

Biorreactores: Modelos Matemáticos y su Simulación sobre una Hoja Electrónica

Hermes Rangel Jara*, María Adelaida Pradilla**, Claudia Viviana Burgos**

RESUMEN

Este artículo presenta brevemente el resultado de un trabajo de investigación y de consulta bibliográfica, que consistió en la recopilación de modelos matemáticos para biorreactores y la solución numérica de algunos de ellos en la hoja de cálculo Microsoft Excel®. Se presenta, con fines principalmente didácticos, una alternativa para la exposición de dicha información en un módulo interactivo para computador. El módulo interactivo se creó con una nueva herramienta –HTML Help Workshop®– que permite una presentación de tipo educativo que puede ser publicada sin dificultad en Internet.

INTRODUCCIÓN

La importancia del modelamiento matemático y la simulación en el diseño y optimización de procesos es bien conocida, y debido a que los procesos biotecnológicos han ido convirtiéndose en procesos bastante viables, hasta el punto que, en muchas ocasiones, resultan más ventajosos que la alternativa química tradicional, el modelamiento y cálculo matemático de biorreactores son una herramienta indispensable en el desarrollo de la biotecnología.

La simulación de biorreactores es muy similar a la de los reactores químicos tradicionales, aunque con algunos elementos adicionales estrechamente ligados al carácter bioquímico del proceso, como el crecimiento del biocatalizador (en el caso de células) y todo lo que esto implica: aumento de la viscosidad del medio, crecimiento del grosor de la película de biomasa en el caso de células inmovilizadas, etc. En seguida se enuncian, para diferentes tipos de biorreactores, los modelos matemáticos más representativos, las simplificaciones que los definen y la bibliografía correspondiente. Además, se mencionan ejemplos de cálculo de biorreactores efectuados en Microsoft Excel® 97, con el fin de resaltar las ventajas de la hoja de cálculo en la simulación de procesos.

Convencionalmente, la presentación teórica de modelos matemáticos puede resultar pesada y aburrida para el lector. Pero si el modelo se acompaña de una estructura de cálculo y se presentan ambos, modelo y solución numérica, dentro de un

esquema interactivo semejante al de las páginas *web*, el resultado puede ser interesante e impresionante. Microsoft HTML Help Workshop® es una de las herramientas más apropiadas para la elaboración de dicho esquema interactivo, cuyo fin último es la presentación de información en forma amena, organizada y didáctica. Más adelante se ilustra esta novedosa alternativa académica.

I. BIORREACTORES Y TIPOS DE BIORREACTORES

La *fermentación* es un proceso de transformación química en el que algunas enzimas, aisladas o presentes en microorganismos o células, catalizan la conversión de un substrato orgánico, como por ejemplo la glucosa a sus productos metabólicos. El *biorreactor* es el equipo centro de todo proceso fermentativo.

Los biorreactores se clasifican de diversas maneras, de acuerdo con el criterio que se utilice para ello: tipo y forma del biocatalizador, configuración del biorreactor, modos de operación, forma en la que se suministra la energía para la agitación, entre otros. Con base en las similitudes en el modelamiento matemático, los biorreactores pueden agruparse de la siguiente forma: biorreactores de tanque agitado, biorreactores de columna de burbujeo, biorreactores con biocatalizador inmovilizado y biorreactores con separación integrada de producto. Este criterio de clasificación tiene en cuenta, principalmente, la configuración del biorreactor y la disposición del biocatalizador.

II. MODELOS MATEMÁTICOS

Existen dos formas generales para la obtención de modelos matemáticos: empírica y determinística. Los modelos matemáticos de biorreactores que se mencionan a continuación son modelos determinísticos con submodelos empíricos, es decir, modelos basados en las ecuaciones de balance (de masa, energía y cantidad de movimiento) y auxiliados por correlaciones empíricas necesarias para la representación matemática de fenómenos como la velocidad de reacción, velocidad de transferencia de masa y energía, equilibrio de fases, etc.

* Ingeniería Química, M.Sc., profesor titular, Universidad Nacional de Colombia.

