



**REPÚBLICA DEL ECUADOR
UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

FACULTAD DE POSGRADOS

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA Y/O DE DESARROLLO
O INFORME DE INVESTIGACIÓN**

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

**TEMA:
MODELAMIENTO CINÉTICO Y DISEÑO DE UN BIORREACTOR PILOTO PARA
LA PRODUCCIÓN DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

**AUTORES:
ING. JACKSON XAVIER SILVA TAYO
BQF. LIZBETH DEL CISNE ASTUDILLO PATIÑO**

**TUTOR:
JORGE FABRICIO GUEVARA VIEJO, PhD**

MILAGRO, 2026

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Jorge Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Jackson Xavier Silva Tayo**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación en procesos ambientales, industriales y agroquímicos** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, octubre de 2026



Jackson Xavier Silva Tayo
C.I.: 1201319983

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Jorge Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Lizbeth del Cisne Astudillo Patiño**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación en procesos ambientales, industriales y agroquímicos** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, octubre de 2026



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**LIZBETH DEL CISNE
ASTUDILLO PATINO**

Lizbeth del Cisne Astudillo Patiño

C.I.: 0704705904

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Jorge Fabricio Guevara Viejó**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Jackson Xavier Silva Tayo y Lizbeth del Cisne Astudillo Patiño**, cuyo tema es **Modelamiento Cinético y Diseño de un Biorreactor Piloto para la Producción de Saccharomyces Cerevisiae**, que aporta a la Línea de Investigación **Innovación en procesos ambientales, industriales y agroquímicos**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, octubre de 2026



Jorge Fabricio Guevara Viejó

C.I.: 0917882961

FACULTAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los catorce días del mes de septiembre del año dos mil veintiseis., siendo las 11:00 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. SILVA TAYO JACKSON XAVIER, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **MODELAMIENTO CINÉTICO Y DISEÑO DE UN BIORREACTOR PILOTO PARA LA PRODUCCIÓN DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: Msc GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA, Presidente(a), SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID en calidad de Vocal; y, Ing. AMAGUAY GOMEZ RONNY FABIAN que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	59.77
DEFENSA ORAL	40.00
PROMEDIO	99.77
EQUIVALENTE	EXCELENTE

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 12:00 horas.



Firmado electrónicamente por:
**MARIA FERNANDA
GARCES MONCAYO**

MSC GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**JAIME DAVID SEVILLA
CARRASCO**

SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID
VOCAL



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**RONNY FABIAN
AMAGUAY GOMEZ**

ING. AMAGUAY GOMEZ RONNY FABIAN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



**Jackson Xavier
Silva Tayo**
Time Stamping
Security Data

SILVA TAYO JACKSON XAVIER
MAESTRANTE

FACULTAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los catorce días del mes de septiembre del año dos mil veintiseis., siendo las 11:00 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ASTUDILLO PATIÑO LIZBETH DEL CISNE, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **MODELAMIENTO CINÉTICO Y DISEÑO DE UN BIORREACTOR PILOTO PARA LA PRODUCCIÓN DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: Msc GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA, Presidente(a), SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID en calidad de Vocal; y, Ing. AMAGUAY GOMEZ RONNY FABIAN que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	59.77
DEFENSA ORAL	38.33
PROMEDIO	98.10
EQUIVALENTE	EXCELENTE

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 12:00 horas.



Firmado electrónicamente por:
**MARIA FERNANDA
GARCES MONCAYO**

MSC GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**JAIME DAVID
SEVILLA CARRASCO**

SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID
VOCAL



Firmado electrónicamente por:
**RONNY FABIAN
AMAGUAY GOMEZ**

ING. AMAGUAY GOMEZ RONNY FABIAN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**LIZBETH DEL CISNE
ASTUDILLO PATIÑO**

ASTUDILLO PATIÑO LIZBETH DEL CISNE
MAESTRANTE

Dedicatoria

Dedico este esfuerzo académico, ante todo, a mi madre, Raquel Tayo Moscoso, por ser el pilar inquebrantable de mi vida y el faro de sabiduría que ha guiado cada uno de mis pasos.

A mis hijos, Erving, Andrea, Carla y Alessio, por ser mi mayor motivación y el motor que impulsa mi búsqueda constante de superación y excelencia. Gracias por su paciencia y por ser el centro de mis alegrías.

Finalmente, a mis amigos y colegas, cuya compañía y respaldo han sido fundamentales en este camino de aprendizaje continuo, demostrando que nunca es tarde para nuevos desafíos. Este logro es también suyo.

— *Jackson Xavier Silva Tayo*

Dedico este logro, en primer lugar, a Dios, por ser mi guía, mi fortaleza y la luz que ha acompañado cada paso de este camino, brindándome la sabiduría, la fe y la perseverancia para alcanzar esta meta.

A mi amado esposo, por su amor incondicional, paciencia, comprensión y apoyo constante, y por creer en mí cuando más lo necesitaba

A mi querida mamá, por ser el pilar fundamental de mi vida, por cada sacrificio realizado, por tu amor infinito, tus consejos, tus oraciones y por enseñarme que con esfuerzo, humildad y perseverancia todo es posible.

A mi papá, hermanos, cuñadas y sobrinos, por su cariño, apoyo y motivación constante. En especial a mis sobrinos, quienes son una fuente de alegría e inspiración para seguir superándome cada día.

A mis adorados perritos, por su compañía, amor sincero y por llenar de felicidad los momentos de esfuerzo y dedicación.

A mi compañero de tesis, por el compromiso, la dedicación y el trabajo en equipo compartido durante esta investigación.

Y a mis ángeles en el cielo, quienes permanecen siempre en mi corazón y cuya memoria ha sido una inspiración constante para seguir adelante.

Con amor y gratitud, dedico este trabajo a todos ustedes, porque este logro también les pertenece.

— *Lizbeth del Cisne Astudillo Patiño*

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI) por el espacio académico brindado para el desarrollo de esta investigación. Asimismo, al PhD. Jorge Fabricio Guevara Viejó, por su respaldo y la gestión facilitada para hacer posible la culminación de este proceso.

Un reconocimiento especial y profundo a mi madre, por ser mi compañía y soporte incondicional del día a día. A mis hijos, porque el perfeccionamiento continuo de mis conocimientos es también un motor para seguir fortaleciendo nuestros proyectos y el trabajo que construimos en conjunto.

Finalmente, a mi grupo de trabajo académico, con quienes compartí extensas jornadas de estudio. El verdadero compañerismo y el esfuerzo mutuo fueron fundamentales para avanzar y superar los retos de este ciclo.

— **Jackson Xavier Silva Tayo**

Expreso mi más sincero agradecimiento a Dios, por brindarme salud, fortaleza, sabiduría y perseverancia para culminar con éxito esta importante etapa de mi formación profesional.

A la Universidad Estatal de Milagro, por abrirme las puertas de esta prestigiosa institución y contribuir a mi crecimiento académico y profesional mediante una formación de excelencia.

Mi especial agradecimiento a los docentes del programa de posgrado, quienes compartieron generosamente sus conocimientos, experiencias y enseñanzas, aportando significativamente a mi desarrollo profesional.

A mi tutor de tesis, por su orientación, acompañamiento, paciencia y valiosas observaciones durante el desarrollo de esta investigación, las cuales fueron fundamentales para la culminación de este trabajo.

A mi compañero de tesis, por el compromiso, la responsabilidad y el trabajo en equipo demostrados a lo largo de este proceso académico.

A mi familia, especialmente a mi esposo, mamá, papá, hermanos y sobrinos, por su apoyo incondicional, comprensión y motivación constante, que me impulsaron a seguir adelante y alcanzar esta meta.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron al desarrollo y culminación de esta investigación.

A todos ellos, mi más profunda gratitud.

— **Lizbeth del Cisne Astudillo Patiño**

Resumen

En Ecuador, los altos gastos de capital (*Capital Expenditure*, CAPEX) limitan la adquisición de biorreactores automatizados extranjeros, impulsando una manufactura empírica carente de parametrización fluidodinámica y cinética, lo que compromete teóricamente el rendimiento celular. Para resolver esta problemática, esta investigación tiene como objetivo diseñar y modelar cinéticamente un biorreactor piloto de 100 L para la optimización de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*, evaluando una arquitectura de control de accesible mediante simulación matemática *in silico*. El diseño geométrico e hidrodinámico estableció una geometría con una relación de aspecto $H/D = 2:1$ bajo un régimen de lote alimentado (Fed-Batch). El principal desafío operativo del sistema, el efecto Crabtree —entendido como el desbordamiento metabólico que desvía la energía hacia la producción de etanol en lugar de biomasa—, se abordó mediante un lazo de control de retención de orden cero (ZOH) en un controlador lógico programable. La simulación estimó una tasa de crecimiento específica crítica de $\mu_{crit} = 0.18 \text{ h}^{-1}$ y proyectó una tasa operativa segura de $\mu = 0.12 \text{ h}^{-1}$, logrando la estabilización del sustrato residual en $S = 0.066 \text{ g/L}$. La verificación computacional confirma la viabilidad técnica del diseño local para mantener el bioproceso en un régimen estrictamente respiratorio, reduciendo la inversión de capital.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*, Biorreactor, Fed-Batch, Efecto Crabtree, Modelamiento *in silico*, PLC.

Abstract

In Ecuador, high capital expenditure (CAPEX) limits the acquisition of automated foreign bioreactors, driving local manufacturing that lacks fluid dynamic and kinetic evaluations, which consequently reduces cellular yield. To address this problem, this research aims to design and kinetically model a 100 L pilot bioreactor for the optimization of *Saccharomyces cerevisiae* biomass, evaluating an accessible control architecture through *in silico* mathematical simulation. The geometric and hydrodynamic design established a geometry with an aspect ratio of $H/D = 2:1$ under a Fed-Batch operating regime. The primary operational challenge of the system, the Crabtree effect—understood as the metabolic overflow that diverts energy toward ethanol production rather than biomass—was addressed using a zero-order hold (ZOH) control loop in a programmable logic controller (PLC). The simulation determined a critical specific growth rate of $\mu_{crit} = 0.18 \text{ h}^{-1}$ and established a safe operating rate of $\mu = 0.12 \text{ h}^{-1}$, achieving the stabilization of the residual substrate at $S = 0.066 \text{ g/L}$. Computational verification confirms the technical viability of the proposed architecture to maintain the bioprocess within a strictly respiratory regime, significantly reducing capital investment.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, Bioreactor, Fed-Batch, Crabtree effect, *In silico* modeling, PLC.

Lista de Figuras

Figura 1 Dinámica de la restricción metabólica en función de la saturación de sustrato	21
Figura 2 Cotas de inmersión del sistema de agitación dual	48
Figura 3 Configuración Constructiva del biorreactor piloto de tanque agitado (STR-100 L)	49
Figura 4 Fracción de potencia aireada en el sistema dual de turbinas Rushton	52
Figura 5 Diagrama de flujo e instrumentación (P&ID) del biorreactor STR-100	59
Figura 6 Concentración de Biomasa	68
Figura 7 Evolución del Volumen Operativo	69
Figura 8 Perfil de Alimentación (Lazo Abierto)	70
Figura 9 Comparativa de Perfiles de Alimentación	71
Figura 10 Concentración de Sustrato Residual	72
Figura 11 Análisis de Sensibilidad del Efecto Crabtree.....	73
Figura 12 Transferencia de Oxígeno	74
Figura 13 Demanda Frigorífica	75
Figura 14 Dinámica de pH	76
Figura 15 Parámetros Dimensionales del Biorreactor STR-101	113
Figura 16 Proyecciones de la Turbina Rushton del Biorreactor STR – 100 L.....	114

Lista de Tablas

Tabla 1 Declaración de las variables de operacionalización.....	11
Tabla 2 Parámetros Geométricos y Operacionales del Biorreactor de 100 L	56
Tabla 3 Parámetros de Alimentación del Algoritmo de Simulación.....	63
Tabla 4 Comparación entre el Pico Respiratorio y el Estado Final de la Simulación.....	77
Tabla 5 Validación Global del Modelo In Silico	77

Índice / Sumario

Introducción.....	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación	4
1.1 Planteamiento del Problema	4
1.2 Delimitación del Problema.....	6
1.3 Formulación del Problema.....	7
1.4 Preguntas de Investigación	7
1.5 Objetivos.....	8
1.5.1 Objetivo General	8
1.5.2 Objetivos Específicos	8
1.6 Hipótesis.....	9
1.7 Justificación	9
1.8 Declaración de las Variables (Operacionalización).....	11
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial.....	13
2.1 Antecedentes Referenciales	13
2.2 Marco Conceptual.....	14
2.3 Marco Teórico.....	18
2.3.1 Fundamentos Cinéticos del Cultivo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
2.3.2 El Cuello de Botella Mitocondrial (Mecanismo Intracelular del Efecto Crabtree) 19	
2.3.3 Fenómenos de Transporte y Dinámica de Transferencia de Oxígeno	21
2.3.4 Diseño Geométrico e Hidrodinámica del Biorreactor de Tanque Agitado (STR) 23	
2.3.5 Geometría y Requerimientos de Potencia Gaseada.....	24
2.3.6 Teoría de Control y Automatización de Bioprocesos	25
2.3.7 Principios de Diseño Sanitario y Selección de Materiales.....	26
2.4 Dinámica de Fluidos y Diseño Geométrico en Biorreactores de Tanque Agitado ..	27
2.5 Modelamiento Cinético, Efecto Crabtree y Estrategias Fed-Batch	28
2.5.1 Flexibilidad de Sustratos y Limitaciones del Modelo Base.....	29
2.6 Arquitectura de Control y Automatización Predictiva	30
2.7 Criterios de Escalamiento y Normativa Sanitaria.....	31
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico.....	33
3.1 Tipo y Diseño de Investigación	33
3.2 La Población y la Muestra	34
3.3 Los Métodos y las Técnicas.....	35
3.4 Procesamiento Estadístico de la Información.....	37
3.5 Arquitectura Geométrica y Térmica del Sistema	37

3.6	Estrategia Operativa y Sistema de Control (Lazo Abierto Predictivo)	38
3.7	Fases del Desarrollo de Ingeniería del Proyecto	40
3.7.1	Fase I: Diseño Paramétrico y Dimensional del Biorreactor STR	40
3.7.2	Fase II: Modelamiento Matemático Predictivo	41
3.7.3	Fase III: Documentación Técnica y Diagramación P&ID	42
3.7.4	Fase IV: Protocolo de Validación Analítica Experimental.....	42
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados.....		44
4.1	Análisis e Interpretación de Resultados	44
4.1.1	Geometría del Sistema y Régimen de Agitación	45
4.1.2	Fenómenos de Transporte	50
4.1.3	Estrategia de Control Térmico e Hidrodinámico	56
4.1.4	Crecimiento Celular y Eficiencia Metabólica (Resultados In Silico).....	62
4.1.5	Síntesis Integradora y Comprobación de la Hipótesis	76
CAPÍTULO V: Discusión, Conclusiones y Recomendaciones.....		79
5.1	Discusión	79
5.1.1	Discusión del Diseño Geométrico, Hidrodinámica y Transferencia de Masa .79	
5.1.2	Discusión del Modelo Cinético y la Estrategia de Alimentación Fed-Batch....	81
5.1.3	Discusión de la Validación del Modelo, Automatización y Diseño Sanitario...83	
5.2	Conclusiones	86
5.3	Recomendaciones	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		92
ANEXOS		98

Introducción

La producción industrial de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* representa uno de los bioprocesos más consolidados y de mayor relevancia económica a nivel global. Sus aplicaciones se extienden desde la industria de panadería y la manufactura de extractos de levadura ricos en proteínas, hasta su uso como cultivo iniciador en fermentaciones de alto rendimiento en la industria cervecera y de destilados. Para mejorar la rentabilidad de este bioproceso, el objetivo de la ingeniería de biorreactores es optimizar la concentración de biomasa activa por unidad de volumen y tiempo, garantizando al mismo tiempo la viabilidad celular y la estabilidad fenotípica del microorganismo. Sin embargo, escalar la producción celular manteniendo altos rendimientos presenta desafíos cinéticos y termodinámicos sustanciales.

El principal obstáculo biológico en la optimización de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* es el metabolismo respiro-fermentativo, fenómeno conocido como el efecto Crabtree. Esta levadura posee una capacidad respiratoria limitada a nivel mitocondrial; cuando la concentración de la fuente de carbono (típicamente azúcares fermentables) excede un umbral crítico, o cuando la tasa de captación de glucosa supera la capacidad de oxidación del piruvato, el flujo metabólico se desvía hacia la vía fermentativa, incluso en condiciones de aerobiosis total. Como resultado, la levadura produce etanol y dióxido de carbono en lugar de biomasa, lo que reduce drásticamente el coeficiente de rendimiento biomasa-sustrato ($Y_{X/S}$). Para prevenir este desbordamiento metabólico (overflow metabolism), es imperativo mantener la tasa de crecimiento específico (μ) por debajo de la tasa de crecimiento crítica (μ_{crit}) del microorganismo. Esto se logra mediante la implementación de regímenes de cultivo en lote alimentado (Fed-Batch), donde el sustrato se dosifica de manera controlada para limitar su concentración residual en el medio de cultivo.

Implementar estas estrategias de control requiere equipos altamente especializados. A nivel industrial, los biorreactores europeos y norteamericanos vienen equipados con sistemas

de telemetría y lazos de control PID avanzados que garantizan la homogeneidad del medio y tasas de transferencia de oxígeno ($k_L a$) óptimas. No obstante, en el contexto industrial ecuatoriano, los altos costos de capital asociados a la importación de esta tecnología constituyen una barrera de entrada severa para la pequeña y mediana industria biotecnológica. Esta limitación financiera ha impulsado una práctica de manufactura local basada en el empirismo, donde la fabricación de los equipos se enfoca únicamente en la contención física e integridad estructural.

El problema de la manufactura local radica en la omisión de los principios de la ingeniería de biorreactores. El diseño de equipos sin una evaluación previa de la fluidodinámica genera gradientes de concentración, zonas muertas de mezcla y esfuerzos de corte (shear stress) excesivos por una mala selección de impulsores. En reactores de escala piloto e industrial, estas deficiencias de mezclado provocan que las células experimenten zonas de alta concentración local de sustrato (disparando el efecto Crabtree de forma transitoria) y zonas de inanición, comprometiendo severamente el rendimiento general del bioproceso. Sin un modelo cinético que dicte los parámetros de diseño geométrico, agitación y transferencia de masa, el equipo resultante es ineficiente y comercialmente inviable.

Frente a esta problemática, la presente investigación propone un diseño metodológico fundamentado en la cinética celular estructurada y la ingeniería aplicada. Antes de incurrir en costos de implementación física, se estructura el diseño conceptual y se ejecuta el modelamiento cinético *in silico* de un biorreactor piloto de 100 litros. Este enfoque permite validar matemáticamente el comportamiento del cultivo bajo un régimen Fed-Batch, estableciendo un perfil de alimentación exponencial programado en función de la tasa de crecimiento específico (μ) y el rendimiento de biomasa celular ($Y_{X/S}$). Además, se diseña un sistema de control de retención de orden cero (ZOH) integrable en un controlador lógico programable (PLC) compacto, facilitando el acceso a la automatización de bioprosesos. La simulación computacional asegura que el diseño geométrico y el lazo de control automatizado

son capaces de mantener la concentración de sustrato por debajo del umbral crítico, garantizando un metabolismo estrictamente respiratorio.

Para abordar este diseño de manera sistemática, el presente trabajo de grado se estructura en cinco capítulos:

1. **Capítulo I: El Problema.** Presenta la problemática del escalamiento de bioprocesos aerobios, las limitaciones para el diseño y control predictivo de biorreactores piloto y el contexto tecnológico que justifica la investigación; además, establece la delimitación, las preguntas de investigación, los objetivos, la hipótesis y la justificación del estudio.
2. **Capítulo II: Marco Teórico.** Fundamenta la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, el efecto Crabtree, los principios de transferencia de masa y las estrategias de control predictivo en lazo abierto aplicadas a bioprocesos.
3. **Capítulo III: Metodología.** Describe el diseño paramétrico del biorreactor piloto, el modelamiento cinético, el desarrollo del algoritmo de simulación en Python, el diseño CAD del prototipo y la estrategia de control predictivo en lazo abierto.
4. **Capítulo IV: Resultados e Interpretación.** Presenta los resultados del dimensionamiento geométrico e hidrodinámico, el diseño CAD del biorreactor, la implementación del modelo computacional y el análisis de la respuesta del algoritmo predictivo bajo diferentes condiciones operativas, proyectando teóricamente el comportamiento de la biomasa y los parámetros de transferencia de oxígeno.
5. **Capítulo V: Discusión, Conclusiones y Recomendaciones.** Analiza el alcance del diseño propuesto y del modelo predictivo desarrollado, sintetiza las principales conclusiones de la investigación y plantea recomendaciones para la implementación operativa del prototipo, la incorporación de control en lazo cerrado y su futura validación experimental.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1 Planteamiento del Problema

A nivel global, la biotecnología moderna enfrenta un obstáculo crítico en la etapa de escalamiento de bioprocesos aeróbicos (Reid et al., 2024; Gu et al., 2025). La transición de la escala de laboratorio (reactores bench-top) a la escala de producción piloto e industrial frecuentemente resulta en caídas drásticas en el rendimiento de la biomasa celular. En el caso específico de *Saccharomyces cerevisiae*, el incremento del volumen del reactor impone alteraciones severas en los regímenes de mezclado y en la tasa de transferencia de oxígeno. Cuando la tasa de consumo de oxígeno (OUR) del microorganismo supera la capacidad volumétrica del sistema para transferirlo, cuantificada mediante el coeficiente $k_L a$, se generan microzonas de hipoxia química y térmica dentro del caldo de cultivo.

Esta limitación en los fenómenos de transporte desencadena el efecto Crabtree: la levadura reprime su cadena respiratoria mitocondrial y prioriza la vía fermentativa, desplomando el rendimiento estequiométrico de biomasa ($Y_{X/S}$) y generando estrés metabólico por la acumulación de etanol (Zhang et al., 2022; Hagman et al., 2014). Aunque en el mercado internacional existen plataformas automatizadas que mitigan estos gradientes mediante geometrías ultra-optimizadas, su adquisición representa una limitación económica significativa para instituciones de investigación y sectores productivos en economías emergentes.

A nivel regional, en América Latina, el sector de bioprocesos experimenta un crecimiento sostenido; sin embargo, adolece de una desconexión crítica entre la investigación microbiológica y la ingeniería de diseño de bioprocesos. Diversos desarrollos agroindustriales en la región operan con tecnología de caja cerrada (importada de Norteamérica o Europa) o, en su defecto, con adaptaciones empíricas que carecen de validación termodinámica y evaluación hidrodinámica. Esto perpetúa un rezago tecnológico donde la escalabilidad de los bioprocesos depende exclusivamente del músculo financiero para importar equipos y su

respectiva instrumentación de control, limitando la competitividad de las plantas productivas latinoamericanas frente a los estándares internacionales.

En el contexto nacional y local, el sector agroindustrial y biotecnológico del Ecuador enfrenta una dependencia tecnológica significativa. Esta dinámica somete a la industria local a altos costos de inversión de capital y a una cadena de dependencia logística en mantenimiento y repuestos de instrumentación analítica especializada. Paralelamente, el país posee una vasta disponibilidad de fuentes de carbono económicas (melazas y subproductos agrícolas); sin embargo, su aprovechamiento integral se ve truncado. A nivel micro, dentro del ecosistema de investigación de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI) y la estructura agroindustrial de la provincia del Guayas, esta carencia frena la innovación. Múltiples investigaciones y desarrollos de inóculos quedan confinados a la escala de matraces Erlenmeyer. Sin una plataforma de escalamiento intermedio debidamente instrumentada, resulta imposible caracterizar el comportamiento reológico del cultivo, establecer tiempos de mezclado homogéneos o validar matemáticamente la cinética celular en condiciones hidrodinámicas reales.

La brecha de conocimiento e ingeniería radica en la limitada disponibilidad de estudios y arquitecturas de control predictivo aplicadas en la región que combinen el rigor del cálculo de la mecánica de fluidos con la viabilidad de la implementación tecnológica local y la autonomía de control bajo normativas sanitarias. La falta de metodologías de diseño estandarizado o desarrollos documentados accesibles que omitan la costosa telemetría importada impide que los modelos teóricos de laboratorio se conviertan en procesos preindustriales viables, limitando la transferencia tecnológica hacia el sector productivo ecuatoriano.

En consecuencia, la problemática central de este estudio se delimita rigurosamente a dos cuellos de botella del ecosistema agroindustrial local: la incapacidad técnica para superar la asfixia celular por deficiente transferencia de masa durante el escalamiento aeróbico, y la

estricta barrera financiera que impone la instrumentación analítica de importación. Para establecer una relación directa e inequívoca entre el problema identificado y la propuesta de solución, la presente investigación plantea el diseño paramétrico y modelamiento predictivo de un biorreactor piloto de 100 litros. Al sustituir la costosa telemetría en línea por una arquitectura de control en lazo abierto (gobernada por algoritmos de retención de orden cero en Python), esta propuesta técnica ataca la raíz del problema: garantiza la maximización del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y la supresión del efecto Crabtree, ofreciendo una plataforma de escalamiento económicamente viable y tecnológicamente autónoma.

1.2 Delimitación del Problema

El presente estudio se inscribe en el ámbito de la ingeniería de bioprocesos, enfocándose estrictamente en el modelamiento cinético predictivo —estructurado para su resolución computacional mediante la librería científica de Python (`scipy.integrate.solve_ivp`)— y en la ingeniería de diseño y representación técnica para la configuración de la arquitectura de control de un biorreactor piloto mediante herramientas CAD. El desarrollo algorítmico y la validación *in silico* fueron ejecutados mediante infraestructura de cómputo personal (estación de trabajo independiente), manteniendo la pertinencia académica e institucional con la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI) y con una proyección de escalabilidad orientada al ecosistema agroindustrial de la provincia del Guayas, Ecuador.

El estudio contempla el desarrollo de la documentación gráfica del prototipo mediante herramientas de diseño asistido por computadora (CAD), incluyendo modelos tridimensionales y planos bidimensionales de los principales componentes del biorreactor piloto, como recipiente, sistema de agitación, elementos internos y configuración geométrica general.

El diseño, estructuración y validación del proyecto se delimitan temporalmente al periodo académico comprendido entre febrero y julio de 2026.

Como unidad de análisis central, la investigación aborda el modelamiento del comportamiento metabólico de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en condiciones aerobias, gobernado bajo una estrategia de control en Lote Alimentado (*Fed-Batch*). Este bioproceso se delimita a la operación paramétrica de un biorreactor a escala piloto, proyectado con un volumen total (V_T) de 100 litros y un volumen líquido operativo máximo (V_L) de 80 litros. Las condiciones hidrodinámicas del sistema se restringen a un modelamiento matemático bajo regímenes de agitación mecánica con turbinas Rushton de flujo radial y tasas de inyección de gas forzada establecidas en un rango operativo de 0.5 a 1.5 vvm.

1.3 Formulación del Problema

A partir de la problemática expuesta, la investigación se formula en torno a la siguiente interrogante científica central:

¿De qué manera el diseño y el modelamiento cinético predictivo de un biorreactor piloto de 100 litros, fundamentado en criterios paramétricos de ingeniería accesible y control en Lazo Abierto, permite proyectar teóricamente la optimización del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y la optimización predictiva de la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* mediante simulación computacional?

1.4 Preguntas de Investigación

Para desglosar y abordar sistemáticamente la formulación central, se establecen las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Cuáles son los parámetros geométricos e hidrodinámicos adecuados (relación de aspecto H/D , dimensionamiento geométrico de turbinas Rushton, deflectores y requerimientos de potencia disipada) que garantizan una hidrodinámica eficiente y un coeficiente $k_L a$ adecuado para el cultivo aerobio en un tanque de 100 litros?

- ¿Cómo se comporta matemáticamente la cinética transitoria de crecimiento celular, consumo de sustrato y demanda de oxígeno de *Saccharomyces cerevisiae* bajo las condiciones hidrodinámicas proyectadas para el reactor piloto al ser integrada numéricamente?
- ¿Cuál es el nivel de robustez del modelo predictivo *in silico* al someterlo a un análisis de sensibilidad, contrastando la tasa de crecimiento operativa frente a un escenario crítico, para evaluar si la estrategia de control en lazo abierto permite mantener condiciones operativas compatibles con la reducción de la represión catabólica. y asegura la estabilidad metabólica del cultivo sin saturar la capacidad de transferencia de oxígeno?

1.5 Objetivos

1.5.1 *Objetivo General*

Diseñar técnicamente y modelar la cinética computacional de un biorreactor piloto de 100 litros, fundamentado en criterios de ingeniería accesible y control predictivo en lazo abierto, para proyectar la optimización del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y predecir el rendimiento estequiométrico de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* mediante simulación algorítmica.

1.5.2 *Objetivos Específicos*

- Parametrizar las dimensiones geométricas del recipiente cilíndrico (relación de aspecto H/D) y la arquitectura mecánica del sistema de agitación (doble turbina Rushton y baffles deflectores), calculando la potencia disipada en el fluido gaseado mediante las ecuaciones de Michel y Miller y proyectando el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$) por la correlación de Van't Riet para operar bajo condiciones compatibles con un régimen turbulento.
- Desarrollar un modelo matemático determinístico estructurado sobre la cinética de Monod que resuelva, mediante el vector de estado cinético e integración numérica en

Python (`scipy.integrate.solve_ivp`), las trayectorias transitorias de crecimiento celular, volumen y agotamiento de sustrato en Lote Alimentado (Fed-Batch), derivando la matriz de dosificación discontinua por retención de orden cero (*ZOH*) necesaria para reducir el riesgo de limitación metabólica asociada a la disponibilidad de carbono.

- Evaluar la consistencia predictiva y la arquitectura funcional del prototipo, contrastando el comportamiento de las curvas analíticas in silico contra el umbral crítico de represión catabólica de la levadura ($S_{crit} = 0.15 \text{ g/L}$) y verificando la correspondencia de los componentes del diseño propuesto bajo los criterios de la norma internacional ASME BPE (2022).

1.6 Hipótesis

El diseño paramétrico y mecánico de un biorreactor piloto de 100 litros, configurado con un sistema de agitación de doble turbina Rushton, permitirá estimar in silico un coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) con una magnitud superior a la tasa máxima de demanda de oxígeno (OUR) del cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*. Asimismo, el modelo determinístico estructurado sobre la cinética de Monod y resuelto numéricamente en Python (`scipy.integrate.solve_ivp`) permitirá predecir de forma directamente contrastable la trayectoria de la concentración de biomasa (X), el consumo de sustrato (S) y el rendimiento estequiométrico ($Y_{x/s}$). Esto demostrará la viabilidad operativa y la robustez de la estrategia de control predictivo en lazo abierto al mantener el sustrato residual estrictamente por debajo del umbral de represión catabólica ($S < 0.15 \text{ g/L}$), suprimiendo el Efecto Crabtree sin necesidad de instrumentación analítica en línea.

