

CAPITULO 8 – INTRODUCCIÓN A BIOREACTORES

8.1. INTRODUCCIÓN

El uso de células vivas para la producción de productos químicos crece anualmente con ritmos asombrosos. Tanto microorganismos (bacterias, hongos, algas) como células humanas, vegetales o animales se utilizan para la producción varios productos químicos, como por ejemplo insulina, antibióticos, biosurfactantes. Son responsables también de la producción de alcohol vía fermentación, producción de quesos, vinos, champagne, etc. También los procesos biológicos son muy usados en el tratamiento de residuos y efluentes.

8.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS VIVOS

Los organismos vivos pueden clasificarse en base a diferencias de la estructura celular en dos grandes grupos: **eucariotas** y **procariotas** (ver Figura 8.1). Las células eucariotas son considerablemente más grandes que las procariotas, pero además de esta tienen otras diferencias en la estructura intracelular. Las células **eucariotas** tienen un núcleo bien definido que está rodeado por una membrana para proteger las moléculas de DNA que constituyen el material genético. Por otro lado, las células **procariotas** tienen una región nuclear que no está rodeada por una membrana y que contiene una única molécula de DNA. Las eucariotas a su vez se dividen en organismos **multicelulares** (donde las células tienen funciones específicas) y los organismos **unicelulares** (donde todas las células llevan a cabo la misma función). Las **eubacterias** y las **archaebacteria** tienen una química celular diferente. Las primeras incluyen a la mayoría de las bacterias que son usadas en los tratamientos biológicos, la mayoría de los organismos que viven en el aire y agua y la mayoría de los organismos patógenos de humanos y otros mamíferos. Las archaebacteria incluyen algunas especies anaeróbicas, como también algunas otras que viven en condiciones extremas (alta temperatura, bajo PH, etc.). Las eubacterias y archaebacteria se refieren simplemente como bacterias.

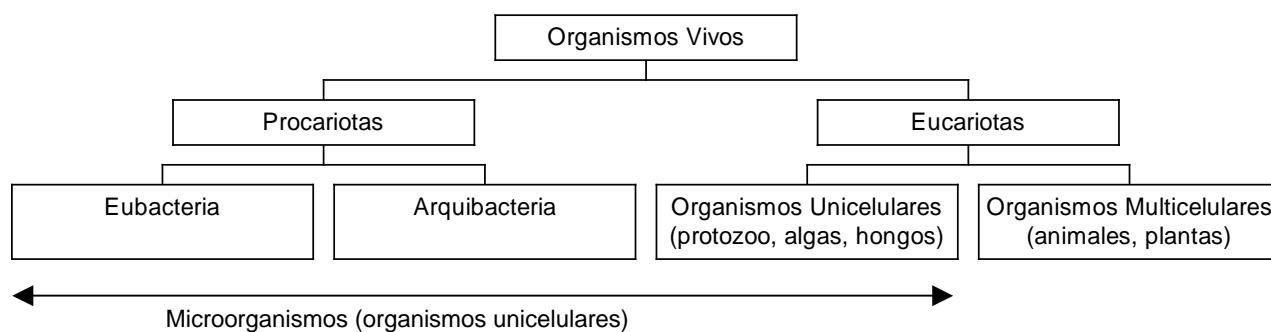


Figura 8.1. Clasificación de organismos vivos

Los virus son un grupo de partículas no vivientes que están íntimamente relacionadas con los organismos vivos. No tienen estructura celular y no pueden llevar a cabo tareas metabólicas, de reproducción u otro tipo de actividad. Los virus son parásitos que necesitan infectar células vivas para convertirse en activos y reproducirse

8.3. PRINCIPALES TIPOS DE MICROORGANISMOS

Microorganismo es el término que comúnmente se utiliza para describir una célula única libre. Esta definición hace que dentro de los microorganismos se encuentren tanto las células procariontes como los organismos unicelulares de las eucariotas.

8.3.1. Bacterias

Las bacterias tienen tres formas generales: esférica, bastón y espiral. Un dibujo simplificado de una célula bacteriana se presenta en la Figura 8.2. Las bacterias tienen una capa en alguna medida "desorganizada" que está compuesta por polisacáridos y es conocida como cápsula. Tienen también una pared rígida y una membrana que encapsula el citoplasma donde ocurren las reacciones. El núcleo contiene los componentes genéticos de la célula. La mayoría de las bacterias pueden moverse y lo hacen con el flagelo. El tamaño de las bacterias depende de la etapa de crecimiento en la que se encuentren. Una célula que no ha tenido nutrientes suficientes puede ser tan chica como $0.2 \mu\text{m}$ de diámetro. Sin embargo las bacterias de laboratorio tienen un diámetro que oscila entre 0.5 y $1.0 \mu\text{m}$, mientras que las del tipo bastón son de $0.5 \times 3 \mu\text{m}$.

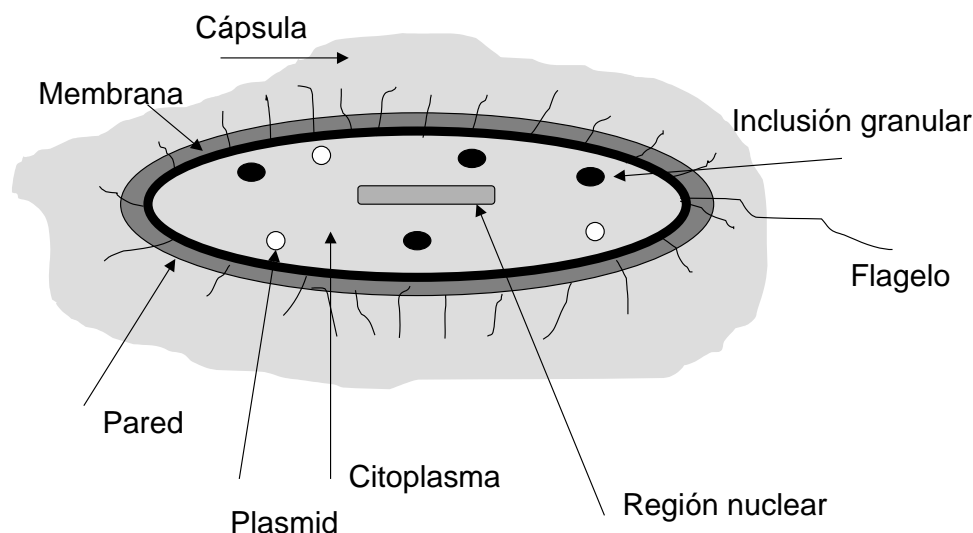


Figura 8.2. Representación esquemática de una célula bacteriana

Las bacterias se clasifican en las **aeróbicas** (que necesitan oxígeno para vivir) y las **anaerobias** (que crecen sólo en ausencia de oxígeno).

Algunas bacterias son capaces de formar endosporas (esporas dentro de la célula). Las bacterias pasan a este estado cuando las condiciones de crecimiento le son muy adversas, es una técnica de supervivencia. Cuando las condiciones de crecimiento mejoran, vuelven al estado vegetativo. Las esporas son muy resistentes al calor y no son muy fáciles de destruir con radiación o agentes químicos.

8.3.2. Hongos

Los hongos, que no se pueden mover, pueden utilizar material orgánico e inorgánico para crecer. Entre los hongos más conocidos cabe mencionar: las levaduras, moho y hongos comestibles.

Respecto a las bacterias los hongos son menos numerosos, crecen a velocidades relativamente más lentas, y los procesos metabólicos que pueden desarrollar son más restringidos. Suelen ser más tolerantes a los medios ácidos pero más sensitivos al contenido de humedad.

8.4. LA CÉLULA BACTERIANA

8.4.1. Composición química de las células

La composición de las células bacterianas depende del tipo de bacteria. En la tabla 8.1 se muestra la composición en peso de la *Escherichia coli*.

Tabla 8.1. Composición elemental típica de células bacterianas en base seca.

Elemento	Porcentaje en peso seco	Función fisiológica
Carbono	50	Constituyente del material orgánico de la célula
Oxígeno	20	Constituyente del material orgánico de la célula y del agua celular
Nitrógeno	14	Constituyente de las proteínas, ácidos nucleicos y coenzimas
Hidrógeno	8	Constituyente del material orgánico de la célula y del agua celular
Fósforo	3	Constituyente de los ácidos nucleicos, fosfolípidos y coenzimas
Azufre	1	Constituyente de las proteínas y coenzimas
Potasio	1	Catión principal en procesos celulares
Sodio	1	Catión principal en procesos celulares
Calcio	0.5	Catión principal en procesos celulares y cofactor de enzimas
Magnesio	0.5	Catión principal en procesos celulares, cofactor en reacciones ATP
Cloro	0.5	Catión principal en procesos celulares
Hierro	0.2	Constituyente de enzimas y proteínas
Σ Elementos traza	0.3	Constituyentes inorgánicos de enzimas especiales

El carbono es el elemento que representa el mayor porcentaje en peso de una célula base seca. La célula tiene un alto porcentaje de contenido de agua, que asciende al 90% del peso total de la misma.

Aunque los valores dados en la Tabla 8.1 corresponden a un tipo particular de bacteria, la composición elemental de las bacterias no difieren considerablemente. En la Tabla 8.2 se presenta la fórmulas elementales de varias especies. Note que muchos elementos listados en la Tabla 8.1 no aparecen en la 8.2, esto se debe a que las cantidades en las que se encuentran presentes en las células son tan bajas que su composición atómica es prácticamente cero.