**Ingeniera Química, Universidad Nacional de Colombia.

La suposición de un modelo de flujo (mezcla perfecta, flujo pistón, modelo de dispersión o cualquier modelo de mezcla imperfecta) remplace, generalmente, a la ecuación de balance de cantidad de movimiento, lo cual para la gran mayoría de biorreactores, los balances se reducen al de masa y energía; y debido a que los procesos bioquímicos operan, por lo general, en condiciones isotérmicas, los balances de masa y energía pueden evaluarse independientemente. Por lo tanto, el balance de masa es el que predice el estado del biorreactor y el de energía es útil en el diseño del biorreactor, y en el control de temperatura. Los modelos matemáticos de los biorreactores, generalmente ignoran, además del cambio de la temperatura, el cambio de las características del medio de cultivo (pH, concentración de nutrientes y cofactores, etc.), por lo que se consideran constantes algunos parámetros cinéticos.

En los cuadros 1, 2, 3 y 4 se presentan, brevemente, modelos para diferentes tipos de biorreactores y ejemplos de cálculo en Microsoft Excel® de algunos de ellos, junto con una pequeña aclaración de lo que implicó su solución numérica.

Cuadro 1. Modelos matemáticos para biorreactores de tanque agitado

Biorreactor	Simplificaciones	Bibliografía	Ejemplos
Por lotes y lote alimentado	Mezcla perfecta Densidad del medio constante	Duarte [5]	<ul style="list-style-type: none"> Simulación del crecimiento de <i>Aerobacter cloacae</i>. Solución de un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden por el método de Euler.
Continuo con o sin reciclo de células	Mezcla perfecta Volumen del medio constante Estado estacionario	Duarte [5] Lee, Choi y Kim [3]	<ul style="list-style-type: none"> Simulación del crecimiento de <i>Aerobacter cloacae</i> ² Degradación de una mezcla de Tolueno y p-xileno por <i>Pseudomonas putida</i> ³ Solución directa de las ecuaciones algebraicas del modelo en las celdas de la hoja electrónica.
Continuo con agitador de flujo radial	Mezcla imperfecta (modelo de flujo combinado que divide el volumen del reactor en dos regiones de mezcla perfecta con transferencia de materiales entre ellas limitada) Las corrientes de alimentación y de salida del biorreactor, entran y salen de la región superior Volumen de cada región constante	Sinclair y Brown [16]	

Cuadro 2. Modelos matemáticos para biorreactores de columna de burbujeo.

Biorreactor	Simplificaciones	Bibliografía
Airlift con baffle interno	Sistema homogéneo, poca distribución de tamaño de las burbujas Fase líquida y gaseosa continua Flujo pistón en las regiones de ascenso y descenso, y mezcla perfecta en la cima. Operación isotérmica sin variaciones de presión en la dirección axial. Estado estacionario. Retención de gas constante en la dirección axial. Dispersión axial despreciable. Propiedades constantes en el sentido radial Variación axial sólo de las variables de interés.	Merchuk y Stein [11]
Airlift con baffle interno	Las mismas suposiciones anteriores, sólo que sí tiene en cuenta las variaciones de presión a lo largo del tubo.	Merchuk y Stein [12]

Cuadro 3. Modelos matemáticos para biorreactores con biocatalizador inmovilizado.