1.7 Justificación

El desarrollo de bioprocesos sostenibles constituye una prioridad para la industria biotecnológica debido a la necesidad de producir biomasa microbiana mediante tecnologías eficientes, reproducibles y económicamente viables. No obstante, el escalamiento de los procesos fermentativos desde biorreactores de laboratorio hacia sistemas piloto continúa

siendo uno de los principales desafíos, debido a que las variaciones en la transferencia de oxígeno, el mezclado, la hidrodinámica y la distribución de nutrientes afectan el comportamiento fisiológico de los microorganismos y la productividad del proceso. Estudios recientes destacan que la integración del modelamiento cinético con parámetros de ingeniería permite minimizar estas limitaciones y mejorar el desempeño de los biorreactores a mayor escala (Losoi et al., 2024).

Desde la ingeniería de bioprocesos, esta investigación integra el modelamiento cinético del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* con el diseño de un biorreactor piloto para estimar parámetros como la velocidad específica de crecimiento (μ), el consumo de sustrato (S), el rendimiento de biomasa ($Y_{X/S}$) el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y la demanda de oxígeno del cultivo (OUR). La literatura reciente demuestra que los modelos matemáticos basados en ecuaciones diferenciales ordinarias, implementados en herramientas como Python y SciPy, mejoran la simulación y el análisis de bioprocesos, reduciendo el número de experimentos y la incertidumbre durante el escalamiento industrial. (Valencia-Velásquez et al., 2025).

Asimismo, el diseño de un biorreactor piloto sustentado en principios de transferencia de masa, transferencia de cantidad de movimiento e hidrodinámica permitirá establecer criterios técnicos para la selección de sistemas de agitación, aireación y control operacional, incrementando la eficiencia del proceso y facilitando su futura transferencia tecnológica hacia aplicaciones industriales. Investigaciones recientes evidencian que la consideración conjunta de variables como la potencia específica (P/V), la velocidad de agitación (RPM), el flujo de aire (vvm) y el coeficiente $k_L a$, constituye un elemento esencial para mantener condiciones homogéneas de cultivo y favorecer la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* durante el escalamiento (Beugholt et al., 2023).

Este proyecto se justifica desde la ingeniería aplicada porque contribuye a reducir la dependencia de plataformas extranjeras de "caja cerrada", proponiendo una solución

tecnológicamente fundamentada, documentada bajo normativa sanitaria ASME BPE (2022), y de arquitectura económicamente accesible. Al demostrar matemáticamente, mediante la integración de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) en entornos computacionales (Python/SciPy), que es factible predecir y evaluar condiciones hidrodinámicas favorables utilizando especificaciones de implementación tecnológica local, se puede reducir potencialmente el riesgo y los costos asociados de la proyección a escala productiva (Narayanan et al., 2020). Académicamente, el estudio aporta un marco matemático robusto que correlaciona variables físicas de transferencia de cantidad de movimiento y masa (RPM, vvm, P/V) con el metabolismo microbiano, dotando a la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI) de una base analítica predictiva para la optimización pre-industrial de bioprocesos de interés regional.

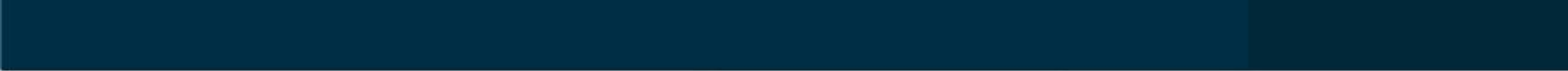
1.8 Declaración de las Variables (Operacionalización)

A continuación, se define la matriz de operacionalización para las variables que rigen el modelamiento matemático y la evaluación predictiva del bioproceso:

Tabla 1

Declaración de las variables de operacionalización

Variables	Conceptualización	Dimensiones	Indicadores y Unidades
Variable Independiente (VI): Diseño técnico e hidrodinámico del biorreactor piloto.	Es la configuración mecánica, geométrica y operativa del equipo, determinada por los parámetros de ingeniería aplicados en la manufactura local para gobernar el régimen de flujo de fluidos y la inyección de gases.	1. Geometría del Sistema 2. Régimen de Agitación 3. Aireación Forzada	- Volumen operativo líquido (V_L): Litros - Relación de aspecto (H/D): Adimensional - Frecuencia de agitación (N): RPM - Potencia disipada gaseada (P_g): kW - Flujo volumétrico específico: vvm
Variable Dependiente (VD): Optimización de la producción de biomasa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Es el incremento cuantitativo de la densidad celular aerobia y la eficiencia metabólica del microorganismo como respuesta directa a las condiciones de mezclado y transferencia de oxígeno provistas por el biorreactor.	1. Crecimiento Celular 2. Eficiencia Metabólica 3. Fenómenos de Transporte	- Biomasa celular (X): g/L - Tasa específica de crecimiento (μ): h^{-1} - Rendimiento biomasa/sustrato ($Y_{x/s}$): g/g - Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$): h^{-1}



CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1 Antecedentes Referenciales

El escalamiento de bioprocesos aeróbicos con *Saccharomyces cerevisiae* representa un desafío crítico en la ingeniería biotecnológica moderna, lo cual ha motivado diversas investigaciones recientes orientadas a mitigar las pérdidas de eficiencia metabólica y termodinámica. A nivel internacional, estudios recientes han evaluado la transición hidrodinámica y la caracterización de la transferencia de masa desde sistemas de laboratorio hacia biorreactores de escala piloto, demostrando que el incremento volumétrico genera gradientes espacio-temporales de oxígeno disuelto y zonas localizadas de limitación de sustrato, comprometiendo la homogeneidad del cultivo (Scully et al., 2020; Beugholt et al., 2023). Estas investigaciones evidencian que una deficiente tasa de transferencia de oxígeno (OTR) favorece la aparición de condiciones limitantes que inducen el metabolismo fermentativo y disminuyen el rendimiento de biomasa ($Y_{x/s}$), incrementando la producción de etanol (Zhang et al., 2022). En respuesta a estas limitaciones, estudios sobre escalamiento y transferencia de oxígeno establecen que la optimización geométrica de la relación de aspecto (H/D), junto con el diseño del sistema de agitación mecánica, constituyen variables determinantes para mantener un elevado coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y garantizar condiciones homogéneas durante el cultivo (García-Ochoa & Gómez, 2009; Beugholt et al., 2023)

A nivel regional y nacional, la revisión de la literatura evidencia una profunda brecha tecnológica que obstaculiza la aplicación de estos principios hidrodinámicos. Narayanan et al. (2020) analizaron las deficiencias estructurales del escalamiento de bioprocesos, determinando que la dependencia de plataformas automatizadas importadas de alto costo induce a múltiples agroindustrias a operar bajo esquemas de "caja negra" o con adaptaciones empíricas que prescinden de lógicas de control automático predictivo y estandarización higiénica. En el contexto ecuatoriano, el diagnóstico empírico del sector biotecnológico

agroindustrial concluye que la falta de desarrollos tecnológicos de grado sanitario para la implementación local de biorreactores imposibilita la evaluación paramétrica de medios de cultivo basados en subproductos económicos regionales. Esta limitación en la instrumentación operativa representa uno de los principales desafíos durante el desarrollo y escalamiento de procesos biotecnológicos basados en *Saccharomyces cerevisiae*. Aunque estudios como el de Liguori et al. (2013) demostraron el potencial de la valorización de subproductos agroindustriales mediante procesos biotecnológicos, la implementación de sistemas piloto automatizados con integración de modelos predictivos continúa siendo necesaria para optimizar variables críticas como la inyección de aire (vvm), la dosificación de carbono y la respuesta metabólica transitoria en tiempo real (Narayanan et al., 2020; Scully et al., 2020).

El análisis crítico de estos antecedentes revela una clara laguna investigativa y de transferencia tecnológica: mientras la literatura científica internacional exige un control de dinámica de fluidos y termodinámico riguroso ($k_L a$) para alcanzar un rendimiento óptimo en levaduras cultivadas en alta densidad, las agroindustrias y academias nacionales carecen de plataformas tecnológicas y arquitecturas de control accesibles que permitan aplicar dicha cinética. Por consiguiente, el diseño conceptual del biorreactor piloto de 100 litros propuesto en esta tesis asume un posicionamiento técnico de solución directa. Al integrar la geometría cilíndrica con casquetes toro esféricos y la agitación radial, con los criterios de automatización de alto impacto y baja inversión mediante autómatas lógicos programables y viabilidad de implementación tecnológica local demandada por la industria ecuatoriana, el presente proyecto supera las limitaciones previas, garantizando un escalamiento de lote alimentado predecible, validado in silico y tecnológicamente autónomo.

2.2 Marco Conceptual

Para garantizar el rigor matemático, la reproducibilidad computacional y la precisión terminológica de la presente investigación, a continuación, se definen los conceptos

fundamentales que rigen la operacionalización de las variables de diseño geométrico e hidrodinámico y la resolución del modelo cinético biológico:

- **Biorreactor Piloto de Tanque Agitado (STR - *Stirred Tank Reactor*).** Sistema termodinámico y de control diseñado para el confinamiento aséptico y cultivo de microorganismos, cuya escala (comprendida típicamente entre 10 L y 100 L) permite evaluar analítica y matemáticamente el escalamiento a niveles pre-industriales. Para esta investigación, se define paramétricamente como un recipiente de 100 litros de volumen total (V_T) con un 80% de volumen líquido operativo ($V_{L\text{proyectado}}$ bajo criterios de diseño sanitario
- **Geometría Cilindro-Toro esférica y Relación de Aspecto (H/D).** Cociente adimensional que relaciona la altura del líquido gaseado (H_L) con el diámetro interno del tanque (D). Es una variable geométrica crítica que dictamina el patrón de circulación vectorial del fluido. Para reactores de agitación mecánica, la sustitución de fondos planos o cónicos por casquetes toro esféricos bajo una relación de aspecto óptima de 2:1 a 3:1 suprime las zonas muertas de sedimentación e incrementa el tiempo de residencia de las burbujas, favoreciendo la *OTR*.
- **Turbina Rushton (Impulsor de Flujo Radial).** Componente hidrodinámico primario del sistema de agitación consistente en un disco central acoplado a seis palas planas verticales. Su función en reactores gaseados es disipar potencia mecánica para generar un alto esfuerzo cortante (*shear stress*) en las zonas adyacentes al impulsor, rompiendo la fase gaseosa inyectada y dispersándola radialmente contra deflectores estáticos (*baffles*) en las paredes del tanque, para maximizar el área interfacial gas-líquido.
- **Tasa Específica de Crecimiento (μ).** Variable cinética de estado, expresada en h^{-1} , que cuantifica la velocidad a la cual la biomasa celular se auto-duplica por unidad de

tiempo y masa existente. En *Saccharomyces cerevisiae*, esta tasa es transitoria y altamente dependiente de la concentración extracelular de la fuente de carbono y de la saturación de oxígeno disuelto en la fase líquida.

- **Efecto Crabtree (Represión Catabólica por Glucosa).** Fenómeno metabólico restrictivo característico de ciertas levaduras Crabtree-positivas. Ante concentraciones de glucosa extracelular superiores a un umbral crítico (típicamente $> 0.15 \sim g/L$), la célula reprime la transcripción de las enzimas de la cadena respiratoria mitocondrial, desfasando su metabolismo celular hacia la vía fermentativa u homoláctica. Esto genera etanol y desploma el rendimiento estequiométrico de biomasa ($Y_{x/s}$), independientemente de la saturación de oxígeno disuelto en el medio (Narayanan et al., 2020)

Estudios recientes señalan que el efecto Crabtree constituye uno de los principales factores limitantes durante la producción industrial de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*, ya que incrementa el consumo de sustrato sin traducirse en un crecimiento celular proporcional. Asimismo, se ha demostrado que estrategias como la alimentación controlada de glucosa (fed-batch), la regulación de la tasa específica de alimentación y la optimización de la transferencia de oxígeno permiten mantener un metabolismo predominantemente respiratorio, minimizar la acumulación de etanol y mejorar significativamente la productividad del cultivo (Beugholt et al., 2023).

- **Coefficiente Volumétrico de Transferencia de Oxígeno ($k_L a$).** Variable física escalar medular del bioproceso, expresada en h^{-1} . Es el producto del coeficiente local de transferencia de masa de la película líquida (k_L , expresado en m/h) y el área interfacial específica (a , expresada en m^{-1}). Cuantifica la capacidad térmica e hidrodinámica del biorreactor para disolver la fase gaseosa (vvm) en el medio líquido,

determinando el balance para satisfacer la demanda respiratoria volumétrica (*OUR*) de la biomasa. Investigaciones recientes destacan que la adecuada estimación y optimización del $k_L a$ constituye un criterio fundamental para el modelamiento cinético, el escalamiento de bioprocesos y el diseño de biorreactores piloto, ya que influye directamente en la productividad y estabilidad operacional del sistema (Rastädter et al., 2023).

- **Cinética de Monod (Modelo no estructurado).** Ecuación matemática empírica y determinística que relaciona asintóticamente la tasa de crecimiento celular (μ) con la concentración del sustrato limitante (S). El modelo asume al microorganismo como una "caja negra" metabólica y conforma el sistema de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (*EDO*) fundamental para la predicción computacional del bioproceso, resuelto típicamente en Python mediante integradores numéricos como *scipy.integrate.solve_ivp*.
- **Controlador Lógico Programable (PLC).** Autómata industrial de estado sólido diseñado para ejecutar lógicas de control en tiempo real. En el contexto de bioprocesos de bajo costo, actúa como el núcleo de procesamiento de las señales analógicas de sensores físicos (como termorresistencias *PT100*) para gobernar las isoterms mediante lazos cerrados sobre electroválvulas y comandar los actuadores electromecánicos (bombas dosificadoras).
- **Retenedor de Orden Cero (*ZOH - Zero-Order Hold*).** Estrategia de discretización matemática implementada en el *PLC* como estrategia de control predictivo en lazo abierto. Permite traducir la curva exponencial continua y teórica de consumo de sustrato en pulsos discretos (escalones) de dosificación constantes durante intervalos de tiempo definidos. Esta matriz de dosificación discontinua es la arquitectura

algorítmica fundamental para mantener el sustrato residual a niveles traza y eludir la represión catabólica sin depender de telemetría analítica.

- **Protocolos *CLP/SIP* (*Clean-In-Place* / *Sterilization-In-Place*).** Estándares de limpieza y esterilización industrial exigidos por regulaciones internacionales. Permiten la remoción química y cáustica de residuos biológicos (*CIP*) y la posterior inactivación térmica de esporas mediante vapor vivo a presión a $121\sim^{\circ}\text{C}$ (*SIP*) sin requerir intervención física invasiva sobre el equipo, garantizando la asepsia y estanqueidad del biorreactor.
- **Materiales de Grado Sanitario (Serie AISI 300/316L).** Especificación técnica fundamental para la implementación de biorreactores. La consideración de estas aleaciones amagnéticas con alta resistencia a la corrosión es mandatoria en el diseño conceptual para los componentes internos (ejes, camisas, impulsores), previniendo la degradación durante los severos ciclos de esterilización *SIP*.
- **Normativa *ASME BPE* (*Bioprocessing Equipment*).** Estándar internacional emitido por la Sociedad Americana de Ingenieros Mecánicos (*ASME*) que dicta las directrices de diseño geométrico, configuración de conexiones sanitarias, tolerancias dimensionales y acabados de rugosidad superficial ($Ra \leq 0.51\sim\mu\text{m}$) para equipos a presión sometidos a condiciones de esterilidad en la industria biofarmacéutica.

2.3 Marco Teórico

2.3.1 Fundamentos Cinéticos del Cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*

El diseño paramétrico de un bioproceso aerobio requiere la comprensión exhaustiva de la cinética de crecimiento del microorganismo. En el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, el crecimiento celular en cultivos sumergidos se rige predominantemente por modelos de cinética no estructurada, siendo la ecuación empírica de Monod el pilar fundamental para

predecir la tasa específica de crecimiento en función de un sustrato limitante (Sonnleitner & Käppeli, 1986). Matemáticamente, este comportamiento se describe mediante la expresión:

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

Donde μ representa la tasa específica de crecimiento (h^{-1}), μ_{max} es la tasa máxima teórica de crecimiento bajo condiciones no limitantes, S es la concentración del sustrato residual extracelular (usualmente glucosa, expresada en g/L), y K_s es la constante de saturación o constante de Monod, que equivale a la concentración de sustrato a la cual $\mu = \mu_{max}/2$.

A pesar de la robustez predictiva de este modelo, *Saccharomyces cerevisiae* presenta una particularidad metabólica que condiciona severamente el diseño del biorreactor: el efecto Crabtree. Hagman et al. (2014) establecen que esta levadura posee un sistema de represión catabólica mediado por la concentración de carbono. Cuando los niveles de glucosa en el caldo de cultivo superan el umbral crítico de $0.15 \sim g/L$, el microorganismo reprime la fosforilación oxidativa mitocondrial, desviando el flujo de piruvato hacia la producción de acetaldehído y, subsecuentemente, etanol. Este desvío metabólico provoca una caída abrupta en el rendimiento de biomasa celular respecto al sustrato consumido ($Y_{x/s}$), pasando de un rendimiento teórico aerobio de aproximadamente $0.50 \sim g/g$ a valores netamente fermentativos inferiores a $0.15 \sim g/g$. En consecuencia, la arquitectura del sistema y la estrategia de control predictivo deben estar acopladas para mantener el sistema en un régimen de limitación de carbono sumado a una saturación de oxígeno, evitando la inducción de este metabolismo de represión catabólica.

2.3.2 El Cuello de Botella Mitocondrial (Mecanismo Intracelular del Efecto Crabtree)

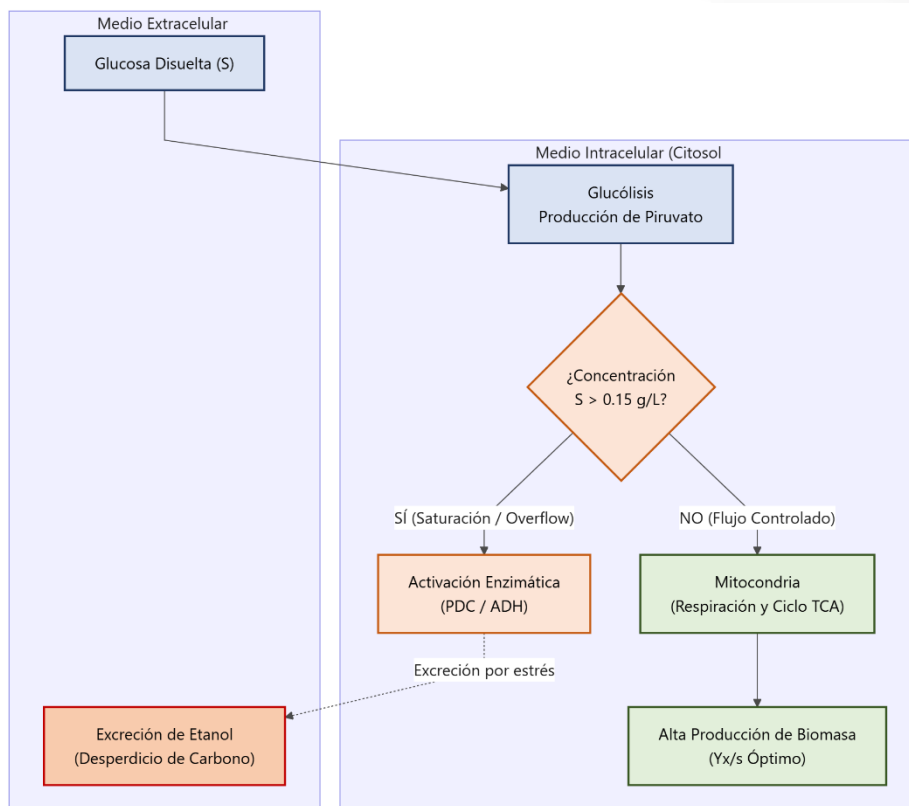
Frente a este estrangulamiento o "cuello de botella" termodinámico (reportado en la literatura como *overflow metabolism* o metabolismo de rebosamiento), el sistema celular se ve forzado a abrir vías enzimáticas de alivio para evitar un colapso en el flujo de carbono. Como

mecanismo de purga primaria, la levadura activa la enzima Piruvato Descarboxilasa (*PDC*), la cual cataliza la ruptura del exceso de piruvato citosólico convirtiéndolo en acetaldehído y liberando dióxido de carbono. De manera secuencial, este metabolito intermedio es reducido a etanol por acción de la enzima Alcohol Deshidrogenasa (*ADH*). La activación acoplada de la ruta *PDC* – *ADH* resulta obligatoria para la supervivencia celular bajo estas condiciones de saturación, ya que garantiza la regeneración continua del *NAD* + necesario para mantener operativa la glucólisis. Sin embargo, este desvío de emergencia disipa ineficientemente el potencial energético del sustrato, penalizando de forma drástica el rendimiento global de biomasa ($Y_{x/s}$) en el bioproceso.

Una revisión reciente sobre el metabolismo de rebosamiento destaca que esta respuesta mitocondrial constituye una estrategia adaptativa altamente regulada, la cual prioriza la velocidad de producción de energía sobre la eficiencia en la utilización del carbono (Malina et al., 2021). En consecuencia, al confirmarse como el principal factor limitante en la producción industrial de *Saccharomyces cerevisiae*, el control estricto de la concentración residual de glucosa mediante la velocidad de alimentación en régimen Fed-Batch se define como la estrategia de control predictivo fundamental para mantener un metabolismo respiratorio y maximizar la formación de biomasa.

Figura 1

Dinámica de la restricción metabólica en función de la saturación de sustrato



Nota. Esquema de decisión celular en *Saccharomyces cerevisiae*. El modelo justifica la necesidad de una alimentación controlada (*Fed-Batch*) para evitar la saturación del ciclo TCA y la consecuente excreción de etanol.

2.3.3 Fenómenos de Transporte y Dinámica de Transferencia de Oxígeno

En estricta simultaneidad con la limitación de carbono, el crecimiento celular de fase exponencial induce un aumento directamente proporcional en la Tasa de Consumo de Oxígeno (*OUR*, *Oxygen Uptake Rate*). Para asegurar la continuidad ininterrumpida del metabolismo respiratorio, la arquitectura hidrodinámica del tanque agitado debe garantizar que la Tasa de Transferencia de Oxígeno (*OTR*, *Oxygen Transfer Rate*) desde la fase gaseosa hacia el seno del líquido sea permanentemente igual o superior a la *OUR* (García-Ochoa & Gómez, 2009). La dinámica de esta *OTR* está gobernada por la Ley de Fick para la difusión convectiva, modelada matemáticamente mediante la siguiente ecuación:

$$OTR = k_L a (C^* - C_L)$$

Donde $k_L a$ representa el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (h^{-1}), C^* define la concentración de saturación del oxígeno disuelto en la interfase gas-líquido (g/L), y C_L es la concentración actual de oxígeno disuelto en el caldo de cultivo (g/L). El diferencial termodinámico ($C^* - C_L$) constituye la fuerza impulsora neta del sistema de transferencia de masa.

Considerando que la solubilidad del oxígeno molecular en fluidos acuosos es termodinámicamente pobre (oscilando entre 7 y 8 mg/L bajo una isoterma de 30 °C), la fuerza impulsora del sistema resulta estrechamente limitada. En consecuencia, desde la perspectiva de la mecánica de fluidos computacional y el diseño de reactores, el único parámetro operativo con verdaderos grados de libertad para maximizar la OTR es el $k_L a$. Para determinar la magnitud teórica de este coeficiente en tanques agitados de régimen turbulento, la literatura especializada recurre a las correlaciones empíricas de Van't Riet:

$$k_L a = A \left(\frac{P_g}{V} \right)^B (v_s)^C$$

Donde P_g/V representa la potencia mecánica disipada por unidad de volumen operativo líquido y v_s la velocidad superficial del gas inyectado por el distribuidor inferior (*sparger*). Es precisamente en esta limitante de transferencia de masa donde las plataformas a escala de laboratorio colapsan; los matraces agitados orbitalmente son incapaces de sostener un $k_L a$ competitivo ante altas densidades celulares, propiciando zonas de hipoxia que gatillan el estrés metabólico y el efecto Crabtree. Por consiguiente, la justificación técnica del diseño conceptual de un biorreactor piloto de 100 litros ($V_T = 100 \sim L$), equipado con impulsores radiales de alto esfuerzo cortante, radica en la necesidad de dominar la reología del medio y optimizar la ruptura de burbujas, asegurando mediante el modelo predictivo de Van't Riet que la OTR supere permanentemente los umbrales críticos exigidos por la levadura.

2.3.4 Diseño Geométrico e Hidrodinámica del Biorreactor de Tanque Agitado (STR)

Para solventar los estrictos requerimientos de transferencia de masa (OTR) impuestos por el metabolismo aerobio de *Saccharomyces cerevisiae*, el estado del arte establece que el Biorreactor de Tanque Agitado (STR, por sus siglas en inglés) constituye la arquitectura geométrica e hidrodinámica óptima, superando con creces a configuraciones alternativas estáticas como columnas de burbujeo o reactores *air-lift*. La justificación técnica para la selección de este perfil de STR, con un volumen total (V_T) de 100 litros y un volumen líquido operativo (V_L) de 80 litros, radica en su capacidad operativa para disociar y gobernar de manera independiente el caudal de inyección de aire (vvm) y la disipación de potencia del sistema de mezclado.

El fundamento termodinámico del STR se basa en la transferencia de potencia desde el sistema de agitación hacia el fluido a través de los impulsores. Operando en régimen de turbulencia plenamente desarrollada, la potencia no gaseada (P_0) que transmite un impulsor se modela matemáticamente a través del número de potencia (N_p), una constante adimensional intrínseca a la morfología del impulsor, descrita por la siguiente ecuación constitutiva:

$$P_0 = N_p \rho N^3 D_i^5$$

Donde ρ representa la densidad del caldo de cultivo (kg/m^3), N indica la velocidad rotacional de agitación (s^{-1}) y D_i define el diámetro exterior del impulsor (m). La configuración hidrodinámica de un sistema de agitación compuesto por una doble turbina Rushton de 6 palas planas responde a su clasificación hidrodinámica como impulsor de flujo radial de alto cizallamiento (*high shear stress*). Nienow corrobora que este tipo de geometría exhibe un N_p notablemente elevado (típicamente entre 5.0 y 5.5 en condiciones de turbulencia plena), lo cual le confiere una eficiencia excepcional para la fractura mecánica (prevención de coalescencia) de las burbujas de aire suministradas por el distribuidor inferior (*sparger* tipo anillo torofluidal).

Al impactar el vector de gas ascendente contra las paletas perpendiculares, el fluido bifásico se eyecta radialmente hacia las paredes de la envolvente cilíndrica, maximizando el área interfacial específica (a) y, en consecuencia, disparando el coeficiente $k_L a$. La implementación de impulsores de flujo axial (tales como hélices de paso constante *Marine Propeller* o paletas inclinadas *Pitched Blade*) queda descartada para esta matriz operativa aerobia, dada su incapacidad para disipar energía frente a caudales altos de gas, condición que precipitaría el colapso aerodinámico del impulsor, fenómeno estocástico conocido en la ingeniería de dinámica de fluidos como inundación del impulsor (*impeller flooding*).

2.3.5 Geometría y Requerimientos de Potencia Gaseada

Para suprimir la formación de macrorremolinos (vórtices centrales) y asegurar un régimen de mezclado de turbulencia isotrópica, la arquitectura del tanque incorpora de forma solidaria cuatro placas deflectoras longitudinales (*baffles*) dispuestas ortogonalmente a 90° sobre la pared interior. El dimensionamiento transversal de estos elementos se establece paramétricamente en un ancho equivalente a un rango entre $D/10$ y $D/12$, donde D representa el diámetro interno del recipiente principal (Lins Barros et al., 2022).

Bajo estas condiciones geométricas restrictivas, la inyección forzada de gas altera severamente la reología del sistema: reduce la densidad aparente de la mezcla bifásica en las inmediaciones del impulsor y propicia la formación de cavidades gaseosas (estelas de baja presión) en el borde de fuga de las palas de la turbina Rushton. Este fenómeno aerodinámico provoca que la potencia hidrodinámica real demandada por el motor bajo condiciones de aireación (P_g) sea sustancialmente inferior a la potencia disipada en un medio líquido sin gasificar (P_0) (Lins Barros et al., 2022).

Para proyectar con precisión el par requerido (*torque*) y predecir el comportamiento energético del sistema en condiciones operativas reales de gasificación, la literatura de diseño paramétrico recurre a la correlación empírica de Michel y Miller:

$$P_g = c \left(\frac{P_0^2 N D_i^3}{Q^{0.56}} \right)^{0.45}$$

Donde Q define el caudal volumétrico de gas inyectado (m^3/s) y c constituye una constante empírica de ajuste morfológico propia del diseño del impulsor. Es imperativo delimitar que el dominio matemático de esta correlación rige exclusivamente la evaluación energética del impulsor (P_g); su resultado actúa como variable de estado de entrada para el cálculo estructural del sistema de agitación, no debiendo atribuírsele la capacidad de predecir la transferencia de masa ($k_L a$). El dominio de esta ecuación diferencial en el dimensionamiento es vital para evitar el sobredimensionamiento térmico o el subdimensionamiento del cabezal motriz, el cual depende además de la hidrodinámica local y la dispersión de burbujas en el sistema (Nadal-Rey et al., 2021)

2.3.6 Teoría de Control y Automatización de Bioprocesos

La viabilidad biológica de un cultivo en lote alimentado (*Fed-Batch*) para alta densidad celular depende inexorablemente de la precisión determinística en el control de sus variables de estado, con particular criticidad en la isoterma de operación (30°C) y la tasa volumétrica de alimentación de sustrato. Para evadir el efecto Crabtree en *Saccharomyces cerevisiae*, la adición de la fuente de carbono no puede ser arbitraria; debe seguir una trayectoria exponencial predictiva precalculada, matemáticamente sincronizada con la tasa de consumo celular integrando la cinética de Monod y resuelta en entornos como Python mediante `scipy.integrate.solve_ivp`, integrando estrategias de control predictivo (MPC) y modelado híbrido para la adaptación y estabilización del bioproceso en tiempo real (Rathore et al., 2021; Bolmanis et al., 2023).

Históricamente, el rigor telemétrico para ejecutar estas curvas continuas se delegaba exclusivamente a Sistemas de Control Distribuido (DCS) o Controladores Lógicos Programables (PLC) de arquitectura cerrada y licencias de software de costos prohibitivos. Sin embargo, la integración de microprocesadores avanzados en los relés lógicos

programables de grado industrial permite hoy en día ejecutar lógicas de control secuencial de alta fiabilidad con un impacto marginal en la inversión de capital. Dado que estos micro-autómatas de bajo coste carecen de módulos aritméticos de punto flotante de alta resolución para integrar trayectorias exponenciales continuas en tiempo real, la sincronización de la adición de carbono se resuelve mediante una adaptación algorítmica: el método de aproximación por retención de orden cero (*Zero-Order Hold*, ZOH). Esta arquitectura concuerda con la tendencia actual (2020–2025) orientada a la adopción de sistemas embebidos y micro-autómatas de bajo costo, reduciendo la dependencia de hardware propietario (Espinel-Ríos et al., 2024).

