

SIMULACIÓN DE UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO MIEL DE ABEJAS COMO SUSTRATO

José Óngel Gómez², Hader Iván Castaño y Mario Arias¹.

Departamento de procesos químicos, Ingeniería Química, Facultad de Minas
Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín.

RESUMEN

El artículo describe la implementación de un modelo matemático para la simulación de una fermentación alcohólica utilizando miel como sustrato. Para realizarla, los datos cinéticos fueron ajustados a ecuaciones de curvas con las cuales se calcularon las respectivas derivadas de las concentraciones en el tiempo, con el objetivo de calcular las velocidades específicas de crecimiento y formación de producto; una vez hecho esto, se procedió a evaluar el ajuste de los diferentes modelos de inhibición, tanto de sustrato como de producto sobre la cinética del proceso, hallando que el modelo que más se ajustó fue el exponencial, trabajando también modelo lineal, parabólico, etc. Con las ecuaciones para μ (velocidad específica de crecimiento de biomasa) y v (velocidad específica de formación

de producto) encontradas, se procedió a realizar los balances de masa, con el propósito de plantear el modelo de ecuaciones diferenciales de primer orden y con condiciones iniciales dadas. Este sistema se resolvió por métodos numéricos utilizando el algoritmo de Euler modificado para lo cual se requirió elaborar un programa en computador y, de esta manera, se encontró el comportamiento de la fermentación simulada, para su posterior confrontación con los datos experimentales.

(1) Profesor Universidad Nacional de Colombia. A quien se puede enviar correspondencia. Decanatura de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín. A.A. 3840. Fax 260 44 89. Medellín Col. E-mail~: mearias@perseus.unalmed.edu.co

(2) Corporación Biotec - Universidad del Valle, E-mail: jocastri@mafalda.univalle.deu.co\fs24 .

INTRODUCCIÓN

En este trabajo se realizó la simulación de una fermentación alcohólica utilizando los datos cinéticos de 9 fermentaciones de miel de abejas por levaduras *Saccharomyces cerevisiae* donde se variaron parámetros como: grado de agitación, adición o no de nutrientes, concentración inicial de inóculo y de sustrato, buscando las mejores condiciones cinéticas, datos que se encuentran en la tesis de grado de Castaño y Gómez (5). Se adaptó el modelo matemático de cada proceso fermentativo mediante ajuste de los datos experimentales, luego se calcularon las derivadas de las concentraciones de producto, sustrato y biomasa y con base en ellas se determinaron las velocidades específicas de crecimiento celular, formación de producto y consumo de sustrato y luego se calcularon los parámetros energéticos (8). A partir de la información antes calculada se pudo establecer el modelo cinético teniendo en cuenta las inhibiciones por producto, sustrato y biomasa. Posteriormente, se realizaron los balances de masa para el producto, sustrato y biomasa. Una vez establecido el modelo cinético que mejor representa a todas las fermentaciones se pasó a resolver el sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden dadas las condiciones iniciales. Se utilizó el método numérico de Euler modificado y luego se elaboró un programa utilizando el compilador MS DOS Qbasic versión 6.2.

MODELAMIENTO Y SIMULACIÓN

La construcción de un modelo bioquímico se basa, generalmente, en un número reducido de datos y una gran cantidad de hipótesis con respecto a las reacciones biológicas.

Kleinstuever y otros, citados por Mayer (8), afirman que los modelos matemáticos pueden basarse en datos experimentales, en principios determinísticos o en fenómenos estocásticos. Los modelos empíricos sirven de traductores de las observaciones experimentales. El enfoque empírico es hecho con análisis estadístico y técnicas de ajuste de curvas. En los modelos determinísticos imperan las representaciones matemáticas discretas, fenómenos físicos y

bioquímicos, como balances de energía y masa en un volumen de control fijo, bien sea con la ayuda de balances diferenciales o integrales. Los modelos estocásticos son los más indicados para estimar el comportamiento de los sistemas bioquímicos complejos. Ellos admiten elementos aleatorios que los transforman en presentaciones probabilísticas del fenómeno en estudio, que pueden ser bastante útiles cuando no se tiene información suficiente al respecto.

En el caso de procesos bioquímicos se usa casi exclusivamente el modo determinístico de análisis con la introducción de submodelos empíricos, como es el caso de las ecuaciones que describen la cinética bioquímica.

La construcción de un modelo bioquímico se basa, generalmente, en un número reducido de datos y una gran cantidad de hipótesis con respecto a las reacciones biológicas.

