

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO CON *Aspergillus niger* PARA EL DISEÑO DE UN BIORREACTOR TIPO LECHO EMPACADO DE 200 LITROS

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
QUÍMICO**

SEBASTIÁN NICOLÁS CANO CAIZA
(sebastian.cano@epn.edu.ec)

DIRECTORA: ING. MARÍA AUGUSTA PÁEZ LARA
(maria.paez@epn.edu.ec)

CO-DIRECTORA: ING. NEYDA FERNANDA ESPÍN FÉLIX
(neyda.espin@epn.edu.ec)

QUITO, OCTUBRE 2019

© Escuela Politécnica Nacional (2019)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Sebastián Nicolás Cano Caiza, declaro que el trabajo 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.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Sebastián Nicolás Cano Caiza

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Sebastián Nicolás Cano Caiza bajo mi supervisión.

Ing. María Augusta Páez Lara

DIRECTORA DE PROYECTO

Ing. Neyda Fernanda Espín Félix

CO-DIRECTORA DE PROYECTO

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	xii
1 REVISION BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 Fermentación en medio sólido (FMS)	1
1.1.1 Fenómenos de transporte involucrados en la FMS	3
1.1.1.1 Transferencia de calor	3
1.1.1.2 Transferencia de masa	4
1.1.2 Tipo de sustratos empleados	4
1.1.3 Microorganismos utilizados	6
1.1.4 Aplicaciones de la FMS	6
1.1.4.1 Aplicaciones tradicionales	7
1.1.4.2 Aplicaciones contemporáneas	7
1.1.5 Tipos de biorreactores para FMS	10
1.1.5.1 Biorreactor en Columna	11
1.1.5.2 Biorreactor de Lecho Estéril	12
1.1.5.3 Biorreactor de Tambor Horizontal	13
1.1.5.4 Biorreactor Zymotis	14
1.1.6 Escalado de biorreactores para FMS	15
1.2 Modelado de procesos biotecnológicos	16
1.2.1 Rol de los parámetros cinéticos en el modelado de procesos biotecnológicos	17
1.2.2 Aplicación del modelo matemático en el diseño de biorreactores para FMS	19
1.2.3 Avances y limitaciones en el modelado de procesos FMS	20
2 METODOLOGÍA	22
2.1 Definición de las características y fenómenos de transporte involucrados en la FMS	22
2.1.1 Planteamiento del balance de masa	23
2.1.2 Planteamiento del balance de energía	26
2.2 Validación del modelo matemático	28
2.2.1 Determinación de la tasa máxima de crecimiento (μ_{max})	29

2.2.2	Determinación de la densidad aparente (M_W)	29
2.2.3	Determinación de los criterios para evaluar la validación	30
2.3	Aplicación del modelo matemático para el diseño de un biorreactor tipo lecho empacado	31
2.3.1	Diseño del sistema de aireación	32
2.3.2	Determinación del número de lechos teóricos antes del punto de muerte térmica	34
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1	Modelo matemático del proceso de fermentación en medio sólido con <i>Aspergillus niger</i>	36
3.2	Capacidad de predicción del modelo frente a resultados experimentales	42
3.2.1	Características físicas y condiciones de operación del sistema de fermentación (FMS)	43
3.2.2	Parámetros cinéticos e inicialización de las variables de respuesta	44
3.2.3	Comportamiento global del proceso de fermentación (FMS)	47
3.2.4	Perspectivas para el desempeño interno del proceso de fermentación (FMS)	54
3.2.4.1	Humedad en el lecho empacado y en el flujo de aire circulante	54
3.2.4.2	Temperatura del biorreactor durante la fermentación	56
3.3	Diseño del biorreactor tipo lecho empacado de 200 litros para la FMS con <i>Aspergillus niger</i>	58
3.3.1	Desempeño del diseño propuesto para el proceso de FMS con <i>Aspergillus niger</i>	62
3.3.2	Número de lechos teóricos	64
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
4.1	Conclusiones	69
4.2	Recomendaciones	69
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
	ANEXOS	77

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1.1: Enzimas producidas a partir de residuos agroindustriales utilizados como sustratos en procesos de FMS y sus principales aplicaciones	8
Tabla 3.1: Características de los fermentadores utilizados en cada caso de estudio	43
Tabla 3.2: Parámetros cinéticos utilizados para los casos A y B	44
Tabla 3.3: Parámetros cinéticos utilizados para el caso C	45
Tabla 3.4: Inicialización de condiciones para los casos A y B	46
Tabla 3.5: Inicialización de condiciones para el caso C	47
Tabla 3.6: Concentración final de biomasa obtenida en los casos A y B	48
Tabla 3.7: Concentración final de biomasa obtenida en el caso C	48
Tabla 3.8: Altura crítica del lecho obtenida en los casos A, B y C	53
Tabla 3.9: Dimensiones del biorreactor tipo lecho empacado según la relación altura-diámetro	59
Tabla 3.10: Dimensiones del sistema de aireación	60
Tabla 3.11: Experimentos con mejor ajuste al modelo matemático en función del error relativo obtenido con su nomenclatura	62
Tabla 3.12: Número de lechos teóricos a partir de los cuales se alcanza la temperatura crítica del proceso en función de la relación H/D	64
Tabla 3.13: Concentración máxima de biomasa en kg de biomasa / kg de lecho seco alcanzada durante las 48 horas de trabajo en función de H/D	65
Tabla 3.14: Número de aspersores adicionales requeridos en función de la relación H/D	66
Tabla 3.15: Carga de sustrato en base seca y húmeda	67
Tabla 3.16: t_{90} en horas para los casos de mejor ajuste en función de H/D	67

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1:	Componentes representativos de un sistema de FMS	1
Figura 1.2:	Soporte natural (bagazo de caña) e inerte (amberlita IRC 120 Na)	5
Figura 1.3:	Enzimas utilizadas en la industria alimenticia y farmacéutica	9
Figura 1.4:	Esquema del fermentador en columna	11
Figura 1.5:	Esquema del fermentador de Columna Estéril	12
Figura 1.6:	Esquema de (a) Biorreactor de tambor rotatorio; (b) Biorreactor de paletas	13
Figura 1.7:	Esquema del biorreactor Zymotis	14
Figura 1.8:	Sistema de fermentación de bandejas móviles	20
Figura 2.1:	Esquema de la división del fermentador en volúmenes de control	23
Figura 2.2:	Diagrama de flujo del proceso iterativo para el diseño del sistema de aireación	34
Figura 3.1:	Nomenclatura para identificar los experimentos analizados	42
Figura 3.2:	Error relativo en la concentración final de biomasa obtenido con el modelo y los resultados experimentales	50
Figura 3.3:	Perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales para los casos A	51
Figura 3.4:	Perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales para los casos B	51
Figura 3.5:	Raíz del error cuadrático medio de los perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales	52

Figura 3.6:	Hidratación del lecho empacado en los experimentos del caso A	55
Figura 3.7:	Hidratación del lecho empacado en los casos B _{CP-S} y B _{CP-NS}	56
Figura 3.8:	Perfil de temperatura del lecho empacado en los casos A	57
Figura 3.9:	Perfil de temperatura del lecho empacado en los casos B _{CP-S} y B _{CP-NS}	58
Figura 3.10:	Reactor de lecho empacado a escala piloto	59
Figura 3.11:	Diseño del biorreactor con su sistema de aireación para una relación H/D=2	61
Figura 3.12:	Concentración máxima de biomasa viable, variación de temperatura y variación de humedad en cada lecho teórico manteniendo una relación H/D=2	63
Figura 3.13:	Número de aspersores adicionales requeridos en función de la relación H/D	65

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I Código implementado en la plataforma MatLab versión R2017b	79
ANEXO II Determinación de la tasa máxima de crecimiento	86
ANEXO III Determinación de la densidad aparente	88
ANEXO IV Parámetros utilizados en el modelo matemático	90
ANEXO V Listado de ecuaciones utilizadas en el modelo matemático	91

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>A</i>	Área normal al flujo de aire
<i>A_d</i>	Factor de frecuencia de muerte
<i>a_w</i>	Actividad de agua del sólido
<i>C_o</i>	Coefficiente de descarga
<i>Cp_a</i>	Capacidad calorífica del aire
<i>Cp_m</i>	Capacidad calorífica del sustrato seco
<i>Cp_v</i>	Capacidad calorífica del vapor
<i>Cp_w</i>	Capacidad calorífica del agua
<i>D_{ab}</i>	Coefficiente de difusión de vapor de agua en aire
<i>D_{fi}</i>	Diámetro interno de la flauta
<i>e</i>	Espacio vacío dentro del biorreactor
<i>E_a</i>	Energía de activación para muerte
<i>f_M</i>	Factor de fricción medio
<i>G</i>	Flujo superficial de aire
<i>h</i>	Coefficiente de transferencia de calor por convección
<i>H_g</i>	Humedad del aire
<i>H_{in}</i>	Humedad del aire a la entrada del equipo
<i>h_p</i>	Espesor de película alrededor del sustrato
<i>H_R</i>	Humedad relativa del aire
<i>h_t</i>	Altura del volumen de control
<i>k</i>	Constante de recuperación de momentum
<i>k_d</i>	Constante de muerte térmica
<i>k_w</i>	Tasa de difusión
<i>L</i>	Calor latente del agua
<i>L_f</i>	Longitud de la flauta
<i>L*</i>	Longitud característica
<i>M</i>	Densidad aparente del lecho en fase seca
<i>M_w</i>	Densidad aparente del lecho en fase húmeda
<i>n</i>	Número de datos
<i>O</i>	Concentración de oxígeno

P	Presión dentro del reactor
Q_a	Caudal del aire
R	Constante de los gases ideales
r_a	Radio del fermentador
S	Concentración de sustrato
T_{in}	Temperatura del aire a la entrada del equipo
T_g	Temperatura del gas
T_s	Temperatura del sólido
u_{aire}	Viscosidad del aire
V	Volumen de un plato
V_i	Velocidad de ingreso del aire a la flauta
V_o	Velocidad de salida del aire por los orificios
W	Concentración de agua
W_f	Agua que retorna desde la fase gaseosa
W_{sat}	Humedad de saturación del sólido
X_{fpred}	Concentración final de biomasa predicha con el modelo matemático
X_{freal}	Concentración final de biomasa reportada experimentalmente
X_m	Concentración máxima de biomasa
X_{pred}	Concentración de biomasa predicha con el modelo matemático
X_{real}	Concentración de biomasa reportada experimentalmente
X_T	Concentración total de biomasa
X_V	Concentración de biomasa viable
Y_o	Oxígeno requerido por kg de biomasa
Y_q	Calor metabólico generado por kg de biomasa
Y_w	Agua requerida por kg de biomasa
Y_{XS}	Rendimiento de sustrato a biomasa

Letras Griegas y símbolos

ρ_{XT}	Densidad de la biomasa
ρ_{Mw}	Densidad del lecho húmedo
ρ_{aire}	Densidad del aire

μ	Tasa de crecimiento
μ_{max}	Tasa máxima de crecimiento microbiano
μ_T	Tasa de crecimiento en función de la temperatura
μ_W	Tasa de crecimiento en función de la actividad de agua
$\%er$	Error relativo

RESUMEN

La fermentación en medio sólido (FMS), constituye una alternativa para la elaboración de extractos enzimáticos y metabolitos de interés industrial. A pesar del potencial que presentan los procesos de FMS, existen factores que complican su escalado por lo que una alternativa para diseñar dichos procesos es la predicción a través del modelado matemático y su posterior simulación.

En el presente trabajo se realizó una simulación del proceso de FMS con *Aspergillus niger* en un biorreactor de 200 litros, de esta manera se analizaron nuevos criterios de diseño para trabajar en un equipo escala piloto. El diseño del equipo se fundamentó en el modelado y posterior simulación de los fenómenos de transferencia de masa y energía dentro del sistema, los mismos que se describen en función del tiempo y del espacio. La simulación del proceso se logró, dividiendo al lecho en varios segmentos a los que se denominó volúmenes de control y se planteó el balance de masa y energía en estado transitorio para cada fase en todos los segmentos.

El modelo matemático fue validado a través de la comparación con resultados experimentales de trabajos de investigación desarrollados en el Laboratorio de Bioprocesos. Estos trabajos se realizaron en un mismo biorreactor de lecho empacado y bajo condiciones de operación similares. Los criterios de validación utilizados fueron la raíz del error cuadrático medio (RMSE) y el error relativo, aquellos casos con menor error relativo fueron seleccionados para el diseño del biorreactor escala piloto (200 litros) y de su sistema de aireación. Se procuró manejar una relación altura-diámetro igual a 2, ya que el crecimiento axial del biorreactor ya se ha contemplado en trabajos de investigación previamente realizados.

De los trabajos de investigación analizados, para los tres casos con menor error relativo (MA_1 , MA_2 y MA_3), se definió la altura crítica del lecho mediante el balance de energía. Esta altura correspondió a aquella cuando la temperatura alcanza valores que generan dificultades en el crecimiento microbiano. Se determinó que,

para los casos MA₁ y MA₂, donde la biomasa obtenida fue mayor, se produjeron mayores cantidades de calor metabólico, lo que generó dificultad para el flujo de aire y por ende para el enfriamiento del lecho, además la temperatura en los lechos superiores es cercana a los 50°C lo que dificulta el metabolismo del microorganismo.

El diseño del biorreactor finaliza con la adición de los sistemas de aireación, cuya cantidad depende del número de lechos teóricos requeridos para alcanzar la altura crítica del sistema. Para los casos MA₁, MA₂ y MA₃ se requieren 4, 5 y 1 sistemas de aireación respectivamente. Los sistemas de aireación adicionales garantizan una temperatura de trabajo inferior a la temperatura crítica, como consecuencia el proceso podrá desarrollarse sin dificultades.

Una vez concluido el proceso, se demuestra que el modelo matemático desarrollado es una herramienta efectiva para el diseño de un biorreactor de 200 L. A su vez, en el modelo propuesto se describen los fenómenos de transferencia de masa y energía del proceso de FMS, lo que permite la obtención del número máximo de lechos teóricos, que constituye un criterio efectivo para el diseño de un biorreactor y de su sistema de aireación.

INTRODUCCIÓN

Los procesos de fermentación en medio sólido constituyen una alternativa para la elaboración de extractos enzimáticos y metabolitos de interés para la industria alimenticia y farmacéutica (Pastrana, 1996). En ambas industrias la fermentación líquida sumergida (FLS) se emplea en mayor cantidad, ya que la FMS en su mayoría se practica a escala de laboratorio. Producto de los estudios realizados se ha demostrado que en ocasiones los rendimientos de obtención de enzimas con FMS son superiores que los reportados en la FLS (Chen, 2013).

Una de las ventajas que presentan los procesos de FMS es el uso de residuos agroindustriales como sustrato, los mismos que se desecharían sin aprovecharse o en su defecto se venderían como alimento para animales. Algunos de los sustratos orgánicos más utilizados provienen del arroz, papa, yuca, banano y demás productos almidonosos que pueden ser utilizados como fuente de carbono para el microorganismo. Los hongos filamentosos son los microorganismos más utilizados en este tipo de fermentación ya que se adaptan mejor a sustratos con bajo contenido de agua libre (Mitchell, 2006).

A pesar del potencial de la FMS, existen factores que complican su escalado, como la dificultad para obtener los parámetros cinéticos del microorganismo utilizado de forma experimental, la descripción adecuada de los fenómenos de transferencia de masa y energía en el biorreactor y el tiempo que se requiere para llevar a cabo ensayos en laboratorio para escalar el proceso (Pandey, 2003).

Una alternativa para diseñar los procesos de FMS es la predicción a través del modelado de procesos biotecnológicos; sin embargo, resulta un desafío debido a la complejidad de los sistemas biológicos y la comprensión limitada de los bioprocesos (Koutinas et al., 2012). En este contexto, desarrollar y validar un modelo dinámico que permita obtener criterios y directrices para diseñar un biorreactor, en función de la cinética de crecimiento de un microorganismo y los fenómenos de transporte involucrados, provee de una herramienta matemática que prevendría el gasto de tiempo y recursos económicos en la industria.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO (FMS)

Los procesos de fermentación en medio sólido, se llevan a cabo con microorganismos que crecen sobre un sustrato conformado por partículas sólidas húmedas. El espacio que se genera entre partículas contiene una fase gaseosa continua, que generalmente es aire. Aunque es posible que exista agua en forma de gotas o como una fina película rodeando las partículas, la mayor cantidad de agua se encuentra en el interior de las mismas (Mitchell et al. , 2006, p.1). Un esquema de los componentes más importantes en un sistema de FMS se muestra en la Figura 1.1.

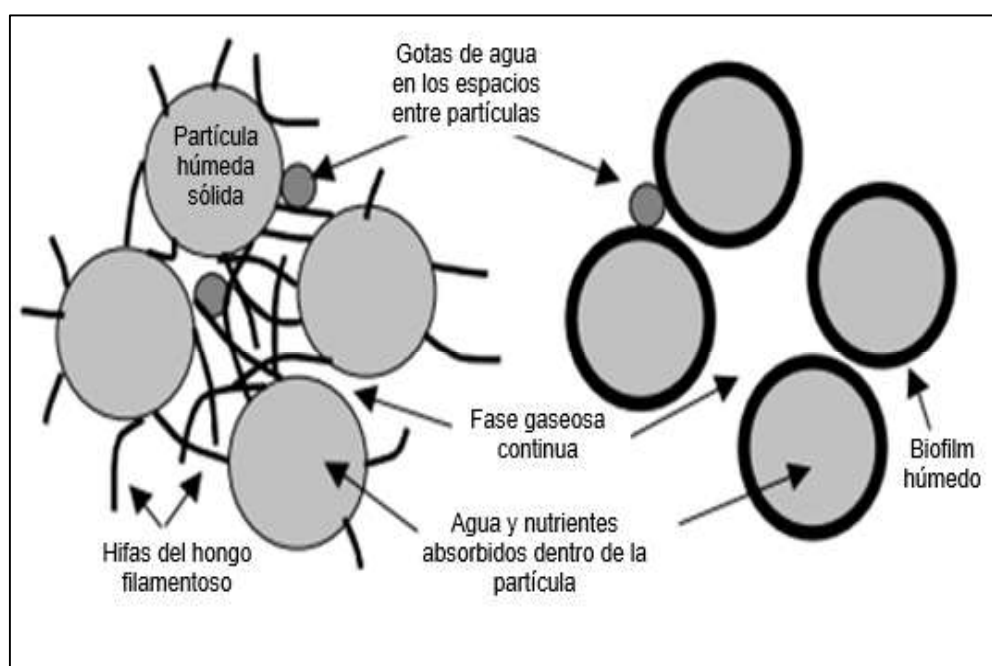


Figura 1.1. Componentes representativos de un sistema de FMS
(Mitchell et al., 2006, p.2)

El entorno del microorganismo en un proceso de FMS es muy diferente al entorno que experimentaría en procesos de Fermentación Líquida Sumergida. Cuando se utilizan sustratos sólidos el contenido de agua se mantiene cerca de 60% mientras que, en la FLS el contenido de agua típico es cercano al 95%. Para este último

caso, Chen y Xu (2004) indican que las razones que facilitan el control de las condiciones a las cuales se lleva a cabo la fermentación son (p.3):

- El microorganismo se encuentra expuesto a una temperatura constante durante todo su crecimiento, la misma que puede fijarse con mayor facilidad al trabajar en un medio líquido.
- El biorreactor puede incorporar en su diseño accesorios para agitación mecánica que proporcionen bajo esfuerzo cortante para prevenir daños al microorganismo.
- El oxígeno requerido por el microorganismo se suministra disuelto en el medio mediante aspersión de aire y agitación.
- Los microorganismos absorben los nutrientes desde el líquido, por lo que se pueden suministrar soluciones nutritivas mientras se desarrolla el proceso de fermentación.

Contrario al caso de FLS, el entorno en el que se desarrolla la FMS puede generar dificultades en el crecimiento del microorganismo, debido a que (p.3):

- La biomasa expuesta al aire puede deshidratarse durante el proceso fermentativo.
- La remoción del calor metabólico es difícil por lo que, la temperatura puede elevarse y llegar a valores sobre la temperatura óptima de crecimiento.
- El oxígeno se puede suministrar de manera eficiente solamente a la biomasa que se encuentra en la superficie del soporte.
- Existe la tendencia de generarse gradientes de concentración de nutrientes dentro de las partículas de sustrato.
- Hay una posibilidad de movimiento de partículas sólidas (fluidización del lecho) que causa daños por impacto y esfuerzos cortantes que pueden llevar a la ruptura del micelio.

Para evitar las dificultades propias de los procesos de FMS sería conveniente trabajar a temperaturas constantes, lo que se dificulta debido a la generación de calor metabólico. La temperatura se selecciona en función del microorganismo que

se utiliza y de los productos que se generan durante su metabolismo. Para evitar el sobrecalentamiento del lecho y proporcionar el oxígeno requerido por el microorganismo, se debe suministrar una corriente de aire que se encuentre en contacto con la mayor superficie posible del sustrato, el mismo que se selecciona dependiendo de su contenido nutricional (preferentemente sustratos almidonosos) y su capacidad para retener agua, la humedad de los sustratos almidonosos usualmente varía entre el 50% y 55% (Oriol et al., 1988, p.498).

1.1.1 FENÓMENOS DE TRANSPORTE INVOLUCRADOS EN LA FMS

Los principales fenómenos de transporte involucrados en los procesos de FMS son la transferencia de calor y masa. Se produce tanto un gradiente de temperatura producto del calor metabólico generado por el crecimiento del microorganismo, como un gradiente de agua entre el lecho y el aire que ingresa al sistema.

1.1.1.1 Transferencia de calor

Entre los principales mecanismos de transferencia de calor se encuentran la conducción entre partículas del lecho sólido, la convección generada por el flujo de aire, y el enfriamiento evaporativo, producto de la transferencia de agua desde el lecho hacia el aire. De los tres mecanismos mencionados, la conducción es el menos eficiente y la mayor cantidad de calor es removida del sistema debido a los fenómenos de convección y enfriamiento evaporativo (Gutiérrez et al., 1996, p.368).

En ocasiones la convección de calor hacia el aire, presenta dificultades producto de las resistencias internas del lecho. Por ello, se requiere una corriente de aire con una temperatura y saturación tal que se favorezca el enfriamiento evaporativo del sistema y a su vez se eviten pérdidas significativas de la humedad del lecho. (Sargantanis et al., 1993, p.149)

1.1.1.2 Transferencia de masa

En cuanto a la transferencia de masa en el proceso de FMS, los componentes del aire y del lecho (oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua), se difunden dentro de los espacios entre partículas producto de cualquier gradiente de concentración. El efecto de la difusión en el fenómeno de transferencia de masa es mayor en biorreactores de tipo bandeja, que aprovechan dicho principio para procesos de secado. Cuando se trabaja bajo régimen turbulento, el caudal de aire provoca el arrastre de los componentes del lecho, dicho fenómeno se conoce como transferencia de masa por convección (Raghavarao et al. , 2003, p.128).

1.1.2 TIPO DE SUSTRATOS EMPLEADOS

En la FMS generalmente se utilizan como sustratos productos de desecho o subproductos de la agricultura, silvicultura y del procesamiento de alimentos, donde la fuente de carbono proviene de la partícula en sí, y el resto de nutrientes son suministrados mediante fuentes externas. En los casos en los que se utilizan polímeros y demás soportes inertes, la totalidad de nutrientes se suministra de manera externa ya que la degradación de las partículas inertes puede o no ser de utilidad para el metabolismo del microorganismo (Mitchell et al., 2006, p.2).

Los sustratos orgánicos son de naturaleza polimérica y abarcan polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectinas y almidón) y proteínas. Dicho material puede ser metabolizado por los microorganismos, es decir, lo pueden utilizar como fuente de energía. Los sustratos sólidos son insolubles en agua pero son higroscópicos, lo que proporciona la humedad requerida por el microorganismo para favorecer su metabolismo (Singh Nee Nigam & Pandey, 2009, p. 201).

El principal inconveniente de los sustratos sólidos poliméricos, es que su contenido de carbono es bajo y la mayor parte del peso seco total corresponde a un polímero complejo de alto peso molecular. Por ello, requieren de hidrólisis enzimática para su mineralización y posterior aprovechamiento por el microorganismo. Este tipo de

sustratos sólidos pueden contribuir tanto a la activación como a la inhibición del metabolismo microbiano durante el proceso de FMS. No obstante, si la composición del sustrato provee al microorganismo los nutrientes necesarios, el material puede ser empleado como soporte y sustrato simultáneamente (Singh Nee Nigam & Pandey, 2009, p.201).

Entre los residuos agroindustriales más utilizados se encuentran: afrecho de yuca, bagazo de caña de azúcar, salvado de trigo, cascarilla de arroz, tortas de prensado de aceite, afrecho de manzana, cáscaras de plátano, cáscaras de cítricos, paja de trigo y de arroz, pulpa de café, pulpa de cítricos, pulpa de remolacha, entre otros. También se reportan materiales agrícolas como cuajada granular de leche, remolacha forrajera, arroz y harina de yuca (Bhargav et al., 2005, p.56)

Por otra parte, también se emplean soportes inertes, los cuales se encuentran impregnados con sustrato (soluciones cargadas de nutrientes). La ventaja de usar soportes inertes radica en que sus propiedades físicas están totalmente caracterizadas (forma, densidad, tamaño) y en que se genera la mínima interferencia con el proceso biológico. Los soportes pueden ser inertes de origen natural como el bagazo de caña de azúcar o desarrollados artificialmente en laboratorios, como cubos de poliuretano o resinas inertes de amberlita como se muestra en la Figura 1.2, (Chen et al., 2013, p.244).



