

APROXIMACIÓN INGENIERIL AL MODELAMIENTO DE SISTEMAS BIOTECNOLÓGICOS

Alfredo Palomino I.*

Facultad de Química e Ingeniería Química
UNMSM, Av. Venezuela s/n., Ciudad Universitaria, Lima - Perú.

Abstract: In this study we present a systematic approach the modelling of biotechnological processes, making use of the concept of hierarchical domains in order to apply the available modelling methods. In the same way, aimed at presenting a global vision of the modelling theory, an example is presented, where we apply the theory described here.

Key words: Modelling, biotechnology, bio processes, hierarchical levels.

Resumen: En este estudio presentamos una aproximación sistemática al modelamiento de procesos biotecnológicos, usando el concepto de jerarquización de dominios para la aplicación de los métodos de modelización disponibles. Así mismo, con el objeto de presentar una visión global de la teoría del modelamiento, se presenta un ejemplo, donde aplicamos la teoría descrita.

Palabras claves: Modelamiento, biotecnología, bioprocesos, niveles jerárquicos.

I. INTRODUCCIÓN

La teoría del modelamiento en general y en particular, de los sistemas biotecnológicos son vistos en este trabajo desde la perspectiva de jerarquía de dominios, lo cual constituye la base de nuestro análisis para la clasificación de métodos de modelamiento. Se presenta la descripción de un sistema biotecnológico, seguido de la aplicación de conceptos de grados de libertad y jerarquía de sistemas. Como colorarlo, presentamos un ejemplo dentro del dominio macromolecular, en el cual aplicamos la técnica de fenómenos de transporte. Las conclusiones extraídas ilustran cómo la correcta conceptualización de un problema conduce a resultados útiles para el diseño de bioprocesos.

II. SISTEMA BIOTECNOLÓGICO

Un sistema biotecnológico puede ser definido como aquel donde el cambio estructural de la materia se realiza mediante la participación de microorganismos o enzimas en un dominio determinado. Como tal, el sistema biotecnológico constituye un universo extremadamente grande de procesos que van desde las clásicas fermentaciones, hasta la producción de organismos transgénicos. En general, estos bioprocesos pueden ser descritos y analizados en términos de la información disponible y la técnica usada para su análisis. La calidad y eficiencia operacional dependerá de la cantidad de irreversibilidades contenidas, las cuales se miden en términos del promedio de vida media así como de la cantidad de información.

De un modo más general, los sistemas biotecnológicos se pueden clasificar como fermentaciones, procesos elementales fisiológicos y la acción de entidades vivientes. Además, las fermentaciones se pueden clasificar en dos grandes grupos: aquellos promovidos y catalizados por microorganismos o microbios (levaduras, bacterias, algas, mohos, protozoarios) y aquellos promovidos por enzimas (químicos producidos por microorganismos). En general, las fermentaciones son reacciones en las cuales una alimentación de materia prima orgánica se convierte en productos por la acción de microbios o por la acción de enzimas [1].

2.1. El modelamiento en biotecnología

La demanda de bioprocesos más eficientes requiere en gran medida de la aplicación de la ingeniería química. El modelamiento en general tiene características relevantes en el desarrollo de procesos porque mejora ostensiblemente las aproximaciones empíricas. El modelamiento igualmente mejora el entendimiento de los procesos. Los modelos robustos en general permiten la generación de procesos óptimos. En suma, la industria se beneficia del modelamiento mediante las aproximaciones sistemáticas, así como mediante la simulación.

El modelamiento es en sí mismo una tarea que demanda conocimiento detallado del sistema que se desea modelar, teniendo en cuenta el dominio donde se quiere describir el fenómeno o bioproceso, así como las técnicas de

* Email: alfalomino@hotmail.com

modelización e instrumental matemático para su solución.

2.2. Métodos de modelamiento

En general, las técnicas a aplicar para el modelamiento matemático están determinadas por las características del sistema que se quiere describir y de la elección del dominio sobre el cual se desea caracterizar un sistema. Aquí intentaremos una clasificación general de las técnicas de modelamiento en base a la aproximación jerárquica:

1. Modelamiento mediante aproximación empírica.
2. Modelamiento usando mecánica cuántica.
3. Modelamiento mediante dinámica molecular.
4. Modelamiento mediante el método de Monte Carlo.
5. Modelamiento mediante ecuaciones maestras.
6. Modelamiento mediante fenómenos de transporte.
7. Modelamiento mediante balance de población.