Biorreactor	Simplificaciones	Bibliografía	Ejemplos
De tanque agitado	<ul style="list-style-type: none"> Mezcla perfecta Estado estacionario 		<ul style="list-style-type: none"> Biorreactores enzimáticos de lecho fijo para la hidrólisis de sacarosa por invertasa inmovilizada en un lecho de resina de intercambio iónico. Solución de ecuaciones diferenciales de primer orden por el método de Euler. Solución de ecuaciones cuadráticas y cúbicas mediante la herramienta "Buscar objetivo" y Macros que ejecutan la herramienta en las celdas de la hoja electrónica las veces que sea necesario.
De lecho fijo	<ul style="list-style-type: none"> Flujo pistón No se considera partición entre las fases líquida y sólida, es decir, que las concentraciones en la interfase en el líquido y en el sólido, son iguales Se desprecian los efectos difusionales internos en la biopartícula 	Lortie y Thomas [10]	
De lecho fluidizado, Modelo simplificado	<ul style="list-style-type: none"> Las partículas del catalizador biológico (flocos microbiales o pellets de enzimas o células inmovilizadas) son uniformes en tamaño. Todas las partículas tienen el mismo diámetro externo. La densidad de la fase fluida es una función de la concentración de substrato. La fase líquida se mueve hacia arriba a través del biorreactor en flujo pistón. El número de Reynolds de la partícula biocatalítica, basado en la velocidad terminal, es lo suficientemente pequeño para justificar el uso de la ley de Stokes. 	Bailey y Ollis [11]	
De lecho fluidizado (estado estacionario)	<ul style="list-style-type: none"> Las biopartículas son soportes inertes sólidos de forma esférica rodeados por película microbial de espesor uniforme. Estado estacionario, el espesor de la biopelícula es constante. El sólido inerte (soporte) no adsorbe ni el substrato ni el oxígeno. La resistencia difusional de la capa de líquido que rodea a la biopartícula es despreciable. La presión parcial de oxígeno dentro de las burbujas de gas no cambia significativamente a medida que las burbujas pasan a través del reactor. Son dos modelos. Uno supone mezcla perfecta, y el otro flujo pistón o tanques de mezcla perfecta en serie. 	Park, Davis y Wallis [13]	<ul style="list-style-type: none"> Producción de penicilina en un biorreactor de lecho fluidizado. Mezcla perfecta. Solución de ecuaciones diferenciales por el método de Euler. El procedimiento de ensayo y error para la solución del modelo es reemplazado por el uso de la herramienta "Solver". Flujo pistón (Tanques de mezcla perfecta en serie) La solución de un tanque de mezcla perfecta 50 veces (50 tanques en serie) en forma sucesiva mediante una Macro. El cálculo resulta muy lento.
De lecho fluidizado (estado transitorio)	<ul style="list-style-type: none"> Estado transitorio: el modelo tiene en cuenta el crecimiento de la biopelícula. Mezcla perfecta 	Park, Davis y Wallis [14]	
De fibra hueca o hollow fiber (Figura 1)	<ul style="list-style-type: none"> Flujo laminar estacionario. Propiedades del reactor constantes. Simetría con respecto al eje longitudinal. Independencia del mecanismo de transferencia de masa con la dinámica del fluido. Velocidad axial cero en la membrana y en la región anular del biocatalizador. En la región anular: biocatalizador uniformemente distribuido, concentración del biocatalizador constante y sólo transporte por difusión. Reacción únicamente en la región anular. Estado no estacionario. 	Kleinsteuerer y Agarwal [7]	
De fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> Estado estacionario. Se desprecia la convección, tanto radial como axial, y la difusión axial. 	Kim y Cooney [8]	
De fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> Condición isotérmica. Comportamiento simétrico con respecto al eje. Estado estacionario. El gradiente de concentración en el sentido axial es despreciable, ya sea por una alta relación de reciclo o porque se supone una alta relación de reciclo en un segmento de longitud dado. La composición, concentración y grosor de la película de biomasa se considera constante y uniforme en toda la longitud del reactor. No se tienen en cuenta las fuerzas electrostáticas. El coeficiente de reparto entre las fases es 1. Se considera cero la concentración de biomasa en la pared de la membrana y en el lumen. Por tanto no hay reacción en estas regiones. Se supone una cinética de Monod para el consumo de substrato. No se considera el crecimiento de biomasa, por lo que la concentración de biomasa y el espesor de la película se consideran constantes. Perfil plano de concentración de substrato en el lumen en el sentido radial; comportamiento similar al de un reactor CSTR (Modelo 1, Dali-Bauman). Perfil parabólico de concentración de substrato en el lumen en el sentido radial (Modelo 2, Paunovic). 	Dali-Bauman et al. [3] Paunovic et al. [5]	<ul style="list-style-type: none"> Biodegradación de acetato en un reactor de fibra hueca (modelo 1 y 2) Solución de una ecuación diferencial de segundo orden, con verificación en dos de primer orden, por el método de Euler. El procedimiento iterativo de cálculo es reemplazado por la herramienta "Buscar objetivo". Mediante una Macro, que inicializa el cálculo y acerca el problema a su solución, se resuelve en gran parte los problemas de sensibilidad.
De fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> Estado no estacionario. Al igual que el modelo de Dali-Bauman y el de Paunovic, desprecia el gradiente de concentración axial. En la dirección radial, supone un perfil plano de concentración tanto en el lumen como en la pared de la membrana. Utiliza la cinética de Michaelis-Menten, considerando la expresión límite de primer orden. 	Webster y Shuler [18]	<ul style="list-style-type: none"> Hidrólisis de Urea en un reactor de fibra hueca (estado transitorio) Cálculo del reactor aplicado la solución analítica de la ecuación diferencial. Fue necesaria la utilización de Macros, la herramienta "Buscar objetivo" y las funciones de Bessel.
CSTR-fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> El sistema en su totalidad se comporta como un CSTR con mezcla ideal Las limitaciones de transferencia de masa y la adsorción de enzima 	Deeslie y Cheryan [4]	<ul style="list-style-type: none"> Hidrólisis de proteínas de alto peso molecular en un biorreactor CSTR - HF² Solución directa en las celdas de ecuaciones algebraicas.
De fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> Estado no estacionario. Al igual que el modelo de Dali-Bauman y el de Paunovic, desprecia el gradiente de concentración axial. En la dirección radial, supone un perfil plano de concentración tanto en el lumen como en la pared de la membrana. Utiliza la cinética de Michaelis-Menten, considerando la expresión límite de primer orden. 	Webster y Shuler [18]	<ul style="list-style-type: none"> Hidrólisis de Urea en un reactor de fibra hueca (estado transitorio) Cálculo del reactor aplicado la solución analítica de la ecuación diferencial. Fue necesaria la utilización de Macros, la herramienta "Buscar objetivo" y las funciones de Bessel.
CSTR-fibra hueca	<ul style="list-style-type: none"> El sistema en su totalidad se comporta como un CSTR con mezcla ideal Las limitaciones de transferencia de masa y la adsorción de enzima en la membrana son despreciables Cinética de Michaelis - Menten para una reacción con un solo substrato limitativo y sin inhibición. 	Deeslie y Cheryan [4]	<ul style="list-style-type: none"> Hidrólisis de proteínas de alto peso molecular en un biorreactor CSTR - HF² Solución directa en las celdas de ecuaciones algebraicas. Se ideó una Macro con el fin de graficar el resultado para diferentes valores de concentración de enzima.