Tabla 8.2. Composición elemental de biomasa para diferentes especies

Microorganismo	Composición elemental
<i>Candida utilis</i>	$\text{CH}_{1.83}\text{O}_{0.46}\text{N}_{0.19}$
<i>Klebsiella aerogenes</i>	$\text{CH}_{1.75}\text{O}_{0.43}\text{N}_{0.22}$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$\text{CH}_{1.82}\text{O}_{0.58}\text{N}_{0.16}$
<i>Escherichia coli</i>	$\text{CH}_{1.94}\text{O}_{0.52}\text{N}_{0.25}\text{P}_{0.025}$
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	$\text{CH}_{1.93}\text{O}_{0.55}\text{N}_{0.25}\text{P}_{0.021}$
<i>Aerobacter aerogenes</i>	$\text{CH}_{1.83}\text{O}_{0.55}\text{N}_{0.26}\text{P}_{0.024}$
<i>Penicillium chrysogemum</i>	$\text{CH}_{1.64}\text{O}_{0.52}\text{N}_{0.16}$
<i>Aspergillus niger</i>	$\text{CH}_{1.72}\text{O}_{0.55}\text{N}_{0.17}$
Promedio	$\text{CH}_{1.81}\text{O}_{0.52}\text{N}_{0.21}$

Si queremos que la población bacteriana crezca en un determinado medio, deberemos dar nutrientes al sistema que respeten las fórmulas promedio de las bacterias. Los elementos traza son también necesarios, por esta razón suele agregarse al medio de cultivo extracto de levadura (bacterias muertas que contienen todos los elementos que garantizan el crecimiento celular)

8.4.2. Métodos para medir el crecimiento de bacterias

Cuando una pequeña cantidad de células vivas es adicionada en una solución líquida que contiene los nutrientes esenciales, y que se encuentra a una temperatura y un PH adecuado, las células crecerán. Existen diferentes métodos experimentales para medir y monitorear los procesos de crecimiento. Entre ellos cabe mencionar los métodos turbidimétricos y el conteo de colonias. El primer método consiste en hacer incidir con una luz (monocromática con una dada longitud de onda) a la suspensión de microorganismos en el medio líquido. Se mide la luz transmitida a través de la suspensión, la que es proporcional a la concentración de biomasa. Esta técnica tiene como principal inconveniente, la imposibilidad de distinguir entre células vivas o muertas o entre células y otro tipo de material particulado. Sin embargo, es una técnica que puede ser utilizada on-line para mediciones continuas.

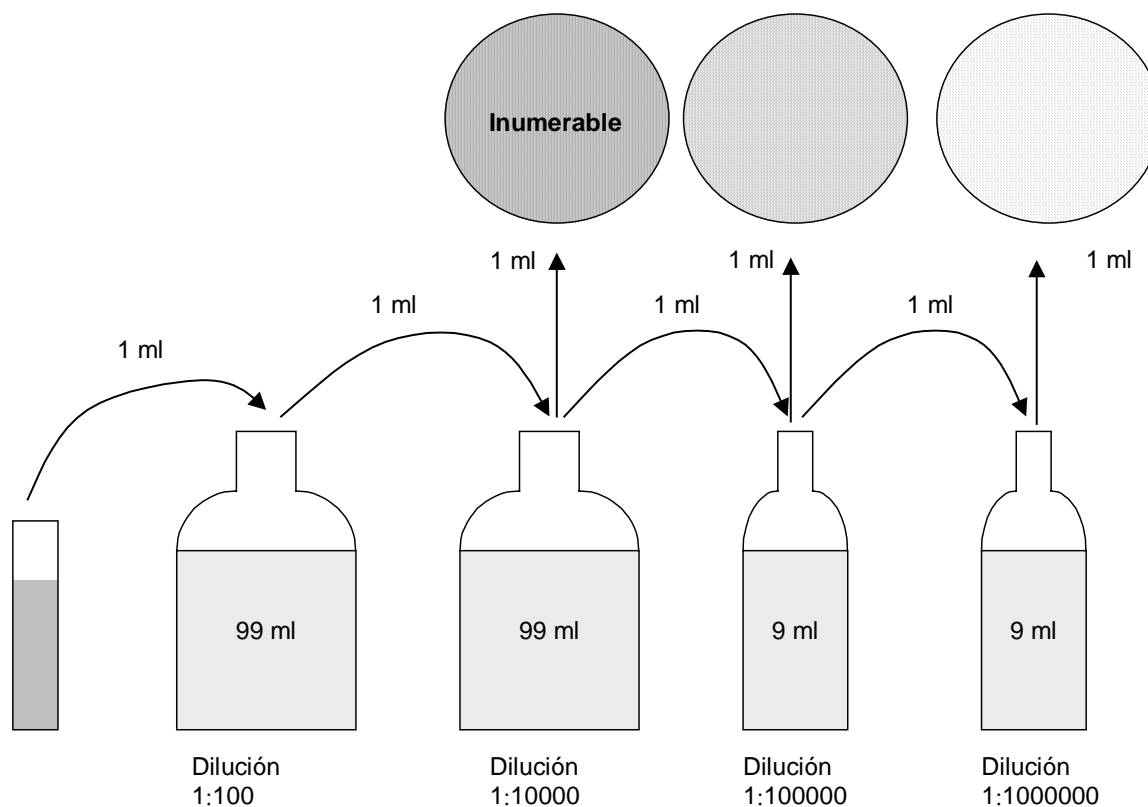


Figura 8.3. Método de conteo de colonias

Para medir el crecimiento celular mediante el método de conteo de colonias (Figura 8.3) se utiliza un medio de agar conteniendo los nutrientes para lograr el crecimiento de las bacterias. Un pequeño volumen del medio de cultivo diluido es esparcido sobre el agar en una caja de petri. Estas placas son incubadas en condiciones adecuadas, en la caja de petri se forman colonias que son fácilmente contadas a simple vista. Se asume que cada colonia ha sido formada por una única célula del medio de cultivo original. Las células son entonces medidas como unidades formadoras de colonia – UFC (colony-forming units, CFU). La suposición que una colonia es formada por una única célula bacteriana puede subestimar la densidad de población. Al efecto de minimizar esta subestimación, una serie de diluciones debe ser usada.

8.5. CRECIMIENTO DE BACTERIAS

.La mayoría de las bacterias se reproducen por medio de una fisión binaria (ver Figura 8.4).

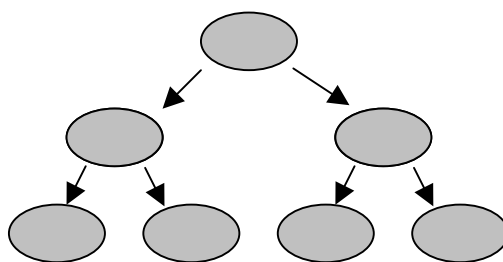


Figura 8.4. Duplicación de células.

El tiempo que tardan en formarse 2 células de una célula común se llama tiempo de generación, pero como coincide con el tiempo en que se duplica el número de células se denomina también **tiempo de duplicación**. Este tiempo varía significativamente según la especie bacteriana y según las condiciones del medio de cultivo. En la Tabla 8.3 se presentan tiempos de duplicación para distintas especies en medios complejos a las temperaturas óptimas de crecimiento.

Tabla 8.3. Tiempos de duplicación

Organismo	Temperatura, °C	Tiempo de duplicación, h
<i>Vibrio natriegens</i>	37	0.16
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	60	0.14
<i>Escherichia coli</i>	40	0.38
<i>Bacillus subtilis</i>	40	0.43
<i>Pseudomonas putida</i>	30	0.75
<i>Vibrio marinus</i>	15	1.35

8.6. FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO Y LA BIODEGRADACIÓN

8.6.1. Nutrientes

Los nutrientes deben estar disponibles de acuerdo a las necesidades de crecimiento de las células (ver Tabla 8.2). Sin embargo, la presencia de nutrientes en **cantidad** adecuada no es suficiente, los nutrientes deben estar también en un estado **adecuado** para su asimilación.

Los medios de cultivo pueden ser medios **sintéticos** o **complejos**. Los medios sintéticos son aquellos que tienen una composición química bien definida. Los medios

complejos contienen materiales de composición no definida (por ejemplo, cuando se le agrega extracto de levadura al medio de cultivo).

8.6.2. PH

El PH afecta en forma muy significativa la actividad microbiana. Cada organismo tiene un rango de PH dentro del cual es posible el crecimiento y normalmente posee un PH óptimo muy bien definido. La mayoría de los ambientes naturales tienen valores de PH de 5.9 y los organismos con PH equivalentes son los habituales. Sólo unas pocas especies pueden crecer con un PH inferior a 2 o mayor a 10. Los que crecen a PH bajos se llaman **acidófilos**. Los hongos, como grupo, tienden a ser más tolerantes al ácido que las bacterias. Algunos microorganismos poseen PH óptimos de 10-11 y se conocen como alcalófilos.

Debe quedar claro que independientemente de las condiciones extremas en que vivan los microorganismos (PH del ambiente extracelular), el PH intracelular debe permanecer cercano a la neutralidad, con el objeto de impedir la destrucción de macromoléculas internas.

8.6.3. Temperatura

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que afectan al crecimiento y a la supervivencia de los microorganismos. Las especies bacterianas crecen generalmente bien en rangos estrechos de temperatura. Las bacterias **mesófilas** crecen bien entre **15 y 45°C**, siendo el rango óptimo entre **25 y 35 °C**. Las **psicrófilas** se desarrollan adecuadamente debajo de los **20°C**. Las **termófilas** tienen un buen desarrollo entre **45 y 65 °C**.