Los modelos mediante aproximación empírica constituyen ecuaciones de ajuste de datos empíricos mediante correlaciones propuestas. Este es esencialmente un modelo de caja negra, en el cual finalmente el modelo es obtenido usando el método de los "mínimos cuadrados" u otros métodos estadísticos conexos [6].

Los modelos de mecánica cuántica y de dinámica molecular se caracterizan por requerir de una teoría sólida en la mecánica cuántica y la mecánica estadística, que tiene interesantes aplicaciones en la biología molecular y la biotecnología; por ello, es posible ahora hablar de farmacogenómica y otros términos como el diseño de biomoléculas vía la aplicación del análisis atómico. Sin embargo, la relativa juventud de estas técnicas en la biotecnología hacen todavía difícil el uso extensivo de las mismas en este campo.

El método de Monte Carlo es un método estadístico para resolver problemas determinísticos o estocásticos. En contraste con los dos métodos anteriores, este método está basado en la determinación de las propiedades de equilibrio de un sistema. En la técnica

estándar de Monte Carlo no es posible tener información de la dinámica del sistema. Todo lo que la simulación de Monte Carlo intenta hacer es muestrear la distribución probable de equilibrio.

Por ejemplo, para un sistema con un número constante de partículas, a una temperatura y volumen dados, una simulación clásica de Monte Carlo podría muestrear la distribución de Boltzmann [9].

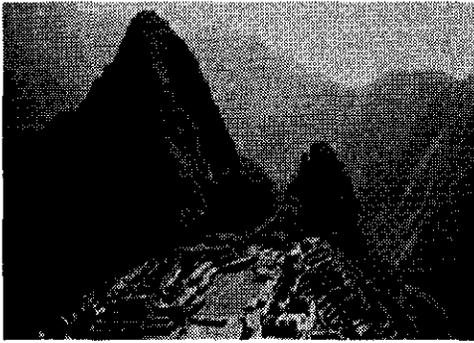
Fig. 1 Modelo de partículas de Boltzmann



$$P(r) = Z^{-1} \cdot \exp[-U^N(r)/(k_B T)] \quad (1)$$

Donde k_B es la constante de Boltzmann y Z es la función de partición configuracional que normaliza la distribución de probabilidad. Aquí U es la energía interna, que hasta hoy es calculada a partir de la teoría clásica de campo. Los promedios de cualquier propiedad molecular están dados por promedios sobre esta distribución. Es decir, las decisiones en los problemas de Monte Carlo no se realizan sobre la base de que el fenómeno en sí mismo ocurre, sino de que el fenómeno ocurre de acuerdo con un tipo de distribución dada. La distribución de la ocurrencia de un evento es usualmente una función más complicada que una distribución aleatoria plana simple. Esto significa que, si se desea obtener un resultado de valor usando el método de Monte Carlo, debemos disponer de un buen modelo, información acerca de las estadísticas de las entradas y, finalmente, un medio para hacer los cálculos repetidos; vale decir, el uso de las computadoras; de allí que no era del todo recomendable en un principio en relación con otros métodos (13).

Un cálculo de Monte Carlo en un modo ponderado; maneja más muestras donde el integrando es más grande. Además el cálculo es realizado sin la necesidad de calcular explícitamente el valor de la función de partición configuracional. La diferencia entre el muestreo



(a)



(b)

Fig.2. (a) Analogía de aplicación de Monte Carlo simple y (b) Monte Carlo ponderado

no ponderado y ponderado se muestra en la Fig.2. Esto implica que el muestreo ponderado equivale a un afinamiento que permite ver detalles que no son posibles percibir con el primer tipo.

Cabe remarcar que los ingenieros químicos han sido los líderes en la aplicación del método de Monte Carlo en la década pasada, antes incluso que los físicos y los químicos [9,14]. Otras técnicas derivadas de Monte Carlo son la Gran Canónica de Monte Carlo, Monte Carlo Configuracional Viciado, Monte Carlo Ensamble Semigrande y Reactivo [9].

Las ecuaciones maestras están basadas también en la teoría molecular; pero asumen estados de transición relativamente largos en los estados localizados y raramente saltan de dichos estados. Matemáticamente, esto se logra escribiendo una ecuación que describe cómo cambia la probabilidad de estar en un estado determinado con el tiempo [9]. Un ejemplo lo constituyen los patrones de difracción de las zeolitas con fallas planares.