Figura 1.2. A. Soporte natural (bagazo de caña); B. Soporte inerte (amberlita IRC120 Na) (Rohm y Haas -Product Data Sheet, 2019)

1.1.3 MICROORGANISMOS UTILIZADOS

Los microorganismos utilizados en los procesos de FMS son en su mayoría hongos filamentosos, aunque también se ha experimentado con bacterias y levaduras. Las bacterias requieren una actividad de agua entre 0,9 y 1 (medio líquido) para su crecimiento, mientras que las levaduras se desarrollan adecuadamente en medios con actividades de agua superiores a 0,75; por lo que se utilizan con mayor frecuencia que las bacterias. No obstante, se prefiere el uso de hongos filamentosos debido a que se desarrollan de mejor manera sobre sustratos con bajo contenido de agua libre (humedades entre 50% y 60%) y son capaces de fraccionar polisacáridos y utilizarlos como fuente de carbono (Pastrana, 1996, p.5). El proceso de FMS se puede desarrollar a partir de cultivos puros del microorganismo o de cultivos de varias cepas inoculadas simultánea o secuencialmente (Mitchell et al., 2006, p.1).

La mayoría de hongos filamentosos son organismos pluricelulares formados por células eucariotas de pared rígida, no poseen cilios o flagelos para su movimiento y su metabolismo se da de manera heterótrofa por absorción. Se constituyen de células dispuestas de manera lineal, que forman filamentos alargados o hifas. Al conjunto de hifas se denomina micelio. En algunos casos, las hifas se desarrollan de manera organizada y alcanzan tamaños considerables visibles macroscópicamente (Moore et al., 2011, p.4; 86).

1.1.4 APLICACIONES DE LA FMS

Las aplicaciones de la fermentación en medio sólido se pueden clasificar en: aplicaciones tradicionales, las cuales han sido llevadas a cabo por siglos y aplicaciones contemporáneas, entre las que se encuentran los procesos clásicos (producción de enzimas o antibióticos), procesos recientemente desarrollados (producción de compuestos bioactivos y ácidos orgánicos) y nuevas aplicaciones (generación de biocombustibles y procesos de remediación ambiental) (Lizardi y Hernandez , 2017, p. 44).

1.1.4.1 Aplicaciones tradicionales

La preparación de alimentos tradicionales mediante fermentación en estado sólido se ha aplicado desde la antigüedad, especialmente en el hemisferio oriental. Uno de los procesos más conocidos es el llevado a cabo con el hongo “Koji”. En el procesamiento Koji, arroz hervido se inocula con esporas de *Aspergillus oryzae* o *Aspergillus sojae* y se mantiene en una habitación a condiciones determinadas de temperatura y humedad por varios días. El hongo germina y produce enzimas hidrolíticas que actúan sobre el almidón del arroz, al finalizar la fermentación el Koji se utiliza para el tratamiento enzimático de otros sustratos o se reutiliza como sustrato en una fermentación posterior. La producción de salsa de soja comienza con fermentación de koji sobre frijoles de soja cuya degradación produce un líquido de color marrón oscuro (Wang y Yang, 2007, p.465-466).

Otros productos obtenidos tradicionalmente mediante FMS son el Ragi Tempe y el arroz rojo (ang-kak) consumidos en Indonesia y China respectivamente. Para el Ragi Tempe se cultiva el hongo *Rhizopus oligosporus* en frijoles de soja cocinados, el micelio fúngico une los granos de soja en una masa compacta que se fríe y se consume como un sustituto de la carne. Mientras que, para el arroz rojo se requiere el cultivo del hongo *Monascus purpureus* utilizando arroz cocido como sustrato, al final de la fermentación, el arroz se seca y se muele, dando como resultado un polvo rojizo que es utilizado como colorante en la cocina (Mitchell et al., 2006, p.5).

1.1.4.2 Aplicaciones contemporáneas

La producción de enzimas es una aplicación contemporánea que se ha desarrollado durante los últimos 30 años, ya que permite la utilización de residuos agroindustriales como sustratos.

El uso de enzimas de interés industrial ha aumentado de manera considerable, según el informe “Enzimas para aplicaciones industriales” elaborado por la

Compañía de Comunicación Empresarial, el mercado mundial de enzimas se estimó en casi \$5,5 billones en el 2018, valor que manteniendo una tasa compuesta de crecimiento anual del 4,9%; aumentará hasta \$7 billones en el 2023 (BCC, 2018).

En la Tabla 1.1 se muestran algunas de las enzimas producidas por FMS con el respectivo sustrato utilizado en el proceso.

Tabla 1.1. Enzimas producidas a partir de residuos agroindustriales utilizados como sustratos en procesos de FMS y sus principales aplicaciones

Enzima	Sustrato	Aplicaciones
Naringinasa	Cáscara de naranja y toronja	Hidrólisis de naringina
Poligalacturonasa	Bagazo de manzana y salvado de trigo	Hidrólisis de pectina
Alfa-amilasa	Cáscara de arroz, banana y sandía; salvado de trigo y lenteja; aceite de maíz	Hidrólisis de almidones y glucógeno
Peroxidasa de Manganeso	Hojas de piña	Catalizador de oxidación del ion Mn^{+2} a Mn^{+3}
Lipasa	Semillas de girasol y bagazo de caña	Hidrólisis de triacilglicerol a glicerol y ácidos grasos
Proteasa	Salvado de trigo y harina de soja	Ruptura de enlaces peptídicos de proteínas
Celulasa y hemicelulasa	Paja de maíz, cáscara de arroz y bagazo de caña	Transformación de múltiples monómeros en glucosa
Lacasa	Aserrín de álamo	Catalizador de oxidación

(Lizardi y Hernández, 2017, p. 44).

La mayoría de enzimas obtenidas mediante FMS son de interés para la industria de alimentos, principalmente para procesos de panadería, fabricación de zumos y quesos y elaboración de bebidas alcohólicas.

Las enzimas se pueden clasificar con base en las funciones que cumplen en el proceso fermentativo, entre las principales funciones de las enzimas se encuentran: transformar materias primas en producto principal (adición de

amilasas o glucoamilasas al almidón para obtener glucosa) o alterar alguna propiedad como el sabor, textura, digestibilidad y valor nutricional de los alimentos (Rosales et al., 2017, p.320). En la Figura 1.3 se muestran las principales enzimas utilizadas en la industria alimenticia y farmacéutica y el proceso en el que las mismas intervienen.

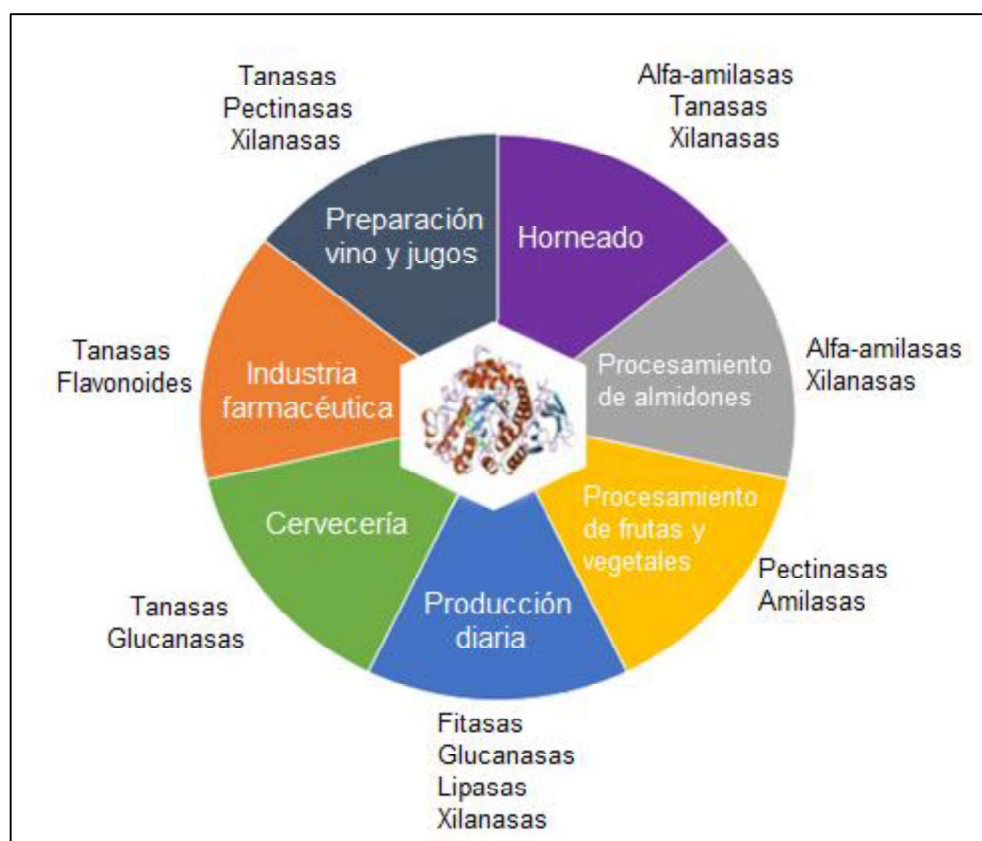


Figura 1.3. Enzimas utilizadas en la industria alimenticia y farmacéutica (Rosales et al., 2019, p.323)

Otro ejemplo de procesos contemporáneos es la obtención de pigmentos, aromas, compuestos orgánicos simples (etanol, ácido oxálico, ácido cítrico y ácido láctico), hormonas de crecimiento vegetal, residuos agrícolas enriquecidos para alimentar animales, alimentos para animales con digestibilidad mejorada, antibióticos (penicilina y oxitetraciclina), agentes de control biológico (bioinsecticidas y bioherbicidas) e inóculos de esporas como el *Penicillium roqueforti* para la producción de queso azul (Couto & Sanromán, 2006, p.292; Pandey, 1992, p.111-113).

En la actualidad se investiga la posibilidad de aplicar microorganismos que se desarrollan en sustratos sólidos para intervenir en procesos de decoloración de tintes, blanqueamiento, despulpado e incluso en la producción de biocombustibles y procesos de biorremediación ambiental (Lizardi y Hernández, 2017, p.44).

1.1.5 TIPOS DE BIORREACTORES PARA FMS

El equipo en el cual se desarrolla la FMS constituye un factor crítico para el proceso. El equipo recibe el nombre de biorreactor o fermentador y debe proporcionar las condiciones de operación óptimas para que el microorganismo genere el metabolito deseado (Ruíz et al., 2007, p. 33).

Existen criterios de diseño importantes que se deben tomar en cuenta para la construcción de un biorreactor para FMS. Mitchell et al. (1992) enlista las principales características que debe cumplir un biorreactor (p.115-139).

- El tanque debe funcionar de manera aséptica durante varios días para evitar la presencia de agentes contaminantes, especialmente en procesos fermentativos de larga duración
- Se debe proveer un sistema de aireación adecuado (facilitar el área de contacto entre fase biótica y fase gaseosa) para satisfacer la demanda de oxígeno a una velocidad adecuada, evitando la fluidización del lecho
- Debe incorporar entradas para la toma de muestras y medición de temperatura
- Se debe facilitar la transferencia de calor ya que el crecimiento microbiano generalmente es exotérmico (mantener la temperatura de trabajo por debajo de la temperatura de muerte)

La mayoría de los biorreactores para FMS se han construido a escala de laboratorio a partir de ensayos de prueba y error. No obstante, existen biorreactores construidos a escala piloto, aunque es poca la variedad debido a factores que complican el escalado (Ruíz et al., 2007, p.34).

La escala de los biorreactores se define en función del volumen del equipo o la carga de sustrato. Singh Nee Nigam y Pandey (2009) clasifican a las escalas como: escala laboratorio, cuando se utilizan de 0 a 20 kg de sustrato; escala piloto, cuando se trabaja con cargas entre 50 y 5000 kg de sustrato y escala industrial, cuando se utilizan de 25 a 1000 t de sustrato (p.213).

1.1.5.1 Biorreactor en Columna

Es un reactor a escala laboratorio que fue construido y patentado por el Instituto para la Investigación y Desarrollo (IRD) en Francia entre los años 1975 y 1980. El fermentador mostrado en la Figura 1.4, se compone de columnas de 4 cm de diámetro y 20 cm de altura. Las columnas se llenan con el soporte inoculado y se introducen en un recipiente con agua para regular la temperatura. El aire se humedece en un recipiente y se inyecta desde el fondo. Es un esquema económico y de fácil montaje; sin embargo, existen dificultades para la toma de muestras ya que se debe extraer una columna entera, el calor generado no se disipa de manera adecuada y el escalado significaría la construcción y calentamiento de un tanque con grandes volúmenes de agua (Durand, 2003, p.114).

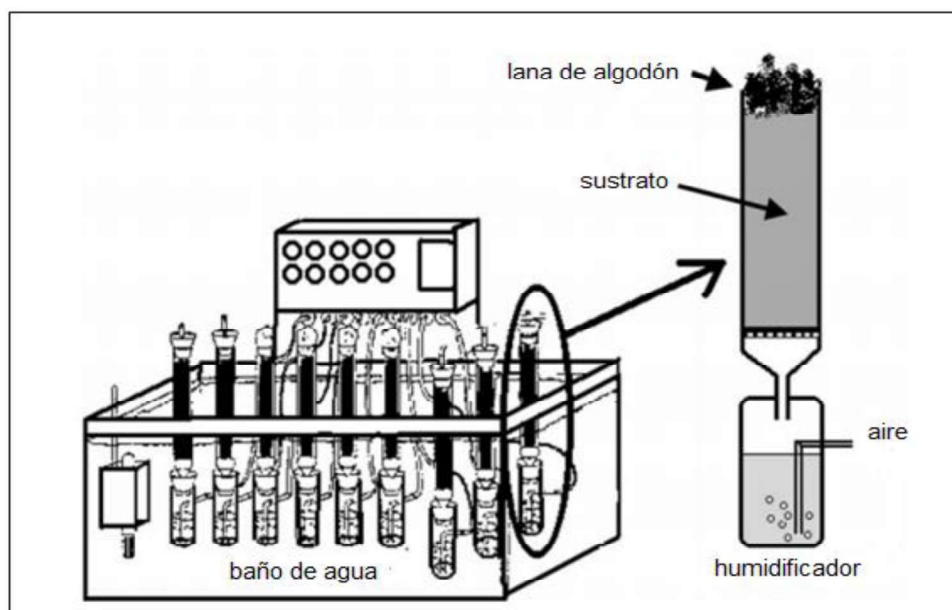


Figura 1.4. Esquema del fermentador en columna
(Durand., 2003, p. 114)

1.1.5.2 Biorreactor de Lecho Estéril

Fue diseñado en el año 2000 en Francia, por el Instituto Nacional de Investigación Agronómica (INRA). Para su construcción, se tomó como base el diseño del biorreactor en columna. El equipo mostrado en la Figura 1.5, tiene 1 litro de capacidad y cuenta con chaqueta como sistema de enfriamiento, sensores de temperatura, muestreadores de humedad y sistemas de calefacción en la parte superior de la columna. El biorreactor presenta desventajas tales como la formación de gradientes de concentración de oxígeno y nutrientes (Ruíz et al., 2007, p. 35).

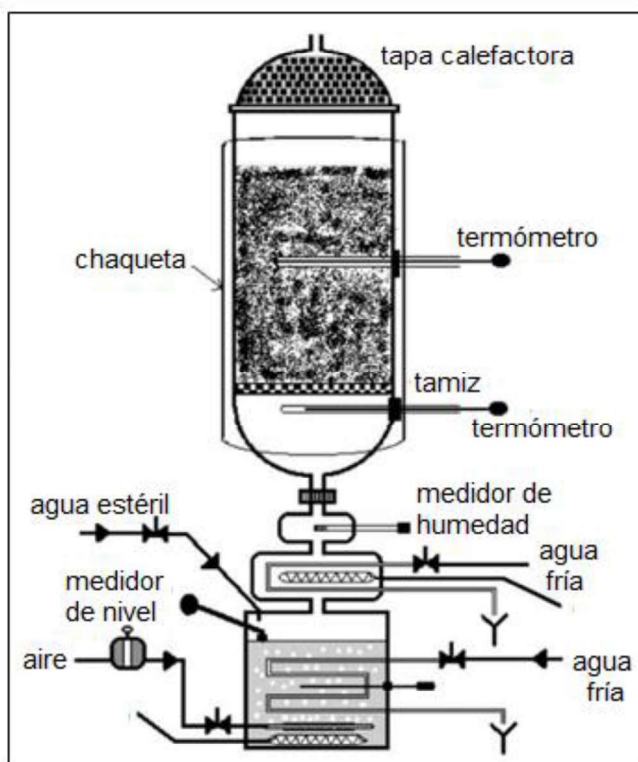


Figura 1.5. Esquema del fermentador de Columna Estéril
(Durand, 2003, p.115)

En la investigación realizada por Lu et al. (1997), se utilizó un biorreactor de lecho estéril para producir ácido cítrico con *Aspergillus niger* a escala de laboratorio. No obstante, se ha tratado de trabajar con volúmenes mayores como en el trabajo presentado por Bandelier et al. (1997), donde se utilizó un biorreactor de 50 litros de capacidad para evaluar la producción de ácido giberélico.

1.1.5.3 Biorreactor de Tambor Horizontal

Es uno de los biorreactores para FMS más utilizados en la actualidad, se ha diseñado como un contenedor rotatorio con paletas o perforaciones para proveer de una agitación continua al soporte sólido. La agitación se suministra de manera controlada para aumentar el contacto entre el sustrato y las paredes del biorreactor, así como, suministrar mayores cantidades de oxígeno al microorganismo. Los biorreactores de tambor horizontal se diseñan de las dos formas mostradas en la Figura 1.6. El tipo rotatorio consiste en un cilindro que gira para voltear al medio sólido y el tipo de paletas, que se enfoca en optimizar la transferencia de oxígeno y disminuir la aglomeración de partículas dentro del fermentador. En ocasiones la agitación puede resultar abrasiva y producir daños en el micelio del microorganismo (Spier et al., 2011, p.68-69).

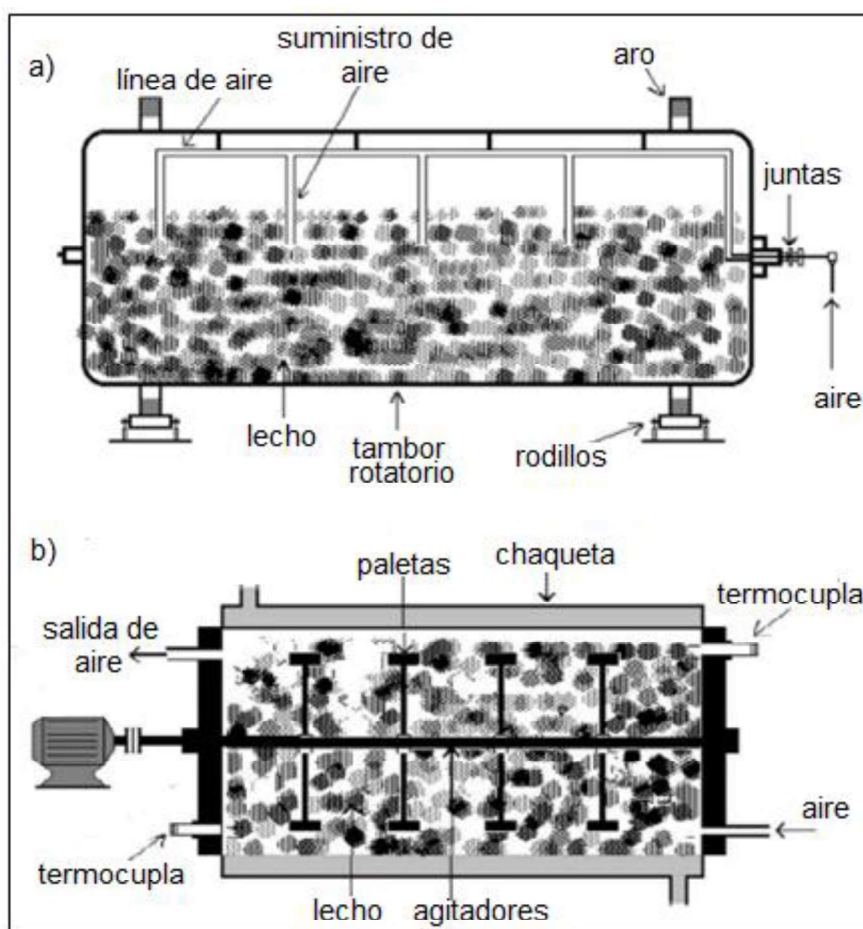


Figura 1.6. Esquema de (a) Biorreactor de tambor rotatorio; (b) Biorreactor de paletas (Durand, 2003, p.115-116)

Los biorreactores de tipo tambor rotatorio han sido utilizados incluso en investigaciones a escala piloto como la realizada por Wang et al. (2010), donde se produjo etanol en un biorreactor de 5 m³ y posteriormente se realizó la simulación del proceso (p.2843).

1.1.5.4 Biorreactor Zymotis

Se diseñó por el IRD de Francia. Como se muestra en la Figura 1.7, consiste en platos verticales cargados con sustrato sólido previamente inoculado. El sistema se enfría mediante la circulación de agua fría a través de chaquetas. El aire es introducido por el fondo del biorreactor; no obstante, las capas de sustrato se encuentran verticalmente fijas y se dificulta la asepsia del proceso. Además, debido a la disposición del lecho, presenta problemas de compactación, lo que genera dificultades en la transferencia de calor y oxígeno (Durand, 2003, p.116-117).

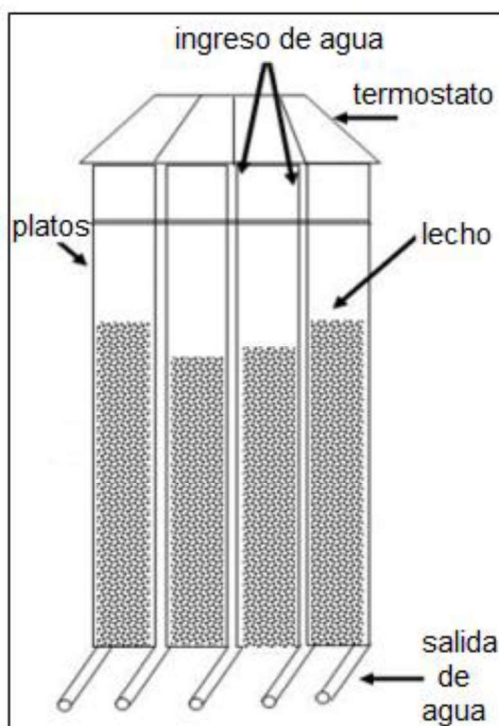


Figura 1.7. Esquema del biorreactor Zymotis
(Ruiz et al., 2007, p. 36)

Este biorreactor ha sido utilizado como base para el diseño de equipos a mayor escala. Por ejemplo, en el trabajo realizado por Roussos et al. (1993) se evalúa la producción de enzimas celulósicas en varios biorreactores Zymotis con escalas distintas y se compara su rendimiento con fermentadores de columna.

1.1.6 ESCALADO DE BIORREACTORES PARA FMS

Las dificultades para diseñar un biorreactor a escala piloto conllevan a la construcción de equipos con desventajas al momento de llevar a cabo un proceso fermentativo para obtener un metabolito de interés industrial. A pesar del potencial de la FMS, los factores que complican el escalado son:

- Dificultad para cuantificar la cinética de crecimiento microbiano en el medio sólido
- Definición de los mecanismos de transferencia de calor y materia dentro del biorreactor
- Falta de criterios apropiados de optimización
- Tiempo y demás recursos empleados para llevar a cabo ensayos en laboratorio para escalar el proceso

Debido a que la transferencia de calor en biorreactores de lecho empacado es un fenómeno determinante en el proceso, se han propuesto métodos de escalado para mantener una temperatura de operación adecuada en función de la altura del equipo. La altura crítica de lecho define la altura máxima que puede alcanzar el biorreactor antes de trabajar a temperaturas que inhiben el crecimiento microbiano y se determina en función de la cinética de crecimiento del microorganismo, la temperatura de ingreso aire y la velocidad de aireación. El criterio de escalado propuesto en este caso es el número de Dämkohler que relaciona el calor generado por el sistema con el calor que puede remover el aire ($D_a = \frac{Q_G}{Q_R}$). Cuando el número de Dämkohler es superior a la unidad, el aire no puede remover el calor de manera efectiva, por ello se propone calcular una altura crítica en función de la

temperatura del lecho, manteniendo el número de Dämkohler igual a 1 (Mitchell et al., Pandey,1999, p.171). Dicho criterio constituye una guía para el proceso de escalado debido a que solamente se pueden analizar sistemas en estado estacionario, es decir, se puede determinar una altura crítica para cada valor puntual de temperatura. Además, al trabajar con un número de Dämkohler igual a 1 la generación y remoción de calor se consideraría siempre igual por lo que no se considerarían cambios en el aumento o disminución de temperatura por efecto de los fenómenos de transporte involucrados en el proceso fermentativo.

