

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL  
VALPARAÍSO - CHILE



# **DISEÑO ÓPTIMO DE PLANTAS DE FERMENTACIÓN DISCONTINUA.**

Tesis presentada por

NICOLÁS EDUARDO REYES CAMP

*Tesis para optar al título de*

INGENIERO CIVIL QUÍMICO

*Y al grado académico de*

MAGISTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA QUÍMICA

Profesor guía RICARDO SIMPSON RIVERA

Valparaíso, Abril 2017



Título de la Tesis:

# DISEÑO ÓPTIMO DE PLANTAS DE FERMENTACIÓN DISCONTINUA

Autor:

NICOLAS EDUARDO REYES CAMP

**Trabajo de Tesis**, presentado en cumplimiento parcial de los requisitos para el título de Ingeniero Civil Químico y el grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería Química de la Universidad Técnica Federico Santa María.

Dr Ricardo Simpson

---

Dra. Carolina Astudillo

---

Dr Fernando Acevedo

---

Valparaíso, Abril 2017

## Resumen

El diseño de plantas de fermentación es un desafío donde se debe considerar la viabilidad técnica de la operación, la optimización del proceso y maximizar las utilidades. La fermentación es un proceso discontinuo, pero la planta debe tener una operación continua. Para ello Borzani en los años 80 desarrolló un método simple para estimar el tamaño y cantidad de fermentadores, permitiendo obtener una salida continua de producto mientras minimiza el costo de inversión.

En 2005, Simpson et al publica una extensión al método de Borzani, en el cual se considera una línea de propagación y los equipos anexos, junto con flexibilizar la simplificación de Borzani de igualdad entre tiempos de preparación y descarga, utilizando un rango entre 1 y 2, mostrando con ello el impacto de esta consideración en el valor óptimo.

Se propone en esta memoria una generalización al método de diseño, en la cual la cantidad de equipos en cada etapa de propagación se obtiene de forma explícita, considerando que no hay espera entre cada etapa. Además se aumenta el rango de evaluación de tiempo de preparación y descarga en comparación con los métodos de Borzani y Simpson et al., y se sensibiliza frente al factor de escalamiento entre propagadores, el tiempo de fermentación del proceso y un aumento en la producción.

Como resultado de este trabajo se tienen planillas de cálculo que permiten diseñar planta de fermentación por lotes de forma sencilla, definiendo la producción deseada y el tiempo de trabajo anual, más seleccionar el rango de sensibilización. (Link: <http://tinyurl.com/glmrldv>)

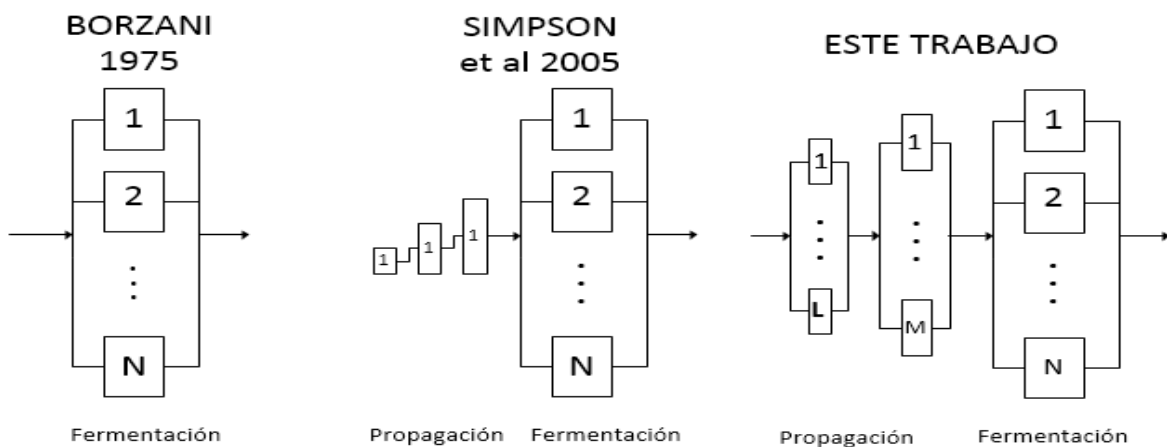


FIGURA 1 RESUMEN DE MÉTODOS DE DISEÑO DE FERMENTACIÓN DISCONTINUA

## Abstract

The design of fermentation plants is a challenge where one must consider the technical viability of the operation, optimize the process and maximize profits. Fermentation is a batch process, but the plant must have continuous operation. For this, Borzani developed a simple method to estimate the size and quantity of fermenters in the 1980s, allowing continuous product output while minimizing the investment cost.

In 2005, Simpson et al published an extension to the Borzani method, in which a propagation line and associated equipment were considered, along with a simplification of Borzani's simplification of equal preparation and discharge times, using a range between 1 and 2, thus showing the impact of this consideration on the optimum value.

In this report we propose a generalization to the design method, in which the amount of equipment in each stage of propagation is obtained explicitly, considering that there is no waiting between each stage. In addition, the preparation and discharge time evaluation range is increased compared to the methods of Borzani and Simpson et al., And it is sensitized against the ratio of preparation and discharge time, scaling factor between propagators, fermentation time Of the process and an increase in production.

As a result of this work we have calculation sheets that allow designing batch fermentation plant in a simple way, defining the desired production and the annual working time, plus select the range of sensitization (Link: <http://tinyurl.com/glmrldv>)

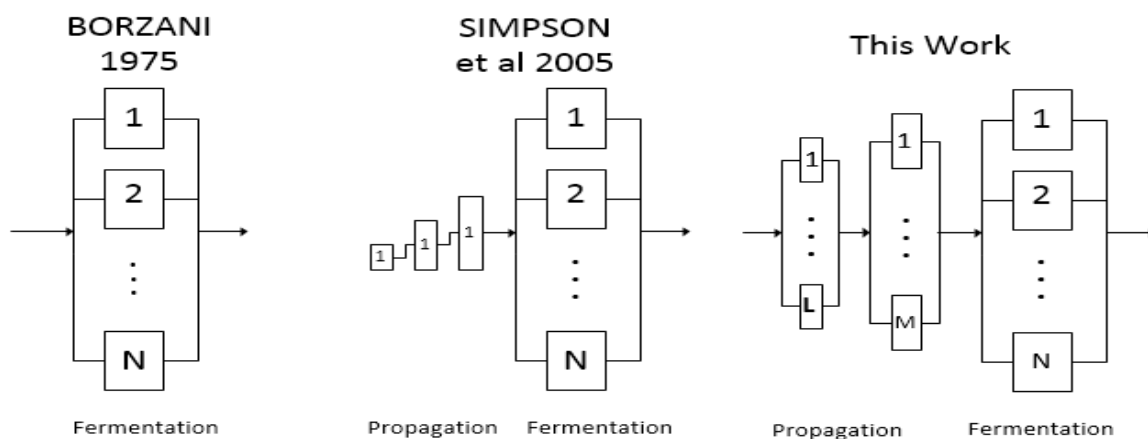


FIGURA 2 RESUMEN DE MÉTODOS DE DISEÑO DE FERMENTACIÓN DISCONTINUA



## Contenido

Resumen .....	3
Abstract .....	4
Índice de Figuras .....	6
Índice de tablas .....	7
Capítulo 1 Introducción y Objetivos .....	8
Objetivos .....	10
Capítulo 2 Marco Teórico o Antecedentes .....	12
Fermentación .....	12
1) Preparación: .....	15
2) Bioproceso .....	18
3) Separación .....	23
Diseño y Operación de Planta .....	24
Modos de Trabajo .....	24
Metodología de Borzani .....	34
Criterio de Optimización .....	36
Capítulo 3 Metodología .....	40
Metodología basada en el máximo valor actual neto .....	40
Algoritmo de Cálculo de Sensibilidades .....	48
Orden de cálculo .....	50
Nomenclatura .....	51
Capítulo 4 Resultados y Discusión .....	54
Sensibilidad .....	58
1. Sensibilidad al factor de escala .....	59
2. Sensibilidad a la razón de tiempo de preparación y descarga .....	62
3. Sensibilidad a las horas de fermentación .....	64
4. Sensibilidad a la producción .....	66
Resumen Análisis de Resultados .....	69
Capítulo 5 Conclusiones y Recomendaciones .....	70
Futuras Investigaciones .....	71
Bibliografía .....	72



## Índice de Figuras

Figura 1 Resumen de métodos de diseño de fermentación discontinua.....	3
Figura 2 Resumen de métodos de diseño de fermentación discontinua.....	4
Figura 2 Curvas de esterilización de B. Sterarothermophilus y E. Coli a distintas Temperaturas. ....	16
Figura 3 Tiempos de esterilización. ....	17
Figura 4 Variables de proceso de fermentación. ....	18
Figura 5 Fases de la Fermentación .....	21
Figura 6 Tipos de operación del bioreactor .....	24
Figura 7 Caso Ejemplo Proceso de 3 etapas .....	26
Figura 8 Carta Gantt Proceso sin traslape .....	28
Figura 9 Operación con Traslape .....	28
Figura 10 Operación con traslape y equipo duplicado .....	29
Figura 11 Planta multiproducto.....	29
Figura 12 Planta Multipropósito.....	30
Figura 13 Efecto del almacenamiento intermedio en la programación de la producción. a Almacenamiento Ilimitado b Sin almacenamiento. c Cero Espera (Reklaitis, 1982).....	32
Figura 14 Carta Gantt Borzani. ....	35
Figura 15 Comparación de Métodos de diseño de plantas Lote .....	46
Figura 16 Algoritmo para cálculo de sensibilidades .....	48
Figura 17 Inversión total como función del número de fermentadores y la relación entre el tiempo de preparación y descarga usando el Método de extendido. 2005 .....	56
Figura 18 Inversión total como función del número de fermentadores y la relación entre el tiempo de preparación y descarga usando metodología propuesta. ....	56
Figura 19 Comparación método de Simpson et al y propuesto.....	57
Figura 20 Gráficos Diseño de planta en función del factor de escala .....	60
Figura 21 Diseño de planta en función de la razón entre tiempo de preparación y tiempo de descarga .....	63
Figura 22 Diseño de planta en función de las horas de fermentación.....	65
Figura 23 Diseño de planta en función de la producción. ....	67



## Índice de tablas.

Tabla 1 Métodos de Optimización Plantas por lotes. ....	9
Tabla 2 Mercado de los Aminoácidos.....	14
Tabla 3 Tiempo de Fermentación Kluyveromyces Fragilis.....	22
Tabla 4 Ficha Técnica de equipos de proceso caso ejemplo.....	27
Tabla 5 Resumen comparación de procedimientos .....	46
Tabla 6 Parámetros de cálculo de costos .....	54
Tabla 7 Resumen de resultados de optimización usando criterios I, II y III .....	58
Tabla 8 Diseño de planta en función del factor de escala .....	61
Tabla 9 Diseño de planta en función de la razón de tiempo de preparación y tiempo de descarga	62
Tabla 10 Valores óptimos diseño de planta en función de las horas de fermentación. ....	66
Tabla 11 Valores óptimos diseño de planta en función de la producción. ....	68
Tabla 12 Nomenclatura de trabajo.....	51



## Capítulo 1 Introducción y Objetivos.

Las plantas de fermentación industrial consisten en tres secciones principales: preparación, fermentación y recuperación de producto. La sección de preparación contiene usualmente operaciones de preparación del medio, esterilización y la propagación del inóculo. La sección de fermentación es la parte principal de la planta donde toma lugar la transformación de las materias primas en productos. La sección de recuperación de productos engloba las operaciones de separación necesarias para obtener el producto de interés con la pureza requerida.

Las fermentaciones pueden ser llevadas en tres modos de operación: por lotes, por lotes alimentados y continuos. Las fermentaciones de gran volumen de producción son llevadas usualmente en operaciones continuas o semi-continuas, mientras que los procesos en lotes son usados en procesos de bajo volumen para la producción de productos biológicos finos. Las fermentaciones continuas son usadas extensamente en investigación y desarrollo, y en procesos de tratamiento de efluentes, pero son raramente usados en fermentaciones industriales, principalmente por la posibilidad de contaminación y mutación (Nagao, 2003). El proceso requiere preparar y propagar el inóculo antes de realizar la fermentación, por temas operacionales y para evitar complicaciones, se requiere que el inóculo pase sin espera de un propagador al siguiente.

En el diseño de plantas de fermentación por lotes o lotes alimentados, se enfrenta el problema de descifrar la combinación adecuada del número y tamaño de los fermentadores a usar, para lograr el esquema de producción deseado (Barbosa-Póvoa 2007; Rippin, 1993; Kondili, 1993). En principio, el problema tiene múltiples soluciones, ya que para cualquier tamaño de equipos a utilizar, un número definido de unidades hará el trabajo. Sin embargo, no todas las soluciones son iguales desde un punto de vista económico. El problema de determinar el número óptimo de equipos y el programa de operación en plantas multipropósito ha sido analizado por varios autores utilizando distintos métodos y modelos:



**TABLA 1 MÉTODOS DE OPTIMIZACIÓN PLANTAS POR LOTES.**

Método	Autor
<b>1) Programación Lineal.</b>	Rippin (1993). Kondili (1993).
<b>2) Programación No Lineal</b>	Yuan, Liu, Zhang, Xie, Feng, Yin, & Xiu, Z. (2016). Karuppiah & Grossmann (2008).
<b>3) Búsqueda Tabu.</b>	Cavin 2004 Cavin 2005
<b>4) Lógica Difusa</b>	Dietz, Aguilar-Iasserre, Azzaro-pantel, Pibouleau & Domenech (2008).
<b>5) Algoritmos Genéticos</b>	Dietz, Pibouleau, & Domenech (2008).
<b>6) Nuevo concepto - Súper Equipo</b>	Mo, Cavin, Fischer, & Hungerb (2008).
<b>7) Planificación de la Producción en múltiples periodos</b>	Fumero, Moreno, Corsano & Montagna (2016). Reklaitis, 1996 Moreno, Montagna & Iribarren (2007).

Fuente: Elaboración Propia

Simpson, Almonacid y Teixeira en 2003 presentaron un estudio en la optimización del diseño y operación por lotes de una batería de equipos en una fábrica de conservas. Sin embargo, un enfoque equivalente ha sido pocas veces presentado para la industria de fermentación.

La combinación de tamaño y número de fermentadores puede ser tener varios objetivos a optimizar, pudiendo ser minimizar inversión en fermentadores (Borzani, 1983), maximizar el VAN de la planta (Simpson et al, 2005), minimizar el tiempo de proceso, minimizar el tiempo entre equipos, maximizar la utilización de equipos (Mah, 1989), entre otros. Una aproximación más general puede ser considerada la solución óptima que entregue el mayor valor actual neto para la planta considerando la inversión en todos los equipos.