El método de fenómenos de transporte con el cual es bastante más familiar el ingeniero de procesos, basa su análisis en la selección de un dominio denominado «volumen de control», en el cual se asume que la identidad del sistema es mantenida a nivel macromolecular y donde se aplican las ecuaciones de conservación de materia, energía y de cantidad de movimiento [6,7]. La solución de estos modelos usualmente requiere de las condiciones iniciales y/o de frontera, según la naturaleza del fenómeno; así mismo, puede requerir de las ecuaciones cinéticas y de equilibrio [7]. En esta exposición, haremos énfasis en el modelamiento vía este método por ser el más apropiado para el dominio elegido. La solución de estos modelos puede ser efectuado

analíticamente o usando técnicas numéricas si no es factible la primera.

El uso del concepto de balance poblacional al caso de sistemas de flujo y mezcla a nivel macroscópico se debe a P. V. Danckwerts [15] y está basado en el análisis de distribución de tiempos de residencia (RTD) para explicar las desviaciones de la idealidad. Esto es, la retromezcla, los flujos de *by-pass*, las zonas estancadas o muertas, etc. En muchos casos este método permite ajustar los resultados de la aplicación del método de fenómenos de transporte a situaciones no ideales. Cabe resaltar que en la ingeniería de bioprocesos encontramos con mayor frecuencia modelos que engloban las jerarquía del 3 al 5.

2.3. Análisis de grados de libertad

El estado de equilibrio de un ensamble constituido por el sustrato, nutrientes y los microorganismos o las enzimas que constituyen el sistema biotecnológico, puede ser estudiado eligiendo un elemento de volumen y usando el método de fenómenos de transporte; en el cual debemos de especificar el número de variables intensivas dictada por la regla de fases de Gibbs para una mezcla reactiva, la cual se escribe como:

$$f = c - p - r + 2 \quad (4)$$

donde, f representa el grado de libertad; c , número de componentes del sistema; p , es el número de fases; r , número de reacciones independientes y 2 representa a la temperatura y la presión.

Cuando se estudia sistemas de no equilibrio, se asume que el equilibrio local es alcanzado en todos los puntos dentro del sistema. Es decir, el estado del sistema en todos los

puntos está determinado, aun cuando el sistema en sí mismo no esté en equilibrio. La especificación de las fronteras del sistema y la posición en la representación del volumen diferencial, requiere de un marco de coordenadas de referencia o sistema coordinado, que representa una precondition para describir el proceso que tendrá lugar en el sistema elegido.

En general, el "grado de libertad" se puede definir como el número de incógnitas menos el número de ecuaciones independientes. Es decir, el grado de libertad representa el número de variables que pueden y deben ser prescritas para que el modelo sea determinado algebraicamente [7].

Como ejemplo, consideremos la necesidad de modelar un biorreactor de mezcla completa, con sustrato (S) limitante, generación de producto (P) y biomasa (X). Asumiendo que priman condiciones isotérmicas y velocidad de flujo (v_0), en un volumen de control (V), podemos establecer lo siguiente:

- a) Cuatro ecuaciones de balance de materia: 1. para el sustrato (S); 2. para la biomasa (X); 3., para el producto (P), y 4. para la acumulación del volumen (V).
- b) Tres ecuaciones de velocidad: 1. para el consumo de sustrato ($-r_s$); 2. para la generación neta de biomasa (r_x), y 3. para la generación de producto (r_p).
- c) Cinco variables independientes o de operación. Esto es: 1., flujo de entrada al bioreactor (v_0); 2., flujo de salida del biorreactor (v); 3., concentración de sustrato en alimentación (S_0); 4., concentración de biomasa en alimentación (X_0), y 5., concentración de producto en alimentación (P_0).

A partir de esta información, tenemos al aplicar (1).

$$f = 5 - 1 - 1 + 2 = 5$$

o, lo que es lo mismo,

$$f = \text{total de variables y ecuaciones} - \text{número de ecuaciones} = 12 - 7 = 5$$

III. MODELAMIENTO DE UN BIORREACTOR

Es sabido que el modelo matemático de un biorreactor debe reflejar la serie completa de fenómenos fundamentales, lo cual involucra el mecanismo de la reacción bioquímica, la cinética del crecimiento de los microorganismos

y los balances de materia, energía y cantidad de movimiento:

El análisis de la operación de biorreactores ha demostrado que la calidad de la operación depende de la interacción con un número de efectos fisicoquímicos y bioquímicos, los cuales están interrelacionados, y la interacción con fenómenos de varias naturalezas en un volumen espacial local y en el aparato como un todo.