1.2 MODELADO DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Una alternativa para describir los procesos de FMS es la predicción a través del modelado de procesos biotecnológicos; sin embargo, resulta un desafío debido a la complejidad de los sistemas biológicos y la comprensión limitada de los bioprocesos. El microorganismo empleado es la principal limitante de la capacidad de predicción de modelos en procesos biotecnológicos, ya que solamente se dispone de información acerca de su cinética de crecimiento, obtenida a partir de experimentación a escala laboratorio. Así, para transferir los modelos desarrollados en nuevos sistemas se deben reestimar los parámetros cinéticos necesarios para plantear las ecuaciones (Koutinas et al., 2012, p. 2).

Un modelo matemático de procesos biotecnológicos consta de ecuaciones diferenciales y algebraicas que describen el funcionamiento de los diversos fenómenos de transporte de masa y energía que ocurren dentro del biorreactor e influyen de manera significativa en el rendimiento del sistema, lo cual es útil para controlar su desempeño general. En el caso de FMS, el desempeño del sistema se evalúa en términos de crecimiento microbiano y producción de metabolitos de interés (Mitchell et al., 2006, p. 159).

Para lograr un modelo que describa el fenómeno de FMS de manera satisfactoria, se debe seleccionar los fenómenos que se incluirán y los que se pasarán por alto. Estudios recientes han determinado que el aumento de temperatura es el factor

limitante con mayor influencia en fermentaciones de lecho sólido por lo que, en varios modelos de fermentadores se prioriza el control de temperatura con respecto al suministro de oxígeno y se utilizan ecuaciones que describen la generación y transferencia de energía para predecir la temperatura de trabajo. En estos casos, las ecuaciones para describir el consumo de oxígeno son excluidas del modelo matemático (Mitchell et al., 2003, p.138).

Un modelo satisfactorio constituye una poderosa herramienta para sintetizar los fenómenos involucrados en el funcionamiento de un sistema. Si el sistema es tan complejo como en un proceso FMS, el modelo matemático proporciona una gran cantidad de información, la misma que se hallaría de manera empírica y resultaría costosa de obtener especialmente en las primeras fases del proceso fermentativo (Vrsalović et al., 2006, p.240).

En este contexto, el desarrollo de un modelo matemático realizado en función de la cinética de crecimiento de un microorganismo y de los fenómenos de transporte involucrados, provee una herramienta matemática de gran utilidad para obtener criterios y directrices en el diseño de biorreactores.

1.2.1 ROL DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS EN EL MODELADO DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Los parámetros cinéticos involucrados en un proceso de FMS corresponden a las características propias del crecimiento de un microorganismo que se desarrolla sobre un sustrato determinado e incluyen: las tasas de crecimiento microbiano, la constante de afinidad con el sustrato, la constante de inhibición y el rendimiento de sustrato a biomasa. Dichos parámetros constituyen datos de entrada en el proceso, es decir, son requeridos para inicializar el modelo matemático. Estos datos se hallan mediante experimentación a escala laboratorio y en función del microorganismo utilizado, es por ello que se prefiere realizar modelos para hongos filamentosos de los que se dispone suficiente información y que a su vez son utilizados para obtener extractos enzimáticos de interés industrial.

Uno de los hongos filamentosos más utilizados en la FMS es el *Aspergillus niger* cuya red metabólica se encuentra constituida por 1190 reacciones y 1045 metabolitos. Debido a la gran cantidad de elementos involucrados, resulta imposible cuantificar simultáneamente la concentración de todas las especies o determinar a detalle la actividad regulatoria de las enzimas involucradas. Como consecuencia, para describir la cinética de crecimiento del *Aspergillus niger*, suelen utilizarse modelos matemáticos no estructurados simples, cuya aplicación se facilita debido a la gran cantidad de información existente (Schuster et al., 2003, p. 427).

El *Aspergillus niger* genera gran interés en la industria alimenticia. Éste ha sido explotado principalmente en el procesamiento de alimentos sólidos (pan y demás almidones) y bebidas (vino, jugos, cerveza y bebidas destiladas). Generalmente, el microorganismo se cultiva con el fin de obtener enzimas requeridas en las etapas de fermentación de los productos mencionados (Schuster et al., 2003, p. 428).

En la investigación realizada por Ong et al. (2004), enzimas como: β -glucosidasas, poligalacturonasas, xilanasas, amilasas y fitasas fueron obtenidas durante el metabolismo del *Aspergillus niger* utilizando residuos agroindustriales de la producción de aceite de almendras. La mejor actividad enzimática se produjo a los 10°C, mientras que cuando se trabajó a 30°C se obtuvieron actividades menores (p.76).

El *Aspergillus niger* es un hongo termotolerante, por lo que puede vivir entre los 12°C y 57°C; no obstante, para la producción de metabolitos de interés las condiciones de temperatura deben ser evaluadas entre ambos límites, ya que existen condiciones óptimas específicas. Se ha reportado que sus esporas pueden resistir hasta los 70°C (INSHT, 2012, p.1).

1.2.2 APLICACIÓN DEL MODELADO MATEMÁTICO EN EL DISEÑO DE BIORREACTORES PARA FMS

El proceso de escalado de biorreactores generalmente se lleva a cabo mediante enfoques de suposición o de prueba y error, los mismos que resultan en el desperdicio de recursos. Por otro lado, si se utiliza como herramienta el modelado matemático, aunque las estimaciones obtenidas no sean completamente precisas, se tiene una mayor oportunidad de diseñar un fermentador a mayor escala que opere con éxito. En la actualidad no se disponen de modelos suficientemente rigurosos para aplicar a los procesos FMS. Todo modelo realizado para describir este tipo de fermentación depende de las condiciones de cada proceso, el sustrato y el microorganismo utilizado. Por ello, existen grupos de investigación y desarrollo que realizan un determinado trabajo de modelado en función de condiciones específicas (Mitchell et al., 2006, p. 161).

Por ejemplo, en los trabajos realizados por Mitchell et al. (1999) y Saucedo et al. (1990) se consideró como factor predominante la transferencia de calor en la FMS. De esta manera, se definió el número adimensional de Damköhler como criterio de escalado primordial para biorreactores de lecho empacado. Sin embargo, en estos casos se determinan valores puntuales de temperatura en función de la altura de columna y el caudal del aire, es decir, no se tiene un perfil de temperatura en tiempo real dentro del biorreactor.

A su vez, en el trabajo desarrollado por Mitchell et al. (2010), se propone aumentar la capacidad del biorreactor mediante un sistema de bandejas o platos móviles. En este caso se puede prevenir la muerte térmica del microorganismo, ya que el plato localizado en la cima del biorreactor ocuparía el lugar del plato más cercano a la entrada de aire, cuando la temperatura lo requiere, como se explica en la Figura 1.8. Sin embargo, el desarrollo continuo del microorganismo se dificulta ya que las temperaturas cambian de manera repentina. Además, la mayor parte de metabolitos de interés se genera de mejor manera cuando las condiciones para el crecimiento del microorganismo son cercanas a las óptimas. Debido a ello, los

cambios que sufre el sistema por el movimiento merman la generación de los productos de interés disminuyendo el rendimiento del proceso fermentativo.

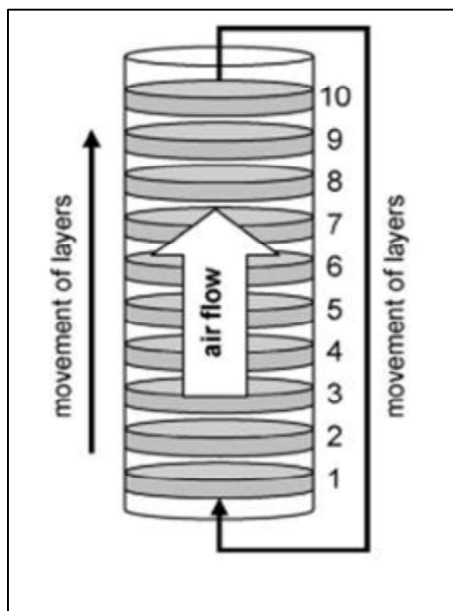


Figura 1.8. Sistema de fermentación de bandejas móviles
(Mitchell et al., 2010, p. 196)

1.2.3 AVANCES Y LIMITACIONES EN EL MODELADO DE PROCESOS FMS

Durante las últimas décadas se han formulado modelos matemáticos de crecimiento de hongos miceliales utilizando sólidos inertes como soportes. Un ejemplo es el trabajo realizado por Richard et al. (1995), donde se formuló un modelo matemático del crecimiento de *Aspergillus niger* sobre amberlita inerte. A su vez se desarrollan modelos en los que se utilizan soportes orgánicos como residuos agroindustriales u hojas de ciertas plantas. Por ejemplo, Spier (2009) modela el crecimiento de *Aspergillus niger* y la generación de fitasa en un sustrato a base de pulpas cítricas, Wang (2010) realiza un modelo de fermentación anaerobia en un biorreactor de tambor rotatorio con tallos de sorgo dulce utilizados como sustrato y Pagarra (2016) propone un modelo de crecimiento simple con *Aspergillus niger* utilizando hojas de helecho como sustrato. En estos casos se predice el crecimiento microbiano como función de la composición del sustrato a

escala laboratorio, a excepción de Wang (2010) que realiza experimentación a escala piloto.

A pesar de los avances logrados en los modelos de FMS, no se ha logrado una sinergia de la cinética microbiana y los fenómenos de transporte involucrados que permita diseñar un biorreactor de lecho empacado y evaluar su influencia en el rendimiento del proceso. La FMS presenta un gran potencial para nuevas aplicaciones mediante el uso de residuos agroindustriales, cuya generación se encuentra en aumento debido al crecimiento de la industria. La utilización de estos residuos como sustratos y su posterior conversión en productos de valor agregado genera la necesidad de modelar y simular procesos de fermentación sólida (Farinas, 2015, p. 187).

2. METODOLOGÍA

2.1 DEFINICIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS Y FENÓMENOS DE TRANSPORTE INVOLUCRADOS EN LA FMS

La FMS se llevó a cabo en un biorreactor de lecho empacado empleando *Aspergillus niger* como agente biológico, se consideró que el proceso está conformado por tres sistemas.

Fase sólida: referida al lecho empacado, que constituye el soporte del biorreactor, el mismo que se consideró regular en forma y sin contracciones volumétricas representativas. Los materiales de soporte analizados fueron residuos agroindustriales, de la producción de plátano, arroz, yuca y trigo, donde el soporte es a su vez sustrato, y resinas inertes de amberlita recubiertas por un sustrato previamente preparado.

Fase biológica: involucra toda la biomasa de *Aspergillus niger* dentro del biorreactor, se diferenciaron microorganismos viables de aquellos no viables, mediante la aplicación de la constante de muerte térmica, para enfatizar los efectos de la temperatura durante la fermentación.

Fase gaseosa: corresponde al aire que ingresa por la parte inferior del biorreactor y fluye a través del lecho sólido. El flujo de aire permite el abastecimiento de oxígeno para el crecimiento del *Aspergillus niger*, ya que es un hongo filamentoso aerobio, y la disipación del calor metabólico generado por el mismo.

Una vez establecidas las fases, se describió matemáticamente el comportamiento de todo el lecho mediante el análisis específico de cada subsistema. Para ello, se dividió el lecho en varios segmentos delimitados imaginariamente, los mismos que se denominaron volúmenes de control, como se observa en la Figura 2.1 y se planteó el balance de masa y energía en estado transitorio para cada fase en todos los segmentos.

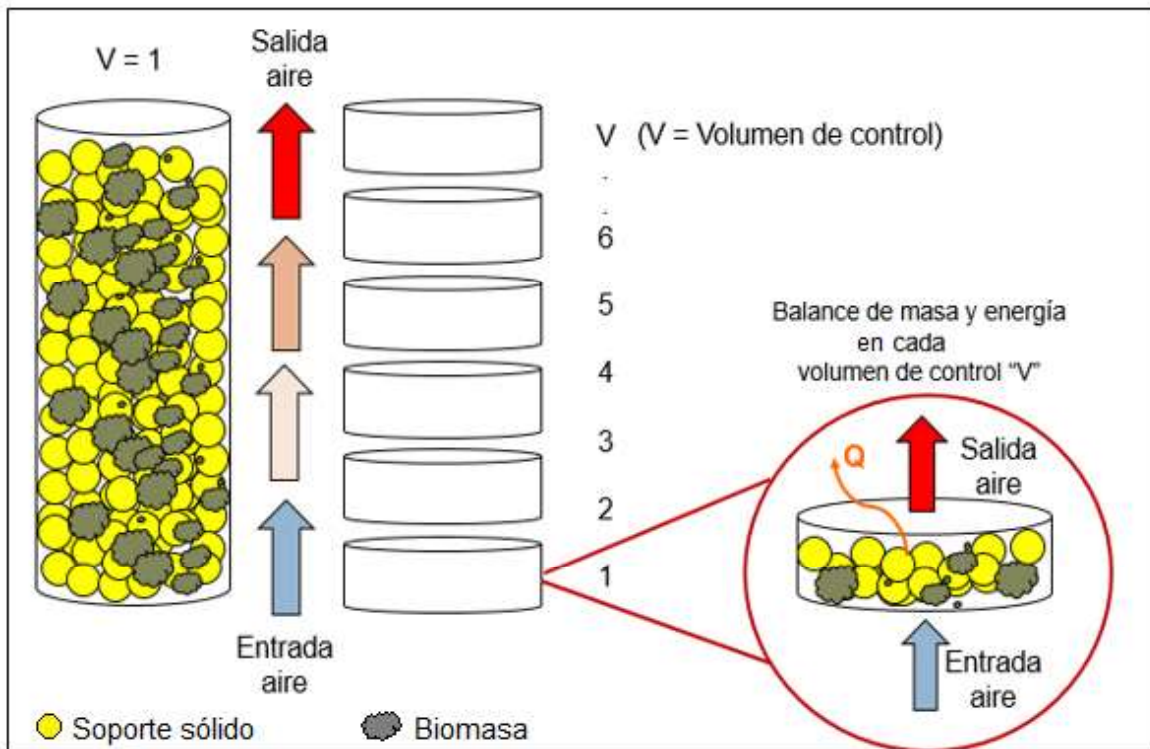


Figura 2.1. Esquema de la división del fermentador en volúmenes de control

2.1.1 PLANTEAMIENTO DEL BALANCE DE MASA

La generación de biomasa es el primer componente del balance de materia en el proceso de fermentación, por lo que se incorporaron tres modelos de cinética microbiana.

El modelo Logístico, descrito en la ecuación 2.1, que no contempla la concentración de sustrato, el de Monod presentado en la ecuación 2.2, que considera una concentración óptima de sustrato y el de Haldane – Andrews, descrito en la ecuación 2.3, que incorpora el efecto inhibitorio (tóxico) de la concentración de sustrato para el crecimiento del microorganismo (Kim, 2005, p.457).

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} X \left(1 - \frac{X}{X_{max}}\right) \quad [2.1]$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} X \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad [2.2]$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} X \left(\frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_{in}}} \right) \quad [2.3]$$

Donde:

X : Concentración de biomasa dentro del fermentador $\left(\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ sustrato seco}} \right)$

X_{max} : Concentración máxima de biomasa dentro del fermentador $\left(\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ sustrato seco}} \right)$

μ_{max} : Tasa de crecimiento máxima del microorganismo (h^{-1})

S : Concentración de sustrato dentro del fermentador $\left(\frac{kg \text{ almidón}}{kg \text{ sustrato seco}} \right)$

K_S : Constante de afinidad con el sustrato $\left(\frac{kg \text{ almidón}}{kg \text{ sustrato seco}} \right)$

K_{in} : Constante de inhibición $\left(\frac{kg \text{ almidón}}{kg \text{ sustrato seco}} \right)$

Para aplicar estos modelos cinéticos en las diferentes etapas del crecimiento microbiano y resaltar la influencia de la temperatura y la actividad de agua en el sustrato se utilizaron las expresiones empíricas 2.4 y 2.5, planteadas para *Aspergillus niger* en sustratos almidonosos, por Saucedo Castañeda et al. (1990) y Glenn y Rogers (1988) respectivamente. Esto conduce a la determinación de la tasa de crecimiento combinada mediante la ecuación 2.6 propuesta por Sargantanis et al. (1993), la misma que se determinó en función de la temperatura y de la actividad de agua (Von Meien y Mitchell, 2002, p. 421).

$$\mu_W = 1,011325 e^{(618,9218A_W^3 - 1863,527A_W^2 + 1865,097A_W - 620,6684)} \quad [2.4]$$

$$\mu_T = \frac{(8,31 \times 10^{11}) e^{\frac{-70225}{R(T_S+273)}}}{(1 + (1,3 \times 10^{47})) e^{\frac{-283356}{R(T_S+273)}}} \quad [2.5]$$

$$\mu = \mu_{max} \sqrt{\mu_T \mu_W} \quad [2.6]$$

Donde:

μ_W : Tasa de crecimiento en función de la actividad de agua (adimensional)

μ_T : Tasa de crecimiento en función de la temperatura (adimensional)

μ : Tasa de crecimiento en función de la temperatura y actividad de agua (h^{-1})

R : Constante de los gases ideales $\left(\frac{J}{mol K}\right)$

T_S : Temperatura del lecho sólido ($^{\circ}C$)

El segundo componente del balance de materia es la variación de la humedad tanto en el lecho empacado como en el flujo de aire. Para ello, se empleó la ecuación empírica de Henderson (1952) que determina la actividad de agua de un lecho orgánico en función de su humedad absoluta (Marques et al., 2006, p. 460-461).

$$a_W = 1 - e^{-4,988 W^{0,7202}} \quad [2.7]$$

Donde:

a_W : Actividad de agua del lecho empacado (adimensional)

W : Humedad absoluta del lecho empacado $\left(\frac{kg \text{ agua}}{kg \text{ lecho seco}}\right)$

La transferencia de agua desde el lecho hacia el aire se produce debido al gradiente de humedad entre el lecho y la saturación. La humedad de saturación se refiere a la concentración de agua que tuviera el lecho en contacto con el aire cuya presión de vapor de agua corresponde a una humedad relativa cercana al 100%. Para determinar dicho valor se reformuló la ecuación 2.7 de la siguiente manera:

$$W_{sat} = \left[\frac{\ln(1 - H_R)}{-4,988} \right]^{\frac{1}{0,7202}} \quad [2.8]$$

Donde:

H_R : Humedad relativa del aire en equilibrio con el lecho (adimensional)

W_{sat} : Humedad absoluta en condiciones de saturación $\left(\frac{kg \text{ agua}}{kg \text{ lecho seco}}\right)$

La humedad relativa del aire (H_R), se determinó mediante la ecuación 2.9, que relaciona la presión de vapor de agua en el aire y la presión de vapor en condiciones de saturación a la misma temperatura.

$$H_R = \frac{1}{133,322 e^{\left(\frac{18,3036 - \frac{3816,44}{(T_g + 273) - 43,13}}{1 + \frac{0,62413}{H_g}}\right)}} \frac{P}{H_g} \quad [2.9]$$

Donde:

P : Presión atmosférica (Pa)

T_g : Temperatura del aire ($^{\circ}C$)

H_g : Humedad absoluta del aire $\left(\frac{kg \text{ agua}}{kg \text{ aire seco}}\right)$

En un sistema biológico el balance de masa requiere parámetros cinéticos como la cantidad de agua y oxígeno requeridos por el *Aspergillus niger* para su metabolismo. Dichos parámetros se consideraron iguales a 0,3 kg agua/kg biomasa y 0,693 kg oxígeno/kg biomasa respectivamente, valores reportados en la experimentación realizada por Von Meien y Mitchell (2002) con el mencionado microorganismo en un biorreactor de tipo lecho empacado (p.420).

2.1.2 PLANTEAMIENTO DEL BALANCE DE ENERGÍA

La temperatura en el lecho y en el flujo de aire que abandona el biorreactor son las principales variables resultantes del balance de energía. Se consideraron tres fenómenos que influyen en la transferencia de energía: convección y evaporación de agua desde el lecho hacia el aire y la generación de calor metabólico producto del crecimiento microbiano. A su vez, se asumió que la transferencia de calor es solamente axial ya que la disipación de calor a través de las paredes del biorreactor es considerada despreciable para equipos lo suficientemente amplios y sin un sistema de enfriamiento (Von Meien y Mitchell, 2002, p. 417).

El coeficiente de transferencia de calor por convección desde el lecho hacia el aire se determinó mediante la ecuación empírica de Calado 2.10 (Mitchell et al., 2006, p. 283).

$$h = 44209,85 \left(\frac{G (T_g + 273)}{0,0075 P} \right)^{0,6011} \quad [2.10]$$

Donde:

h : Coeficiente de transferencia de calor por convección $\left(\frac{W}{m^2 \cdot ^\circ C} \right)$

G : Flujo superficial de aire $\left(\frac{kg \text{ aire seco}}{m^2 \cdot s} \right)$

Se utilizó la capacidad calorífica (C_p) del aire seco, agua y vapor de agua iguales a 1000 J/kg $^\circ$ C, 4187 J/kg $^\circ$ C y 1791 J/kg $^\circ$ C respectivamente. En el caso del lecho seco, se utilizó una capacidad calorífica de 2500 J/kg $^\circ$ C, obtenida del trabajo de Mitchell et al. (2010) donde se utiliza soja como sustrato (Felder y Rosseau, 2004, p.639-641).

El calor latente (L), que se transfiere a la fase gaseosa producto de la evaporación del agua en el lecho se fijó en 2 414 300 J/kg a 30 $^\circ$ C, valor que se especifica en tablas de propiedades del vapor saturado. A su vez, el valor mencionado es utilizado en los trabajos realizados por Mitchell et al. (2010) y Von Meien y Mitchell (2002).

La densidad del aire (ρ_{Aire}) utilizada en el balance de energía fue de 1,14 kg/m 3 , la misma que se obtuvo de bibliografía a 30 $^\circ$ C (Felder y Rosseau, 2004, p.646-647). Los parámetros, C_p , L y ρ_{Aire} , se consideraron constantes debido a que no varían de manera considerable dentro de rangos de temperatura moderados.

Finalmente, el calor metabólico específico (Y_q) que es la cantidad de energía producto del metabolismo del microorganismo se consideró igual a 8,366 x 10 6 J/kg biomasa, valor reportado en la experimentación realizada por Von Meien y Mitchell (2002) con *Aspergillus niger* (p. 420).

2.2 VALIDACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO

La validación se realizó mediante una comparación entre resultados experimentales y los resultados alcanzados con el modelo matemático. Los resultados experimentales fueron extraídos de tres trabajos de investigación que emplean *Aspergillus niger* como agente biológico.

Los dos primeros trabajos de investigación (A y B) se desarrollaron en el Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional con la finalidad de producir un extracto enzimático enriquecido en α -amilasa a partir de residuos agroindustriales como soporte orgánico.

En el caso de estudio A, realizado por Arguero (2014), se emplearon cáscaras de arroz, trigo y papa y se probaron dos temperaturas diferentes de 13 °C y 30 °C. Mientras, el caso de estudio B, desarrollado por Herrera (2018) utilizó como sustratos cáscaras de yuca, cáscaras de plátano y afrecho de yuca con dos tamaños de partícula diferentes: segregado (de 0,85 a 1,99 mm) y no segregado (de 0,21 a 2,36 mm), operando a una temperatura de 30 °C. Ambas investigaciones se ejecutaron en el mismo biorreactor de lecho empacado y bajo condiciones de operación similares, lo que permitió reducir al mínimo la incertidumbre del proceso de validación.

El caso de estudio C realizado por Favela et al., (1998) en el Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa se incluyó para verificar la robustez del modelo matemático. Este trabajo empleó amberlita inerte como soporte recubierta con glucosa como sustrato para estudiar la influencia de tres concentraciones iniciales de glucosa en el crecimiento microbiano.

Debido a que ciertos parámetros cinéticos y geométricos del fermentador constituyen datos para el modelo matemático se procedió a su estimación a partir de la información reportada en los trabajos de investigación. Cuando no se pudo recopilar la información necesaria, se determinó de manera experimental, gracias

a la disponibilidad del equipo y materia prima en el Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional.

2.2.1 DETERMINACIÓN DE LA TASA MÁXIMA DE CRECIMIENTO (μ_{max})

Los resultados referidos a generación de proteína en función del tiempo constituyen una medida indirecta de la concentración de biomasa durante el crecimiento microbiano (Viccini et al., 2010. p. 274). Mediante los valores reportados de concentración de proteína en función del tiempo, se identificó la fase de crecimiento exponencial con aquellos datos que reflejan un incremento significativo de proteína.

Se graficó el logaritmo natural de la concentración de proteína en función del tiempo dentro de la fase de crecimiento exponencial y se determinó la pendiente de la recta resultante ($\ln(P) = \ln(P_o) + \mu_{max} t$), la misma que corresponde a la tasa máxima de crecimiento.

2.2.2 DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LA DENSIDAD APARENTE (M_w)

Debido a que no en todos los trabajos de investigación disponen de datos referidos a la densidad de carga de sustrato, se incorporó la influencia del tamaño de partícula del lecho a través de la densidad aparente, que se determinó de manera experimental, para lo cual:

- Se acondicionó el sustrato para que cumpla en forma idéntica con las condiciones de tamaño y humedad utilizadas en la parte experimental de cada trabajo A y B.
- Se introdujo el sustrato acondicionado en el biorreactor de lecho empacado.
- Se pesó el sustrato que ingresó en cada columna, se dividió para el volumen que ocupó, y con ello se estimó la densidad aparente.

Este procedimiento se repitió en tres ocasiones para cada caso, se determinó el promedio de densidad aparente y se incorporó en el modelo matemático.