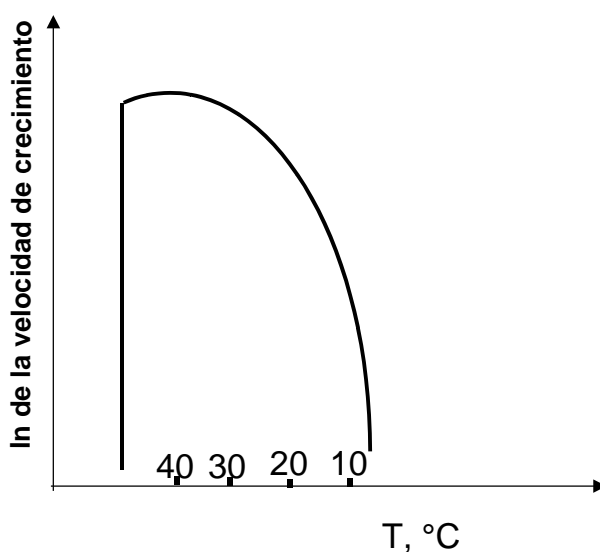


Figura 8.5: Velocidad de crecimiento de la *E. Coli* en función de la temperatura

Como regla del pulgar por cada aumento de 10°C, la velocidad de biotransformación aumenta cerca de 2 veces. Esta aproximación es sólo válida hasta una determinada temperatura arriba de la cual la velocidad comienza a decrecer. Los aumentos de temperatura en una primera etapa permiten alcanzar mayores velocidades de degradación debido a un aumento de la actividad microbiana, un aumento de la solubilidad de los nutrientes en agua, entre otras razones. En general a temperaturas mayores que 40 °C el crecimiento de bacterias decae debido a la desnaturalización de enzimas y proteínas. A temperaturas cercanas a los 0°C, el crecimiento se detiene. Como regla general las bacterias resisten mejor las bajas temperaturas, ya que para esos casos se pueden encapsular y recobrar su actividad cuando las condiciones mejoran. En cambio cuando son sometidas a temperaturas elevadas las células mueren. En la Figura 8.5 se presenta la velocidad de crecimiento de una bacteria (*E. coli*) en función de la temperatura.

8.6.4. Disponibilidad de agua

El agua es el componente principal de las células, por lo tanto un suministro de agua adecuado es indispensable para lograr el mantenimiento y crecimiento microbiano. También el agua es el medio de transporte de los sustratos (o contaminantes) hacia el interior de las células, y también el transporte de los compuestos que se producen dentro de la célula y que son devueltos al medio de cultivo. Sin agua la actividad microbiana no es posible.

8.6.5. Otros factores vinculados a los sustratos

La estructura y origen de los sustratos (o reactivos) tienen un impacto decisivo en la capacidad de los microorganismos de sobrevivir y en el cumplimiento de la función que se desea. Cuando alguno de los sustratos presenta una baja solubilidad en agua, se encuentra poco biodisponible para los microorganismos y la reacción bioquímica se verá “demorada” por un problema de transferencia de masa.

La concentración de los compuestos (tanto reactivos como productos) también es muy importante, por ejemplo altas concentraciones de un compuesto pueden ser tóxicas e inhibir el crecimiento de las bacterias.

8.7. CAMINOS METABÓLICOS DE REACCIÓN Y ENERGÍA DE LA CÉLULA

Metabolismo es el término usado para referirse a más de 1000 transformaciones químicas que tienen lugar en una célula. El objetivo final de todas estas reacciones es la producción de nuevas células. El metabolismo se divide en dos grandes procesos:

anabolismo o biosíntesis (proceso que requiere energía para construir el material celular) y **catabolismo** (proceso que libera energía en el cual los microorganismos oxidan compuestos). Ambos procesos están organizados en pequeños pasos, por ejemplo para la oxidación de glucosa (azúcar de 5 carbonos) se requiere de 20 reacciones. Los procesos de anabolismo y catabolismo están íntimamente relacionados. Los microorganismos requieren una fuente de carbono para el metabolismo. Como el metabolismo requiere energía para conducir las reacciones metabólicas, los microorganismos también necesitan una fuente de energía. La mayoría de los organismos de interés en bioremediación usan los compuestos orgánicos como fuente de carbón y energía. La energía para el crecimiento es derivada de la oxidación de compuestos químicos (microorganismos quimiotrópicos) o de la luz (microorganismos fototrópicos).

En general todas las reacciones que se llevan a cabo en los procesos celulares requieren la participación de proteínas especiales denominadas enzimas que actúan como catalizadores. Los **microorganismos** actúan como **reactores** y las **enzimas** como **catalizadores**. El crecimiento microbiano es dependiente de la cantidad de energía libre liberada durante las reacciones y de la eficiencia con que esa energía es capturada. Los organismos vivos utilizan energía química a través de reacciones del tipo óxido-reducción. El flujo de electrones durante las reacciones redox genera energía, el proceso de transferencia de electrones desde el donante al aceptor final es realizado mediante los "portadores de electrones (**electron carriers**)". Los compuestos **adenosine fosfatos** son compuestos muy importantes en el proceso de generación de energía. El **ATP** (Adenosine Trifosfato - ver Figura 8.6) tiene un papel fundamental en la generación de energía, cuando se hidroliza produce **ADP** (Adenosine Difosfato - ver Figura 8.7) con una energía libre de -31 kJ/mol. Lo que pierde el ATP es un enlace fosfato. El **ATP** es el medio por el cual la célula almacena temporariamente la energía obtenida de los nutrientes o de la luz. La **Adenine** presente en las moléculas de ATP y ADP es un ácido nucleico presente en el ADN. En la Figura 8.8 se presenta el mecanismo de fermentación de glucosa a alcohol y CO₂, donde se observa el papel del ATP y ADP en este proceso.

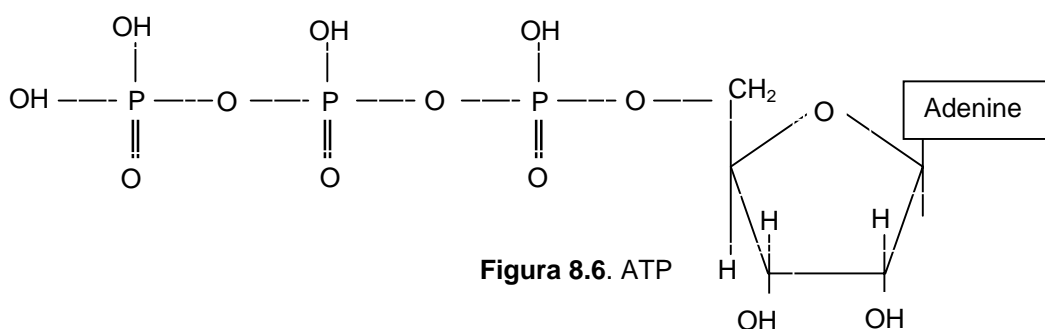


Figura 8.6. ATP

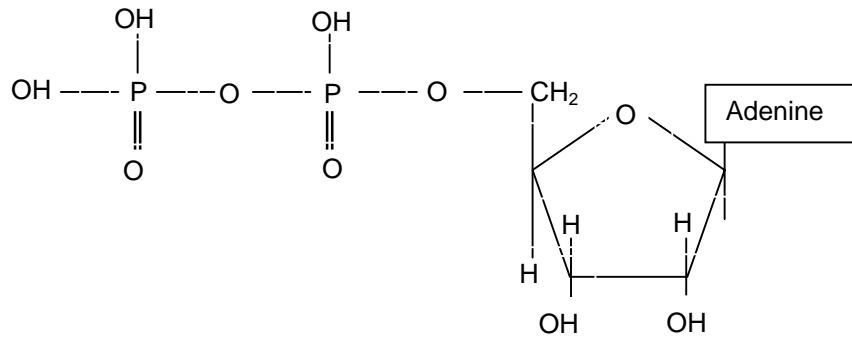


Figura 8.7. ADP

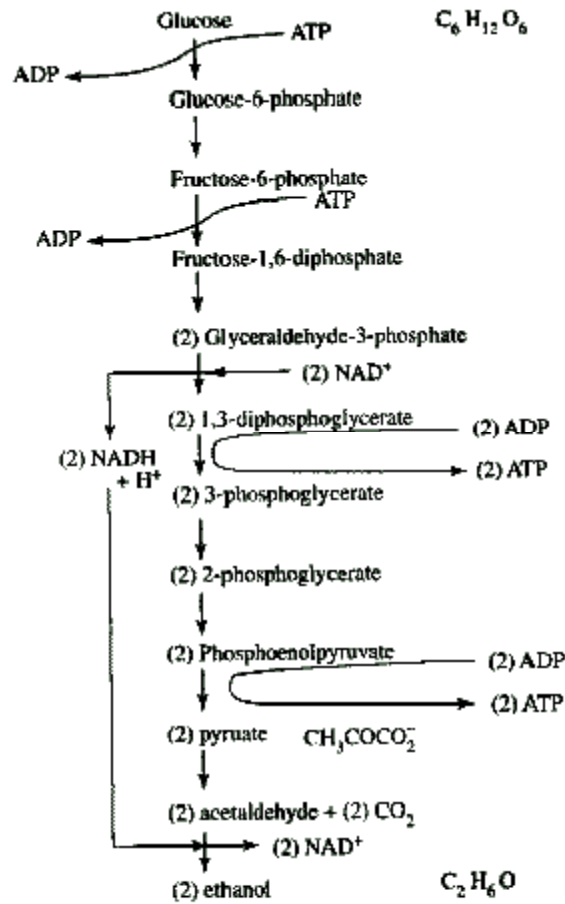


Figura 8.8. Fermentación de Glucosa

8.8. ESTEQUIOMETRÍA DE LAS REACCIONES CELULARES

La estequiometría del crecimiento celular es muy compleja, porque en general muchos sustratos participan de la reacción (ver composición de las células Tabla 8.1). Entonces el método tradicional usado para las reacciones químicas no resulta válido para las biológicas.

Consideremos que se conduce una única reacción biológica global y que la biomasa está caracterizada por un único componente (X) (Modelo de la Caja Negra). La Figura 8.9 muestra la utilización de los sustratos para la obtención de los productos de la reacción biológica.