Esta técnica de ingeniería de bioprocesos discretiza la curva teórica exponencial derivada de SciPy en una matriz de temporización de caudales fijos regulados por intervalos temporales (accionamiento tipo PWM sobre bombas peristálticas). Esto transforma una ecuación diferencial compleja en una secuencia de histéresis escalonada que el autómata programable ejecuta de forma robusta y autónoma. Este enfoque garantiza el estrangulamiento del sustrato residual por debajo del umbral crítico ($0.15\sim\text{g/L}$) sin incurrir en arquitecturas de hardware privativas de importación (Bolmanis et al., 2023). En conjunto, esta sincronización entre modelado cinético in silico y control discreto ZOH consolida la transición técnica hacia bioprocesos ciberfísicos operados en tiempo real.

2.3.7 Principios de Diseño Sanitario y Selección de Materiales

El diseño de un biorreactor piloto trasciende la mecánica de fluidos computacional para adentrarse en la rigurosidad de la ciencia de los materiales. La viabilidad constructiva del prototipo se fundamenta en los criterios de implementación tecnológica accesible y diseño sanitario. Para evitar distorsiones en la cinética metabólica causadas por contaminación cruzada, la norma internacional ASME-BPE (*Bioprocessing Equipment*) exige la mitigación de nichos de anidación bacteriana (ASME, 2022). Bajo esta premisa, la selección de materiales demanda el uso de aleaciones de grado sanitario (serie AISI 316L), —

seleccionadas por su alta resistencia a la corrosión química y térmica— en todas las superficies en contacto directo con el caldo de cultivo. Estas zonas requieren un acabado superficial de alta precisión (rugosidad $Ra \leq 0.8 \mu m$) para imposibilitar la adherencia celular y la formación de biopelículas (*biofilms*).

En contraparte, los sistemas auxiliares de intercambio térmico y los elementos estructurales externos se proyectan en aleaciones estándar (serie AISI 304), optimizando así los recursos financieros sin comprometer la integridad del núcleo aséptico. Este diseño, dotado estructuralmente de puertos con conexiones estandarizadas tipo *Tri-Clamp* y uniones continuas libres de zonas de retención, asegura la estanqueidad microbiológica y viabiliza la ejecución automatizada de los protocolos CIP/SIP (*Clean-In-Place / Sterilization-In-Place*). En consecuencia, se consolida una plataforma de escalamiento robusta, compatible con ciclos de esterilización térmica a 121°C y económicamente accesible para el entorno agroindustrial ecuatoriano.

2.4 Dinámica de Fluidos y Diseño Geométrico en Biorreactores de Tanque Agitado

La optimización del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) constituye el eje central del diseño hidrodinámico en bioprocesos aerobios. En tanques cilíndricos provistos de fondo toro esférico, la dispersión aerodinámica óptima de la fase gaseosa exige la implementación de turbinas de flujo radial. La relación entre la geometría de los deflectores y el esfuerzo cortante del impulsor es evaluada actualmente mediante herramientas de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD), permitiendo predecir y optimizar la transferencia de masa *in silico* antes de su implementación técnica (Fitzpatrick et al., 2020; Maluta et al., 2021).

La turbina Rushton de disco central ha demostrado superioridad termodinámica en la ruptura de burbujas para incrementar el área interfacial específica (a), aunque induce un alto esfuerzo cortante (*shear stress*) que debe ser rigurosamente gobernado. La interacción hidrodinámica entre los cuatro deflectores ortogonales (*baffles*) y los vórtices radiales

generados por el impulsor previene la cavitación, suprime la formación de macrorremolinos y asegura la homogeneización del caldo de cultivo.

Asimismo, el diseño de la chaqueta de intercambio térmico se encuentra condicionado por la termodinámica del entorno geográfico. Operar el bioproceso en zonas con isothermas ambientales promedio de 28 a 30°C, demanda la optimización paramétrica del área de transferencia de calor. Esta ingeniería térmica es vital para contrarrestar eficientemente el elevado calor metabólico exotérmico disipado por *Saccharomyces cerevisiae* durante la fase de crecimiento exponencial máximo (Doran, 2013; Fitzpatrick et al., 2020).

2.5 Modelamiento Cinético, Efecto Crabtree y Estrategias Fed-Batch

Saccharomyces cerevisiae exhibe un metabolismo respiro-fermentativo altamente sensible a la represión por catabolitos de carbono. Aunque la nomenclatura histórica alude a subproductos degradados intracelularmente, en el rigor de este bioproceso, la molécula de glucosa intacta actúa directamente como una señal de control que, al saturar los receptores transmembrana, desactiva la expresión genética de las enzimas mitocondriales antes de ser metabolizada, proceso coordinado por una red de señalización transmembrana que involucra los sensores de glucosa Snf3 y Rgt2, la proteína quinasa Snf1 y el factor de transcripción Mig1 (Persson et al., 2022). Cuando esta concentración de glucosa extracelular disuelta supera el umbral crítico termodinámico —documentado en la literatura cinética como el límite de represión, equivalente a 0.15 g/L—, las rutas oxidativas se inhiben y el flujo de carbono celular se desvía hacia la producción escalonada de acetaldehído y etanol (Hagman et al., 2014). Para optimizar el rendimiento estequiométrico de biomasa y evitar este desvío metabólico, la configuración operativa obligatoria es el régimen en Lote Alimentado (*Fed-Batch*). Esta estrategia mecatrónica permite mantener una tasa específica de crecimiento (μ) subcrítica mediante la adición intermitente y controlada de nutrientes, asegurando que el sustrato se consuma de manera casi instantánea y su remanente se mantenga restringido dentro de una ventana operativa segura de 0.02 g/L a 0.12 g/L en el medio extracelular

(Karaalioglu & Karagül Yüceer, 2021).

Si bien el confinamiento estricto del sustrato es mandatorio para suprimir el efecto Crabtree, a nivel industrial, el escalamiento mediante trenes de propagación de inóculos (*seed trains*) representa una limitante crítica en la producción. Como alternativa tecnológica, la literatura en ingeniería de bioprocesos avala la ejecución de perfiles de cultivo bifásicos. En este modelo, el cultivo inicia con una fase *Batch* cerrada, introduciendo intencionalmente una concentración inicial de glucosa que satura la capacidad oxidativa mitocondrial. Aunque esta fase induce transitoriamente un metabolismo fermentativo, generando tanto biomasa como etanol, permite una rápida acumulación celular primaria prescindiendo de biorreactores periféricos. Una vez agotado el carbono inicial, el salto diaúxico impulsa a la levadura a reconsumir el etanol acumulado, preparando enzimáticamente al cultivo para transicionar hacia una segunda fase aeróbica de *Fed-Batch*, donde el sustrato se dosifica por debajo del umbral crítico y el efecto Crabtree queda definitivamente suprimido (Doran, 2013; Shen et al., 2022). En la actualidad, esta transición diaúxica y el posterior control subcrítico se optimizan mediante sensores en línea y algoritmos de control predictivo, elevando la estabilidad y la eficiencia productiva del bioproceso industrial (Bolmanis et al., 2023).

2.5.1 Flexibilidad de Sustratos y Limitaciones del Modelo Base

Es imperativo precisar que el modelamiento cinético y las constantes adoptadas en la presente investigación (tales como la constante de saturación $K_s = 0.10 \sim g/L$ y el límite de represión $S_{crit} = 0.15 \sim g/L$) asumen un escenario fenomenológico base alimentado exclusivamente con glucosa pura. Esta delimitación paramétrica es una práctica estándar en la ingeniería de biorreactores para evaluar, en primera instancia, la arquitectura del sistema, el control de la potencia (P_g) y el coeficiente de transferencia de oxígeno ($k_L a$) sin introducir el ruido estadístico de un medio complejo.

No obstante, la vocación operativa de este biorreactor piloto de 100 L es altamente versátil y está concebida para la valorización de matrices agroindustriales reales, tales como

melaza de caña o mosto cervecero. En estos entornos industriales, el sustrato deja de ser un componente aislado para convertirse en una matriz multicomponente, donde la *Saccharomyces cerevisiae* debe metabolizar azúcares de cadena más larga (maltosa, maltotriosa) y gestionar el transporte de fuentes nitrogenadas críticas, cuantificadas como Nitrógeno Amino Libre (FAN, por sus siglas en inglés).

La transición hacia estos medios complejos induce una modificación ineludible en las constantes termodinámicas de la levadura. Por ejemplo, la afinidad celular por la maltosa presenta un K_s distinto y requiere la activación de enzimas de transporte (malto permeasas) que alteran la velocidad máxima de crecimiento respiratorio (μ_{crit}). Asimismo, la relación Carbono/Nitrógeno (C/N) se vuelve un factor limitante que el lazo de control debe prever. Por consiguiente, el algoritmo de dosificación en Lote Alimentado (*Fed-Batch*) propuesto en este diseño constituye la matriz de control maestro, la cual posee la arquitectura algorítmica abierta para ser recalibrada de forma empírica en futuros estudios de escalamiento, ajustando las variables de estado (K_s , μ_{max} , $Y_{x/s}$) al perfil bioquímico específico del sustrato agroindustrial seleccionado.

2.6 Arquitectura de Control y Automatización Predictiva

La literatura convencional de ingeniería de bioprocesos estipula que, para sostener las condiciones subcríticas exigidas por el modelo *Fed-Batch*, se requiere instrumentación analítica en línea (tales como costosas sondas galvanométricas u ópticas de oxígeno disuelto) retroalimentando lazos cerrados PID complejos (Rani & Rao, 1999). No obstante, para viabilizar la autonomía tecnológica y el escalamiento optimizando el costo operativo y de capital, la presente investigación sustituye esta telemetría de importación por una arquitectura de estrategia de control predictivo en lazo abierto.

Mediante el despliegue de un autómata programable industrial compacto, se ejecuta una rutina lógica de retención de orden cero (*Zero-Order Hold*, ZOH) que modula la bomba peristáltica de alimentación de carbono mediante una dosificación escalonada, basándose

estrictamente en la secuencia de tiempos precalculada computacionalmente por el integrador numérico de Python (*scipy.integrate.solve_ivp*) (Narayanan et al., 2020). Esta arquitectura matemática garantiza que el caudal intermitente se ajuste dinámicamente al requerimiento celular exponencial sin incurrir en licencias de software privativas, módulos de control PID externos ni biosensores de mantenimiento prohibitivo.

2.7 Criterios de Escalamiento y Normativa Sanitaria

La transición desde los modelos computacionales *in silico* hasta la operación física de un biorreactor piloto obedece a criterios de escalamiento hidrodinámico basados empíricamente en el mantenimiento de la potencia constante disipada por unidad de volumen (P/V) o la velocidad tangencial constante en la punta del impulsor (*tip speed*) (García-Ochoa & Gómez, 2009). Asimismo, el diseño geométrico y de arquitectura debe alinearse con la normativa internacional ASME~BPE, la cual estipula que los elementos en contacto con el producto deben tener acabados superficiales de rugosidad mínima controlada y garantizar la minimización de zonas muertas de flujo. Esto obliga a que los acoplamientos sanitarios, los cuatro deflectores longitudinales (*baffles*) y el anillo torofluidal de inyección de gas (*sparger*) se instalen proyectando holguras sanitarias específicas (separación física respecto a la pared interior del tanque) para permitir el arrastre de los fluidos durante los ciclos de limpieza *in situ* (CIP/SIP) sin comprometer la inocuidad microbiológica del lote (ASME, 2022).

En estricta concordancia con los principios cinéticos e hidrodinámicos expuestos, la viabilidad del presente bioproceso se fundamenta en la articulación directa de la teoría con las variables de operacionalización del estudio (detalladas previamente en la Tabla 1). El marco teórico correspondiente a la dinámica de fluidos se materializa en la variable independiente (diseño técnico e hidrodinámico), cuyas dimensiones operativas abarcan la geometría del sistema, el régimen de agitación y la aireación forzada. Estas variables de ingeniería son los vectores mecánicos que gobiernan la variable dependiente del estudio: la optimización de la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*. En consecuencia, el control sobre la

potencia disipada gaseada y el flujo volumétrico específico dictamina directamente el comportamiento de los fenómenos de transporte (maximizando el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno), lo cual asegura la eficiencia metabólica del microorganismo al mantener la tasa específica de crecimiento y el rendimiento estequiométrico en márgenes óptimos para suprimir la represión catabólica.

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1 Tipo y Diseño de Investigación

La presente investigación se estructura bajo cuatro dimensiones metodológicas precisas. Según su enfoque, se enmarca dentro de la perspectiva cuantitativa, ya que no pretende descubrir nuevos fenómenos biológicos elementales, sino procesar datos numéricos continuos basados en principios de termodinámica, mecánica de fluidos y cinética celular estructurada. Por su alcance, el estudio es de carácter explicativo y predictivo, estableciendo la correlación matemática y de causalidad entre el cálculo de ingeniería del régimen de agitación y control de sustrato, y la respuesta metabólica del microorganismo.

En cuanto a su diseño, se clasifica como una investigación tecnológica aplicada bajo la modalidad de proyecto factible, apoyado en un diseño experimental predictivo basado en computación y modelamiento matemático. Se centra en el dimensionamiento paramétrico y la simulación transitoria de un biorreactor piloto de 100 L para resolver un problema agroindustrial latente: la limitación técnica de transferencia de oxígeno y los prohibitivos costos de capital en el escalamiento de bioprocesos regionales. Para mitigar este último factor, el diseño experimental de resolución computacional modela una estrategia operativa bifásica: una fase de escalado primario transitorio (Batch permisivo) acoplada a una fase de producción neta aeróbica (Fed-Batch de precisión) (Gimpelj & Tošić, 2025). Finalmente, su temporalidad es transversal, dado que el dimensionamiento paramétrico, la integración numérica y la justificación de su viabilidad de implementación bajo diseño sanitario se analizan y proyectan en un corte de tiempo único durante el periodo académico vigente.

Para garantizar la robustez matemática del estudio, la validación interna del modelo in silico se ejecutó mediante un análisis de sensibilidad algorítmica. Se contrastaron las curvas transitorias de biomasa y sustrato, integradas mediante el solver BDF (Backward Differentiation Formula) en Python, frente a los coeficientes de rendimiento estequiométrico ($Y_{X/S}$) y las tasas críticas de consumo de oxígeno (OUR) documentadas en la literatura

estándar para *Saccharomyces cerevisiae*, verificando que las predicciones cinéticas del algoritmo no transgredan los límites biológicos ni los balances de masa fundamentales.

3.2 La Población y la Muestra

Las unidades de análisis de este proyecto tecnológico corresponden a variables fenomenológicas, termodinámicas y mecánicas evaluadas mediante modelamiento matemático y simulación computacional predictiva.

- **Población.** Dada la naturaleza in silico y predictiva del estudio, la población no se define por entidades físicas, sino que constituye el espacio paramétrico continuo de todas las configuraciones termodinámicas, geométricas y cinéticas teóricamente posibles para el cultivo aerobio de *Saccharomyces cerevisiae* en biorreactores de tanque agitado a escala piloto.
- **Muestra.** Corresponde a una muestra determinística e intencional (muestreo por conveniencia técnica). Se define como el subconjunto de condiciones de frontera y parámetros iniciales aplicados al algoritmo. Específicamente, se delimita a un modelo conceptual con un volumen nominal (V_T) de 100 L y un volumen operativo líquido (V_L) de 80 L, garantizando un 20% de espacio de cabeza estructural. A nivel cinético, la muestra computacional asume el comportamiento de la levadura bajo una isoterma fija de 30 °C, evaluando una estrategia operativa bifásica (Batch permisivo seguido de un Fed-Batch riguroso) que restringe la concentración de sustrato residual a un umbral subcrítico ($S < 0.15$ g/L) para asegurar la evasión del metabolismo de rebosamiento.
- **Justificación de la escala dimensional.** La elección de un volumen total de 100 L (V_T) no obedece a una cuota de producción comercial, sino a un criterio de ingeniería de escalado. Este volumen paramétrico constituye el umbral volumétrico mínimo necesario para reproducir y evaluar con precisión matemática los fenómenos de transporte de escala industrial —tales como la formación de gradientes de mezclado, limitantes en el $k_L a$ y requerimientos de disipación de calor exotérmico celular

mediante chaquetas de enfriamiento— que son física y termodinámicamente inobservables en bioprocesos a escala de banco (bench-top menores a 10 L). Asimismo, permite la estandarización viable de la arquitectura del diseño bajo normativas de manufactura aséptica (ASME, 2022).

3.3 Los Métodos y las Técnicas

Para la consolidación de este proyecto factible, se despliega una metodología secuencial algorítmica y de ingeniería, sustituyendo los protocolos empíricos de ensayo y error de laboratorio físico por modelamiento matemático y diseño asistido por computadora.

- **Métodos (Modelamiento matemático).** Se emplea el método analítico-sintético para el dimensionamiento termodinámico e hidrodinámico. Esto abarca la formulación de un sistema de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDO) para proyectar la cinética no estructurada de crecimiento de Monod. Asimismo, se aplica la correlación empírica de Michel y Miller para calcular la disminución de potencia hidrodinámica bajo inyección de gas (P_g), y el modelo predictivo de Van't Riet para proyectar la magnitud del coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$) asegurando una ruptura óptima de burbujas (Van't Riet, 1979).
- **Técnicas e instrumentos de diseño geométrico.** La validación geométrica, la definición de tolerancias y la esquematización de los ensambles de soldadura sanitaria se ejecutarán mediante software de diseño paramétrico asistido por computadora (CAD). La arquitectura metalúrgica del equipo se subordina a los estándares internacionales ASME BPE (Bioprocessing Equipment) para manufactura en aceros inoxidables austeníticos AISI 316L y 304.
- **Técnicas e instrumentos de simulación cinética.** El cálculo predictivo en estado transitorio se ejecutará en lenguaje de programación Python. El modelo matemático se soportará computacionalmente en la librería científica SciPy —empleando la función integradora `scipy.integrate.solve_ivp` para la resolución robusta del sistema de EDOs

mediante algoritmos adaptativos de Runge-Kutta de orden 4(5), designado técnicamente como RK45, cuya variabilidad de paso de integración es idónea para resolver transiciones metabólicas abruptas sin pérdida de convergencia—, apoyándose en NumPy para la vectorización matricial del balance de masa y Matplotlib para la renderización gráfica de la fase de crecimiento exponencial y consumo de sustrato (Narayanan et al., 2020).

- **Técnicas de automatización y control predictivo.** El Diagrama de Tuberías e Instrumentación (P&ID) y la lógica de control se estructurarán en el entorno de un autómatas industrial compacto. Este PLC actuará como ejecutor de lazo abierto predictivo, volcando sobre la electrobomba peristáltica la matriz de temporización por retención de orden cero (*ZOH*) derivada previamente en la simulación numérica de SciPy. Paralelamente, para la estabilización del entorno biológico y térmico, se aplicarán técnicas de control clásico e interpolación analógica: regulación Proporcional-Integral (PI) de doble acción para el control térmico unificado (módulo de calentamiento sanitario en línea y dosificación variable de agua de refrigeración), lazos On/Off para la corrección de pH, modulación por ancho de pulsos (PWM) con relés de estado sólido (SSR), y lazos de seguridad conductivos para la supresión automática de espuma.

Para garantizar el rigor metodológico y cumplir con los criterios de la ingeniería computacional, el procedimiento de validación del modelo *in silico* se estructuró de manera explícita en tres frentes analíticos:

- **Validación matemática y de convergencia:** Se comprobó la estabilidad del integrador numérico RK45 en Python, asegurando la ausencia de divergencias algorítmicas al procesar el sistema de EDOs durante la transición abrupta de la fase Batch a la fase Fed-Batch.

- **Validación fenomenológica (Límites biológicos):** Se verificó sistemáticamente que las curvas cinéticas de salida restringieran el residual de glucosa por debajo del límite teórico de represión catabólica (0.15 g/L), comprobando la supresión exitosa del efecto Crabtree.
- **Validación mecánica y normativa:** Se ejecutó una auditoría de la arquitectura geométrica de la simulación frente a la normativa ASME BPE (2022), certificando que los radios toro esféricos y los parámetros de diseño proyectados soportan las presiones y temperaturas requeridas para una esterilización SIP a 121 °C.

3.4 Procesamiento Estadístico de la Información

Al tratarse de una investigación tecnológica orientada al diseño conceptual de ingeniería y al modelamiento predictivo de un equipo de bioprocesos bajo leyes fundamentales de la física, el procesamiento de la información no requiere inferencia estadística clásica. En su lugar, el análisis de datos se fundamenta en la resolución analítica y numérica de modelos matemáticos determinísticos.

La información transitoria arrojada por las ecuaciones diferenciales de crecimiento celular y agotamiento de sustrato será procesada mediante scripts de integración ejecutados iterativamente en Python. El criterio definitivo de aceptación del diseño consistirá en la convergencia del modelo frente al límite catabólico y en la verificación matemática de que la Tasa de Transferencia de Oxígeno (OTR) —habilitada por el $k_L a$ del sistema de doble turbina Rushton— sea sistemáticamente superior a la tasa específica de consumo de oxígeno (OUR) demandada por el pico metabólico de la levadura durante toda la simulación.

3.5 Arquitectura Geométrica y Térmica del Sistema

Al tratarse de un diseño aplicado de modelamiento numérico para la escalabilidad de un biorreactor piloto, las consideraciones metodológicas se rigen por los principios de la ética de la ingeniería y la seguridad ocupacional. Se garantiza el respeto a la propiedad intelectual mediante la citación rigurosa de las correlaciones matemáticas termodinámicas y el uso

exclusivo de librerías de programación de código abierto (Python/SciPy), obrando bajo el principio de probidad investigativa.

En el ámbito del diseño físico, la ingeniería del equipo se alinea con los protocolos de bioseguridad ocupacional e industrial, supeditando el cálculo estructural de bridas, tolerancias de presurización y acabados sanitarios a las directrices de la norma ASME (2022).

Para solventar la exigencia termodinámica del bioproceso, el diseño adopta una arquitectura hidráulica de lazo único atmosférico (cero válvulas de corte). Para contrarrestar el enfriamiento evaporativo durante la fase de latencia celular, el fluido caloportador transitará inicialmente por un módulo de calentamiento sanitario en línea de baja densidad térmica (RIMS). Una vez detonada la fase exponencial, el encamisado del reactor será refrigerado mediante una electrobomba de corriente continua, la cual modulará analógicamente el caudal de ingreso desde una unidad enfriadora de líquido (*Chiller*) operando a una temperatura nominal de diseño (típicamente entre 12 °C y 15 °C). Esta dinámica térmica prioriza la potencia frigorífica bruta sobre el uso de fluidos a temperaturas extremas, blindando al bioproceso y neutralizando instantáneamente la suma del calor metabólico celular y el calor mecánico disipado por la doble turbina Rushton.

Finalmente, desde una perspectiva de responsabilidad medioambiental, el diseño predictivo establece que los futuros efluentes líquidos resultantes de los protocolos de lavado industrial alcalino y ácido (CIP/SIP) y los remanentes de carga biológica deberán acoplarse teóricamente a normativas de neutralización química previa a la descarga, mitigando el impacto de vertidos eutrofizantes en los ecosistemas hídricos.

3.6 Estrategia Operativa y Sistema de Control (Lazo Abierto Predictivo)

Para evadir los prohibitivos costos de instrumentación en línea (como sondas de oxígeno disuelto y telemetría óptica), el diseño de la arquitectura de control adopta un régimen de cultivo bifásico gobernado mediante un Control Predictivo de Lazo Abierto (Doran, 2013). La primera etapa operará como un Batch cerrado con una alta carga de

carbono inicial, forzando un crecimiento logarítmico acelerado bajo un metabolismo mixto (respiratorio-fermentativo) que permita alcanzar en el menor tiempo viable la biomasa crítica de arranque requerida para la fase de alimentación programada. Una vez consumidos los azúcares del lote inicial, *Saccharomyces cerevisiae* activa su ruta oxidativa secundaria para asimilar el etanol residual del medio, aprovechando su capacidad metabólica innata para utilizar alcoholes como fuente de carbono y energía durante la diauxia. Este cambio fenotípico ocurre en virtud del cese de la represión catabólica por glucosa, lo que desencadena la expresión de enzimas deshidrogenasas y la activación del ciclo del glioxilato; esta maquinaria oxidativa le permite a la levadura transformar metabolitos de dos carbonos directamente en precursores estructurales (gluconeogénesis) y ATP sin requerir azúcares fermentables. Concluido este periodo de transición, el sistema automatizado da inicio al régimen Fed-Batch, modulando la tasa de dosificación de sustrato fresco para mantener una concentración residual mínima en el biorreactor, evitando así el efecto Crabtree y garantizando la operación en aerobiosis

Al cumplirse el tiempo operacional preestablecido para el fin del lote inicial, el Controlador Lógico Programable industrial compacto activa la ejecución de esta segunda fase. Dadas las restricciones para el cálculo matemático continuo del autómata, la curva de alimentación teórica exponencial se transforma en una secuencia de caudales volumétricos discretizados mediante lógica de Retenedor de Orden Cero (ZOH). El PLC comandará la modulación escalonada de la bomba peristáltica dosificadora, inyectando la solución de sustrato bajo una trayectoria precalculada para acoplarse estrictamente a la demanda metabólica de la biomasa. Esta arquitectura de control asegura que la glucosa residual se mantenga confinada de forma sistemática por debajo del umbral crítico de 0.15 g/L, neutralizando el efecto Crabtree.

Complementariamente a la estrategia de alimentación de carbono, la arquitectura de control integra la monitorización en línea del pH del mosto, variable crítica fuertemente

afectada por el consumo de fuentes de nitrógeno y la excreción de ácidos orgánicos subyacentes al metabolismo celular. Un sensor de pH industrial transmitirá su señal analógica al PLC, el cual ejecutará una subrutina de control on/off para comandar una segunda microbomba peristáltica de dosificación de agente alcalino. Esta intervención activa garantiza que la acidez del medio se mantenga dentro de la ventana de viabilidad óptima (típicamente entre 4.5 y 5.0), asegurando la estabilidad cinética del cultivo sin desvirtuar la filosofía predictiva del sistema global.

3.7 Fases del Desarrollo de Ingeniería del Proyecto

Para dar cumplimiento cabal a los objetivos planteados y materializar el diseño conceptual del equipo hidrodinámico, el proceso metodológico se estructura en tres fases secuenciales de ingeniería aplicada:

3.7.1 Fase I: Diseño Paramétrico y Dimensional del Biorreactor STR

Esta etapa fundacional comprende el cálculo analítico de la geometría del recipiente y la termodinámica de fluidos del sistema. Partiendo de las restricciones de un volumen líquido operativo (V_L) de 80 L (para un recipiente con capacidad nominal de 100 L), se establecerá matemáticamente la relación de aspecto geométrica cilíndrica (H/D) óptima para maximizar el tiempo de residencia intersticial del gas. Consecuentemente, se ejecutarán las ecuaciones fenomenológicas para el sistema de agitación, determinando el diámetro de impacto de las turbinas Rushton (D_i), el cálculo de la potencia no gaseada (P_0) mediante el número de potencia (N_p), y la estimación predictiva de la demanda real potencia bajo aireación forzada (P_g) aplicando la correlación de Michel y Miller. Estos fundamentos asegurarán, a través del modelo empírico de Van't Riet, que el $k_L a$ proyectado posea la magnitud física para solventar la demanda máxima de oxígeno (OUR). Adicionalmente, se establecerán los balances de energía para el sistema de encamisado, garantizando matemáticamente la capacidad de

disipación térmica frente al calor metabólico y mecánico generado durante el pico de la fase exponencial.

3.7.2 Fase II: Modelamiento Matemático Predictivo

En convergencia con la ingeniería física, se desarrollará el algoritmo computacional responsable de gobernar la estrategia termodinámica de lote alimentado. En este régimen, la velocidad específica instantánea de crecimiento celular se calcula mediante la ecuación de Monod, por lo que la dinámica biológica emerge de la interacción entre la concentración residual de sustrato y la capacidad metabólica máxima de la cepa. Así, la estrategia operativa actúa indirectamente sobre esta variable mediante la regulación del suministro de carbono. Tomando las Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDO) de Monod como núcleo, se codificará un modelo transitorio en Python empleando el integrador `scipy.integrate.solve_ivp` para pronosticar numéricamente la evolución de la biomasa (X), el volumen de fluido (V) y el agotamiento de sustrato (S) en el tiempo. El entregable crítico de esta fase será la secuencia de caudales volumétricos discretizados $F(t)$, la cual dictaminará los pulsos exactos que el actuador peristáltico debe inyectar para evadir las vías fermentativas de la levadura. Para consolidar el lazo de automatización predictiva, a esta matriz matemática se le integrará un factor de seguridad (subalimentación intencional) que confinará el sustrato residual a un umbral bajo. Finalmente, se ejecutará un análisis de sensibilidad y robustez del modelo introduciendo perturbaciones paramétricas, evaluando computacionalmente la estabilidad del metabolismo respiratorio frente a desviaciones en la fisiología celular.

Adicionalmente, el algoritmo optimizará la concentración del sustrato de alimentación mediante dilución (fijando S_F en 200 g/L). Esta calibración volumétrica asegura que el volumen líquido alcance su cuota de cosecha exactamente en el límite operativo máximo de 80 L (correspondiente al 80% de la capacidad total del tanque). Este volumen final alcanzado maximiza la masa térmica del fluido, facilitando el abatimiento del calor metabólico mediante el lazo de refrigeración.

3.7.3 Fase III: Documentación Técnica y Diagramación P&ID

La fase culminante materializa los cálculos de ingeniería en representaciones gráficas de disposición general, orientadas a comunicar la escala macro y la geometría funcional del bioproceso. Mediante software de diseño asistido por computadora (CAD), se elaborarán esquemas dimensionales del sistema que ilustrarán los parámetros físicos básicos —como la altura total y los diámetros exteriores—, el bastidor de soporte y la distribución espacial de los puertos en el cuerpo del tanque. Asimismo, se referenciará la disposición interna del equipo, indicando la ubicación axial del tren de agitación y aireación en conjunto con las proyecciones ortogonales de las turbinas impulsoras.

Simultáneamente, la lógica de instrumentación y servicios de planta se esquematizará a través de un Diagrama de Tuberías e Instrumentación (P&ID). Este entregable definirá la arquitectura de monitoreo y actuación para los cuatro lazos principales de operación del biorreactor: agitación mecánica (SIC-101), flujo de aireación, control térmico por chaqueta y recirculación, y control de pH. Finalmente, el esquema integrará la línea de dosificación de sustrato accionada por bomba peristáltica, estructurada para la operación en cultivo alimentado (Fed-Batch).

3.7.4 Fase IV: Protocolo de Validación Analítica Experimental

Para cerrar el ciclo de diseño y establecer una hoja de ruta hacia su futura implementación, se proyecta teóricamente un protocolo de cualificación y verificación física. Dado que el alcance de la presente investigación se delimita al diseño paramétrico y la evaluación predictiva algorítmica, los mecanismos aquí propuestos servirán como guía para su eventual comprobación empírica. Una vez materializado físicamente el equipo, la capacidad real del biorreactor para suprimir el efecto Crabtree y sostener el crecimiento celular deberá verificarse en laboratorio mediante la medición de tres indicadores críticos, alineados con los estándares de control de bioprocesos:

- **Rendimiento global de biomasa (Y_x/s).** Cuantificado a través de análisis de peso seco (gravimetría) y correlacionado mediante espectrofotometría (densidad óptica) para confirmar que el crecimiento celular obedece a la trayectoria de la simulación. Este indicador evalúa la eficiencia en la conversión de sustrato, esencial en cultivos de alta densidad (Doran, 2013).
- **Viabilidad celular.** Evaluada microscópicamente mediante recuento en cámara de Neubauer con tinción de azul de metileno (método estándar para determinar la integridad de la membrana plasmática), garantizando que el estrés hidrodinámico inducido por las turbinas Rushton no comprometa la salud del cultivo puro de *Saccharomyces cerevisiae*.
- **Supresión del metabolismo de rebosamiento.** Verificada mediante la cuantificación de etanol residual en el medio por análisis densimétrico post-destilación (normativa técnica para control de subproductos volátiles). Una concentración nula o a nivel traza de etanol al final del cultivo constituye evidencia experimental de que el sistema aeróbico reconsumió el metabolito transitoriamente formado durante la fase Batch, y de que la estrategia de alimentación discreta (ZOH) mantuvo la concentración de glucosa por debajo del umbral crítico que desencadena el efecto Crabtree, favoreciendo un metabolismo predominantemente respiratorio (Cannizzaro et al., 2004; Fricke et al., 2012).