En el caso de las plantas de fermentación, que se utilizan para un solo tipo de producto, la metodología que se adapta de manera más simple es la de Borzani, la cual fue extendida por Simpson et al en 2005 al considerar la inversión en la línea de propagación, y sensibilizar respecto al tiempo de preparación y descarga. Esta generalización del método no consideró la continuidad



del proceso, disponibilidad de equipos, ni sensibilidad frente a otros parámetros como el tiempo de fermentación, factor de escala o volumen de producción que es lo que se abordará en esta tesis.

## Objetivos

### General

Generalizar la metodología de diseño de plantas de fermentación discontinua, que permita calcular el número, tamaño de fermentadores, equipos asociados y número de líneas de propagación óptimo, maximizando el VAN de la planta, de forma tal que la salida del proceso sea continua.

### Específicos:

- 1) Modelar el proceso desde la propagación hasta el fermentador con espera cero en el equipo crítico.
- 2) Comparar resultados con métodos anteriores, en base a la misma planta.
- 3) Analizar el efecto del factor de crecimiento, el tiempo de fermentación y la producción, sobre la cantidad de reactores, su volumen y la inversión a realizar





## Capítulo 2 Marco Teórico o Antecedentes

### Fermentación

El término fermentación se aplica de dos formas distintas. En el contexto metabólico, la fermentación se refiere al crecimiento en ausencia de un receptor de electrones externo, por ejemplo, oxígeno. Se habla entonces de "fermentación" de azúcares para producción de etanol; mientras que en los bioprocesos industriales, se habla de fermentación cuando se refiere al crecimiento de grandes cantidades de células. (Borzani, 1975). El término fermentación, cuando se usa en el contexto de la microbiología industrial, incluye cualquier proceso microbiológico a gran escala que se lleva a cabo bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

Se desea que los microorganismos usados industrialmente tengan las siguientes características:

- Rápido crecimiento.
- Estabilidad genética.
- Inocuos para el ser humano.
- Fácil de separar del producto

Los procesos microbiológicos industriales pueden estar orientados para producir:

- Biomasa.
- Enzimas específicas.
- Metabolitos.

Existen dos tipos claramente definidos de cultivos en bioprocesos:

### Cultivos de superficie

Se usan principalmente cuando los micelios actúan como catalizadores. El micelio crece en bandejas que contienen una pequeña cantidad de medio de cultivo. A medida que el micelio crece, forma una capa compacta. Este método se usó para la producción de ácido cítrico.

Este tipo de cultivo se usa muy poco en la producción a gran escala y se prefiere en su lugar, el cultivo sumergido.



## Cultivos sumergidos

En este tipo de procesos, los microorganismos se suspenden en un medio líquido. El ejemplo más simple de un cultivo sumergido consiste en un recipiente sin ningún dispositivo de agitación en el cual los microorganismos se establecen en el fondo y forman una capa compacta. Este es el arreglo clásico para todos los procesos de producción de etanol. En este caso, puede presentarse movimiento del líquido debido a las burbujas de dióxido de carbono que se forman y ascienden.

Los siguientes campos de aplicación de los procesos bioquímicos y microbiológicos, poseen actualmente importancia industrial y económica (Demain, 2012):

- Producción de proteína unicelular (SCP, por sus siglas en inglés) a partir del metano, fracciones de aceite mineral, residuos agrícolas, etc.
- Producción de alimentos: levadura para panadería, vinagre y bebidas alcohólicas, entre otros.
- Productos farmacéuticos: antibióticos, vitaminas, esteroides y sustancias químicas orgánicas como: ácidos, aminoácidos, solventes, polisacáridos y sustancias para crecimiento.
- Recuperación microbiológica de suelos contaminados.
- Producción de energía (hidrógeno, metano, etanol) y de materias primas por lixiviación microbiológica de minerales, por ejemplo bio-lixiviación del cobre.
- Uso de microorganismos como catalizadores en reacciones orgánicas (biooxidación, biorreducción, biofosforilación, etc.) y como fuentes de enzimas importantes (detergentes, industria de alimentos, medicina).

Los procesos biotecnológicos se basan en la acción de microorganismos como agentes transformadores, dentro de sistemas productivos a nivel industrial, orientados a la obtención de enzimas, vitaminas, aminoácidos, aditivos, proteínas celulares, y otros productos de uso alimenticio y terapéutico.



**TABLA 2 MERCADO DE LOS AMINOÁCIDOS**

AMINOACIDO	PROCESO	TON/AÑO	MERCADO [USD]
<b>L-Alanina</b>	Enzimático	500	—
<b>L-Arginina</b>	Fermentación	1,2	150 millones
<b>Ácido L-aspártico</b>	Enzimático	10	43 millones
<b>L-cisteína</b>	Enzimático	3	4600 millones
<b>Ácido L-glutámico</b>	Fermentación	1,600,000	1500 millones
<b>L-glutamina</b>	Fermentación	1,3	-
<b>Glicina</b>	Químico	22	-
<b>L-histidina</b>	Fermentación	400	-
<b>L-iso-leucina</b>	Fermentación	400	-
<b>L-Leucina</b>	Fermentación	500	-
<b>L-Lisina-HCl</b>	Fermentación	850	1.5 mil millones
<b>DL-Metionina</b>	Químico	400	2,3 mil millones
<b>L-fenilalanina</b>	Fermentación	12,65	198 millones
<b>L-Prolina</b>	Fermentación	350	-
<b>L-Serina</b>	Fermentación	300	-
<b>L-Treonina</b>	Fermentación	70	270 millones
<b>L-triptófano</b>	Enzimático	3	150 millones
<b>L-tirosina</b>	Fermentación	165	50 millones
<b>L-valina</b>	Fermentación	500	

Fuente: The Business of Biotechnology, VOL. 3 NO. 3 2007

Los procesos biotecnológicos abarcan tres etapas básicas (Borzani, 2001) preparación:



## 1) Preparación:

### a. Esterilización

La esterilización es un proceso de suma importancia para la industria de las fermentaciones. Para comenzar la explicación de este tema es conveniente dejar en claro dos conceptos fundamentales:

**Esterilización:** es la eliminación completa, ya sea por destrucción o por separación, de toda forma de vida de un objeto o material, como bacterias incluyendo sus esporas, las cuales debido a sus gruesas paredes celulares son resistentes a la eliminación. Desde el punto de vista industrial es suficiente que en un medio de cultivo sometido a un ciclo de esterilidad no se verifique el desarrollo de ningún tipo de microorganismo.

Razones para esterilizar:

- I. Para prevenir la transmisión de enfermedades.
- II. Para prevenir la descomposición de materiales por microorganismos.
- III. Para eliminar la competencia por los nutrientes en un medio de fermentación y permitir así el desarrollo específico de un solo tipo de microorganismo de interés industrial, ya sea por ellos mismos o por algún producto generado por ellos.

Para asegurar la calidad de la fermentación se debe eliminar la presencia de otros microorganismos que puedan competir con el inóculo, disminuyendo su eficiencia o produciendo reacciones indeseadas. Para ello se requiere esterilizar el medio de cultivo y el reactor, pudiendo realizarse de las siguientes formas:

### Métodos de esterilización

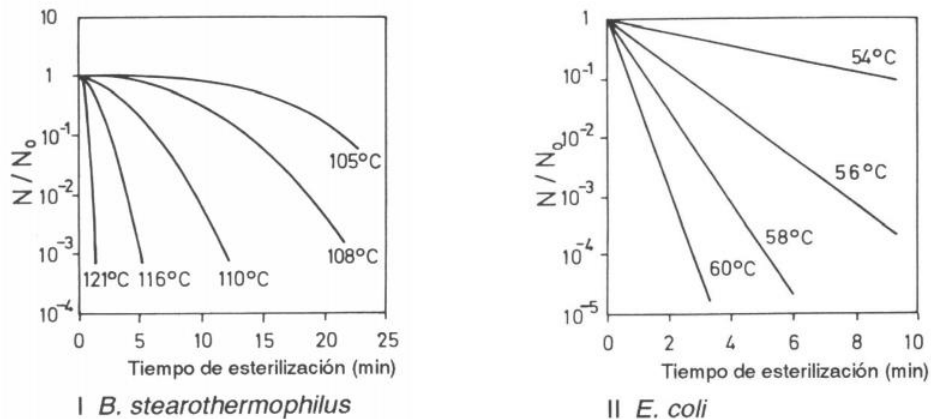
Se pueden clasificar en tres tipos según el efecto producido sobre los microorganismos:

1. Destrucción
2. **Muerte o inactivación**
  - a. Calor húmedo
  - b. Fuentes de alta energía, (radiaciones ionizantes, UV, etc.)
  - c. Métodos químicos.

### 3. Remoción física

Los del segundo grupo son los más utilizados para medios de fermentación. De los nombrados, el calor húmedo es el más ampliamente usado y es además el más sencillo de controlar. El mayor problema que presenta su utilización es el cálculo del tiempo mínimo de calentamiento que asegure asepsia y que no produzca una desnaturalización de las sustancias que componen el medio de cultivo. Este tiempo depende del volumen y tipo de equipo empleado, sobre todo de la relación volumen/área de intercambio de calor (Borzani, 2001). Para independizarse de estas variables se utiliza un método que se basa en la evolución de las condiciones térmicas necesarias para destruir una determinada cantidad de microorganismos.

Para los cálculos utilizados en este modelo se han empleado esporas de *Bacillus stearothermophilus*, microorganismo que se caracteriza por ser muy resistente al calor. Las relaciones entre el número de esporas y el tiempo de exposición al calor muestran una relación logarítmica de destrucción (cinética de primer orden). En la **Figura 1** se muestran curvas típicas de destrucción para diferentes temperaturas para células de *E. coli* y esporas de *B. st.* Se puede ver que a 121 °C la destrucción de esporas es aproximadamente 250 veces más rápida que a 105°C.



**FIGURA 3 CURVAS DE ESTERILIZACIÓN DE B. STEROTHERMOPHILUS Y E. COLI A DISTINTAS TEMPERATURAS.**

Fuente: Universidad Nacional de Quilmes Departamento de Ciencia y Tecnología Bioprocesos II 2

De ellas se extrae el modelo de decaimiento natural:

$$t_{\text{Esterilización}} = \frac{1}{K} * \ln\left(\frac{N_{\text{final}}}{N_{\text{inicial}}}\right) \quad (1)$$

Siendo N el número de microorganismos presente en el reactor, y K la velocidad de decaimiento del microorganismo (a mayor K, más rápida es la esterilización), con este modelo se

tiene el tiempo de exposición que debe tener el vapor en el reactor, pero a este tiempo se le debe sumar el tiempo en que demore en calentarse el reactor, y posteriormente el que demore en enfriar para comenzar la carga del medio de cultivo y el inóculo.

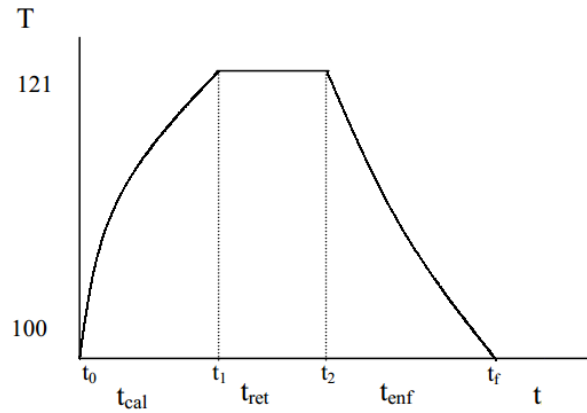


FIGURA 4 TIEMPOS DE ESTERILIZACIÓN.

#### b. Cargar y Ambientar

La carga del inóculo y sustrato se realiza por separado teniendo cuidado de no dañar el inóculo, por lo que se carga primero el medio, se lleva a temperatura adecuada y se carga el inóculo. El procedimiento y flujo utilizado dependerá de cada caso. Como una estimación se puede utilizar:

$$t_{Carga} = t_{carga\ inoculo} + t_{carga\ sustrato} \quad (2)$$

$$t_{carga\ medio} = \frac{V_{medio}}{F_S} \quad (3)$$

$$t_{carga\ inoculo} = \frac{V_{inoculo}}{F_{inoculo}} \quad (4)$$

A este tiempo se debe sumar el tiempo de calentar el medio el cual depende del intercambiador de calor, la temperatura del vapor a utilizar, ensuciamiento entre otros. Pudiendo considerarse el tiempo en calentar proporcional al volumen del reactor.

$$t_{Calentar} = A * V_{reactor} \quad (5)$$

La suma del tiempo de esterilización, carga y calentar es el tiempo de preparación el cual se puede considerar de un punto de vista de diseño proporcional al volumen del reactor. Esta etapa es crítica al momento de asegurar la calidad de la fermentación.

## 2) Bioproceso

Sobre esta etapa recae la mayor atención debido a que es aquí donde se da la generación de biomasa o la transformación de la materia prima por acción de un catalizador biológico, industrialmente este proceso ocurre en un *Bio reactor*, que es un recipiente cilíndrico, normalmente de acero inoxidable que puede ir de unos mililitros hasta 500 metros cúbicos a escala industrial dependiendo de la producción y el proceso (Véase <http://lavallab.com/es/all-products/fermentadores-y-biorreactores/>). El bio reactor está diseñado para mantener en una suspensión homogénea microorganismos y sus sustancias derivadas para que reaccionen de forma aeróbica o anaeróbica, manteniendo sus condiciones de operación óptimas para cada microorganismos. Se hace mención especial al control de temperatura para lo cual se utiliza una chaqueta, y en casos de requerir una mayor transferencia de calor se utilizan serpentines internos. En el caso de la fermentación, la reacción produce calor, por lo que requiere ser enfriada cuando se hace a escala industrial. El bio reactor está diseñado para brindar las características necesarias de monitoreo de diferentes variables como temperatura y concentración de gases, originadas como resultado de la transformación química, y que deben mantenerse controladas a fin de ofrecer condiciones óptimas para el desarrollo y la acción del microorganismo.

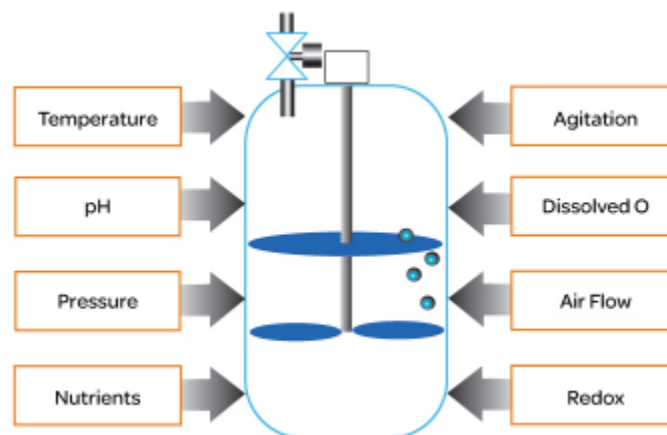


FIGURA 5 VARIABLES DE PROCESO DE FERMENTACIÓN.