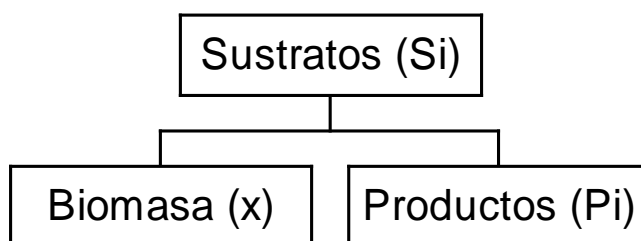
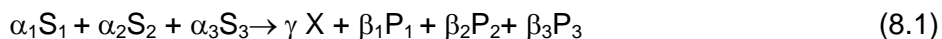


Figura 8.9. Reacción Biológica

Suponiendo que de la reacción participan tres sustratos y se generan tres productos la reacción biológica puede expresarse como:



donde,

$\alpha_i, \beta_i, \gamma$ = coeficientes estequiométricos, mol.

S_i = Sustrato i

P_i = Producto i

X = biomasa

Para una reacción biológica donde participen N sustratos y M productos, la reacción (8.1) puede reescribirse como:

$$\sum_{i=1}^N \alpha_i S_i + \sum_{j=1}^M \beta_j P_j + \gamma X = 0 \quad (8.2)$$

En la ecuación 8.2 los coeficientes estequiométricos son negativos para los reactivos y positivos para los productos. Los sustratos incluyen fuentes de carbón (FC), fuentes de

nitrógeno (FN), Fuente de O (FO), y el resto de los elementos que conforman una célula microbiana (ver composiciones promedio, Tabla 8.2). Se suele atribuir un coeficiente estequiométrico igual a 1 a alguno de los sustratos, en general se le asigna tal valor a la fuente de carbono. Si dividimos la ecuación (8.2) por α_1 , resulta:

$$S_1 + \sum_2^N (\alpha_i / \alpha_1) S_i + \sum_1^M (\beta_i / \alpha_1) P_i + (\gamma / \alpha_1) X = 0 \quad (8.3)$$

La ecuación (8.3) puede escribirse como sigue:

$$S_1 + \sum_2^N Y_{S_i S_i} S_i + \sum_1^M Y_{S_i P_i} P_i + Y_{S_i X} X = 0 \quad (8.4)$$

Donde $Y_{S_i S_i}, Y_{S_i P_i}, Y_{S_i X}$ son denominados coeficientes de rendimiento.

Recordemos que la velocidad neta de la reacción (8.1) se relaciona con las velocidades de las especies intervinientes en la reacción del siguiente modo:

$$r = \frac{r_{S_1}}{\alpha_1} = \frac{r_{S_i}}{\alpha_i} = \frac{\mu(O r_X)}{\gamma} = \frac{r_{P_i}}{\beta_i} \quad (8.5)$$

de modo que:

$$\begin{aligned} r_{S_i} &= Y_{S_i S_i} r_{S_1} \\ \mu &= Y_{S_i X} r_{S_1} \\ r_{P_i} &= Y_{S_i P_i} r_{S_1} \end{aligned} \quad (8.6)$$

Los coeficientes de rendimiento verifican la siguiente relación:

$$Y_{ij} = \frac{1}{Y_{ji}} \quad (8.7)$$

8.8.1. Unidades de velocidad de reacción

Las unidades usadas para las diferentes velocidades de reacción de los componentes que participan de la reacción son las siguientes:

$$\begin{aligned} r_{S_i} &= g_{S_i} (o \text{ mol}_{S_i}) / g_{\text{peso seco}} o \text{ h} \\ \mu &= h^{-1} \\ r_{P_i} &= g_{P_i} (o \text{ mol}_{P_i}) / g_{\text{peso seco}} o \text{ h} \end{aligned}$$

Los gramos de peso seco (g_{PS}) se refieren a los gramos de peso seco de biomasa. De acuerdo a las unidades definidas para las velocidades de reacción, los coeficientes de rendimiento tendrán las siguientes unidades:

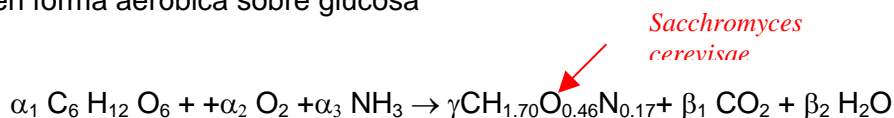
$$Y_{s_1 s_i} = g_{s_i} / g_{s_1}$$

$$Y_{s_1 x} = g_{\text{biomasa(oPS)}} / g_{s_1}$$

$$Y_{s_1 P_i} = g_{P_i} / g_{s_1}$$

8.8.2. Determinación de los coeficientes estequiométricos - Balances elementales

Para plantear los balances de elementos, los cuales son una herramienta para determinar coeficientes estequiométricos, es necesario conocer la composición elemental de cada reactivo y producto. Consideremos la siguiente reacción biológica, que corresponde al crecimiento de las *saccharomyces cerevisae* (habitualmente usadas para la fermentación alcohólica) en forma aeróbica sobre glucosa



Ahora veamos los pasos que seguiremos para determinar la estequiometría de esta reacción:

1. Llevamos los átomos de C a 1 en cada molécula en la cual exista este elemento:



2. Dividimos por α_1 :



3. Planteemos los balances de los elementos C,H,O y N, para ello consideremos los valores absolutos de los rendimientos:

Balance de C

$$1 - Y_{s_1 x} - Y_{s_1 P_1} = 0$$

Balance de H

$$2 + 3 Y_{s_1 s_3} - 1.70 Y_{s_1 x} - 2 Y_{s_1 P_2} = 0$$

Balance de O

$$1 + 2 Y_{s_1 s_2} - 0.46 Y_{s_1 x} - 2 Y_{s_1 P_1} - Y_{s_1 P_2} = 0$$

Balance de N

$$Y_{s_1 s_3} - 0.17 Y_{s_1 x} = 0$$

Hay 5 rendimientos que determinar (o lo que es lo mismo 6 coeficientes estequiométricos), sin embargo disponemos de 4 ecuaciones linealmente

independiente. Esto indica que un rendimiento debe ser información experimental.

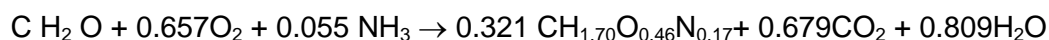
Según la ecuación (8.6) un rendimiento puede calcularse si se sabe un par de velocidades. Por ejemplo haciendo una reacción biológica en un reactor TAC, podemos determinar valores de velocidad de reacción.

Para el ejemplo que estábamos tratando se conoce el llamado coeficiente de respiración o (respiratory quotient- RQ), el cual es:

$$RQ=1.033=\beta_1/\alpha_2= Y_{s2P1}= Y_{s1P1}/ Y_{s1s2}, \text{ esto implica que:}$$

$$Y_{s1P1}=1.033 Y_{s1s2}$$

Esta es una quinta ecuación que junto con los balances elementales permiten el cálculo de los coeficientes estequiométricos, los que para el ejemplo resultan:



Observaciones finales importantes

- Dados los balances elementales, si el número de incógnitas es mayor a 4, entonces se requerirá información experimental.
- El rendimiento Y_{s1H2O} o cualquier otro que este relacionado con el agua **NO** es recomendable medir. Las reacciones biológicas se llevan a cabo en medios líquidos, de modo que el agua metabólica generada será mucho menor que la existente en el medio de cultivo, de manera que pueden existir grandes errores experimentales en la determinación.
- No todos los rendimientos conducen a una solución del sistema lineal de ecuaciones generado por los balances de masa.

8.9. CINÉTICA DE CRECIMIENTO

La velocidad con que ocurre una reacción biológica puede ser modelada asumiendo diferentes hipótesis. En la figura 8.10 se presentan los diferentes modelos aplicables a las reacciones biológicas.

	Modelos No Estructurados	Modelos Estructurados
No segregado	"CAJA NEGRA"	
Segregado		CASO REAL

Figura 8.10. Representación matemática de cinéticas biológicas

Los **modelos segregados** son complejos ya que a las células se las reconoce como discretas. Estos modelos pueden reconocer como diferentes a las "células más viejas" de las "células más jóvenes". En cambio en los **modelos no segregados** se considera que una "célula promedio" puede representar toda la población.

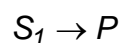
Los **modelos estructurados** modelan a la célula (a la biomasa) como un sistema de componentes múltiples (ribosomas, enzimas, membranas, etc.). Como caso más simple, se presentan los **modelos no estructurados** donde todos los componentes celulares se representan por una única concentración, la de la biomasa (X). Una reacción biológica real debería ser representada por un modelo segregado estructurado. Sin embargo, los **modelos no segregados no estructurados** son usados por su simplicidad matemática y por su capacidad de representar adecuadamente un vasto conjunto de reacciones biológicas de interés. Los **modelos no segregados no estructurados** suelen llamarse del tipo "**Caja Negra**".

8.9.1. Velocidad de reacción enzimática

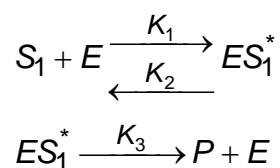
Antes de introducir las velocidades de reacción biológica más empleadas, discutiremos el mecanismo de una reacción enzimática.

Entendemos por reacción enzimática, cualquier reacción química que sea catalizada por una enzima (que es una proteína). Las enzimas permiten la producción de químicos con una especificidad muy elevada a ciertos isómeros. Las reacciones enzimáticas no tienen por que estar asociadas al crecimiento de bacterias en forma simultánea, de hecho no es necesario la existencia de bacterias en un medio para que se dé una reacción enzimática.