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1 Análisis e Interpretación de Resultados

El presente capítulo expone los resultados integrales derivados del diseño paramétrico, modelamiento matemático y simulación predictiva (mediante el entorno de integración numérica Python/SciPy) de un biorreactor piloto aeróbico de 100 L. La información analizada responde directamente al objetivo general del proyecto: integrar los fenómenos de transporte físicos (potencia mecánica disipada y coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, $k_L a$) con una estrategia dinámica de dosificación en lote alimentado (*Fed-Batch*) (Seidel et al., 2021). Esta integración busca establecer condiciones operativas que favorezcan el rendimiento estequiométrico de biomasa celular ($Y_{x/s}$) en la cepa *Saccharomyces cerevisiae* (Zhuang et al., 2021).

Para garantizar una lectura lógica y estructurada, los hallazgos de ingeniería se articulan y discuten sistemáticamente a través de cuatro dimensiones operacionales interconectadas, las cuales reflejan la secuencia funcional de ingeniería de plantas biotecnológicas:

1. **Dimensión. Geometría del Sistema y Régimen de Agitación.** Aborda el dimensionamiento estructural paramétrico del tanque y la cinemática de su sistema motriz dual.
2. **Dimensión. Fenómenos de Transporte.** Evalúa la disipación de potencia mecánica y la capacidad de transferencia volumétrica de oxígeno ($k_L a$) en la columna líquida.
3. **Dimensión. Estrategia de Control Térmico e Hidrodinámico.** Define la arquitectura de instrumentación en línea bajo norma ANSI/ISA-5.1 y la lógica de control de dosificación regida por un autómata discreto de retención de orden cero (ZOH).
4. **Dimensión. Crecimiento Celular y Eficiencia Metabólica.** Presenta las proyecciones cinéticas *in silico* del régimen *Fed-Batch*, orientadas a maximizar la

biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* y mitigar la activación del efecto Crabtree.

Para fundamentar la robustez del modelo propuesto, la viabilidad de estas proyecciones transitorias se sustenta en la exactitud del esquema de integración numérica (RK45) y en la sólida fundamentación teórica de las ecuaciones empleadas, conformando un conjunto de nueve figuras paramétricas (que integran diez perfiles de evolución dinámica) que permiten evaluar el comportamiento del sistema bajo las condiciones de operación definidas. Esta progresión mantiene una absoluta coherencia con la operacionalización de las variables planteada en el Capítulo I y con el diseño metodológico del Capítulo III.

4.1.1 Geometría del Sistema y Régimen de Agitación

El dimensionamiento físico del biorreactor constituye la base paramétrica sobre la cual se asienta el modelo matemático del bioproceso. Para el diseño del biorreactor piloto con capacidad operativa de 80 L, se adoptó la formulación clásica de Doran (2013), la cual asume la simplificación geométrica de un cilindro perfecto de fondo plano. Esta simplificación facilita la formulación del modelo cinético y de las ecuaciones de transferencia de masa, mientras que la proyección volumétrica de los casquetes toro esféricos considerados en el diseño mecánico aportarán un espacio de cabeza extra (*headspace*), empleado operativamente como factor de seguridad contra el arrastre de espuma (Doran, 2013; Seidel et al., 2021).

4.1.1.1 Dimensionamiento y relación de aspecto del modelo (Relación H/D = 2:1). De acuerdo a la literatura clásica de ingeniería de bioprocesos aeróbicos, la relación de aspecto operativa (H_L/D_t) utilizada en biorreactores agitados generalmente se encuentra en rangos que favorecen la transferencia de oxígeno y la adecuada circulación del fluido (Doran, 2013). Para el presente diseño, se seleccionó una relación de aspecto de 2:1 como compromiso entre desempeño hidrodinámico, facilidad constructiva y requerimientos sanitarios del equipo piloto. Esta configuración favorece una altura de líquido suficiente para incrementar el tiempo de contacto gas-líquido y mejorar la transferencia interfacial de oxígeno ($k_L a$). Desde la perspectiva constructiva, al utilizar un diámetro más amplio respecto a configuraciones más

esbeltas, se facilita la fabricación, soldadura y acabado sanitario interno del equipo ($Ra < 0.8 \mu m$), especialmente en un sistema piloto sin acceso mediante manhole. Asimismo, esta geometría proporciona un área superior suficiente para la instalación de sensores, conexiones sanitarias y elementos auxiliares del modelo.

Sustituyendo esta relación ($H_L = 2D_t$) en la ecuación de volumen cilíndrico operativo de 0.08 m^3 (80 L):

$$V_L = \frac{\pi \cdot D_t^2}{4} \cdot H_L; \quad 0.08 = \frac{\pi \cdot D_t^2}{4} \cdot (2D_t) = \frac{\pi}{2} \cdot D_t^3 = 1.5708 \cdot D_t^3$$

Despejando el diámetro interno del tanque (D_t):

$$D_t = \left(\frac{0.08}{1.5708} \right)^{1/3} = 0.370 \text{ m}$$

En consecuencia, la altura de la columna de líquido (H_L) es de 0.740 m. Para garantizar un 25% de espacio de cabeza (headspace) respecto a la altura cilíndrica total (H_T), esta se fijó en 0.986 m, manteniendo a H_L como el 75% de la altura geométrica del cilindro. Esto resulta en un volumen nominal teórico (V_T) de 106.6 L. Esta capacidad optimiza el parámetro referencial inicial de 100 L, otorgando un volumen estructural adicional que actuará como holgura de seguridad para la contención de espuma y el blindaje de la esterilidad del bioproceso.

4.1.1.2 Configuración y disposición del sistema de agitación dual. Al establecer una columna de líquido esbelta con una relación de aspecto 2:1, los principios de fenómenos de transporte en tanques agitados determinan que un solo impulsor puede presentar limitaciones para mantener una circulación uniforme a lo largo de toda la altura del líquido, especialmente en recipientes con elevada relación altura-diámetro. Por esta razón, se considera conveniente emplear un sistema de agitación múltiple que permita distribuir la acción de mezcla en diferentes regiones del reactor y reducir la aparición de zonas de baja renovación. En configuraciones de múltiples impulsores, la separación axial entre elementos suele seleccionarse dentro de rangos aproximados de 1 a 1.5 diámetros de impulsor, dependiendo

del tipo de impulsor, régimen de operación y características del fluido (Tatterson, 1991; Doran, 2013).

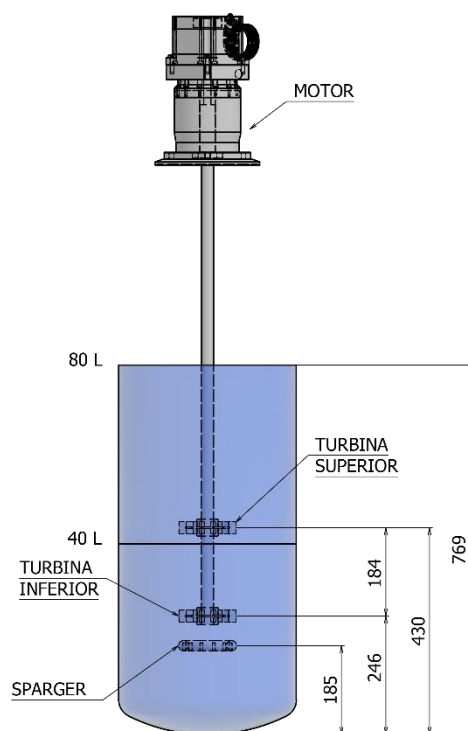
En este contexto, el biorreactor STR de 100 L incorpora en su flecha central un arreglo de agitación con dos turbinas Rushton de 6 palas rectas ($n = 2$) de diámetro estandarizado ($D_i = \frac{1}{3} D_t = 0.123 \text{ m}$) (Doran, 2013), las cuales cumplen funciones diferenciadas dentro del proceso y se distribuyen espacialmente considerando la evolución del volumen durante la operación Fed-Batch. Las posiciones de montaje se definen tomando como referencia $C = 0$ en el punto más bajo interno del fondo torosférico sanitario.

- **Turbina inferior (Dispersora primaria).** Posicionada a una altura respecto al fondo del tanque equivalente al tercio de la columna líquida ($C_1 = \frac{1}{3} H_L = 0.246 \text{ m}$). El difusor o rociador (*sparger*) se ubica a una cota longitudinal $C_{sp} = 0.185 \text{ m}$ equivalente aproximadamente a $0.5D_i$ por debajo del centro del impulsor inferior. Su función principal es interceptar la corriente de gas en la zona de mayor cizallamiento generada por el impulsor, favoreciendo la ruptura de burbujas y la dispersión del oxígeno dentro del caldo de cultivo. Este impulsor representa el elemento dominante durante la dispersión inicial gas-líquido y contribuye significativamente al consumo de potencia asociado a la aireación.
- **Turbina superior (Homogenización del volumen superior).** La segunda turbina se posiciona a una cota de $C_2 = 0.430 \text{ m}$ generando una separación axial respecto al impulsor inferior de: $\Delta C = C_2 - C_1 = 0.430 - 0.246 = 0.184 \text{ m}$ ($\frac{\Delta C}{D_i} = 1.5$) Esta separación permite distribuir la acción de mezcla a lo largo de la columna líquida y mantener una interacción adecuada entre los patrones de circulación generados por ambos impulsores (ver Figura 2).
- **Sistema deflector y holguras sanitarias.** Para suprimir el flujo tangencial y evitar la formación de un vórtice central inducido por la rotación de las dos turbinas Rushton,

la pared interna del tanque incorpora cuatro placas deflectoras longitudinales (*baffles*) dispuestas ortogonalmente a 90°. Su dimensionamiento transversal se estableció paramétricamente manteniendo la relación estándar de ingeniería de bioprocesos $W_b = \frac{D_t}{10}$ (Doran, 2013; Lins Barros et al., 2022), fijando una medida física de 38 mm de ancho. En alineación con la normativa ASME BPE (2022), estos elementos se montan proyectando una holgura sanitaria de separación respecto a la pared interior del cilindro, eliminando zonas muertas de estancamiento y garantizando el arrastre hidrodinámico durante los ciclos de limpieza in situ (CIP/SIP).

Figura 2

Cotas de inmersión del sistema de agitación dual



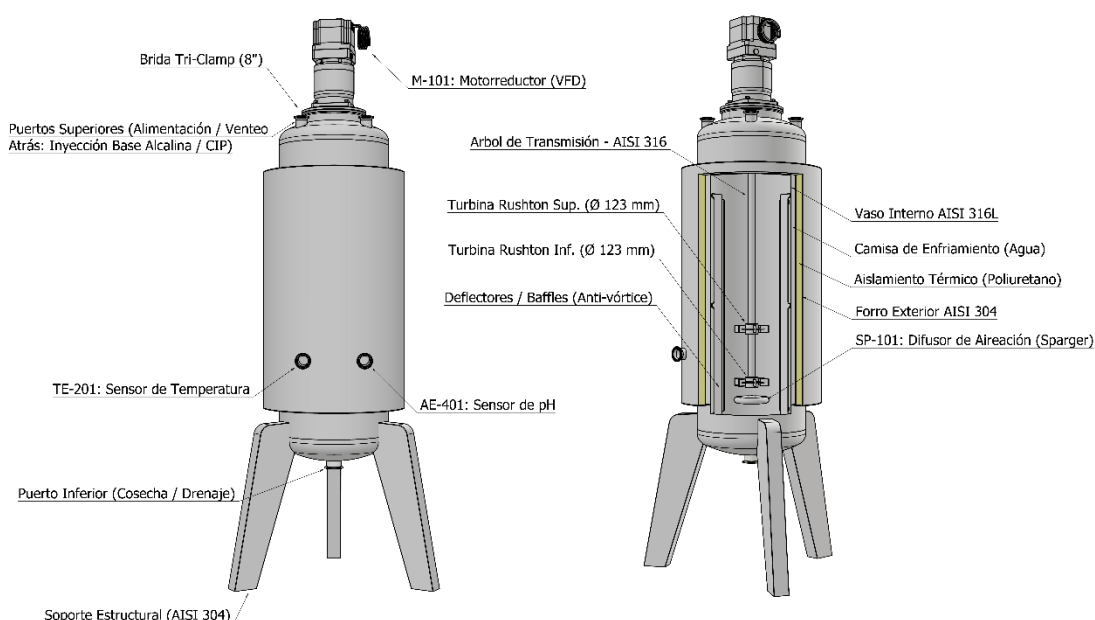
Durante la operación Fed-Batch, el incremento progresivo del volumen de trabajo desde 40 L hasta aproximadamente 80 L aumenta la altura de líquido y permite la participación del impulsor superior dentro del volumen de mezcla. La función principal de la turbina superior es favorecer la circulación del caldo en la región superior del reactor,

complementando la acción dispersora del impulsor inferior y contribuyendo a disminuir gradientes locales de concentración durante la alimentación escalonada de glucosa. De esta manera, se favorece una distribución más uniforme del sustrato y del oxígeno disuelto en el volumen de cultivo. En el régimen Fed-Batch predictivo controlado mediante algoritmo ZOH, este elemento contribuye a mejorar la respuesta hidrodinámica del reactor frente a los incrementos progresivos de alimentación, reduciendo la probabilidad de acumulación localizada de glucosa durante los pulsos de dosificación y disminuyendo condiciones que podrían favorecer la aparición del Efecto Crabtree en cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*.

La integración arquitectónica del cuerpo cilíndrico con la distribución espacial del sistema de agitación dual, la disposición de los componentes mecánicos en la flecha central, el sistema deflector y los casquetes torosféricos sanitarios se presenta en el modelo tridimensional de la Figura 3.

Figura 3

Configuración Constructiva del biorreactor piloto de tanque agitado (STR-100 L)



Nota. Anatomía constructiva y disposición de componentes del biorreactor STR de 100 L para cultivo alimentado (Fed-Batch). La vista exterior ilustra las conexiones de proceso y soporte estructural, mientras que el corte seccional expone la configuración interna.

4.1.2 Fenómenos de Transporte

Una vez establecida la geometría del sistema y la demanda mecánica del biorreactor, se simuló la capacidad del sistema para satisfacer los requerimientos de transferencia de masa y energía asociados al crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Esta dimensión proyecta los requerimientos de oxigenación y el dimensionamiento frigorífico definitivo requerido.

4.1.2.1 Estimación de la Potencia de Agitación del Sistema. Para favorecer la dispersión eficiente del gas, el diámetro del impulsor de turbina Rushton (D_i) se fijó geométricamente en un tercio del diámetro del tanque, resultando en 0.123 m (Reid et al., 2024). Estableciendo una velocidad de agitación constante (N) de 700 RPM (11.66 rev/s), este parámetro operacional se justifica biocinéticamente al generar una velocidad periférica en la punta de la pala (v_{tip}) de 4.51 m/s mediante la relación:

$$v_{tip} = \pi D_i N = \pi \cdot 0.123 \text{ m} \cdot 11.66 \text{ s}^{-1} = 4.51 \text{ m/s}$$

Este régimen cinemático se sitúa estratégicamente dentro del rango de tolerancia máxima de la pared celular rígida de *Saccharomyces cerevisiae* (4.0 - 5.5 m/s), estableciendo un régimen turbulento plenamente desarrollado para la ruptura de burbujas sin provocar lisis celular por esfuerzo de corte (Reid et al., 2024; Gu et al., 2025).

Para el cálculo de la potencia no gaseada (P_0), es imprescindible fundamentar el Número de Potencia del sistema (N_p). Este parámetro representa la resistencia mecánica propia de la turbina al girar, indicando cuánta fuerza del motor se consume debido a la forma de sus palas para vencer la fricción del caldo y generar turbulencia. De acuerdo con la literatura clásica de mecánica de fluidos e ingeniería de bioprocesos (Doran, 2013), para un impulsor Rushton estándar de 6 palas planas operando en un tanque deflectorado bajo régimen turbulento plenamente desarrollado ($Re > 10^4$), la constante adimensional de potencia adopta un valor empírico universal de $N_p = 5.05$. Dado que el espaciamiento longitudinal entre ambos impulsores ($\Delta C = D_T = 3D_i$), justificado en la Sección 4.1.1.2,

asegura la total independencia hidrodinámica y evita la interferencia de vórtices entre estelas, el requerimiento de potencia del sistema dual es estrictamente aditivo:

$$N_{p,\text{total}} = N_{p,\text{turbina 1}} + N_{p,\text{turbina 2}} = 5.05 + 5.05 = 10.1$$

Con este parámetro adimensional determinado y sustentado bibliográficamente, la potencia mecánica no gaseada (P_0) estimada para el sistema de doble impulsor se calcula mediante la relación fundamental:

$$P_0 = N_p \rho N^3 D_i^5 = 452 \text{ W}$$

Bajo inyección forzada de gas a 1.5 vvm (120 L/min o 0.002 m³/s), la hidrodinámica del impulsor primario sufre una alteración profunda. Al girar a altas revoluciones, el aire inyectado es succionado hacia las estelas de baja presión en la cara posterior de las palas, formando cavidades de gas. Al estar envueltas parcialmente en gas, la interacción directa entre el fluido y las superficies del impulsor disminuye debido a la presencia de gas atrapado (Maluta et al., 2021). Para cuantificar con exactitud esta depresión en la demanda de potencia, se evalúa el Número de Aireación (Na), el cual relaciona el caudal de gas (Q) con el bombeo del impulsor:

$$Na = \frac{Q}{ND_i^3} = \frac{0.002}{11.66 \cdot (0.123)^3} = 0.092$$

La relación empírica entre el Número de Aireación (Na) y la fracción de potencia retenida por el eje (P_g/P_0) en turbinas Rushton ha sido exhaustivamente caracterizada mediante las correlaciones de Michel & Miller. adaptadas para reactores multi-impulsor por Maluta et al. Como se ilustra en la curva característica generada para el sistema dual de turbinas Rushton en tándem de este estudio, el punto operativo calculado para el biorreactor piloto ($Na = 0.092$) se aproxima a la región de estabilización asintótica de Calderbank. De acuerdo con la correlación empleada, la fracción de potencia aireada estimada (P_g/P_0) corresponde a un valor aproximado de 0.40, lo que implica que el sistema de agitación experimenta una reducción del 60% de su potencia consumida debido a la dispersión del gas.

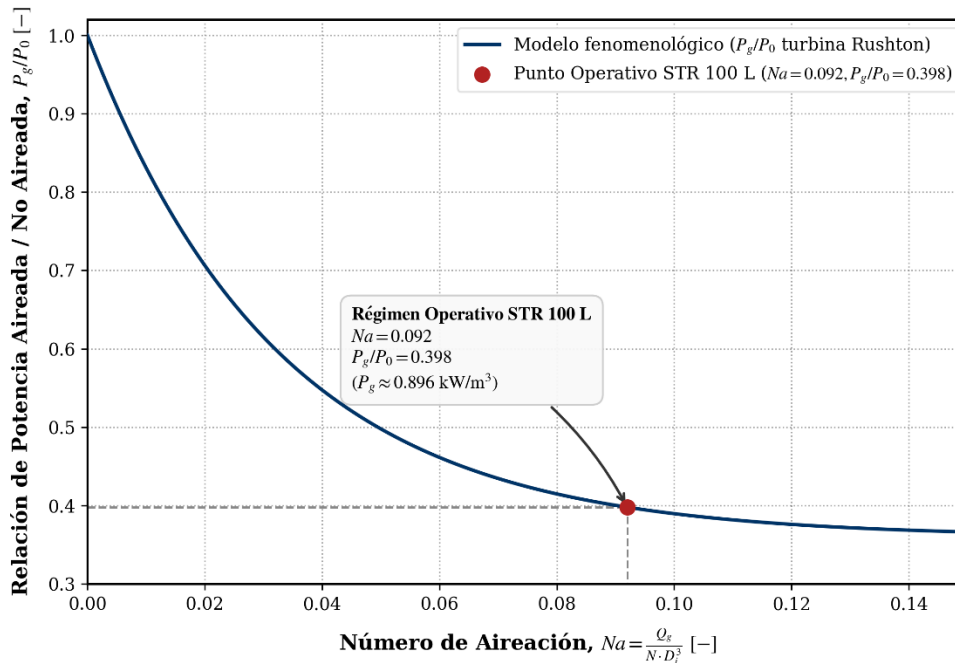
Por consiguiente, la potencia disipada neta en el fluido se establece matemáticamente en:

$$P_g = 452 \text{ W} \cdot 0.40 \approx 180 \text{ W}$$

Por consiguiente, este valor de disipación equivale a una densidad de potencia efectiva de 2.25 kW/m^3 (considerando el volumen útil de 80 L). En el contexto físico del bioproceso, este nivel de energía transferida al fluido asegura un micromezclado rápido y previene la formación de zonas muertas en toda la columna líquida. Esta condición hidrodinámica permite que la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* se mantenga en suspensión total y en contacto homogéneo con los nutrientes y el oxígeno disuelto; un factor crítico durante el régimen Fed-Batch predictivo gobernado por el algoritmo ZOH para evitar microambientes hipóxicos que pudieran disparar la producción indeseada de etanol por efecto Crabtree (ver Figura 4).

Figura 4

Fracción de potencia aireada en el sistema dual de turbinas Rushton



La Figura 4 ilustra la curva de simulación del comportamiento hidrodinámico bifásico (gas-líquido) generada a partir de las correlaciones empíricas para un sistema dual de turbinas Rushton en tándem (relación de aspecto $H/D = 2:1$), según lo descrito por Maluta et al.

(2021). El punto destacado en el gráfico ($Na = 0.092$) indica el régimen operativo nominal, donde la formación de cavidades de gas detrás de las palas reduce la demanda combinada de potencia en medio no aireado (P_0) de 452 W a una potencia gaseada (P_g) de 180 W, fijando una fracción de potencia retenida global de $P_g/P_0 \approx 0.40$. Operar en esta coordenada resulta estratégicamente ventajoso porque el biorreactor se ubica en la región de estabilización asintótica de la curva (régimen de Calderbank). En este umbral, la pendiente se aplana; por lo tanto, variaciones o incrementos adicionales en el caudal de aireación producen alteraciones marginales en el consumo de potencia. Esta condición otorga una excepcional robustez hidrodinámica al bioproceso, garantizando que eventuales fluctuaciones en la línea de suministro de gas no desestabilicen la disipación energética objetivo ni comprometan el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$).

4.1.2.2 Transferencia Interfacial de Oxígeno ($k_L a$) y Prevención de Hipoxia. Para reducir la probabilidad de activación de rutas fermentativas asociadas a limitaciones de oxígeno, la tasa de transferencia de oxígeno (OTR) del biorreactor debe ser invariablemente superior a la tasa de consumo de oxígeno (OUR) máxima proyectada por el cultivo aeróbico. La eficiencia de este transporte gaseoso se dictamina mediante el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$). Utilizando la correlación de Van't Riet para caldos de cultivo coalescentes/no-newtonianos, el $k_L a$ se calculó en función de la potencia específica gaseada y la velocidad superficial del gas (v_s) (Chaudhry, 2025):

1. **Potencia específica.** Con $P_g = 180$ W y un volumen operativo de 0.08 m³, se obtiene un valor de 2250 W/m³ (2.25 kW/m³), un índice de agitación vigoroso propio de escalas piloto industriales.
2. **Velocidad superficial del gas (v_s).** Con un caudal de 120 L/min atravesando el área transversal del tanque (0.1075 m²), la velocidad de ascenso de burbuja se sitúa en 0.0186 m/s.

Al ingresar estos vectores en el algoritmo de simulación, el sistema predice un $k_L a$ nominal superior a los 120 h^{-1} . Sin embargo, dado que el modelo cinético dinámico (evaluado a las 31.54 horas con 47.62 g/L de biomasa) exige un OUR pico de $\approx 124.48 \text{ mmol O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$, el diseño asume un incremento marginal en el caudal de aireación para empujar la capacidad de transferencia (OTR) hacia un umbral seguro de $200 \text{ mmol O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$. Esto garantiza un exceso de oxígeno interfacial, mitigando el riesgo de asfixia o hipoxia durante el pico de la fase logarítmica forzada.

4.1.2.3 Balance Dinámico de Energía y Dimensionamiento del Sistema de Refrigeración.

La exigencia térmica más crítica del diseño consiste en disipar la carga de calor generada durante la operación del cultivo. El balance térmico para mantener el sistema regulado a 30°C se modeló mediante la ecuación de acumulación térmica de estado estacionario en el punto de máxima exigencia celular (Doran, 2013):

$$Q_{total} = Q_{met} + Q_{mec} + Q_{amb}$$

El desglose predictivo de cada vector térmico arrojó los siguientes resultados para el dimensionamiento de la unidad enfriadora:

- **Calor metabólico exotérmico (Q_{met}).** La carga térmica metabólica no fue impuesta como una condición inicial estática, sino calculada dinámicamente a partir de la demanda respiratoria volumétrica obtenida durante la simulación transitoria. Considerando el equivalente oxalórico ampliamente utilizado como aproximación en balances térmicos de bioprocesos aerobios para el metabolismo aeróbico ($\approx 460 \text{ kJ/mol O}_2$), parámetro termodinámico habitualmente implementado en investigaciones cinéticas y de modelamiento bioprocesal recientes (Bettendorff & Wins, 2026), el modelo permitió estimar la evolución de la potencia térmica asociada a la respiración de la levadura. Bajo este enfoque predictivo, se proyecta una carga térmica máxima aproximada de 1350 W , la cual se alcanza en el pico teórico de demanda de oxígeno dentro de la frontera operativa de cosecha (80 L), aportando el parámetro de diseño

crítico para el dimensionamiento del lazo de refrigeración.

- **Calor mecánico (Q_{mec}).** Como se mostró previamente, la energía de tracción del eje se transforma en calor por fricción viscosa, añadiendo una carga constante de 180 W.
- **Pérdidas hacia el ambiente (Q_{amb}).** Aunque el diferencial de temperatura entre el bioproceso (30 °C) y el laboratorio (media de 24 °C) favorece la disipación natural, la envolvente del biorreactor se encuentra revestida por una chaqueta de refrigeración y aislamiento térmico industrial. Por consiguiente, bajo criterios conservadores de diseño termodinámico, se desestima un enfriamiento convectivo significativo a través del manto, acotando la disipación a un factor prudencial por elementos no aislados (tapa superior, puertos y acoples) de -15 W representando una contribución disipativa hacia el ambiente.

Sustituyendo en el balance general, la carga térmica neta máxima a disipar (Q_{total}) en el clímax de la fermentación es:

$$Q_{total} = 1350 + 180 - 15 = 1515 \text{ W}$$

Este valor de Q_{total} constituye el parámetro base para el dimensionamiento de la unidad enfriadora (*chiller*) y la sintonización del lazo de control, garantizando que el sistema mantenga capacidad de abatimiento térmico de reserva durante el pico de máxima demanda celular.

Para garantizar que el sistema de lazo único atmosférico no sea superado por la inercia del cultivo frente a perturbaciones térmicas, se aplicó un factor de seguridad del 30%. Por consiguiente, la potencia de refrigeración neta ($P_{chiller}$) demandada por el diseño es:

$$P_{chiller_nominal} = 1515 \text{ W} \times 1.30 \approx 1970 \text{ W}$$

El valor de 1.97 kW justifica matemáticamente el control térmico prescindiendo de infraestructura auxiliar de acumulación o sistemas de refrigeración de alta complejidad, se alinea a la capacidad de equipos industriales compactos de ciclo cerrado operando a temperaturas nominales de 12 °C a 15 °C., simplificando la arquitectura de control.

Tabla 2***Parámetros Geométricos y Operacionales del Biorreactor de 100 L***

Parámetro de diseño	Símbolo	Valor calculado	Unidad
Volumen teórico nominal	V_T	106.6	L
Volumen útil (líquido)	V_L	80.0	L
Diámetro interno del tanque	D_t	0.370	m
Altura de columna de líquido	H_L	0.740	m
Relación de aspecto operativa	H_L/D_t	2.0	Adim.
Altura total (solo cilindro)	H_T	0.986	m
Diámetro de turbina Rushton	D_i	0.123	m
Velocidad de agitación	N	700	RPM
Potencia mecánica no gaseada	P_0	452	W
Potencia mecánica bajo aireación	P_g	180	W
Número de aireación	N_a	0.092	Adim.
Densidad de potencia	P/V	2.25	kW/m ³

Nota. La materialización de este diámetro (370 mm) se sustenta en la disponibilidad local de componentes toro esféricos. El modelo matemático asume una esbeltez cilíndrica pura; físicamente, la incorporación de los casquetes superior e inferior aporta un volumen inerte adicional (~15 L combinados) que opera como factor de seguridad ante el desbordamiento del cultivo o generación de espuma. La configuración visual del equipo se presenta en la Figura 2, mientras que los planos dimensionales se incluyen en los Anexos.

4.1.3 Estrategia de Control Térmico e Hidrodinámico

La traslación de las trayectorias biológicas óptimas desde el entorno de modelado matemático hacia el biorreactor físico requiere la automatización de las variables críticas del proceso. La arquitectura de control implementada establece una secuencia de operación autónoma diseñada para mantener el microambiente celular dentro de ventanas fisiológicas estrictas, garantizando la estabilidad metabólica de *Saccharomyces cerevisiae* sin recurrir a instrumentación analítica de alta complejidad o telemetría invasiva.