La representación cuantitativa de estos procesos elementales y su interacción están basadas en la aplicación de las leyes fundamentales de la física, química y bioquímica, y está estructurada en la forma de un modelo matemático del sistema. La precisión de este modelo, vale decir su grado de aproximación a la verdadera descripción del fenómeno real complejo, depende de la precisión y validez de la representación de las leyes que describen los procesos elementales y su interacción. En menor grado, se manifiesta su dependencia de la precisión de evaluación experimental de los parámetros incorporados en el modelo matemático del proceso. En este trabajo, tomamos una representación jerárquica del dominio donde se desarrolla un bioproceso.

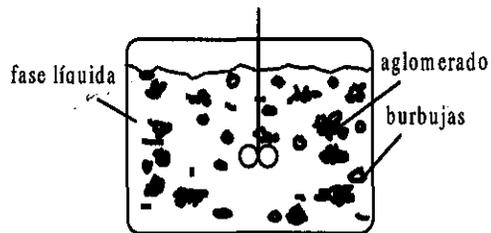


Fig. 3 Biorreactor multifase

Análisis jerárquico en el modelamiento de un biorreactor

1) Primer nivel

Este nivel está caracterizado por las condiciones de funcionamiento de las células individuales. El fenómeno de crecimiento celular es tratado como un proceso, tomando en consideración el fenómeno intracelular en su conjunto, puesto que una célula es generada en el medio, con características localmente identificadas. Estas características son determinadas por la cantidad de oxígeno disuelto en el microambiente de la célula y por la cantidad de sales alimentadas, así como sustratos que contienen carbono presente cerca de la envoltura celular [2].

2) Segundo nivel

El segundo nivel de la jerarquía consiste de la serie de efectos a nivel de los agregados (glóbulos). El crecimiento celular en un agregado, depende de las condiciones externas cambiantes. Esto se debe a que el interior de las células (dentro de un agregado) recibe menos oxígeno debido a efectos difusionales así como menor alimentación. La remoción de los productos del metabolismo desde estas células interiores es también difícil. Así, en general un aglomerado no se desarrolla de la misma manera que una célula individual [2].

3) Tercer nivel

Este nivel se caracteriza por el transporte de masa, energía y cantidad de movimiento a través de las interfaces del medio heterogéneo.

Como una causa inicial del surgimiento de flujos interfaciales de sustancias se puede postular un sistema en no equilibrio, el cual a su vez se puede dividir en varias formas: en desequilibrio con respecto a la composición, temperatura y velocidad; es decir, desigualdad de las velocidades de fase [2].

Los flujos de masa y energía gobiernan los cambios que tienen lugar en las fases continuas y dispersas, así como en otras características físicas y termodinámicas de las fases: viscosidad, densidad, capacidad calorífica, composición, temperatura, etc. Las variaciones en las características fisicoquímicas de las fases ejercen una influencia sobre el grado de perturbación del sistema heterogéneo con respecto al equilibrio. En esta jerarquía, el transporte interfacial de sustancias de todos los tipos se asume que proceden en un medio semiinfinito; es decir, los efectos de pared se asumen como ausentes.

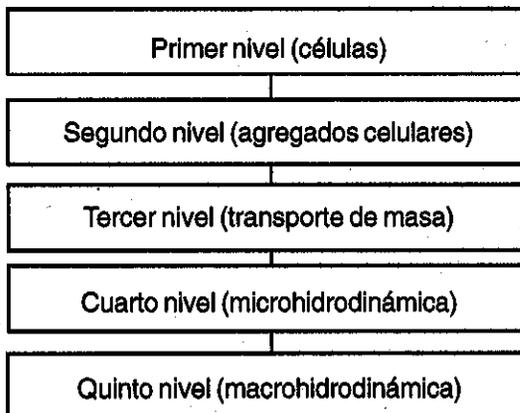


Fig. 4. Estructura jerárquica para el modelamiento de biorreactores

4) Cuarto nivel

Los fenómenos del cuarto nivel determinan el estado hidrodinámico en un volumen local del aparato y es natural usar los términos de hidrodinámica local para su caracterización. La hidrodinámica local se exhibe en un cierto volumen, el cual se considera que es elemental en vista de sus pequeñas dimensiones comparadas con el volumen total del aparato. Sin embargo, sus dimensiones son tales, que muchas aglomeraciones del medio disperso están contenidas en un elemento de volumen simple.