Desde otro punto de vista, varios autores dividen los modelos en estructurados y no estructurados. Esener citado por (8), expresa que los modelos no estructurados ignoran las variaciones fisiológicas de las células, debido a las modificaciones de las condiciones ambientales durante el proceso bioquímico. Esto permite inferir que una cantidad total de biomasa en el sistema no es suficiente para especificar la actividad biológica responsable de las reacciones. Monod relaciona una característica ambiental (concentración de sustrato) con una característica interna del microorganismo (tasa específica de crecimiento) como una función hiperbólica de la concentración de sustrato en el medio. El modelo anterior de Monod es no estructurado, en él la idea de la población homogénea sustituye la

existencia del microorganismo individual, en donde los efectos de crecimiento y reproducción son igualados a un único efecto representado por el aumento de biomasa.

Las restricciones a los modelos cinéticos no estructurados son debidas a regímenes transientes. El hecho de que el metabolismo celular no responda inmediatamente a perturbaciones del medio se explica porque las células poseen mecanismos adaptativos a las condiciones impuestas al cultivo y se requieren otros modelos para describir los sistemas en

donde las células no están en equilibrio con el medio.

Uno de los caminos para solucionar este problema es el uso de los modelos estructurados, que tienen en cuenta las variaciones en la composición del estado fisiológico de las células a lo largo del proceso bioquímico, debido a los mecanismos de regulación metabólica ocasionados por las alteraciones del medio. Los procesos están descritos basados en el análisis de DNA, RNA, proteína total, lípidos, etc.

Los modelos estructurados se basan en los análisis de los procesos internos de la biomasa introduciéndolos en el

mecanismo de la cinética bioquímica, en donde la actividad microbiana es consecuencia de la adaptación del microorganismo al medio a través de regulaciones metabólicas y la composición macromolecular de la célula.

La complejidad matemática de los modelos estructurados los torna inadecuados para aplicaciones prácticas, debido a que no están lo bastante definidas las técnicas de laboratorio para definir fielmente comportamiento celular in vivo. El modelamiento y la simulación son métodos definitivamente involucrados en la investigación de procesos bioquímicos, donde los modelos

matemáticos son actualmente en su mayoría, simplificaciones de un número limitado de situaciones específicas.

Otra solución fue la introducción de términos temporales a los modelos no estructurados, como constantes características de tiempo que determinan los atrasos verificados en las interacciones con el medio.

El análisis de procesos fermentativos puede realizarse de dos formas: la primera es empíricamente, con adquisición de información de un proceso a partir de cierto número de ensayos. Este análisis es inadecuado para procesos complejos donde se requiere gran número de determinaciones experimentales. La segunda, por medio de modelamiento y simulación, es utilizada cuando la técnica experimental resulta inoperante; esta técnica se ha visto fortalecida por los adelantos de la tecnología digital en el campo de la instrumentación y el control. A través de un pequeño número de ensayos se extrae suficiente información para definir un conjunto de ecuaciones matemáticas que representen el proceso. Los modelos matemáticos están basados en consideraciones teóricas, simplificaciones, balances de masa, energía y observaciones de los datos experimentales. Debido a las limitaciones existentes del conocimiento fundamental respecto de los procesos fermentativos, el modelamiento debe afrontarse como una representación simplificadora de los fenómenos que realmente ocurren en el proceso.

El objetivo básico del modelamiento y simulación consiste en determinar un modelo matemático adecuado para representar el proceso bajo las condiciones operacionales habidas.

SIMULACIÓN DEL PROCESO

MODELAMIENTO

Cálculo de las velocidades específicas experimentales.

Utilizando los principales modelos de inhibición por sustrato y producto reportados en la literatura para fermentación alcohólica, se

El análisis de procesos fermentativos puede realizarse de dos formas: la primera es empíricamente, con adquisición de información de un proceso a partir de cierto número de ensayos.

calculan los valores de los parámetros cinéticos a partir de trabajos experimentales (5).

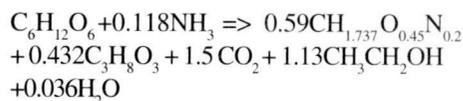
Por definición :

$$\mu = r_x/X = (1/X).dX/dt \quad (1)$$

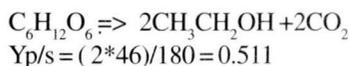
$$v = r_p/X = (1/X).(dP/dt) \quad (2)$$

Cálculo de los parámetros energéticos.

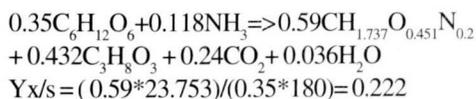
Según Battley citado por Mayer (8): La reacción global que ocurre en medio anaerobio cuando las células de *Saccharomyces cerevisiae*, tienen disponibilidad de glucosa en concentraciones superiores a 10 g/l, puede ser representada por la ecuación:



El cálculo de los coeficientes estequiométricos $Y_{x/s}$ y $Y_{p/s}$ necesitan de otra ecuación química, en este caso, la ecuación de la reacción teórica de Gay Lussac. Esta reacción de transformación de glucosa en etanol, define directamente el valor de $Y_{p/s}$.