2.2.3 DETERMINACIÓN DE LOS CRITERIOS PARA EVALUAR LA VALIDACIÓN

Las ecuaciones del modelo matemático se ordenaron y fueron implementadas en la plataforma MatLab Versión R2017b para su resolución mediante el método numérico de Euler con intervalos decimales de tiempo discreto y una aproximación de diferencias finitas para los volúmenes de control. Se ingresaron los parámetros μ_{max} y M_W calculados y el valor inicial de todas las variables de salida reportados en cada tratamiento propuesto en los trabajos de investigación.

Para determinar la validez del modelo, se aplicaron dos criterios de evaluación. La raíz del error cuadrático medio (*RMSE*), que se calculó con la ecuación 2.11 y analiza la concentración de biomasa en diferentes puntos a lo largo del proceso. Para considerar satisfactorio el resultado del modelo matemático, el valor de la *RMSE* debió ser cercano a cero (Buelvas, 2013, p.48).

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum(X_{pred.} - X_{real.})^2}{n}} \quad [2.11]$$

Donde:

RMSE: Raíz del error cuadrático medio $\left(\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ sustrato seco}}\right)$

X_{pred} : Concentración de biomasa predicha con el modelo matemático

X_{real} : Concentración de biomasa reportada experimentalmente

n : Número de datos (adimensional)

El otro criterio es el error relativo que permite analizar la capacidad de predicción del modelo a través del valor final de concentración de biomasa (cantidades

puntuales). Para calcular el error relativo se aplicó la ecuación 2.12, y se consideró satisfactorio cuando fue inferior al 5% (Rodríguez y López, 2016, p.195).

$$\%er = \frac{|X_{fpred.} - X_{freal.}|}{X_{freal.}} 100 \quad [2.12]$$

Donde:

$X_{fpred.}$: Concentración final de biomasa predicha con el modelo matemático

$X_{freal.}$: Concentración final de biomasa reportada experimentalmente

2.3 APLICACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO PARA EL DISEÑO DE UN BIORREACTOR TIPO LECHO EMPACADO

A través de la aplicación del modelo matemático se diseñó un biorreactor de lecho empacado de 200 litros. Se contemplaron dos criterios de diseño básicos: la selección de un diámetro que asegure la velocidad de circulación de aire, y altura crítica para operar dentro de rangos de temperatura óptimos.

El diámetro se determinó mediante un proceso iterativo, que parte de cuatro relaciones altura-diámetro (H/D) establecidas: 6/7, 1, 3/2 y 2. El valor inicial de 6/7 corresponde a la relación de un fermentador escala piloto de 200 litros cuya operación fue evaluada por De Oliveira Pitol et al. (2016). Las relaciones restantes tienen la finalidad de aumentar la altura del biorreactor y evitar el incremento desmedido del diámetro a una altura determinada, como se propone cuando se utiliza el número adimensional de Damköhler como criterio de escalado.

Con la relación altura-diámetro y el volumen de 200 litros se determinó el diámetro del biorreactor que fue siempre menor o igual a 1 metro, ya que para fermentadores amplios y sin un sistema de enfriamiento lateral, la consideración de transferencia de calor solamente axial es adecuada (Von Meien y Mitchell, 2002, p. 417).

2.3.1 DISEÑO DEL SISTEMA DE AIREACIÓN

Una vez definido el diámetro, se diseñó el sistema de aireación, el cual consta de aspersores de flautas en disposición cruz. Se calculó la velocidad de ingreso del aire a la flauta, la misma que asegure una velocidad de salida del aire de 0,05 m/s uniformemente distribuida a través de los orificios de los aspersores hacia el biorreactor mediante la ecuación 2.13. Esta velocidad corresponde a un valor promedio de flujo con el que se han realizado satisfactoriamente varios experimentos con hongos filamentosos en biorreactores de lecho empacado (Mitchell et al., 2010, p. 198).

$$V_i = \frac{V_o}{\sqrt{10} C_o} \quad [2.13]$$

Donde:

V_i : Velocidad de ingreso de aire a la flauta (m/s)

V_o : Velocidad de salida de aire por los orificios (m/s)

C_o : Coeficiente de descarga (adimensional)

Una vez determinada V_i se fijó la longitud de la flauta (igual al diámetro del biorreactor) y se asumieron el diámetro interno y la cantidad de agujeros de la flauta. Luego, se calculó el número de Reynolds mediante la ecuación 2.14, y se complementó con la estimación del mismo para el agujero final de la flauta (Perry y Green, 1999, p. 6-32).

$$Re = \frac{V_i \rho_{aire} L^*}{u_{aire}} \quad [2.14]$$

Donde:

ρ_{aire} : Densidad del aire (kg aire/m³)

u_{aire} : Viscosidad del aire (Pa s)

L^* : Longitud característica (m)

Con ambos valores para el número de Reynolds se determinaron dos factores de fricción (f_{r1} y f_{r2}) cuyo promedio dio como resultado el factor f_M , con el que se estimó la caída de presión dentro de la flauta mediante la ecuación 2.15.

La caída de presión a través de los orificios de la flauta se determinó mediante la ecuación 2.16 (Perry y Green, 1999, p. 6-32).

$$\Delta P = \left(\frac{4 f_M L_f}{3 D_{fi}} - 2k \right) \frac{\rho_{aire} V_i^2}{2} \quad [2.15]$$

$$\Delta P_o = \frac{1}{C_o^2} \frac{\rho_{aire} V_o^2}{2} \quad [2.16]$$

Donde:

L_f : Longitud de la flauta (m)

D_{fi} : Diámetro interno de la flauta (m)

k : constante de recuperación de momentum (adimensional)

f_M : factor de fricción medio (adimensional)

Con las caídas de presión, se determinó el porcentaje de mala distribución del sistema de aireación mediante la ecuación 2.17.

$$\%Mala\ distribución = \left(1 - \frac{\Delta P_o - |\Delta P|}{\Delta P_o} \right) 100 \quad [2.17]$$

Como se explica en Perry y Green (1999), cuando el porcentaje de mala distribución fue inferior a 5%, se dio por finalizado el diseño del sistema de aireación (p.6-32). En los casos en que no se logró un porcentaje de mala distribución satisfactorio, se aplicó un proceso iterativo basado en dos medidas correctivas:

- Disminuir el número de orificios hasta un valor que permita una distribución de aire adecuada para el biorreactor
- Aumentar el diámetro de la flauta

El proceso iterativo se esquematiza en la Figura 2.2, donde el proceso se explica de manera sintetizada mediante un diagrama de flujo.

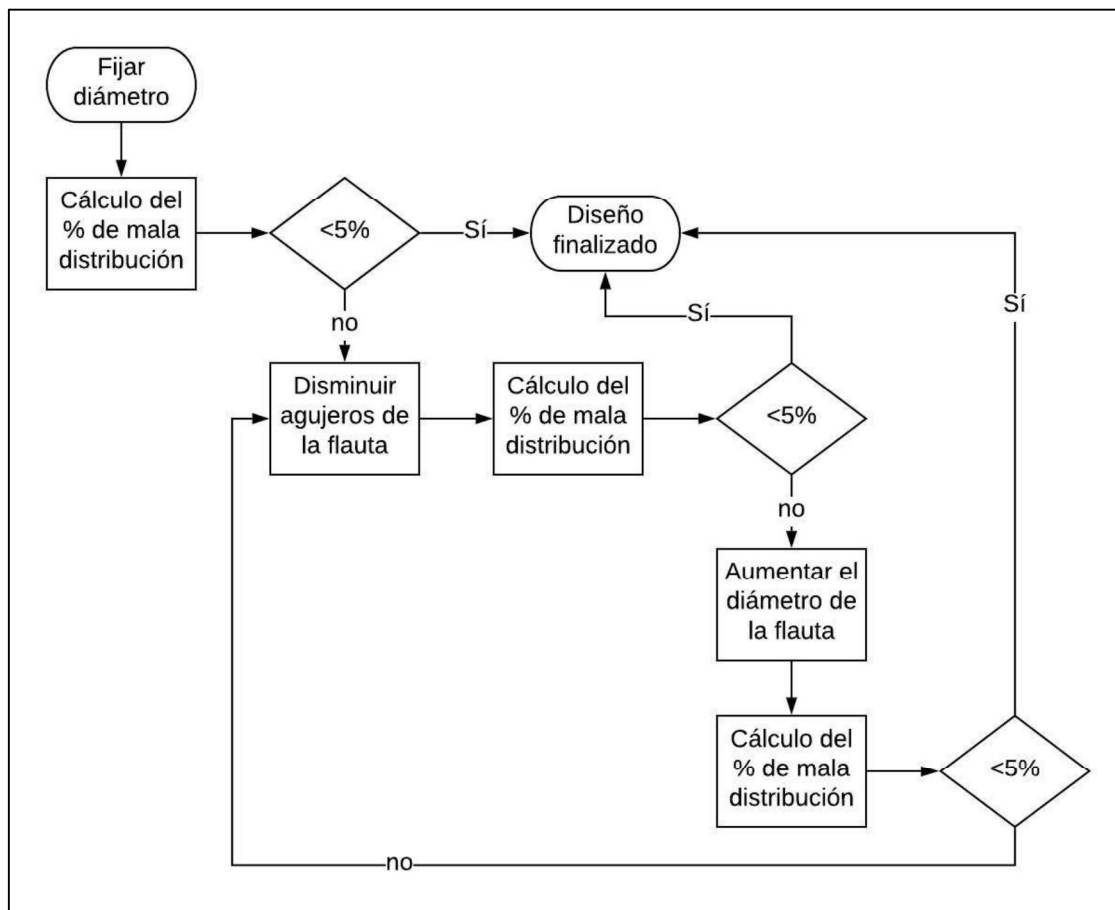


Figura 2.2. Diagrama de flujo del proceso iterativo para el diseño del sistema de aireación

2.3.2 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE LECHOS TEÓRICOS ANTES DEL PUNTO DE MUERTE TÉRMICA

Se determinó la altura crítica del biorreactor mediante la simulación del proceso FMS con base en la información reportada en los trabajos de investigación realizados en la Escuela Politécnica Nacional. Se seleccionaron los tres casos de estudio que presentaron el mejor ajuste al modelo matemático durante la validación, es decir, el menor error relativo.

Se utilizó el error relativo, ya que en los trabajos A y B se detuvo el crecimiento del *Aspergillus niger* en la fase exponencial, es decir, no se alcanzó el estado estacionario. Bajo dichas condiciones, una estimación de la concentración final de biomasa se consideró un mejor criterio para la selección de los casos a escalar.

Debido a que la aplicación del modelo matemático para el diseño del biorreactor implica en forma indirecta un proceso de escalado, para la simulación se consideró la densidad aparente y la velocidad de aireación constantes. La densidad aparente constante significa que la cantidad de material utilizado como sustrato aumenta conforme aumenta la capacidad del biorreactor para mantener constante la densidad de carga. En cuanto a la velocidad de aireación constante previene la fluidización del lecho empacado producto de caídas de presión elevadas (Mitchell et al., 2006, p. 61).

Una vez ingresadas las condiciones de cada caso, se determinó el número de lechos teóricos requeridos para alcanzar el punto de muerte térmica que corresponde a la temperatura mínima requerida para que la concentración de biomasa viable disminuya.

Cuando el volumen calculado, contemplando todos los lechos obtenidos, resultó menor a 200 litros, se implementó un nuevo sistema de aireación intermedio, con el que se aumentó la capacidad del biorreactor sin perjudicar la temperatura de trabajo y evitando problemas de caída de presión. Cuando las dimensiones de altura crítica y diámetro obtenidos generaron un volumen mayor o igual a 200 litros se dio por finalizado el diseño.

El análisis se realizó considerando un intervalo de tiempo total de 48 horas que se reporta en todos los casos de estudio experimentales. Finalmente, se determinó el t_{90} , que corresponde al tiempo en el que el 90% de la cantidad máxima de biomasa es producida, el mismo que se utilizó para comparar la efectividad del diseño y su influencia en los casos analizados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 MODELO MATEMÁTICO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO CON *Aspergillus niger*

Se desarrolló un modelo matemático dinámico capaz de describir en forma íntegra y a diferentes niveles el sistema FMS en un biorreactor tipo lecho empacado con *Aspergillus niger* como agente biológico.

Es posible estimar la biomasa total generada en el proceso mediante la ecuación 3.1, y se realiza una distinción de células viables a través de la ecuación 3.2 que considera la constante de muerte térmica (k_d), calculada mediante la ecuación 3.3, como una función de la temperatura en el lecho.

$$\frac{dX_T}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) \quad [3.1]$$

$$\frac{dX_V}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - (k_d X_T) \quad [3.2]$$

$$k_d = A_d e^{\frac{-E_a}{R(T_S+273)}} \quad [3.3]$$

Donde:

k_d : Constante de muerte térmica del microorganismo (h^{-1})

A_d : Factor de frecuencia (h^{-1})

E_a : Energía de activación (J/mol)

La cantidad de biomasa generada permite expresar el aumento de la densidad aparente del lecho con la ecuación 3.4, que considera microorganismos viables y no viables ya que incluso si se alcanza la temperatura de muerte la biomasa ocupa espacio dentro del fermentador. El aumento en la densidad aparente genera dificultades para enfriar el sistema y para suministrarle oxígeno, ya que se produce

una resistencia para el flujo del aire a través del lecho por la reducción del espacio vacío (Chen, 2013, p. 292).

$$\frac{dM}{dt} = M \left(\frac{dX_T}{dt} \right) \quad [3.4]$$

Donde:

M : Densidad aparente del lecho seco ($\text{kg}_{\text{sólido seco}} / \text{m}^3$)

Es por ello que, las ecuaciones de cinética microbiana se complementaron con las propuestas por Richard et al. (1995), para definir el espacio libre dentro del biorreactor durante el transcurso de la fermentación como un porcentaje del espacio total disponible en el lecho como se indica en la ecuación 3.5 (p.196).

$$e = 1 - \left(\frac{M_W}{\rho_{M_W}} + \frac{X_T}{\rho_{X_T}} \right) \quad [3.5]$$

Donde:

e : Espacio vacío dentro del fermentador (adimensional)

M_W : Densidad aparente del lecho húmedo $\left(\frac{\text{kg}_{\text{lecho}}}{\text{m}^3 \text{ columna}} \right)$

ρ_{M_W} : Densidad del lecho húmedo $\left(\frac{\text{kg}_{\text{lecho}}}{\text{m}^3 \text{ lecho}} \right)$

ρ_{X_T} : Densidad de la biomasa $\left(\frac{\text{kg}_{\text{biomasa}}}{\text{m}^3 \text{ biomasa}} \right)$

En forma paralela, el modelo determina el consumo de sustrato y oxígeno requeridos para el crecimiento microbiano mediante las ecuaciones 3.6 y 3.7 respectivamente, considerando el rendimiento de sustrato a biomasa (Y_{XS}) y la cantidad de oxígeno requerido por kg de biomasa (Y_o). El rendimiento de sustrato a biomasa depende de la facilidad con la que el microorganismo aprovecha el sustrato para su crecimiento, y se calcula a partir de datos experimentales referidos a biomasa producida y sustrato consumido.

$$\frac{dS}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m} \right) \frac{1}{Y_{XS}} \quad [3.6]$$

$$\frac{dO}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) \frac{1}{Y_o} \quad [3.7]$$

Donde:

S: Concentración de sustrato

O: Concentración de oxígeno $\left(\frac{kg \text{ oxígeno}}{kg \text{ aire seco}}\right)$

Y_{XS} : Rendimiento de sustrato a biomasa $\left(\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ sustrato}}\right)$

Y_o : Oxígeno requerido por la biomasa $\left(\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ oxígeno}}\right)$

El modelo describe la humedad del lecho como la cantidad de vapor de agua requerida durante el metabolismo microbiano y la cantidad de agua que es arrastrada por la corriente de aire (Chen, 2013, p. 83). Esta última se transfiere mediante difusión desde el lecho empacado, cuyo coeficiente (D_{ab}) se calcula mediante la ecuación 3.8 de Chapman-Enskog, la resistencia a la transferencia de humedad se describe mediante la tasa de difusión (k_w) que se estima con la ecuación 3.9 (Perry y Green, 1999, p. 5-48).

$$D_{ab} = \frac{0.001858T^{\frac{3}{2}} M_{AB}^{\frac{1}{2}}}{P \sigma_{AB}^2 \Omega_D} \quad [3.8]$$

$$k_w = \frac{D_{ab} h_p}{V} \quad [3.9]$$

Donde:

D_{ab} : Coeficiente de difusión de vapor de agua en aire (m^2/s)

M_{AB} : Peso molecular medio de agua y aire (g/mol)

σ_{AB} : Diámetro de colisión de cada molécula (agua y aire) (Å)

Ω_D : Integral de colisión (adimensional)

h_p : Espesor de película formada alrededor del sustrato (m)

V: Volumen del biorreactor (m^3)

k_w : tasa de difusión (s^{-1})

El coeficiente de difusión es categorizado como parámetro para el modelo ya que su valor numérico no se altera de manera significativa frente a cambios de temperatura moderados, es por ello que se considera constante (Perry y Green, 1999, p. 5-49).

Así, la humedad del lecho a lo largo del proceso se determina mediante la ecuación 3.10. Mientras que, el agua que abandona el lecho y es arrastrada por la corriente de aire se obtiene con la ecuación 3.11 la cual considera que toda el agua perdida por el lecho se difunde en la corriente de aire.

$$\frac{dW}{dt} = -Y_w \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - k_w (W - W_{sat}) \quad [3.10]$$

$$\frac{dH_g}{dt} = \frac{G A (H_{in} - H_g)}{V e \rho_{aire}} + \frac{M k_w (W - W_{sat})}{e \rho_{aire}} \quad [3.11]$$

Donde:

H_g : Humedad del aire a la salida del equipo

H_{in} : Humedad del aire a la entrada del equipo

V : Volumen del fermentador

G : Flujo superficial de aire

A : Área transversal al flujo (m²)

Uno de los principales aportes del presente modelo es la incorporación de la ecuación 3.12 que describe la cantidad de agua que condensa desde la fase gaseosa hacia el lecho del biorreactor. Esto debido a que el aire que se utiliza para suministrar oxígeno es capaz de hidratarse solamente hasta el punto de saturación.

$$W_f = W_o - \left(\left(H_g \left(\frac{\rho_{aire}}{M} \right) \right) + \left(Y_w \frac{dX}{dt} \right) \right) \quad [3.12]$$

Donde:

W_f : Agua que condensa desde la fase gaseosa hacia el lecho del biorreactor

En lo referente a cambios energéticos, el modelo especifica el aumento de temperatura en el lecho sólido y en la corriente de aire a través de las ecuaciones 3.13 y 3.14 respectivamente. El aumento de temperatura en el biorreactor se concibe como la combinación del calor generado producto del metabolismo de la biomasa, el calor cedido al aire mediante convección y el calor latente producto del arrastre de agua hacia la corriente de aire.

$$\frac{dT_s}{dt} = \frac{Y_q M V U X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - h (T_s - T_g) - M L k_w (W - W_{sat})}{M (Cp_m + (Cp_w W))} \quad [3.13]$$

$$\begin{aligned} \frac{dT_g}{dt} = & \frac{G A Cp_a (T_{in} - T_g) + G A Cp_v (H_{in} T_{in} - H_g T_g)}{V e \rho_{aire} (Cp_a + (Cp_v H_g))} + \dots \\ & \dots \frac{V h (T_s - T_g) + M L k_w V (W - W_{sat})}{V e \rho_{aire} (Cp_a + (Cp_v H_g))} \end{aligned} \quad [3.14]$$

Donde:

T_s : Temperatura del lecho sólido (°C)

T_g : Temperatura del aire (°C)

T_{in} : Temperatura del aire a la entrada del equipo (°C)

Cp_m , Cp_w , Cp_a y Cp_v : Capacidad calorífica del sustrato seco, agua, aire seco y vapor de agua respectivamente (J/kg °C)

El alcance que posee el perfil de temperatura en función del tiempo obtenido con el modelo radica en la determinación de la altura crítica del lecho empacado (H_{crit}), que constituye un criterio fundamental en el proceso de escalado de biorreactores tipo lecho empacado. La altura crítica es la máxima que podría tener el lecho antes de alcanzar la temperatura de muerte del microorganismo. En las FMS, las dimensiones del biorreactor pueden impedir el enfriamiento adecuado, es decir, el calor generado por el metabolismo supera al removido por el aire provocando incluso la muerte térmica de los microorganismos (Mitchell et al., 1999, p. 171). El *Aspergillus niger* es un hongo termotolerante, por lo que puede vivir entre los 12°C y 57°C; no obstante, al desarrollarse a temperaturas cercanas a 40°C, su

metabolismo decrece siendo el rango entre 30°C y 32°C el óptimo para la producción de extractos enzimáticos (INSHT, 2012, p.1; Leon et al., 2018, p.3,12).

La aplicación del presente modelo matemático requiere de información inicial, que se clasifica en parámetros y datos de ingreso. Los parámetros, que abarcan características cinéticas, dimensiones del equipo y propiedades termofísicas propias de cada compuesto, se han obtenido de la experimentación realizada en investigaciones previas y fuentes bibliográficas confiables. Por otro lado, los datos corresponden a las condiciones de operación y características específicas del sistema de FMS a modelar.

El modelo matemático resultante está conformado por 9 ecuaciones diferenciales ordinarias, 15 ecuaciones algebraicas, 10 variables de respuesta y requiere 14 datos de ingreso (también conocidos como variables de entrada). Este escenario resulta en 0 grados de libertad, lo que indica que el modelo se encuentra especificado y tiene solución única. Para relacionar el tiempo y el espacio, los resultados obtenidos en cada volumen de control se utilizaron como datos de ingreso para inicializar el siguiente volumen hasta alcanzar una altura crítica.

Mediante el modelo desarrollado se puede describir la producción de biomasa con respecto al tiempo y su influencia en el aumento de la densidad aparente del fermentador. A su vez, es posible definir los fenómenos de transporte de materia dentro del sistema que dependen de la temperatura que se alcanza en el lecho. La predicción de la temperatura en función del tiempo y el espacio mediante el balance de energía planteado provee una poderosa herramienta para el desarrollo de biorreactores ya que permite describir de manera adecuada como se distribuye el calor en todos los segmentos del sistema analizado. Al no existir criterios comunes para el escalado, puede utilizarse como criterio de diseño para determinar las dimensiones del lecho empacado (Chen, 2013, p. 135).

El código que incluye todas las ecuaciones tanto diferenciales como algebraicas y fue implementado en la plataforma MatLab R2017b se muestra en el Anexo I.

3.2 CAPACIDAD DE PREDICCIÓN DEL MODELO FRENTE A RESULTADOS EXPERIMENTALES

Durante el proceso de validación de los trabajos de investigación se analizó un total de 15 experimentos, en los que se evaluaron las variables de salida luego de 48 horas de fermentación. La nomenclatura para identificar los experimentos se muestra en la Figura 3.1.