Consideremos la siguiente reacción:



Si ahora consideramos que la reacción anterior es catalizada por una enzima E, el mecanismo que puede ocurrir es el siguiente:



donde ES_1^* representa un complejo enzima-sustrato. Suponiendo que en el mecanismo anterior la última etapa controla el proceso (8.8) y que el complejo se encuentra en estado pseudo estacionario (8.9) (si no recuerda estos conceptos de fisicoquímica, ver Capítulo 6) se obtiene:

$$r_P = k_3 [ES_1^*] \quad (8.8)$$

$$0 = k_1 [S_1][E] - k_2 [ES_1^*] - k_3 [ES_1^*] \quad (8.9)$$

Despejando la concentración del complejo de la ecuación anterior, resulta:

$$[ES_1^*] = \frac{k_1 [S_1][E]}{k_2 + k_3} \quad (8.10)$$

además la concentración de enzimas totales (lo cual es un dato conocido) debe cumplir con la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} [E_T] &= [ES_1^*] + [E] = \frac{k_1 [S_1][E]}{k_2 + k_3} + [E] \\ [E] &= [E_T] / \left(\frac{k_1 [S_1]}{k_2 + k_3} + 1 \right) = \\ [E_T] &/ \left(\frac{k_1 [S_1] + k_2 + k_3}{k_2 + k_3} \right) = \\ [E] &= \left[\frac{E_T (k_2 + k_3)}{k_1 [S_1] + k_2 + k_3} \right] \end{aligned} \quad (8.11)$$

Reemplazando la última expresión de la ecuación (8.11) en (8.10) resulta:

$$[ES_1^*] = \frac{k_1[S_1] \left(\frac{E_T(k_2 + k_3)}{k_1[S_1] + k_2 + k_3} \right)}{k_2 + k_3} = \frac{k_1[S_1][E_T]}{k_1[S_1] + k_2 + k_3} \quad (8.12)$$

Ahora ya contamos con la expresión del complejo para ser reemplazada en la velocidad de reacción definida por (8.8)

$$r_P = \left(\frac{k_1 k_3 [S_1][E_T]}{k_1[S_1] + k_2 + k_3} \right) = \frac{V_{\max} [S_1]}{[S_1] + K_m} \quad (8.13)$$

La ecuación (8.13) es conocida como Michaelis-Menten.

8.9.2. Velocidad de reacción biológica (reacción única) -Modelo de Monod (1942)

En una reacción biológica son varios los sustratos que participan en ella, las bacterias crecen y utilizan muchísimas enzimas para llevar a cabo la reacción biológica deseada. Si se quisiera describir detalladamente las reacción deberíamos usar un modelo segregado y estructurado, lo cual es muy complejo y escapa a este capítulo que debe considerarse como introductorio a la temática de bioreactores.

Monod en 1942 desarrolló una ecuación muy simple para representar los procesos biológicos que funciona en general muy bien. Para ello asumió que si bien pueden existir muchos sustratos, uno de ellos será el limitante. En este modelo se asume que la producción de biomasa depende exclusivamente de la concentración de este sustrato limitante. Para una reacción biológica del tipo $\alpha S \rightarrow \gamma X$, la velocidad de crecimiento de biomasa puede representarse como sigue:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_s} \quad (8.14)$$

donde

μ_{\max} = velocidad específica de crecimiento máxima, h^{-1}

K_s = constante de saturación, g/l

S = concentración de sustrato limitante, g/l

Como puede observarse la ecuación (8.14), que es semiempírica, es análoga a la de Michaelis-Menten. En efecto se deriva de suponer que una única enzima con una cinética del tipo Michaelis-Menten es la responsable del consumo de S y conjuntamente que la

cantidad de enzima o bien su actividad catalítica es lo suficientemente baja como para controlar el crecimiento (pueden haber otras reacciones enzimáticas, pero sólo controla una de ellas).

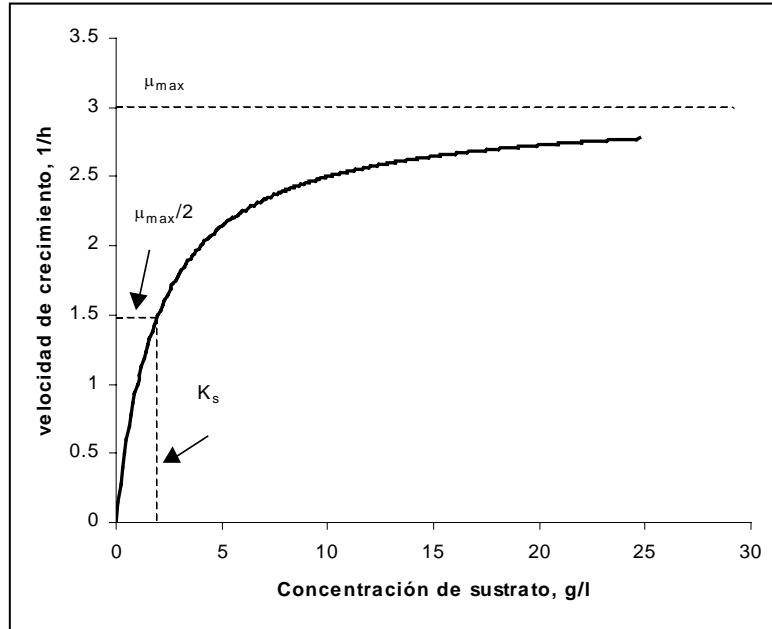


Figura 8.11. Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de crecimiento bacteriano. $\mu_{max}=3 \text{ h}^{-1}$, $K_s=3 \text{ g/l}$

Cuando $s \rightarrow \infty$, la velocidad $\mu \rightarrow \mu_{max}$, cuando $s \rightarrow 0$, $\mu \rightarrow 0$ y cuando $s=K_s$, $\mu=\mu_{max}/2$.

De acuerdo a la ecuación (8.5): $\mu = Y_{SX} r_s$, entonces:

$$r_s = Y_{XS} \mu \tag{8.15}$$

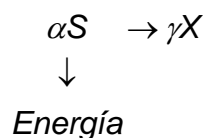
$$r_s = Y_{XS} \mu_{max} s / (s + K_s) \tag{8.16}$$

En forma análoga la velocidad de un producto P puede expresarse como:

$$r_P = Y_{XP} \mu_{max} s / (s + K_s) \tag{8.17}$$

8.9.3. Velocidad de reacción biológica –reacciones múltiples

El modelo de Monod no considera que parte del sustrato puede utilizarse para mantenimiento. Si aceptamos que esto puede ocurrir, las reacciones que tienen lugar son:



como $r_s = 1/Y_{SX} \mu$, se verifica:

$$r_s = \frac{I}{Y_{sx}^{true}} \mu - m_s \quad (8.18)$$

donde,

m_s = a la velocidad de consumo de s utilizado para mantener el desarrollo metabólico (energía), y no para el crecimiento de las células, g_s/g_{PS} h. Se trata de una velocidad que se considera en general de orden 0 con respecto a la concentración de sustrato.

Y_{sx}^{true} = se denomina coeficiente de rendimiento verdadero

El coeficiente global de rendimiento se calcula como sigue:

$$Y_{sx}^{global} = \frac{\mu}{r_s} = \frac{\mu}{\frac{I}{Y_{sx}^{true}} \mu - m_s} \quad (8.19)$$

Dividiendo la ecuación (8.19) por μ , resulta:

$$Y_{sx}^{global} = \frac{\mu}{r_s} = \frac{I}{\frac{I}{Y_{sx}^{true}} - m_s \mu^{-1}} \quad (8.20)$$

Observemos que Y_{sx}^{global} es una función de la velocidad de crecimiento (μ), sin embargo cuando el modelo de Monod puro es aplicable a la velocidad de desaparición de sustrato el Y_{sx}^{global} es constante.

La velocidad de crecimiento de biomasa, para este caso, sigue siendo representada por la ecuación (8.14).

8.9.4. Modelo cinéticos alternativos

- Más de un sustrato limitante

$$\mu = \mu_{max1} \frac{S_1}{S_1 + K_{S1}} \mu_{max2} \frac{S_2}{S_2 + K_{S2}} \quad (8.21)$$

- Inhibición por alta concentración de sustrato

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S^2 / K_i + S + K_S} \quad (8.22)$$

- Inhibición por un producto metabólico

$$\mu = \mu_{\max} \frac{s}{s + K_S} \frac{1}{1 + p/K_i} \quad (8.23)$$

8.10. CULTIVO BATCH

Basado en la fisión binaria de las células, sería razonable pensar que el crecimiento de las bacterias es del tipo exponencial. Este tipo de crecimiento, en un reactor discontinuo, puede darse hasta un punto en el que los nutrientes empiezan a acabarse u otros factores ambientales limiten el crecimiento. En la Figura 8.12 se presenta una curva de crecimiento típica para un medio de cultivo que ha sido inoculado al tiempo 0 en un TAD. Se supone que las condiciones del medio de cultivo son óptimas (*i.e.*, adecuados nutrientes, temperatura, etc.). Bajo estas condiciones se reconocen **4 fases** en el ciclo del crecimiento: **demora, fase exponencial, fase estacionaria y muerte**.