Fuente Imagen: <http://www.eurotherm.es/industries/fermentation>

Una vez se ha agotado el sustrato original, la población microbiana ha crecido suficiente y la concentración del metabolito es la esperada, se tiene una suspensión acuosa compleja, nutrida de material suspendido y rica en especies químicas.



Hay dos clases bien definidas de bioprocesos que son:

### 1. ***Fermentación microbiana***

Es un proceso catabólico, totalmente anaeróbico, promovido o catalizado por microorganismos siendo el producto final un compuesto orgánico. La reproducción de los microorganismos conlleva a que la reacción tenga un comportamiento auto catalítico siendo la concentración de los microorganismos variable.

### 2. ***Reacciones enzimáticas***

Catalizadas por enzimas, el agente catalítico no se reproduce y cuando se opera discontinuamente este permanece constante.

Las condiciones de temperatura, pH, sustrato, agitación entre otras dependen del microorganismo o enzima utilizada y del producto deseado. Los rangos de operación de cada uno de estos parámetros y sus efectos en la calidad y concentración del producto es un estudio especializado para cada caso por lo que no se ahondará más en el tema.

### **Materias primas**

- ***Solución o medio nutritivo***: Suelen usarse diversas materias como solución nutritiva, lo importante es que contengan los elementos indispensables para conservar la vida de los microorganismos; ellos son los carbohidratos, nitrógeno y sales adecuadas propias para cada organismo. Estas materias primas se clasifican en:

- a. Materias amiláceas: tales como los cereales que contienen almidón, tubérculos y raíces.
- b. Materias celulósicas: tales como madera y sus residuos.
- c. Materias azucaradas: como los mostos y jugos de diferentes frutas, como la caña de azúcar, remolacha y subproductos de la industria azucarera como melazas y mieles.



La fermentación requiere de la acción de microorganismos, su crecimiento consta de cuatro fases:

**1.- Fase de latencia:** En la que el microorganismo se adapta a las condiciones del medio, pudiendo ser a las altas concentraciones de sustrato, pH (acidez) y temperatura. El periodo varía dependiendo del microorganismo desde horas hasta días.

**2.- Crecimiento exponencial:** el microorganismo ya acondicionado al entorno, empiezan a multiplicarse en crecimiento exponencial, alcanzando el máximo de su densidad de población, que suele estar en torno a los 100 millones de células por centímetro cúbico. Debido al consumo que hacen los microorganismos del sustrato (normalmente azúcar) presente en el medio, las concentraciones del mismo declinan rápidamente.

Se puede estimar la duración de esta etapa si se conoce la velocidad de crecimiento específico,  $\mu$ , y las concentraciones iniciales y finales de microorganismo.

$$t_{\text{crecimiento}} = \frac{1}{\mu} * \ln\left(\frac{C_{\text{final}}}{C_{\text{inicial}}}\right) \quad (6)$$

La ecuación (6), permite estimar de forma simplificada el tiempo de crecimiento. Si se considera la velocidad de crecimiento es dependiente de la concentración de sustrato, concentración de microorganismo e inhibiciones, el modelo se vuelve complejo. Algunos de los modelos utilizados para estimar la velocidad de crecimiento son (Borzoni, 2001):

**Ecuación de Monod**

$$\mu_x = \mu_m * \frac{S}{K_S + S} \quad (7)$$

**Moser**

$$\mu_x = \mu_m * \frac{S^n}{K_S + S^n} \quad (8)$$

**Teissier**

$$\mu_x = \mu_m * \left(1 - e^{-\frac{S}{K_S}}\right) \quad (9)$$

**Contois y Fujimoto**

$$\mu_x = \mu_m * \frac{S}{K_S * X + S} \quad (10)$$

**Powel**

$$\mu_x = \mu_m * \frac{S}{(K_S + K_D) + S} \quad (11)$$

Para seleccionar el modelo de crecimiento adecuado, se requieren datos experimentales y realizar el ajuste de curva adecuado. Como primera se utiliza el modelo de Monod por su simpleza.

**3.- Fase estacionaria:** Es la fase en la cual la población de micro organismos que ha llegado a su máximo valor admisible, lo que hace que se alcance un valor estacionario y que la fermentación se mantenga a una velocidad constante. El calor formado por la fermentación hace que la puede no ser suficiente para mantener la temperatura constante, por lo que se debe tener instalada una chaqueta o intercambiador de calor para controlar la temperatura.

**4.- Fase declinante:** En esta fase la carestía de azúcares o la elevada concentración de producto empieza a disminuir la población de microorganismos y con ello la velocidad de fermentación.



FIGURA 6 FASES DE LA FERMENTACIÓN

La fermentación se realiza normalmente considerando la etapa de crecimiento exponencial de los microorganismos, este depende de varios factores siendo uno de los más relevantes la temperatura. Para definir el tiempo de fermentación de un proceso se requiere de estudios del microorganismo en el medio de cultivo específico.

A modo de ejemplo el caso de la *Kluyveromyces fragilis* (también conocida como *Kluyveromyces Marxianus*), microorganismo usado en la fermentación de la lactasa, el tiempo de la fermentación varía entre 5 hasta 96 horas dependiendo de en qué sustrato se realiza el proceso y cuál es el producto deseado como se puede ver en la siguiente tabla:



**TABLA 3 TIEMPO DE FERMENTACIÓN KLUYVEROMYCES FRAGILIS**

<b>Producto</b>	<b>Horas</b>	<b>Título de investigación</b>
<b>1-3 Propanodiol</b>	5	<i>Optimal control of a batch fermentation process with nonlinear time-delay and free terminal time and cost sensitivity constraint (Yuan, J., Liu, C., Zhang, X., Xie, J., Feng, E., Yin, H., &amp; Xiu, Z., 2016).</i>
<b>Lactasa</b>	13	<i>Search method for the optimal medium for the production of lactase by Kluyveromyces fragilis. (Chen, K.-C., 1992)</i>
<b>Bio Masa Crecimiento de Kluyveromyces marxianus</b>	12 -. 16	<i>Fed-batch fermentation for production of Kluyveromyces marxianus FII 510700 cultivated on a lactose-based médium. (Lukondeh, T. (2005).</i>
<b>Bio Masa Crecimiento de Kluyveromyces fragilis</b>	16	<i>Kinetics of batch fermentations with Kluyveromyces fragilis (Özilgen, M., Ollis, D. F., &amp; Ogrydziak, D. 1988)</i>
<b>Galactosidasa</b>	18,5	<i>Producción y caracterización parcial de b - galactosidasa de Kluyveromyces lactis propagada en suero de leche desproteínizado (Ramirez. A. 2003)</i>
<b>Reducir Demanda Química de Oxígeno. (reducir lactosa)</b>	24	<i>Batch growth of Kluyveromyces lactis cells from deproteinized whey: Response surface methodology versus Artificial neural network—Genetic algorithm approach (Coelho, F., 2016)</i>
<b>Bio Etanol</b>	40	<i>Lactoserum alcoholic fermentation by Kluyveromyces marxianus and organic solvents as extractants. (Padín, A. 2009)</i>
<b>Lactasa</b>	48	<i>Production of Lactase by Mutants of Kluyveromyces lactis. (Yoshida, H., Araki, K., &amp; Kawai, M. 1988).</i>
<b>Reducir Demanda Química de Oxígeno. (reducir lactosa)</b>	48	<i>Fermentation of Whey Filtrate by Kluyveromyces fragilis: the Effect on Cell Lipids (Al-Shabibi, 1984)</i>
<b>Bio Etanol</b>	96	<i>Cyanobacterial biomass as carbohydrate and nutrient feedstock for bioethanol production by yeast fermentation (Möllers, K., 2014)</i>

Fuente: Elaboración Propia



### 3) Separación.

La fase de separación en la obtención de un producto biotecnológico incide de manera significativa en la calidad de este y en el costo total del proceso, de allí la importancia en la selección de la técnica más adecuada para el uso final del producto y la exigencia competitiva del mercado son otras razones a tener en cuenta en el diseño del proceso.

Las operaciones de concentración y purificación son de naturaleza física entre las cuales se tienen: centrifugación, cromatografía, diálisis, disrupción celular, precipitación, filtración, extracción liquido-liquido, adsorción, electroforesis, intercambio iónico y ultrafiltración.

En el caso de la línea de propagación, la descarga del inoculo va directo a otro reactor para continuar la propagación por lo que no requiere separar. Una vez terminado el proceso de fermentación, se debe de seleccionar el o los equipos de separación en función de la capacidad, para mantener la continuidad del proceso sin la necesidad de estanques intermedios.

El tiempo de descarga del proceso considerando un flujo constante es:

$$t_{descarga} = \frac{V_{reactor}}{F_{descarga}} \quad (12)$$

Para considerar que la descarga de un proceso discontinuo sea un flujo continuo se requieren de equipos trabajando en paralelo, de tal forma que la planta esté balanceada, y las operaciones puedan realizarse en conjunto de forma continua, aun siendo cada una de ellas por lote.

## Diseño y Operación de Planta.

### Modos de Trabajo

El modo de operación de un biorreactor o fermentador, no solo influye en el diseño propio del reactor, sino también, en el modelo cinético de crecimiento del cultivo y en el proceso de producción. Existen tres modos de cultivo aunados a tres modos básicos de operación (Borzani, 2001):

- Discontinuo (por lotes): por lotes o tandas, sin alimentación; se coloca dentro del biorreactor la carga total de cada proceso (tanda o lote) de cultivo o fermentación y se dejar que se lleve a cabo el proceso productivo o la fermentación por el tiempo que sea necesario; el cual se denomina tiempo de retención.
- Lotes alimentados (fed-batch): con alimentación de entrada; se alimenta una línea de entrada o alimentación para que el sistema de cultivo tenga un producto (biomasa) con máximo de crecimiento (exponencial) y aumente la productividad.
- Continuo: por quimioestato, se tiene una línea de entrada o alimentación y se drena por una línea de salida o lavado; de manera que los flujos o caudales de ambas líneas sean iguales y la producción sea continua.

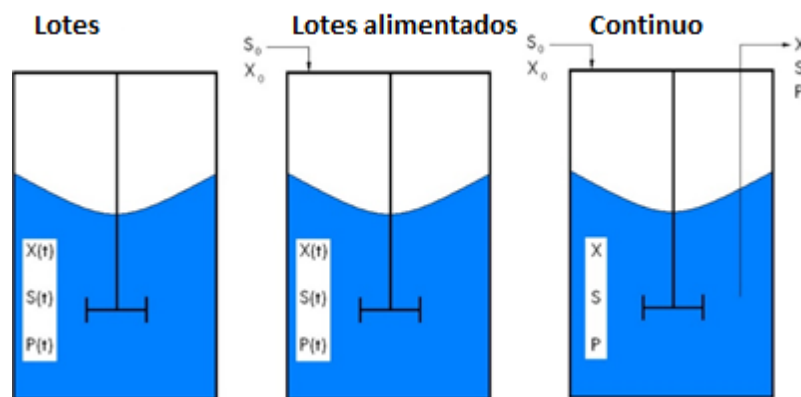


FIGURA 7 TIPOS DE OPERACIÓN DEL BIOREACTOR

Fuente: <http://www.intechopen.com/books/biomass-now-sustainable-growth-and-use/continuous-agave-juice-fermentation-for-producing-bioethanol>



Los criterios para seleccionar un proceso continuo sobre uno por lotes se pueden separar en tres (Douglas, 1988)<sup>1</sup>:

- **Rango de Producción:** Típicamente para justificar el funcionamiento continuo en plantas químicas se requiere un volumen de producción superior a *5 mil toneladas por año*, mientras que uno menor a 500 toneladas año se realiza por lotes. Plantas de alta capacidad pueden justificar una mayor inversión en diseño, desarrollo de programas y bases de datos más precisas para realizar el proceso en continuo, mientras las plantas por lotes son más precisas y flexibles por lo que un producto aceptable se puede producir con cierta incertidumbre, además por su gran flexibilidad son muy usadas cuando se realizan múltiples productos en los mismos equipos y procesos, por ejemplo las pinturas.
- **Condiciones del Mercado:** Muchos productos son estacionales, por ejemplo los fertilizantes se venden durante un mes antes al año. Por lo que si se produce de forma continua se tiene un alto costo de inventario. Mientras que si el fertilizante se produjese en un mes en una planta por lotes y durante el resto del año la planta produce otros productos, el costo de inventario se reduce drásticamente. Es por ello que para productos con demanda estacional se prefiere trabajar por lotes.
- **Problemas Operacionales:** Los procesos que requieren largos tiempos de residencia son difíciles de conseguir en funcionamiento continuo. Estos se llevan a cabo de forma más económica en plantas discontinuas. La producción por lotes también se adapta mejor a los procesos que requieren un procedimiento de síntesis complejo y un estrecho control de las condiciones del proceso.

En la industria los procesos discontinuos, incluyen más que bioreactores, se tienen bombas, separadores, intercambiadores de calor, entre otros. La mayoría de los procesos industriales por lotes implican más de una etapa. Cada etapa puede consistir en una o más piezas de equipo (procesadores), denominadas unidades. Una simplificación común hecha en el diseño es hacer las unidades en una etapa idéntica. Debe observarse que "etapa" y "unidad" son términos que se refieren a un proceso dado la producción de un producto dado, mientras que "equipo" se refiere a la instalación física utilizada en la producción. Por lo tanto, se puede utilizar un tipo de equipo  $R_k$  en la etapa  $J_1$  en la producción del producto  $P_1$ , pero también puede utilizarse en la etapa  $J_2$  en la

---

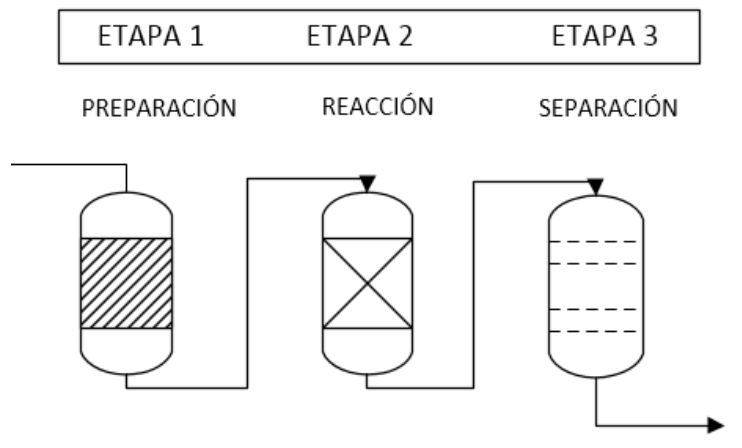
<sup>1</sup> Conceptual design of Chemical Processes, Chapter 4.2 Page 108

producción del producto  $P_2$ . Se hace referencia a un proceso para producir un producto como ruta de producción o receta. Para una ruta de producción dada se especifica el tipo de equipo para cada unidad. Podemos, por lo tanto, referirnos a la "unidad" y al "equipo"

Físicamente, el equipo está disponible en incrementos discretos de tamaño. En general, se puede utilizar un equipo dado para más de un producto. El tiempo de procesamiento  $T_{ij}$  es el tiempo requerido para procesar un lote de producto  $I$  sobre el equipo en la etapa  $J$ . El factor de tamaño  $S_{ik}$ , es el tamaño característico del equipo necesario en la etapa  $j$  para producir la masa unitaria del producto  $i$ . Para producir un lote  $B_i$  de producto  $i$  en el equipo  $k$  se requerirá un equipo de volumen  $B_i * S_{ik}$  y un tiempo de procesamiento  $T_{ik}$ .