Con la ayuda de la ecuación de Gay Lussac en la ecuación anterior, se calcula el valor de $Y_{x/s}$.



Definición del modelo cinético.

En la definición del modelo cinético de la fermentación alcohólica se debe tener en cuenta los diferentes efectos inhibitorios que han sido citados por la bibliografía, como son las inhibiciones debidas a producto, sustrato y biomasa. Es así como a la hora de cuantificar estos efectos sobre las velocidades específicas de crecimiento celular y formación de producto se pasa de un modelo tipo Monod, donde μ y v se definen de la siguiente forma:

$$\mu = f(S) \quad (3).$$

$$v = g(S) \quad (4).$$

donde:

$$f(S) = \mu_{max} \cdot (S / (K_s + S)) \quad (5).$$

$$g(S) = v_{max} \cdot (S / (K_{s'} + S)) \quad (6).$$

a un modelo de la forma:

$$\mu = f(S, P, X) \quad (7).$$

$$v = g(S, P, X) \quad (8).$$

$$\mu = \mu_{max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot f(S) \cdot f(P) \cdot f(X) \quad (9)$$

$$v = v_{max} \cdot (S / (K_{s'} + S)) \cdot g(S) \cdot g(P) \cdot g(X) \quad (10).$$

Es gracias a la propiedad que tienen estas funciones de describir los efectos de cada variable en forma multiplicativa, utilizándose como factor de corrección de las ecuaciones (5) y (6), que los efectos de tales inhibiciones son no competitivos.

Para efectos de modelamiento, las funciones $f(X)$ y $g(X)$ se despreciarán, debido a que para los niveles de concentración de levadura alcanzados el efecto inhibitorio es nulo, transformándose las ecuaciones de velocidades específicas (9) y (10) en las ecuaciones:

$$\mu = \mu_{max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot f(S) \cdot f(P) \quad (11)$$

$$v = v_{max} \cdot (S / (K_{s'} + S)) \cdot g(S) \cdot g(P) \quad (12)$$

El término hiperbólico de la concentración de sustrato se aproxima a uno, tanto para la ecuación (11) como para la (12), ya que $S \gg K_s$ y $K_{s'}$.

Por lo tanto:

$$\mu = \mu_{max} \cdot f(P) \cdot f(S) \quad (13).$$

$$v = v_{max} \cdot g(P) \cdot g(S) \quad (14).$$

Comúnmente:

$$f(P) = \exp(-K_p \cdot P) \quad (15)$$

$$g(P) = \exp(-K_{p'} \cdot P) \quad (16)$$

El efecto inhibitorio por sustrato sólo se tuvo en cuenta para concentraciones mayores de 100 g/L.

El modelo que mejor se ajustó al comportamiento experimental fue el siguiente:

$$\mu / f(P) = \mu_{\max} \cdot \exp(-K_f (S - 100)) \quad (17)$$

$$v / g(P) = v_{\max} \cdot \exp(-K_g (S - 100)) \quad (18)$$

Los modelos cinéticos para las velocidades específicas de crecimiento de microorganismo y formación de producto, teniendo en cuenta las funciones $f(P)$ y $f(S)$ sobre μ y $g(P)$ y $g(S)$ sobre v se presentan así:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot \exp(-K_p \cdot P) \quad S < 100 \text{ g/l} \quad (19)$$

$$\mu = \mu_{\max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot \exp(-K_p \cdot P) \cdot \exp(-K_f (S - 100)) \quad S > 100 \text{ g/l} \quad (20)$$

$$v = v_{\max} \cdot (S / (K_s' + S)) \cdot \exp(-K_p' \cdot P) \quad S < 100 \text{ g/l} \quad (21)$$

$$v = v_{\max} \cdot (S / (K_s' + S)) \cdot \exp(-K_p' \cdot P) \cdot \exp(K_g (S - 100)) \quad S > 100 \text{ g/l} \quad (22)$$

El efecto inhibitorio del sustrato en el modelo que tiene en cuenta el efecto adverso del etanol, disminuye poco el valor de μ_{\max} y v_{\max} . Debido a esto, se despreciaron los efectos inhibitorios de sustrato sobre la cinética, transformando las ecuaciones (20) y (22) en las ecuaciones:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot \exp(-K_p \cdot P) \quad (23)$$

$$v = v_{\max} \cdot (S / (K_s' + S)) \cdot \exp(-K_p' \cdot P) \quad (24)$$

Para los efectos de simulación se trabajó con el valor medio de los parámetros cinéticos (μ_{\max} , v_{\max} , K_p y K_p'), obtenidos de cálculos con las ecuaciones reportadas en la literatura para inhibición por sustrato y producto (5), de las fermentaciones primera a octava, las cuales utilizaron el mismo tipo de miel. Para la simulación novena se tomó como valor de los parámetros cinéticos los propios, debido a la naturaleza diferente de la miel utilizada en relación con las otras fermentaciones.

