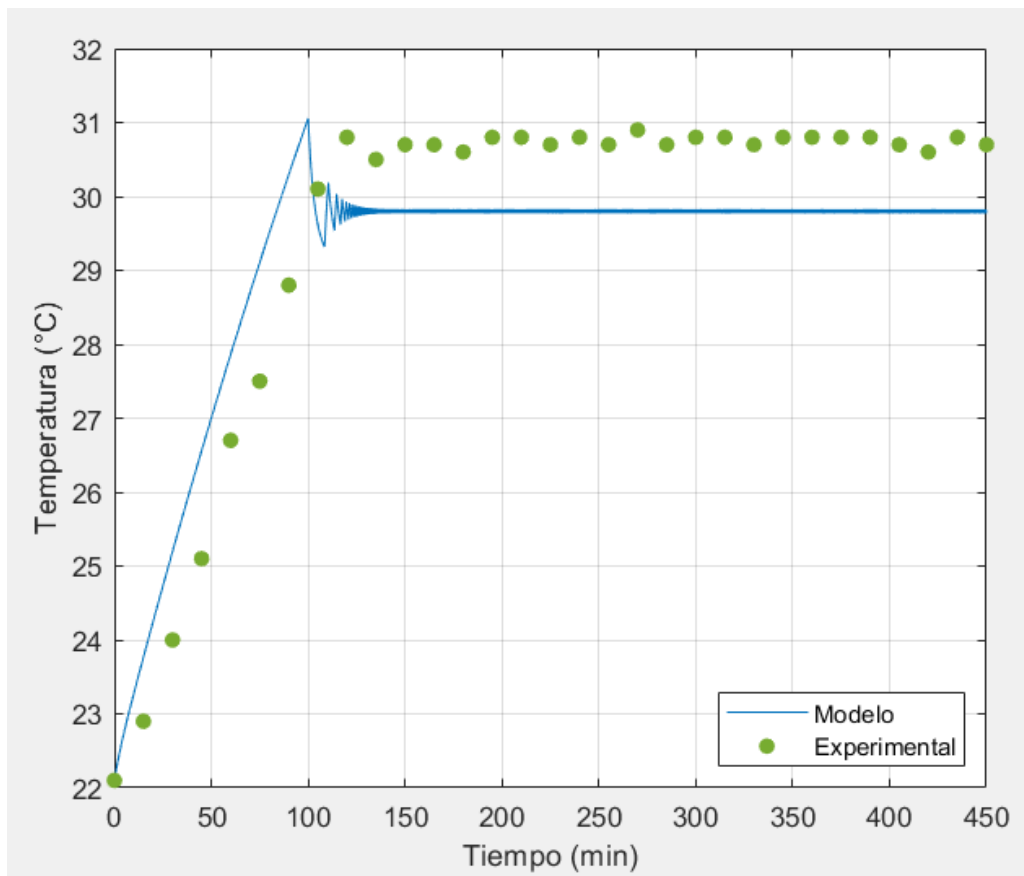


Figura 3.15. Variación de la temperatura del agua de calentamiento en el tiempo, comparado con los valores experimentales, con neopreno

3.5 Conclusiones

El modelo matemático formulado describe en forma satisfactoria el comportamiento del sistema de acondicionamiento de temperatura del biorreactor tipo tanque agitado LiFlus GX con desviaciones máximas de 0,07% y 1,35 % en los perfiles experimentales de temperatura del medio de cultivo y de agua de calentamiento respectivamente.

La influencia de la temperatura en la fase de adaptación del microorganismo se incorporó en el modelo matemático con mayor aproximación mediante la combinación del modelo de Hills y Wright y de la ecuación de Arrhenius con desviaciones máximas de 4,60 % respecto a los perfiles experimentales de biomasa.

Operar el biorreactor con 250 mL de agua de calentamiento en el espacio entre la chaqueta y el recipiente de vidrio facilita la ejecución de procesos fermentativos a temperatura óptima sin interrupciones durante al menos 450 min y con la niquelina operativa en forma segura con frecuencias de encendido/apagado de alrededor de 10 segundos.

El uso del aro de neopreno como aislante térmico que sella la chaqueta logra disminuir las pérdidas de calor, por lo que el tiempo de la fase de latencia se reduce en 30 min como consecuencia de que la temperatura óptima de crecimiento se alcanza 15 min antes.

3.6 Recomendaciones

Realizar ensayos con agua de calentamiento que ingrese a temperatura ambiente ya que, de acuerdo con los resultados del modelo, la energía que entrega la niquelina es baja en comparación con la máxima de diseño.

Colocar un sello permanente en la chaqueta fabricado a medida y con un material de baja conductividad térmica de manera que se minimicen las pérdidas de calor y se optimice el consumo de energía por parte de la niquelina.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., Ávila, I., García, A., Julca, J., & Zuta, I. (2015). Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo. *Agroindustrial Science*.
- [2] ASME. (2019). *Rules for Construction of Pressure Vessels*. American Society of Mechanical Engineers. <https://www.asme.org/shop/certification-accreditation>.
- [3] Atlas, R. (2010). *Handbook of microbiological media* (Cuarta). Taylor & Francis Group.
- [4] Baty, F., & Delignette-Muller, M. (2004). Estimating the bacterial lag time: Which model, which precision? *International Journal of Food Microbiology*, 91(3), 261–277. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.07.002>
- [5] Bidlas, E., Du, T., & Lambert, R. (2008). An explanation for the effect of inoculum size on MIC and the growth/no growth interface. *International Journal of Food Microbiology*, 126(2), 140–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.023>
- [6] Blach, H., & Clark, D. (1996). *Biochemical Engineering* (Segunda). MARCEL DEKKER.
- [7] Boerio-Goates, J. (1991). Heat-capacity measurements and thermodynamic functions of crystalline alpha-D-glucose at temperatures from 10 K to 340 K. In *J. Chem. Thermodynamics* (Vol. 23).
- [8] Creus, A. (2010). *Instrumentación industrial* (Octava). Alfaomega. www.FreeLibros.me
- [9] da Silva, V., Santos, M., de Paiva, J., Silva, M., & de Moraes, J. (2017). Nusselt's correlations in agitated tanks using the spiral coil with Rushton turbine and PBT 45° impeller. Comparison with tanks containing vertical tube baffles. *Applied Thermal Engineering*, 110, 1331–1342. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2016.09.035>
- [10] de Albuquerque, M., Soares, M., & Ribeiro, E. (2014). Selection of inoculum size and *Saccharomyces cerevisiae* strain for ethanol production in simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of sugar cane bagasse. *African Journal of Biotechnology*, 13(27), 2762–2765. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.13179>

- [11] DistilaMax TQ. (2021). *Technical Data Sheet*. <https://lallemanddistilling.com/wp-content/uploads/2018/11/TDS-DistilaMax-TQ-12122022.pdf>
- [12] Doran, P. (2013). *Bioprocess engineering principles*. Academic Press.
- [13] Estela, W., Rychtera, M., Melzoch, K., & Hatta-Sakoda, B. (2012). Efecto de la aireación en la actividad fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* cultivado en jugo de manzana. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(2), 211–226.
- [14] Fakruddin, M., Mazumder, R., Shahnewaj, K., & Mannan, B. (2011). Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food. *Ceylon Journal of Science (Bio. Sci.)*, 40(2), 121–131.
- [15] García, F., Santos, V., & Gómez, E. (2011). Stirred Tank Bioreactors. In *Comprehensive Biotechnology, Second Edition* (Vol. 2, pp. 179–198). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00108-2>
- [16] Gazzano, I., & Grafr, E. (2006). Principios generales de la acción del ambiente sobre los microorganismos y las poblaciones. *Ecología Agraria*
- [17] Hanil Scientific Inc. (2021). *LiFlus GX Autoclavable Fermentor*.
- [18] Hills, B., & Wright, K. (1994). A New Model for Bacterial Growth in Heterogeneous Systems. *Journal of Theoretical Biology*, 168(1). <https://doi.org/10.1006/jtbi.1994.1085>
- [19] Holman, J. (1999). *Transferencia de Calor* (Octava). McGraw-Hill.
- [20] Lipták, B. (2006). *Process Control and Optimization: Process control and optimization* (Cuarta). Taylor & Francis Group.
- [21] Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. (2015). *Brock Biología de los Microorganismos*. Pearson.
- [22] Müller, M., Husemann, U., Greller, G., Meusel, W., & Kraume, M. (2018). Heat transfer characteristics of a stirred single-use bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 140, 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.022>
- [23] Nagai, S. (1979). *Mass and Energy Balances for Microbial Growth Kinetics*. Department of Fermentation Technology.