Los efectos examinados para el primer, segundo, tercer y cuarto nivel de esta estructura jerárquica están interrelacionados entre sí, y forman una serie completa de factores denominados microhidrodinámicos, los cuales afectan los procesos de transporte de sustancias en el sistema [2].

5) Quinto nivel

A esta jerarquía corresponde la hidrodinámica de macronivel. Estos fenómenos caracterizan la estructura hidrodinámica de las corrientes en el aparato como un todo y no en cualquier volumen individualmente localizado [2,3]. La hidrodinámica del biorreactor está definida por la característica de flujo dentro del mismo.

Estos factores incluyen las características geométricas del aparato, el arreglo de las taberas de entrada y salida, el tipo de mecanismos para mezclado y transferencia de calor, la presencia y forma de baffles, difusores, mecanismos de distribución, etc. El suministro de energía mecánica externa que va hacia la creación de mezcla mecánica en el sistema, intercambio de energía térmica. Esta topología origina la formación de flujos de *by-pass*, zonas muertas o estancadas, regiones de flujo laminar y turbulento o flujos de recirculación, etc. Todo esto, además del régimen de suministro de energía térmica, tiene impacto sobre el sistema.

IV. CASO DE MODELAMIENTO DE UN BIORREACTOR TIPO CSTR

Elegimos un caso de la ingeniería de bioprocesos para ilustrar la teoría que hemos expuesto aquí.

4.1. Descripción del problema

Consideremos el caso de un fermentador que opera bajo condiciones de mezcla completa sin

recirculación. Se pide modelar dicho sistema para condiciones de estado no estacionario tomando consideraciones relevantes al proceso.

Este proceso se presenta en el tratamiento de aguas negras, en la fermentación aeróbica, etc.

4.2. Consideraciones para el modelo

Por vía de simplificación, asumimos condiciones isotérmicas de operación y cinética de Monod. Así mismo, consideramos que la serie de reacciones bioquímicas se puede englobar vía una estequiometría simple de generación de productos estables a partir del sustrato. De este modo las cinco variables a estudiar en el proceso, mostrado en la sección (2.4), se reducen al análisis de sólo uno: el sustrato en el reactor de parámetro englobado CSTR. Luego, tomando el sustrato como la especie limitante, podemos escribir la ecuación de balance de materia para el biorreactor, usando la técnica de fenómenos de transporte para el nivel jerárquico 4.

4.3. Modelamiento del biorreactor

Aplicando balance de materia en el bioreactor tipo CSTR y con las consideraciones anotadas, obtenemos:

$$V \frac{dS}{dt} = v_o S_o - v_o S - (r_s \cdot V) \quad (5)$$

El balance de energía es irrelevante por tratarse de un sistema isotérmico. Así mismo, obviamos el balance de cantidad de movimiento por considerar que los efectos macroscópicos del gradiente de velocidades locales son despreciables.

La cinética de Monod, como sabemos es:

$$r_s = \frac{\mu_m \cdot S}{k_s + S} \quad (6)$$

de (5) y (6) queda:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_o - S) - \left(\frac{\mu_m S}{k_s + S} \right) \quad (7)$$

Con las condiciones iniciales,

$$S = S_o \text{ para } t = 0.$$

Resolviendo analíticamente la ecuación dinámica (7) y luego de aplicar condiciones límites se obtiene:

$$t = \frac{1}{2\alpha} \ln \left(\frac{\gamma \cdot S^2 + \beta \cdot S + \alpha}{\gamma \cdot S_o^2 + \beta \cdot S_o + \alpha} \right) + \frac{1}{\alpha \cdot \eta} \left[(k_s \cdot \alpha + \beta) \cdot \arctg \left(\frac{2\alpha \cdot S + \beta}{\eta} \right) - (k_s \cdot \alpha - \beta) \cdot \arctg \left(\frac{2\alpha \cdot S_o + \beta}{\eta} \right) \right] \quad (8)$$

donde:

$$\alpha = D \cdot k_s \cdot S_o$$

$$\beta = D S_o - D \cdot k_s \cdot \mu_m$$

$$\gamma = -D$$

$$\eta = \sqrt{4 \cdot \alpha \cdot \gamma - \beta^2}$$

Para condiciones de estado estacionario y cinética de primer orden, la ecuación diferencial (7) se convierte en la relación algebraica conocida.

$$S = \frac{S_o}{1 + (k_s / D)} \quad (9)$$

V. DISCUSIÓN

Observamos que mediante la ecuación (8) podemos calcular el tiempo requerido para alcanzar el estado estacionario, sin tomar en cuenta simplificación alguna respecto a la cinética de Monod. Luego de alcanzado el estado estacionario y tomando en consideración una cinética de primer orden, se hace uso de la ecuación (9) para determinar la conversión esperada para un valor dado del grado de dilución y constante de saturación conocida.