4.1.3.1 Arquitectura de Interconexión y Lógica de Control (P&ID). La articulación funcional entre los balances hidrodinámicos, térmicos y biocinéticos del biorreactor (STR-101) se formaliza mediante el Diagrama de Flujo e Instrumentación (P&ID), estructurado bajo la codificación estándar ANSI/ISA-5.1 para la identificación de lazos de bioproceso (véase la Figura 4). Esta topología define la secuencia operativa del sistema en régimen Fed-Batch predictivo, donde cada lazo responde a un requerimiento fenomenológico específico del bioproceso:

- **Lazo 100 (Agitación y Suministro Aeróbico).** Gobierna la transferencia de masa fase gas-líquido y el micromezclado del cultivo. Este lazo articula la velocidad rotacional del accionamiento superior (M-101, comandado por el controlador SIC-101), fijada para mantener un régimen turbulento constante, con el caudal de ingreso de aire estéril filtrado a $0.22\ \mu\text{m}$ (F-101 y F-102) e inyectado por el difusor torofluidal (sparger, SP-101). La interconexión lógica de estos elementos (FIC-101) asegura la entrega de los 1.5 vvm de aireación y la disipación energética de $2.25\ \text{kW/m}^3$ validadas hidrodinámicamente, garantizando que la tasa de transferencia interfacial de oxígeno ($k_L a$) satisfaga la demanda respiratoria del cultivo sin someter a la biomasa a esfuerzos de corte letales.
- **Lazo 200 (Regulación Térmica e Isotherma).** Mantiene la temperatura del cultivo en su óptimo fisiológico de viabilidad ($30\ ^\circ\text{C}$), preservando la estabilidad enzimática de la biomasa durante todas las fases de crecimiento. La monitorización continua se realiza mediante una sonda de temperatura PT100 esterilizable en línea (TE-201), cuya lectura alimenta un algoritmo Proporcional-Integral (TIC-201) que orchestra un balance térmico diferencial. Durante la fase de latencia (lag) y etapas tempranas del cultivo, el controlador compensa de forma prioritaria la disipación térmica hacia el ambiente ($Q_{loss} \approx 15\ \text{W}$, fundamentada en la Sección 4.1.2.3) mediante pulsos dosificados al elemento de calentamiento en línea (EH-201), previniendo la

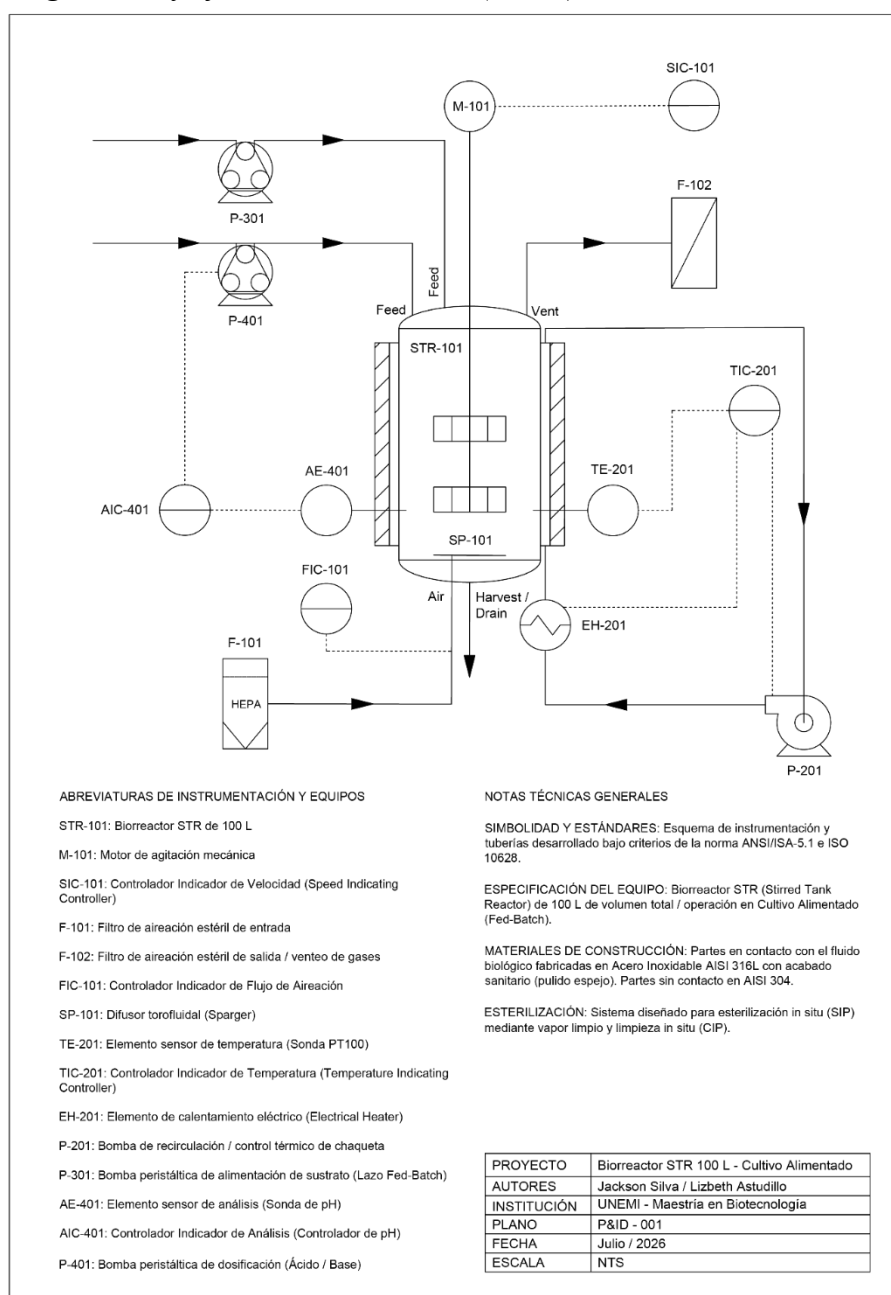
hipotermia del caldo. Conforme la población celular entra en fase logarítmica y el calor metabólico exotérmico (Q_{met}) supera las pérdidas ambientales, la lógica del sistema invierte su acción, activando la electrobomba de recirculación de refrigerante (P-201) para evacuar el excedente de energía y sostener la isoterma de diseño sin oscilaciones letales.

- **Lazo 300 (Dosificación Predictiva de Sustrato - Fed-Batch ZOH).** Constituye el núcleo de la estrategia biocinética para maximizar el rendimiento de biomasa y eludir el efecto Crabtree en *Saccharomyces cerevisiae*. Prescindiendo intencionalmente de sondas analíticas en línea para oxígeno disuelto o biomasa —reduciendo la complejidad operativa y el riesgo de fallas instrumentales—, este lazo opera bajo una arquitectura de control predictivo alimentada por el modelo cinético del cultivo. Una electrobomba peristáltica de alta precisión (P-301) es comandada mediante una subrutina algorítmica de Retenedor de Orden Cero (ZOH), la cual administra caudales de glucosa discretizados y precalculados numéricamente en función de la tasa específica de crecimiento (μ). Esta adición sincronizada restringe la concentración de sustrato residual en el licor de mezcla estrictamente por debajo del umbral crítico de represión catabólica ($S_{crit} < 0.15$ g/L), asegurando que el metabolismo celular se mantenga confinado en la vía puramente respiratoria y oxidativa, evitando la producción fermentativa indeseada de etanol.
- **Lazo 400 (Estabilización Cinética y Control de pH).** Compensa la deriva ácida natural del bioproceso inducida por la asimilación activa de fuentes de nitrógeno (amonio) y la secreción celular de ácidos orgánicos cortos. El monitoreo del microambiente iónico se ejecuta a través de un electrodo analógico esterilizable y compensado térmicamente (AE-401), cuya señal es interpretada por un bloque de control lógico (On/Off con histéresis, AIC-401). Ante descensos por debajo del límite inferior de viabilidad, el controlador acciona de manera intermitente una segunda

bomba peristáltica dosificadora (P-401) para la adición milimétrica de agente titulante alcalino (hidróxido de sodio o potasio). Esta intervención preserva el medio biológico de forma estricta dentro de la ventana operativa de diseño (4.5 a 5.0), garantizando el gradiente electroquímico transmembrana óptimo para el transporte de nutrientes y previniendo la desnaturalización de las proteínas de pared celular sin generar estrés osmótico por sobre-titulación.

Figura 5

Diagrama de flujo e instrumentación (P&ID) del biorreactor STR-100



4.1.3.2 Prevención de Lisis Celular Mediante Flujo Continuo y Dilución de Densidad de

Potencia. En los bioprocesos con calentamiento directo, la elevada densidad de potencia térmica en las superficies de contacto genera gradientes extremos en la capa límite fluido-térmica. Este fenómeno induce estrés biológico, desnaturalización proteica del medio y lisis celular de la levadura por choque térmico en las paredes del biorreactor. Para erradicar este riesgo y mantener la temperatura del cultivo en 30 °C, el modelo predictivo evaluó una arquitectura térmica basada en la dilución de la densidad de potencia. Para contrarrestar las pérdidas convectivas ambientales conservadoras ($Q_{amb} = -15 \text{ W}$) y permitir rampas de calentamiento suaves sin incurrir en altas densidades de calor superficial, se modeló la reducción de la disipación de un elemento de calentamiento a una fracción de su capacidad nominal. Esta dilución térmica evita la formación de zonas localizadas de alta temperatura (*hot spots*) y entrega de forma efectiva y biológicamente segura 500 W al sistema.

Para anular cualquier riesgo de sobreimpulso térmico (*thermal overshoot*) por inercia volumétrica, el diseño establece que la bomba del circuito caloportador opere a caudal máximo constante, garantizando un alto coeficiente de película y homogeneidad en la chaqueta. La regulación recae exclusivamente sobre el bloque Proporcional-Integral (PI) del autómatas, el cual modula la inyección calórica, logrando suprimir el error en estado estable y confinar la oscilación térmica dentro de una banda estrecha ($< 0.1 \text{ °C}$).

4.1.3.3 Detección Metabólica Inferencial en Tiempo Real. La evaluación del algoritmo evidenció que el sistema logra discriminar el reloj metabólico del cultivo basándose puramente en mediciones de termodinámica indirecta. Durante la fase de latencia (*Lag*), el bloque PI inverso modula la demanda de calor para abatir exclusivamente las pérdidas ambientales, mientras la bomba disipa instantáneamente el calor. Sin embargo, la robustez de la programación se manifiesta en su transición: el autómatas logró identificar el clímax de crecimiento evaluando dos condicionantes lógicas concurrentes (la superación del *setpoint* de 30.2 °C y la extinción del pulso de calentamiento a 0 V durante un umbral de $\approx 300 \text{ s}$). Al

registrar este comportamiento térmico, la lógica infiere matemáticamente el inicio de la masiva exotermia celular (Q_{met}), enclavando el sistema de calentamiento para evitar estancamiento y habilitando de forma automática la refrigeración forzada a través del circuito de enfriamiento.

4.1.3.4 Regulación de Dosificación (Lazo de pH y ZOH). Paralelo a la estabilización de energía, la parametrización del suministro de materia exige una respuesta de control de alta precisión. La inyección intermitente de agente alcalino se configura para mantener el diferencial de acidez rígidamente dentro de la ventana operativa óptima (4.5 a 5.0) (Shirvanyan, 2023) Por su parte, la dosificación de glucosa se rige bajo la arquitectura de Retenedor de Orden Cero (ZOH) calculada computacionalmente. El uso de funciones lógicas en el autómata programable permite emitir un tren de pulsos hacia la microbomba peristáltica, calcando fielmente la trayectoria teórica del lote alimentado en lazo abierto. Este accionamiento discreto está diseñado para garantizar el suministro de tasas volumétricas proporcionales que aseguren la restricción total del carbono libre estimado por el modelo, sin depender de biosensores en tiempo real.

Como consecuencia directa de esta arquitectura de control de dosificación, el balance de masa global del biorreactor no asume un volumen constante durante la operación. El cambio del volumen líquido total (V) respecto al tiempo se define por la sumatoria de los flujos de entrada, acoplando matemáticamente el suministro de carbono y el agente neutralizante de pH. Esta dinámica transitoria se rige por la siguiente ecuación diferencial ordinaria:

$$\frac{dV}{dt} = F_{in} + F_{base}$$

Donde la derivada representa la tasa de cambio del volumen operativo, F_{in} es el caudal discreto de alimentación comandado por el autómata ZOH, y F_{base} representa el caudal intermitente de la solución alcalina al 5%. Esta integración permite predecir el nivel del

tanque sin exceder su cota máxima operativa de 80 L, sentando las bases para interpretar los perfiles cinéticos.

4.1.4 *Crecimiento Celular y Eficiencia Metabólica (Resultados In Silico)*

El análisis de ingeniería del biorreactor se ejecutó resolviendo numéricamente sus Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (ODEs) en Python (SciPy). Para garantizar reproducibilidad y rigor matemático, el algoritmo exige una parametrización estricta que integre las constantes termodinámicas de la cepa, las restricciones geométricas del tanque y los parámetros de control.

4.1.4.1 Justificación Cinética y Ventana Operativa. Antes de ejecutar la simulación, fue necesario determinar los límites biológicos del sistema para programar el algoritmo ZOH de la bomba peristáltica. Utilizando la cinética de Monod y empleando valores representativos de los parámetros de Monod ($\mu_{max} = 0.30 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.10 \text{ g/L}$) reportados en la literatura para cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* (Rodrigues et al., 2021), se calculó la velocidad de crecimiento crítica (μ_{crit}) que dispara el metabolismo de rebosamiento fermentativo al alcanzar el umbral de sustrato de 0.15 g/L . La ecuación de Monod que define este límite es:

$$\mu_{crit} = \mu_{max} \left(\frac{S_{crit}}{K_s + S_{crit}} \right)$$

Sustituyendo los parámetros establecidos para el bioproceso:

$$\mu_{crit} = 0.30 \left(\frac{0.15}{0.10 + 0.15} \right) = 0.18 \text{ h}^{-1}$$

Este valor de 0.18 h^{-1} representa el límite de fallo del bioproceso aeróbico. Por consiguiente, bajo criterios de seguridad y estabilidad industrial, se adopta una velocidad específica de crecimiento de referencia ($\mu_{design} = 0.12 \text{ h}^{-1}$) como parámetro de diseño para determinar el perfil exponencial de alimentación en modo *Fed-Batch*. Esta variable no representa una acción directa de control sobre la cinética celular, sino una referencia operacional empleada para programar el algoritmo ZOH del caudal de alimentación en la bomba peristáltica. Al despejar nuevamente la ecuación de Monod con este factor de

seguridad operacional, la concentración de glucosa residual teórico-dinámica (S) en el biorreactor es:

$$0.12 = 0.30 \left(\frac{S}{0.10 + S} \right) \rightarrow S = 0.066 \text{ g/L}$$

Al fijar la referencia de alimentación en 0.12 h^{-1} , el sustrato libre mantiene un régimen cuasi-estacionario ($\sim 0.066 \text{ g/L}$), muy inferior al umbral crítico (0.15 g/L). Esto evita el metabolismo de rebosamiento (Efecto Crabtree) y maximiza el rendimiento biomasa-sustrato ($Y_{x/s}$). Estos valores, junto a las constantes biológicas y restricciones mecánicas, consolidan la matriz de alimentación del algoritmo.

Tabla 3

Parámetros de Alimentación del Algoritmo de Simulación

Clasificación de variable	Descripción del parámetro	Símbolo	Valor adoptado	Unidad	Referencia / Origen
Condiciones Iniciales	Volumen inicial de mosto (Inóculo)	V_0	40.0	L	Diseño de planta
	Concentración inicial de biomasa	X_0	0.5	g/L	Diseño de planta
	Concentración inicial de sustrato	S_0	15.0	g/L	Diseño de planta
	Concentración de mosto de alimentación	S_F	200.0	g/L	Diseño de planta
Constantes Biológicas	Tasa máxima de crecimiento específico	μ_{max}	0.30	h^{-1}	Sonnleitner & Käppeli (1986)
	Rendimiento termodinámico de biomasa	$Y_{x/s}$	0.50	g/g	Doran (2013)
	Constante de afinidad de Monod	K_s	0.10	g/L	Doran (2013)
	Límite metabólico de efecto Crabtree	S_{crit}	0.15	g/L	Sonnleitner & Käppeli (1986)
	Rendimiento de biomasa respecto al oxígeno	Y_{O_2}	1.05	g/g	Sonnleitner & Käppeli (1986)
Restricciones Físicas	Coefficiente de transferencia de masa	$k_L a$	120.0	h^{-1}	Resultados Sección 4.1.2
	Límite volumétrico operativo máximo	V_L	80.0	L	Resultados Sección 4.1.1

Clasificación de variable	Descripción del parámetro	Símbolo	Valor adoptado	Unidad	Referencia / Origen
Parámetros	Velocidad crítica	μ_{crit}	0.18	h^{-1}	Cálculo analítico
Derivados	(Límite Crabtree)				(Monod)
	Tasa de crecimiento operativa (Consigna)	μ_{set}	0.12	h^{-1}	Estrategia de control

Nota. Con respecto a la precisión operativa de la Tabla 3, el coeficiente de transferencia de masa ($k_L a = 120.0 h^{-1}$) se define como línea base conservadora. De este modo, para prevenir la asfixia celular, la simulación asume un incremento de gas hasta un OTR de 200 mmol $O_2/L \cdot h$, remitiendo el código a los Anexos.

4.1.4.2 Mecánica Operacional del Algoritmo, Ecuaciones Diferenciales y Lazo Abierto.

La conversión de los parámetros estáticos consignados en la Tabla 3 hacia los perfiles dinámicos transitorios requiere la implementación de un motor de integración numérica. La operación en régimen *Fed-Batch* induce un aumento continuo del volumen del caldo, lo cual genera un efecto de dilución físico que compite dinámicamente con las tasas biológicas de crecimiento y consumo.

Para que el modelo predictivo computacional capture esta realidad y genere las trayectorias de estado que se exponen en las figuras de esta sección, el algoritmo matemático evalúa simultáneamente el balance macroscópico del biorreactor mediante un sistema de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDOs) acopladas. El pilar de esta simulación recae en la estrategia de alimentación en Lazo Abierto. Para evitar el efecto Crabtree, la lógica de control no inyecta volumen al azar, sino que persigue una curva teórica de alimentación exponencial (F_{ideal}) diseñada para igualar exactamente la demanda metabólica de la levadura:

$$F_{ideal}(t) = \left(\frac{\mu_{set} \cdot V_0 \cdot X_0}{Y_{x/s} \cdot S_F} \right) e^{\mu_{set} t}$$

Esta expresión matemática es construida a partir de la demanda metabólica instantánea de la biomasa, dividiéndose en dos componentes operativos:

- **Tasa volumétrica de arranque.** El numerador ($\mu_{set} \cdot V_0 \cdot X_0$) cuantifica la cantidad exacta de biomasa nueva que se generará en ese instante. Al dividir esta exigencia para

el rendimiento celular ($Y_{x/s}$) y la concentración del mosto inyectado (S_F), el cociente resultante define con precisión el caudal volumétrico inicial (L/h) que el sistema de dosificación debe suministrar en el arranque de la fase *Fed-Batch*.

- **Factor de aceleración.** El multiplicador $e^{\mu_{set}t}$ actúa como el engranaje dinámico del modelo. A medida que avanza el tiempo, garantiza que el caudal de alimentación escale proporcionalmente a la reproducción exponencial de la levadura, evitando que la biomasa ampliada sufra inanición.

Dado que la arquitectura de control opera bajo una lógica de Retenedor de Orden Cero (ZOH), la curva ideal de alimentación continua es discretizada por el algoritmo en ventanas de caudal constante (modulación escalonada). Este perfil de inyección se visualiza físicamente en la Figura 8 (Perfil de Alimentación).

El controlador ejecuta una estrategia de alimentación programada en lazo abierto mediante una lógica discreta de Retenedor de Orden Cero (ZOH), aplicando pulsos de dosificación calculados a partir del perfil exponencial de diseño. Para evaluar la precisión de esta discretización frente a la teoría, la Figura 9 presenta la comparativa matemática entre el perfil dosificado por el ZOH y las trayectorias analíticas continuas ideales. Esta contrastación gráfica garantiza la consistencia estequiométrica del modelo, demostrando que el accionamiento discreto vincula dinámicamente el crecimiento de la biomasa con la expansión volumétrica del biorreactor, manteniéndose fiel a la curva de referencia y estrictamente alejado de la frontera crítica de represión catabólica.

El caudal volumétrico neto entregado por este algoritmo discreto (F_{in}) alimenta el sistema principal de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDO), compuesto por:

1. **Cinética de crecimiento (Monod).** Define la velocidad reproductiva intrínseca de la biomasa, limitada por la concentración de glucosa residual.

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

2. **Balance global de volumen operativo.** Cuantifica la expansión geométrica del nivel de líquido en el tanque, comportamiento que se valida gráficamente en la Figura 7 (Evolución del Volumen Operativo).

$$\frac{dV}{dt} = F_{in} + F_{base}$$

3. **Balance transitorio de biomasa (X).** Modela la concentración celular neta, integrando el crecimiento biológico frente al impacto físico de dilución. Su trayectoria de propagación acumulada se expone en la Figura 6 (Concentración de Biomasa).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \left(\frac{F_{in} + F_{base}}{V} \right) X$$

4. **Balance transitorio de sustrato residual (S).** Estructura la dinámica de asimilación de la fuente de carbono. El éxito de esta ecuación para mantener el carbono confinado a niveles traza se demuestra en la Figura 10x (incluyendo el recuadro de acercamiento o *zoom* de las oscilaciones), mientras que la resiliencia del sistema ante posibles fallos de este balance se expone en la Figura 11 (Análisis de Sensibilidad).

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{x/s}} + \frac{F_{in}}{V} (S_F - S) - \frac{F_{base}}{V} S$$

Para resolver este Problema de Valor Inicial (*Initial Value Problem - IVP*), el código en Python utiliza la función `scipy.integrate.solve_ivp` bajo el esquema RK45 de Dormand-Prince. En cada paso de tiempo Δt , el algoritmo actualiza el vector de estado principal calculando simultáneamente los vectores metabólicos secundarios derivados directamente de la actividad celular:

- **Demanda de oxígeno (OUR).** Calculada como función lineal del crecimiento y el rendimiento respiratorio ($OUR = \mu X / Y_{O_2}$), dinámica que se contrasta contra la capacidad de transferencia física del equipo (OTR) en la Figura 12 (Transferencia de Oxígeno).
- **Requerimiento frigorífico.** Derivado del calor metabólico exotérmico,

estequiométricamente proporcional al oxígeno asimilado. Su trayectoria predictiva dicta las necesidades de enfriamiento proyectadas en la Figura 13 (Demanda Frigorífica).

- **Dinámica de titulación (pH).** Donde el caudal de base alcalina (F_{base}) se activa condicionalmente para neutralizar la extrusión de protones, generando el perfil de consumo que se proyecta en la Figura 14 (Dinámica de pH).

Esta integración algorítmica de paso variable, que emula la lógica discreta del autómata de control, es la matriz matemática que articula y da rigor científico a todas las curvas expuestas a lo largo de este apartado.

4.1.4.3 Análisis Predictivo del Bioproceso (Resultados In Silico). Las proyecciones gráficas obtenidas a partir de esta matriz validan el comportamiento transitorio de las variables de estado, ratificando la sincronía entre las capacidades hidrodinámicas y las exigencias biológicas celulares.

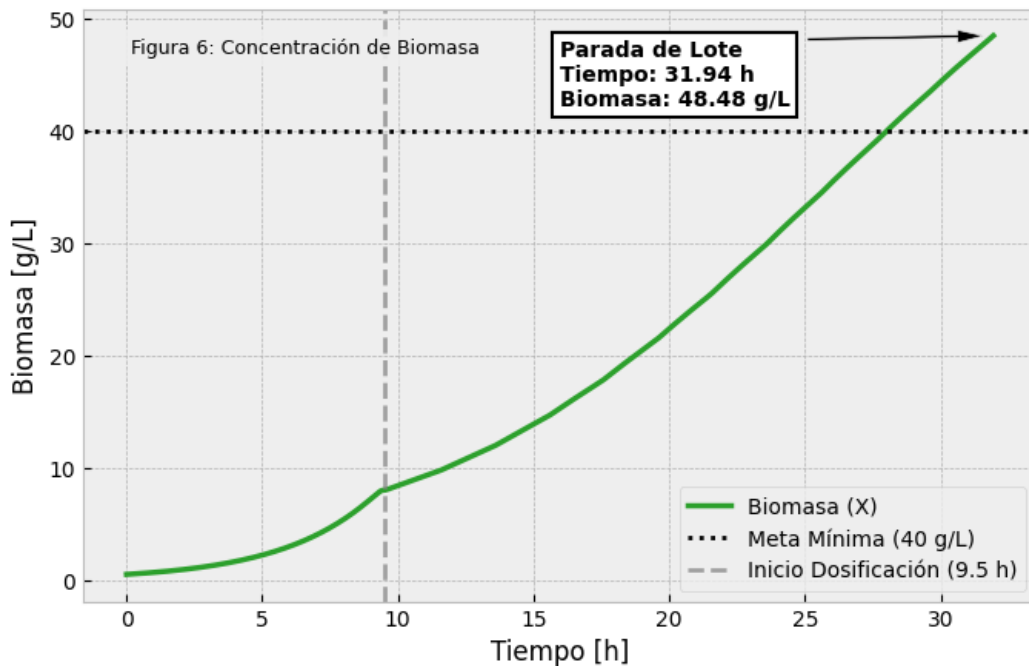
Cinética de crecimiento celular y expansión volumétrica. La curva de la biomasa (Figura 6) presenta un punto de inflexión cinético a las 9.5 h, evidenciando dos pendientes. Esta dualidad obedece a la transición operativa de una fase *Batch* inicial hacia el régimen *Fed-Batch*. Se diseñó una carga inicial de 15.0 g/L de sustrato para inducir un crecimiento acelerado aceptando transitoriamente el metabolismo fermentativo. Esta decisión de ingeniería de bioprocesos permite utilizar el propio biorreactor como tanque de propagación masiva, mitigando riesgos de contaminación y optimizando recursos operativos sin escalar reactores de laboratorio.

El cese definitivo de la operación quedó determinado a las 31.94 horas, momento en el cual la concentración de biomasa alcanzó los 48.47 g/L. Este punto de parada cinético se posiciona inmediatamente antes del umbral crítico de los 50 g/L, fijado para evitar restricciones reológicas y la pérdida del comportamiento newtoniano en el fluido. La trayectoria de la curva demuestra la precisión del lazo abierto, garantizando que el proceso se

detenga en la máxima densidad celular permisible sin comprometer la hidrodinámica ni la potencia de agitación disponible del sistema.

Figura 6

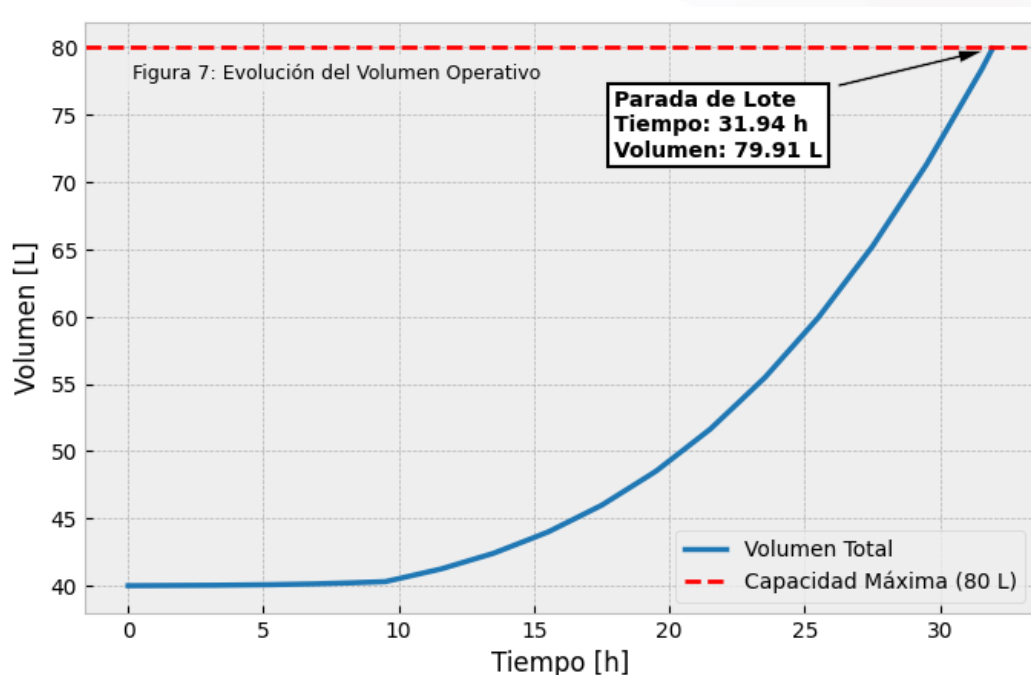
Concentración de Biomasa



Al agotarse este inóculo ($t = 9.5$ h) la lógica de control asume el régimen restrictivo. El incremento del volumen total acumulado por la alimentación no excede la cota preestablecida de 80 L, salvaguardando el espacio de cabeza (*headspace*). Esta reserva geométrica resulta imprescindible para la correcta desgasificación del medio y la mitigación de la espuma, previniendo el taponamiento por arrastre de los filtros de venteo, tal como se evidencia en la Figura 7. El perfil volumétrico reflejado en la gráfica ratifica que la simulación se detiene automáticamente a las 31.94 horas al alcanzar un volumen final de 79.91 L. Este corte por restricción volumétrica programada impide de forma absoluta el desbordamiento del biorreactor piloto, asegurando la estabilidad de la presión interna y la integridad operativa de los sistemas de filtración periféricos justo en el límite de la capacidad útil del diseño.

Figura 7

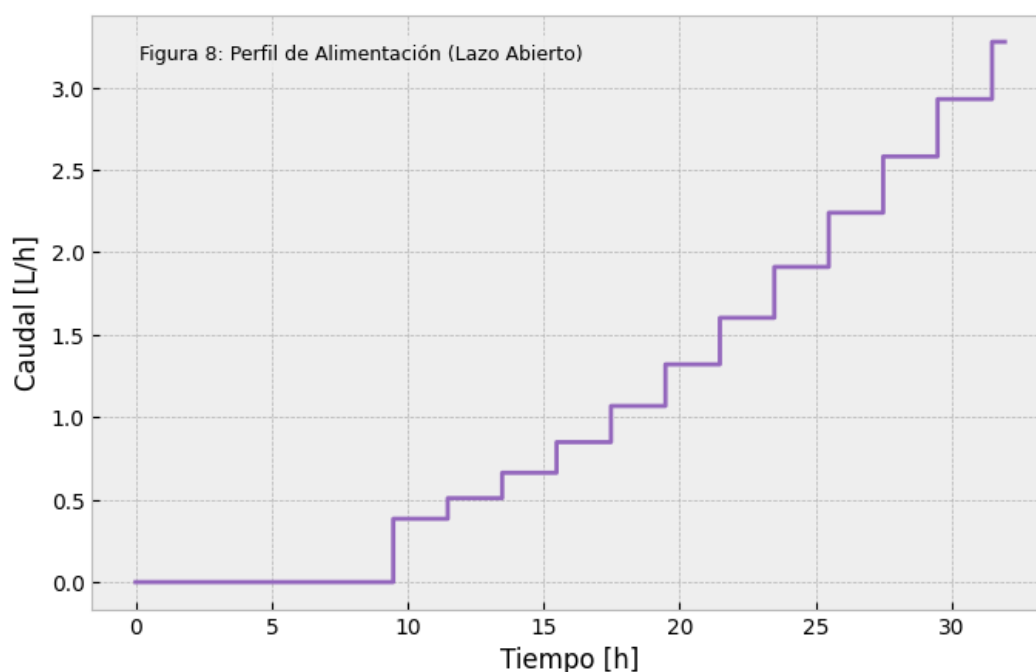
Evolución del Volumen Operativo



Eficiencia del control discreto y modulación del caudal. La respuesta escalonada del perfil de alimentación (Figura 8) evidencia la efectividad operativa del algoritmo *Zero-Order Hold* (ZOH) programado en la estrategia de dosificación. La cuantificación de estos pulsos discretos permite confirmar la precisión del controlador en la actualización y retención de la consigna de velocidad de la bomba peristáltica, asegurando que el flujo volumétrico de nutrientes responda con exactitud a la demanda exponencial calculada para el régimen *Fed-Batch*. Como se observa en la curva, el perfil mantiene un valor nulo (0 L/h) durante las primeras 9.5 h, correspondientes a la fase estática por lote. A partir de este hito metabólico, el caudal de alimentación experimenta incrementos escalonados en ventanas discretas fijas de 2.0 h, reflejando la retención fiel de la señal del algoritmo ZOH. Esta dosificación controlada culmina con una inyección máxima aproximada de 3.2 L/h, momento en el cual el sistema ejecuta la interrupción total del flujo forzada por la restricción de seguridad volumétrica (80 L) a las 31.94 h.