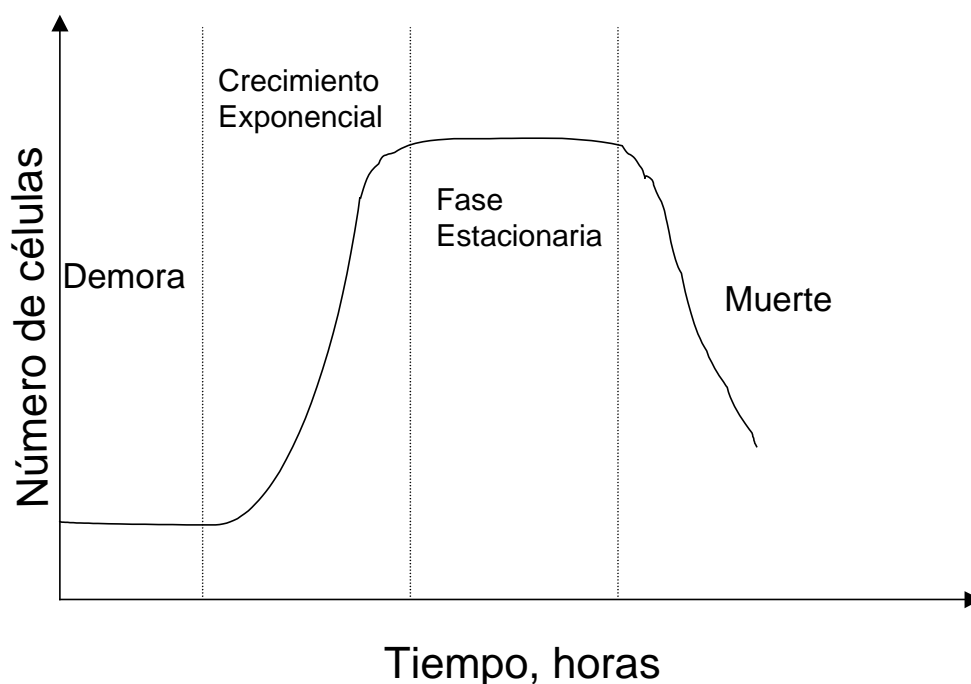


Figura 8.12: Curva típica de crecimiento de una población bacteriana en un sistema batch

8.10.1. Fase de demora

Esta fase corresponde al tiempo que le lleva a la bacteria adaptarse al nuevo medio cultivo. Durante esta fase el crecimiento es prácticamente nulo. La fase de demora puede ser corta si las bacterias se inoculan en un medio similar al medio en el cual se habían

desarrollado. En cambio cuando se inoculan en un medio de diferente composición, el tiempo de demora puede ser de 10, 20 horas o mayor. La fase de demora puede interpretarse como el tiempo que necesitan las bacterias para sintetizar las enzimas necesarias para metabolizar los nuevos nutrientes.

8.10.2. Fase de crecimiento exponencial

El crecimiento exponencial sigue a la fase de aclimatación. Esta fase ocurre si no existe ningún factor que limite el crecimiento de las bacterias. El crecimiento en esta fase se representa mediante una ecuación que surge del balance de masa del TAD:

$$\frac{dC_j}{dt} = r_j \quad (8.24)$$

Si lo aplicamos al componente biomasa:

$$\frac{dx}{dt} = r_x^* \quad (8.25)$$

donde x tiene unidades de g_{ps}/cm^3 , r_x^* las mismas unidades. Comúnmente la velocidad de la reacciones se denota con la letra μ , que tiene unidades de inversa de tiempo, de modo que es necesario multiplicarla por x para balancear las unidades

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (8.26)$$

donde,

x = concentración de células (**biomasa**), gramos de peso seco/ cm^3

t = tiempo, h

μ = constante de proporcionalidad definida como velocidad de crecimiento específico, h^{-1} (esta velocidad específica es función, entre otras variables, de la temperatura y concentraciones de sustrato).

La ecuación (8.26) representa la ecuación de diseño de un reactor biológico tipo TAD, para el componente biomasa. Asumiendo que la velocidad de crecimiento es constante en la etapa de crecimiento exponencial, e integrando la ecuación (8.26) entre $t=0$ y $t=t$, intervalo de tiempo en el cual el número de células pasa de un número N_0 a N , o dicho de otro modo la concentración de células pasa de x_0 a x , se obtiene

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = \int_0^t \mu dt \quad (8.27)$$

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \mu t \quad (8.28)$$

$$x = x_0 \exp(\mu t) \quad (8.29)$$

El tiempo de duplicación puede calcularse si $x=2x_0$, o sea N (número de bacterias)= $2N_0$ (número de bacterias iniciales):

$$\ln 2 = \mu t_d \quad (8.30)$$

$$t_d = \ln 2 / \mu \quad (8.31)$$

La velocidad de crecimiento μ puede ser representada por la cinética del tipo Monod (8.14), si es así es función de la concentración del sustrato. Sin embargo, durante el crecimiento exponencial de una bacteria, puede suponerse que $S \gg K_s$, de manera que se verifica que $\mu = \mu_{\max}$, la velocidad procede con un valor constante e independiente de S .



Ejemplo 8.1

Se han medido 34000 bacterias/l uego de 4 horas de haber inoculado un medio. Después de 24 horas el número de bacterias aumentó a $5.2 \cdot 10^6$ /l.

Asumiendo que la fase de demora es despreciable, calcular:

1. La velocidad específica de crecimiento.
2. El número de bacterias que fueron inoculadas.

Solución:

1. $\ln(N_2/N_1) = \mu (t_2 - t_1)$

$$\mu = \ln(5.2 \cdot 10^6 / 34000) / (24 - 4) = 0.25 \text{ h}^{-1}$$

2. De la ecuación 8.29:

$$N_0 = N e^{-\mu t}$$

$$N_0 = 34000 \text{ bact/l } e^{-0.25 \times 4} = 12500 \text{ células/l}$$

8.10.3. Fase estacionaria

El crecimiento en esta fase no cesa, sin embargo el crecimiento neto es 0. Las células se dividen utilizando nutrientes almacenados o componentes de células muertas. Las células inician los procesos que le son necesarios para sobrevivir al período de falta de nutrientes. Esta fase dura en la mayoría de los casos entre 12 y 36 horas. Esta etapa indica como se comportan las bacterias en situaciones adversas. Las que logran sobrevivir han

sido capaces de almacenar cantidades de compuestos durante los períodos de alta concentración, estas bacterias suelen ser importantes en los procesos de tratamiento cíclicos. Esta etapa también es modelada por cinéticas simples como la de Monod.

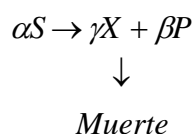
8.10.4. Muerte

Cuando la bacteria cesa de crecer, eventualmente mueren. La muerte puede asociarse a la inactivación de la actividad metabólica, o puede ser la descomposición real de las células. Ciertas bacterias pueden alimentarse de la materia orgánica de las células muertas. La disminución neta de bacterias puede ser aproximada por una función exponencial del tipo:

$$\frac{dx}{dt} = -\beta x \quad (8.30)$$

8.10.5. Modelado completo de una curva de crecimiento BATCH

Si se quiere modelar las etapas de crecimiento exponencial, estado estacionario y muerte (se desprecia la fase de demora), las reacciones (considerando que S sólo se utiliza para generar biomasa) biológicas que deberíamos considerar son las siguientes:



Los balances de masa que debiéramos considerar para el esquema anterior, considerando los valores absolutos de los rendimientos, son:

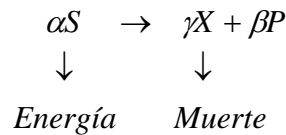
Sustrato: $\frac{dS}{dt} = -Y_{xs1} \mu x = -Y_{xs1} \frac{\mu_{max} S}{S + K_s} x$

Biomasa: $\frac{dx}{dt} = \mu x - \beta x = \frac{\mu_{max} S}{S + K_s} x - \beta x$

Producto: $\frac{dP}{dt} = Y_{xp1} \mu x$

Sólo dos ecuaciones deben resolverse, ya que el sistema es de dos reacciones independientes.

Un sistema que contemple que parte del sustrato se consume para realizar tareas de mantenimiento o generación de energía y además que la biomasa pueda morir, implica el siguiente esquema cinético:



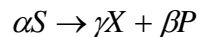
Los balances de masa para el esquema, considerando los valores absolutos de los rendimientos, son:

Sustrato: $\frac{dS}{dt} = -Y_{xs1} \mu x - m_s x = -Y_{xs1} \frac{\mu_{max} S}{s + K_s} x - m_s x$

Biomasa: $\frac{dx}{dt} = \mu x - \beta x = \frac{\mu_{max} S}{s + K_s} x - \beta x$

Producto: $\frac{dP}{dt} = Y_{xp1} \mu x$

Para el esquema más simple de la reacción biológica, el esquema cinético es:



los balances de masa, considerando los valores absolutos de los rendimientos, son:

Sustrato: $\frac{dS}{dt} = Y_{xs1} \mu x = Y_{xs1} \frac{\mu_{max} S}{s + K_s} x$

Biomasa: $\frac{dx}{dt} = \mu x = \frac{\mu_{max} S}{s + K_s} x$

Producto: $\frac{dP}{dt} = Y_{xp1} \mu x = Y_{xp1} \frac{\mu_{max} S}{s + K_s} x$

Sólo un balance es requerido resolver, el resto de los componentes pueden determinarse por estequiometría.



Ejemplo 8.2

La fermentación de glucosa a etanol se lleva a cabo en un reactor TAD usando *S. cerevisae*. Las concentración inicial de glucosa es de 250 g/dm³, la concentración de células inicial es de 1.0 g/dm³. La velocidad de reacción sigue una cinética del tipo Monod, los parámetros cinéticos son: $\mu_{max}=0.33 \text{ h}^{-1}$, $K_s=1.7 \text{ g/dm}^3$, $Y_{xs}=0.08 \text{ g/g}$.

- 1) Grafique la concentración de biomasa y sustrato vs. Tiempo, suponiendo que todo el sustrato se consume para dar biomasa.