** HF: HOLLOW FIBER - FIBRA HUECA

Cuadro 4. Modelos matemáticos para biorreactores con separación integrada de producto.

Biorreactor	Simplificaciones	Bibliografía	Ejemplos
Biorreactor con diálisis Sistema A: Alimentación al circuito del efluente con el circuito del fermentador Sistema B: Alimentación y efluente únicamente en el circuito del diálizado	<ul style="list-style-type: none"> Mezcla perfecta tanto en el circuito de diálizado como en el fermentador. 	Stieber y Gerhardt[17]	<ul style="list-style-type: none"> Producción fermentativa de Lactato de Amonio a partir de Lactosa Solución directa de las ecuaciones algebraicas del modelo en las celdas de la hoja electrónica.
Biorreactor con extracción líquido-líquido	<ul style="list-style-type: none"> Operación isotérmica y a presión constante. Estado estacionario. Mezcla perfecta. Las fases líquidas se encuentran en equilibrio. El microorganismo no se reparte entre las dos fases líquidas, por lo que la reacción bioquímica sólo ocurre en la fase acuosa. La solubilidad de cualquier gas, introducido o producido en el biorreactor, es despreciable. Método UNIFAC para el equilibrio líquido-líquido. 	Fournier[6]	<ul style="list-style-type: none"> Producción de etanol a partir de glucosa por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> con dodecanol como solvente La solución del modelo implica un procedimiento de cálculo iterativo, el cual se realiza por medio de una Macro. Dentro del cálculo iterativo es necesaria también la solución de un sistema de ecuaciones algebraicas, el cual se resuelve mediante la herramienta "Solver".