Figura 8

Perfil de Alimentación (Lazo Abierto)



Nota. Representación gráfica de los caudales volumétricos discretizados $F(t)$ dictaminados por el algoritmo de retención de orden cero (ZOH). Se aprecian las ventanas discretas de 2 h de caudal constante (L/h) aplicadas por el sistema de dosificación desde la transición al Lote Alimentado (9.5 h) hasta el límite operativo (31.94 h).

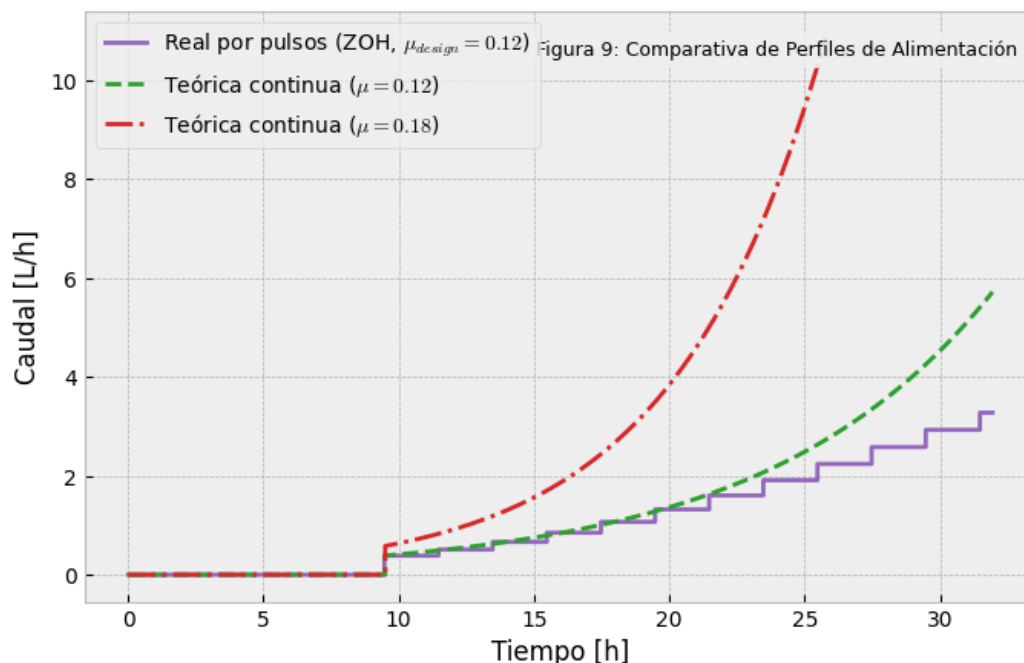
La Figura 9 presenta la comparativa matemática entre el perfil de alimentación por pulsos del retenedor de orden cero (ZOH) para la referencia operativa ($\mu_{design} = 0.12 \text{ h}^{-1}$) y las trayectorias analíticas continuas ideales ($\mu = 0.12$ y $\mu_{crit} = 0.18 \text{ h}^{-1}$), garantizando la consistencia estequiométrica al vincular dinámicamente el crecimiento de la biomasa con la expansión volumétrica real del sistema.

Tras la fase de lote ($0 \leq t < 9.5 \text{ h}$), el primer pulso del algoritmo coincide con el origen de la curva continua de seguridad (trazo verde). La señal en escalera (ZOH) persigue la tendencia exponencial con un error mínimo, validando que el intervalo de muestreo de 2.0 h mantiene el sustrato residual anclado en el óptimo teórico de 0.066 g/L sin desviar al cultivo de su ruta respiratoria. Paralelamente, la trayectoria para el régimen crítico de $\mu_{crit} = 0.18 \text{ h}^{-1}$ (trazo rojo) expone el límite de fallo por Efecto Crabtree. Su divergencia inicial del 50%

en el caudal de alimentación evidencia la magnitud del "colchón" volumétrico de protección adoptado, el cual impide la saturación de carbono y asegura la máxima eficiencia de oxigenación frente a la represión catabólica.

Figura 9

Comparativa de Perfiles de Alimentación



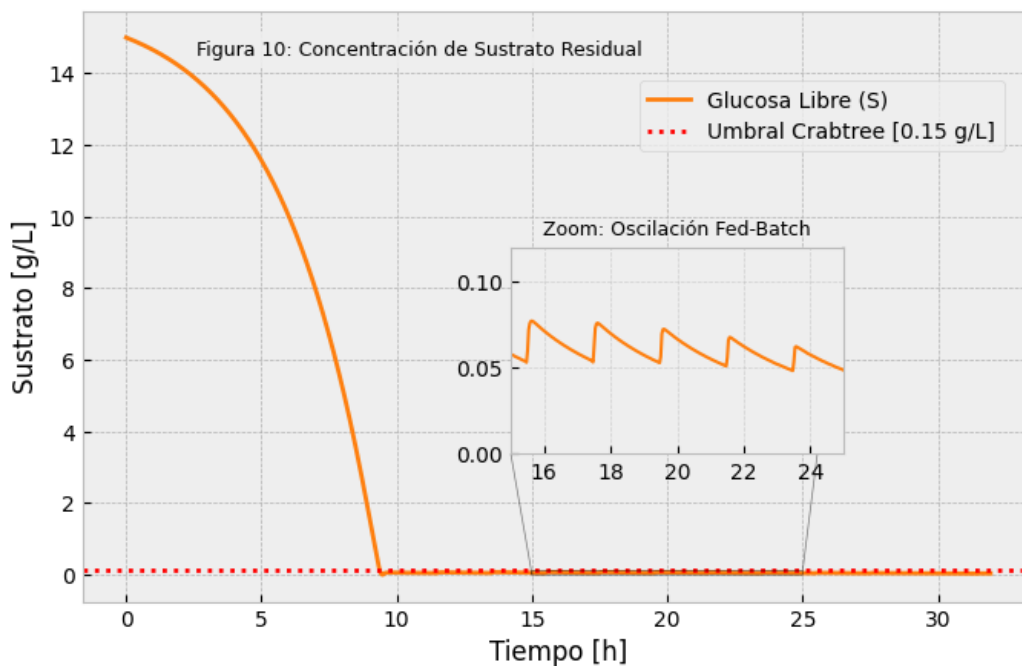
A diferencia de un lazo continuo, este control discreto logra confinar las oscilaciones de la glucosa libre residual a una traza de 0.066 g/L (Figura 10). Este comportamiento dinámico, significativamente inferior al umbral Crabtree ($S_{crit} = 0.15$ g/L), confirma que el algoritmo de dosificación es capaz de mantener el metabolismo de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* bajo una ruta estrictamente respiratoria. Al evitar de forma eficiente la represión catabólica y la formación de subproductos fermentativos indeseados como el etanol, se garantiza la optimización del rendimiento biomasa-sustrato ($Y_{x/s}$) planificado en la simulación.

Durante la etapa inicial por lote (0 a 9.5 h), la concentración de sustrato residual descende gradualmente desde los 15.0 g/L iniciales como producto del consumo celular libre. Una vez agotada esta reserva a las 9.5 h, se activa la estrategia de alimentación discreta. A

partir de este hito, y como se detalla en el recuadro de magnificación (Zoom), la dinámica migra hacia un régimen de oscilaciones generadas por la lógica de control ZOH. Estas fluctuaciones se mantienen rígidamente confinadas por debajo de la línea del umbral crítico de 0.15 g/L durante toda la etapa *Fed-Batch*, proyectando un metabolismo respiratorio puro hasta la parada del sistema a las 31.94 h.

Figura 10

Concentración de Sustrato Residual

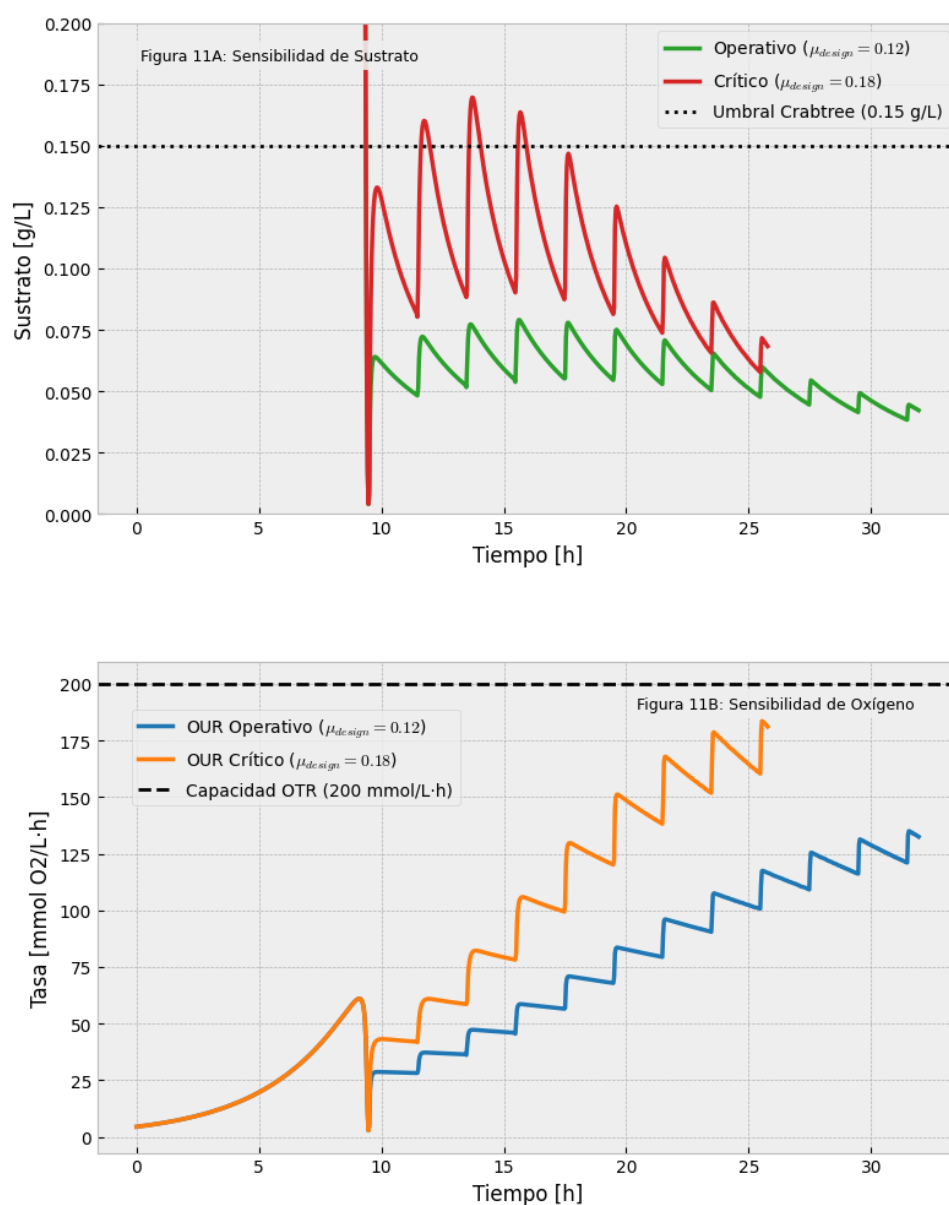


Análisis de sensibilidad y robustez del régimen *Fed-Batch*. La solidez predictiva del sistema se ratifica mediante el modelamiento de escenarios críticos (Figura 11). Al contrastar la consigna operativa ($\mu_{set} = 0.12 \text{ h}^{-1}$) frente al límite de colapso cinético ($\mu_{crit} = 0.18 \text{ h}^{-1}$), se demuestra una clara divergencia en las variables de estado. En el escenario crítico, la incapacidad de dinámica de transferencia de oxígeno para seguir la demanda de la levadura genera un incremento exponencial en el consumo de sustrato, superando el límite de asimilación respiratoria y precipitándolo hacia una acumulación tóxica. Por el contrario, el modelo operativo propuesto mantiene una reserva de seguridad del 40% respecto a la capacidad máxima del sistema (OTR), confirmando que el diseño del biorreactor posee la

resiliencia necesaria para absorber perturbaciones biológicas sin comprometer la estabilidad del cultivo. Como se evidencia gráficamente, la consigna crítica de $\mu_{set} = 0.18$ provoca oscilaciones que vulneran reiteradamente el umbral Crabtree (Figura 11A). Resulta notable que esta sobrecarga metabólica ocurre sin llegar a saturar la capacidad de transferencia de oxígeno (Figura 11B), demostrando que la limitante biológica de la levadura se quiebra mucho antes que el límite de aireación proyectado.

Figura 11

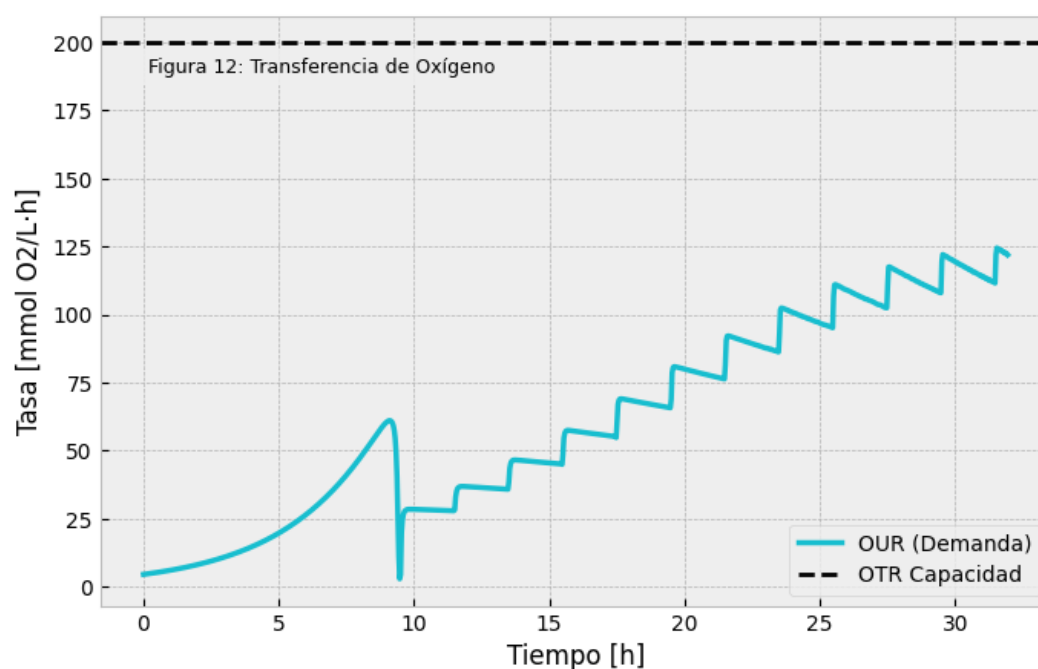
Análisis de Sensibilidad del Efecto Crabtree



Dinámica de transferencia de masa y balance respiratorio. La simulación de las tasas de oxigenación (Figura 12) ratifica que la capacidad de transferencia de oxígeno del sistema (OTR) opera de forma segura por encima de la demanda máxima del cultivo celular (OUR). Al confinar la tasa respiratoria estrictamente por debajo de esta barrera de transferencia, el diseño hidrodinámico asegura la supresión absoluta de zonas de hipoxia en el biorreactor. Esto previene que, incluso durante el clímax reproductivo de la biomasa, la levadura sufra desviaciones metabólicas hacia la fermentación por asfixia celular, consolidando la eficiencia del régimen aerobio.

Figura 12

Transferencia de Oxígeno

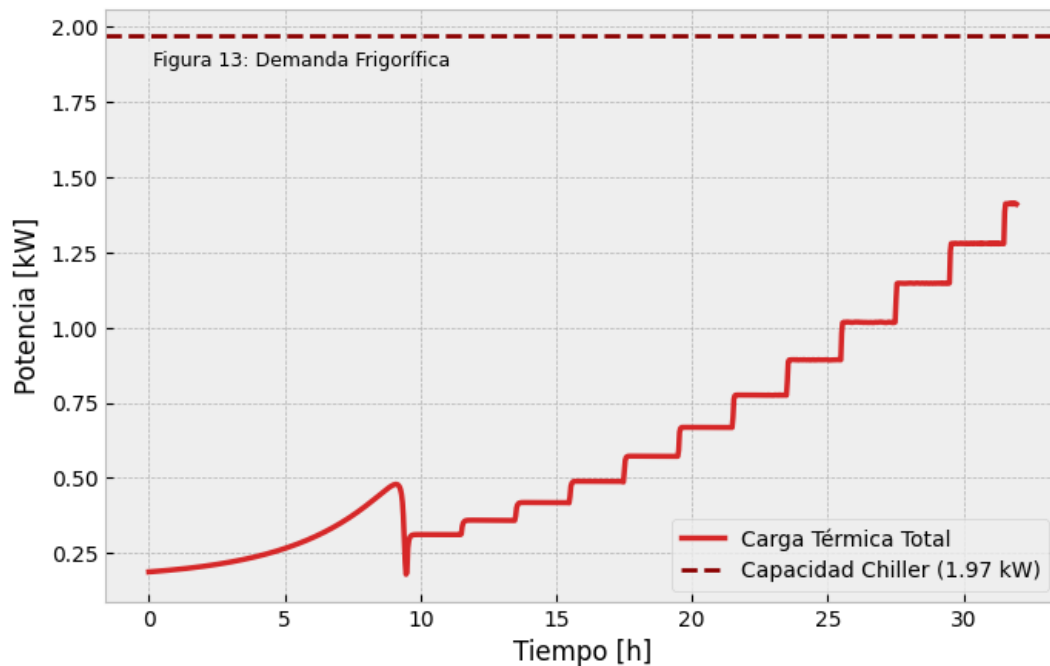


Termodinámica del bioproceso y control de empuje exotérmico. El modelo de balance energético (Figura 13) cuantifica el trabajo térmico derivado de la fase exponencial, donde el calor metabólico se acopla directamente a la tasa de disipación del sistema. La simulación proyecta un requerimiento de extracción térmica pico de 1.47 KW para mantener el proceso isotérmico frente a las fluctuaciones de la resistencia térmica superficial. Este resultado sustenta matemáticamente el dimensionamiento frigorífico de 1.91 KW, asegurando un

margen de holgura que permite abatir la carga máxima sin exceder la capacidad de enfriamiento proyectada ni exponer el cultivo a riesgos de lisis por embalamiento térmico.

Figura 13

Demanda Frigorífica

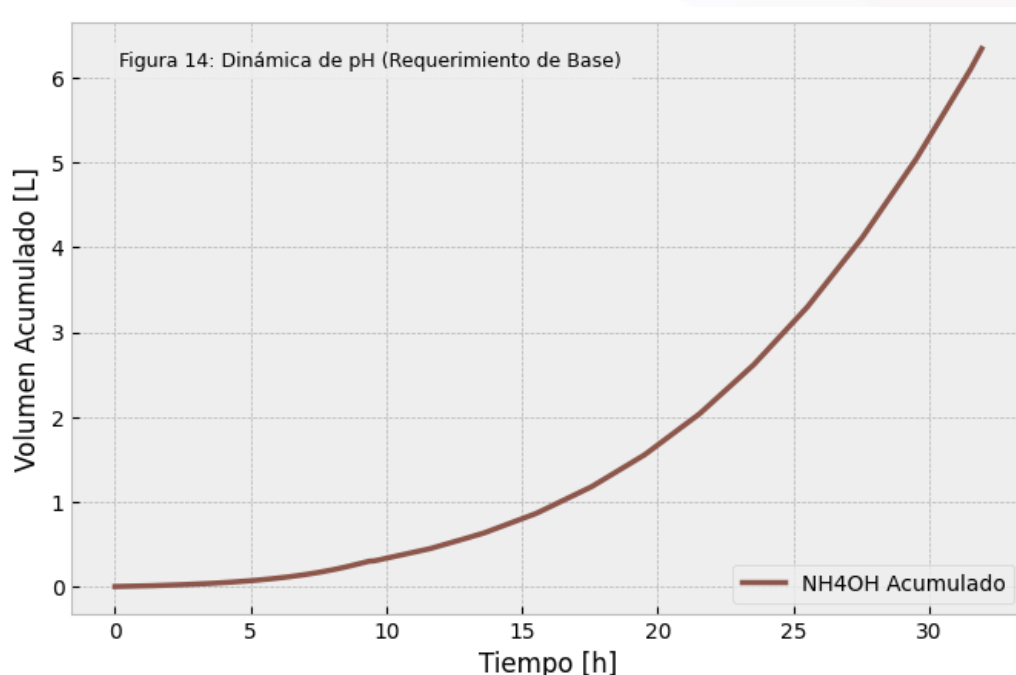


Resolución diferencial de acidez y requerimiento de titulación. Finalmente, la Figura 14 cuantifica la dinámica de acidificación inducida por el metabolismo celular, permitiendo modelar el requerimiento de titulante. Esta predicción es crítica para el diseño del bioproceso, pues define el volumen útil de dosificación alcalina y asegura la continuidad operativa.

Asimismo, este dimensionamiento permite proyectar el uso de hidróxido de amonio como titulante de doble propósito, logrando el control del pH y el reabastecimiento simultáneo de nitrógeno, lo que acopla la estabilidad fisicoquímica con la nutrición celular continua durante todo el régimen Fed-Batch.

Figura 14

Dinámica de pH



4.1.5 Síntesis Integradora y Comprobación de la Hipótesis

La convergencia de los resultados en las dimensiones hidrodinámica, de control y biocinética certifica la viabilidad operativa del diseño del biorreactor piloto de 100 L (80 L de volumen útil). Su geometría, optimizada frente al cizallamiento y la carga térmica, constituye el entorno hidrodinámico adecuado para el cultivo, superando las deficiencias de escalamiento y gradientes de mezclado típicamente documentadas en la literatura por Scully et al. (2020) y Beugholt et al. (2023). Asimismo, la arquitectura del autómata programable orquestó con precisión la dosificación ZOH y la transición Fed-Batch, confinando el sustrato residual a niveles traza, manteniéndolo estrictamente por debajo de los umbrales de represión catabólica establecidos por Hagman et al. (2014) y Karaalioğlu & Karagül Yüceer (2021).

La Tabla 4 sintetiza los hitos críticos del bioproceso, analizando la dinámica respiratoria frente a las restricciones operativas.

Tabla 4*Comparación entre el Pico Respiratorio y el Estado Final de la Simulación*

Variable	Pico OUR	Fin de Simulación
Tiempo	31.54 h	31.94 h
Biomasa	47.62 g/L	48.48 g/L
Volumen	78.37 L	79.91 L
OUR	124.48 mmol/L·h	-

La distinción entre ambos hitos es fundamental: el OUR máximo (31.54 h) ocurre antes del llenado total debido a que la velocidad específica de crecimiento disminuye gradualmente. Esto demuestra que el pico metabólico obedece a la fisiología del cultivo y no al volumen de corte. Como balance final, el sistema consolida un rendimiento neto de 3.87 kg de biomasa. La viabilidad del diseño paramétrico y la robustez del modelo cinético se comprueban en la Tabla 5, contrastando los resultados predictivos con los criterios iniciales.

Tabla 5*Validación Global del Modelo In Silico*

Indicador	Resultado	Criterio	Evaluación
Biomasa final	48.48 g/L	≥ 40 g/L	✓
Volumen final	79.91 L	≤ 80 L	✓
OUR máximo	124.48 mmol/L·h	< 200 mmol/L·h	✓
Utilización OTR	62.2 %	< 100 %	✓
Margen OTR	37.8 %	Reserva operacional	✓
Sustrato residual	< 0.15 g/L	Evitar Crabtree	✓
Carga térmica máx.	1.515 kW	< 1.97 kW	✓
Consumo acumulado de Base	6.34 L	Predicción	✓

En conjunto, el análisis estructurado de estos indicadores predictivos (sintetizados en la Tabla 5) permite la comprobación afirmativa de la hipótesis de investigación. En primer lugar, el modelo hidrodinámico validó que el diseño paramétrico de doble turbina Rushton genera un coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) que garantiza una Tasa de Transferencia de Oxígeno (OTR) capaz de solventar el pico máximo de demanda (OUR de 124.48 mmol/L·h), conservando una reserva operacional del 37.8%, lo cual cumple

estrictamente con los criterios de escalado aeróbico exigidos por García-Ochoa & Gómez (2009). En segundo lugar, el algoritmo determinístico resuelto en Python (`scipy.integrate.solve_ivp`) demostró una alta precisión para predecir la biocinética de Monod, proyectando una acumulación final de biomasa celular (X) de 48.48 g/L y un rendimiento estequiométrico ($Y_{x/s}$) óptimo. Finalmente, la estrategia operativa demostró la viabilidad y robustez del control de lazo abierto; la dosificación discreta ZOH confinó el consumo de sustrato (S) por debajo de 0.15 g/L de forma ininterrumpida, neutralizando el Efecto Crabtree sin dependencia de instrumentación analítica costosa, alineándose con las tendencias actuales de automatización predictiva y autonomía tecnológica (Narayanan et al., 2020; Bolmanis et al., 2023).

CAPÍTULO V: Discusión, Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Discusión

La presente investigación planteó como eje central el desarrollo de una metodología integrada para el diseño y validación *in silico* de un biorreactor aerobio piloto, articulando tres áreas que tradicionalmente se estudian de manera independiente: el diseño mecánico del recipiente, la descripción matemática del comportamiento biológico y la arquitectura de automatización del proceso. Desde esta perspectiva, la discusión de los resultados no se limita a evaluar parámetros individuales del equipo, sino que analiza la interacción entre las decisiones de diseño y su impacto sobre la capacidad del sistema para mantener condiciones favorables de crecimiento celular.

La integración de herramientas de simulación numérica con criterios de ingeniería permitió evaluar la coherencia del diseño antes de una futura construcción física, proporcionando una estrategia de reducción de incertidumbre durante las etapas iniciales de desarrollo tecnológico. Este enfoque coincide con la tendencia actual de los bioprocesos hacia metodologías basadas en modelos predictivos, donde los modelos matemáticos permiten anticipar restricciones operativas y optimizar decisiones de diseño antes de realizar inversiones experimentales de mayor escala (Aydin et al., 2023).

5.1.1 Discusión del Diseño Geométrico, Hidrodinámica y Transferencia de Masa

El primer objetivo específico estuvo orientado a establecer una configuración geométrica y mecánica capaz de garantizar condiciones adecuadas de mezcla y transferencia de oxígeno para el cultivo aerobio de *Saccharomyces cerevisiae*. En este contexto, la selección de una relación de aspecto (H_L/D_t) de 2:1 representa una decisión de diseño basada en un equilibrio entre desempeño del proceso y factibilidad constructiva.

La literatura clásica de diseño de biorreactores reconoce que la relación geométrica del recipiente influye directamente sobre la circulación del fluido, el tiempo de residencia de las burbujas y la distribución de la fase gaseosa dentro del sistema (Doran, 2013). Sin embargo,

los criterios utilizados para reactores industriales de gran escala no siempre son directamente transferibles a equipos piloto, donde adquieren mayor importancia factores adicionales como accesibilidad mecánica, facilidad de fabricación, mantenimiento y cumplimiento de requerimientos sanitarios.

En este sentido, la propuesta desarrollada plantea que la geometría de un reactor piloto no debe definirse únicamente desde una perspectiva de optimización hidrodinámica, sino como un compromiso multidisciplinario entre fenómenos de transporte y restricciones reales de manufactura. La selección de una configuración más compacta permite simplificar la integración de elementos internos, conexiones sanitarias e instrumentación, aspectos particularmente relevantes cuando el equipo será fabricado en ambientes donde la disponibilidad de tecnología especializada puede ser limitada.

Desde la perspectiva hidrodinámica, la incorporación de un sistema de doble turbina Rushton con baffles deflectores responde al objetivo de favorecer la dispersión gaseosa y mantener un régimen turbulento adecuado. Investigaciones recientes han señalado que el desempeño de los sistemas agitados aireados depende de la interacción entre potencia suministrada (P_g), geometría del impulsor (diámetro D_i), retención gaseosa y propiedades del medio de cultivo, por lo que la optimización del proceso requiere considerar el conjunto del sistema y no únicamente el tipo de agitador empleado (Maluta et al., 2021).

Los resultados obtenidos mediante el modelamiento de la potencia (P_g) y transferencia de oxígeno ($k_L a$) indican que la configuración propuesta posee una capacidad de transporte adecuada para las condiciones de operación consideradas. Más importante aún, el análisis demuestra que una estrategia basada en una correcta distribución energética puede compensar las limitaciones inherentes a un reactor piloto compacto, evitando la necesidad de sobredimensionar excesivamente los componentes mecánicos.

Esta conclusión es relevante porque en sistemas aerobios de alta densidad celular la transferencia de oxígeno (OTR) constituye frecuentemente una de las principales restricciones

del proceso. Una insuficiente capacidad de suministro puede inducir zonas con baja disponibilidad de oxígeno y favorecer cambios metabólicos no deseados en la levadura. Por esta razón, el diseño hidrodinámico propuesto debe interpretarse no únicamente como una selección mecánica, sino como un elemento fundamental de control indirecto del metabolismo celular.

Adicionalmente, la consideración de criterios sanitarios desde la etapa inicial del diseño representa una ventaja metodológica importante. La integración de geometrías compatibles con procesos CIP (*Clean-In-Place*), conexiones sanitarias y superficies internas adecuadas permite que los requerimientos microbiológicos no sean tratados como una etapa posterior, sino como parte integral del diseño del equipo. Este enfoque coincide con las recomendaciones actuales para el desarrollo de equipos destinados a bioprocesos, donde la facilidad de limpieza y la prevención de contaminación son factores determinantes para la confiabilidad operacional (ASME BPE, (2022)).

En consecuencia, la discusión del primer objetivo específico permite establecer que el diseño geométrico e hidrodinámico desarrollado no busca únicamente alcanzar una condición operacional determinada, sino generar una arquitectura equilibrada entre eficiencia del proceso, manufactura local y criterios sanitarios.

5.1.2 *Discusión del Modelo Cinético y la Estrategia de Alimentación Fed-Batch*

El segundo objetivo específico consistió en desarrollar un modelo matemático capaz de describir la evolución dinámica del cultivo (variables de estado X , S y V_L) y establecer una estrategia de alimentación (F_{in}) adecuada para evitar condiciones asociadas a la represión catabólica en *Saccharomyces cerevisiae*.

La utilización de la cinética de Monod como base del modelo responde a su amplia aplicación en la representación macroscópica del crecimiento microbiano. Aunque modelos metabólicos de mayor complejidad pueden proporcionar descripciones más detalladas del comportamiento celular, los modelos estructurados simples continúan siendo herramientas

ampliamente utilizadas para el diseño preliminar y control de procesos debido a su equilibrio entre capacidad predictiva y facilidad de implementación computacional.