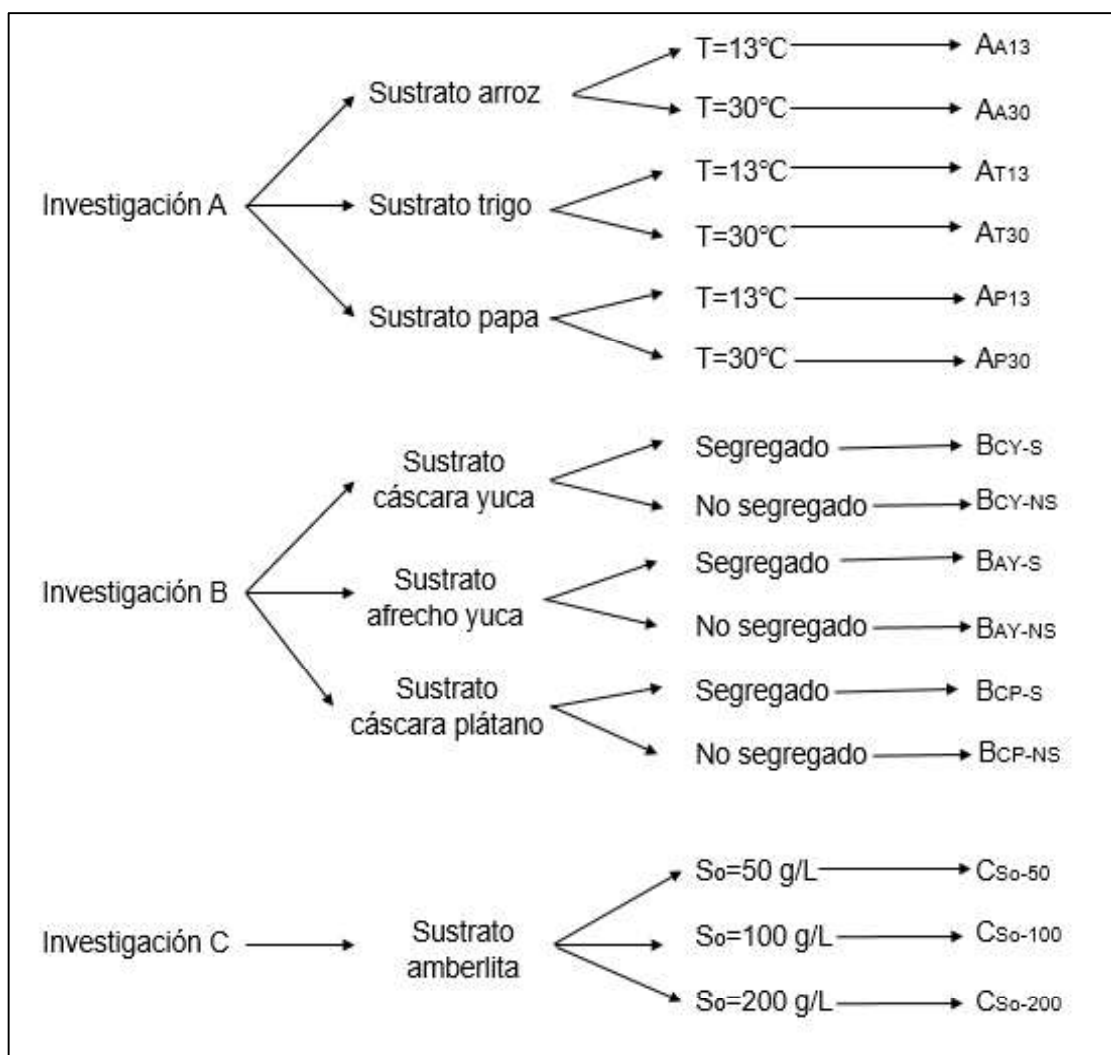


Figura 3.1. Nomenclatura para identificar los experimentos analizados

3.2.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL SISTEMA DE FERMENTACIÓN (FMS)

En los tres casos analizados, fueron utilizadas columnas de vidrio, el sustrato inoculado con *Aspergillus niger* se introdujo en las columnas y el aire se inyectó mediante un ventilador centrífugo y fue distribuido mediante mangueras por la parte inferior de cada columna. Para garantizar que el aire ingrese saturado, este se burbujeó a través de un recipiente con agua. La temperatura del proceso se fijó calentando el volumen de agua dentro del cual las columnas fueron introducidas. Para los casos A y B desarrollados en la EPN, se emplearon 12 columnas en total ya que se realizaron 6 ensayos con su respectiva paralela (Arguero, 2014, p. 35; Herrera, 2018, p. 3). Las dimensiones y condiciones de operación de los sistemas empleados en los tres casos de estudio bajo análisis se presentan en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Características de los fermentadores utilizados en cada caso de estudio

Parámetros	Caso de estudio		
	A	B	C
Diámetro del biorreactor (cm)	1,90	1,90	1,10
Altura del lecho empacado (m)	0,13	0,13	0,15
Presión de operación (mmHg)	540	540	540
Temperatura inicial del medio (°C)	13	30	35

(Arguero, 2014; Herrera, 2018; Favela et al., 1998)

Las dimensiones de los biorreactores corresponden a equipos para experimentación en laboratorio, ya que para todos los casos la capacidad de carga es inferior a 1000 g (Chen, 2013, p. 133).

Las diferencias entre los valores iniciales de temperatura radican en el objetivo de cada experimentación. En los casos A y B se deseaba obtener un extracto enzimático de interés por lo que se trató de mantener el proceso a una temperatura que favorezca el crecimiento exponencial y prevenga la esporulación del microorganismo. Para el caso C, se deseaba analizar la producción de biomasa en función de la concentración inicial de glucosa, por lo que la temperatura inicial trató de favorecer exclusivamente el crecimiento microbiano.

3.2.2 PARÁMETROS CINÉTICOS E INICIALIZACIÓN DE LAS VARIABLES DE RESPUESTA

Los parámetros cinéticos referidos a la tasa máxima de crecimiento, el rendimiento de sustrato a biomasa y la densidad aparente, son datos de entrada del modelo matemático. La determinación de la tasa máxima de crecimiento y de la densidad aparente se muestra en el Anexo II y III respectivamente. En las investigaciones A y B, los parámetros cinéticos que se muestran en la Tabla 3.2, se calcularon a partir de la información de generación de proteína en función del tiempo reportada. El resto de parámetros utilizados en el modelo se muestran en el Anexo IV.

Tabla 3.2. Parámetros cinéticos utilizados para los casos A y B

Caso de estudio	Tasa máxima de crecimiento (h^{-1})	Rendimiento sustrato a biomasa ($\frac{kg\ biomasa}{kg\ sust.\ seco}$)	Densidad aparente ($\frac{kg\ lecho}{m^3}$)
A_{A13}	0,0523	0,145	325,47
A_{A30}	0,0731	0,301	
A_{T13}	0,0517	0,570	352,69
A_{T30}	0,0586	1,532	
A_{P13}	0,0533	0,382	337,21
A_{P30}	0,0503	0,833	
B_{CY-S}	0,0352	14,310	461,20
B_{CY-NS}	0,0473	17,460	352,68
B_{AY-S}	0,0250	14,070	406,95
B_{AY-NS}	0,0324	19,620	325,56
B_{CP-S}	0,0399	6,330	406,95
B_{CP-NS}	0,0278	6,540	379,82

Las tasas de crecimiento obtenidas varían con respecto a las encontradas por Oriol, et al. (1988) cuyo valor oscila entre 0,3 y 0,45 h^{-1} cuando se trabaja con almidón de yuca como sustrato y humedades cercanas al 50% (p.501). No obstante, en la investigación realizada con el mismo sustrato por Raimbault y Alazard (1980), cuando la humedad del lecho disminuye al 35% se reporta una

tasa de crecimiento de $0,064 \text{ h}^{-1}$ (p.204). Cuando se trabaja con sustratos almidonosos como el camote, Lu, et al. (1997) reporta tasas de crecimiento bajas que oscilan entre $0,06$ y $0,07 \text{ h}^{-1}$ (p.395), valores cercanos a los determinados para los casos A y B. Esta tendencia responde a la deshidratación del lecho durante la experimentación o a la falta de nutrientes biodisponibles para el microorganismo (Viccini et al., 2010, p. 276).

Dentro de los parámetros cinéticos, no se dispone del valor de concentración de biomasa máxima (X_m), ya que como se explicó con anterioridad se suspendió el proceso cuando se encontraba en la fase de crecimiento exponencial. Por esta razón, el parámetro (X_m) no se considera en el planteamiento del modelo y la cinética de crecimiento se describe mediante la ecuación 3.15, que corresponde a la cinética de primer orden.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} X \quad [3.15]$$

Esta cinética microbiana no incluye la fase de desaceleración del crecimiento que originalmente es descrita por el Modelo Logístico, es decir, solamente se refiere a la fase de crecimiento exponencial de la biomasa (Viccini et al., 2010, p.274).

En el caso C, se utilizaron los parámetros cinéticos que se reportaron en la investigación, mismos que se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Parámetros cinéticos utilizados para el caso C

Caso de estudio	Tasa máxima de crecimiento (h^{-1})	Rendimiento de sustrato a biomasa ($\frac{\text{kg biomasa}}{\text{kg sust. seco}}$)	Concentración máxima de biomasa ($\frac{\text{g biomasa}}{\text{L}}$)	Constante de afinidad con el sustrato ($\frac{\text{g sustrato}}{\text{L}}$)
C _{So-50}	0,323	0,680	32,00	28,56
C _{So-100}	0,313	0,375	35,00	
C _{So-200}	0,236	0,199	39,50	

(Favela et al., 1998)

En este caso, las tasas de crecimiento se asemejan a la reportada por Córdova et al. (1996), igual a $0,481 \text{ h}^{-1}$ cuando se trabaja con *Aspergillus niger* y resina de amberlita (IRA-900) cubierta por una solución enriquecida como soporte (Viccini et al., 2010, p.278).

En cuanto a la constante (K_S), que representa la concentración de sustrato a la que la tasa de crecimiento es igual a la mitad de su valor máximo (μ_{max}), su valor fue calculado mediante la linealización de dobles recíprocos. Este parámetro cinético varía en función del microorganismo utilizado y de su afinidad por el sustrato en el que se desarrolla (Scriban et al., 1984, p. 147). El valor de K_S obtenido se asemeja a los reportados por Duarte (1996) los cuales oscilan entre 13 y 34 g sustrato/L (p.129).

El modelo desarrollado se resuelve como un problema de valor inicial. Por ello la inicialización de variables se realizó recopilando información de los experimentos, las condiciones iniciales se visualizan en la Tabla 3.4 para los casos A y B.

Tabla 3.4. Inicialización de condiciones para los casos A y B

Caso de estudio	X_o $\left(\frac{\text{kg biomasa}}{\text{kg lecho seco}}\right)$	S_o $\left(\frac{\text{kg almidón}}{\text{kg lecho seco}}\right)$	W_o $\left(\frac{\text{kg agua}}{\text{kg lecho seco}}\right)$	H_o $\left(\frac{\text{kg agua}}{\text{kg aire seco}}\right)$	M_{W_o} $\left(\frac{\text{kg carga}}{\text{m}^3}\right)$
A_{A13}	0,0015	-	0,5314	0,0091	332,89
A_{A30}	0,0010	-	0,5221	0,0265	332,89
A_{T13}	0,0055	-	0,5474	0,0091	352,69
A_{T30}	0,0110	-	0,5631	0,0265	352,69
A_{P13}	0,0025	-	0,5003	0,0091	379,82
A_{P30}	0,0075	-	0,5128	0,0265	379,82
B_{CY-S}	0,3716	0,6212	0,5090	0,0265	461,20
B_{CY-NS}	0,1611	0,6212	0,5080	0,0265	352,69
B_{AY-S}	0,4248	0,6161	0,5300	0,0265	406,95
B_{AY-NS}	0,2404	0,6161	0,5290	0,0265	325,56
B_{CP-S}	0,1449	0,7878	0,5150	0,0265	406,95
B_{CP-NS}	0,1532	0,7878	0,5130	0,0265	379,82

(Arguero, 2014; Herrera, 2018)

Para el caso C, las condiciones iniciales se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Inicialización de condiciones para el caso C

Caso de estudio	X_o $\left(\frac{g \text{ biomasa}}{L}\right)$	S_o $\left(\frac{g \text{ sustrato}}{L}\right)$	W_o $\left(\frac{kg \text{ agua}}{kg \text{ lecho seco}}\right)$	H_o $\left(\frac{kg \text{ agua}}{kg \text{ aire seco}}\right)$	M_{W_o} $\left(\frac{kg \text{ carga}}{m^3}\right)$
C _{So-50}	0,0100	50,000	0,610	0,0363	491,060
C _{So-100}	0,0100	100,000	0,610	0,0363	491,060
C _{So-200}	0,0100	200,000	0,610	0,0363	491,060

(Favela et al., 1998)

La concentración inicial de biomasa, tamaño de inóculo para los casos A y B no fue reportada, debido a que se trabajó con concentraciones de proteína. Por ello, el proceso fermentativo se analizó desde el segundo valor de los datos presentados con el que fue posible determinar la cantidad de biomasa que produjo el aumento de proteína.

En todos los casos la humedad de partida es similar y oscila entre 50 y 60%, valores que se encuentran dentro del rango con el que comúnmente se trabaja (40-75%) (Chen et al., 2013, p. 267). De forma análoga, los valores iniciales de densidad aparente, que es la cantidad de sustrato por unidad de volumen de fermentador, se asemejan entre sí, debido a que los fermentadores poseen dimensiones parecidas y los sustratos son introducidos sin aplicar presión.

3.2.3 COMPORTAMIENTO GLOBAL DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN (FMS)

La concentración final de biomasa obtenida luego de 48 horas es uno de los criterios para evaluar el desempeño global del proceso de fermentación en el presente estudio. Estos resultados se presentan en la Tabla 3.6 para la investigación realizada con los casos A.

Tabla 3.6. Concentración final de biomasa obtenida en los casos A y B

Caso de estudio	Concentración final de biomasa ($\frac{kg \text{ biomasa}}{kg \text{ lecho seco}}$)	
	Resultado del modelo	Resultado determinado a partir de datos experimentales
A _{A13}	0,0158	0,0145
A _{A30}	0,0268	0,0290
A _{T13}	0,0563	0,0580
A _{T30}	0,1535	0,1465
A _{P13}	0,0399	0,0365
A _{P30}	0,0720	0,0850
B _{CY-S}	1,8100	2,2950
B _{CY-NS}	1,3520	2,1300
B _{AY-S}	1,3090	1,3510
B _{AY-NS}	1,0325	1,0390
B _{CP-S}	0,8718	0,8725
B _{CP-NS}	0,5350	0,7350

A su vez, los resultados para el caso C, para el que se aplicaron dos cinéticas de crecimiento distintas se muestran en la Tabla 3.7

Tabla 3.7. Concentración final de biomasa obtenida en el caso C

Caso de estudio	Concentración final de biomasa ($\frac{g \text{ biomasa}}{L}$)		
	Modelo Logístico	Modelo Monod	Resultado experimental
C _{So-50}	31,98	34,01	32,0
C _{So-100}	34,96	34,96	35,0
C _{So-200}	38,15	39,02	39,5

La concentración final de biomasa obtenida en los casos A, oscila entre 0,01 y 0,1 kg biomasa/kg sustrato seco, y coincide con los resultados reportados por Córdova et al. (1996) y Raimbault (1980) de 0,059 y 0,11 kg biomasa/kg sustrato seco

utilizando como sustrato bagazo de caña y cáscaras de yuca respectivamente, con *Aspergillus niger* (p.5; p.204). El tiempo de fermentación en ambos casos fue inferior a 50 horas por lo que la cantidad de biomasa obtenida es comparable con los valores determinados a través del modelo matemático.

De igual forma, la concentración final de biomasa en los casos C, se asemeja a la reportada en investigaciones llevadas a cabo con amberlita IRA-900 recubierta con soluciones enriquecidas durante 31 horas, donde se obtienen concentraciones máximas de biomasa de 0,051 kg/kg de sustrato (Córdova et al., 1996, p.5).

Por el contrario, en la mayoría de casos B, se obtienen cantidades atípicas de biomasa que exceden a 1 kg biomasa por cada kg sustrato seco, es decir, que por cada unidad de sustrato consumida se genera una mayor cantidad de unidades de biomasa. Tomando en cuenta que se utilizan residuos agroindustriales para la fermentación, los resultados de concentración final de biomasa exceden los valores comúnmente reportados en bibliografía. Por ejemplo, Lu et al. (1997) encontró que luego de 8 días de fermentación, utilizando camote como sustrato, la cantidad máxima de biomasa fue de 0,27 kg/kg sustrato empleando *Aspergillus niger*, lo que difiere de manera significativa con las concentraciones reportadas en los casos B_{CY-S}, B_{CY-NS}, B_{AY-S} y B_{AY-NS}. A su vez, utilizando yuca como sustrato, se han obtenido concentraciones máximas de biomasa de 0,237 kg por cada kg sustrato en procesos de 31 horas de duración (Viccini et al., 2010, p. 279).

La aproximación del modelo con los resultados de concentración final de biomasa obtenidos en los casos A y B se evaluó con el error relativo. Este criterio comparó valores puntuales de la concentración de biomasa luego del tiempo total de fermentación. Los valores de error relativo obtenidos para los casos A y B se muestran en orden ascendente en la Figura 3.2.

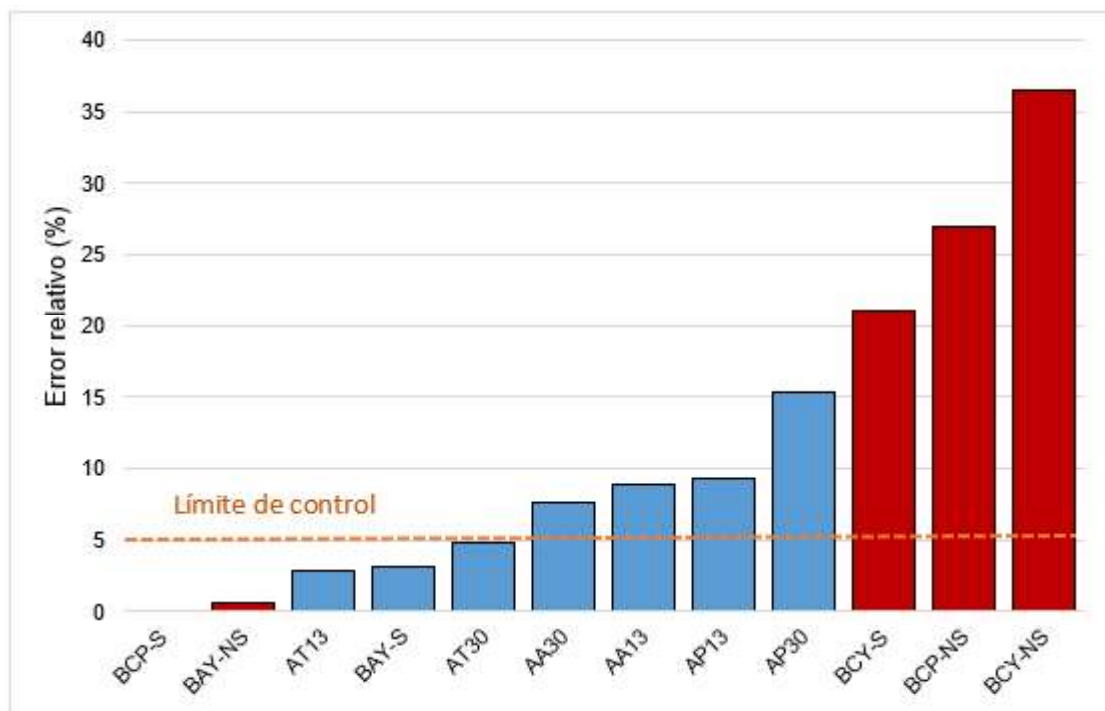


Figura 3.2. Error relativo en la concentración final de biomasa obtenido con el modelo y los resultados calculados mediante datos experimentales

Se observa que 5 de los 12 casos analizados, presentan un error relativo menor al 5%, es decir, la cantidad final de biomasa en estos experimentos puede ser descrita de manera efectiva mediante el modelo matemático. El resto de experimentos presenta un error relativo inferior al 10% pero superior al 5%, por lo que podrían ser descritos mediante el modelo matemático con una certeza moderada y siempre que se tolere dichos porcentajes de error.

Aunque en forma general, el error relativo es bajo, para definir la capacidad predictiva del modelo se requiere analizar el perfil de crecimiento microbiano del *Aspergillus niger* en los casos A y B como se indica en las Figuras 3.3 y 3.4 respectivamente.

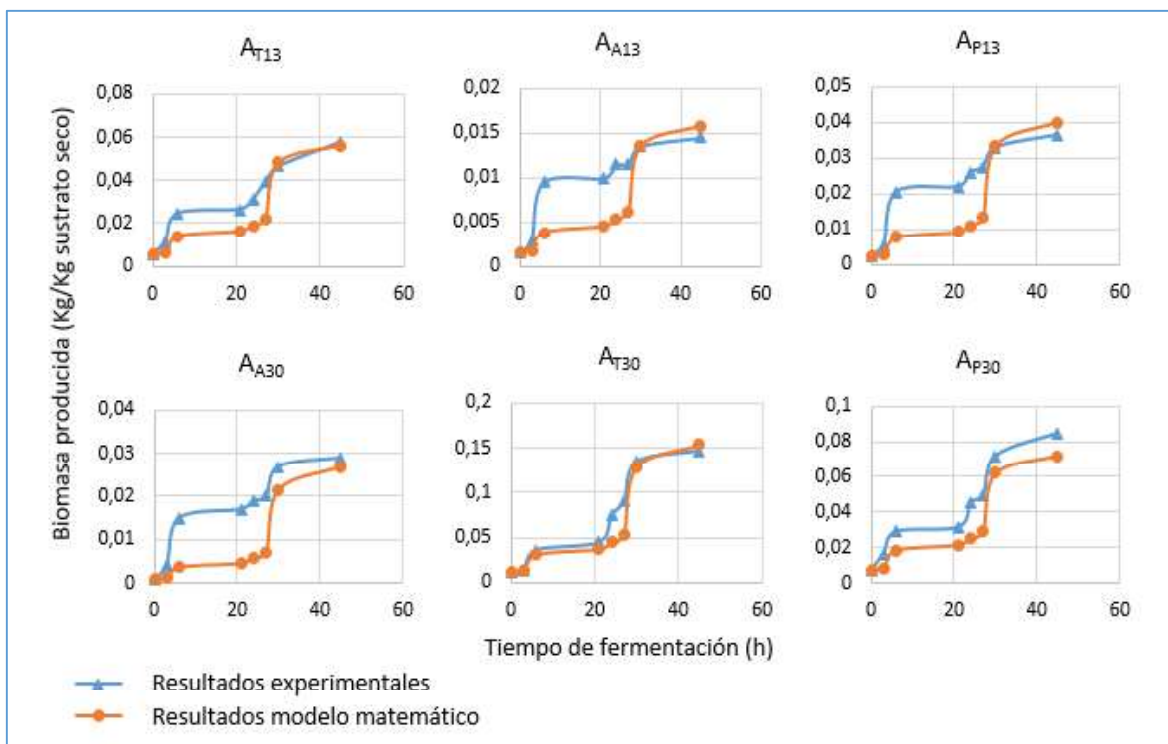


Figura 3.3. Perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales para los casos A

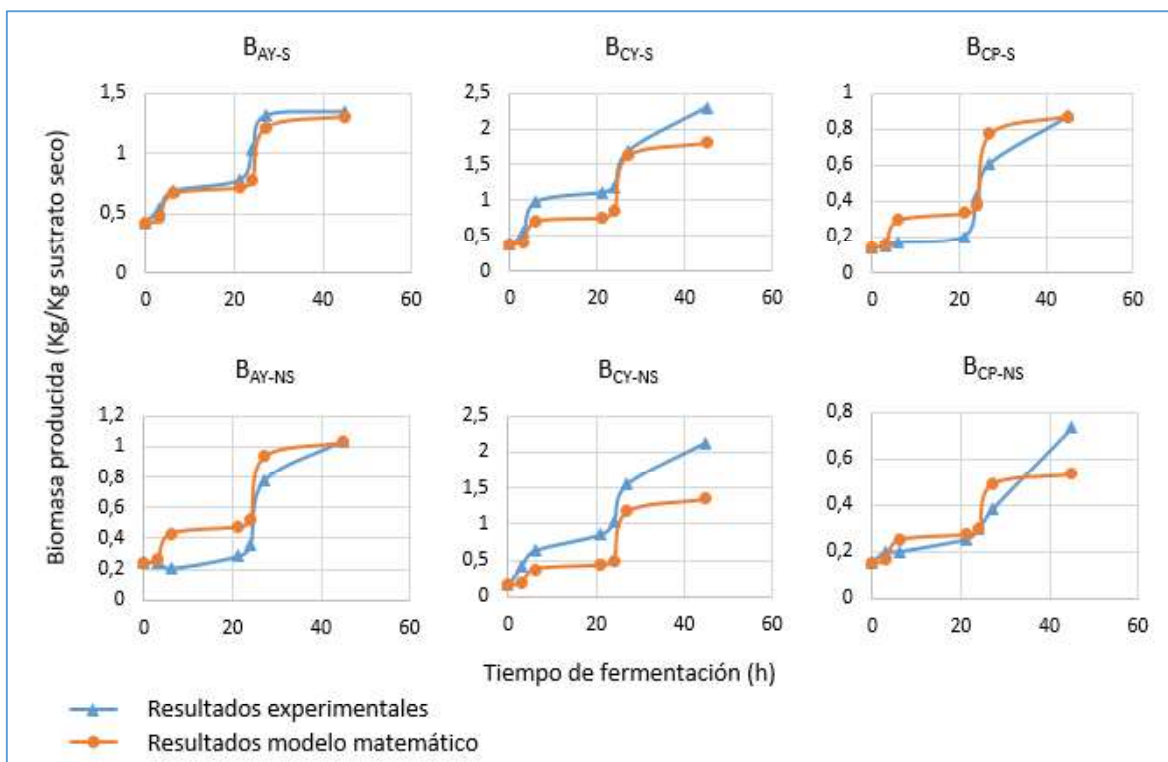


Figura 3.4. Perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales para los casos B

En algunos casos como el A_{T13} , A_{T30} y B_{AY-S} , las curvas se encuentran prácticamente sobrepuestas, lo que indicaría la mejor aproximación del modelo con respecto al proceso fermentativo en medio sólido con *Aspergillus niger*. Por el contrario, en los casos A_{A13} , A_{P13} y A_{A30} las curvas, a simple vista, presentan diferencias en las zonas intermedias a pesar de tener un error relativo bajo en la concentración final de biomasa.

Para eliminar apreciaciones subjetivas en el análisis de ajuste de la curva, la aproximación del modelo con los resultados experimentales punto a punto en función del tiempo se evaluó con la RMSE, obteniéndose los resultados que se muestran en orden ascendente en la Figura 3.5.