III. SIMULACIÓN DE BIORREACTORES EN HOJA DE CÁLCULO

Microsoft Excel® como herramienta de cálculo, es apropiada para la solución de una gran variedad de modelos (cuadros 1-4), desde ecuaciones algebraicas sencillas hasta sistemas de ecuaciones diferenciales con problemas de valores de frontera, permitiendo no sólo la obtención de resultados numéricos, sino también la presentación de éstos en forma amena y organizada (figura 1), por medio de gráficos, dibujos esquemáticos del reactor, comentarios en las celdas, etc., que facilitan la comprensión de los fenómenos físicos y químicos, lo cual es clave para el diseño de reactores. La principal ventaja, en materia de programación y lenguajes de programación, es que permite reducir el código que se necesitaría para efectuar cálculos iterativos, a la simple ejecución de algunas utilidades numéricas de la hoja electrónica y a la programación lógica de la misma, dependiendo del caso (cuadros 1-4, ejemplos). Para modelos complicados, con ecuaciones diferenciales parciales o modelos de tanques en serie, puede resultar poco viable, puesto que se hace necesaria la elaboración de macros personales para ingeniar la forma de efectuar el cálculo. Por tanto, Microsoft Excel® es válido para la solución de modelos que puedan implementarse en forma sencilla y rápida.

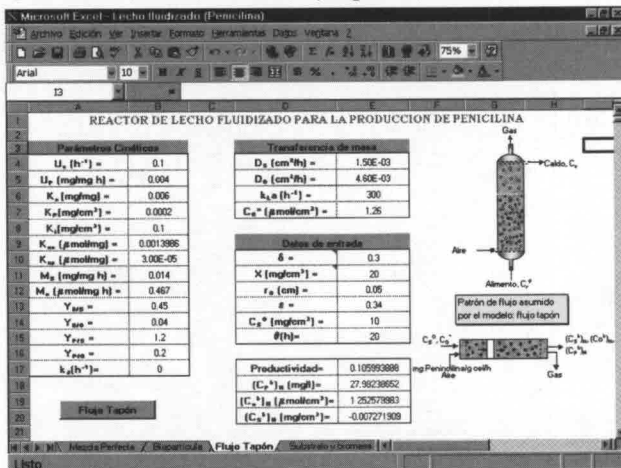


Figura 1. Archivo de Excel para el cálculo de un biorreactor de lecho fluidizado.

IV. MICROSOFT HTML HELP WORKSHOP® EN LA PRESENTACIÓN DIDÁCTICA DE MODELOS

Microsoft HTML Help Workshop® es un programa cuyo principal atractivo, al igual que Excel, es su fácil manejo y sus múltiples aplicaciones, sujetas a la imaginación y creatividad del usuario. Esta herramienta presenta la información como documentos HTML, organizados dentro de una estructura de árbol o tabla de contenido. El resultado obtenido ("Tutor de modelos matemáticos de biorreactores", figura 2), contiene los modelos distribuidos en el árbol, vínculos entre los modelos y sus soluciones numéricas en Excel, hipervínculos (útil especialmente cuando se mencionan ecuaciones tratadas en otros temas) y diferentes mecanismos de búsqueda. Las ventajas académicas son evidentes y muy ligadas a lo novedoso.

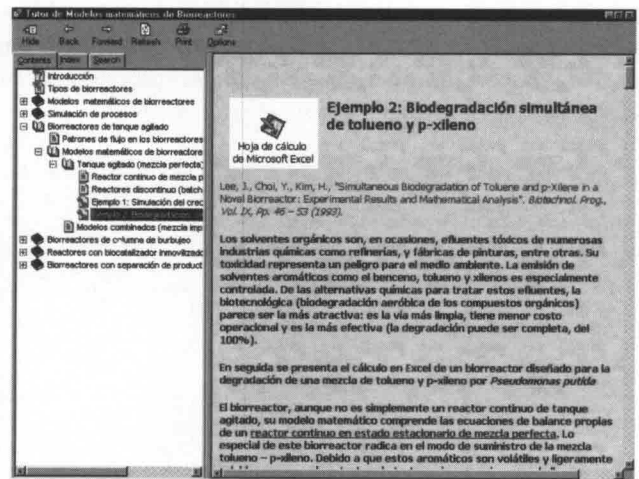


Figura 2. Presentación de modelos y ejemplos de cálculo en Microsoft HTML Help Workshop®.