Solución:

Solución cont.:

8.11. QUIMIOSTATO - CULTIVO CONTINUO

8.11.1. Descripción del equipo

El crecimiento de bacterias mostrado en la Figura 8.12 corresponde a un cultivo discontinuo. Los estudios continuos son de utilidad para determinar parámetros cinéticos. Un dispositivo de laboratorio muy usado es el **quimiostato**, el que es básicamente un reactor tanque agitado continuo (Ver Figura 8.13). La Figura 8.14 muestra un sistema continuo con los todos los elementos que permiten llevar a cabo una reacción biológica de manera controlada.

8.11.2. Balances de masa

En la Figura 8.13 se presenta un esquema simplificado de un quimiostato.

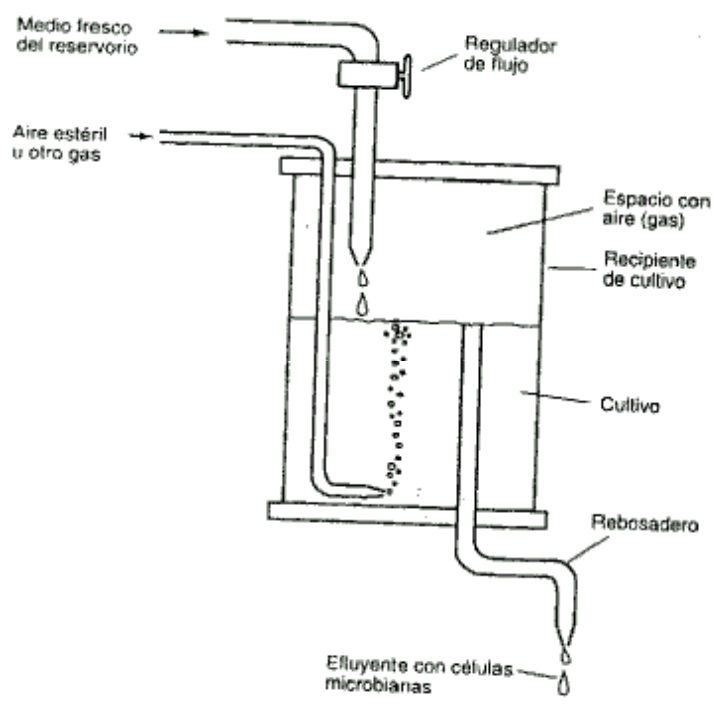


Figura 8.13. Quimiostato

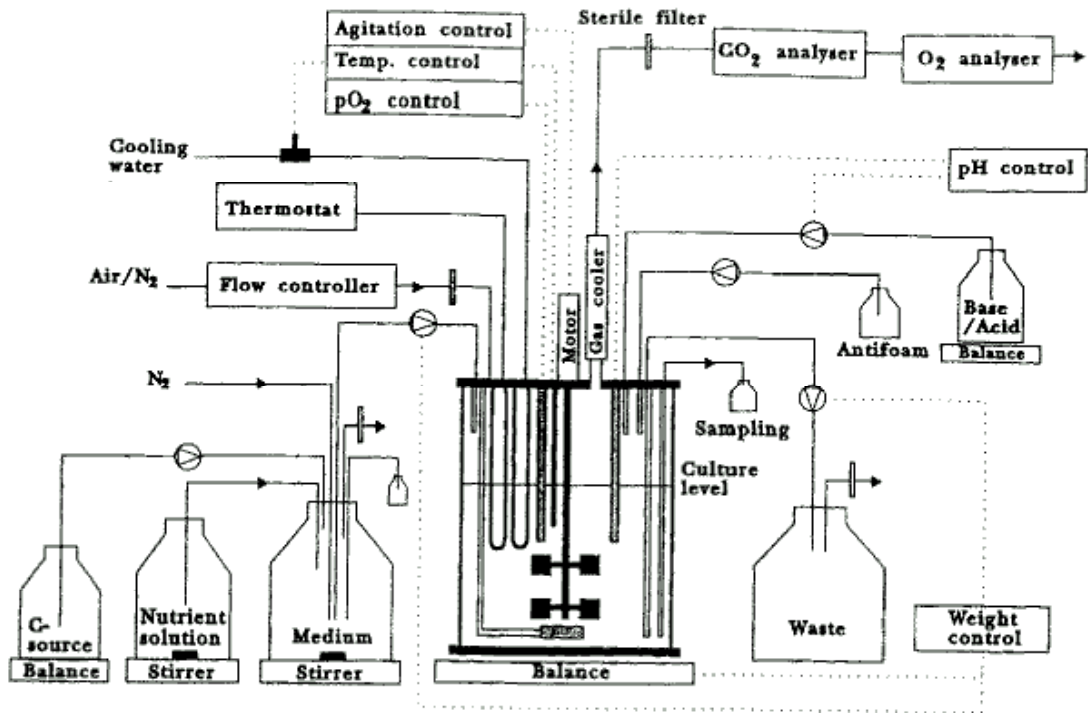


Figura 8.14. Sistema Continuo para estudio de reacciones biológicas

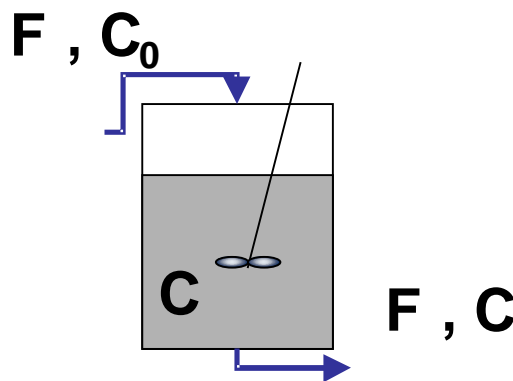
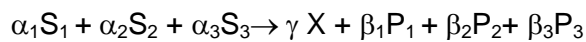


Figura 8.15. Esquema de un quimiostato

Supongamos que en el reactor de la figura 8.15 se lleva a cabo la siguiente reacción biológica:



Balance de masa para el sustrato 1 (líquido)

Atención en reactores biológicos es común el uso de la letra F como caudal volumétrico y no flujo molar!!!!

$$FC_{s1,0} - FC_{s1} + r_{s1} \times V = 0 \quad (8.30)$$

Donde:

F=caudal de entrada, l/h

$C_{s1,0}$ =concentración del sustrato 1 a la entrada, mol_{s1}/l o g_{s1}/l.

C_{s1} = concentración del sustrato 1 a la salida, mol_{s1}/l o g_{s1}/l.

r_{s1} = velocidad de consumo de sustrato, mol_{s1}/gPS h o g_{s1}/gPS h

V= Volumen de reacción, l

x= concentración de biomasa, gPS/l

Dividiendo por V la ecuación 8.30 resulta:

$$(F/V)(C_{s1,0} - C_{s1}) + r_{s1} \times x = 0 \quad (8.31)$$

La relación F/V se denomina velocidad de dilución (D):

$$F/V = D \text{ (h}^{-1}\text{)} \quad (8.32)$$

La velocidad de dilución es la inversa del tiempo espacial:

$$D = 1/\tau \quad (8.33)$$

Balance de masa para la biomasa

Supongamos que la concentración de la biomasa en la alimentación es 0, entonces el balance de masa para este producto celular es:

$$-F x + \mu x V = 0 \quad (8.34)$$

donde

x= concentración de biomasa a la salida del reactor, gPS/l

μ = velocidad de crecimiento, h⁻¹

Dividiendo la ecuación 8.34 por V, resulta

$$(-D + \mu)x = 0 \tag{8.35}$$

En un quimiostato la relación de dilución elegida es igual a la velocidad de crecimiento específica:

$$D = \mu \tag{8.36}$$

En la Figura 8.16 se presentan los valores de las concentraciones del sustrato (s_1) y biomasa(x) en función del coeficiente de dilución. Si el coeficiente de dilución se aumenta en forma excesiva el medio de cultivo "se lava" y la concentración de células a la salida del reactor cae a 0. Existe un valor óptimo de D que permite operar el reactor con una alta velocidad de crecimiento. Este valor lo derivaremos más adelante.

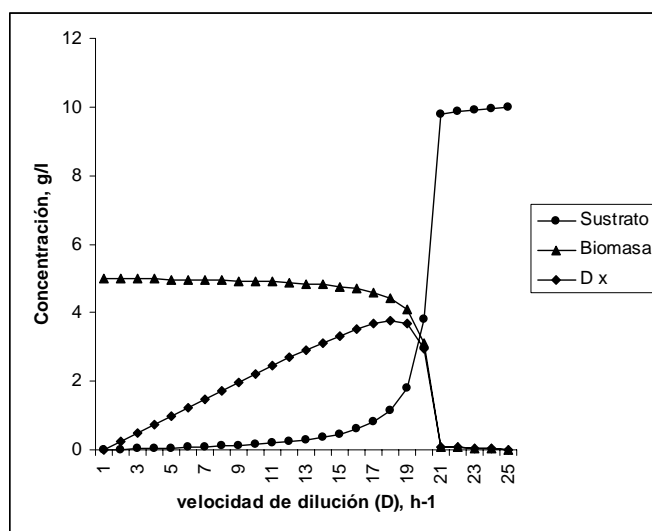


Figura 8.16: Dependencia de las concentración de sustrato, concentración de células y velocidad de producción de células (Dx) en función de la velocidad de dilución.

Balance de masa para un producto 1 (líquido)

Suponiendo que no alimento el producto 1,

$$-F C_{p1} + r_{p1} \times V = 0 \tag{8.37}$$

donde,

C_{p1} =Concentración del producto 1, g_{p1}/l h o moles p₁/l h.

r_{p1} = velocidad de producción del producto 1, g_{p1}/gPS h o moles p₁/gPS h.