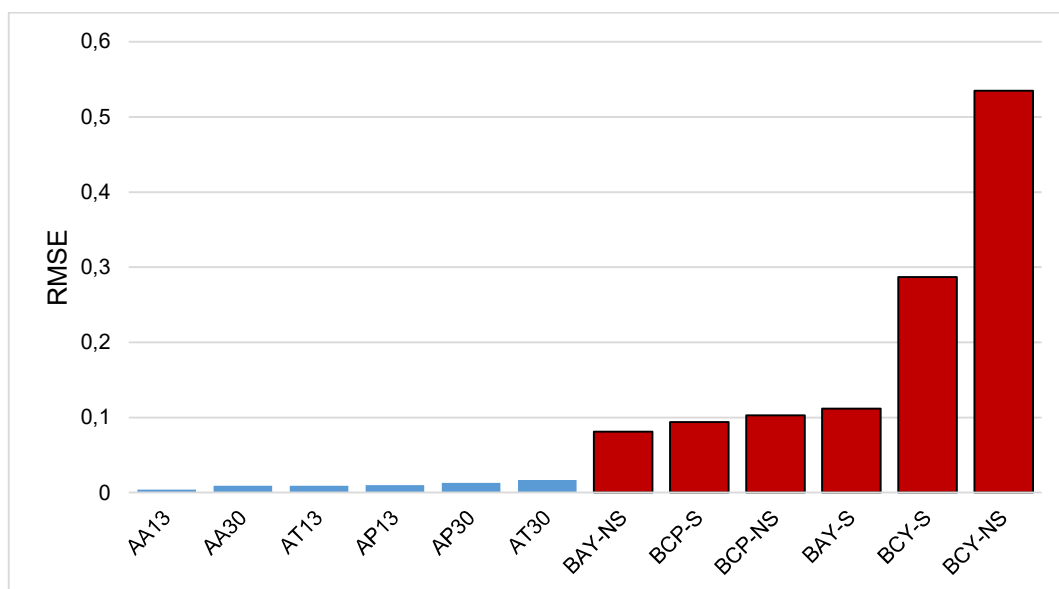


Figura 3.5. Raíz del error cuadrático medio de los perfiles de concentración de biomasa obtenidos con el modelo y los resultados experimentales

Mientras menor sea el valor de la RMSE, mayor es el ajuste que existe entre la curva de crecimiento microbiano reportada y la obtenida a través del modelo (Buevas, 2013, p. 48). Se observa que para los 6 experimentos analizados de la investigación A, el valor de la RMSE obtenido es cercano a cero, por lo que la tendencia de los datos generados de la simulación, es próxima a la obtenida mediante datos experimentales. Aunque a simple vista se pudo observar que las curvas presentadas en la Figura 3.4 también se ajustan entre sí, el análisis

cuantitativo demostró que para el caso B se tiene un RMSE mayor, es decir, la tendencia de los datos generados de la simulación no se ajusta a los datos experimentales con la misma efectividad. Este comportamiento, es consecuencia de la diferencia entre el último valor de la curva de crecimiento microbiano con respecto a los anteriores.

Un criterio complementario para evaluar el comportamiento global de fermentación es la altura crítica determinada a través del modelo. En la Tabla 3.8, se observan los valores de altura crítica obtenidos en función de la temperatura que se alcanza dentro del lecho, considerando una velocidad de aireación constante.

Tabla 3.8. Altura crítica del lecho obtenida en los casos A, B y C

Caso de estudio	Altura crítica del lecho empacado (<i>m</i>)
A_{A13}	15,0
A_{A30}	4,0
A_{T13}	2,5
A_{T30}	1,5
A_{P13}	10,0
A_{P30}	1,8
B_{CP-S}	0,1
B_{CP-NS}	0,3
C_{S0-50}	2,15
C_{S0-100}	1,85
C_{S0-200}	1,38

El nivel en el lecho al cual, la biomasa viable empieza a disminuir se conoce como altura crítica, la misma que para los casos A y C es inversamente proporcional a la cantidad de biomasa producida, ya que, entre más biomasa se genera, el calor metabólico es mayor y los espacios dentro del fermentador se reducen. Por ello, se produce una resistencia al flujo de aire y se dificulta la disipación del calor generado (Mitchell et al., 2006, p. 159).

Como se puede ver en la Tabla 3.8, para los casos A se tienen alturas críticas altas a las que se podría trabajar sin problema, esto debido a la baja producción de biomasa. Por otro lado, para los casos B_{CP-S} y B_{CP-NS}, que reportan altas concentraciones finales de biomasa, la altura crítica se alcanza a pocos centímetros del sistema de aireación, puesto que los espacios vacíos dentro del biorreactor se reducen con facilidad al trabajar en un volumen pequeño. Para el resto de casos B, debido a las dimensiones del biorreactor, el modelo matemático no puede predecir una altura crítica ya que la cantidad de biomasa generada produce valores matemáticamente anómalos (porcentajes de espacio vacío negativos) limitante que surge debido a que la concentración final de biomasa en función del sustrato excede la unidad.

3.2.4 PERSPECTIVAS PARA EL DESEMPEÑO INTERNO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN (FMS)

Uno de los aportes relevantes del modelo matemático es la posibilidad de definir el fenómeno que domina el desempeño del biorreactor de manera pormenorizada gracias a los volúmenes de control incorporados, los mismos que dividen al fermentador en pequeños subsistemas que mantienen el mismo diámetro, pero poseen una altura de 10 centímetros cada uno. Este conocimiento se puede utilizar para manipular las condiciones de operación que permitan favorecer el proceso de fermentación en medio sólido con *Aspergillus niger*.

Este estudio establece como factores de influencia a la humedad en el lecho empacado y su variación, producto de la transferencia hacia el flujo de aire que atraviesa el lecho; así como la temperatura dentro del biorreactor.

3.2.4.1 Humedad en el lecho empacado y en el flujo de aire circulante

En los fermentadores de lecho empacado, la variación de humedad sucede debido al cambio de fase del agua presente en el lecho. El agua es evaporada hacia la

fase gaseosa y elimina energía en forma de calor latente. La cantidad de agua evaporada depende del nivel de saturación del aire, por lo que se puede afirmar que el aire se hidrata en función de la temperatura que alcanza. Si la temperatura del aire aumenta mientras atraviesa el lecho, la capacidad para transportar agua es mayor. A su vez, el fenómeno de difusión juega un papel importante, en este caso se provoca la difusión de vapor de agua, oxígeno y dióxido de carbono que abandonan el film que rodea las partículas de sustrato hasta saturar el aire. Una vez saturado el aire, el sustrato ya no puede perder humedad y el agua que cargaba el aire recondensa hacia el lecho provocando su rehidratación. Ambos fenómenos suceden de manera simultánea en el sistema (Mitchell, et al. 2006, p. 47).

En la Figura 3.6 se puede observar la hidratación del lecho empacado producto de la saturación del aire para los experimentos A. En estos casos, al trabajar en volúmenes escala laboratorio y alcanzar concentraciones de biomasa bajas, el aumento de la temperatura debido al calor metabólico es mínimo y no representa amenaza alguna para el desarrollo del microorganismo. Adicionalmente, la rehidratación del lecho es casi imperceptible, de manera que se puede afirmar que la humedad se mantiene prácticamente constante.

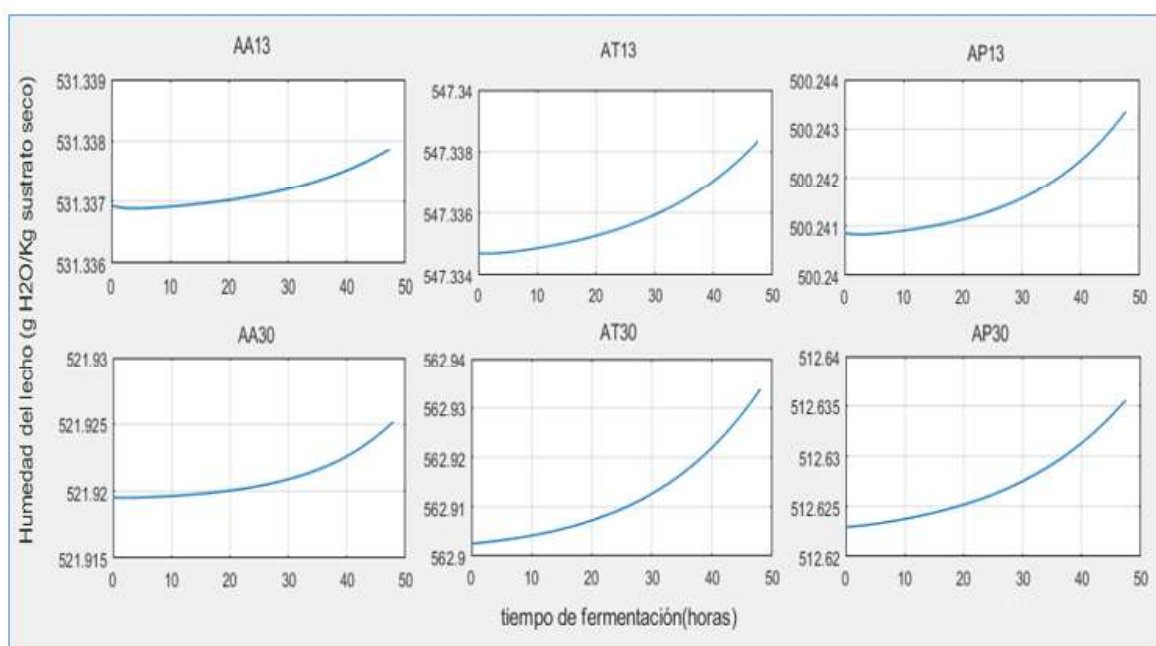


Figura 3.6. Hidratación del lecho empacado en los experimentos del caso A

Para los casos B_{CY-S}, B_{CY-NS}, B_{AY-S} y B_{AY-NS}, no es posible predecir los fenómenos de transporte de materia y energía involucrados en el proceso, debido a que la biomasa generada supera notoriamente el kilogramo de biomasa por cada kilogramo de lecho seco. En la Figura 3.7 se observa cómo se rehidrata el lecho para los casos B_{CP-S} y B_{CP-NS}. En esta ocasión las curvas tienen una pendiente más pronunciada, debido al aumento de temperatura que favorece la evaporación del agua desde la fase sólida hacia el aire. No obstante, de manera simultánea la saturación del aire se alcanza con mayor facilidad provocando la rehidratación del lecho.

En estos casos, una vez alcanzada la temperatura de saturación del aire, el agua excedente condensa generando gotas en las paredes de las columnas. La tasa de condensación es notoria a esta escala debido a que el flujo másico de aire utilizado es relativamente bajo, a diferencia de cuando se trabaja con biorreactores de mayor volumen.

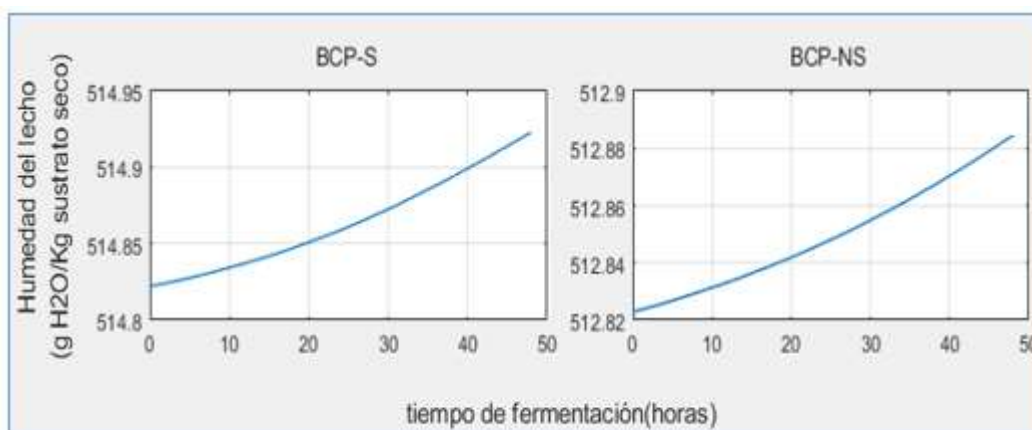


Figura 3.7. Hidratación del lecho empacado en los casos B_{CP-S} y B_{CP-NS}

3.2.4.2 Temperatura del biorreactor durante la fermentación

El aumento de la temperatura de trabajo, es consecuencia directa del calor metabólico durante el crecimiento microbiano dentro del lecho. En el biorreactor ocurre el fenómeno de transferencia de calor por conducción desde un punto del

lecho empacado hacia otro. En la mayoría de procesos para escalado de biorreactores de lecho empacado con sistemas de aireación se prioriza el fenómeno de convección y se considera al lecho como un solo cuerpo, despreciando la transferencia de calor por conducción. En el modelo matemático propuesto la implementación de volúmenes de control provee resultados de los gradientes de temperatura del fermentador en función del espacio, lo que puede ser utilizado como un criterio de diseño para el escalado (Mitchell et al., 2006, p. 47).

La transferencia de calor por convección es el principal fenómeno en este tipo de procesos y ocurre debido al flujo de aire a través del lecho. El aire húmedo transporta la energía generada fuera del sitio de producción, lo que resulta en el enfriamiento del lecho. En la Figura 3.8 se observa el perfil de temperatura en función del tiempo para los casos A. En estos experimentos, la cantidad de biomasa generada en el espacio disponible no provoca aumentos considerables de temperatura.

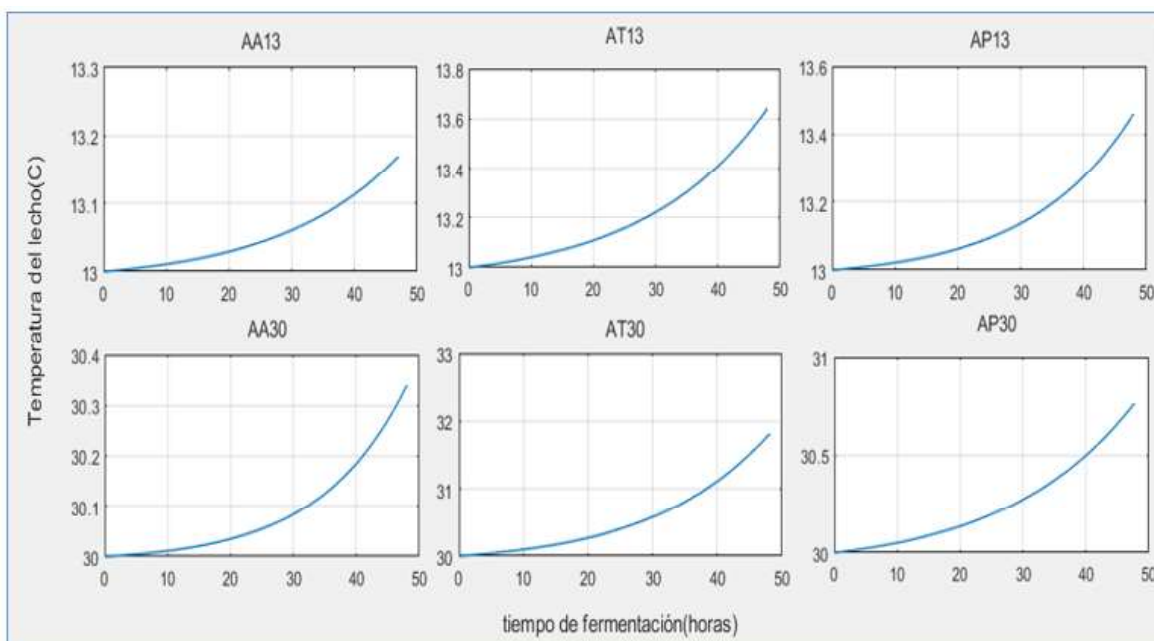


Figura 3.8. Perfil de temperatura del lecho empacado en los casos A

Contrario a lo observado para los casos A, en los resultados para el experimento B que se muestran en la Figura 3.9, la cantidad de biomasa generada produce

cantidades mayores de calor metabólico debido a la resistencia que se genera para el flujo de aire. Por ende, la temperatura en estos casos aumenta de manera considerable junto con la capacidad del aire para captar vapor de agua desde la fase sólida.

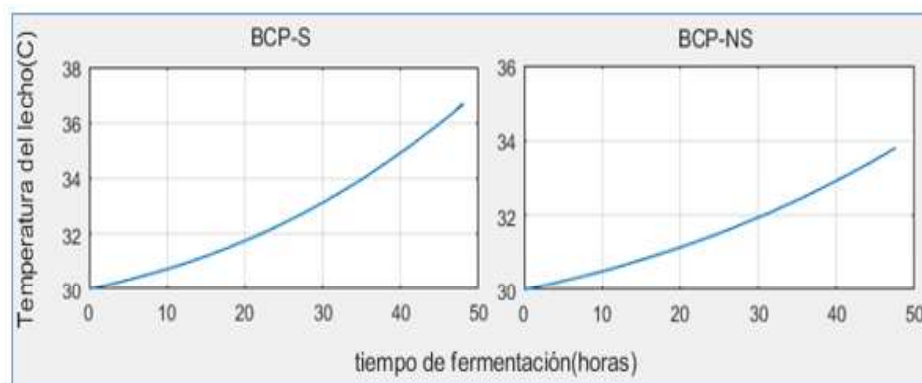


Figura 3.9. Perfil de temperatura del lecho empacado en los casos BCP-S y BCP-NS

Se puede evidenciar la estrecha relación que se tiene entre la temperatura del proceso y los fenómenos de transporte de agua en el mismo. Es por ello que mantener la humedad dentro del fermentador y proveer al entorno una temperatura adecuada son dos de los criterios fundamentales para el escalado y diseño de biorreactores de FMS.

3.3 DISEÑO DEL BIORREACTOR TIPO LECHO EMPACADO DE 200 LITROS PARA LA FMS CON *Aspergillus niger*

Se inicia el diseño del biorreactor con una relación altura-diámetro igual a la utilizada por De Oliveira Pitol et al. (2016). En este trabajo el biorreactor consiste en un cilindro horizontal con una base perforada en el fondo (70 cm x 60 cm), la misma que soporta al sustrato sólido como se muestra en la Figura 3.10. En este caso, el equipo fue utilizado para evaluar la producción de pectinasas en el metabolismo del *Aspergillus niger* a escala piloto utilizando desde 12 g hasta 30 kg de sustrato seco. Se utilizaron como sustratos bagazo de caña y salvado de trigo.

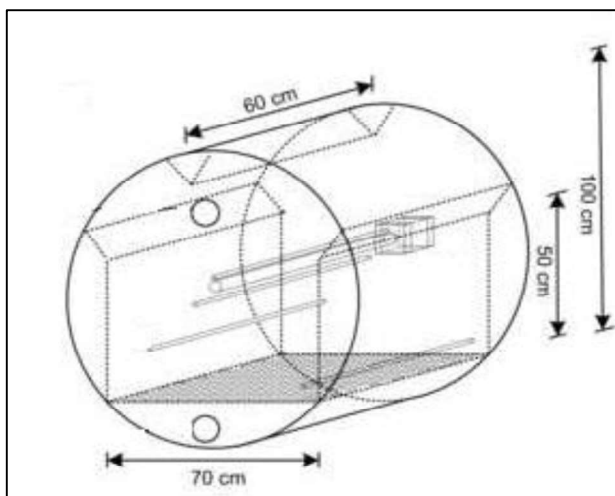


Figura 3.10. Reactor de lecho empacado a escala piloto

(De Oliveira Pitol et al., 2016)

Partiendo de dicho criterio, las dimensiones que el biorreactor tipo lecho empacado de 200 litros diseñado en el presente trabajo tendría con diferentes relaciones altura-diámetro se muestran en la Tabla 3.9. Para la mayor relación H/D se obtiene un biorreactor de 1 metro de altura que se asemeja más a una columna empacada y menos a una cámara de tratamiento.

Tabla 3.9. Dimensiones del biorreactor tipo lecho empacado según la relación altura-diámetro

Relación H/D	Diámetro (m)	Altura (m)
6/7	0,67	0,57
1	0,63	0,63
3/2	0,55	0,83
2	0,50	1,00

La fermentación en medio sólido con *Aspergillus niger* llevada a cabo en el biorreactor con mayor relación H/D, tiene potencial como un proceso secundario que permitiría la revalorización de un residuo agroindustrial y el aprovechamiento del espacio disponible en una planta de manera efectiva.

El diseño del sistema de aireación, para cada relación altura-diámetro, se presenta en la Tabla 3.10, donde se evidencia la influencia de la disminución del diámetro del biorreactor en el dimensionamiento de los aspersores de aire. En cada caso se trabajó con un diámetro de flauta de 0,05 metros y una velocidad de aire a través de cada orificio constante, de manera que el caudal es el mismo en todos los casos e igual a 0,18 m³/h. Para que se cumplan estas condiciones, el número de orificios en cada flauta y el diámetro de los mismos varían con el fin de mantener un porcentaje de mala distribución del flujo de aire inferior al 5% a lo largo de todas las flautas (Perry y Green, 1999, p. 6-32)

Tabla 3.10. Dimensiones del sistema de aireación

Relación H/D	6/7	1	3/2	2
Longitud de flauta (m)	0,67	0,63	0,55	0,50
Número de flautas	2,00	2,00	2,00	2,00
Número de orificios	4,00	5,00	6,00	6,00
Diámetro del orificio (m)	0,018	0,016	0,0145	0,0145
Mala distribución (%)	3,47	4,59	4,85	3,85

Si se considera el escenario de mayor relación H/D como la alternativa adecuada para este trabajo, el detalle del diseño del biorreactor y su correspondiente sistema de aireación se muestra en la Figura 3.11, donde se incluye el sistema de acondicionamiento del aire que constituye una torre de humidificación. Se propone acero inoxidable AISI 316 como material de construcción para la carcasa del biorreactor con 4 mirillas separadas del fondo y entre sí por 20 cm para facilitar la inspección del proceso. Además, se incorpora una compuerta herméticamente cerrada en la parte lateral para facilitar la descarga y 4 puntos de muestreo a manera de surcos junto a las mirillas.

Respecto al sistema de aireación, al igual que para la carcasa del biorreactor, se propone acero inoxidable AISI 316 como material de construcción, de manera que el aire ingrese por el medio y se distribuya a través de todas las flautas y sus correspondientes orificios.

3.3.1 DESEMPEÑO DEL DISEÑO PROPUESTO PARA EL PROCESO DE FMS CON *Aspergillus niger*

En el escenario de mayor relación H/D se evaluó el desempeño del diseño para la fermentación FMS a escala piloto con los casos de estudio que presentaron el menor error relativo respecto al modelo matemático en la validación. Se prefirió dicho criterio debido a que la RMSE compara las concentraciones de biomasa obtenidas en 8 puntos a lo largo del proceso de fermentación, intervalo durante el cual se producen reacciones específicas en función de la red metabólica del *Aspergillus niger*, las mismas que no se tomaron en cuenta para el planteamiento del modelo matemático desarrollado. En este contexto, las investigaciones que se ajustan de mejor manera al modelo matemático junto con su nomenclatura se muestran en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11. Experimentos con mejor ajuste al modelo matemático en función del error relativo obtenido con su nomenclatura

Caso de estudio	Sustrato	Error relativo (%)	Nomenclatura
B _{CP-S}	Cáscara de plátano	0,08	MA ₁
B _{AY-NS}	Afrecho de yuca	0,60	MA ₂
A _{T13}	Trigo	2,93	MA ₃

Los casos B se toman en cuenta para el diseño ya que, al trabajar a mayores escalas, el metabolismo del *Aspergillus niger* está fuertemente influenciado por la temperatura y la humedad, provocando una menor producción de biomasa en un mayor espacio disponible, a diferencia de cuando se trabaja a escala de laboratorio, donde es posible proporcionar al microorganismo las condiciones para que la tasa de crecimiento se mantenga en la máxima posible, provocando una generación desmedida de biomasa que dificulta la aplicación del modelo matemático. Los resultados de generación de biomasa viable, variación de temperatura y variación de humedad en el lecho para el caso de mayor relación H/D y con un solo sistema de aireación colocado en la parte inferior se muestran en las gráficas tridimensionales de la Figura 3.12.