CONCLUSIONES

El modelamiento matemático de biorreactores es clave en el diseño de bioprocesos. Microsoft Excel® como herramienta de cálculo es una buena alternativa, aunque tiene sus limitaciones. Microsoft HTML Help Workshop®, junto con Microsoft Excel®, son programas altamente disponibles con gran potencial en la elaboración de "Tutores" para la presentación didáctica de modelos matemáticos y simulación de procesos.

BIBLIOGRAFÍA

1. BAILEY, J. E. y OLLIS, D. F., *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2a. ed., McGraw-Hill International Editions, Chemical Engineering Series, pp. 614-617.
2. BURGOS, C., PRADILLA, M. A., "Reactores Bioquímicos: Modelos matemáticos y soluciones numéricas sobre una hoja electrónica". Proyecto de grado presentado al Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, para optar al grado de Ingeniera Química, 1999.
3. DALL-BAUMAN, L., ILIAS, S. y GOVIND, R., "Analysis of hollow fiber bioreactor wastewater treatment". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, Vol. 35: 837-842.
4. DEESLIE, W. D. y CHERYAN, M., "A CSTR-Hollow Fiber System for Continuous Hydrolysis of Proteins, Performance and Kinetics". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1981, Vol. 23: 2257-2271.

5. DUARTE, A., *Introducción a la Ingeniería Bioquímica*, 1a. ed., Unidad de Publicaciones de la Universidad Nacional de Colombia, 1995.
6. FOURNIER, R. L., "Mathematical Model of extractive Fermentation: Application to the production of ethanol". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, Vol. 28: 1206-1212.
7. KLEINSTREUER, C. y AGARWAI, S., "Analysis and Simulation of Hollow-Fiber Bioreactor Dynamics". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, Vol. 28: 1233-1240.
8. KLEINSTREUER, C. y POWEIGHA, T., *Adv. Biochem. Eng.*, 1983, Vol. 32.
9. LEE, J., CHOI, Y. y KIM, H., "Simultaneous Biodegradation of Toluene and p-Xylene in a Novel Bioreactor: Experimental Results and Mathematical Analysis". En: *Biotechnology Progress*, 1993, Vol. 9: 46-53.
10. LORTIE, R. y THOMAS, D., "Heterogeneous one-dimensional model for fixed bed enzyme reactors". En: *Biotechnology and bioengineering*, 1986, Vol. 28: 1256-1260.
11. MERCHUK, J. C. y STEIN, Y., "Distributed Parameter Model of an Airlift Fermentor". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1980, Vol. 22: 1189-1211.
12. _____, "A Distributed Parameter Model for an Airlift Fermentor. Effects of Pressure". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1981, Vol. 23: 1309-1324.
13. PARK, Y., DAVIS, M. E. y WALLIS, D. A., "Analysis of a Continuous, Aerobic, Fixed-Film Bioreactor I. Steady-State Behavior". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1984, Vol. 26: 457-467.
14. _____, "Analysis of a Continuous, Aerobic, Fixed-Film Bioreactor II. Dynamic Behavior". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1984, Vol. 26: 468-476.
15. PAUNOVIC, R., ZAVARGO, Z. y TEKIC, M., "Analysis of hollow fiber bioreactor wastewater treatment". En: *Chemical Engineering Science*, 1993, Vol. 48: 1069-1075.
16. SINCLAIR, C. G. y BROWN, D. E., "Effect of Incomplete Mixing on Analysis of Static Behaviour of Continuous Cultures". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1970, Vol. 12: 1001-1017.
17. STIEBER, R. W. y GERHARDT, P., "Dialysis Continuous Process for Ammonium Lactate Fermentation: Simulated and Experimental Dialysate-Feed, Immobilized-Cell Systems". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1981, Vol. 23: 535-549.
18. WEBSTER, I. y SHULER, M., "Whole-Cell Hollow-Fiber Reactor: Transient Substrate Concentration Profiles". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1981, Vol. 23: 447-450.