Dentro de esta investigación, el valor del modelo no reside únicamente en representar el crecimiento celular (X), sino en permitir analizar la relación dinámica entre disponibilidad de sustrato (S), velocidad de crecimiento (μ) y estrategia de alimentación (F_{in}). Esta perspectiva resulta fundamental en cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*, donde una disponibilidad excesiva de glucosa ($S > S_{crit}$) puede favorecer la formación de metabolitos fermentativos incluso bajo condiciones aerobias.

La estrategia Fed-Batch implementada mediante una alimentación discreta basada en Retención de Orden Cero (ZOH) constituye uno de los elementos diferenciadores de la propuesta. Tradicionalmente, los sistemas Fed-Batch industriales emplean estrategias basadas en controladores continuos o mediciones indirectas del estado metabólico. Sin embargo, en aplicaciones piloto o de investigación inicial, la disponibilidad de sensores avanzados puede representar una limitación económica y técnica.

Desde esta perspectiva, la utilización de una estrategia predictiva basada en modelo representa una alternativa viable para establecer perfiles de alimentación (F_{in}) iniciales. Los enfoques actuales de control basado en modelos (*Model-Based Control*) muestran que la integración entre simulación matemática y algoritmos de operación puede reducir la dependencia exclusiva de mediciones en línea durante etapas tempranas del desarrollo de bioprocesos (Schuler et al., 2023).

La importancia de esta estrategia radica en que la alimentación (F_{in}) deja de ser considerada únicamente como un suministro de nutrientes y pasa a convertirse en una herramienta de regulación metabólica. Al controlar la disponibilidad de carbono (S), es posible favorecer condiciones fisiológicas compatibles con una mayor producción de biomasa (X) y reducir la acumulación de productos asociados al metabolismo fermentativo.

Los resultados obtenidos mediante la simulación muestran que el esquema propuesto

mantiene coherencia entre la demanda metabólica esperada (*OUR*) del cultivo y la capacidad operacional del reactor. La obtención predictiva de 48.48 g/L de biomasa con un sustrato residual inferior a 0.15 g/L concuerda con los perfiles cinéticos y las tasas de rendimiento estequiométrico reportadas en la literatura biotecnológica para cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* de alta densidad bajo limitación de carbono (Schuler et al., 2023; Reid et al., 2024). Esta congruencia entre la simulación y los antecedentes teóricos respalda la utilización del modelo como herramienta de diseño previo y como base para futuras estrategias de control más avanzadas.

No obstante, debe considerarse que la simulación representa una aproximación del comportamiento real del sistema. Factores como variaciones en la composición del medio, adaptación fisiológica de la cepa, cambios en la transferencia de oxígeno ($k_L a$) o fenómenos no ideales de mezcla pueden modificar la respuesta experimental. Por esta razón, el modelo desarrollado debe interpretarse como una herramienta predictiva inicial que requiere validación y ajuste mediante datos experimentales.

5.1.3 *Discusión de la Validación del Modelo, Automatización y Diseño Sanitario*

El tercer objetivo específico planteó validar la coherencia integral del prototipo mediante la interacción entre el modelo matemático, la arquitectura de automatización y los criterios de diseño sanitario aplicables a equipos biotecnológicos. Desde esta perspectiva, la principal contribución de la investigación no se encuentra únicamente en la simulación individual de variables del proceso, sino en la construcción de una metodología integrada donde las decisiones hidrodinámicas y de control son evaluadas considerando simultáneamente las restricciones biológicas y operativas del cultivo.

En los desarrollos tradicionales de biorreactores piloto, el diseño geométrico, la estrategia de operación y el sistema de control suelen abordarse como etapas independientes. Sin embargo, esta separación puede generar inconsistencias entre la capacidad física del equipo y las necesidades dinámicas del proceso biológico. La metodología planteada en esta

investigación reduce dicha separación al utilizar el modelo computacional como elemento de enlace entre la ingeniería del equipo y el comportamiento esperado del microorganismo.

La utilización de un entorno de simulación numérica basado en Python permitió evaluar la evolución temporal del sistema antes de una implementación experimental, estableciendo una herramienta de análisis predictivo para estudiar la respuesta del reactor frente a diferentes condiciones operativas. Este enfoque se encuentra alineado con la tendencia actual hacia el desarrollo de herramientas digitales aplicadas a bioprocesos, donde los modelos matemáticos permiten mejorar la toma de decisiones durante las fases iniciales de diseño y reducir costos asociados a pruebas experimentales extensivas (Aydin et al., 2023).

Desde el punto de vista mecatrónico, la arquitectura propuesta basada en un controlador lógico programable (PLC) representa una alternativa coherente para un sistema piloto donde se busca equilibrio entre funcionalidad, disponibilidad tecnológica y costo de implementación. La estrategia desarrollada demuestra que un sistema de automatización no debe limitarse a ejecutar acciones de encendido y apagado de actuadores, sino que puede constituirse en una plataforma capaz de interpretar condiciones derivadas del modelo predictivo y ejecutar secuencias operativas previamente definidas. Esta concepción resulta especialmente relevante en aplicaciones biotecnológicas de pequeña escala, donde la adquisición de sensores analíticos avanzados puede representar una barrera importante. En este contexto, la simulación no sustituye la validación en banco de pruebas, pero sí permite establecer una arquitectura inicial de operación como un fundamento técnico sólido para la posterior construcción e implementación física del equipo. La formalización de esta topología mediante el Diagrama de Tuberías e Instrumentación (P&ID) bajo la norma ANSI/ISA-5.1 demuestra que la sinergia de los cuatro lazos de control proyectados (Series 100 a 400) es completamente suficiente para regular el microambiente biológico y confinar el metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae* en su vía oxidativa sin depender de telemetría invasiva de alto costo, consolidando la viabilidad técnica y económica del prototipo.

Otro aspecto relevante corresponde al análisis energético del sistema. En un biorreactor aerobio, la generación de calor metabólico (Q_{met}) y la disipación asociada a los componentes mecánicos representan variables que deben considerarse desde la etapa de diseño. La integración del balance térmico (Q_{total}) dentro del modelo permitió incorporar una dimensión adicional de validación, demostrando que la operación biológica no puede analizarse de manera aislada de las restricciones energéticas del equipo. Este criterio coincide con estudios recientes que destacan la importancia de integrar balances de energía y estrategias de control térmico en el desarrollo de procesos biotecnológicos eficientes (Zhang et al., 2022).

Desde la perspectiva constructiva, la incorporación de criterios sanitarios establecidos por la norma ASME BPE constituye un elemento fundamental para la futura implementación experimental del prototipo. En equipos destinados al cultivo microbiano, la eficiencia del proceso no depende exclusivamente del rendimiento biológico, sino también de la capacidad del sistema para garantizar condiciones repetibles de limpieza, esterilización y operación libre de contaminación. Por esta razón, aspectos como la eliminación de zonas muertas, el empleo de conexiones sanitarias y la selección adecuada de acabados superficiales ($Ra < 0.8 \mu m$) deben considerarse elementos funcionales del diseño y no únicamente requisitos normativos.

La integración de estos criterios desde la fase conceptual fortalece la viabilidad del prototipo, debido a que evita modificaciones posteriores que podrían incrementar los costos de fabricación o comprometer la confiabilidad microbiológica del sistema. En este sentido, la aplicación de principios de diseño sanitario representa una estrategia preventiva que contribuye a la reproducibilidad de futuras campañas experimentales.

Finalmente, la discusión del tercer objetivo específico permite establecer que la validación *in silico* desarrollada constituye una etapa intermedia entre el diseño conceptual y la construcción física del biorreactor. El modelo obtenido no pretende reemplazar la validación experimental, sino proporcionar una base técnica para orientar dicha validación,

reducir incertidumbres iniciales y facilitar la toma de decisiones durante la fabricación y puesta en marcha del equipo.

En conjunto, los tres objetivos específicos muestran una relación complementaria: la geometría y la hidrodinámica establecen la capacidad física del sistema; el modelo cinético define las condiciones necesarias para el crecimiento celular; y la arquitectura mecatrónica permite transformar dichas condiciones en una estrategia operativa. Esta integración constituye el principal aporte metodológico de la investigación y representa una alternativa viable para el desarrollo de biorreactores piloto mediante herramientas de ingeniería accesibles y escalables.

5.2 Conclusiones

El desarrollo del presente trabajo permitió establecer una metodología integral para el diseño conceptual y la validación *in silico* de un biorreactor aerobio piloto de 100 L destinado al cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* bajo estrategia de operación Fed-Batch. La investigación integró criterios de ingeniería hidrodinámica, fenómenos de transporte, modelamiento cinético y automatización industrial, demostrando la utilidad de un enfoque multidisciplinario para evaluar la viabilidad técnica de un sistema biotecnológico antes de su implementación física.

La principal contribución del estudio consiste en la integración de un modelo predictivo que conecta las características geométricas del reactor con las necesidades dinámicas del cultivo. Esta integración permitió analizar de manera conjunta la capacidad hidrodinámica del sistema de agitación, la disponibilidad de oxígeno (OTR), la evolución del crecimiento celular (X) y la estrategia de alimentación (F_{in}) requerida para mantener condiciones favorables de producción de biomasa (X).

En relación con el primer objetivo específico, se concluye que la parametrización geométrica del recipiente y la configuración hidrodinámica seleccionada proporcionan una arquitectura adecuada para un reactor piloto aerobio. La adopción de una relación de aspecto

(H_L/D_t) de 2:1 representa un compromiso entre los requerimientos de transferencia de masa ($k_L a$) y las restricciones prácticas asociadas a la operabilidad y mantenimiento del equipo. La incorporación del sistema de doble turbina Rushton, baffles deflectores y criterios de diseño sanitario permitió establecer una configuración orientada a mantener condiciones apropiadas de mezcla, dispersión gaseosa y aprovechamiento del oxígeno suministrado.

Asimismo, el análisis hidrodinámico permitió comprobar que la selección de parámetros de agitación basada en potencia disipada (P_g) y transferencia de masa constituye una herramienta adecuada para anticipar la capacidad operacional del reactor. El cálculo del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y su comparación con la demanda respiratoria estimada (OUR) del cultivo proporcionaron evidencia de que el diseño propuesto posee una capacidad de suministro de oxígeno compatible con el crecimiento aerobio esperado de la levadura dentro del rango operativo evaluado.

Respecto al segundo objetivo específico, se concluye que el modelo matemático desarrollado mediante la cinética de Monod y la integración numérica con herramientas computacionales permitió representar satisfactoriamente las trayectorias dinámicas principales del proceso: crecimiento celular (X), consumo de sustrato (S) y evolución del volumen (V_L) durante la operación Fed-Batch.

La implementación de una estrategia de alimentación discreta basada en Retención de Orden Cero (ZOH) permitió evaluar una alternativa de control predictivo aplicable a sistemas piloto donde la disponibilidad de instrumentación analítica avanzada puede ser limitada. El modelo indica que una alimentación (F_{in}) programada de acuerdo con una velocidad específica de crecimiento objetivo (μ_{set}) permite mantener la concentración de sustrato (S) en niveles compatibles con una operación orientada hacia la formación de biomasa (X), reduciendo la probabilidad de acumulación excesiva de glucosa asociada a fenómenos de represión catabólica.

En este sentido, el principal aporte del modelo cinético no radica únicamente en la predicción de una curva de crecimiento, sino en proporcionar una herramienta de decisión para establecer condiciones operativas antes de la ejecución experimental. La simulación permitió analizar la relación entre disponibilidad de carbono, capacidad respiratoria (OUR_{pico}) y estrategia de alimentación (F_{in}), constituyendo una base técnica para futuras etapas de optimización y validación experimental.

En relación con el tercer objetivo específico, se concluye que la integración entre simulación matemática, arquitectura de automatización y criterios sanitarios constituye un enfoque adecuado para el desarrollo de equipos biotecnológicos piloto. La representación computacional del comportamiento del reactor permitió evaluar la interacción entre variables biológicas, térmicas y operacionales, aportando información relevante para la selección de actuadores, lógica de control y requerimientos energéticos del sistema.

La arquitectura de automatización propuesta demuestra la viabilidad de utilizar sistemas de control mediante autómatas programables como plataforma inicial para la operación de un biorreactor piloto. Sin embargo, debido al carácter predictivo del presente estudio, se establece que la estrategia desarrollada requiere una etapa posterior de validación experimental donde puedan ajustarse parámetros cinéticos, coeficientes de transferencia y respuestas reales del sistema frente a perturbaciones externas.

Desde el punto de vista del diseño sanitario, se concluye que la incorporación de criterios establecidos por la norma ASME BPE (2022) fortalece la viabilidad futura del prototipo al considerar desde la fase de diseño aspectos relacionados con limpieza, esterilidad y prevención de contaminación. La selección de configuraciones sanitarias, superficies adecuadas y geometrías orientadas a minimizar zonas de retención contribuye a que el equipo proyectado sea compatible con aplicaciones biotecnológicas donde la repetibilidad del proceso constituye un requisito fundamental.

Finalmente, respecto al objetivo general de la investigación, se concluye que el

acoplamiento entre la optimización de fenómenos de transporte, la estrategia dinámica de alimentación Fed-Batch (*ZOH*) y la simulación predictiva constituye una metodología válida para el diseño preliminar de un biorreactor aerobio piloto. El trabajo demuestra que es posible emplear herramientas computacionales accesibles para integrar decisiones de diseño geométrico, comportamiento metabólico y automatización, reduciendo incertidumbres durante las primeras etapas de desarrollo tecnológico.

La investigación establece así una plataforma metodológica que puede servir como punto de partida para la futura implementación experimental del prototipo y para futuras investigaciones orientadas al escalamiento, validación experimental y optimización energética del proceso.

5.3 Recomendaciones

A partir del desarrollo del modelo matemático, la evaluación hidrodinámica y la arquitectura de automatización propuesta, se establecen las siguientes recomendaciones orientadas a fortalecer la transición del diseño conceptual hacia su escalamiento y validación operativa, manteniendo la filosofía de optimización de recursos y control predictivo desarrollada en esta investigación.

En primer lugar, se recomienda estructurar a profundidad la lógica algorítmica del Retenedor de Orden Cero (*ZOH*) y la inferencia térmica mediante pruebas de tipo *Hardware-in-the-Loop* (*HIL*). Previo a la inoculación biológica real, esta metodología permitirá depurar el código de control del autómata programable conectándolo directamente al entorno de simulación en Python desarrollado en este estudio. Al someter el hardware de control a las respuestas dinámicas del modelo matemático, se garantiza que los actuadores peristálticos y térmicos respondan con exactitud a los umbrales críticos del régimen Fed-Batch, mitigando riesgos operativos y dejando el sistema de automatización listo para su escalamiento industrial sin desperdicio de reactivos ni riesgos de contaminación (Narayanan et al., 2020).

En segundo lugar, se sugiere evolucionar la simulación predictiva hacia una

arquitectura de Gemelo Digital (*Digital Twin*) basada en sensores blandos (*soft-sensors*). En contraposición a la tendencia tradicional de incorporar instrumentación analítica en línea de alto costo (como sondas de oxígeno disuelto o sensores ópticos de densidad celular), el sistema de control podría alimentar el modelo matemático exclusivamente con datos termodinámicos e hidrodinámicos indirectos (tasas de extracción térmica, pulsos de la bomba de alimentación y potencia disipada). Esta estrategia permitiría inferir el estado metabólico y el crecimiento de la levadura en tiempo real, maximizando el valor de la termodinámica inferencial sobre la medición biológica invasiva y demostrando que es posible alcanzar una alta precisión operativa con instrumentación accesible (Rathore et al., 2021).

Como tercera recomendación, se plantea ejecutar una validación hidrodinámica preliminar utilizando fluidos sintéticos. Como paso previo a la operación con microorganismos activos, la manufactura del recipiente geométrico debe aprovecharse para validar físicamente los perfiles de agitación, el tiempo de mezcla y el coeficiente volumétrico real de transferencia de masa ($k_L a$). Al emplear soluciones reológicas que emulen la viscosidad del caldo de cultivo en su clímax de densidad celular, se confirmarán empíricamente las simplificaciones asumidas en el modelo teórico, asegurando que el límite de transferencia de oxígeno (OTR) proyectado concuerde con la mecánica de fluidos real del prototipo (García-Ochoa & Gómez, 2009).

En cuarto lugar, se recomienda evaluar experimentalmente la eficiencia energética del sistema completo, considerando la interacción entre agitación, aireación y control térmico. Para ello, se sugiere integrar la gestión energética al algoritmo de lazo abierto mediante el uso de variadores de frecuencia (VDF). Acoplar la velocidad de los motores de agitación a la demanda metabólica calculada (disminuyendo las RPM en fases tempranas de bajo requerimiento de oxígeno) optimizará el consumo eléctrico específico, permitiendo ajustar la demanda energética de acuerdo con las necesidades reales del cultivo y consolidando al biorreactor como una plataforma económicamente sostenible (Junker, 2004).

En quinto lugar, se recomienda emplear el diagrama P&ID desarrollado (norma ANSI/ISA-5.1) como plano maestro para iniciar la fase de ingeniería de detalle y construcción física por módulos. La fabricación progresiva del recipiente y la ejecución de modelos o cortes mecánicos 3D permitirán validar en taller la alineación espacial entre el difusor (sparger SP-101), los impulsores Rushton y los lazos de instrumentación pre-evaluados.

Finalmente, se establece como principal limitación del presente estudio que la validación se realizó mediante herramientas computacionales y no mediante una campaña experimental completa. Sin embargo, esta limitación define la principal línea futura de investigación: la validación del prototipo mediante sistemas ciberfísicos y la actualización progresiva del modelo mediante técnicas de identificación paramétrica indirecta.

En conjunto, las recomendaciones planteadas buscan transformar el prototipo conceptual desarrollado en una plataforma experimental capaz de generar conocimiento aplicado sobre escalamiento de bioprocesos, automatización accesible y manufactura local de equipos biotecnológicos. La continuidad de esta investigación permitirá avanzar desde una validación predictiva hacia una validación operativa completa, fortaleciendo la aplicación de herramientas de ingeniería avanzada y modelamiento matemático en el desarrollo de sistemas de producción biológica para la industria nacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arulrajah, P., Lievonen, A., Subasi, D., Pagal, S., & Botz, D. &. (2025). Scale-down bioreactors—comparative analysis of configurations. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 48, 1619-1695. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00449-025-03182-w>
- ASME. (2022). *Bioprocessing Equipment*. American Society of Mechanical Engineers.
- Aydin, B., Aydemir, T., & Eroglu, I. (2023). Energy-efficient thermal management strategies in pilot-scale bioreactors: A review. *Biochemical Engineering Journal*, 199. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109022>
- Bettendorff, L., & Wins, P. (2026). Energy-rich molecules and group transfer potentials in energetic coupling reactions. *Molecules*, 31(2), 242. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules31020242>
- Beugholt, A., Geier, D. U., & & Becker, T. (2023). Improvement of *Saccharomyces* propagation performance through oxygen-enriched air and aeration parameter variation. *Frontiers in Chemical Engineering*, 5. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fceng.2023.1193230>
- Beugholt, A., Geier, D. U., & Becker, T. (2023). Improvement of *Saccharomyces* propagation performance through oxygen-enriched air and aeration parameter variation. *Frontiers in Chemical Engineering*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fceng.2023.1193230>
- Bolmanis, E., Dubencovs, K., Suleiko, A., & & Vanags, J. (2023). Model Predictive Control—A Stand Out among Competitors for Fed-Batch Fermentation Improvement. *MDPI. Fermentation*., 9(3). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/fermentation9030206>
- Cannizzaro, C., Valentinotti, S., & Von Stockar, U. (2004). Control of yeast fed-batch process through regulation of extracellular ethanol concentration. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 26(6). <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00449-004-0384-y>

Chaudhry, M. A. (29 de January de 2025). Lessons in bioreactor scale-up, Part 5: Theoretical and empirical correlations for predicting the mass-transfer coefficient in stirred-tank bioreactors. *BioProcess International*.

<https://www.bioprocessintl.com/bioreactors/lessons-in-bioreactor-scale-up-part-5-theoretical-and-empirical-correlations-for-predicting-the-mass-transfer-coefficient-in-stirred-tank-bioreactors>

Doran, P. M. (2013). *Bioprocess Engineering Principles* (2 ed.). Academic Press.

Espinel-Ríos, S., Morabito, B., Pohlodek, J., Bettenbrock, K., Klamt, S., & Findeisen, R. (2024). Toward a modeling, optimization, and predictive control framework for fed-batch metabolic cybergenetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 121.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bit.28575>

Fitzpatrick, J., Gloanec, F., & Michel, E. (2020). Insights from Mathematical Modelling into Process Control of Oxygen Transfer in Batch Stirred Tank Bioreactors for Reducing Energy Requirement. *MDPI. ChemEngineering*, 4. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/chemengineering4020034>

Fricke, J., Pohlmann, K., Jonescheit, N. A., & Freund, H. (2012). Calorimetric control of the specific growth rate during fed-batch cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 160(3-4). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.03.006>

García-Ochoa, F., & Gómez, E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006>

Gimpelj, T., & Tošić, A. (2025). Fed-batch bioreactor modeling. *SoftwareX*, 32(102358).

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.softx.2025.102358>

Gomes, J. A., Silva, R., & Santos, P. (2024). Heat transfer optimization in stirred tank bioreactors for industrial biotechnology. *Chemical Engineering Research and Design*, 202,311-325. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cherd.2024.01.018>

- Gu, Q., Yang, S., Mohsin , A., Yu, J., Zhuang , Y., & Li, C. (2025). Optimization of oxygen transfer and power consumption in aerobic bioprocess by designing disc turbine impeller based on CFD-Taguchi method. *Scientific Reports*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-025-92463-1>
- Hagman, A., Säll, T., & Piškur, J. (2014). Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin. *The FEBS Journal*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/febs.13019>
- Junker , B. (2004). Scale-up methodologies for Escherichia coli and yeast fermentation processes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97(6).
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(04\)70218-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723(04)70218-2)
- Karaalioglu, O., & Karagül Yüceer, Y. (2021). Nonconventional yeasts to produce aroma compounds by using agri-food waste materials. *FEMS Yeast Research*, 21.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1093/femsyr/foab063>
- Liguori, R., Amore , A., & Faraco, V. (2013). Waste valorization by biotechnological conversion into added value products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(14). [https://doi.org/ https://doi.org/10.1007/978-3-642-37861-4_8](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-642-37861-4_8)
- Lins Barros, P., Ein-Mozaffari, F., & Lohi, A. (2022). Gas Dispersion in Non-Newtonian Fluids with Mechanically Agitated Systems: A Review. *MDPI. Processes.*, 10(2), 275.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pr10020275>
- Liu, H., Wang, S., & Xu, Y. (2024). Advances in clean-in-place technologies for hygienic bioprocess equipment. *Journal of Cleaner Production*, 435.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.140560>
- Losoi, P., Konttinen, J., & Santala, V. (2024). Modeling large-scale bioreactors with diffusion equations. Part II: Characterizing substrate, oxygen, temperature, carbon dioxide, and pH profiles. *Biotechnology and Bioengineering.*, 121(3), 1102-1117. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bit.28635>
- Malairuang, K., Krajang, M., Sukna, J., Rattanapradit, K., & Chamsart, S. (2020). High Cell

- Density Cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* with Intensive Multiple Sequential Batches Together with a Novel Technique of Fed-Batch at Cell Level (FBC). *MDPI Processes.*, 8. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pr8101321>
- Malina, C., Yu, R., Björkeroth, J., & and Nielsen, J. (2021). Adaptations in metabolism and protein translation give rise to the Crabtree effect in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 118(5). <https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.2112836118>
- Maluta, F., Paglianti, A., & Montante, G. (2021). Two-fluids RANS predictions of gas cavities, power consumption, mixing time and oxygen transfer rate in an aerated fermenter scale-down stirred with multiple impellers. *Biochemical Engineering Journal.*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107867>
- Nadal-Rey, G., McClure, D., Kavanagh, J., Cornelissen, S., Fletcher, D., & & Gernaey, K. (2021). Understanding gradients in industrial bioreactors. *ScienceDirect. Biotechnology Advances.*, 46. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107660>
- Narayanan, H., Luna, M. F., F., von Stosch, M., Cruz Bournazou, M. N., Polotti, G., Morbidelli, M., Butté, A., & Sokolov, M. (2020). Bioprocessing in the digital age: The role of process models. *Biotechnology Journal.* <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/biot.201900172>
- Nielsen, J. (2023). Systems biology and metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for industrial biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 79. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102846>
- Persson, S., Shashkova, S., Österberg, L., & Cvijovic, M. (2022). Modelling of glucose repression signalling in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/femsyr/foac012>
- Rastädter, K., Wurm, D., Spadiut, O., & Quehenberger, J. (2023). kLa based scale-up cultivation of the extremophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*: from benchtop to pilot scale. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11.

<https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1160012>

Rathore, A., Mishra, S., Nikita, S., & Priyanka, P. (2021). Bioprocess Control: Current Progress and Future Perspectives. *MDPI. Life.*, 11(6).

<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/life11060557>

Reid, A., Rossi, R., Cottini, C., & Benassi, A. (2024). CFD simulation of a Rushton turbine stirred-tank using open-source software with critical evaluation of MRF-based rotation modeling. *Meccanica*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11012-024-01824-z>

Rodrigues, C. I., Della-Bianca, B. E., & Gombert, A. K. (2021). μ MAX of *Saccharomyces cerevisiae*: So often used, so seldom put into perspective (Version 1). *Research Square*. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-182823/v1>

Schuler, M., Neubauer, P., & Cruz Bournazou, M. (2023). Soft sensors in bioprocess engineering: Recent advances and industrial applications. *Biotechnology Advances*, 66. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108166>

Scully, J., Considine, L. B., Smith, M. T., McAlea, E., Jones, N., O'Connell, E., Madsen, E., Power, M., Cowlwy, J., Crowley, J. C., Carver, S., & Van Plew, D. (2020). Beyond heuristics: CFD-based novel multiparameter scale-up for geometrically disparate bioreactors demonstrated at industrial 2 kL–10 kL scales. *Biotechnology and Bioengineering*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bit.27323>

Seidel, S., Maschke, R., Werner, S., Jossen, V., & Eibl, D. (2021). Oxygen Mass Transfer in Biopharmaceutical Processes: Numerical and Experimental Approaches. *Chemie Ingenieur Technik*, 93(1–2), 42–61.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cite.202000179>

Shen, D., He, X., Weng, P., Liu, Y., & Wu, Z. (2022). A review of yeast: High cell-density culture, molecular mechanisms of stress response and tolerance during fermentation. *FEMS Yeast Research*, 22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/femsyr/foac050>

Shirvanyan, A. H. (2023). Evaluation of ethanol and biomass production rate by different

Saccharomyces cerevisiae strains depending on external pH and temperature.

Proceedings of the Yerevan State University, 57(2), 141–153.

<https://doi.org/https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2023.57.2.141>

Tatterson, G. B. (1991). *Fluid mixing and gas dispersion in agitated tanks*. McGraw-Hill.

Valencia-Velásquez, J., Yaker-Moreno, H. A., Martínez-Guerrero, A., Ibáñez-Espinel, F.,

José Ricardo Pérez-Correa, J. R., & Caicedo-Ortega, N. (2025). Advancing hybrid modeling of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation with mixed carbon sources and urea in a mini-stirred tank reactor. *Bioprocess Biosyst Eng*, 48, 1919–1937.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00449-025-03222-5>

Zhang, Y., Li, H., Wang, X., & Chen, Z. (2022). PLC-based intelligent monitoring and control system for bioprocess automation. *Journal of Industrial Information*

Integration, 30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jii.2022.100405>

Zhang, Y., Su, M., Wang, Z., Nielsen, J., & Liu, Z. (2022). Rewiring regulation on respiratory fermentative metabolism relieved Crabtree effects in *Saccharomyces cerevisiae*.

Synthetic and Systems Biotechnology.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.synbio.2022.06.004>

Zhuang, S., Renault, N., & Archer, I. (2021). A brief review on recent development of multidisciplinary engineering in fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 339, 32–41.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.07.013>



ANEXOS

ANEXO A

Glosario Técnico de Bioprocesos e Instrumentación

AISI 316L: Acero inoxidable austenítico aleado con molibdeno, estándar en la industria biofarmacéutica por su extrema resistencia a la corrosión intergranular frente a cloruros y ciclos térmicos de esterilización.

ANSYS / COMSOL: Software de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) utilizado para modelar y simular tridimensionalmente los gradientes de transferencia de calor y masa en sistemas físicos.

ASME BPE (Bioprocessing Equipment): Normativa internacional de ingeniería que estipula los criterios geométricos, metalúrgicos y de acabado superficial (rugosidad) para garantizar la esterilidad y limpiabilidad en equipos biotecnológicos.

AutoCAD / Autodesk Inventor: Plataformas de software de Diseño Asistido por Computadora (CAD) empleadas para la diagramación planimétrica 2D y el modelado paramétrico 3D de elementos mecánicos.

Baffles (Placas Deflectoras): Superficies planas instaladas verticalmente en las paredes internas del reactor para romper la formación de vórtices macrorremolinos, induciendo un régimen de turbulencia isotrópica.

Bench-top (Escala de laboratorio): Prototipos de investigación biotecnológica de volúmenes reducidos (típicamente menores a 5 Litros), operados generalmente mediante agitación orbital.

Biomasa (X): Cantidad de masa celular activa de *Saccharomyces cerevisiae* por unidad de volumen (g/L), que representa el producto objetivo de optimización del bioproceso.

CAPEX (Capital Expenditure): Costo de inversión de capital físico inicial requerido para la adquisición, manufactura o instrumentación de bienes de equipo industrial.

Casquete Toro esférico: Geometría cóncava utilizada en el fondo de recipientes a presión que previene la acumulación de sólidos (sedimentación) y optimiza la circulación ascendente de los fluidos.

CFD (Computational Fluid Dynamics): Rama de la mecánica de fluidos que utiliza métodos numéricos y algoritmos para resolver y analizar problemas que involucran flujos de fluidos.

CIP/SIP (Clean/Sterilization In Place): Protocolos industriales estandarizados para la limpieza química y esterilización térmica por vapor, ejecutables sin requerir el desmontaje mecánico del equipo.

Dead legs (Zonas de estancamiento): Cavidades, ramificaciones o puntos ciegos en el diseño mecánico donde el fluido pierde velocidad, impidiendo la efectividad de los lavados CIP y propiciando la anidación bacteriana.

EDO (Ecuación Diferencial Ordinaria): Ecuación matemática que relaciona una función con sus derivadas, utilizada en este estudio para modelar el cambio continuo de la biomasa y el sustrato en el tiempo.

Efecto Crabtree: Fenómeno de represión catabólica donde la levadura desvía el flujo de carbono hacia la excreción de etanol frente a concentraciones de azúcares superiores a 0.15 g/L, incluso en presencia de oxígeno.

Fed-Batch (Lote Alimentado): Estrategia operativa de cultivo que consiste en la dosificación controlada de sustrato limitante a lo largo del tiempo para mantener una tasa de crecimiento sub-crítica constante.

Google Colab: Entorno de desarrollo interactivo (IDE) en la nube que permite la ejecución de código Python desde el navegador para simulaciones matemáticas e inteligencia artificial.