Balance de biomasa.

$$d(V \cdot X) / dt = \mu \cdot X \cdot V - K_d \cdot X \cdot V \quad (25)$$

$$d(V \cdot X) / dt = V \cdot dX / dt + X \cdot dV / dt \quad (32)$$

Despreciando el término que tiene que ver con la pérdida de viabilidad celular (K_d), la ecuación (25) se reduce a:

$$dX / dt = \mu \cdot X \quad (26)$$

Balance de producto.

$$d(P \cdot V) / dt = v \cdot X \cdot V \quad (27)$$

En forma análoga al balance de biomasa

$$dP / dt = v \quad (28)$$

Balance de sustrato.

$$d(V \cdot S) / dt = -(\mu \cdot X \cdot V / Y_{x/s} + v \cdot X \cdot V / Y_{p/s} + m \cdot X \cdot V) \quad (29)$$

análogo a los balances anteriores:

$$dS / dt = -(\mu \cdot X / Y_{x/s} + v \cdot X / Y_{p/s} + m \cdot X) \quad (30)$$

Despreciando el término de energía de mantenimiento m , de acuerdo con Núñez de Vasconcelos (11) obtenemos:

$$dS / dt = -(\mu \cdot X / Y_{x/s} + v \cdot X / Y_{p/s}) \quad (31)$$

Se debe hacer énfasis en que los coeficientes $Y_{x/s}$ y $Y_{p/s}$ no son rendimientos del proceso, sino coeficientes estequiométricos.

Introduciendo los modelos cinéticos para μ y v en las ecuaciones de balance (26), (28) y (31), se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden:

$$dX / dt = \mu_{\max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot \exp(-K_p \cdot P) \cdot X \quad (32)$$

$$dP / dt = v_{\max} \cdot (S / (K_s' + S)) \cdot \exp(-K_p' \cdot P) \cdot X \quad (33)$$

$$dS / dt = -(\mu_{\max} \cdot (S / (K_s + S)) \cdot \exp(-K_p \cdot P) / Y_{x/s} + v_{\max} \cdot (S / (K_s' + S)) \cdot \exp(-K_p' \cdot P) / Y_{p/s}) \cdot X \quad (34)$$

con condiciones iniciales:

$$X(0) = X_0$$

$$P(0) = 0$$

$$S(0) = S_0$$

Los valores de las constantes de saturación K_s y K_s' utilizados en la simulación son: 0.5 y 1.0 g/l respectivamente (16).

RESULTADOS DE LA SIMULACIÓN

Al final del artículo se presentan los gráficos 1 al 9 para el mismo número de fermentaciones donde se han representado los valores simulados y los experimentales como función del tiempo.

ANÁLISIS DE LA SIMULACIÓN

El comportamiento de los valores simulados para la concentración de sustrato fue para todas las fermentaciones mayor que los experimentales presentando la misma tendencia. En la quinta fermentación se presentó una desviación en un intervalo de tiempo corto de acuerdo con el comportamiento citado anteriormente durante las tres primeras horas del proceso. Las fermentaciones en las cuales se observó un mejor ajuste entre el valor simulado y el experimental de concentración de sustrato fueron la cuarta, sexta y séptima. Para las fermentaciones primera, tercera y quinta el ajuste fue aceptable en lo que respecta a la concentración de sustrato y guardaron la misma tendencia, como se observa en sus respectivas gráficas. En las fermentaciones segunda y novena, pese a presentar el mismo comportamiento, las desviaciones fueron altas.

Realizando el análisis de la concentración de etanol simulada versus la experimental, se observó como en todas las fermentaciones, excepto la séptima, el valor simulado fue menor que el experimental. Se presentó un buen ajuste entre los datos, menos en la segunda fermentación donde al inicio hay una gran diferencia entre el valor simulado y el experimental.

Se observó para el comportamiento de la biomasa de las fermentaciones primera, segunda y cuarta, que la concentración simulada fue ligeramente mayor al valor experimental; para las fermentaciones tercera, séptima y quinta se presentó un muy buen ajuste, y para las fermentaciones sexta y novena, la concentración de biomasa simulada fue mayor que la experimental, pero presentando buen ajuste ya que guardaron la misma tendencia a lo largo del desarrollo fermentativo.

Se hizo un análisis global del grado de predicción de la cinética simulada con respecto a la experimental, observándose cómo los parámetros cinéticos utilizados para μ y v se ajustaron de una forma adecuada al comportamiento de las variables del proceso.

No obstante utilizar unos coeficientes cinéticos medios para el proceso de fermentación de miel, se observó cómo el ajuste de la simulación para cada una de las fermentaciones con condiciones de proceso diferentes que se traducen en condiciones cinéticas diferentes fue aceptable.