Por otro lado, a la luz de la aplicación del análisis jerárquico, el caso involucra la jerarquía de nivel cinco y subsecuentemente, podría ser necesario más afinamiento tomando en cuenta la hidrodinámica de macronivel, esto es, tomando el balance poblacional usando el concepto de RTD's. En efecto, en el modelamiento de reactores no ideales, esto es lo que se aplica, lo cual será presentado en la próxima comunicación.

VI. REMARQUES FINALES

1. El análisis jerárquico resulta ser un recurso de enorme utilidad para el modelamiento de biorreactores, pues permite una rápida discriminación de las técnicas para elegir la más apropiada.

2. Al presentar el análisis jerárquico como esquema de trabajo, se observa que para modelar fenómenos con integración jerárquica, es preciso hacer uso de la mecánica cuántica y

la mecánica estadística y los fenómenos de transporte o las otras técnicas de macroescala. Sin embargo, dependiendo de la filosofía del trabajo, podemos encontrar razones para prescindir de tal análisis global, en particular para procesos que no involucran situaciones fenomenológicamente relevantes a nivel de microescala.

3. El ejemplo presentado aquí permite mostrar el procedimiento sistemático de modelamiento de un bioproceso en base al análisis jerárquico. La técnica de fenómenos de transporte resulta ser de aplicación cómoda para el ejemplo analizado.

REFERENCIAS

- [1] Levenspiel, O. *Chemical Reaction Engineering*, Third Edit., John Wiley and Sons. USA.
- [2] Kafarov, V. Vinarov, A. and Gordeev, L. Modeling Bioreactors, *Internat. Chem. Eng.*, **27**, No 4, (615-641), Oct. 1987. USA.
- [3] Kafarov, V. Vinarov, A. and Gordeev, L. Modeling Bioreactors, *Internat. Chem. Eng.*, **28**, No 1, (14-35), Jan. 1988. USA.
- [4] Nishiwaki, A. and Dunn, I. Analysis of the Performance of a two-stage Fermentor with cell recycle for ethanol production using different kinetic models, *Biochemical Engineering Journal*, **4**, (37-44), Elsevier, Netherland.
- [5] Soca, N. y Pizarro, D. Modelos Cinéticos en el Diseño de Bioreactores, *Ingeniería Química*, Jun., (103-107), 1996. España.
- [6] Himmelblau, D. Y Bischoff, K. *Análisis y Simulación de Procesos*, Edit. Reverté, 757, 1976. España.
- [7] Palomino-Infante, A., Apuntes sobre Modelamiento Matemático, *UNMSM*, Jun. 2000, Lima, Perú.
- [8] Schuler L. And Weigand, W. Biochemical Engineering, *Annals of the New York Academy of Sciences*, **506**, (690), 1987, USA.
- [9] Demm, M. Recent Contributions of Statistical Mechanics in Chemical Engineering, *AIChE Journal*, Dec, 1998, **44**, No 12, (2569-2606), USA.
- [10] Lawler, J. The Principle of Irrelevance, *Nexial Journal*, Dec. 1998, USA.
- [11] Anderson, P., The Gruff Guru of Condensed-Matter Physics, *American Scientific*, Nov. 1994, (34-35), USA.
- [12] Brodkey and Hershey, *Transport Phenomena, A Unified Approach*, McGraw Hill, First. Edit, 947, 1988, USA.
- [13] Clark, M. and Hansen, K. *Numerical Methods of Reactor Analysis*, Academic Press, 1964, 340, NY, USA.
- [14] Kafarov, V. *Cybernetic Methods in Chemistry and Chemical Engineering*, Edit. MIR, Moscow, Eng. Transl. 1976, ex-URSS.
- [15] Danckwerts, V. P., *Chem. Eng. Sci.*, **2**, 1, (1953), UK.