Las plantas por lotes pueden ser operadas de distintos modos, estos pueden ser *sin traslape de operaciones*, *con traslape* o *con traslape y equipo repetido*.

A modo de ejemplo, supongamos que se tiene un proceso de un producto que requiere de 3 etapas:



**FIGURA 8 CASO EJEMPLO PROCESO DE 3 ETAPAS**

Fuente: Elaboración Propia

Cada una después de la otra con una duración como indica la siguiente tabla:



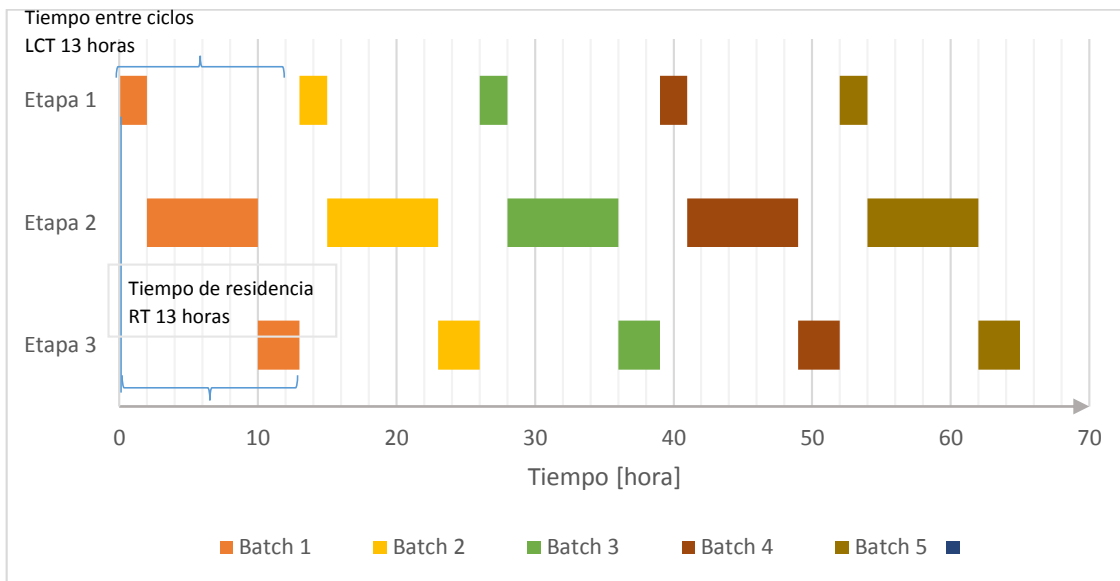
TABLA 4 FICHA TÉCNICA DE EQUIPOS DE PROCESO CASO EJEMPLO.

<b>Etapas</b>	<b>Nombre</b>	<b>Tiempo [h]</b>	<b>Capacidad [kg]</b>	<b>Flujo medio [kg/h]</b>
1	Preparación	2	50	25
2	Reacción	8	160	20
3	Separador	3	72	24

Primero se puede apreciar que el proceso de reacción es el que toma más tiempo, por lo que es el cuello de botella del proceso. Además considerando que no hay almacenamiento entre etapas, la máxima capacidad a utilizar por batch es de 50 kg, en cada equipo sin que se rebalse. Para representar el proceso el gráfico usado normalmente es la carta Gantt, en el cual se muestran barras horizontales las cuales su largo representa el tiempo que demora realizar dicha operación en las distintas etapas del proceso las que están ordenadas en el eje vertical, para facilitar la explicación se muestra cada lote de trabajo con un color distinto.

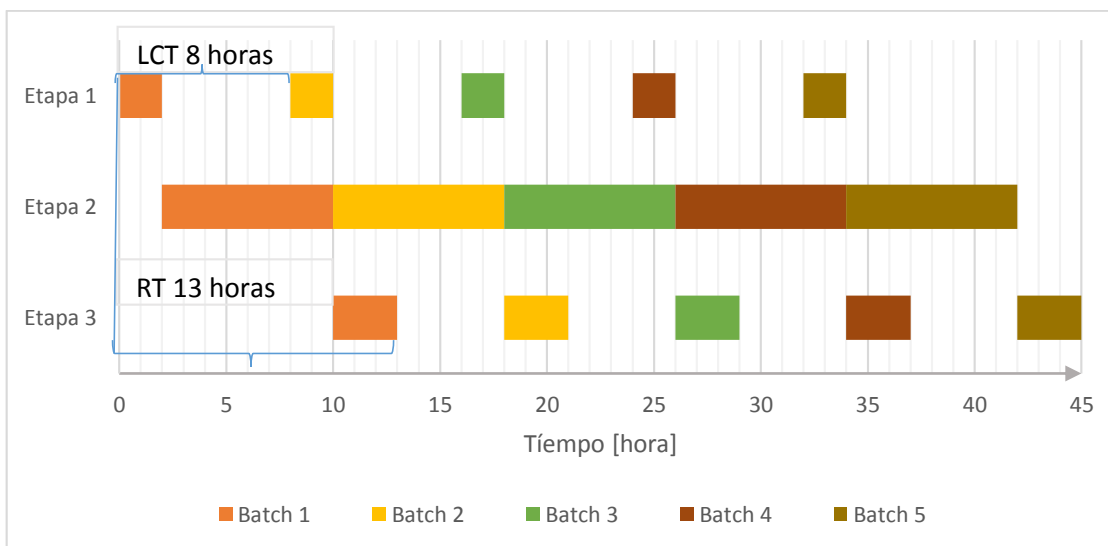
Si el proceso se opera sin traslape, esto quiere decir una etapa a la vez, lo que da más control al proceso, se puede ver en la Figura 9, que hay 11 horas entre que se usó el ambientador la primera vez y la segunda, y entre todas las etapas. Este tiempo muerto en el equipo se puede ver en todas las etapas en distinto grado. Para este caso el tiempo de flujo o tiempo de residencia (RT su sigla en inglés), es el tiempo requerido para un lote de material para pasar por todas las etapas de la planta medido desde la primera disponibilidad, es de 13 horas, mientras que el tiempo entre ciclos (LCT su sigla en inglés), el tiempo entre dos lotes, también es 13 horas, el cuál es el máximo valor que puede tomar. Refiriéndose al tiempo de inicio del primer trabajo en el primer proceso, se puede definir el tiempo transcurrido para completar el trabajo 1, en la etapa J como el tiempo de ejecución del trabajo I en la maquina J como  $C(i, j)$ . Por ejemplo el  $C(1,1)$  es 2 horas.

En la operación sin traslape, la cual es el caso menos eficiente y que solo se realiza si el material requiere y su valor justifica un gran control y supervisión, se puede ver que en un día no se logra realizar 2 lotes completos.



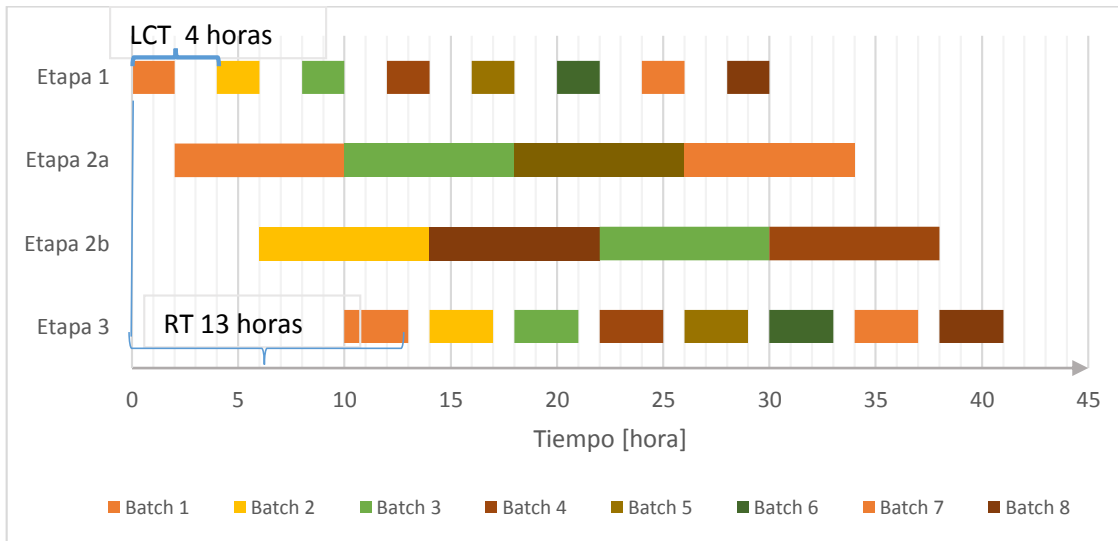
**FIGURA 9 CARTA GANTT PROCESO SIN TRASLAPE**

Para optimizar el uso de equipos se pueden traslapar operaciones, es decir utilizar maquinarias de distintas etapas en paralelo hasta obtener un equipo sin tiempo de espera entre usos, como se ve en la Figura 10, esto permite reducir los tiempos muertos reduciendo el tiempo entre ciclo de 13 a 8 horas, con ello se ve que la etapa limite es la 2, donde no hay tiempo entre ciclo, esto quiere decir que apenas se terminan un lote comienza instantáneamente otro.



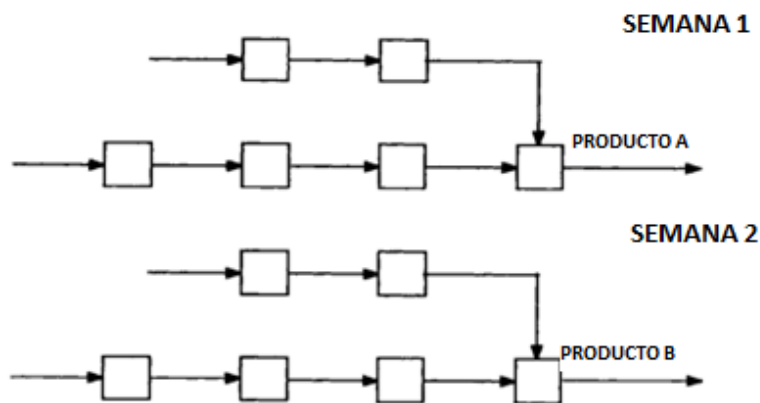
**FIGURA 10 OPERACIÓN CON TRASLAPE**

Si se quiere aumentar la producción, primero se debe observar que el LCT es dominado por la etapa más larga del proceso, en este caso la etapa 2 de reacción con una duración de 8 horas. Se puede reducir el tiempo entre ciclos introduciendo un reactor en paralelo en la etapa 2. Con ello el tiempo entre ciclos se reduce a 4 horas, mientras que el tiempo de residencia sigue siendo el mismo en todos los casos.



**FIGURA 11 OPERACIÓN CON TRASLAPE Y EQUIPO DUPLICADO**

Este análisis de tiempo de ciclos en la carta Gantt permite identificar gráficamente la etapa límite y acomodar las limitaciones de tamaño de equipos, pero tiene una limitante si es que se utiliza para plantas con muchas etapas o una planta multipropósito en el cual se utilice la maquinaria en distinto orden para distintos productos.



**FIGURA 12 PLANTA MULTIPRODUCTO.**

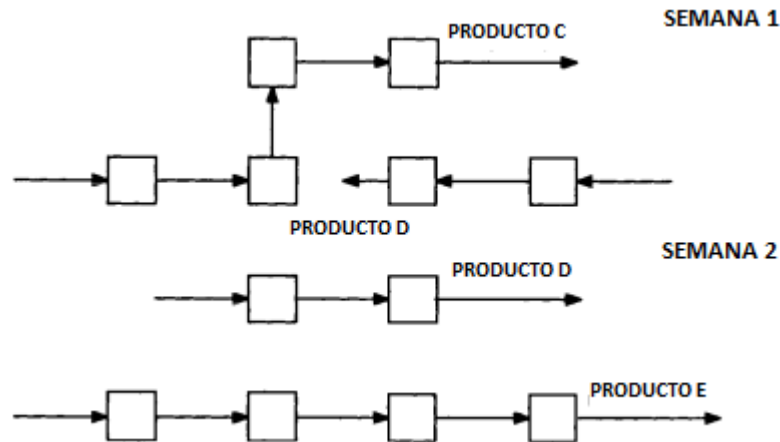


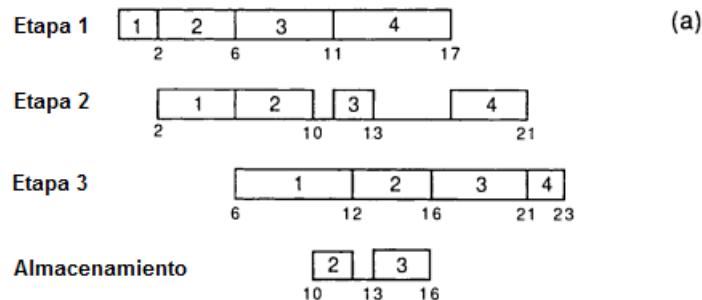
FIGURA 13 PLANTA MULTIPROPÓSITO.