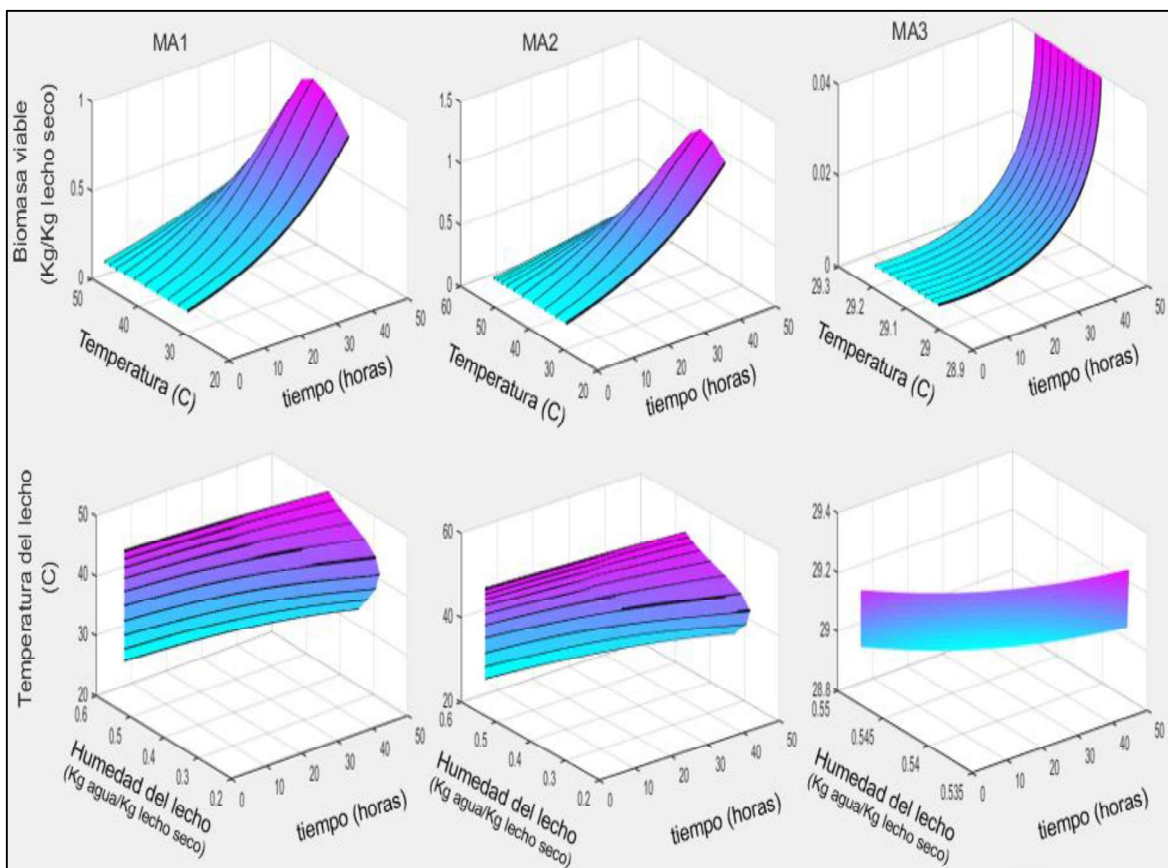


Figura 3.12. Concentración máxima de biomasa viable, variación de temperatura y variación de humedad en cada lecho teórico manteniendo una relación $H/D=2$

Se puede observar que para los casos MA_1 y MA_2 , la cantidad de biomasa máxima obtenida es superior con respecto a MA_3 , dicha generación de biomasa produce mayores cantidades de calor metabólico. Simultáneamente el espacio vacío dentro del fermentador disminuye en mayor proporción, lo que impide al aire enfriar el lecho de manera adecuada elevándose la temperatura a valores críticos. La transferencia de calor es evaluada en intervalos de tiempo y espacio, las divisiones con líneas negras de las gráficas representan cada lecho del biorreactor contados en forma ascendente desde la parte inferior. Se diferencian los lechos en el sistema ya que no todos se encuentran a la misma temperatura ni con una misma humedad. Para el caso MA_3 , la generación de biomasa es tan pequeña que el aumento de temperatura es aproximadamente de 0.4°C , por ende, su humedad permanece prácticamente constante por lo que se puede trabajar sin dificultades en el biorreactor de mayor relación H/D . Por el contrario, en los casos MA_1 y MA_2 la temperatura en los lechos superiores es cercana incluso a los 50°C , dichas

condiciones dificultarían la aparición de nuevas células viables y por ende cualquier posibilidad de obtener extractos enzimáticos de interés industrial. Mientras que, en los lechos intermedios se tiene una mayor cantidad de biomasa viable cuando la temperatura es cercana a los 35°C. En el caso MA₁, entre los 30 y 40 cm del biorreactor se alcanzan los 35°C, por lo que, a esta altura, la cantidad de biomasa generada es mayor que en las demás zonas del equipo. Por consiguiente, la cantidad de agua requerida para el metabolismo aumenta y la humedad disminuye en mayor proporción. Algo similar sucede en el caso MA₂, donde la temperatura óptima es alcanzada entre los 20 y 30 cm.

3.3.2 NÚMERO DE LECHOS TEÓRICOS

De acuerdo con Szewczyk & Myszka (1994), un rango de temperatura desde 28 hasta 34 °C no afecta significativamente el crecimiento del *Aspergillus niger*, mientras que la temperatura óptima para su crecimiento es siempre cercana a los 35 °C (p. 126). Así, la temperatura crítica del microorganismo se puede asumir generalmente como 5 °C mayor a la óptima (Mitchell et al., 1999, p. 170). En este contexto, y producto de los resultados de disminución de biomasa viable obtenidos en el modelo matemático, la temperatura crítica del proceso se estableció en 38 °C con un tiempo de fermentación de 48 horas y se analizó el número de lechos a partir de los cuales se produce una disminución en la biomasa viable como resultado de una temperatura de operación cercana a la de muerte térmica, para la posible implementación de sistemas de aireación adicionales. El número de lechos teóricos para cada caso de ajuste se presenta en la Tabla 3.12.

Tabla 3.12. Número de lechos teóricos a partir de los cuales se alcanza la temperatura crítica del proceso en función de la relación H/D

Caso	Relación (H/D)			
	6/7	1	3/2	2
MA ₁	4	4	4	4
MA ₂	3	3	2	1
MA ₃	-	-	-	-

En el caso MA₁, a partir del cuarto lecho teórico se alcanzan los 38 °C, es decir, el microorganismo se desarrolla de manera óptima en los primeros 30 cm de altura del biorreactor sin necesidad de incorporar un nuevo sistema de aireación. La cantidad de lechos teóricos no varía con la relación H/D ya que en todos los casos la temperatura crítica es alcanzada en el mismo lecho. Por ello, a estas condiciones de producción de biomasa, una reducción en la relación H/D que implica la reducción del volumen de control, el aumento de la altura del biorreactor (para mantener volumen total de 200 L) y la disminución del espacio vacío, no genera problemas para el flujo del aire hasta el tercer lecho.

Por otra parte, el caso MA₂ trabaja adecuadamente hasta el segundo lecho teórico, es decir, hasta los 20 centímetros de altura cuando la relación H/D es 6/7 y 1. Por otro lado, si se aumenta la relación H/D a valores de 3/2 y 2, la temperatura de muerte se alcanza en los 10 primeros centímetros de altura del biorreactor.

En contraste, para el caso MA₃, los resultados muestran que el biorreactor trabaja de manera adecuada incluso para una relación H/D de 2, esto debido a que la cantidad de biomasa generada es aproximadamente el 5% de la cantidad generada en los casos MA₁ y MA₂ como se muestra en la Tabla 3.13, lo que implica una menor generación de calor metabólico, una menor reducción en el espacio vacío dentro del lecho y por ende una menor resistencia al flujo de aire que, en este caso, es suficiente para mantener el enfriamiento aún si la relación H/D es la más alta.

Tabla 3.13. Concentración máxima de biomasa en kg de biomasa / kg de lecho seco alcanzada durante las 48 horas de trabajo en función de H/D

	Relación (H/D)			
Ajuste	6/7	1	3/2	2
MA₁	0,869	0,871	0,871	0,872
MA₂	1,01	1,01	1,01	1,01
MA₃	0,036	0,036	0,036	0,037

Con base en los resultados de biomasa máxima y número de lechos teóricos, se puede determinar la cantidad de sistemas de aireación que se requiere para cada

caso. La cantidad de sistemas de aireación adicionales requeridos para procesos de fermentación de 48 horas se muestra en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14. Número de aspersores adicionales requeridos en función de la relación H/D

Ajuste	Relación (H/D)			
	6/7	1	3/2	2
MA ₁	1	1	2	3
MA ₂	2	2	3	4
MA ₃	0	0	0	0

Se observa que en los casos MA₁ y MA₂, mientras se reduce la altura del equipo, más sistemas de aireación son requeridos. Especialmente en el caso MA₂, donde para operar bajo la temperatura de muerte térmica se deberían implementar 4 sistemas de aireación adicionales al que se encuentra en la parte inferior. En este caso se preferiría utilizar un biorreactor con mayor diámetro, con una relación H/D igual a 1,5 que con un aumento de 5,4 cm en el diámetro requiere solamente 3 aspersores adicionales. No obstante, cuando se analiza el caso MA₃, se evidencia que para la cantidad de biomasa que se produce, no existe la necesidad de agregar sistemas de aireación adicionales, es decir, se puede compactar el lecho sin problema alguno.

La implementación de sistemas de aireación adicionales es una alternativa que prevendría problemas de compactación excesiva, pérdida de humedad y calentamiento del lecho, mismos que se presentan en el equipo diseñado por De Oliveira Pitol et al. (2016), cuando se utilizan 30 kg de sustrato seco (salvado de trigo y bagazo de caña) que forman un lecho de 40 cm de altura. En el caso más crítico de esta experimentación, se alcanza una temperatura de 43°C y se produce la muerte térmica del microorganismo luego de 16 horas de fermentación a los 33 cm de lecho.

En la Tabla 3.15, se muestra la carga de sustrato en el biorreactor de tipo lecho empacado de 200 litros, para los casos de mejor ajuste al modelo matemático en función de la densidad aparente inicial. La cantidad de material a tratar (carga) se

consideró como un criterio complementario al volumen para definir la escala de trabajo.

Tabla 3.15. Carga de sustrato en base seca y húmeda

Ajuste	Densidad Aparente ($\frac{kg}{m^3}$)	Carga húmeda (kg)	Carga seca (kg)
MA ₁	406,95	81,39	39,51
MA ₂	325,56	65,11	30,67
MA ₃	352,69	70,54	31,93

Los valores de carga obtenidos son superiores a los 30 kg utilizados en el trabajo realizado por de Oliveira Pitol et al., (2016), donde dicha cantidad se considera escala piloto. Por otro lado si se toma como referencia la investigación realizada por Singh Nee Nigam & Pandey, (2009) en donde la escala piloto trabaja con cargas desde 50 hasta 5000 kg, tanto la carga seca como la carga húmeda utilizadas presentan valores cercanos al rango especificado.

Para comparar el desempeño global de cada caso analizado bajo las condiciones propuestas, se calculó el t_{90} , mostrado en la Tabla 3.16. Este parámetro constituye el tiempo en el que el 90% de la biomasa final es producida.

Tabla 3.16. t_{90} en horas para los casos de mejor ajuste en función de H/D

Ajuste	Relación (H/D)			
	6/7	1	3/2	2
MA ₁	44,31	44,3	44,25	44,4
MA ₂	43,09	43,05	43,05	43,06
MA ₃	45,31	45,24	45,14	45,31

Para el caso MA₂, los valores de t_{90} son ligeramente menores que en los otros dos casos de estudio, debido a que se alcanzan temperaturas elevadas en una menor cantidad de tiempo. El incremento de la temperatura del medio en el intervalo desde los 28°C hasta los 34°C favorece la tasa de crecimiento del microorganismo, lo que

produce una mayor generación de biomasa (Szewczyk & Myszka, 1994, p. 170). No obstante, en este caso, el aumento de temperatura producido en tiempos menores que en los casos MA₁ y MA₃ trae consigo dificultades en el aumento de la relación H/D del biorreactor y genera la necesidad de añadir sistemas de aireación a menores alturas.

El t_{90} reportado para los tres casos de estudio es similar, pues se cumple una cinética de crecimiento de primer orden, la misma que depende únicamente de la tasa máxima de crecimiento y no contempla un valor final estacionario de concentración de biomasa. De acuerdo a esta cinética de crecimiento, una mayor cantidad de biomasa se produce mientras más transcurre el tiempo. Por lo tanto, mientras mayor sea el intervalo de tiempo analizado, mayor será la concentración final de biomasa y ambas resultarán directamente proporcionales al t_{90} . Esto difiere cuando se permite al microorganismo alcanzar la fase estacionaria de la curva de crecimiento, en ese caso el t_{90} constituye un indicador de la eficiencia del proceso de FMS ya que un menor valor de t_{90} indicaría que el sistema alcanza la concentración máxima de biomasa en menos tiempo que otro con un t_{90} superior.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- El modelo matemático desarrollado es una herramienta que permite describir de manera dinámica, los fenómenos de transporte de materia y energía involucrados en el proceso de FMS en función del tiempo y espacio.
- El número máximo de lechos teóricos constituye un criterio efectivo para el diseño de un biorreactor de 200 L y de su sistema de aireación.
- La simulación del proceso de FMS demostró que, al compactar el biorreactor, la cantidad de sistemas de aireación requeridos aumenta, es decir se dificulta el flujo de aire y por ende el enfriamiento del lecho.
- La temperatura del biorreactor es mayor en los lechos superiores ya que, producto de la transferencia de calor generada del metabolismo microbiano, el aire aumenta su temperatura conforme avanza por el equipo.
- La humedad en el lecho sólido disminuye en mayor proporción debido a los requerimientos de agua del *Aspergillus niger* para su metabolismo, a su vez parte del agua del lecho se transfiere al aire mediante difusión.
- A lo largo del proceso de FMS, cuando se alcanza la máxima hidratación del aire en el punto de saturación, el agua regresa al lecho aumentando su humedad.

4.2 RECOMENDACIONES

- Utilizar el modelo matemático planteado como punto de partida para procesos en los que se generen metabolitos específicos y de esta manera simular actividades enzimáticas y generación de proteína.
- Evaluar la posible implementación de sistemas de refrigeración adicionales al flujo de aire, y su planteamiento adecuado en el balance de energía propuesto.

- Evaluar la posible implementación de distintos sistemas de aireación y su influencia en la transferencia de calor axial en el lecho.
- Utilizar el presente trabajo como base para la experimentación del proceso de FMS a escala piloto y evaluar su posible uso en escala industrial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ali, M. Z. (2005). Reproduction of Fungi. *Reproduction of Fungi*, (June 2013), 1–10. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1063.5363>
2. Arguero Tayupanta, A. (2014). Estudio de la producción de enzima amilasa mediante *Aspergillus niger* por fermentación sólida, con el uso de residuos agroindustriales, 1–126.
3. Bandelier, S., Renaud, R., & Durand, A. (1997). Production of gibberellic acid by fed-batch solid state fermentation in an aseptic pilot-scale reactor. *Process Biochemistry*, 32(2), 141–145. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(96\)00063-5](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(96)00063-5)
4. Bussines Communication Company. (2018). *Global Markets for Enzymes in Industrial Applications*. BCC Research
5. Bhargav, S., Panda, B., Ali, M., & Javed, S. (2005). Solid-state fermentation systems - An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1–2), 1–30. <https://doi.org/10.1080/07388550590925383>
6. Buelvas Salgado, G. A. (2013). Desarrollo y validación de modelos matemáticos predictivos del crecimiento microbiano para estimación de la vida útil en jamón lonchado empacado al vacío, 121. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/11821/>
7. Chen, H. (2013). *Modern Solid State Fermentation*. *Modern Solid State Fermentation*. Beijing: Springer
8. Chen H, Xu J. Principle and application of modern solid-state fermentation. Beijing: Chemical Industry Press; 2004.
9. Chirife, J., Iglesias, H. (1978). Equations for fitting water sorption isotherms of foods: Part 1-a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 13(3), 159–174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb00792.x>
10. Córdova, J., Gutiérrez, M., Huerta, S., Saucedo, G., & Favela, E. (1996). Biomass estimation of *Aspergillus niger* growing on real and model supports in solid state fermentation. *Biotechnology Techniques*, 10(1), 1–6.

<https://doi.org/10.1007/bf00161075>

11. Couto, S. R., & Sanromán, M. Á. (2006). Application of solid-state fermentation to food industry-A review. *Journal of Food Engineering*, 76(3), 291–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022>
12. De Oliveira Pitol, L., Biz, A., Finkler, A. T. J., Medina, B. S., Krieger, N., & Mitchell, D. A. (2016). Production of pectinases by solid-state fermentation of a mixture of citrus waste and sugarcane bagasse in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 111, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.03.007>
13. Duarte, A. (1996). Evaluación de los parámetros cinéticos de la ecuación de Monod. *Ingeniería e Investigación*, 16, 123–137.
14. Durand, A. (2003). Biorreactor desings for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(801), 113–115.
15. Farinas, C. S. (2015). Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.092>
16. Favela, E., Cordova, J., García, M., & Gutiérrez, M. (1998). Kinetics of growth of *Aspergillus niger* during submerged, agar surface and solid state fermentations. *Process Biochemistry*, 33(2), 103–107. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(97\)00032-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(97)00032-0)
17. Felder, R.M. y Rousseau, R.W. (2004). *Principios Elementales de los Procesos Químicos* (3ra. ed.). México: Prentice Hall
18. Glenn, D.R. y Rogers, P.L. (1988). A solid substrate fermentation process for an animal feed product: *Studies on fungal strain improvement*. Australian Journal of Biotechnology 2:50-57.
19. Gutiérrez, M., Hosn, S. A. A., Auria, R., Revah, S., & Favela, E. (1996). Heat transfer in citric acid production by solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 31(4), 363–369. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)00071-2](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)00071-2)

20. Herrera, T.(2018).Estudio de las Condiciones de Fermentación en Estado Sólido del Hongo *Aspergillus Niger* para la Obtención de Enzima Amilasa a partir de Residuos Agroindustriales de Yuca y Plátano Verde.
21. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (2012). Fichas de agentes biológicos: *Aspergillus spp.* Databio, 5.
22. Kim, D. J., Choi, J. W., Choi, N. C., Mahendran, B., & Lee, C. E. (2005). Modeling of growth kinetics for *Pseudomonas spp.* during benzene degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(4), 456–462. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1997-z>
23. Koutinas, M., Kiparissides, A., Pistikopoulos, E. N., & Mantalaris, A. (2012). Bioprocess Systems Engineering: Transferring Traditional Process Engineering Principles To Industrial Biotechnology. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 3(4), e201210022. <https://doi.org/10.5936/csbj.201210022>
24. Leon, G., Cujilema, M., Barloyo, L., Rosero, E., Córdova, J., & Beltrán, L. (2018). Determinación de la temperatura óptima para la producción de celulasas con *aspergillus niger* en fermentación sólida, 45, 1–13.
25. Lizardi-Jiménez, M. A., & Hernández-Martínez, R. (2017). Solid state fermentation (SSF): diversity of applications to valorize waste and biomass. 3 *Biotech*, 7(1). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0692-y>
26. Lu, M., Brooks, J. D., & Maddox, I. S. (1997). Citric acid production by solid-state fermentation in a packed-bed reactor using *Aspergillus niger*. *Enzyme and Microbial Technology*, 21(6), 392–397. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00048-3)
27. Marques, B. C., Barga, M. C., Balmant, W., Fernando, L., Luz, D. L., Krieger, N., & Mitchell, D. A. (2006). A Model of the Effect of the Microbial Biomass on the Isotherm of the Fermenting Solids in Solid-State Fermentation, 44(4), 457–463.
28. Mitchell, D. A., Cunha, L. E. N., Machado, A. V. L., de Lima Luz, L. F., & Krieger, N. (2010). A model-based investigation of the potential advantages of multi-

- layer packed beds in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 48(2), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.10.008>
29. Mitchell, D. A., Krieger, N., & Berovic, M. (2006). *Solid-State Fermentation Bioreactors*. Berlin:Springer
30. Mitchell, D. A., Pandey, A., Sangsurasak, P., & Krieger, N. (1999). Scale-up strategies for packed-bed bioreactors for solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 35(1–2), 167–178. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00048-5](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00048-5)
31. Mitchell, D. A., Von Meien, O. F., & Krieger, N. (2003). Recent developments in modeling of solid-state fermentation: Heat and mass transfer in bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2–3), 137–147. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00126-2)
32. Ong, L. G. A., Abd-Aziz, S., Noraini, S., Karim, M. I. A., & Hassan, M. A. (2004). Enzyme Production and Profile by *Aspergillus niger* during Solid Substrate Fermentation Using Palm Kernel Cake as Substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118(1–3), 073–080. <https://doi.org/10.1385/abab:118:1-3:073>
33. Oriol, E., Raimbault, M., Roussos, S., & Viniestra-Gonzales, G. (1988). Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 27(5–6), 498–503. <https://doi.org/10.1007/BF00451620>
34. Pagarra, H. (2016). A Simplified Model of *Aspergillus niger* Growth using *Nephrolepis biserrata* leaves for Exo-polygalacturonase Production, (October), 363–370. Retrieved from <http://ojs.unm.ac.id/icmstea/article/view/2702>
35. Pandey, A. (1992). Recent Process Developments Fermentation in Solid-State. *Process Biochemistry*, 27.
36. Pastrana, L. (1996). Fundamentos De La Fermentación En Estado Sólido Y Aplicación a La Industria Alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1(3), 4–12. <https://doi.org/10.1080/11358129609487556>
37. Perry, R. y Green, D. (1999) Perry's Chemical Engineers Handbook. (7ma

- ed.). Estados Unidos: Mc Graw Hill.
38. Raghavarao, K. S. M. S., Ranganathan, T. V., & Karanth, N. G. (2003). Some engineering aspects of solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2–3), 127–135. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00125-0](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00125-0)
 39. Raimbault, M., & Alazar, D. (1980). Applied Microbiology and Biotechnology, 209, 199–209.
 40. Richard, A., Jean, B., & Serglo, R. (1995). A mathematical model for solid state fermentation of mycelial fungi on inert support, 60, 189–198. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0923046795030131>
 41. Rodríguez, L., & López, M. A. (2016). Aplicación de Técnicas de Validación de un Modelo de Simulación de Dinámica de Sistemas Caso de Estudio, 4(4), 187–196.
 42. Rosales, E., Pazos, M., & Ángeles Sanromán, M. (2017). *Solid-State Fermentation for Food Applications. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63990-5.00015-3>
 43. Roussos, S., Raimbault, M., Prebois, J., & Lonsane, B. (1993). Zymotis , A Large Scale Solid State Fermenter. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 9.
 44. Ruíz, H. R., Rodríguez, M., Rodríguez-Herrera. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol.6, 33–40. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/620/62060105.pdf>
 45. Sargantanis, J., Karim, M. N., Murphy, V. G., Ryoo, D., & Tengerdy, R. P. (1993). Effect of operating conditions on solid substrate fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 42(2), 149–158. <https://doi.org/10.1002/bit.260420202>
 46. Saucedo, G., Bacquet, G., & Raimbault, M. (1990). Heat Transfer Simulation in Solid Substrate Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18592581>
 47. Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. y Dijck, P. van. (2003). On the safety of *Aspergillus niger* - a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4–5), 426–435. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>

48. Scriban, R. (1985). *Biotecnología*. (2da. ed.). México: El Manual Moderno
49. Singh Nee Nigam, P., & Pandey, A. (2009). Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues*, 1–466. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7>
50. Spier, M. R., Junior Letti, L. A., Woiciechowski, A. L., & Soccol, C. R. (2009). A simplified model for A. Niger FS3 growth during phytase formation in solid state fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(SPL.ISS.), 151–158. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000700020>
51. Spier, M., Souza, L. P., Pedroni, A. B., & Soccol, C. R. (2011). *Application of Different Types of Bioreactors in Bioprocesses*. Nova Science Publishers, Inc. (Vol. 2).
52. Szewczyk, K. W., & Myszka, L. (1994). The effect of temperature on the growth of A. niger in solid state fermentation. *Bioprocess Engineering*, 10(3), 123–126. <https://doi.org/10.1007/BF00369467>
53. Viccini, G., Boit, S. D., Gern, J. C., Da Rosa, A. S., Von Meien, O. F., Krieger, N., Costa, R. (2010). ChemInform Abstract: Analysis of Growth Kinetic Profiles in Solid-State Fermentation. *ChemInform*, 33(25), no-no. <https://doi.org/10.1002/chin.200225269>
54. Von Meien, O. F., & Mitchell, D. A. (2002). A two-phase model for water and heat transfer within an intermittently-mixed solid-state fermentation bioreactor with forced aeration. *Biotechnology and Bioengineering*, 79(4), 416–428. <https://doi.org/10.1002/bit.10268>
55. Vrsalović, A., Findrik, Z., & Zeliæ, B. (2006). Modeling of the Biotransformation Processes, (June 2014).
56. Wang, E. Q., Li, S. Z., Tao, L., Geng, X., & Li, T. C. (2010). Modeling of rotating drum bioreactor for anaerobic solid-state fermentation. *Applied Energy*, 87(9), 2839–2845. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.05.032>
57. Wang, P. (2007). Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable

Resources. *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*, 325–350. <https://doi.org/10.1016/B978-044452114-9/50013-X>

ANEXOS

ANEXO I

CÓDIGO IMPLEMENTADO EN LA PLATAFORMA MatLab
VERSIÓN R2017b

```

clc
clear
close
i=1800000;
j=1;
t=zeros(1,i);
Xt=zeros(j,i);
U=zeros(j,i);
Xv=zeros(j,i);
kd=zeros(j,i);
M=zeros(j,i);
w=zeros(j,i);
wsat=zeros(j,i);
kw=zeros(j,i);
Hg=zeros(j,i);
Ts=zeros(j,i);
h=zeros(j,i);
Tg=zeros(j,i);
Awg=zeros(j,i);
%Parámetros del reactor
ra=0.25; %m (radio del fermentador)
A=(pi()*(ra^2));%m2 (área normal al flujo de aire)
ht=0.1; %m (altura del volumen de control)
V=(A*ht);%m3 (volumen de un plato h=10cm)
%Parámetros del Aspergillus Niger
Ad=(8.0164*(10^100))/3600; %s^-1(factor de frec de muerte)
Ead=621729.234; %J/mol (Ea para muerte)
%Parámetros transferencia de calor
Cpm=2500; %J/KgC (Cp de lecho seco)
Cpw=4187;%J/KgC (Cp del agua)
Cpa=1000; %J/KgC (Cp del aire)
Cpv=1791; %J/KgC (Cp del vapor)
L=2414300;%J/Kgagua (calor latente)
%Parámetros del flujo de aire
Vel=0.05;%m/s
Qa=Vel*A;%m3/s
dair=1.14;%Kgair seco/m3 (densidad aire seco)
R=8.314; %J/molC (cte de los gases ideales)
G=(Vel)*dair;%Kgair seco /m2 s (Flujo aire)
%Número de euler
eu=2.71828;
%Temperaturas y humedades
Tg(1,1)=29;
Ts(1,1)=Tg(1,1);
Hg(1,1)=(0.004*(eu^(0.063*Tg(1,1))));
w(1,1)=0.515;
%Ecuación de Henderson