Balance de masa para el sustrato 2 (gaseoso, por ejemplo O₂)

Puede suponerse distintos modelos de mezclado para los sustratos o productos gaseosos. Puede asumirse por ejemplo un mezclado perfecto (i.e., la composición en el volumen de reacción es única) o flujo pistón (las burbujas viajan a través del reactor con un frente plano, i.e. igual concentración en toda el área transversal para una dada altura). En este curso supondremos que se puede asumir un mezclado perfecto para los productos o sustratos que se encuentren en fase gas.

La Figura 8.17 muestra un volumen de control donde se puede observar una interfase gas-líquido. El transporte de masa en la capa límite deberá ser considerado en los balances de masa de los reactantes gaseosos.

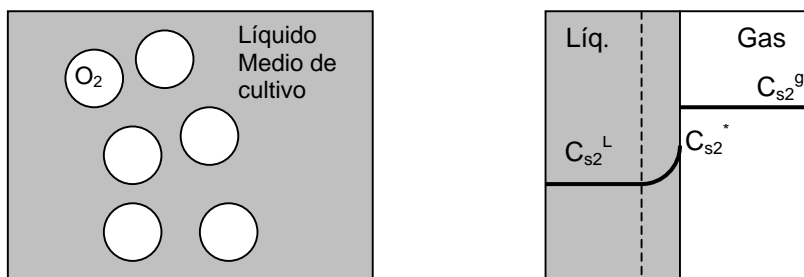


Figura 8.17: Interfase gas - líquido

El balance de masa lo planteamos en la fase líquida, ya que nos interesa saber el valor de la C_{s2} en dicha fase (fase donde las células pueden usarlo para sintetizar productos metabólicos y a la vez crecer).

El balance de masa para el componente s₂ en la fase líquida puede expresarse como:

$$FC_{s2,0} - FC_{s2} + k_L a (C_{s2}^* - C_{s2}) V + r_{s2} \times V = 0 \tag{8.38}$$

donde

F=caudal de entrada, l/h

C_{s2,0}=concentración del sustrato 2 disuelto en el caudal F a la entrada, mol_{s2}/l o g_{s2}/l.

C_{s2}= concentración del sustrato 2 disuelto a la salida, mol_{s2}/l o g_{s2}/l.

C_{s2}^{*} = solubilidad del s₂ en el medio de cultivo, mol_{s2}/l o g_{s2}/l.

r_{s2}= velocidad de consumo de sustrato2, mol_{s2}/gPS h o g_{s2}/gPS h

V= Volumen de reacción, l

x = concentración de biomasa, gPS/l

$k_L a$ = h^{-1}

k_L =coeficiente de transferencia de masa, m/h

a = área interfacial por unidad de volumen, m^2/m^3

Dividiendo la ecuación 8.38 por V , resulta:

$$D(C_{S_{2,0}} - C_{S_2}) + k_L a (C_{S_2}^* - C_{S_2}) + r_{S_2} \times V = 0 \quad (8.39)$$

El valor de $C_{S_2}^*$ (solubilidad) puede calcularse a través de la Ley de Henry conociendo la presión parcial de este compuesto en la fase gas ($C_{S_2}^* = p_{S_1}/H$).

Balance de masa para el producto 2 (gaseoso, por ejemplo CO_2)

En forma equivalente a lo desarrollado para el sustrato 2, el balance de masa para el producto 2 gaseoso es:

$$D(C_{P_{2,0}} - C_{P_2}) + k_L a (C_{P_2}^* - C_{P_2}) + r_{P_2} \times V = 0 \quad (8.40)$$

Los balances planteados permiten, conociendo los valores de concentraciones en la fase líquida, determinar los valores de velocidad de reacción de sustratos, biomasa y productos metabólicos.



Ejemplo 8.3

Suponga que un sustrato estéril se incorpora en forma continua en un quimiostato.

1. Derive la expresión de la concentración de salida de biomasa y sustrato (líq.) en función de la velocidad de dilución. Asuma que la reacción biológica procede con una cinética del tipo Monod.
2. Grafique la concentración de sustrato y biomasa en función de D . $K_s=3$ g/l, $\mu_{max}=3$ h^{-1} , $Y_{xs}=5$ g_s/g_{biomasa}, $s_0= 10$ g/l.
3. Determine el valor de la velocidad de dilución de "lavado"
4. Estime la velocidad máxima de células de salida.

Solución:

9. $D(s_0 - s) = r_s x$ (balance para el sustrato) (A)

$D x = \mu x$ (balance biomasa)(B)

$r_s = Y_{xs} \mu_{max} s / (s + K_s)$

$D(s_0 - s) = Y_{xs} \mu_{max} s / (s + K_s)$ (C)

Dividiendo A por B resulta:

$(s_0 - s) / x = r_s / \mu$

$(s_0 - s) = Y_{xs} x$ o $Y_{sx} (s_0 - s) = x$ (D)

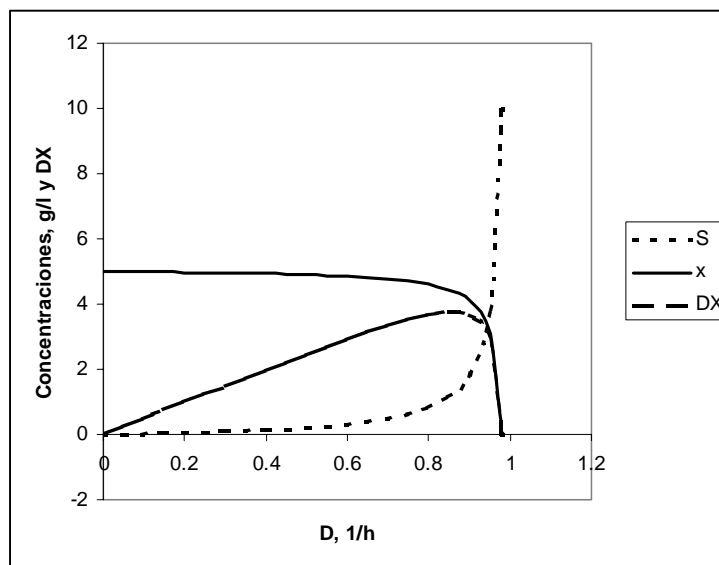
Reemplazando (D) en (C),

$s = DK_s / (\mu_{max} - D)$ (E)

Reemplazando (E) en (D)

$X = Y_{sx} (s_0 - DK_s / (\mu_{max} - D))$ (F)

2.



3. Cuando se lava el reactor x a la salida es 0 y $D = D_{max}$, usando la ecuación (F):

$D_{max} = \mu_{max} s_0 / (s_0 + K_s) = 0.98$

Note que el reactor es muy sensible a cambios de D cuando su valor está cercano al D_{max}

4. La velocidad de producción de células es Dx (g biomasa/l h), esta cantidad se grafica en la figura anterior. El valor máximo de Dx se puede calcular haciendo: $d(Dx)/dD=0$
5. Multiplicando la ecuación (F) por D y derivándola resulta:
6. $D^{\max \text{ prod.}} = \mu_{\max} (1 - ((K_s/(K_s+s_0)))^{1/2}) = 0.86$

8.12. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO

Un aumento en el valor de la temperatura ocasiona una mayor velocidad de crecimiento. A diferencia de lo que ocurre para las reacciones químicas, si la temperatura se eleva demasiado las proteínas se desnaturalizan y la velocidad de crecimiento decrece rápidamente. Para temperaturas debajo de la que se inicia la desnaturalización, se verifica la siguiente expresión:

$$\mu_{\max} = A \exp(-E/RT) \quad (8.41)$$

donde

A = constante, h^{-1}

E = energía de activación, KJ/mol

La expresión que permite contabilizar el efecto de la desnaturalización es la siguiente:

$$\mu_{\max} = \frac{A \exp(-E/RT)}{1 + B \exp(-\Delta G/RT)} \quad (8.42)$$

donde

A y B son constantes

E = energía de activación, KJ/mol

ΔG = cambio de energía libre ocasionado durante la desnaturalización de las proteínas, KJ/mol.

En la figura 8.18 se observa μ_{\max} vs $1/T$. Puede observarse que existe una temperatura de operación óptima que maximiza la velocidad de crecimiento.

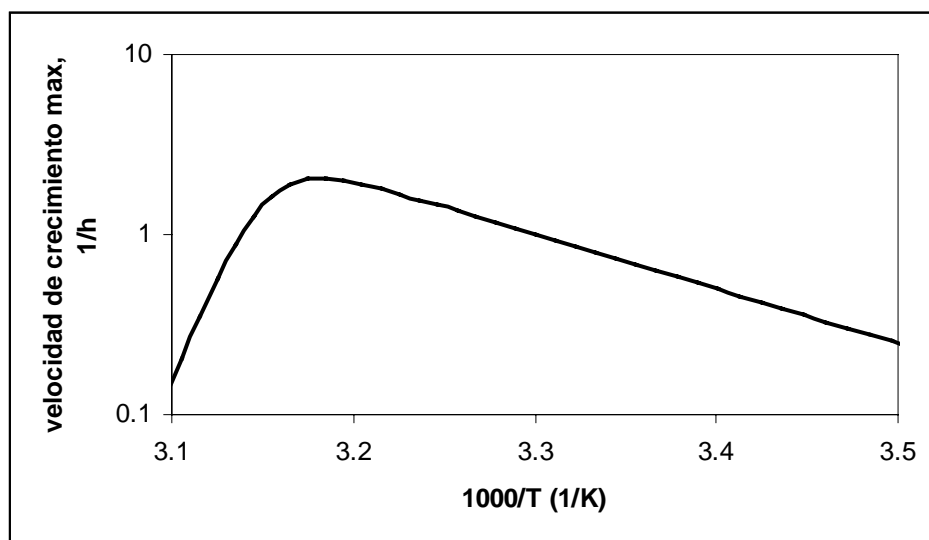


Figura 4.18. Influencia de la temperatura sobre μ_{max} .