La secuencia de proceso para diferentes productos tiene profundas implicancias para las plantas por lotes. Le afecta el “makespan”, tiempo que demora armar el último producto medido desde el último predecesor. A menudo el tiempo en limpieza y preparación del equipo, más el material utilizado en la producción depende de la secuencia de diferentes productos. Por ejemplo si se hace pintura negra luego de la blanca, la limpieza es menos compleja que si se hace al revés. Por ende hay un costo por el orden de la secuencia de proceso en diferentes etapas. Por ejemplo el producto A podría ser procesado antes del producto B en la etapa 1, pero debe ser procesado después del B en la etapa 2. Sin embargo, este nivel de generalización es normalmente evitado en estos análisis. Cuando una programación de producción puede ser completamente caracterizada por una permutación de enteros, es llamado programación permutada (Baker, 1974). En este tipo de programación el orden en que se procesan los productos es el mismo en todas las etapas y no se permite cambios de productos entre etapas. Se limitará el análisis a este tipo de programación. Finalmente los diferentes productos pueden estar limitados por relaciones de precursores. En un proceso químico un producto dado puede ser un intermediario o precursor de otro producto, por lo que la factibilidad de producir dicho compuesto está dado por la disponibilidad de precursor en la cantidad requerida, esto nos lleva a la consideración de almacenamientos intermedios. En la programación de una planta por lotes multi-etapa es afectada en gran parte por como es el almacenamiento entre etapas. Hay 4 modelos de almacenamientos intermedios:

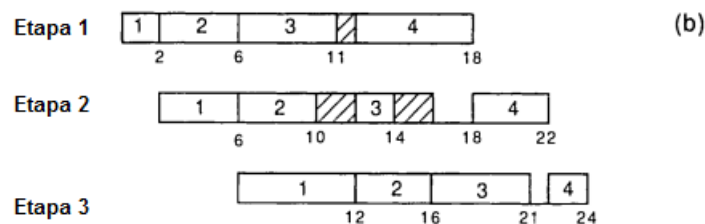


- 1) **Almacenamiento intermedio Infinito (UIS):** Se considera que todo el producto intermedio es retirado de su unidad tan pronto como es procesada. Este modelo es uno de los más estudiados.
- 2) **Sin Almacenamiento intermedio (NIS):** Modelo típico en las plantas químicas. El material se mantiene en el procesador (reactor o etapa) hasta que la siguiente etapa está lista para recibir y procesar.
  - **Almacenamiento Finito:** Es un punto medio entre los dos modelos anteriores. Se comporta como el modelo UIS, pero hay una capacidad límite de cuanto se puede almacenar.
- 3) **Cero Espera (ZW):** Se considera que el producto pasa de un equipamiento a otro sin espera. Este modelo se aplica cuando los procesos involucran intermediarios frágiles, inestables o en que la espera haría el proceso imposible, como el cilindrado de tubos calientes o la fermentación de la levadura.

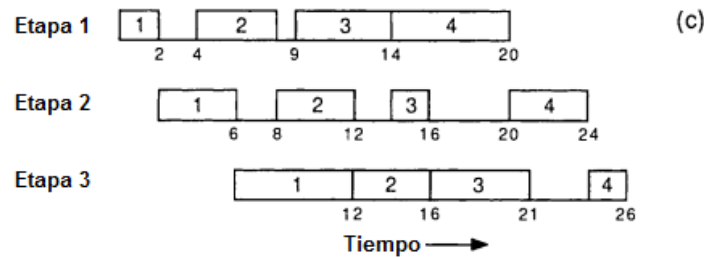
*Almacenamiento Ilimitado*



*Sin Almacenamiento*



*Cero Espera*



**FIGURA 14 EFECTO DEL ALMACENAMIENTO INTERMEDIO EN LA PROGRAMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN. A ALMACENAMIENTO ILIMITADO B SIN ALMACENAMIENTO. C CERO ESPERA (REKLAITIS, 1982)**

Aunque el proceso de “Espera Cero” y “Sin Almacenamiento” tienen similitudes, la diferencia de no poder esperar entre una etapa y otra tiene implicancias importantes en la programación de la operación. Cabe mencionar que la operación puede tener múltiples tipos de almacenamientos en las distintas etapas, esto se llama política de almacenamiento intermedia mezclada.

Dependiendo del contexto del problema, se puede elegir entre varias funciones objetivos para optimizar la planta por lotes. Por ejemplo:

- a. Minimizar el tiempo entre productos.
- b. Minimizar el tiempo de residencia máximo (planta multipropósito)
- c. Minimizar el tiempo de residencia promedio.
- d. Minimizar la demora máxima
- e. Minimizar la demora promedio.
- f. Minimizar el coste de orden de secuencia.

Estos criterios se utilizan para programar la producción, siendo el tiempo entre productos, el tiempo de residencia y la demora máxima, las tres medidas más estudiadas y aplicadas en literatura. Esto es debido a que estas son criterios que tratan de obtener el máximo desempeño de la planta, más que reducir los costos, ya que el problema más común es tener una planta instalada a la cual no se le pueden agregar más equipos por lo que corresponde optimizar el orden en el que se produce. Para entender la razón de porque se utilizan estos criterios, primero se debe entender la relación entre el diseño de planta, planificación de la producción y operación.

Antes de enfocarse en el problema de programación, se deben responder las siguientes:

- ¿Qué productos serán fabricados?
- ¿Cuál será la escala de producción?



- ¿Cómo se fabricarán los productos?
- ¿Qué instalaciones se proporcionarán?

Estas preguntas se abordan en la planificación y el diseño de las instalaciones. Una vez que las instalaciones físicas son fijas, y una vez que los precios y demandas del producto, y los costos de materiales, mano de obra y energía son impuestos externamente, tenemos que lidiar con la planificación y programación de la producción.

En la planificación de la producción estamos preocupados por la asignación de recursos de producción para satisfacer las demandas del mercado de productos durante un período prolongado de tiempo. Esta función es necesaria en un entorno multiproducto porque las cantidades y las fechas de vencimiento de los pedidos de productos no suelen coincidir con las tasas de producción de diseño promediado. Una de las funciones de la planificación de la producción es anticiparse a los cuellos de botella y asegurar una utilización eficiente de los recursos.

En la programación tratamos de responder a las preguntas de seguimiento en una escala de tiempo más corta:

- ¿Qué unidades se utilizarán para qué producto?
- ¿Qué orden se fabricarán los productos?
- ¿Cuándo tendrá lugar cada etapa de procesamiento?

En la práctica actual, la programación se realiza a menudo en un marco jerárquico en el que la planificación de la producción y la asignación de recursos se llevan a cabo en el nivel superior, mientras que la secuenciación de tareas y la programación se llevan a cabo en el nivel inferior. La descomposición a dos niveles se hace necesaria por la escala del problema computacional y por la escala temporal diferente, el alcance diferente y los diferentes tipos de información involucrados. Típicamente, el nivel de planificación de producción implicaría la producción y la minimización de costos de inventario.

Sin embargo, a nivel de programación, los costos a corto plazo son difíciles de aislar e identificar. Las medidas basadas en el desempeño se utilizan para guiar la toma de decisiones.

Para una mayor discusión de la relación entre planificación y programación de la producción, vea Ku, et al (1987), Scheduling in batch processes. CEP, 83 (8) 35-45. Y para estudios de sistemas y análisis de colas vea Gautam, Natarajan. (2012). Analysis of Queues Methods and Applications



## Metodología de Borzani.

La metodología desarrollada por Borzani en 1975 (Borzani, 2001) para dimensionar equipos de fermentación es un criterio simple, que se enfoca en volver la salida del proceso continuo aun cuando cada fermentación se trabaje como batch. Este enfoque se realiza con las siguientes consideraciones:

- A. Descarga continua del proceso independientemente de la operación por lotes de los fermentadores. Esto puede lograrse teniendo una batería de  $N_f$  fermentadores programados de tal manera que siempre uno de ellos esté descargando.
- B. Todos los fermentadores de producción son del mismo tamaño.
- C. En cada fermentador, el tiempo de descarga ( $t_D$ ) es igual al Tiempo de preparación ( $t_P$ ).
- D. El costo de los fermentadores puede ser representado por  $C_f = K_f \cdot V^a$ , donde  $K_f$  y  $a$  son constantes en el rango de volumen considerado.

Supongamos que una planta por lotes requiere producir  $M$  [kg/año], en una solución de  $C$  [kg/m<sup>3</sup>], con una eficiencia de  $\eta\%$  trabajando  $t_Y$  horas al año. Con esto se tiene que se requiere un flujo continuo de  $F$  [m<sup>3</sup>/h], que se calcula de la siguiente forma<sup>2</sup>:

$$F = \frac{M}{t_Y * C * \eta} \quad (13)$$

El tiempo que demore descargar cada lote es:

$$t_D = \frac{V_L}{F} \quad (14)$$

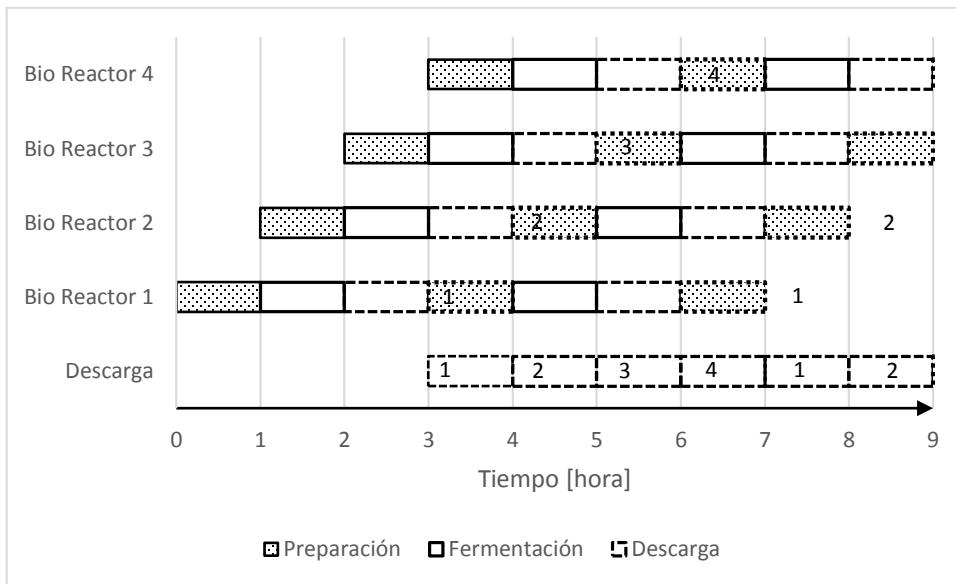
El tiempo de operación de un ciclo de un fermentador es igual a la suma del tiempo de preparación, fermentación y descarga:

$$t_B = t_P + t_F + t_D \quad (15)$$

Para que la operación se pueda ver como un continuo se debe cumplir que siempre haya un fermentador descargando, como se ve en la siguiente carta Gantt de ejemplo:

---

<sup>2</sup> Las Ecs. 13 a 32, son del método de Borzani, se encuentran en el Capítulo 9 de Biotecnología Industrial, 2001. W. Borzani.



Tiempos	Hora
Preparación	1
Fermentación	2
Descarga	1
Total	4

FIGURA 15 CARTA GANTT BORZANI.

Se puede apreciar que durante las primeras 3 horas del proceso no hay descarga ya que el primer bioreactor no ha terminado su proceso, pero una vez comenzadas las descargas, siempre que termina la descarga de un equipo comienza la de otro desde el Bio reactor 1 al 4 y una vez el bioreactor 4 termina de descargar el bioreactor 1 se encuentra listo para continuar, por lo que se puede ver la etapa de fermentación como una salida continua. Cabe decir que en este caso el tiempo de preparación y de descarga son iguales, y que a modo de ejemplo se utiliza un tiempo de fermentación muy corto en comparación a los casos industriales.

Se puede ver que:

$$N^{\circ} \text{ Bio Reactores} * t_{\text{descarga}} = t_{\text{preparación}} + t_{\text{fermentación}} + t_{\text{descarga}} \quad (16)$$

$$N^{\circ} \text{ Bio Reactores} = \frac{t_{\text{preparación}} + t_{\text{fermentación}} + t_{\text{descarga}}}{t_{\text{descarga}}} = \frac{t_{\text{lote}}}{t_{\text{descarga}}} \quad (17)$$

Sí

$$t_{\text{carga}} = t_{\text{descarga}} \quad (18)$$

Entonces:

$$N^{\circ} \text{ Bio Reactores} * t_{\text{descarga}} = 2 * t_{\text{descarga}} + t_{\text{fermentación}} \quad (19)$$

$$N^{\circ} \text{ Bio Reactores} = 2 * + \frac{t_{\text{fermentación}}}{t_{\text{descarga}}}; \rightarrow N^{\circ} \text{ Bio Reactores} \geq 3 \quad (20)$$



## Criterio de Optimización

### Caso 1:

Para determinar el número óptimo de bio-reactores en la planta de procesos se asume como función objetivo, minimizar la inversión en bio-reactores. Suponiendo que el número de bio-reactores no afecta en la inversión del resto de los equipos de la planta ni tampoco en los equipos auxiliares (fittings, bombas, etc).

Costo de un bio-reactor:

$$C_F = k * V^a; \quad a < 1 \quad (21)$$

El costo es proporcional al volumen  $V$  y dado que el exponente  $a$  es menor que 1 el costo por unidad de volumen es menor a mayor volumen, generándose una economía de escala.

La inversión en  $N$  bio-reactores será:

$$I = N^{\circ}_{fermentadores} * k * V^a \quad (22)$$

Para minimizar la inversión en función del número de fermentadores es necesario encontrar una expresión para el volumen en función del número de fermentadores. El volumen de cada fermentador es función del número de fermentadores que se vaya a instalar, disminuyendo a medida que se tengan más equipos. Se puede despejar una expresión de la ecuación (20)

$$t_{descarga} = \frac{t_{fermentación}}{N - 2} \quad (23)$$

Además se tiene que el volumen de líquido en el reactor es igual al flujo de descarga por el tiempo de descarga:

$$V_L = F * t_{descarga} \quad (24)$$

Reemplazando (23) en (24) se tiene:

$$V_L = F * \frac{t_{fermentación}}{N - 2} \quad (25)$$

Reemplazando la ec. (25) en la ec. (22) se obtiene:

$$I = N * k * \left( \frac{F * t_{fermentación}}{N - 2} \right)^a \quad (26)$$

Esta expresión es derivable pudiendo encontrarse su punto mínimo cuando cumpla las siguientes condiciones:

$$\frac{dI}{dN} = 0 \quad \wedge \quad \frac{d^2I}{dN^2} > 0 \quad (27)$$



Obteniéndose:

$$N_{critico} = \frac{2}{1-a} \quad (28)$$

$N_{critico}$  representa el número óptimo de fermentadores que minimiza la inversión si el único costo importante a considerar son los fermentadores. Un análisis más detallado debería incluir al menos el impacto que tiene el costo de bombas, calderas, tuberías y líneas de propagación. Es por ello que el método de Borzani subestima la inversión. Pero como primera aproximación permite estimar de forma rápida la inversión.