```

```

ab=4.988;
ac=0.7202;
P=101325;
%Aw en función de w
Aw(1,1)=1-(eu^(-(ab)*((w(1,1))^ac)));
%Awg Humedad relativa aire
Awg(1,1)=(1/(133.322*(eu^(18.3036-(3816.44/((Tg(1,1)+273)-
46.13))))))*P/(1+(0.62413/Hg(1,1))));
if Awg(1,1)>0.99999999
    Awg(1,1)=0.99999999;
end
%Humedad del lecho
wsat(1,1)=(((log(1-Awg(1,1)))/(-4.988))^(1/0.7202));
wcomp(1,1)=(((log(1-Aw(1,1)))/(-4.988))^(1/0.7202));
%Coeficientes de transferencia
wq=1;
h(1,1)=wq*(44209.85*(((G)*(Tg(1,1)+273))/(0.0075*P))^0.6011));
Dab=0.0000026;
hp=0.0001;
kw(1,1)=(Dab*hp/V);
daire=1.14;
%Todo lo referente a microorganismos
X(1,1)=0.14486;
Xv(1,1)=X(1,1);
Umax=0.323/3600;
Xm=0.8;
Yw=0.3;
Yq=(8.366*(10^6));
Ad=((8.0164)*(10^100))/3600; %s^-1(factor de frec de muerte)
Ead=621729.234; %J/mol (Ea para muerte)
Ut(1,1)=((8.3148*(10^11))*(eu^(-70225/(R*(Ts(1,1)+273)))))/(1+((1.3*(10^47))*(eu^(-
283356/(R*(Ts(1,1)+273))))));
Uw(1,1)=1.011325*(eu^((618.9218*(Aw(1,1)^3)-(1863.527*(Aw(1,1)^2)+(1865.097*(Aw(1,1)))-
620.6684)));
U(1,1)=Umax*((Ut(1,1)*Uw(1,1))^0.5);
kd(1,1)=Ad*(eu^(-Ead/(R*(Ts(1,1)+273))));
%Densidades reales y aparentes
M(1,1)=490;
dm=1800;
dx=1050;
%Espacio vacío
e(1,1)=1-((M(1,1)/dm)+(X(1,1)/dx));
%PARA EL PRIMER VOLUMEN DE CONTROL
t(1,1)=0;
deltat=0.1;
wsale(1)=w(1,1)-w(1,1);
wsal(1)=wsale(1);
wf(1)=w(1)-(Hg(1)*(daire/M(1)));
for k=1:i
    for j=1

        %EDOS
        X(j,k+1)=X(j,k)+deltat*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm))));
        Xv(j,k+1)=Xv(j,k)+deltat*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm)))-(kd(j,k)*X(j,k)));
        if Xv(j,k+1)<0
            Xv(j,k+1)=Xv(j,k);
        end
    end
end

```

```

w(j,k+1)=w(j,k)+deltat*((-yw*(((U(j,k)*x(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm))))-(kd(j,k)*x(j,k))))-
(kw(j,k)*(-wsat(j,k)+w(j,k))));
if w(j,k+1)>w(j,1);
    w(j,k+1)=w(j,k);
end
M(j,k+1)=M(j,k)+deltat*(M(j,k)*((U(j,k)*x(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm))));
Hg(j,k+1)=Hg(j,k)+deltat*(((G*A)/(v*e(j,k)*dai re))* (Hg(1,1)-
Hg(j,k)))+(((M(j,k)*kw(j,k)*(-wsat(j,k)+w(j,k)))/(e(j,k)*dai re))));
Ts(j,k+1)=Ts(j,k)+deltat*(((Yq*M(j,k)*v*(((U(j,k)*x(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm)))))-
(h(j,k)*(Ts(j,k)-Tg(j,k)))-((M(j,k)*L*kw(j,k)*(-
wsat(j,k)+w(j,k)))/((M(j,k)*(Cpm+(Cpw*(w(j,k))))))));
Tg(j,k+1)=Tg(j,k)+deltat*(((G*A*Cpa*(Tg(1,1)-Tg(j,k)))+(G*A*Cpv*((Hg(1,1)*Tg(1,1))-
(Hg(j,k)*Tg(j,k)))+(v*h(j,k)*(Ts(j,k)-Tg(j,k)))+(M(j,k)*L*kw(j,k)*v*(-
wsat(j,k)+w(j,k)))/(v*e(j,k)*dai re*(Cpa+(Cpv*Hg(j,k))))));
%ECUACIONES ALGEBRAICAS
Aw(j,k+1)=1-(eu^(-(ab)*((w(j,k+1))^ac)));
Ut(j,k+1)=((8.3148*(10^11))* (eu^(-70225/(R*(Ts(j,k+1)+273)))))/(1+((1.3*(10^47))* (eu^(-
283356/(R*(Ts(j,k+1)+273))))));
Uw(j,k+1)=1.011325*(eu^((618.9218*(Aw(j,k+1)^3))-
(1863.527*(Aw(j,k+1)^2)))+(1865.097*(Aw(j,k+1)))-620.6684));
U(j,k+1)=Umax*((Ut(j,k+1)*Uw(j,k+1))^0.5);
kd(j,k+1)=Ad*(eu^(-Ead/(R*(Ts(j,k+1)+273))));
Awg(j,k+1)=(1/(133.322*(eu^(18.3036-(3816.44/((Tg(j,k+1)+273)-
46.13))))))* (P/(1+(0.62413/Hg(j,k+1))));

if Awg(j,k+1)>0.99999999
    Awg(j,k+1)=Awg(j,k);
    wsat(j,k+1)=wsat(j,k);
    Hg(j,k+1)=Hg(j,k);
end

wsat(j,k+1)=(((log(1-Awg(j,k+1)))/(-4.988))^1/0.7202));
h(j,k+1)=wq*(44209.85*(((G)*(Tg(j,k+1)+273))/(0.0075*P))^0.6011));
kw(j,k+1)=kw(j,k);
e(j,k+1)=1-((M(j,k+1)/dm)+(X(j,k+1)/dx));
wf(j,k+1)=w(1,1)-(Hg(j,k+1)*(dai re/M(j,k+1)));
end
t(k+1)=t(k)+deltat;
end

```

```
%PARA CADA VOLUMEN DE CONTROL
```

```
for k=1:i
    for j=2
```

```
%Temperaturas y humedades
```

```
Tgn(j,1)=31.976;
Ts(j,1)=(Tgn(j,1)+Tg(j-1,1))/2;
Tg(j,1)=Ts(j,1);
Hg(j,1)=(0.004*(eu^(0.063*Tg(j,1))));
w(j,1)=w(1,1);
Aw(j,1)=1-(eu^(-(ab)*((w(j,1))^ac)));
Awg(j,1)=(1/(133.322*(eu^(18.3036-(3816.44/((Tg(j,1)+273)-
46.13))))))* (P/(1+(0.62413/Hg(j,1))));
```

```
if Awg(j,1)>0.99999999
    Awg(j,1)=0.99999999;
```

```
end
```



```

wsat(j,1)=(((log(1-Awg(j,1)))/(-4.988))^(1/0.7202));
wcomp(j,1)=(((log(1-Aw(j,1)))/(-4.988))^(1/0.7202));

h(j,1)=wq*(44209.85*(((G)*(Tg(j,1)+273))/(0.0075*P))^0.6011));
hcomp(j,1)=h(j,1)*3600;
kw(j,1)=kw(1,1); %1/s

X(j,1)=X(1,1);
Xv(j,1)=X(j,1);

Ut(j,1)=((8.3148*(10^11))*(eu^(-70225/(R*(Ts(j,1)+273)))))/(1+((1.3*(10^47))*(eu^(-
283356/(R*(Ts(j,1)+273))))));
Uw(j,1)=1.011325*(eu^((618.9218*(Aw(j,1)^3))-(1863.527*(Aw(j,1)^2)+(1865.097*(Aw(j,1)))-
620.6684));
U(j,1)=Umax*(Ut(j,1)*Uw(j,1)^0.5);
kd(j,1)=Ad*(eu^(-Ead/(R*(Ts(j,1)+273)))));
M(j,1)=490;
%Espacio vacío
e(j,1)=1-((M(j,1)/dm)+(X(j,1)/dx));
wf(j,1)=w(j,1)-(Hg(j,1)*(daire/M(j,1)));
X(j,k+1)=X(j,k)+de1tat*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm))));
Xv(j,k+1)=Xv(j,k)+de1tat*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm)))-(kd(j,k)*X(j,k)));
if Xv(j,k+1)<0
    Xv(j,k+1)=Xv(j,k);

end
w(j,k+1)=w(j,k)+de1tat*((-yw*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm)))-(kd(j,k)*X(j,k))))-
(kw(j,k)*(-wsat(j,k)+w(j,k))));
if w(j,k+1)>w(j,1);
    w(j,k+1)=w(j,k);
end
M(j,k+1)=M(j,k)+de1tat*(M(j,k)*((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm))));
Hg(j,k+1)=Hg(j,k)+de1tat*(((G*A)/(V*e(j,k)*daire))*(Hg(j,1)-
Hg(j,k)))+((M(j,k)*kw(j,k)*(-wsat(j,k)+w(j,k)))/(e(j,k)*daire));
Ts(j,k+1)=Ts(j,k)+de1tat*(((Yq*M(j,k)*V*(((U(j,k)*X(j,k))*(1-(X(j,k)/Xm)))))-
(h(j,k)*(Ts(j,k)-Tg(j,k)))-(M(j,k)*L*kw(j,k)*(-
wsat(j,k)+w(j,k)))/((Cpm+(Cpw*(w(j,k))))));
Tg(j,k+1)=Tg(j,k)+de1tat*(((G*A*Cpa*(Tg(j,1)-Tg(j,k)))+(G*A*Cpv*((Hg(j,1)*Tg(1,1))-
(Hg(j,k)*Tg(j,k)))+(V*h(j,k)*(Ts(j,k)-Tg(j,k)))+(M(j,k)*L*kw(j,k)*V*(-
wsat(j,k)+w(j,k)))/((V*e(j,k)*daire*(Cpa+(Cpv*Hg(j,k))))));

%ECUACIONES ALGEBRAICAS
Aw(j,k+1)=1-(eu^(-(ab)*((w(j,k+1))^ac)));
Ut(j,k+1)=((8.3148*(10^11))*(eu^(-70225/(R*(Ts(j,k+1)+273)))))/(1+((1.3*(10^47))*(eu^(-
283356/(R*(Ts(j,k+1)+273))))));
Uw(j,k+1)=1.011325*(eu^((618.9218*(Aw(j,k+1)^3))-
(1863.527*(Aw(j,k+1)^2)+(1865.097*(Aw(j,k+1)))-620.6684));
U(j,k+1)=Umax*(Ut(j,k+1)*Uw(j,k+1)^0.5);
kd(j,k+1)=Ad*(eu^(-Ead/(R*(Ts(j,k+1)+273)))));
Awg(j,k+1)=(1/(133.322*(eu^(18.3036-(3816.44/((Tg(j,k+1)+273)-
46.13))))))*P/(1+(0.62413/Hg(j,k+1)));

if Awg(j,k+1)>0.99999999
    Awg(j,k+1)=Awg(j,k);
    wsat(j,k+1)=wsat(j,k);
    Hg(j,k+1)=Hg(j,k);
end

```

```

wsat(j,k+1)=(((log(1-Awg(j,k+1)))/(-4.988))^(1/0.7202));
h(j,k+1)=wq*(44209.85*(((G)*(Tg(j,k+1)+273))/(0.0075*P))^(0.6011));
kw(j,k+1)=kw(j,k);
e(j,k+1)=1-((M(j,k+1)/dm)+(X(j,k+1)/dx));
wf(j,k+1)=w(1,1)-(Hg(j,k+1)*(daire/M(j,k+1)));
    end
t(k+1)=t(k)+deltat;
end

```

%IMPRESIÓN DE FIGURAS

```

figure(1)
subplot(4,4,1)
plot((t),(X),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('X')
grid on
subplot(4,4,2)
plot((t),(Ts),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Ts')
grid on
subplot(4,4,3)
plot((t),(Tg),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Tg')
grid on
subplot(4,4,4)
plot((t),(M),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('M')
Grid on
subplot(4,4,5)
plot((t),(w),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('w')
grid on
subplot(4,4,6)
plot((t),(wsat),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('wsat')
grid on
subplot(4,4,7)
plot((t),(Aw),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Aw')
grid on
subplot(4,4,8)
plot((t),(Awg*100),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Awg%')
grid on
subplot(4,4,9)
plot((t),(Hg),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Hg')

```

```
grid on
subplot(4,4,10)
plot((t),(e*100),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('e%')
grid on
subplot(4,4,11)
plot((t),(h),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('h')
grid on
subplot(4,4,12)
plot((t),(kw),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('kw')
grid on
subplot(4,4,13)
plot((t),(wf),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('wf')
grid on
subplot(4,4,14)
plot((t),(U),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('U')
grid on
subplot(4,4,15)
plot((t),(Xv),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Xv')
grid on
figure(2)
subplot(2,2,1)
plot((t/3600),(X),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('X')
grid on
subplot(2,2,2)
plot((t/3600),(Xv),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Xv')
grid on
subplot(2,2,3)
plot((t/3600),(Ts),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Ts')
grid on
subplot(2,2,4)
plot((t/3600),(Tg),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Tg')
grid on
figure(3)
subplot(2,2,1)
plot((t/3600),(Xv),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Xv')
```

```
grid on
subplot(2,2,2)
plot((t/3600),(w),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('w')
grid on
subplot(2,2,3)
plot((t/3600),(Hg),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('Hg')
grid on
subplot(2,2,4)
plot((t/3600),(wf),'Linewidth',1)
xlabel('tiempo (horas)')
ylabel('wf')
grid on
```

[Published with MATLAB® R2017b](#)

ANEXO II

DETERMINACIÓN DE LA TASA MÁXIMA DE CRECIMIENTO

Para determinar la tasa máxima de crecimiento microbiano (μ_{max}), se partió de datos experimentales de producción de proteína en función del tiempo, mismos que se muestran en la Tabla AII.1 para el caso en el que se utiliza cascarilla de arroz como sustrato a 13 °C.

Tabla AII.1. Datos de generación de proteína en función del tiempo con cascarilla de arroz a 13 °C

Tiempo (h)	P $(\frac{g \text{ proteína}}{g \text{ sustrato seco}})$	P' $(\frac{g \text{ proteína}}{g \text{ sustrato seco}})$	P promedio $(\frac{g \text{ proteína}}{g \text{ sustrato seco}})$
0	0	0	0
3	0,001	0,002	0,0015
6	0,003	0,003	0,003
21	0,009	0,01	0,0095
24	0,009	0,011	0,01
27	0,01	0,013	0,0115
30	0,01	0,013	0,0115
45	0,013	0,014	0,0135
48	0,014	0,015	0,0145

(Arguero, 2014)

Se consideró a la producción de proteína en función del tiempo como una medida indirecta de la cantidad de biomasa ya que la cantidad de proteína presente en el sustrato previo a la fermentación ya fue restada.

Posteriormente se calculó el logaritmo natural de la concentración promedio de proteína, de esta manera se graficó la curva decrecimiento microbiano mostrada en la Figura AII.1, cuya pendiente representa la tasa máxima de crecimiento microbiano.

Se siguió el mismo procedimiento con los demás sustratos y con el trabajo realizado por Herrera (2018), donde la generación de proteína se presenta de manera similar.

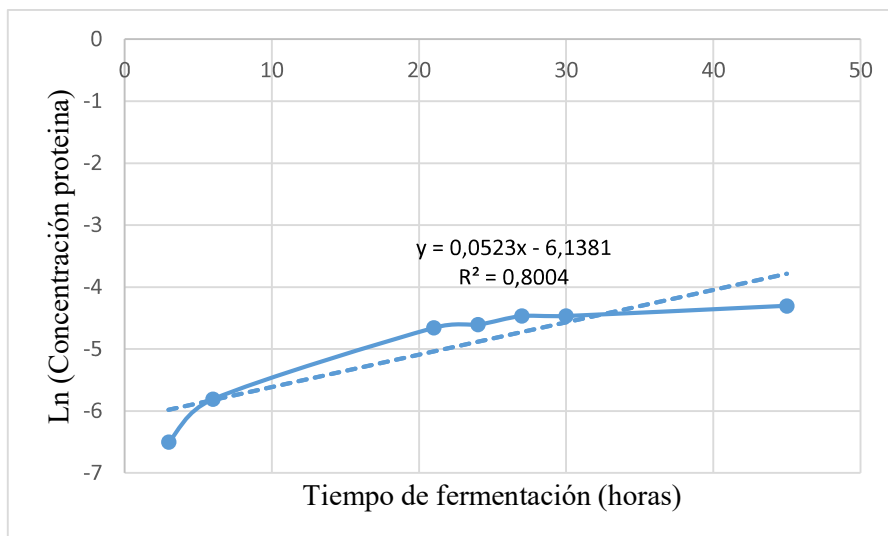


Figura AII.1. Logaritmo natural de concentración de proteína en función del tiempo

La ecuación de la recta representa la linealización de la fase de crecimiento exponencial, la pendiente de la recta corresponde a la tasa máxima de crecimiento, que para este caso resulta de $0,0523 \text{ h}^{-1}$.

ANEXO III

DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD APARENTE

Para determinar la densidad aparente se acondicionaron los sustratos a utilizarse para que cumplan con las condiciones de tamaño y humedad utilizadas en los trabajos realizados por Arguero (2014) y Herrera (2018).

Primeramente, se calculó el volumen de la columna considerándola como un cilindro de la siguiente manera:

$$V = \pi r^2 h$$

$$V = \pi (0,0095)^2 0,13$$

$$V = 3,686 \times 10^{-5} m^3$$

Luego, se pesó la cantidad de sustrato que podía ingresar en la columna sin realizar ningún tipo de presión como se especifica en la metodología de los trabajos realizados. El peso reportado se dividió para el volumen y se obtuvo la densidad aparente:

$$M_w = \frac{\text{masa sustrato}}{\text{volumen columna}}$$

$$M_w = \frac{0,017 \text{ kg}}{3,686 \times 10^{-5} m^3}$$

$$M_w = 461,20 \frac{\text{kg}}{m^3}$$

La densidad real del sustrato se determinó llenando la columna de agua para determinar el volumen del aire y el del sustrato dentro de la misma:

$$m (\text{sust} + \text{agua}) = 0,043 \text{ kg}$$

$$m \text{ agua} = 0,043 - 0,017 \text{ kg}$$

$$m \text{ agua} = 0,026 \text{ kg}$$

Se consideró la densidad del agua como 1000 kg/m^3 , por lo tanto:

$$V_{\text{agua}} = V_{\text{aire}} = \frac{0,026 \text{ kg}}{1000 \text{ kg/m}^3} = 2,6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$$

$$V_{\text{yuca}} = 3,686 \times 10^{-5} - 2,6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$$

$$V_{\text{yuca}} = 1,086 \times 10^{-5} \text{ m}^3$$

$$d_{\text{real yuca}} = \frac{m_{\text{yuca}}}{V_{\text{yuca}}} = \frac{17 \text{ kg}}{1,086 \times 10^{-5} \text{ m}^3}$$

$$d_{\text{real yuca}} = 1.565,37 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

En la Tabla AIII.1 se muestra el ejemplo para la Cáscara de yuca utilizada en la investigación realizada por Herrera (2018)

Tabla AIII.1. Densidad aparente calculada al utilizar cáscara de yuca como sustrato

Cáscara de yuca		
Valor obtenido	Segregada	Sin segregación
Masa de yuca que ingresa a la columna (g)	17	13
Masa de yuca y agua dentro de la columna (g)	43	39
Masa de agua sola (g)	26	26
Volumen ocupado por el agua (cm ³)	26	26
Volumen ocupado por la yuca (cm ³)	10,86	10,86
Densidad aparente (kg/m ³)	461,20	352,69
Densidad real (kg/m ³)	1.565,37	1.197,05

ANEXO IV

PARÁMETROS UTILIZADOS EN EL MODELO MATEMÁTICO

Para simular el proceso de FMS se requirieron varios parámetros además de aquellos que influyen en la cinética de crecimiento microbiano del *Aspergillus niger*. Los parámetros requeridos para describir fenómenos de transferencia, dimensiones del biorreactor y demás condiciones de trabajo se muestran en la Tabla AIV.1.

Tabla AIV.1. Parámetros utilizados para el modelo matemático

Parámetro	Símbolo	Valor
Radio del biorreactor	ra	f (H/D) m
Altura del volumen de control	ht	0,1 m
Volumen del lecho teórico	V	f (H/D) m ³
Factor de frecuencia	Ad	8,0164*10 ¹⁰⁰ h ⁻¹
Energía de activación	Ead	621729,234 J/mol
Capacidad calorífica del sustrato seco	Cpm	2500 J/kg °C
Capacidad calorífica del agua	Cpw	4187 J/kg °C
Capacidad calorífica del aire	Cpa	1000 J/kg °C
Capacidad calorífica del vapor	Cpv	1791 J/kg °C
Calor latente del agua	L	2414300 J/kg agua
Constante de gases ideales	R	8,314 J/mol °C
Flujo superficial de aire	G	0,057 kg aire s./m ² s
Número de Euler	eu	2,71828
Presión atmosférica	P	101325 Pa 72954 Pa
Coefficiente de difusión	D _{ab}	2,6*10 ⁻⁶ m ² /s
Ancho de película	hp	0,0001 m
Densidad del aire	ρ_{aire}	1,14 kg/m ³
Densidad de biomasa	$\rho_{biomasa}$	1050 kg/m ³
Densidad de agua	ρ_{agua}	1000 kg/m ³
Oxígeno requerido por kg de biomasa	Y _o	0,693 $\left(\frac{\text{kg oxígeno}}{\text{kg biomasa}}\right)$
Calor metabólico específico	Y _q	8,366*10 ⁶ $\left(\frac{\text{J}}{\text{kg biomasa}}\right)$
Agua requerida por kg de biomasa	Y _w	0,3 $\left(\frac{\text{kg agua}}{\text{kg biomasa}}\right)$

ANEXO V

LISTADO DE ECUACIONES DIFERENCIALES UTILIZADAS EN EL MODELO MATEMÁTICO

A continuación, se presentan las ecuaciones diferenciales que constituyen el modelo matemático planteado:

$$\frac{dX_T}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right)$$

$$\frac{dX_V}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - (k_d X_T)$$

$$\frac{dM}{dt} = M \left(\frac{dX_T}{dt}\right)$$

$$\frac{dS}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) \frac{1}{Y_{XS}}$$

$$\frac{dO}{dt} = \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) \frac{1}{Y_o}$$

- Para el balance de agua con respecto al lecho:

$$\dot{E} - \dot{S} + \dot{G} - \dot{C} = \dot{A}$$

$$\dot{E} = 0$$

$$\dot{S} = k_w (W - W_{sat})$$

$$\dot{G} = 0$$

$$\dot{C} = Y_w \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right)$$

$$\dot{A} = \frac{dW}{dt}$$

$$\frac{dW}{dt} = -Y_w \mu X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - k_w (W - W_{sat})$$

- Para el balance de agua con respecto al aire:

$$\begin{aligned}\dot{E} - \dot{S} + \dot{G} - \dot{C} &= \dot{A} \\ \dot{E} &= G A H_{in} + M V k_w (W - W_{sat}) \\ \dot{S} &= G A H_g \\ \dot{G} &= 0 \\ \dot{C} &= 0 \\ \dot{A} &= \frac{d V e \rho_{aire} H_g}{dt} \\ \frac{dH_g}{dt} &= \frac{G A (H_{in} - H_g)}{V e \rho_{aire}} + \frac{M k_w (W - W_{sat})}{e \rho_{aire}}\end{aligned}$$

- Para el balance de energía con respecto al lecho:

$$\begin{aligned}\dot{E} - \dot{S} + \dot{G} - \dot{C} &= \dot{A} \\ \dot{E} &= 0 \\ \dot{S} &= h (T_s - T_g) + M L k_w (W - W_{sat}) \\ \dot{G} &= Y_q M V U X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) \\ \dot{C} &= 0 \\ \dot{A} &= \frac{M (Cp_m + (Cp_w W)) dT_s}{dt} \\ \frac{dT_s}{dt} &= \frac{Y_q M V U X_T \left(1 - \frac{X_T}{X_m}\right) - h (T_s - T_g) - M L k_w (W - W_{sat})}{M (Cp_m + (Cp_w W))}\end{aligned}$$

- Para el balance de energía con respecto al aire:

$$\begin{aligned}\dot{E} - \dot{S} + \dot{G} - \dot{C} &= \dot{A} \\ \dot{E} &= G A Cp_a T_{in} + G A Cp_v H_{in} T_{in} + V h (T_s - T_g) \\ &\quad + M L k_w V (W - W_{sat}) \\ \dot{S} &= G A Cp_a T_g + G A Cp_v H_g T_g \\ \dot{G} &= 0 \\ \dot{C} &= 0 \\ \dot{A} &= \frac{V e \rho_{aire} (Cp_a + (Cp_v H_g)) dT_g}{dt}\end{aligned}$$

$$\frac{dT_g}{dt} = \frac{G A C p_a (T_{in} - T_g) + G A C p_v (H_{in} T_{in} - H_g T_g)}{V e \rho_{aire} (C p_a + (C p_v H_g))} + \dots$$

$$\dots \frac{V h (T_s - T_g) + M L k_w V (W - W_{sat})}{V e \rho_{aire} (C p_a + (C p_v H_g))}$$