- [24] Palomo, M. (2017). *Aislantes Térmicos: criterios de selección por requisitos energéticos*.
- [25] Perry, R. H., Green, D. W., & Maloney, J. O. (1984). *Perry's Chemical engineers' handbook*. McGraw-Hill.
- [26] Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (2004). *Microbiología* (5ta ed.). McGraw-Hill.
- [27] Salvadó, Z., Arroyo, F., Guillamón, J., Salazar, G., Querol, A., & Barrio, E. (2011). Temperature adaptation markedly determines evolution within the genus *Saccharomyces*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2292–2302. <https://doi.org/10.1128/AEM.01861-10>
- [28] SOLARIS. (2022a). *GENESIS Fermentor*. <https://www.solarisbiotech.com/en/benchtop-sip-bioreactor>
- [29] SOLARIS. (2022b). *JUPITER Autoclavable Fermenters/Bioreactors*. <https://www.solarisbiotech.com/en/fermenters-bioreactors-autoclavable>
- [30] Soler, A., & Cano, R. (2020). *Circuitos Eléctricos en Régimen Transitorio* (Primera, Vol. 1).
- [31] Tahir, A., Aftab, M., & Farasat Tasmin. (2010). Effect of cultural conditions on ethanol production by locally isolated *Saccharomyces cerevisiae* BIO-07. *72 Journal of Applied Pharmacy*, 3(2), 72–78.
- [32] Walsh, R. M., & Martin, P. A. (1977). Growth of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum* in a temperature gradient incubator. *Journal of the Institute of Brewing*, 83(3), 169–172. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1977.tb06813.x>
- [33] Wang, S.-J., & Zhong, J.-J. (2007). Bioreactor Engineering. In *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources: New Technologies and Applications* (pp. 131–161).
- [34] Zaldegui, P. (1975). *Bioquímica de las fermentaciones*.

5 ANEXOS

ANEXO I. Curvas de calibración de la termocupla y de OD.

ANEXO II. Determinación del tiempo de duración de la fase de adaptación.

ANEXO III. Linealización de la ecuación de Arrhenius.

ANEXO IV. Memoria de cálculo de los coeficientes globales de transferencia de calor.

ANEXO V. Determinación de la potencia de la niquelina

Anexo VI. Desviaciones punto a punto de la temperatura del medio y del agua de calentamiento en el espacio de la chaqueta y el tanque.

ANEXO VII. Script del modelo de Baranyi con agua de calentamiento en el espacio entre la chaqueta y el tanque.

ANEXO VIII. Script del modelo de Hills y Wright con agua de calentamiento en el espacio entre la chaqueta y el tanque.

ANEVO IX. Script del modelo de Hills y Wight con aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque.

ANEXO I

Curvas de calibración del sensor de temperatura del biorreactor y para la determinación de densidad óptica (OD)

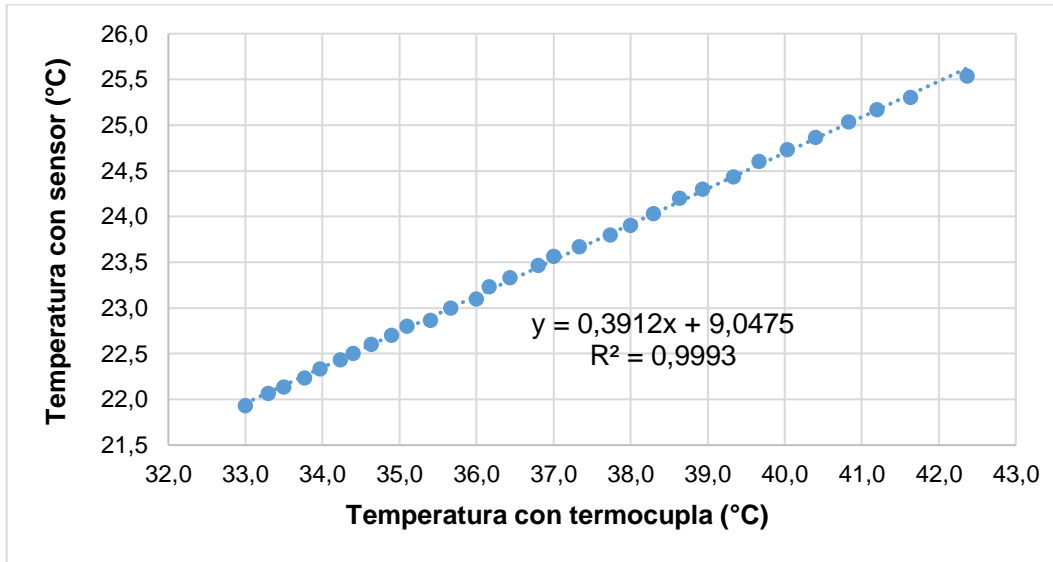


Figura A.1. Curva de calibración del sensor de temperatura del biorreactor

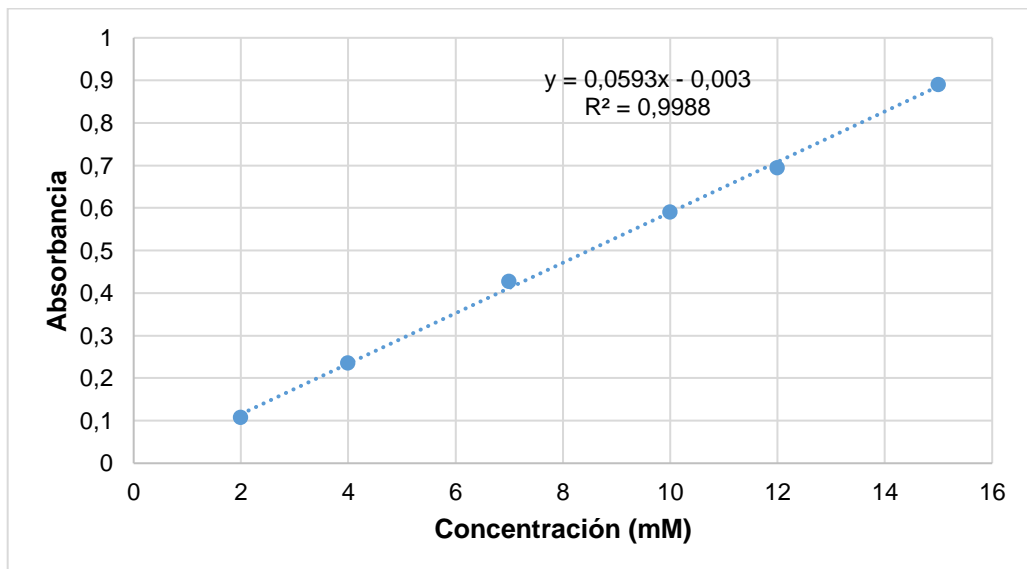


Figura A.2. Curva de calibración para determinación de densidad óptica (OD) a 600 nm

ANEXO II

Determinación de la duración de la fase de adaptación

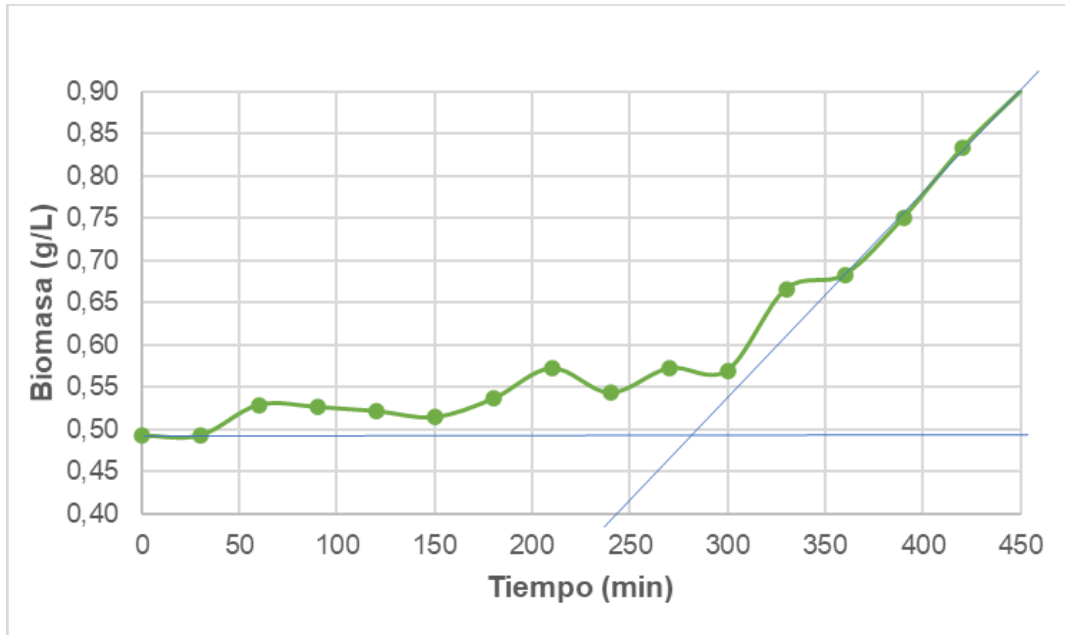


Figura A.3. Tiempo de la fase de adaptación (λ_1) de la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* sin empaque de neopreno