### Caso 2: Borzani Extendido. (Simpson et al, 2005)

Si en vez de considerar solo la inversión en reactores se considera optimizar la inversión total, se requiere incluir la inversión en equipos anexos tales como fitting, caldera y otros. La inversión en equipos auxiliares no depende del número de reactores.

$$I_{total}(N) = I_{Bio\ Reactores}(N) + I_{fitting}(N) + I_{caldera}(N) + I_{aux} \quad (29)$$

Inversión en Fitting y bombas es proporcional a la inversión en el equipo principal (Peter and Timmerhouse,1991) en este caso los fermentadores quedando como:

$$I_{fitting+bombas} = \varphi * I_{fermentadores} = \varphi * N * k * \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^a; \varphi < 1 \quad (30)$$

La inversión en caldera, es proporcional al intercambiador de calor que debe instalarse en el equipo, este es proporcional al tamaño del reactor por ende se tiene:

$$I_{caldera} = k_1 * (B)^b = k_1 * (k_B * V_L)^b = k_2 * V_L^b = k_2 * \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^b \quad (31)$$

Despejando las Ecs. (29),(30) y (31) se tiene

$$I_{total} = (1 + \varphi) * N * k * \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^a + k_2 * \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^b \quad (32)$$

Si se busca el mínimo de inversión, igualando a cero la primera derivada de la inversión respecto a N y la segunda derivada de la ecuación (32) es negativa respecto a N, se obtiene el número óptimo de reactores para este caso:

Obteniéndose:

$$\frac{dI_{total}}{dN} = (1 + \varphi) * k * \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^a * \left(1 - \frac{a}{N-2}\right) - \frac{k_2 * b}{N-2} \left(\frac{F * t_{fermentación}}{N-2}\right)^b = 0 \quad (33)$$



Esta expresión siendo más compleja que el caso 1 permite una mejor aproximación, pero sigue sin considerar la línea de propagación y un margen de error en caso de problemas operacionales, por lo que se puede tomar como una aproximación para el valor mínimo de reactores. Cabe mencionar que al agregar más términos el valor de fermentadores aumentó como mínimo en 1 ya que  $N$  es una variable discreta que solo toma valores enteros.





## Capítulo 3 Metodología

### Metodología basada en el máximo valor actual neto.

Proponemos la generalización del método de Borzani mediante la reducción de la restricción de que tiempo de descarga deba ser igual al tiempo de preparación y la ampliación del criterio de optimización de minimizar la inversión en fermentadores de producción a maximizar el valor actual neto de la inversión considerando los fermentadores de producción y propagación, caldera necesaria para generar vapor de esterilización. No se considerará el equipo de aguas abajo, ya que seguirá siendo el mismo para todas las alternativas.

Ahora tenemos que:

$$t_p = A * t_D \quad (34)$$

Donde A constante adimensional de proporcionalidad puede ser igual o mayor que uno. Tomando la ecuación (34) en consideración la ecuación (19) puede ser modificada a

$$N_R = \frac{t_B}{t_D} = 1 + \frac{t_F}{t_D} + A \quad (35)$$

Despejando de la ecuación (24) y (35) se tiene:

$$V_F = \frac{F * t_F}{(N_f - A - 1)} \quad (36)$$

#### 3.1 Inversión Total

La inversión total puede ser expresada como:

$$I = I_F + I_C + I_B + I_P \quad (37)$$

El costo de cada fermentador puede ser estimado de la Ec. (22)

$$I_F = N_F * K_F * V^\alpha \quad (38)$$

Considerando por razones de seguridad que el volumen del reactor es alfa veces el volumen líquido necesario, la inversión queda:

$$V = \alpha * V_L \quad (39)$$

$$I_F = N_F * K_F * (\alpha * V_L)^\alpha \quad (40)$$



Las etapas de propagación corresponden a la generación y propagación del inocular requerido para cada fermentación de gran escala y es considerado un factor de escalamiento (f.c.) que varía entre 10 a 25 entre una etapa y la siguiente. Así las  $n$  etapas de propagación de incremento de volumen son requeridas para obtener el inocular para el fermentador. Este número dependerá del volumen líquido del fermentador y el volumen del propagador inicial. Teniéndose que el número de etapas  $m$  se calcula como:

$$m = \frac{\log\left(\frac{V_F}{V_1}\right)}{\log(f.c.)} \quad (41)$$

Así el volumen líquido del propagador de la etapa  $i$  será:

$$V_i = V_{i-1} * f.c. \quad (42)$$

Siendo  $V_1$  el volumen del propagador inicial el cual varía entre 1 a 10 litros.

La cantidad de propagadores de la etapa  $i$ , para asegurar que el fermentador opere en forma continua y que su alimentación tenga espera cero es:

$$N_{P,i} = \frac{t_{BATCH,i}}{t_D^{MAX}} \quad (43)$$

Siendo  $t_D^{MAX}$  el tiempo de descarga de la etapa que quiere que su descarga sea continua, es decir que haya una espera cero entre un fermentador y otro. Para asegurar que el proceso tenga descarga continua se debe utilizar el tiempo de descarga más largo entre las etapas de propagación y fermentación.

El tiempo que toma el lote de la propagadora  $i$ , se calcula de igual forma que el tiempo del fermentador final.

$$t_{B,i} = t_{P,i} + t_{F,i} + t_{D,i} \quad (44)$$

$$t_{D,i} = \frac{V_i}{F} \quad (45)$$

$$t_{P,i} = A * t_{D,i} \quad (46)$$

A modo de ejemplo, supongamos que se tiene un proceso en dos etapas, ambos con igual capacidad de procesamiento, y la primera etapa tiene una descarga instantánea:



**TABLA 5 EJEMPLO TIEMPOS SINCRONIZACIÓN**

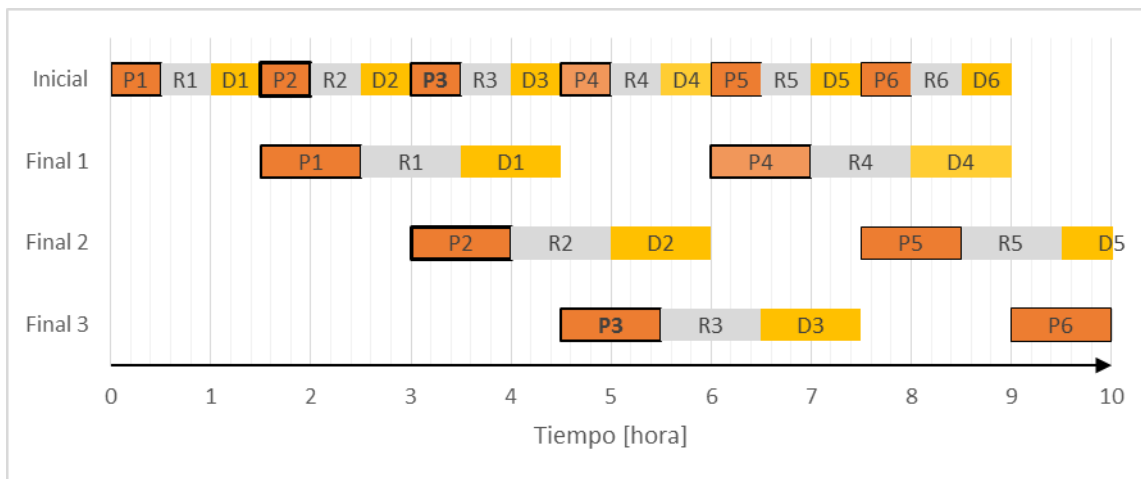
Proceso	Tiempo preparación $t_p$	Tiempo Reacción $t_R$	Tiempo Descarga $t_D$	Tiempo Lote $t_L$
Inicial	0,5	0,5	0	1
Final	1	2	1	3

Todos los tiempo en horas

Si para hacer el proceso continuo se hace la descarga de cada etapa continua usando la Ec. (17), se tiene el problema que en la etapa inicial se requieren infinitos equipos, mientras que la etapa final requiere de solo 4. Lo que implica que habrían equipos esperando a tener donde descargar o sin uso. Por ello para asegurar la continuidad del proceso y de que siempre haya un equipo descargando se utiliza la Ec. (43 entregando el siguiente resultado.

**TABLA 6 CALCULO DE N° DE REACTORES POR DISTINTOS MÉTODOS**

Proceso	N° Reactores descarga Continua	N° Reactores Proceso Continuo
	$\frac{t_{BATCH,i}}{t_{D,i}}$	$\frac{t_{BATCH,i}}{t_D^{MAX}}$
Inicial	#j DIV/0!	1
Final	3	3



**FIGURA 16 CARTA GANTT EJEMPLO SINCRONIZACIÓN**

Cabe mencionar que el número de equipos es un entero y que si el cálculo entrega un valor decimal se debe aproximar al entero superior. Si se supone un caso donde la descarga de la etapa inicial sea de 0,5 h se tiene:

TABLA 7 TIEMPOS EJEMPLO DE SINCRONIZACIÓN 2

Proceso	Tiempo preparación $t_p$	Tiempo Reacción $t_R$	Tiempo Descarga $t_D$	Tiempo Lote $t_L$	N° Reactores descarga Continua	N° Reactores Proceso Continuo
Inicial	0,5	0,5	0,5	1,5	3	1,5/1 =2
Final	1	1	1	3	3	3

Si en este caso se pusiera solo un equipo en la etapa inicial, se tendría la etapa inicial trabajando a tiempo completo mientras los equipos de la etapa final están con tiempo de espera entre medio lo que vuelve la descarga intermitente.

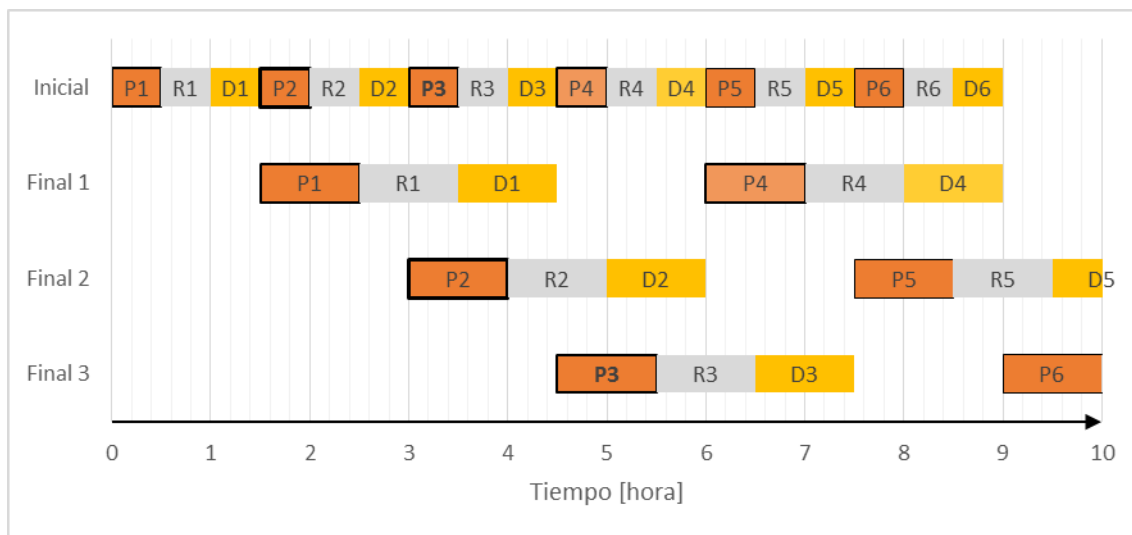


FIGURA 17 CARTA GANTT SINCRONIZACIÓN 2

Si se ponen dos equipos en la etapa inicial, se tendrá que dicha etapa tendrá tiempos muertos, pero la descarga del proceso será continua.

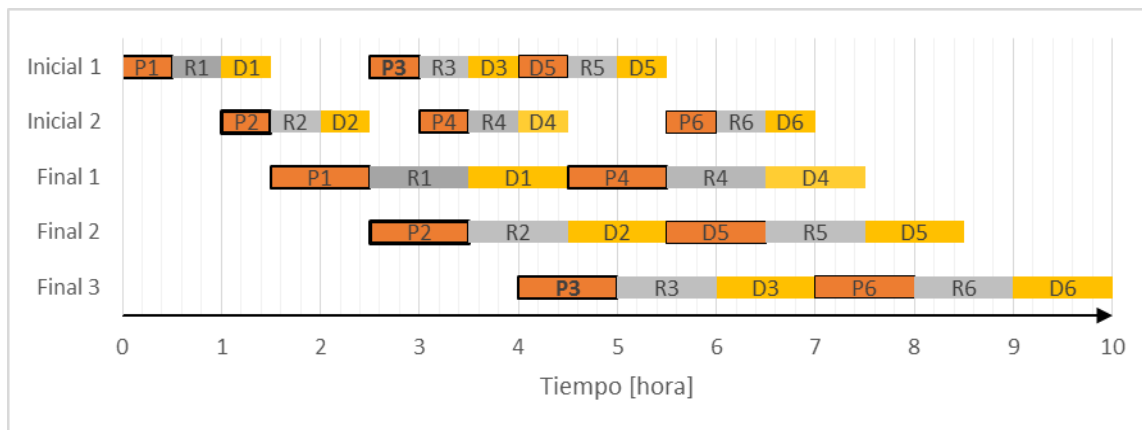


FIGURA 18 CARTA GANTT SINCRONIZACIÓN 3



El costo total de los propagadores dependerá del número de etapas y cantidad de propagadores en cada etapa.