CONCLUSIONES

- El modelo de inhibición exponencial fue el más conveniente para describir la cinética de inhibición por producto y sustrato sobre las velocidades específicas de crecimiento y formación de producto.
- Los valores de las constantes de inhibición de etanol sobre μ y v son muy similares entre sí, siendo un poco mayores los encontrados para μ . Las diferencias entre éstos se debe al hecho de que las condiciones de proceso para cada fermentación fueron diferentes, lo que se traduce en respuestas distintas en la actividad metabólica.
- El efecto de inhibición por sustrato no se tuvo en cuenta a la hora de modelar el proceso, pues se observó que tal efecto no tenía una marcada influencia sobre la cinética del proceso.

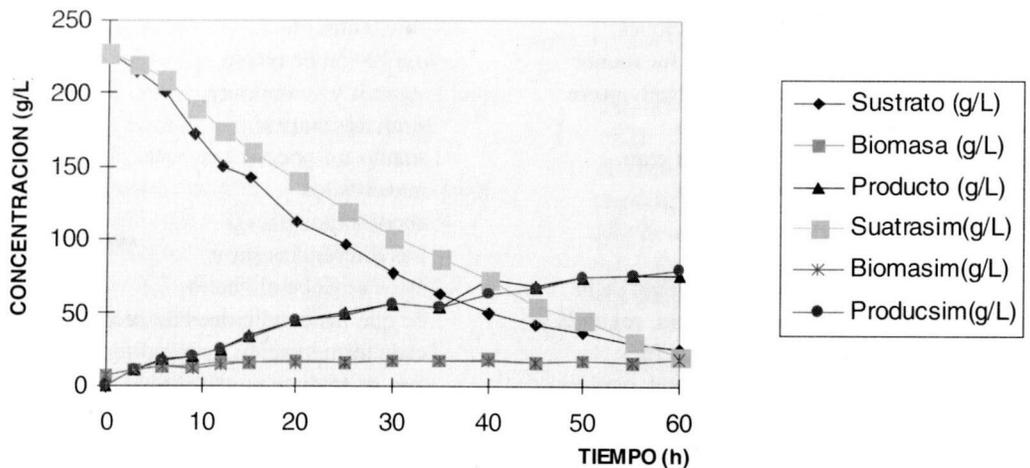
El modelo de inhibición exponencial fue el más conveniente para describir la cinética de inhibición por producto y sustrato sobre las velocidades específicas de crecimiento y formación de producto.

- El modelo propuesto para efectos de simulación describió de una forma adecuada la cinética experimental del proceso.
- Los parámetros energéticos son factores importantes en la definición del modelo matemático para la fermentación alcohólica; el uso de valores constantes puede resultar en desviaciones significativas entre los datos simulados y los experimentales, ya que estos parámetros varían al cambiar las condiciones metabólicas al estar cambiando las condiciones ambientales del proceso.
- Se presentó un buen ajuste entre los datos simulados y experimentales, aun utilizando parámetros cinéticos medios para efectos de la simulación, con el propósito de utilizar un modelo general que describa todas las cinéticas, en lugar de individualizar cada simulación bajo las condiciones específicas para cada fermentación.

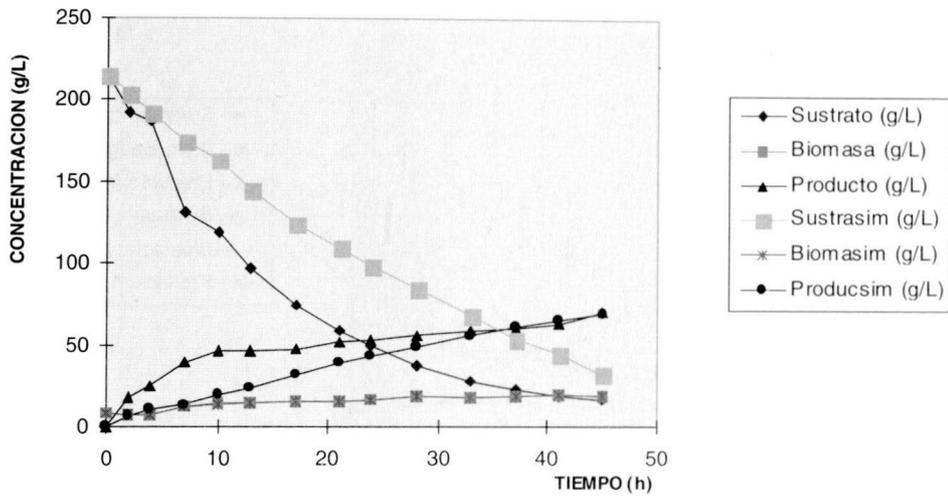
Para efectos de simulación, la novena fermentación requirió utilizar los parámetros cinéticos propios, debido a la naturaleza distinta del tipo de miel en relación con las otras fermentaciones.