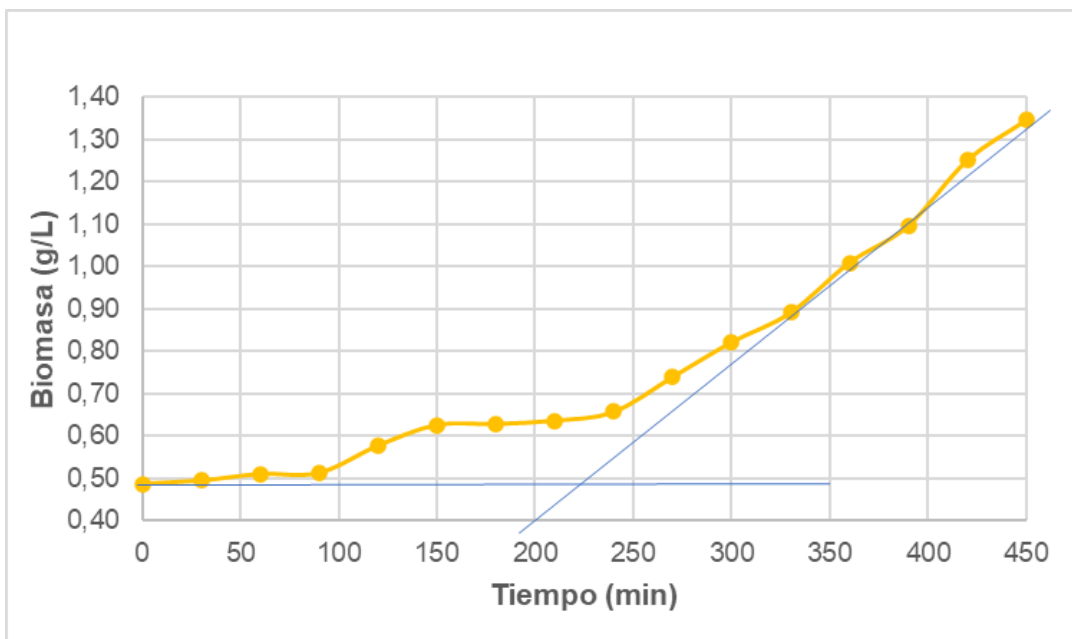


Figura A.4. Tiempo de la fase de adaptación (λ_2) de la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* con empaque de neopreno

ANEXO III

Determinación de los parámetros de la ecuación de Arrhenius para *Saccharomyces cerevisiae* en glucosa

Los valores de μ_{max} se obtuvieron bibliográficamente de la Figura A.5

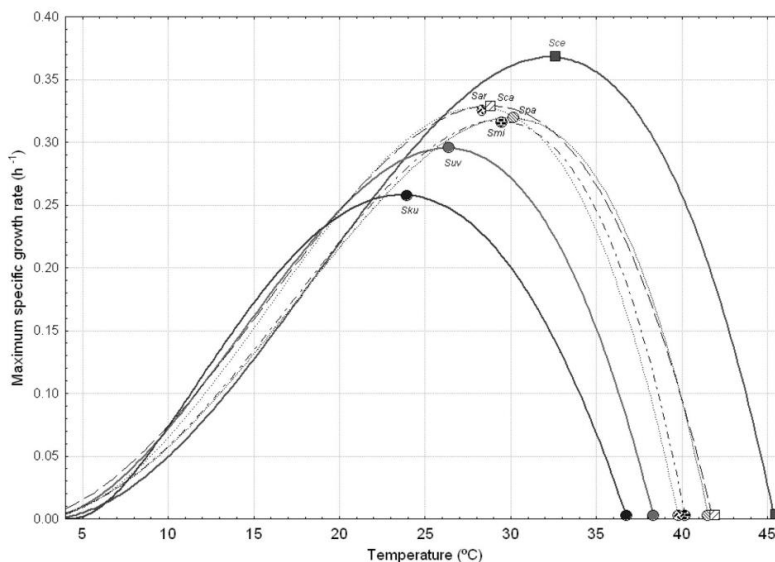
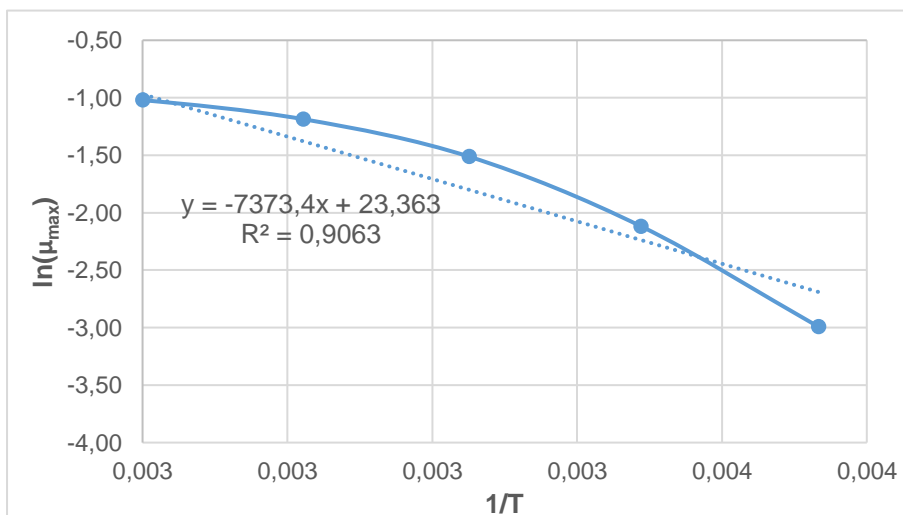


FIG. 4. Changes of the maximum specific growth rates of the yeast species *S. cerevisiae* (Scv), *S. paradoxus* (Spa), *S. mikatae* (Smi), *S. arboricolus* (Sar), *S. cariocanus* (Sca), *S. bayanus* var. *uvarum* (Suv), and *S. kudriavzevii* (Skv) as a function of temperature. The graph was built using the average *Saccharomyces* parameters of the cardinal temperature model shown in Table 3.

Figura A.5. μ_{max} en función de la temperatura para *Saccharomyces cerevisiae* (Salvadó et al., 2011)

Linealización de la ecuación de Arrhenius: $\ln(\mu_{max}) = -\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T}\right) + \ln(A)$



Entonces:

$$Ea = 7373,4 \text{ J/mol}$$

$$A = 1,4 \times 10^{10} \text{ h}^{-1}$$

Figura A.6. Datos para la linealización de la ecuación de Arrhenius

ANEXO IV

Memorias de cálculo de los coeficientes globales de transferencia de calor en los sistemas del biorreactor

- Determinación del h_{conv2} forzada dentro del tanque

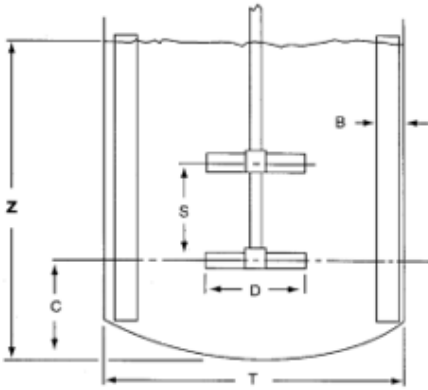


Figura A.7. Esquema del tanque

Tabla A.1. Dimensiones del tanque y sus componentes

Parámetro	Simbología	Valor	Unidad
Radio externo	r_2	6,12	cm
Espacio entre agitadores	S	3,33	cm
Diámetro agitador	D	8,2	cm
Altura del vessel	Z	22	cm
	C	3,6	cm
	T	12,24	Cm
Relación espaciamento	C/D	0,44	
Relación espaciamento entre agitadores	S/D	0,41	
Relación paleta/diámetro	W/D	1/5	

Tabla A.2. Parámetros del sistema de agitación

Parámetro	Simbología	Valor
Número de baffles	Nb	3
Velocidad del agitador (rad/s)	N	20,94
Número de potencia	Np	6
Relación μ/μ_w (da Silva et al., 2017)	V_i	1,42

Número de Reynolds:
$$Re = \frac{\rho N (2 r_2)^2}{\mu}$$

Número de Nusselt:
$$Nu = \frac{h_{conv2} D}{k} = 0,10 Re^{0,83} Pr^{0,33} V_i^{0,14}$$

Tabla A.3. Cálculo del coeficiente de transferencia de calor por convección forzada dentro del tanque

Tiempo (min)	T medio (°C)	Cp agua (J/kg*K)	Cp glucosa (J/kg*K)	Cp mezcla (J/kg*K)	μ (kg/m*s)	k (W/m*K)	Re	Pr	Nu	hconv2 (W/m ² *K)
0	20,6	4182,4	1198,46	4572,51	1,00E-03	0,598	1,41E+05	7,65	3857,18	28129,1748
15	21,9	4181	1203,77	4573,835	9,68E-04	0,602	1,45E+05	7,35	3912,17	28721,0752
30	22,9	4180,46	1207,86	4575,367	9,50E-04	0,603	1,48E+05	7,21	3947,34	29027,3584
45	24,2	4179,68	1213,17	4577,281	9,24E-04	0,605	1,52E+05	6,99	3998,67	29502,3612
60	25,2	4179,08	1217,04	4578,646	9,03E-04	0,607	1,56E+05	6,81	4040,89	29912,4469
75	26,2	4178,48	1221,16	4580,136	8,83E-04	0,609	1,59E+05	6,64	4082,40	30319,3061
90	27,2	4178	1224,3	4581,25	8,67E-04	0,611	1,62E+05	6,50	4115,77	30667,5399
105	28,5	4177,4	1230,42	4583,74	8,41E-04	0,613	1,67E+05	6,29	4175,16	31211,8328
120	29,5	4177	1234,5	4585,4	8,24E-04	0,615	1,71E+05	6,14	4213,98	31604,8233
135	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
150	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
165	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
180	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
195	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
210	29,8	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
225	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
240	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
255	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
270	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
285	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
300	29,8	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
315	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
330	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
345	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
360	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
375	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611
390	30,0	4176,8	1236,54	4586,23	8,15E-04	0,616	1,73E+05	6,07	4235,16	31815,3611

- Determinación de h_{conv1} del agua en el espacio entre la chaqueta y el tanque