De las Ec. (40), (41), (42) y (43) se obtienen la siguiente expresión:

$$I_P = \sum_{i=1}^m N_{P,i} * K_F * V_i^a \quad (47)$$

Los costos de conexión pueden ser expresados como una fracción del costo del fermentador y del propagador. Típicamente entre 0,1 y 0,3 (Peter and Timmerhouse, 1991)

$$I_C = \psi * (I_F + I_P) \quad 0 < \psi < 1 \quad (48)$$

El tamaño del intercambiador de calor, B, es proporcional al tamaño de cada fermentador, para que el tiempo en preparar cada fermentador sea igual en cada etapa.

$$B = \phi * V^\lambda \quad (49)$$

Luego el costo del intercambiador de calor puede ser expresado como:

$$I_B = K_B * B^b ; 0 < b < 1 \quad (50)$$

Reemplazando B en la Ec.

$$I_B = K_B * (\phi * V^\lambda)^b = K_b * f(V)^B \quad (51)$$

Usando las Ecs. (37), (40), (47), (48) y (50), se puede ver que la inversión total es una función del número de fermentadores, el tiempo de fermentación, el factor de escalamiento, la razón entre el tiempo de carga y descarga.

$$I_T = \left( N_F * K_F * (\alpha * V_L)^a + \sum_{i=1}^M N_{P,i} * K_F * V_i^a \right) * (1 + \psi) + K_B * f(V)^b \quad (52)$$

Como se puede ver en la Ec. (52), la inversión total es función del volumen en consecuencia es función directa del número de fermentadores, el tiempo de fermentación, la producción y el factor de escalamiento utilizado.

$$I_T = f(N_f, A, P, f.c.) \quad (53)$$



### 3.2 Utilidad y Valor Actual Neto (VAN).

El VAN está dado por el valor actual de las utilidades menos la inversión. La utilidad de un periodo puede ser calculada como

$$VAN = \sum_{j=1}^J \frac{\beta_j}{(1+i)^j} - I \quad (54)$$

El valor presente de la utilidad de  $j$  periodos puede ser calculada como:

$$\beta_j = F * t_Y * (P - C_P) \quad (55)$$

Considerando que la planta está trabajando a capacidad plena y el margen entre el precio de venta y el costo de producción se mantiene, se tiene que:

$$\beta_j = \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 \quad (56)$$

Llevando las utilidades a valor presente, utilizando una tasa de descuento  $i$ .

$$\beta_A = \sum_{j=1}^J \frac{\beta_j}{(1+i)^j} = K * \beta \quad (57)$$

Siendo  $K$  igual a:

$$K = \frac{(1+i)^J - 1}{i * (1+i)^J} \quad (58)$$

Se busca maximizar el VAN, en función del número de fermentadores. Para ello se deriva e iguala a cero, viéndose que:

$$VAN = f(N_f, A, f.c.) \quad (59)$$

$$\frac{dVAN}{dN_f} = 0 \quad (60)$$

Usando las Ecs. (54) y (60) se tiene:

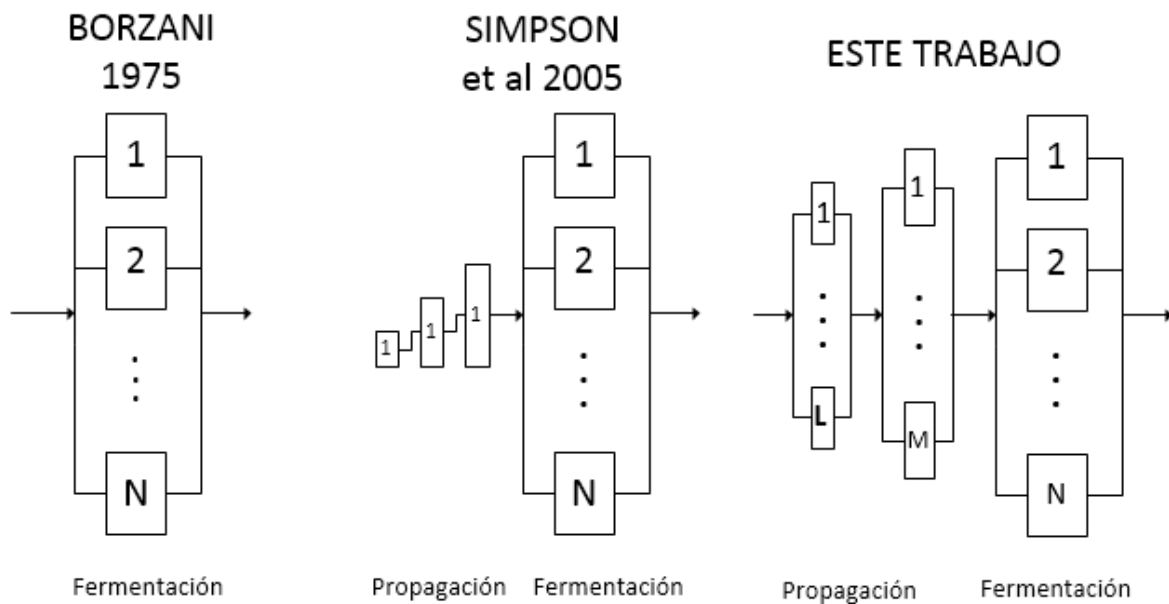
$$\frac{dVAN}{dN_f} = \frac{d\beta_A}{dN_f} - \frac{dI_T}{dN_f} = 0 \quad (61)$$

La ecuación (61) implica que maximizar el VAN es equivalente a minimizar la Inversión. Debido a que el número de fermentadores es una variable discreta, el valor de inversión mínima se puede encontrar gráficamente, variando el tiempo de fermentación ó la razón entre tiempo de preparación y carga ó el factor de escala ó la producción, y manteniendo los demás parámetros fijos.

A modo de resumen se tiene la siguiente tabla e Figura que comparan los distintos métodos

**TABLA 8 RESUMEN COMPARACIÓN DE PROCEDIMIENTOS**

Parámetro	Borzani 1975	Simpson et al 2005	Este trabajo
<b>Proceso</b>	Fermentación discontinua Proceso Continuo	Fermentación discontinua Proceso Continuo	Fermentación discontinua Proceso Continuo Espera Cero entre etapas.
<b>Relación Tiempo de preparación y Descarga A:</b>	No Considera	Valor entre 1 a 2	Entre 3 y 5
<b>Factor de Escalamiento</b>	No Considera	10	Entre 10 y 25
<b>Nº de Etapas de propagación</b>	No Considera	Mínimo	Mínimo
<b>Nº Línea de Propagación</b>	No Considera	1	Se obtiene del cálculo, criterio de continuidad Varía en cada etapa



**FIGURA 19 COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE DISEÑO DE PLANTAS LOTE**

El método de Borzani considera solo el fermentador en los costos y busca volver esta etapa del proceso continua, esto se debe a que Borzani, considera los fermentadores el punto crítico de la planta y lo cual es el cuello de botella del proceso, (en Brasil principalmente se fermentaba caña



de azúcar para obtener etanol para combustibles) En los años 70, la biotecnología estaba recién comenzando en Latinoamérica, y Brasil estaba comenzando su carrera para independizarse del petróleo fomentando campañas pro Alcohol, con lo que había un gran incentivo al desarrollo de destilerías, pero teniendo poco tiempo, técnicos especializados y capacidad de cálculo limitada, calcular el tamaño e inversión de la planta era una barrera a saltar, por lo que Borzani simplifica el cálculo en la inversión más grande (el fermentador) permitiéndole tener un buen punto de partida para comenzar a diseñar la planta a sabiendas de que está subestimada (Borzani, 1980). (Para más información de la historia de los biocombustibles en Brasil, lea “The Global Dynamics of Biofuels Potential Supply and Demand for etanol and BioDiesel in the coming decade” [http://web.archive.org/web/http://www.wilsoncenter.org/topics/pubs/Brazil SR e3.pdf](http://web.archive.org/web/http://www.wilsoncenter.org/topics/pubs/Brazil_SR_e3.pdf) )

Hace 12 años se extiende el método de Borzani (Simpson et al, 2005), agregando en las consideraciones la inversión en las líneas de propagación y flexibilizando la simplificación de que tiempos de preparación y descarga deben ser iguales. Esto permite una estimación más cercana a la inversión real al agregar junto con la inversión en la línea de propagación, la inversión en bombas, intercambiadores de calor y equipos auxiliares.

La metodología propuesta generaliza el método de Borzani al agregar que el procedimiento de cálculo entregue cuantos equipos se requieren en cada etapa de la propagación de forma tal que se asegure que el proceso mantenga su continuidad, y además flexibilizar más la razón de preparación y descarga, y sensibilizar respecto al factor de escala, tiempo de fermentación y producción para poder evaluar que tanto debe aumentar la inversión para tener una planta robusta frente a las fallas y variabilidades del proceso.

## Algoritmo de Cálculo de Sensibilidades

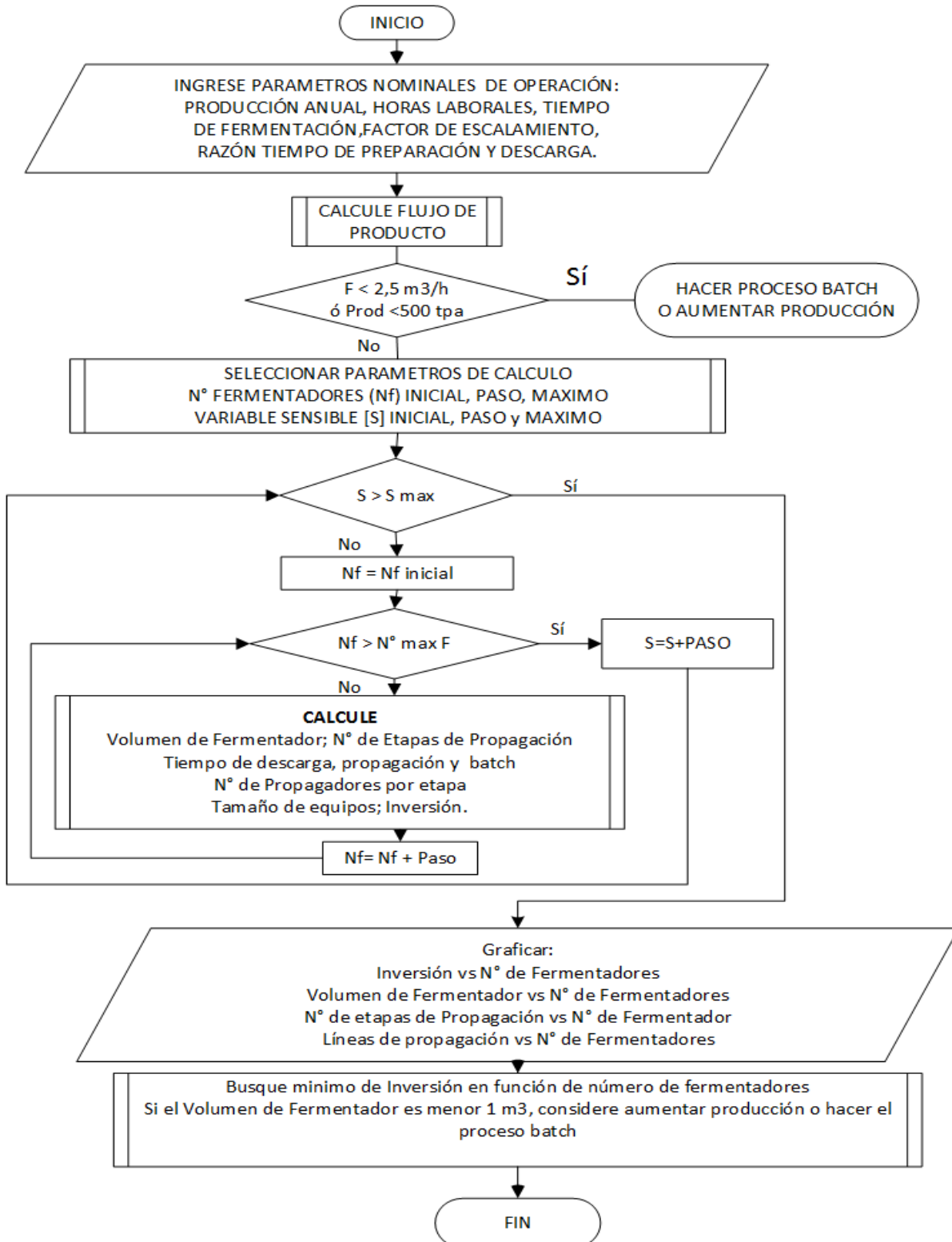


FIGURA 20 ALGORITMO PARA CÁLCULO DE SENSIBILIDADES



Para realizar los cálculos de las sensibilidades del método propuesto, se tiene el algoritmo de la Figura 20, en el cual se deben definir los parámetros nominales de la planta, con ello si la producción es bajo 500 toneladas por año se trabaja en lotes directamente y se termina el cálculo, en caso de una producción mayor se ingresa a la rutina de cálculo en la cual se selecciona una variable sensible y se le asigna un rango de valores para iniciar el cálculo iterativo. Una vez terminado el procedimiento se grafican los datos y procede a un análisis visual y comparativo del comportamiento de la inversión, volumen de fermentador, Líneas de propagación y número de etapas de propagación.

La sensibilización se considera para 4 variables:

1. Razón de tiempo de preparación y descarga
2. Tiempo de Fermentación
3. Factor de Escala
4. Producción.

El rango de cada una de ellas dependerá del producto y microorganismo a utilizar.

## Orden de cálculo

El orden de cálculo una vez ingresado los valores nominales de proceso y parámetros es:

**TABLA 9 ORDEN DE CÁLCULO**

Nº	Ítem	Modo de Calculo
1	Flujo de Salida	$F = \frac{M}{t_Y * C * \eta}$
2	Volumen Liquido de Fermentador	$V_L = \frac{F * t_F}{(N_f - A - 1)}$
3	Volumen Fermentador	$V_F = \alpha * V_L$
4	Nº de etapas de Propagación	$m = \frac{\log\left(\frac{V_F}{V_1}\right)}{\log(f.c.)}$
5	Volumen de Propagador de cada etapa	$V_i = V_{i-1} * f.c$
6	Tiempo de descarga de cada etapa	$t_{D,i} = \frac{V_i}{F}$
7	Tiempo de Preparación de cada etapa	$t_{P,i} = A * t_{D,i}$
8	Tiempo de cada etapa	$t_{B,i} = t_{P,i} + t_{F,i} + t_{D,i}$
9	Nº de Propagadores por etapa	$N_{P,i} = \frac{t_{BATCH,i}}{t_D^{MAX}}$
10	Tamaño de Intercambiador de calor de cada equipo.	$B_i = \phi * V_i^\lambda$
11	Inversión en Fermentadores	$I_F = N_F * K_F * (\alpha * V_L)^a$
12	Inversión en Propagadores	$I_P = \sum_{i=1}^m N_{P,i} * K_F * V_i^a$
13	Inversión en Intercambiador de calor	$I_B = \sum_{i=1}^m N_{P,i} * K_B * B_i^b$
14	Inversión en Fitting y otros	$I_C = \psi * (I_F + I_P)$
15	Inversión Total	$I_T = I_F + I_C + I_B + I_P$



## Nomenclatura.

**TABLA 10 NOMENCLATURA DE TRABAJO**

<b>Nomenclatura</b>		
$A$	Constante de proporcionalidad Ec.(34)	-
$\alpha$	Exponente de costo de reactores, Ec.(21)	-
$B$	Tamaño Intercambiador de calor	$m^3$
$b$	Exponente de costo, [-] Ec. 27	-
$C$	Concentración de Producto Ec.(13)	$kg/m^3$
$C_F$	Costo de Fermentador Ec.(21)	$\$/m^3$
$C_P$	Costo de Producto por $m^3$ de caldo	$\$/m^3$
$F$	Flujo por hora de caldo en la sección aguas abajo Ec. (13)	$m^3/h$
$f.c.$	Factor de Escalamiento Ec. (41)	-
$i$	Tasa de interés.	-
$I$	Inversión Total.	$\$$
$I_B$	Inversión en Intercambiador de calor.	$\$$
$I_C$	Inversión en cañería y conexiones.	$\$$
$I_P$	Inversión en propagadores.	$\$$
$I_F$	Inversión en fermentadores.	$\$$
$j$	Número de periodos. Ec. (54)	-
$K$	Constante de proporcionalidad, Ec. (21)	$\$/m^3$
$m$	Nº de etapas de propagación Ec. (41)	-
$M$	Masa de producto producido por año	ton/año
$N_{p,i}$	Número de propagadores de la etapa $i$	-
$N_f$	Número de fermentadores de producción	-
$N_f^*$	*Número óptimo de fermentadores.	-
$P$	Precio de venta por $m^3$ de caldo.	$\$/m^3$
$t_y$	Horas de operación por año. Ec. (13)	h
$t_d$	Tiempo de descarga del fermentador.	h
$t_D^{MAX}$	Tiempo de descarga máximo del proceso	h



$t_f$	Tiempo de fermentación.	h
$t_p$	Tiempo de preparación del lote.	h
$V_i$	Volumen del propagador de la etapa i. Ec.(42)	$m^3$
$V_f$	Volumen total de cada fermentador.	$m^3$
$V^*$	Volumen óptimo de cada fermentador	$m^3$
$V_L$	Volumen de líquido de cada fermentador	$m^3$
$V_p$	Volumen del propagador	$m^3$
$VAN$	Valor actual neto.	\$
<b><i>Símbolos griegos</i></b>		
$\alpha$	Constante de proporcionalidad, Ec. 16	-
$\beta_A$	Beneficio total Ec. (57)	\$
$\beta_j$	Beneficio del periodo j Ec. (55)	\$
$\eta$	Eficiencia de la recuperación del producto Ec. (13)	-
$\phi$	Constante de proporcionalidad, Ec. (49)	-
$\varphi$	Constante de proporcionalidad, Ec. (48)	-
$\lambda$	Exponente de costes, Ec. (49)	-





## Capítulo 4 Resultados y Discusión

### 4.1. Bases de diseño

La producción de lactasa de *Kluyveromyces fragilis* (también denominada *Kluyveromyces marxianus*) cultivada en suero de queso se considerará utilizando los datos de Ordenes y Ortega, 1995. La capacidad de la planta fue de  $1.252 \times 10^{11}$  IU de lactasa/año y la eficiencia total de las operaciones aguas abajo fue del 33%.