Impeller flooding (Inundación del impulsor): Colapso aerodinámico del impulsor que ocurre cuando el caudal de gas inyectado supera la capacidad de disipación mecánica, anulando la transferencia de masa.

In silico: Experimentación o validación metodológica ejecutada íntegramente mediante simulación computacional y modelamiento matemático, sin intervención física inicial.

$K_L a$ (Coeficiente Volumétrico de Transferencia de Masa): Parámetro hidrodinámico crítico (h^{-1}) que cuantifica la capacidad del diseño mecánico y geométrico del tanque agitado para disolver oxígeno gaseoso en la fase líquida.

Matplotlib / NumPy: Librerías especializadas de Python empleadas para la vectorización de matrices matemáticas complejas y la renderización visual de curvas cinéticas.

Michel y Miller (Correlación de): Modelo empírico utilizado para calcular la caída de la potencia mecánica demandada por el motor (P_g) cuando el sistema entra en régimen bifásico (gas-líquido).

Monod (Cinética de): Ecuación determinística no estructurada que describe la tasa de crecimiento celular específico en función de la concentración de un sustrato limitante.

NTE INEN: Norma Técnica Ecuatoriana, estándar de cumplimiento regulatorio nacional para la calidad y dimensiones de la manufactura industrial.

OTR (Oxygen Transfer Rate): Tasa física convectiva a la cual el oxígeno molecular es transferido desde las cavidades gaseosas hacia el seno del caldo de cultivo.

OUR (Oxygen Uptake Rate): Tasa biológica específica a la cual la biomasa consume el oxígeno disuelto para sostener su metabolismo respiratorio.

P&ID (Piping and Instrumentation Diagram): Diagrama técnico que detalla la interconexión de tuberías, válvulas, sensores y lazos de control de un proceso industrial.

PID (Proporcional-Integral-Derivativo): Algoritmo de control en lazo cerrado que calcula la desviación continua de una variable para aplicar una corrección automática.

PT100 (Termorresistencia): Sensor de temperatura de grado industrial fabricado en platino, que a 0°C presenta una resistencia eléctrica exacta de 100 ohmios.

Python: Lenguaje de programación de alto nivel ampliamente utilizado en el modelamiento científico por su robustez en la integración de ecuaciones diferenciales.

Retención de Orden Cero (Zero-Order Hold): Técnica mecatrónica que discretiza una trayectoria matemática continua en una matriz de intervalos de caudal fijo, permitiendo su ejecución autónoma en PLCs básicos.

RQ (Cociente Respiratorio): Relación termodinámica entre la tasa de evolución de dióxido de carbono y la tasa de consumo de oxígeno, utilizada como indicador del estado metabólico.

SciPy (y solve_ivp): Biblioteca de código abierto en Python especializada en computación científica; integra el método numérico solve_ivp para la resolución de balances de masa.

Siemens LOGO!: Autómata programable (PLC) industrial compacto y de bajo costo, utilizado para controlar lógicas secuenciales y temporizaciones en equipos electromecánicos.

Sparger (Anillo distribuidor): Componente tubular situado debajo del sistema de agitación, diseñado para inyectar y fraccionar mecánicamente el caudal de aire estéril en el caldo.

STR (Stirred Tank Reactor): Configuración canónica de reactor biológico que emplea agitación mecánica interna acoplada a placas deflectoras para promover la homogeneización del caldo y la transferencia de masa.

TIG (Tungsten Inert Gas): Proceso de soldadura por arco bajo gas protector inerte con electrodo de tungsteno no consumible; mandatorio en tuberías sanitarias para evitar escoria y porosidad.

Turbina Rushton: Impulsor mecánico ortogonal clasificado como de flujo radial y alto esfuerzo cortante, óptimo para la ruptura de burbujas en régimen de aireación forzada.

Van't Riet (Modelo de): Correlación empírica fundamental que proyecta el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$) en función de la potencia gaseada y la velocidad superficial del gas.

VFD (Variable Frequency Drive): Variador de frecuencia electrónico utilizado para modular las RPM del motorreductor, gobernando la disipación de energía mecánica (P_g) en el fluido.

vvm (Volumen por Volumen por Minuto): Unidad adimensional que estandariza el caudal de aireación forzada, expresando los litros de aire inyectados por cada litro de caldo operativo por minuto.

Anexo B

Código Fuente Computacional en Python

A continuación se presentan los scripts desarrollados para el modelamiento hidrodinámico y la simulación cinética del biorreactor STR – 100 L, ordenados según su aplicación en el diseño.

Script 1: Modelamiento Hidrodinámico y Caída de Potencia (Turbina Rushton)

Código para la interpolación de datos empíricos y generación de la curva de estabilización asintótica referenciada en la evaluación mecánica.

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

# -----
# 1. CONFIGURACIÓN ESTÉTICA ACADÉMICA (ESTÁNDAR IEEE / ELSEVIER)
# -----
plt.rcParams.update({
    'font.family': 'serif',
    'mathtext.fontset': 'stix',
    'font.size': 11,
    'axes.labelsize': 12,
    'axes.titlesize': 13,
    'xtick.labelsize': 10,
    'ytick.labelsize': 10,
    'legend.fontsize': 10,
    'figure.titlesize': 14,
    'axes.linewidth': 1.2,
    'lines.linewidth': 2.0
})

# -----
# 2. MODELADO FENOMENOLÓGICO (CORRELACIÓN TIPO HUGHMARK / CALDERBANK)
# -----
# Rango del Número de Aireación (Na) para turbinas Rushton antes de
# inundación
Na = np.linspace(0.0, 0.15, 500)

# Parámetros asintóticos del modelo para turbinas Rushton 6 palas
#  $P_g/P_0 = P_{inf} + (1 - P_{inf}) * \exp(-k * Na)$ 
P_inf = 0.360 # Límite asintótico superior de cavitación completa (típico:
0.35 - 0.38)
Na_op = 0.092 # Nuestro Número de Aireación operativo en el STR de 100 L
Pg_P0_op = 0.398 # Relación de potencia objetivo en operación

# Cálculo exacto de la constante de decaimiento (k) para blindar el punto
operativo
k = -np.log((Pg_P0_op - P_inf) / (1.0 - P_inf)) / Na_op

# Generación de la curva fenomenológica
Pg_P0 = P_inf + (1.0 - P_inf) * np.exp(-k * Na)

# -----
# 3. CONSTRUCCIÓN GRÁFICA
```

```

# -----
fig, ax = plt.subplots(figsize=(8, 5.5), dpi=300)

# Curva principal de decaimiento de potencia
ax.plot(Na, Pg_P0, color='#003366', label=r'Modelo fenomenológico
($P_g/P_0$ turbina Rushton)', zorder=3)

# Líneas de guía (proyecciones ortogonales del punto operativo)
ax.plot([0, Na_op], [Pg_P0_op, Pg_P0_op], color='#888888', linestyle='--',
linewidth=1.2, zorder=2)
ax.plot([Na_op, Na_op], [0, Pg_P0_op], color='#888888', linestyle='--',
linewidth=1.2, zorder=2)

# Resaltado del punto operativo del STR 100 L
ax.scatter([Na_op], [Pg_P0_op], color='#B22222', s=70, zorder=5,
          label=r'Punto Operativo STR 100 L ($Na=0.092, P_g/P_0=0.398$)')

# Anotación técnica con cuadro de texto y flecha indicadora
# AJUSTE: Se eleva la posición xytext aproximadamente un 6% hacia arriba
(de 0.52 a 0.55)
texto_annotacion = (r'$\mathbf{R\acute{e}gimen\ Operativo\ STR\ 100\ L}$' +
'\n' +
                    r'$Na = 0.092$' + '\n' +
                    r'$P_g/P_0 = 0.398$' + '\n' +
                    r'$ (P_g \approx 0.896\ \text{kW/m}^3)$')

ax.annotate(texto_annotacion,
            xy=(Na_op, Pg_P0_op),
            xytext=(0.045, 0.55), # Nueva posición elevada
            arrowprops=dict(arrowstyle='->', connectionstyle='arc3,rad=-
0.15',
                           color='#333333', lw=1.5),
            bbox=dict(boxstyle='round,pad=0.6', facecolor='#F9F9F9',
                      edgecolor='#CCCCCC', alpha=0.95),
            fontsize=10.5, zorder=4)

# -----
# 4. FORMATO Y LÍMITES DE EJES
# -----
ax.set_xlim(0.0, 0.15)
ax.set_ylim(0.3, 1.02)

ax.set_xlabel(r'Número de Aireación, $Na = \frac{Q_g}{N \cdot D_i^3} \ [-]$',
fontweight='bold', labelpad=8)
ax.set_ylabel(r'Relación de Potencia Aireada / No Aireada, $P_g/P_0 \ [-]$',
fontweight='bold', labelpad=8)

# Grilla técnica
ax.grid(True, linestyle=':', alpha=0.6, color='#666666', zorder=1)

# Leyenda en posición óptima sin solapar el área de cavitación
ax.legend(loc='upper right', frameon=True, facecolor='white',
edgecolor='#E0E0E0', framealpha=1.0)

# AJUSTE: Se elimina el título ax.set_title para manejo en Word/LaTeX

plt.tight_layout()

# -----
# 5. EXPORTACIÓN
# -----
# Se mantienen las exportaciones de alta resolución (PNG para Word, PDF

```

```

vectorial para LaTeX)
plt.savefig('Figura_3_Caida_Potencia_Na_Corregida.png', dpi=600,
bbox_inches='tight', format='png')
plt.savefig('Figura_3_Caida_Potencia_Na_Corregida.pdf',
bbox_inches='tight', format='pdf')
plt.show()

```

Script 2: Integración Numérica (Runge-Kutta 4) para Dinámica Fed-Batch

Algoritmo principal de simulación del bioproceso, resolución del sistema de EDOs

acopladas y generación gráfica de las variables de estado transitorias (Figuras 6 a 14).

```

# Forzar renderizado inline en Google Colab
%matplotlib inline
import numpy as np
from scipy.integrate import solve_ivp
import matplotlib.pyplot as plt

# Limpieza de búfer de memoria gráfica
plt.close('all')

#
=====
==
# BLOQUE 1: MATRIZ DE PARÁMETROS GLOBALES (VERDAD ABSOLUTA)
#
=====
==
V0 = 40.0; X0 = 0.5; S0 = 15.0; SF = 200.0
mu_max = 0.30; Y_xs = 0.50; Ks = 0.10; S_crit = 0.15
kla_design = 120.0 # h^-1
OTR_cap = 200.0; V_max = 80.0
Y_o2 = 1.05; PM_o2 = 32.0; dH_o2 = 460000; Q_mec = 180.0; Q_amb = -15.0

#
=====
==
# BLOQUE 2: MODELO OPERATIVO BASE (MU_DESIGN = 0.12)
#
=====
==
def biorreactor_odes_principal(t, y):
    X, S, V, Base_vol = y
    X = max(1e-5, X); S = max(0.0, S); V = max(1e-5, V)
    mu = mu_max * (S / (Ks + S))
    t_batch_end = 9.5

    if t < t_batch_end:
        F_in = 0.0
        dBasedt = 0.001 * mu * X * V
    else:
        mu_design = 0.120 # Consigna segura de control
        t_escalon = t - t_batch_end
        intervalo_plc = 2.0
        t_discreto = np.floor(t_escalon / intervalo_plc) * intervalo_plc
        X_zoh = 45.0 / (1.0 + ((45.0 - 8.0) / 8.0) * np.exp(-mu_design *
t_discreto))
        # CORRECCIÓN: El volumen ZOH ahora incluye la base alcalina
        acumulada

```

```

V_zoh = 40.0 + Base_vol + (t_discreto * 1.85)
F_in = (mu_design * X_zoh * V_zoh) / (Y_xs * SF)

if V >= V_max:
    F_in = 0.0

dBasedt = 0.0018 * mu * X * V

# CORRECCIÓN: El factor de dilución total (D) acopla F_in y la
dosificación de Base
D = (F_in + dBasedt) / V
dXdT = mu * X - D * X
dSdT = -(1.0 / Y_xs) * mu * X + (F_in * SF) / V - D * S
dVdT = F_in + dBasedt
return [dXdT, dSdT, dVdT, dBasedt]

# INTERLOCKS: Eventos terminales de seguridad industrial
def interlock_volumen(t, y): return y[2] - 80.0
interlock_volumen.terminal = True
interlock_volumen.direction = 1

def interlock_biomasa(t, y): return y[0] - 50.0
interlock_biomasa.terminal = True
interlock_biomasa.direction = 1

# Resolución Operativa Transitoria
t_span = (0, 100.0)
t_eval = np.linspace(t_span[0], t_span[1], 3000)
sol_prin = solve_ivp(
    biorreactor_odes_principal, t_span, [X0, S0, V0, 0.0], t_eval=t_eval,
    method='RK45', max_step=0.05,
    events=[interlock_volumen, interlock_biomasa]
)

t_p = sol_prin.t
X_p, S_p, V_p, Base_p = sol_prin.y[0], sol_prin.y[1], sol_prin.y[2],
sol_prin.y[3]

t_stop = t_p[-1]
X_stop = X_p[-1]
V_stop = V_p[-1]
S_stop = S_p[-1]

# Cálculos termodinámicos e hidrodinámicos acoplados
odes_eval = [biorreactor_odes_principal(ti, [X_p[i], S_p[i], V_p[i],
Base_p[i]]) for i, ti in enumerate(t_p)]
F_in_array = np.array([res[2] - res[3] for res in odes_eval])
mu_array = mu_max * (S_p / (Ks + S_p))
OUR_array = (mu_array * X_p / Y_o2) * (1000.0 / PM_o2)
OTR_array = np.full_like(t_p, OTR_cap)
Q_met = (OUR_array / 1000.0) * V_p * dH_o2 / 3600.0
Demanda_Termica = (Q_met + Q_mec + Q_amb) / 1000.0

# Hitos del OUR Máximo
idx_OUR = np.argmax(OUR_array)
OUR_max = OUR_array[idx_OUR]
t_peak = t_p[idx_OUR]
X_peak = X_p[idx_OUR]
V_peak = V_p[idx_OUR]

#
=====

```

```

==
# BLOQUE 3: SUB-RUTINA DE ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD (EFECTO CRABTREE)
#
=====
def simular_sensibilidad(mu_design_val):
    def odes_sens(t, y):
        # CORRECCIÓN: Se incluye la dinámica de la base para consistencia
        matemática
        X, S, V, Base_vol = y
        X = max(1e-5, X); S = max(0.0, S); V = max(1e-5, V)
        mu = mu_max * (S / (Ks + S))
        if t < 9.5:
            F_in = 0.0
            dBasedt = 0.001 * mu * X * V
        else:
            t_disc = np.floor((t - 9.5) / 2.0) * 2.0
            X_zoh = 45.0 / (1.0 + ((45.0 - 8.0) / 8.0) * np.exp(-
mu_design_val * t_disc))
            V_zoh = 40.0 + Base_vol + (t_disc * 1.85)
            F_in = (mu_design_val * X_zoh * V_zoh) / (Y_xs * SF)
            if V >= V_max: F_in = 0.0
            dBasedt = 0.0018 * mu * X * V

            D = (F_in + dBasedt) / V
            dXdt = mu * X - D * X
            dSdt = -(1.0 / Y_xs) * mu * X + (F_in * SF) / V - D * S
            dVdt = F_in + dBasedt
            return [dXdt, dSdt, dVdt, dBasedt]

    sol_sens = solve_ivp(
        odes_sens, t_span, [X0, S0, V0, 0.0], t_eval=t_eval,
        method='RK45', max_step=0.05,
        events=[interlock_volumen, interlock_biomasa]
    )
    mu_s = mu_max * (sol_sens.y[1] / (Ks + sol_sens.y[1]))
    OUR_s = (mu_s * sol_sens.y[0] / Y_o2) * (1000.0 / PM_o2)
    return sol_sens.t, sol_sens.y[1], OUR_s

t_seguro, S_seguro, OUR_seguro = simular_sensibilidad(0.12)
t_limite, S_limite, OUR_limite = simular_sensibilidad(0.18)

#
=====
# BLOQUE 4: CÁLCULOS RIGUROSOS PARA FIGURA 8 (LLENADO GEOMÉTRICO)
#
=====
idx_batch = np.abs(t_p - 9.5).argmin()
Mx_batch = X_p[idx_batch] * V_p[idx_batch]

t_fase_batch = np.linspace(0, 9.5, 100)
F_fase_batch = np.zeros_like(t_fase_batch)

t_fed_012 = np.linspace(9.5, t_p[-1], 500)
t_fed_018 = np.linspace(9.5, t_limite[-1], 500)

F_teorica_012 = (0.12 * Mx_batch * np.exp(0.12 * (t_fed_012 - 9.5))) /
(Y_xs * SF)
F_teorica_018 = (0.18 * Mx_batch * np.exp(0.18 * (t_fed_018 - 9.5))) /
(Y_xs * SF)

```

```

t_plot_012 = np.concatenate((t_fase_batch, t_fed_012))
F_plot_012 = np.concatenate((F_fase_batch, F_teorica_012))

t_plot_018 = np.concatenate((t_fase_batch, t_fed_018))
F_plot_018 = np.concatenate((F_fase_batch, F_teorica_018))

#
=====
==
# BLOQUE 5: IMPRESIÓN OFICIAL DE TABLAS DE TESIS EN CONSOLA
#
=====
==
print("\n" + "="*70)
print(" TABLA 4: COMPARACIÓN ENTRE PICO RESPIRATORIO Y FIN DE SIMULACIÓN")
print("="*70)
print(f"{'Variable':<18s} | {'Pico OUR (t = ' + str(round(t_peak,2)) + ' h)':<22s} | {'Fin Simulación (t = ' + str(round(t_stop,2)) + ' h)':<22s}")
print("-"*70)
print(f"{'Tiempo':<18s} | {t_peak:<22.2f} | {t_stop:<22.2f}")
print(f"{'Biomasa [g/L]':<18s} | {X_peak:<22.2f} | {X_stop:<22.2f}")
print(f"{'Volumen [L]':<18s} | {V_peak:<22.2f} | {V_stop:<22.2f}")
print(f"{'OUR [mmol/L·h]':<18s} | {OUR_max:<22.2f} | {'-':<22s}")
print("="*70)

Uso_OTR = OUR_max / OTR_cap * 100.0
Margen_OTR = 100.0 - Uso_OTR
Q_total_max = np.max(Demanda_Termica)
Base_total = Base_p[-1]

print("\n" + "="*78)
print(" TABLA 5: VALIDACIÓN INTEGRAL DEL MODELO IN SILICO")
print("="*78)
print(f"{'Indicador':<35s}{ 'Resultado':>15s}{ 'Criterio':>18s}{ 'Evaluación':>10s}")
print("-"*78)
print(f"{'Biomasa final':<35s}{X_stop:>12.2f} g/L{'> 40 g/L':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Volumen final':<35s}{V_stop:>12.2f} L{'≤ 80 L':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Sustrato residual final':<35s}{S_stop:>12.4f} g/L{'< 0.15 g/L':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'OUR máximo':<35s}{OUR_max:>12.2f} mmol/L·h{'< 200 mmol/L·h':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Utilización del OTR':<35s}{Uso_OTR:>12.1f} %{'< 100 %':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Margen de seguridad OTR':<35s}{Margen_OTR:>12.1f} %{'Reserva':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Carga térmica máxima':<35s}{Q_total_max:>12.3f} kW{'< 1.97 kW':>18s}{ '✓':>10s}")
print(f"{'Consumo acumulado de base':<35s}{Base_total:>12.2f} L{'Predicción':>18s}{ '✓':>10s}")
print("="*78 + "\n")

#
=====
==
# BLOQUE 6: RENDERIZADO GRÁFICO Y DISIPACIÓN DE MEMORIA RAM
#
=====

```

```

==
plt.style.use('bmh')
bbox_props = dict(boxstyle="square,pad=0.3", fc="white", ec="black",
lw=1.5)
arrow_props = dict(facecolor='black', shrink=0.05, width=1.5, headwidth=6)

# --- Figura 5: Biomasa ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(t_p, X_p, color='#2ca02c', linewidth=2.5, label='Biomasa (X)')
plt.axhline(40.0, color='black', linestyle=':', label='Meta Mínima (40
g/L)')
plt.axvline(9.5, color='gray', linestyle='--', alpha=0.7, label='Inicio
Dosificación (9.5 h)')
plt.annotate(
    f'Parada de Lote\nTiempo: {t_stop:.2f} h\nBiomasa: {X_stop:.2f} g/L',
    xy=(t_stop, X_stop), xytext=(t_stop - 16.0, X_stop * 0.87),
    arrowprops=arrow_props, bbox=bbox_props, fontweight='bold'
)
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Biomasa [g/L]')
plt.text(0.05, 0.95, 'Figura 5: Concentración de Biomasa',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='lower right')
plt.savefig('Figura_05_Biomasa.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 6: Volumen ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(t_p, V_p, color='#1f77b4', linewidth=2.5, label='Volumen Total')
plt.axhline(V_max, color='red', linestyle='--', label='Capacidad Máxima (80
L)')
plt.annotate(
    f'Parada de Lote\nTiempo: {t_stop:.2f} h\nVolumen: {V_stop:.2f} L',
    xy=(t_stop, V_stop), xytext=(t_stop - 14.0, V_stop * 0.9),
    arrowprops=arrow_props, bbox=bbox_props, fontweight='bold'
)
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Volumen [L]')
plt.text(0.05, 0.93, 'Figura 6: Evolución del Volumen Operativo',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='lower right')
plt.savefig('Figura_06_Volumen.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 7: Alimentación ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.step(t_p, F_in_array, color='#9467bd', linewidth=2.0)
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Caudal [L/h]')
plt.text(0.05, 0.95, 'Figura 7: Perfil de Alimentación (Lazo Abierto)',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.savefig('Figura_07_Alimentacion.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 8: Comparativa de Alimentación ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.step(t_p, F_in_array, color='#9467bd', linewidth=2.0, label=r'Real por
pulsos (ZOH,  $\mu_{\text{design}}=0.12$ )')
plt.plot(t_plot_012, F_plot_012, color='#2ca02c', linestyle='--',
linewidth=2.0, label=r'Teórica continua ( $\mu=0.12$ )')
plt.plot(t_plot_018, F_plot_018, color='#d62728', linestyle='-.',
linewidth=2.0, label=r'Teórica continua ( $\mu=0.18$ )')

```

```

plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Caudal [L/h]')
plt.text(0.98, 0.95, 'Figura 8: Comparativa de Perfiles de Alimentación',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='right', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='upper left')
plt.savefig('Figura_08_Alimentacion_Comparativa.png', dpi=300,
bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 9: Sustrato ---
fig9, ax9 = plt.subplots(figsize=(8, 5))
ax9.plot(t_p, S_p, color='#ff7f0e', linewidth=2.0, label='Glucosa Libre
(S)')
ax9.axhline(S_crit, color='red', linestyle=':', label='Umbral Crabtree
[0.15 g/L]')
ax9.set_xlabel('Tiempo [h]'); ax9.set_ylabel('Sustrato [g/L]')
ax9.text(0.12, 0.95, 'Figura 9: Concentración de Sustrato Residual',
transform=ax9.transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
ax9.legend(loc='upper right', bbox_to_anchor=(0.98, 0.90))

ax_inset = ax9.inset_axes([0.45, 0.25, 0.35, 0.35])
ax_inset.plot(t_p, S_p, color='#ff7f0e', linewidth=1.5)
ax_inset.axhline(S_crit, color='red', linestyle=':')
ax_inset.set_xlim(15, min(25, t_stop)); ax_inset.set_ylim(0, 0.12)
ax_inset.set_title('Zoom: Oscilación Fed-Batch', fontsize=9)
ax_inset.grid(True, linestyle='--', alpha=0.5)
ax9.indicate_inset_zoom(ax_inset, edgecolor="black", alpha=0.5)
plt.savefig('Figura_09_Sustrato.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 10: Análisis de Sensibilidad ---
fig10, (ax10a, ax10b) = plt.subplots(2, 1, figsize=(8, 10))

ax10a.plot(t_seguro, S_seguro, label=r'Operativo ( $\mu_{\text{design}}=0.12$ )',
color='#2ca02c', linewidth=2.5)
ax10a.plot(t_limite, S_limite, label=r'Crítico ( $\mu_{\text{design}}=0.18$ )',
color='#d62728', linewidth=2.5)
ax10a.axhline(S_crit, color='black', linestyle=':', label='Umbral Crabtree
(0.15 g/L)')
ax10a.set_xlabel('Tiempo [h]'); ax10a.set_ylabel('Sustrato [g/L]');
ax10a.set_ylim(0, 0.20)
ax10a.text(0.05, 0.95, r'Figura 10A: Sensibilidad de Sustrato',
transform=ax10a.transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
ax10a.legend(loc='upper right')

ax10b.plot(t_seguro, OUR_seguro, label=r'OUR Operativo
( $\mu_{\text{design}}=0.12$ )', color='#1f77b4', linewidth=2.5)
ax10b.plot(t_limite, OUR_limite, label=r'OUR Crítico
( $\mu_{\text{design}}=0.18$ )', color='#ff7f0e', linewidth=2.5)
ax10b.axhline(OTR_cap, color='black', linestyle='--', label='Capacidad OTR
(200 mmol/L·h)')
ax10b.set_xlabel('Tiempo [h]'); ax10b.set_ylabel('Tasa [mmol O2/L·h]')
ax10b.text(0.95, 0.93, 'Figura 10B: Sensibilidad de Oxígeno',
transform=ax10b.transAxes, fontsize=9, ha='right', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
ax10b.legend(loc='upper left', bbox_to_anchor=(0.03, 0.92))

plt.tight_layout(); fig10.subplots_adjust(hspace=0.3)
plt.savefig('Figura_10_Sensibilidad.png', dpi=300)
plt.show(); plt.close()

```

```

# --- Figura 11: Oxigenación ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(t_p, OUR_array, color='#17becf', linewidth=2.5, label='OUR
(Demanda)')
plt.axhline(OTR_cap, color='black', linestyle='--', label='OTR Capacidad')
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Tasa [mmol O2/L·h]')
plt.text(0.05, 0.93, 'Figura 11: Transferencia de Oxígeno',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='lower right')
plt.savefig('Figura_11_Oxigeno.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 12: Balance Térmico ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(t_p, Demanda_Termica, color='#d62728', linewidth=2.5, label='Carga
Térmica Total')
plt.axhline(1.970, color='darkred', linestyle='--', label='Capacidad
Chiller (1.97 kW)')
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Potencia [kW]')
plt.text(0.05, 0.93, 'Figura 12: Demanda Frigorífica',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='lower right')
plt.savefig('Figura_12_Termico.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

# --- Figura 13: Titulación de pH ---
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(t_p, Base_p, color='#8c564b', linewidth=2.5, label='NH4OH
Acumulado')
plt.xlabel('Tiempo [h]'); plt.ylabel('Volumen Acumulado [L]')
plt.text(0.05, 0.95, 'Figura 13: Dinámica de pH (Requerimiento de Base)',
transform=plt.gca().transAxes, fontsize=9, ha='left', va='top',
bbox=dict(facecolor='#eeeeee', alpha=0.9, edgecolor='none'))
plt.legend(loc='lower right')
plt.savefig('Figura_13_pH.png', dpi=300, bbox_inches='tight')
plt.show(); plt.close()

```

Anexo C

Figura 15

Parámetros Dimensionales del Biorreactor STR-101

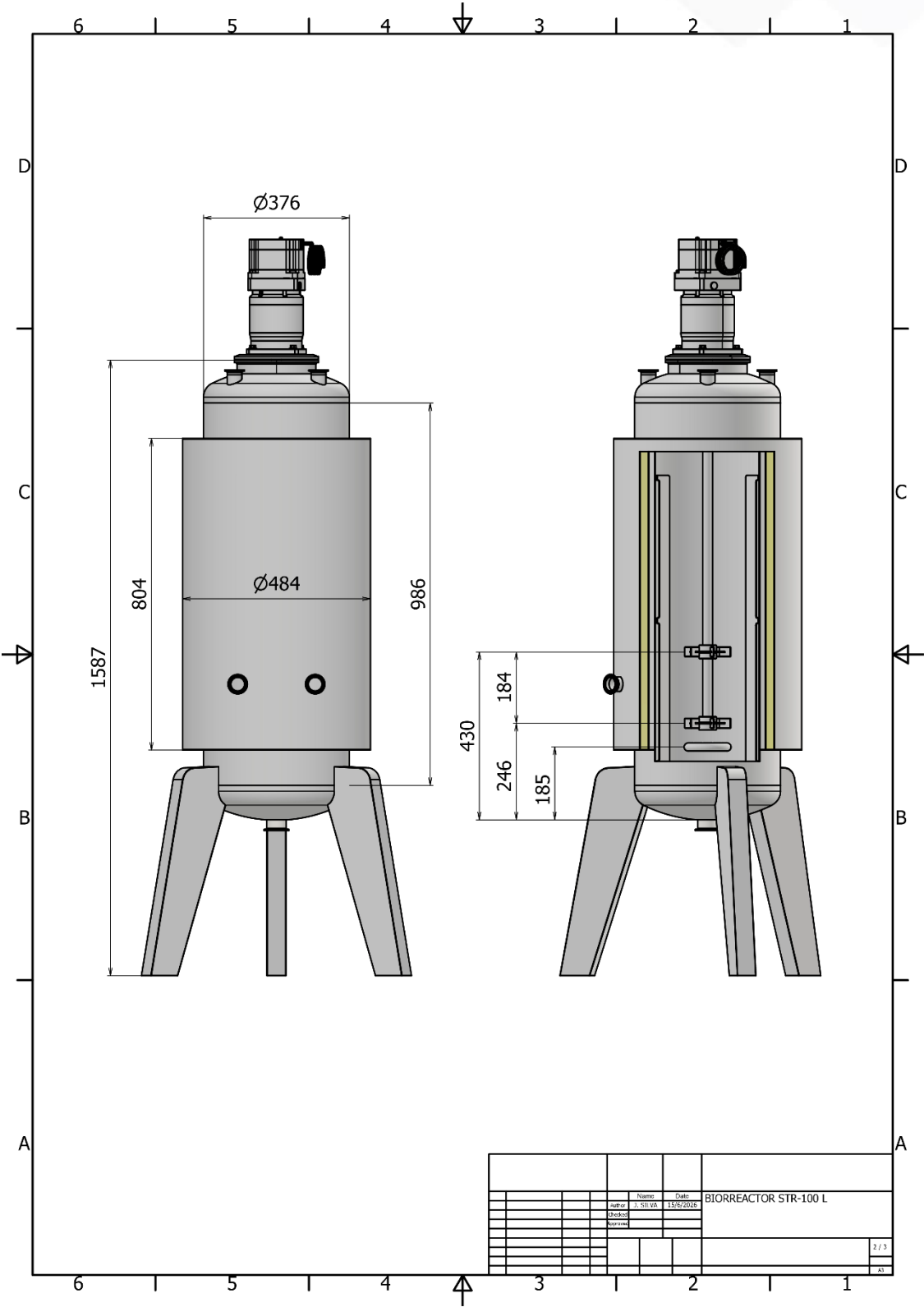


Figura 16

Proyecciones de la Turbina Rushton del Biorreactor STR – 100 L