Los terminos presentados en las gráficas 1 a la 9 corresponden a:

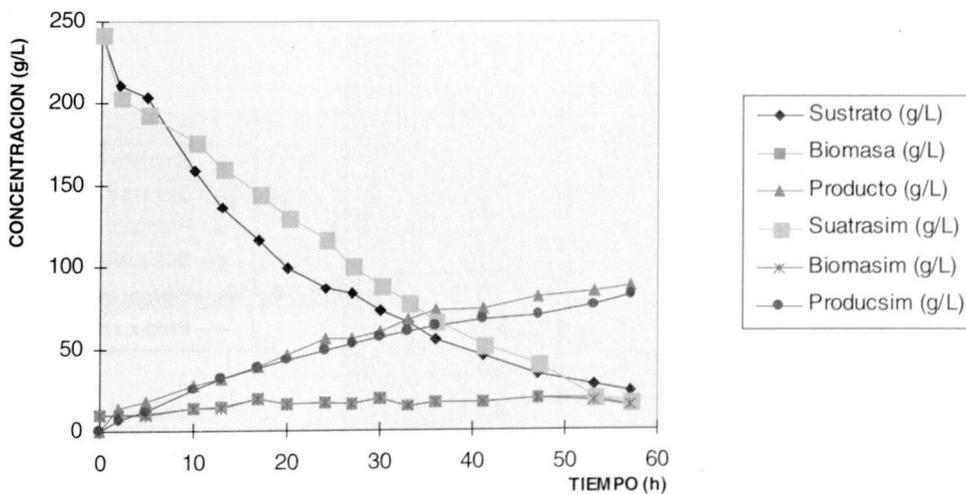
- Sustrato: datos cinéticos de la concentración de sustrato en el tiempo.
- Biomasa: datos cinéticos de la concentración de biomasa en el tiempo.
- Producto: datos cinéticos de la concentración de producto en el tiempo.
- Suatasim: datos de la simulación de la concentración de sustrato en el tiempo.
- Biomasim: datos de la simulación de la concentración de biomasa en el tiempo.
- Producsim: datos de la simulación de la concentración de producto en el tiempo.



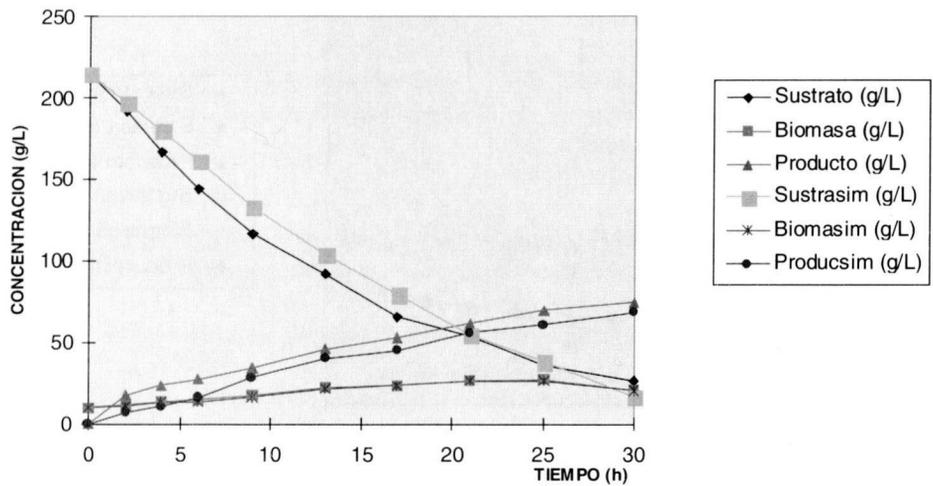
GRAFICA 1 SIMULACION FERMENTACION NUMERO UNO



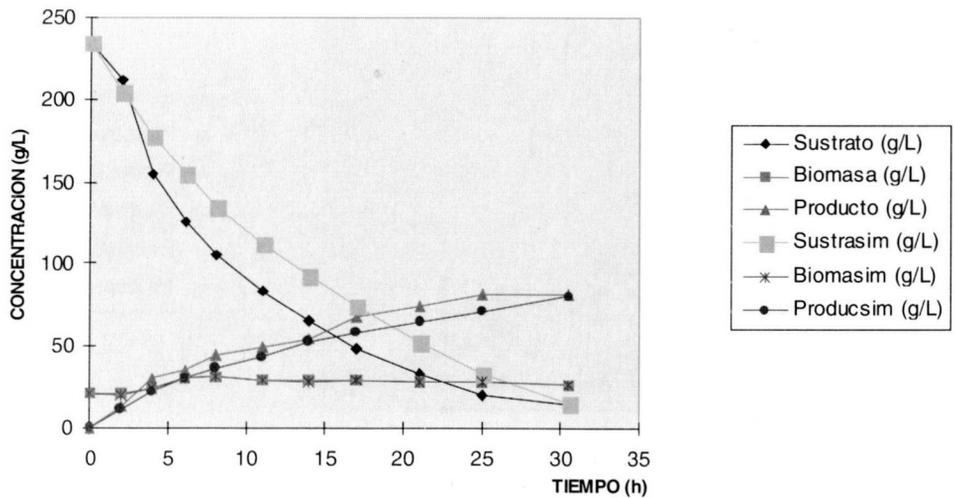
GRAFICA 2 SIMULACION FERMENTACION NUMERO DOS