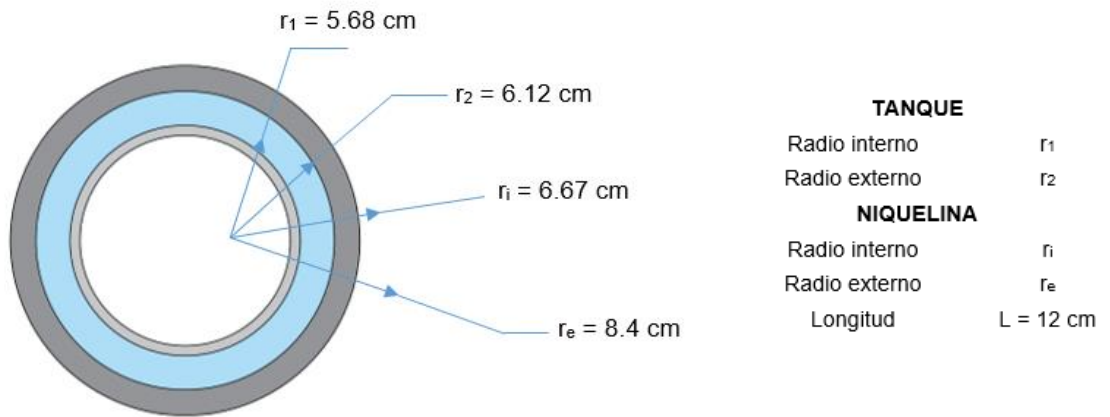


Figura A.8. Dimensiones del biorreactor (vista superior)

Tabla A.4. Parámetros para el cálculo del número de Grashof

Parámetro	Valor	Unidad
g	9,81	(m/s ²)
L^*	0,12	m
δ	0,0055	m
L/δ	21,82	m

Número de Grashof:

$$Gr = \frac{\Delta T \rho^2 L^3 \beta g}{\mu^2}$$

Donde:

$$\beta = \frac{1}{T_f}$$

$$T_f = \frac{T_s + T_\infty}{2}$$

$$\Delta T = (T_s - T_\infty)$$

Número de Prandtl:

$$Pr = Cp \frac{\mu}{k}$$

Número de Nusselt:

$$Nu = 0,42 (Gr Pr)^{1/4} (Pr)^{0,012} \left(\frac{L}{\delta}\right)^{-0,3}$$

Fluido	Geometría	$Gr_0 Pr$	Pr	L/δ	C	n	m	
Gas	Placa vertical, isoterma	< 2 000	$Nu_s=1,0$					
		$6 \times 10^3 - 2 \times 10^5$	0,5-2	11-42	0,197	1/4	-1/9	
		$2 \times 10^5 - 1,1 \times 10^7$	0,5-2	11-42	0,073	1/3	-1/9	
	Placa horizontal, isoterma calentada desde abajo	< 1 700	$Nu_s=1,0$					
		$1 700 - 7 \times 10^3$	0,5-2	---	0,059	0,4	0	
		$7 \times 10^3 - 3,2 \times 10^5$	0,5-2	---	0,212	1/4	0	
	$> 3,2 \times 10^5$	0,5-2	---	0,061	1/3	0		
Líquido	Placa vertical, flujo de calor constante o isoterma	< 2 000	$Nu_s=1,0$					
		$10^4 - 10^7$	1- 2×10^4	10-40	Ec. 2			
		$10^6 - 10^9$	1-20	1-40	0,046	1/3	0	
	Placa horizontal, isoterma calentada desde abajo	< 1 700	$Nu_s=1,0$	---				
		$1 700 - 6 \times 10^3$	1-5 000	---	0,012	0,6	0	
		$6 \times 10^3 - 3,7 \times 10^4$	1-5 000	---	0,375	0,2	0	
	$3,7 \times 10^4 - 10^8$	1-20	---	0,13	0,3	0		
	$> 10^8$	1-20	---	0,057	1/3	0		

Tabla A.4. Cálculo del coeficiente de transferencia de calor por convección del agua en el espacio entre la chaqueta y el tanque

Tiempo (min)	T agua niquelina (°C)	T medio (°C)	ΔT	Tf (K)	β (1/K)	ρ (kg/m ³)	Cp (J/kg*K)	μ (kg/m*s)	k (W/m*K)	Gr	Pr	Nu	hconv1 (W/m ² *K)
0	21,8	20,6	1,2	294,192	3,40E-03	998,160	4181,800	9,89E-04	0,600	7,135E+07	6,891	36,306	181,604
15	22,6	21,9	0,7	295,231	3,39E-03	998,000	4181,000	9,68E-04	0,602	4,503E+07	6,723	30,887	154,949
30	23,6	22,9	0,7	296,242	3,38E-03	997,760	4180,640	9,56E-04	0,603	4,460E+07	6,626	30,639	153,983
45	24,9	24,2	0,7	297,531	3,36E-03	997,494	4180,241	9,42E-04	0,604	4,705E+07	6,520	31,023	156,221
60	26,2	25,2	1,0	298,693	3,35E-03	997,261	4179,892	9,31E-04	0,605	6,612E+07	6,427	34,583	174,447
75	26,4	26,2	0,2	299,304	3,34E-03	997,139	4179,709	9,25E-04	0,606	1,266E+07	6,378	19,883	100,387
90	28,2	27,2	1,0	300,715	3,33E-03	996,000	4178,000	8,67E-04	0,611	7,214E+07	5,929	34,657	176,464
105	29,6	28,5	1,1	302,054	3,31E-03	995,384	4177,589	8,49E-04	0,613	8,414E+07	5,791	36,196	184,827
120	30,6	29,5	1,1	303,065	3,30E-03	995,081	4177,387	8,41E-04	0,614	8,379E+07	5,723	36,005	184,106
135	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
150	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
165	30,9	30,0	0,9	303,471	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	6,762E+07	5,699	33,475	171,254
180	30,9	30,0	0,9	303,471	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	6,762E+07	5,699	33,475	171,254
195	30,7	30,0	0,7	303,371	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,187E+07	5,699	30,643	156,769
210	30,5	29,8	0,7	303,143	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,630E+07	5,699	31,492	161,109
225	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
240	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
255	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
270	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
285	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	32,122	164,332
300	30,9	29,8	1,1	303,343	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	8,780E+07	5,699	36,521	186,835
315	30,9	30,0	0,9	303,471	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	6,762E+07	5,699	33,475	171,254
330	30,9	30,0	0,9	303,471	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	6,762E+07	5,699	33,475	171,254
375	30,7	30,0	0,7	303,371	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,187E+07	5,699	30,643	156,769
390	30,8	30,0	0,8	303,421	3,30E-03	994,974	4177,316	8,38E-04	0,614	5,975E+07	5,699	3,41E+08	32,122

164,332

- Determinación de h_{conv} aire

Parámetro	Valor	Unidad
g	9,81	(m/s ²)
L*	0,12	m
δ	0,0173	m
L/δ	6,94	m
T ambiente	18,00	°C

Número de Nusselt

$$Nu = C (Gr Pr)^m$$

GEOMETRIA	VALIDEZ	C	m
1. Planos y cilindros verticales	$10^{-1} < Gr_{f,L} Pr_f < 10^4$	Fig.37	Fig.37
	$10^4 < Gr_{f,L} Pr_f < 10^9$	0,59	1/4
	$10^9 < Gr_{f,L} Pr_f < 10^{13}$	0,021	2/5
	$10^{13} < Gr_{f,L} Pr_f < 10^{17}$	0,10	1/3

Figura A.10. Valores para las constantes del número de Nusselt (Holman, 1999)

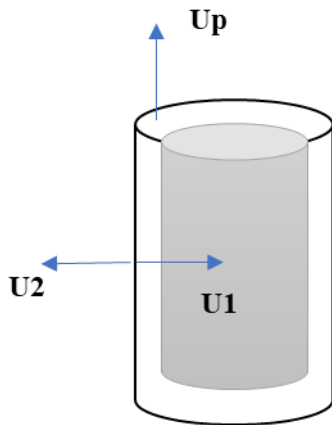
Tabla A.5. Cálculo del coeficiente de transferencia de calor por convección natural

Tiempo (min)	T agua niquelina (°C)	ΔT	Tf (K)	β (1/K)	ρ (kg/m ³)	Cp (J/kg*K)	μ (kg/m*s)	k (W/m*K)	Gr	Pr	Gr*Pr	Nu	hconv aire (W/m ² *K)
0	21,8	3,8	292,90	3,41E-03	1,195	1006,858	1,81E-05	0,026	9,574E+05	0,708	6,78E+05	16,931	3,631
15	22,6	4,6	293,30	3,41E-03	1,193	1006,866	1,81E-05	0,026	1,151E+06	0,708	8,15E+05	17,729	3,807
30	23,6	5,6	293,80	3,40E-03	1,190	1006,876	1,82E-05	0,026	1,390E+06	0,708	9,84E+05	18,583	3,996
45	24,9	6,9	294,45	3,40E-03	1,187	1006,889	1,82E-05	0,026	1,694E+06	0,708	1,20E+06	19,525	4,207
60	26,2	8,2	295,10	3,39E-03	1,184	1006,902	1,82E-05	0,026	1,991E+06	0,708	1,41E+06	20,329	4,389
75	26,4	8,4	295,20	3,39E-03	1,184	1006,904	1,82E-05	0,026	2,036E+06	0,708	1,44E+06	20,443	4,415
90	28,2	10,2	296,10	3,38E-03	1,180	1006,922	1,83E-05	0,026	2,436E+06	0,708	1,72E+06	21,378	4,630
105	29,6	11,6	296,80	3,37E-03	1,176	1006,936	1,83E-05	0,026	2,738E+06	0,708	1,94E+06	22,010	4,777
120	30,6	12,6	297,30	3,36E-03	1,174	1006,946	1,83E-05	0,026	2,949E+06	0,707	2,09E+06	22,422	4,874
135	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
150	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
165	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
180	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
195	30,7	12,7	297,35	3,36E-03	1,174	1006,947	1,83E-05	0,026	2,970E+06	0,707	2,10E+06	22,462	4,883
210	30,5	12,5	297,25	3,36E-03	1,174	1006,945	1,83E-05	0,026	2,928E+06	0,707	2,07E+06	22,382	4,864
225	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
240	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
255	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
270	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
285	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
300	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
315	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
330	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
345	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892
360	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	22,540	4,902
375	30,7	12,7	297,35	3,36E-03	1,189	1006,906	1,86E-05	0,026	2,957E+06	0,718	2,12E+06	22,523	4,895
390	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	22,501	4,892

Tabla A.6. Cálculo del coeficiente de transferencia de calor por convección natural del agua hacia el ambiente

Tiempo (min)	T agua niquelina (°C)	ΔT	Tf (K)	β (1/K)	ρ (kg/m3)	Cp (J/kg*K)	μ (kg/m*s)	k (W/m*K)	Gr	Pr	Gr*Pr	Nu	hconv aire 2 (W/m2*K)
0	21,8	3,8	292,90	3,41E-03	1,195	1006,858	1,81E-05	0,026	9,574E+05	0,708	6,78E+05	15,434	3,310
15	22,6	4,6	293,30	3,41E-03	1,193	1006,866	1,81E-05	0,026	1,151E+06	0,708	8,15E+05	16,129	3,463
30	23,6	5,6	293,80	3,40E-03	1,190	1006,876	1,82E-05	0,026	1,390E+06	0,708	9,84E+05	16,873	3,628
45	24,9	6,9	294,45	3,40E-03	1,187	1006,889	1,82E-05	0,026	1,694E+06	0,708	1,20E+06	17,693	3,812
60	26,2	8,2	295,10	3,39E-03	1,184	1006,902	1,82E-05	0,026	1,991E+06	0,708	1,41E+06	18,393	3,971
75	26,4	8,4	295,20	3,39E-03	1,184	1006,904	1,82E-05	0,026	2,036E+06	0,708	1,44E+06	18,493	3,994
90	28,2	10,2	296,10	3,38E-03	1,180	1006,922	1,83E-05	0,026	2,436E+06	0,708	1,72E+06	19,306	4,181
105	29,6	11,6	296,80	3,37E-03	1,176	1006,936	1,83E-05	0,026	2,738E+06	0,708	1,94E+06	19,857	4,310
120	30,6	12,6	297,30	3,36E-03	1,174	1006,946	1,83E-05	0,026	2,949E+06	0,707	2,09E+06	20,215	4,394
135	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410
150	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410
165	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
180	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
195	30,7	12,7	297,35	3,36E-03	1,174	1006,947	1,83E-05	0,026	2,970E+06	0,707	2,10E+06	20,250	4,402
210	30,5	12,5	297,25	3,36E-03	1,174	1006,945	1,83E-05	0,026	2,928E+06	0,707	2,07E+06	20,181	4,386
225	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410
255	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410
300	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
315	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
330	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
345	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410
360	30,9	12,9	297,45	3,36E-03	1,173	1006,949	1,83E-05	0,026	3,011E+06	0,707	2,13E+06	20,318	4,418
375	30,7	12,7	297,35	3,36E-03	1,189	1006,906	1,86E-05	0,026	2,957E+06	0,718	2,12E+06	20,337	4,420
390	30,8	12,8	297,40	3,36E-03	1,174	1006,948	1,83E-05	0,026	2,991E+06	0,707	2,12E+06	20,284	4,410

- Valores de U



k vidrio	1,09	W/mK
k acero AISI 316	13	W/mK
k neopreno	0,19	W/mK

R cond vidrio	0,0908	K/W
R cond neopreno	0,0526	m ² *K/W
R cond acero	0,0235	K/W

Tabla A.9. Áreas del fonde de la chaqueta y el tanque

CHAQUETA			VESSEL		
FONDO ELIPSOIDAL			FONDO TORIESFÉRICA		
Radio abombado	15,12	cm	Radio abombado	11,36	cm
Radio de rodilla	2,57	cm	Radio de rodilla	0,68	cm
Altura tapa	4,44	cm	Altura tapa	4,44	cm
Volumen experimental	355	cm ³	Volumen experimental	289	cm ³
Volumen calculado	317,75	cm ³	Volumen calculado	293,94	cm ³
%error	0,10	%	%error	0,02	%
Área elipsoidal	0,02	m ²	Área elipsoidal	0,012	m ²

Tabla A.7. Cálculo de los coeficientes globales de transferencia de calor

hconv1 (W/m ² *K)	hconv2 (W/m ² *K)	hconv aire (W/m ² *K)	hconv aire 2 (W/m ² *K)	R conv1	Rconv 2	R conv aire	R conv aire 2	U1*A1 W/K	U2*A2 (niquelina - ambiente) W/K	U1 W/m ² *K	U2 W/m ² *K	Up (sin neopreno) W/m ² *K	Up (con neopreno) W/m ² *K
181,604	28129,1748	3,631	3,310	1,19E-01	8,30E-04	4,35E+00	3,02E-01	4,74	0,22	81,03	3,63	3,31	2,82
154,949	28721,0752	3,807	3,463	1,40E-01	8,13E-04	4,15E+00	2,89E-01	4,32	0,23	73,85	3,78	3,46	2,93
153,983	29027,3584	3,996	3,628	1,41E-01	8,04E-04	3,95E+00	2,76E-01	4,30	0,24	73,57	3,96	3,63	3,05
156,221	29502,3612	4,207	3,812	1,39E-01	7,91E-04	3,75E+00	2,62E-01	4,34	0,26	74,22	4,16	3,81	3,18
174,447	29912,4469	4,389	3,971	1,24E-01	7,81E-04	3,60E+00	2,52E-01	4,63	0,27	79,21	4,35	3,97	3,28
100,387	30319,3061	4,415	3,994	2,16E-01	7,70E-04	3,58E+00	2,50E-01	3,25	0,26	55,60	4,27	3,99	3,30
176,464	30667,5399	4,630	4,181	1,23E-01	7,61E-04	3,41E+00	2,39E-01	4,67	0,28	79,74	4,58	4,18	3,43
184,827	31211,8328	4,777	4,310	1,17E-01	7,48E-04	3,31E+00	2,32E-01	4,79	0,29	81,87	4,73	4,31	3,51
184,106	31604,8233	4,874	4,394	1,18E-01	7,39E-04	3,24E+00	2,28E-01	4,78	0,30	81,69	4,82	4,39	3,57
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
171,254	31815,3611	4,902	4,418	1,27E-01	7,34E-04	3,22E+00	2,26E-01	4,59	0,30	78,38	4,84	4,42	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
186,835	31815,3611	4,902	4,418	1,16E-01	7,34E-04	3,22E+00	2,26E-01	4,82	0,30	82,37	4,85	4,42	3,58
171,254	31815,3611	4,902	4,418	1,27E-01	7,34E-04	3,22E+00	2,26E-01	4,59	0,30	78,38	4,84	4,42	3,58
171,254	31815,3611	4,902	4,418	1,27E-01	7,34E-04	3,22E+00	2,26E-01	4,59	0,30	78,38	4,84	4,42	3,58
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58
171,254	31815,3611	4,902	4,418	1,27E-01	7,34E-04	3,22E+00	2,26E-01	4,59	0,30	78,38	4,84	4,42	3,58
156,769	31815,3611	4,895	4,420	1,38E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,26E-01	4,35	0,30	74,40	4,81	4,42	3,59
164,332	31815,3611	4,892	4,410	1,32E-01	7,34E-04	3,23E+00	2,27E-01	4,48	0,30	76,51	4,82	4,41	3,58

ANEXO V

Memorias de cálculo de la potencia entregada por la niquelina

Tabla A.8. Cálculo de la energía entregada por la niquelina

Tiempo (s)	Temperatura medio (°C)	ΔT (°C)	errorT (°C)	Q_medio	Tch [°C]	Q_agua() [W]	Q_ch() [W]	W niquelina [W]
0	20	0,5	7	0,209	20,547	29,430	2,454	31,884
10	20,5	0,3	6,5	0,126	20,828	8,510	1,472	9,982
20	20,8	0,1	6,2	0,042	20,909	21,895	0,491	22,386
30	20,9	0,2	6,1	0,084	21,119	9,485	0,981	10,467
40	21,1	0,1	5,9	0,042	21,209	-0,975	0,491	0,000
50	21,2	0	5,8	0,000	21,200	11,435	0,000	11,435
60	21,2	0,1	5,8	0,042	21,309	10,460	0,491	10,951
70	21,3	0,1	5,7	0,042	21,409	-0,975	0,491	0,000
80	21,4	0	5,6	0,000	21,400	11,435	0,000	11,435
90	21,4	0,1	5,6	0,042	21,509	-0,975	0,491	0,000
100	21,5	0	5,5	0,000	21,500	0,000	0,000	0,000
110	21,5	0	5,5	0,000	21,500	11,435	0,000	11,435
120	21,5	0,1	5,5	0,042	21,609	-0,975	0,491	0,000
130	21,6	0	5,4	0,000	21,600	11,435	0,000	11,435
140	21,6	0,1	5,4	0,042	21,709	-0,975	0,491	0,000
150	21,7	0	5,3	0,000	21,700	0,000	0,000	0,000
160	21,7	0	5,3	0,000	21,700	0,000	0,000	0,000
170	21,7	0	5,3	0,000	21,700	11,435	0,000	11,435
180	21,7	0,1	5,3	0,042	21,809	-0,975	0,491	0,000
190	21,8	0	5,2	0,000	21,800	0,000	0,000	0,000
200	21,8	0	5,2	0,000	21,800	0,000	0,000	0,000
210	21,8	0	5,2	0,000	21,800	11,435	0,000	11,435