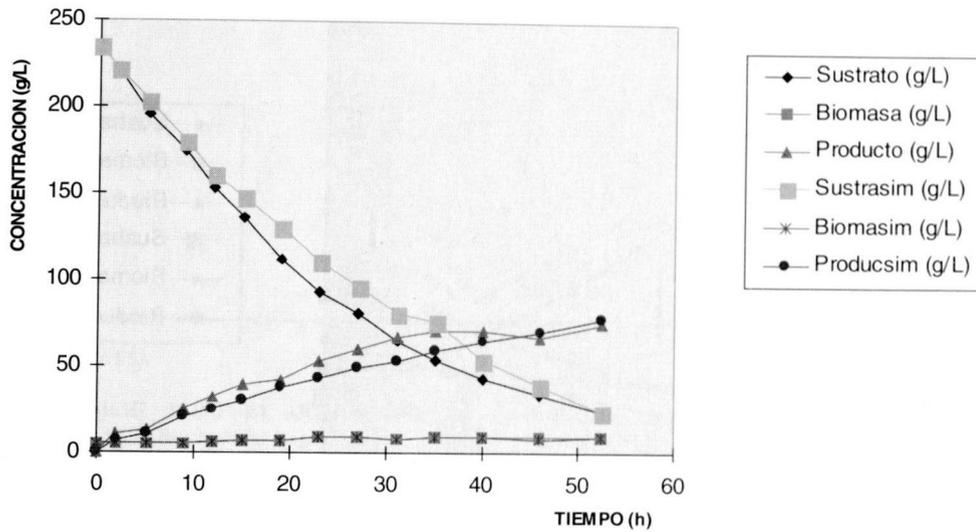
GRAFICA 3 SIMULACION FERMENTACION NUMERO TRES



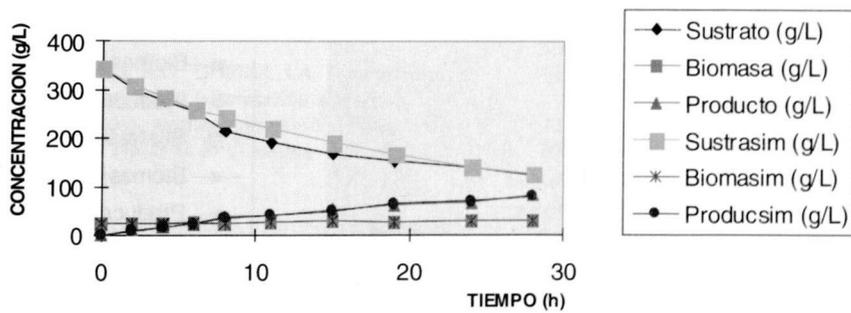
GRAFICA 4 SIMULACION FERMENTACION NUMERO CUATRO



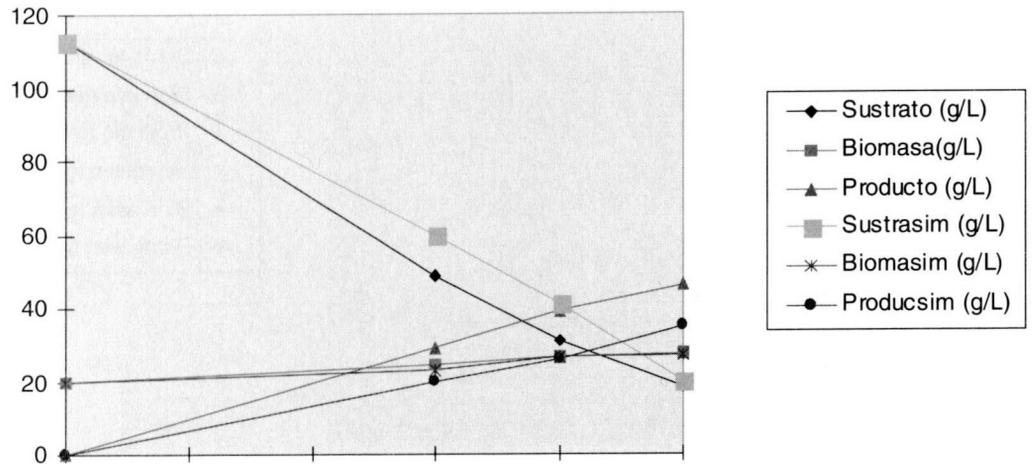
GRAFICA 5 SIMULACION FERMENTACION NUMERO CINCO