220	21,8	0,1	5,2	0,042	21,909	-0,975	0,491	0,000
230	21,9	0	5,1	0,000	21,900	0,000	0,000	0,000
240	21,9	0	5,1	0,000	21,900	0,000	0,000	0,000
250	21,9	0	5,1	0,000	21,900	0,000	0,000	0,000
260	21,9	0	5,1	0,000	21,900	0,000	0,000	0,000
270	21,9	0	5,1	0,000	21,900	0,000	0,000	0,000
280	21,9	0	5,1	0,000	21,900	11,435	0,000	11,435

Para calcular el porcentaje de energía que entrega la niquelina:

$$\%Energía = \frac{W \text{ max} - W \text{ min}}{I (\text{Volt max} - \text{Volt min})} * 100\%$$

$$\%Energía = \frac{11,435 - 0}{25 \text{ A} (240 - 24)\text{V}} * 100\%$$

$$\%Energía = 0,2\%$$

ANEXO VI

Cálculo de las desviaciones punto a punto del modelo matemático respecto a los perfiles de temperatura experimentales

Tabla A.9. Desviación de la temperatura en el medio

Tiempo (min)	Experimental		Medio sin neopreno			Medio con neopreno		
	T medio sin neopreno (°C)	T medio con neopreno (°C)	Modelo	Desviación	%	Modelo	Desviación	%
0	20,6	20,6	20,60	0,00	-0,08	20,60	0,00	-0,08
15	21,9	22,4	21,59	0,01	1,26	21,64	0,03	3,28
30	22,9	23,4	22,50	0,02	1,67	22,55	0,04	3,60
45	24,2	24,7	23,38	0,03	3,26	23,43	0,05	5,05
60	25,2	25,7	24,21	0,04	3,87	24,26	0,06	5,58
75	26,2	26,7	25,01	0,05	4,58	25,06	0,06	6,20
90	27,2	28,0	25,77	0,05	5,37	25,82	0,08	7,76
105	28,5	29,3	26,49	0,07	7,07	26,55	0,09	9,30
120	29,5	30,0	27,19	0,08	7,94	27,25	0,09	9,30
135	30,0	30,0	27,85	0,07	7,30	27,91	0,07	7,09
150	30,0	30,0	28,48	0,05	5,20	28,55	0,05	4,98
165	30,0	30,0	29,08	0,03	3,19	29,15	0,03	2,96
180	30,0	30,0	29,66	0,01	1,27	29,73	0,01	1,03
195	30,0	30,0	29,80	0,01	0,80	29,80	0,01	0,81
210	29,8	30,0	29,80	0,00	-0,04	29,80	0,01	0,81
225	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
240	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
255	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
270	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
285	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
300	29,8	29,8	29,80	0,00	-0,05	29,80	0,00	-0,04
315	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
330	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,04
345	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
360	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
375	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
390	30,0	29,8	29,80	0,01	0,81	29,80	0,00	-0,05
405	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
420	29,8	30,0	29,80	0,00	-0,05	29,80	0,01	0,81
435	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81
450	30,0	30,0	29,80	0,01	0,81	29,80	0,01	0,81

Tabla A.10. Desviación de la temperatura del agua en el espacio de la chaqueta y el tanque

Tiempo (min)	Agua sin neopreno			Agua con neopreno		
	Modelo	Desviación	%	Modelo	Desviación	%
0	21,80	0,00	0,00	22,10	0,00	0,00
15	22,58	0,00	0,08	22,64	0,01	1,15
30	23,45	0,01	0,63	23,50	0,02	2,06
45	24,28	0,02	2,48	24,34	0,03	3,04
60	25,08	0,04	4,29	25,13	0,06	5,88
75	25,83	0,02	2,15	25,89	0,06	5,85
90	26,56	0,06	5,83	26,62	0,08	7,58
105	27,25	0,08	7,95	27,31	0,09	9,27
120	27,91	0,09	8,80	27,97	0,09	9,19
135	28,54	0,07	7,35	28,60	0,06	6,22
150	29,14	0,05	5,40	29,21	0,05	4,87
165	29,71	0,04	3,85	29,78	0,03	2,99
180	30,26	0,02	2,08	30,33	0,01	0,87
195	29,93	0,02	2,49	29,79	0,03	3,28
210	29,81	0,02	2,27	29,82	0,03	3,17
225	29,81	0,03	3,21	29,78	0,03	2,98
240	29,79	0,03	3,28	29,81	0,03	3,21
255	29,80	0,03	3,25	29,79	0,03	2,95
270	29,78	0,03	3,30	29,80	0,04	3,56
285	29,80	0,03	3,26	29,79	0,03	2,96
300	29,82	0,04	3,51	29,79	0,03	3,27
315	29,80	0,04	3,55	29,82	0,03	3,19
330	29,80	0,04	3,55	29,80	0,03	2,94
345	29,80	0,03	3,24	29,82	0,03	3,19
360	29,79	0,04	3,58	29,79	0,03	3,29
375	29,78	0,03	2,99	29,79	0,03	3,29
390	29,79	0,03	3,29	29,79	0,03	3,27
405	29,81	0,03	3,22	29,78	0,03	2,99
420	29,79	0,03	3,29	29,81	0,03	2,57
435	29,80	0,03	3,26	29,81	0,03	3,23
450	29,82	0,03	3,20	29,80	0,03	2,92

ANEXO VII

Código de programación para la resolución del modelo con la ecuación de Baranyi para la fase de adaptación

```
clc;
clear all;
close all;

%Constantes

%umax=0.34/60;           %min-1 (Obtenido de bibliografía)
Ao=1.4e10;               %h-1
R=8.31;                  %J/mol*K
Ea_R=7373.4;             %1/K
t_lag1=270;              %min (Tiempo de la fase lag)
t_lag2=240;              %min (Tiempo de la fase lag)
I=25;                    %Intensidad (A)
Volt=240-24;             %Voltios (Span de la resistencia)
%Qniquelina=I*Volt*60;   %J/min
V=1.015/1000;            %Volumen de medio (m3)
p=997;                   %densidad (kg/m3)
Cp_medio=4584.0395;      %J/kg*K
Cp_H2O=4177.5193;        %J/kg*K
deltaReax=5.3*(1000*4184); %J/g (5.3 kcal/g biomasa)
U1=82.91*60;             %J/min*m2*K
U2=4.66*60;              %J/min*m2*K
Up=4.26*60;              %J/min*m2*K Sin neopreno
Up_neop=3.48*60;         %J/min*m2*K Con neopreno
A1=0.0585;               %m2
A2=0.0613;               %m2
Ap=0.0044;               %m2
Tamb=18;                 %°C
m_H2O=p*0.250/1000;      %kg
xo=0.493;                 %g/L inoculo
T_bm=0.2;                 %°C
Tsp=30;                  %°C

%%
%Introducción de parámetros
dt=0.001;
to=0;
tf=450;
m=(tf-to)/dt;

%Declaracion de las varibales
umax1=zeros(m,1);
umax2=zeros(m,1);
Qniquelina1=zeros(m,1);
Qniquelina2=zeros(m,1);
qo1=zeros(m,1);
qo2=zeros(m,1);
alpha1=zeros(m,1);
alpha2=zeros(m,1);
Qperdido1=zeros(m,1);
Qperdido2=zeros(m,1);
eTmedio1=zeros(m,1);
```

```

eTmedio2=zeros(m,1);
Tmedio1=zeros(m,1);
Tmedio2=zeros(m,1);
T_niq1=zeros(m,1);
T_niq2=zeros(m,1);
x1=zeros(m,1);
x2=zeros(m,1);
t=zeros(m,1);

```

%Inicializacion de variables

```

x1(1)=xo;
x2(1)=xo;
Tmedio1(1)=20.6;
Tmedio2(1)=20.6;
T_niq1(1)=21.8;
T_niq2(1)=22.1;

```

%Método de Euler

```

for i = 1:m
    %umax
    umax1(i)=((Ao/60)*exp(-Ea_R*(1/(Tmedio1(i)+273))));
    umax2(i)=((Ao/60)*exp(-Ea_R*(1/(Tmedio2(i)+273))));
    %Modelo de Baranyi para la fase lag
    qo1(i)=1/((exp(umax1(i)*t_lag1))-1);
    qo2(i)=1/((exp(umax2(i)*t_lag2))-1);
    alpha1(i)=qo1(i)/(qo1(i)+exp(-umax1(i)*t(i)));
    alpha2(i)=qo2(i)/(qo2(i)+exp(-umax2(i)*t(i)));
    %Qperdido (sin y con neopreno)
    Qperdido1(i)=Up*Ap*(T_niq1(i)-Tamb);    %J/min*m2*K
    Qperdido2(i)=Up_neop*Ap*(T_niq2(i)-Tamb);    %J/min*m2*K

```

%Control de Temperatura con Niquelina

```

eTmedio1(i)=Tsp-Tmedio1(i);
eTmedio2(i)=Tsp-Tmedio2(i);

if eTmedio1(i)>=0
    if Tmedio1(i) >= (Tsp+T_bm)
        Niquelina1(i) =0;
    elseif Tmedio1(i) <= (Tsp-T_bm)
        Niquelina1(i) = (0.21/100)*I*Volt; %Energía eléctrica
    end
elseif eTmedio1(i)<0
    Niquelina1(i) =0;
end

if eTmedio2(i)>=0
    if Tmedio2(i) >= (Tsp+T_bm)
        Niquelina2(i) =0;
    elseif Tmedio2(i) <= (Tsp-T_bm)
        Niquelina2(i) = (0.21/100)*I*Volt; %Energía eléctrica
    end
elseif eTmedio2(i)<0
    Niquelina2(i) =0;
end

```

%Generación de Biomasa

```

x1(i+1) = x1(i) + (umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))*dt; %Crecimiento de biomasa f(t)
x2(i+1) = x2(i) + (umax2(i)*alpha2(i)*x2(i))*dt;

```

```

%Temperatura del medio de cultivo

Tmedio1(i+1)=Tmedio1(i)+(deltaReax*(umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_n
iq1(i)-Tmedio1(i)))/(p*V*Cp_medio)))*dt;

Tmedio2(i+1)=Tmedio2(i)+(deltaReax*(umax2(i)*alpha2(i)*x2(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_n
iq2(i)-Tmedio2(i)))/(p*V*Cp_medio)))*dt;
%Temperatura agua niquelina
T_niq1(i+1)=T_niq1(i)+(60*Qniquelina1(i)-U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i))-U2*A2*(T_niq1(i)-
Tamb)-Qperdido1(i))/(m_H2O*Cp_H2O)*dt; %Unidades de tiempo en min
T_niq2(i+1)=T_niq2(i)+(60*Qniquelina2(i)-U1*A1*(T_niq2(i)-Tmedio2(i))-U2*A2*(T_niq2(i)-
Tamb)-Qperdido2(i))/(m_H2O*Cp_H2O)*dt;

t(i+1)=t(i)+dt;
end

%%
%Datos experimentales importados de excel

%Fase lag
[ensayo1]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "G9:K24");
x_ensayo1=ensayo1(:,3);
t_ensayo1=ensayo1(:,1);

[ensayo2]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "G58:K73");
x_ensayo2=ensayo2(:,3);
t_ensayo2=ensayo2(:,1);

%Medio de cultivo
[Ensayo1_T_H2O]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "B9:E39");
t_exp1=Ensayo1_T_H2O(:,1);
T_H2O1=Ensayo1_T_H2O(:,2);
T_medio1=Ensayo1_T_H2O(:,4);

[Ensayo2_T_H2O]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "B58:E88");
t_exp2=Ensayo2_T_H2O(:,1);
T_H2O2=Ensayo2_T_H2O(:,2);
T_medio2=Ensayo2_T_H2O(:,4);

%Graficas
%Modelo Baranyi para la fase de adaptacion
figure (1)

subplot(1,2,1);
plot(t,x1);
hold on
grid on
plot(t_ensayo1,x_ensayo1, "*");
xlabel("Tiempo (min)")
ylabel("Biomasa (g/L)")
legend("Baranyi", "Experimental", 'Location', 'northwest');
title({'Fase de latencia-Baranyi'; 'Ensayo 1 - Sin neopreno'});

subplot(1,2,2);
plot(t,x2);
hold on
grid on
plot(t_ensayo2,x_ensayo2, "*", "MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)")

```

```

ylabel("Biomasa (g/L)")
legend("Baranyi", "Experimental", 'Location', 'northwest');
% title({'Fase de latencia-Baranyi'; 'Ensayo 2 - Con neopreno'});

%Grafica temperatura del medio vs tiempo
figure (2)

subplot(1,2,1);
plot(t,Tmedio1);
hold on
grid on
plot(t_exp1,T_medio1,"*");
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Medio de cultivo'; 'Ensayo 1 - Sin neopreno'});

subplot(1,2,2)
plot(t,Tmedio2);
hold on
grid on
plot(t_exp2,T_medio2,"*", "MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Medio de cultivo'; 'Ensayo 2 - Con neopreno'});

%Grafica temperatura del agua vs tiempo
figure (3)

subplot(1,2,1);
plot(t,T_niq1);
hold on
grid on
plot(t_exp1,T_H2O1,"*");
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
title({'Agua'; 'Ensayo 1 - Sin neopreno'});

subplot(1,2,2)
plot(t,T_niq2);
hold on
grid on
plot(t_exp2,T_H2O2,"*", "MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
title({'Agua'; 'Ensayo 2 - Con neopreno'});

```

ANEXO VII

Código de programación para la resolución del modelo con la ecuación de Hills y Wright para la fase de adaptación

```
clc;
clear all;
close all;

%Constantes

%umax=0.34/60;           %min-1 (Obtenido de bibliografía)
Ao=1.4e10;               %h-1
R=8.31;                 %J/mol*K
Ea_R=7373.4;            %1/K
t_lag1=270;              %min (Tiempo de la fase lag)
t_lag2=240;             %min (Tiempo de la fase lag)
I=25;                   %Intensidad (A)
Volt=240-24;            %Voltios (Span de la resistencia)
%Qniquelina=I*Volt*60;  %J/min
V=1.015/1000;           %Volumen de medio (m3)
p=997;                  %densidad (kg/m3)
Cp_medio=4584.0395;     %J/kg*K
Cp_H2O=4177.5193;      %J/kg*K
deltaReax=5.3*(1000*4184); %J/g (5.3 kcal/g biomasa)
U1=82.91*60;           %J/min*m2*K
U2=4.66*60;            %J/min*m2*K
Up=4.26*60;            %J/min*m2*K Sin neopreno
Up_neop=3.48*60;       %J/min*m2*K Con neopreno
A1=0.0585;             %m2
A2=0.0613;             %m2
Ap=0.0044;             %m2
Tamb=18;               %°C
m_H2O=p*0.250/1000;    %kg
xo=0.493;              %g/L inoculo
T_bm=0.2;              %°C
Tsp=30;                %°C

%%
%Introducción de parámetros
dt=0.001;
to=0;
tf=450;
k=(tf-to)/dt;

%Declaracion de las varibales
umax1=zeros(k,1);
umax2=zeros(k,1);
Qniquelina1=zeros(k,1);
Qniquelina2=zeros(k,1);
qo1=zeros(k,1);
qo2=zeros(k,1);
alpha1=zeros(k,1);
alpha2=zeros(k,1);
m1=zeros(k,1);
m2=zeros(k,1);
Qperdido1=zeros(k,1);
```



```

Qperdido2=zeros(k,1);
eTmedio1=zeros(k,1);
eTmedio2=zeros(k,1);
Tmedio1=zeros(k,1);
Tmedio2=zeros(k,1);
T_niq1=zeros(k,1);
T_niq2=zeros(k,1);
x1=zeros(k,1);
x2=zeros(k,1);
t=zeros(k,1);

```

%Inicializacion de variables

```

x1(1)=xo;
x2(1)=xo;
m1(1)=xo;
m2(1)=xo;
Tmedio1(1)=20.6;
Tmedio2(1)=20.6;
T_niq1(1)=21.8;
T_niq2(1)=22.1;

```

%Método de Euler

```
for i = 1:k
```

```
    %umax
```

```
    umax1(i)=(Ao/60)*exp(-Ea_R*(1/(Tmedio1(i)+273)));
```

```
    umax2(i)=(Ao/60)*exp(-Ea_R*(1/(Tmedio2(i)+273)));
```

```
    %Modelo de Hills para la fase lag
```

```
    alpha1(i)=(umax1(i)/(exp(umax1(i)*t_lag1)-1))*((m1(i)-x1(i))/x1(i))^t(i);
```

```
    alpha2(i)=(umax2(i)/(exp(umax2(i)*t_lag2)-1))*((m2(i)-x2(i))/x2(i))^t(i);
```

```
    %Qperdido (sin y con neopreno)
```

```
    Qperdido1(i)=Up*Ap*(T_niq1(i)-Tamb);    %J/min*m2*K
```

```
    Qperdido2(i)=Up_neop*Ap*(T_niq2(i)-Tamb);    %J/min*m2*K
```

%Control de Temperatura con Niquelina

```
eTmedio1(i)=Tsp-Tmedio1(i);
```

```
eTmedio2(i)=Tsp-Tmedio2(i);
```

```
if eTmedio1(i)>=0
```

```
    if Tmedio1(i) >= (Tsp+T_bm)
```

```
        Niquelina1(i) =0;
```

```
    elseif Tmedio1(i) <= (Tsp-T_bm)
```

```
        Niquelina1(i) = (0.21/100)*I*Volt; %Energía eléctrica
```

```
    end
```

```
elseif eTmedio1(i)<0
```

```
    Niquelina1(i) =0;
```

```
end
```

```
if eTmedio2(i)>=0
```

```
    if Tmedio2(i) >= (Tsp+T_bm)
```

```
        Niquelina2(i) =0;
```

```
    elseif Tmedio2(i) <= (Tsp-T_bm)
```

```
        Niquelina2(i) = (0.21/100)*I*Volt; %Energía eléctrica
```

```
    end
```

```
elseif eTmedio2(i)<0
```

```
    Niquelina2(i) =0;
```

```
end
```