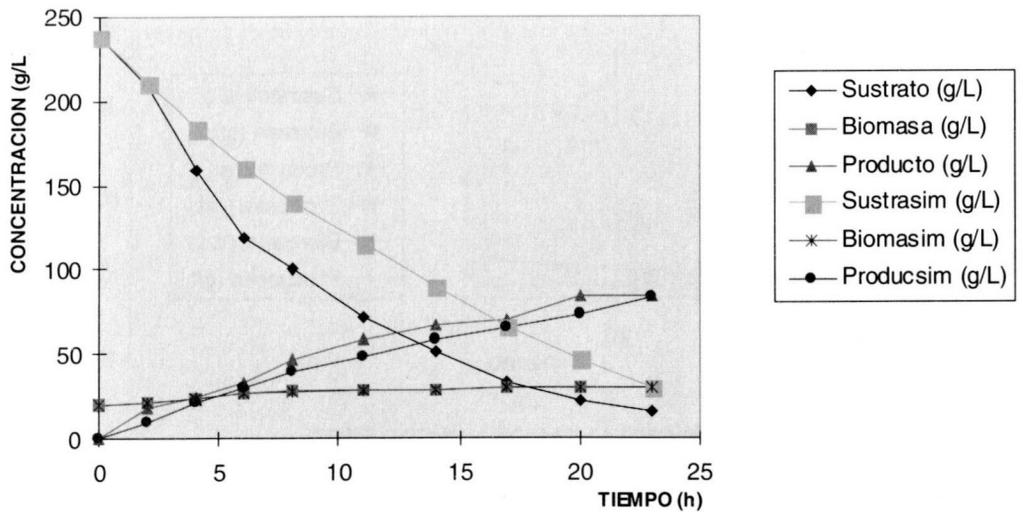
GRAFICA 6 SIMULACION FERMENTACION NUMERO SEIS



GRAFICA 7 SIMULACION FERMENTACION NUMERO SIETE



GRAFICA 8 SIMULACION FERMENTACION NUMERO OCHO



GRAFICA 9 SIMULACION FERMENTACION NUMERO NUEVE

BIBLIOGRAFÍA

1. AIBA, SUICHI, HUMPREY, ARTHUR AND MILLIS, NANCY. Biochemical Engineering. 2ª ed. New York. Academic Press. 1973.
 2. ARIAS, MARIO y QUICAZAN MARTA. Manuscrito de antecedentes del Proyecto Hidromiel. Medellín 1992.
 3. BAILEY, JAMES AND DAVID, OLLIS. Biochemical Engineering Fundamentals. 2ª ed. New York. Mc Graw Hill. 1986.
 4. CONVERTI, ATILIO Y OTROS. A kinetic study of saccharomyces strain: performance at high sugar concentrations. Biotechnology and Bioengineering. New York. Vol 27. Pp 1108-1114. aug.1985.
 5. CASTAÑO, H.I., GOMEZ. J.A. Estudio cinético y simulación de una fermentación alcohólica utilizando como sustrato miel. Tesis de pregrado Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 1995
 6. JONES, R.P. Y OTROS. Alcohol fermentation by yeast- the effects of enviromental and other variables. Process Biochemistry. Pp 42-49. April/ may 1981.
 7. LUONG J. H T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. Biotechnology and Bioengineering. New York. Vol 27. Pp. 280-285. 1985.
 8. MAYER, ANNE FRANCOISE. Modelagem e simulacao de uma fermentacao alcoólica em batelada alimentada. Tese para obtencao do título de mestre en ciencias. URFJ. Brasil, 1986.
 9. MOULIN , HELENE BOZE Y OTROS. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. Biotechnology and Bioengineering. New York. Vol 22. Pp. 2375-2381. 1980.
 10. NOVAK, M. Y OTROS. Alcoholic fermentation: on the inhibitory effect of ethanol. Biotechnology and bioengineering. New York. Vol 23. Pp. 201-211. 1981.
 11. NUNEZ DE VASCONCELOS, JOAO. Operacao e simulacao do processo de fermentacao alcoólica en batelada alimentada com vazao variavel de alimentacao. Tese para obtencao do título de mestre en ciencias. UFRJ. 1987.
 12. PIRT, S. J. Principles of microbe and cell cultivation. Blackwell scientific publications. London. 1975.
 13. SINCLAIR C.G. y L. Kristiansen. fermentation kinetics and modeling. Edited by J.D.Bu'lock. London 1987.
- 1 Profesor Universidad Nacional de Colombia. A quien se puede enviar correspondencia. Decanatura de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. A.A. 3840. Fax 260 44 89. Medellín Col. E-mail: mearias@perseus.unalmed.edu.co (2) Corporación Biotec - Universidad del Valle, E-mail: jocastri@mafalda.univalle.deu.co