%Generación de Biomasa

```
x1(i+1) = x1(i) + (umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))*dt; %Crecimiento de biomasa f(t)
```

```

x2(i+1) = x2(i) + (umax2(i)*alpha2(i)*x2(i))*dt;
%Parámetro m del modelo de Hills
m1(i+1)=m1(i)+(umax1(i,1)*m1(i))*dt;
m2(i+1)=m2(i)+(umax2(i,1)*m2(i))*dt;
%Temperatura del medio de cultivo

Tmedio1(i+1)=Tmedio1(i)+(deltaReax*(umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_n
iq1(i)-Tmedio1(i)))/(p*V*Cp_medio)))*dt;

Tmedio2(i+1)=Tmedio2(i)+(deltaReax*(umax2(i)*alpha2(i)*x2(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_n
iq2(i)-Tmedio2(i)))/(p*V*Cp_medio)))*dt;
%Temperatura agua niquelina
T_niq1(i+1)=T_niq1(i)+(60*Qniquelina1(i)-U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i))-U2*A2*(T_niq1(i)-
Tamb)-Qperdido1(i))/(m_H2O*Cp_H2O)*dt; %Unidades de tiempo en min
T_niq2(i+1)=T_niq2(i)+(60*Qniquelina2(i)-U1*A1*(T_niq2(i)-Tmedio2(i))-U2*A2*(T_niq2(i)-
Tamb)-Qperdido2(i))/(m_H2O*Cp_H2O)*dt;

t(i+1)=t(i)+dt;
end
%%
%Datos experimentales importados de excel

%Fase lag
[ensayo1]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "G9:K24");
x_ensayo1=ensayo1(:,3);
t_ensayo1=ensayo1(:,1);

[ensayo2]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "G58:K73");
x_ensayo2=ensayo2(:,3);
t_ensayo2=ensayo2(:,1);

%Medio de cultivo
[Ensayo1_T_H2O]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "B9:E39");
t_exp1=Ensayo1_T_H2O(:,1);
T_H2O1=Ensayo1_T_H2O(:,2);
T_medio1=Ensayo1_T_H2O(:,4);

[Ensayo2_T_H2O]=xlsread("V1_Anexos V_XIV", "ANEXO VIII-A", "B58:E88");
t_exp2=Ensayo2_T_H2O(:,1);
T_H2O2=Ensayo2_T_H2O(:,2);
T_medio2=Ensayo2_T_H2O(:,4);

%Graficas
%Modelo de Hills para la fase de adaptacion
figure (1)

subplot(1,2,1);
plot(t,x1);
hold on
grid on
plot(t_ensayo1,x_ensayo1, ".", 'MarkerSize',20);
xlabel("Tiempo (min)")
ylabel("Biomasa (g/L)")
ylim([0.4 2.2]);
legend("Hills", "Experimental", 'Location', 'northwest');
title({'Fase de latencia-Hills'; 'Ensayo 1 - Sin neopreno'});

subplot(1,2,2);
plot(t,x2);

```

```

hold on
grid on
plot(t_ensayo2,x_ensayo2,".", 'MarkerSize',20,"MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)")
ylabel("Biomasa (g/L)")
ylim([0.4 2.6]);
legend("Hills", "Experimental", 'Location', 'northwest');
% title({'Fase de latencia-Hills';'Ensayo 2 - Con neopreno'});
%
%Grafica temperatura del medio vs tiempo
figure (2)

subplot(1,2,1);
plot(t,Tmedio1);
hold on
grid on
plot(t_exp1,T_medio1,".", 'MarkerSize',20);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Medio de cultivo';'Ensayo 1 - Sin neopreno'});
%
subplot(1,2,2)
plot(t,Tmedio2);
hold on
grid on
plot(t_exp2,T_medio2,".", 'MarkerSize',20,"MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Medio de cultivo';'Ensayo 2 - Con neopreno'});

%Grafica temperatura del agua vs tiempo
figure (3)

subplot(1,2,1);
plot(t,T_niq1);
hold on
grid on
plot(t_exp1,T_H2O1,".", 'MarkerSize',20);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Agua';'Ensayo 1 - Sin neopreno'});

subplot(1,2,2)
plot(t,T_niq2);
hold on
grid on
plot(t_exp2,T_H2O2,".", 'MarkerSize',20,"MarkerEdgeColor",[0.4660 0.6740 0.1880]);
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");
legend("Modelo", "Experimental", 'Location', 'southeast');
% title({'Agua';'Ensayo 2 - Con neopreno'});

```

ANEXO VIII

Código de programación para la resolución del modelo con la ecuación de Hills y Wright para la fase de adaptación y con aire en el espacio entre la chaqueta y el tanque

```
clc;
clear all;
close all;

%Constantes

%umax=0.34/60;           %min-1 (Obtenido de bibliografía)
Ao=1.4e10;               %h-1
R=8.31;                  %J/mol*K
Ea_R=7373.4;             %1/K
t_lag1=270;              %min (Tiempo de la fase lag)
% t_lag2=240;           %min (Tiempo de la fase lag)
I=25;                    %Intensidad (A)
Volt=240-24;             %Voltios (Spam de la resistencia)
%Qniquelina=I*Volt*60;   %J/min
V=1.015/1000;            %Volumen de medio (m3)
p=997;                   %densidad (kg/m3)
Cp_medio=4584.0395;     %J/kg*K
Cp_aire=1006.820;       %J/kg*K
deltaReax=5.3*(1000*4184); %J/g (5.3 kcal/g biomasa)
U1=1.10*60;             %J/min*m2*K
U2=0.81*60;             %J/min*m2*K
A1=0.0585;              %m2
A2=0.0613;              %m2
Tamb=18;                 %°C
m_aire=1.203*0.250/1000; %kg
xo=0.493;                %g/L inoculo
T_bm=0.2;                %°C
Tsp=30;                  %°C

%%
%Introducción de parámetros
dt=0.001;
to=0;
tf=450;
k=(tf-to)/dt;

%Declaracion de las varibales
umax1=zeros(k,1);
Qniquelina1=zeros(k,1);
qo1=zeros(k,1);
alpha1=zeros(k,1);
m1=zeros(k,1);
eTmedio1=zeros(k,1);
Tmedio1=zeros(k,1);
T_niq1=zeros(k,1);
x1=zeros(k,1);
t=zeros(k,1);

%Inicializacion de variables
```

```

x1(1)=xo;
m1(1)=xo;
Tmedio1(1)=20.6;
T_niq1(1)=18;

%Método de Euler
for i = 1:k
    %umax
    umax1(i)=((Ao/60)*exp(-Ea_R*(1/(Tmedio1(i)+273))));

    %Modelo de Hills para la fase lag
    alpha1(i)=(umax1(i)/(exp(umax1(i)*t_lag1)-1))*((m1(i)-x1(i))/x1(i))*t(i);

    %Control de Temperatura con Niquelina
    eTmedio1(i)=Tsp-Tmedio1(i);

    if eTmedio1(i)>=0
        if Tmedio1(i) >= (Tsp+T_bm)
            Qniquelina1(i) =0;
        elseif Tmedio1(i) <= (Tsp-T_bm)
            Qniquelina1(i) = (0.21/100)*1*Volt; %Energía eléctrica
        end
    elseif eTmedio1(i)<0
        Qniquelina1(i) =0;
    end

    %Generación de Biomasa
    x1(i+1) = x1(i) + (umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))*dt; %Crecimiento de biomasa f(t)

    %Parámetro m del modelo de Hills
    m1(i+1)=m1(i)+(umax1(i,1)*m1(i))*dt;

    %Temperatura del medio de cultivo
    %
    Tmedio1(i+1)=Tmedio1(i)+(deltaReax*(umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i)))/(p*V*Cp_medio)))*dt;

    Tmedio1(i+1)=Tmedio1(i)+(deltaReax*(umax1(i)*alpha1(i)*x1(i))/(p*Cp_medio*1000)+((U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i)))/(p*V*Cp_medio*1000)))*dt;

    %Temperatura aire niquelina
    % T_niq1(i+1)=T_niq1(i)+(60*Qniquelina1(i)-U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i))-U2*A2*(T_niq1(i)-Tamb))/(m_aire*Cp_aire)*dt; %Unidades de tiempo en min
    T_niq1(i+1)=T_niq1(i)+(60*Qniquelina1(i)-U1*A1*(T_niq1(i)-Tmedio1(i))-U2*A2*(T_niq1(i)-Tamb))/(m_aire*Cp_aire*1000)*dt; %Unidades de tiempo en min

    t(i+1)=t(i)+dt;
end
%%

figure(1)
plot(t,Tmedio1);
grid on
xlabel("Tiempo (min)");
ylabel("Temperatura (°C)");

figure(2)
plot(t,T_niq1);
grid on

```

```
xlabel("Tiempo (min)");  
ylabel("Temperatura (°C)");
```