La actividad específica de la lactasa fue de 5000 UI/g de peso seco de células y la concentración máxima de células fue de 25 g /L.

Por lo que se produjeron  $3.794 \times 10^{11}$  (UI /año), equivalentes a  $3.035 \text{ [m}^3\text{/año]}$  de caldo de fermentado. Se considerará que la planta opera 24 horas de lunes a viernes, lo que es equivalente a 264 días/año, por lo que el flujo de la sección de salida es  $0.479 \text{ [m}^3\text{/h]}$ .

La Tabla 1 resume los valores de distintos parámetros utilizados para el cálculo de los costos.

**TABLA 11 PARÁMETROS DE CÁLCULO DE COSTOS**

Parámetro	Nomenclatura	Valor	Unidades
Concentración celular inicial	$X_0$	2.5	g/l
Concentración celular final	$X$	25	g/l
Tasa de crecimiento específica	$\mu_m$	0.37	h <sup>-1</sup>
Tiempo de fermentación	$t_F$	6.22	H
Caudal de caldo	$F$	0.479	[m <sup>3</sup> /h]
Volumen del inóculo del primer propagador	$V_0$	0.01	m <sup>3</sup>
Constante de proporcionalidad de la ecuación del costo del fermentador	$K_F$	12.025	US\$/m <sup>3</sup>
Exponente de la ecuación del costo del fermentador	$a$	0.5	[ - ]
Constante de proporcionalidad de la ecuación de costes de la caldera	$K_B$	42.4	US\$
Exponente de la ecuación de costes de la caldera	$b$	0.86	[ - ]
Constante de proporcionalidad de la ecuación del tamaño	$\phi$	231.43	[ - ]



de la caldera

Exponente de proporcionalidad de la ecuación del tamaño de la caldera	$\lambda$	0.697	[-]
Relación entre el fermentador total y el volumen de líquido	$\alpha$	1.2	[-]
Constante de proporcionalidad de la ecuación de coste de los accesorios	$\varphi$	0.12	[-]
Número de líneas de propagación	$N_p$	1	[-]

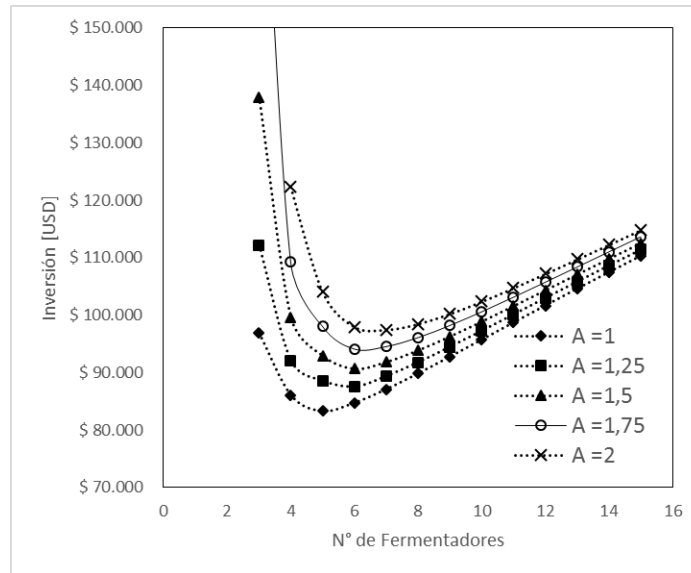
### Criterio 1. Método de Borzani Mínima Inversión en fermentadores

Usando los datos de la Tabla 11 y el método de Borzani se obtiene que el óptimo número de fermentadores son 4 unidades de 1.49 [m<sup>3</sup>] dando un costo estimado de 74.297 USD.

	Calculo	Valor para Caso estudio
Nº de reactores	$N_{\text{optimo}} = \frac{2}{1 - a}$	4
Volumen de reactor	$V_L = F * \frac{t_{\text{fermentación}}}{N - 2}$	1,49 [m3]
Inversión	$I = N * k * (V)^a$	74.297 [USD]

### Criterio 2 Método Extendido Maximizar VAN – minimizar inversión

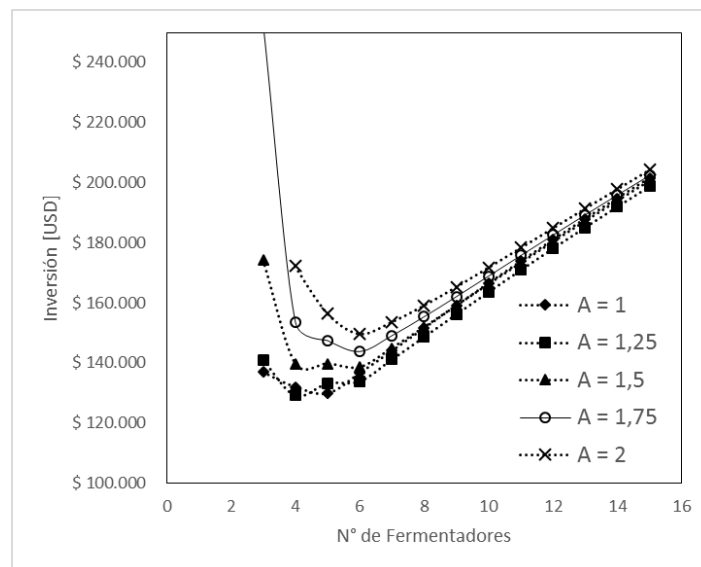
Usando los datos de la Tabla 11 y el método de extendido, se puede ver en la Figura 21 que el número óptimo de fermentadores que minimiza la inversión se ve afectado por la relación entre el tiempo de carga y preparación



**FIGURA 21 INVERSIÓN TOTAL COMO FUNCIÓN DEL NÚMERO DE FERMENTADORES Y LA RELACIÓN ENTRE EL TIEMPO DE PREPARACIÓN Y DESCARGA USANDO EL MÉTODO DE EXTENDIDO. 2005**

Se puede ver que el valor de inversión mínimo de cada curva aumenta junto con la razón de tiempo de carga y preparación, y que el valor óptimo de fermentadores, crece levemente.

Criterio 3 Método Propuesto Maximizar VAN – minimizar inversión.



**FIGURA 22 INVERSIÓN TOTAL COMO FUNCIÓN DEL NÚMERO DE FERMENTADORES Y LA RELACIÓN ENTRE EL TIEMPO DE PREPARACIÓN Y DESCARGA USANDO METODOLOGÍA PROPUESTA.**



Usando los datos de la Tabla 11 Parámetros de cálculo de costos y el método de propuesto, se puede ver en la Figura 22 que el valor de inversión mínimo de cada curva aumenta junto con la razón de tiempo de carga y preparación, y que el valor óptimo de fermentadores, crece levemente.

Se mantiene la curvatura en la inversión donde disminuye drásticamente en un principio hasta llegar al mínimo, y luego aumenta de forma lineal. Se presenta un cambio de curvatura alrededor del punto óptimo debido que en ese rango cambia el número de líneas de propagación lo que genera un cambio importante en la cantidad de equipos antes del fermentador.

Al comparar la inversión obtenida de cada método se ve que hay una diferencia aproximada de 50 mil dólares entre cada método, debido a que la cantidad de líneas de propagación en el método propuesto va cambiando según la cantidad de fermentadores para asegurar la continuidad del proceso, mientras que en el método de Simpson et al, dicho valor se estimó en 2 para todos los casos.

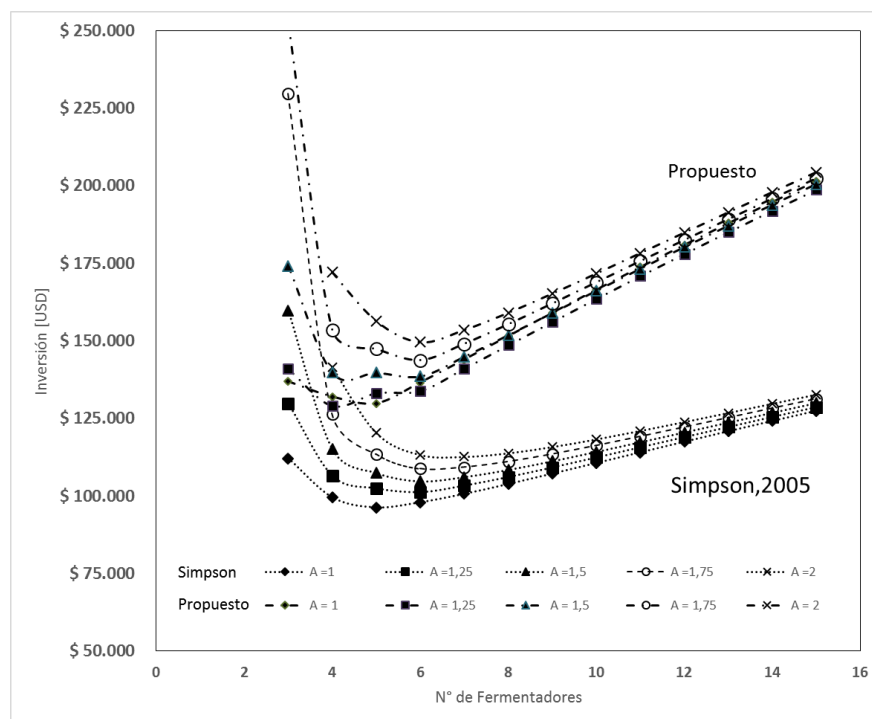


FIGURA 23 COMPARACIÓN MÉTODO DE SIMPSON ET AL Y PROPUESTO.

La Tabla 12 resume los resultados de cada método.



**TABLA 12 RESUMEN DE RESULTADOS DE OPTIMIZACIÓN USANDO CRITERIOS I, II Y III**

Parámetro	$N_F^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	Etapas de propagación	Líneas propagación	Inversión Total		
Criterio I Borzani							
	4	1,491	----	---	\$ 74.297		
Criterio II Simpson et al 2005							
A = 1,00	5	0,99	2	1	\$ 83.271		
A = 1,25	6	0,79	2	1	\$ 87.534		
A = 1,50	6	0,85	2	1	\$ 90.638		
A = 1,75	7	0,92	2	1	\$ 94.095		
A = 2,00	7	0,75	2	1	\$ 97.463		
Criterio III Este trabajo							
	Fermentación		1° Etapa de Propagación		2° Etapa de Propagación		Inversión Total
	$N_F^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	$N_P^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	$N_P^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	
A = 1,00	5	0,99	4	0,10	4	0,01	\$ 129.859
A = 1,25	4	1,70	2	0,17	2	0,02	\$ 129.159
A = 1,50	6	0,85	4	0,09	4	0,01	\$ 138.580
A = 1,75	6	0,92	4	0,09	4	0,01	\$ 143.789
A = 2,00	6	0,99	4	0,09	4	0,01	\$ 149.649

Fuente: Simpson et al, 2005 "A new methodology for the optimal design of batch fermentation plants"

La comparación anterior muestra que el método propuesto entrega un valor menos subestimado que el método de Simpson et al o Borzani. Se obtienen diferencias con el trabajo del 2005, debido a que en el trabajo actual se considera un número de líneas de propagación variable, mientras que el anterior solo consideraba 1. Aunque se encontraron valores óptimos distintos en inversión y número de fermentadores, se mantiene la tendencia en que la inversión crece con el aumento de la razón A.

## Sensibilidad

Se realiza un análisis de sensibilidad frente 4 parámetros, dos de diseño y dos de operación, en 5 niveles evaluando la variación en:

1. Inversión.
2. Volumen de fermentador final
3. Número de etapas de propagación
4. Número de líneas de propagación



Identificando tendencias y contrastando resultados, al ir variando un solo parámetro mientras los otros se mantienen en su valor nominal. Los resultados se muestran como una imagen con 4 gráficos a la vez, para facilitar la evaluación de tendencias.

Los parámetros a sensibilizar son:

N	Parámetro	Unidad	Sigla	Valor Nominal	Al sensibilizar		
					Valor Mínimo	Paso	Valor máximo
1	Factor de Escala	---	F.E.	10	10	5	30
2	Razón entre tiempo de preparación y descarga.	---	A	3	1	1	5
3	Tiempo de Fermentación	Hora	T.f.	6,2	6,2	3,1	18,6
4	Producción.	Ton/año	P.	76 100%	76 100%	15,2 20%	136,6 180%

Elaboración Propia

## 1. Sensibilidad al factor de escala

A mayor factor de escala, la inversión disminuye pero de forma marginal, mientras los demás parámetros se mantienen constantes, la diferencia se debe a la variación del tamaño del propagador intermedio, ya que el tamaño inicial es de 10 [L] por criterio y el tamaño del fermentador final se obtiene del cálculo. Las curvas de número de etapas de propagación en función del número de fermentadores se ven desplazadas y para factores de escala bajo 20, se requieren 3 etapas de propagación, mientras que para valores mayores con dos es suficiente. El número de etapas puede variar más aún si es que se define un propagador inicial más pequeño, pero no afectan al valor óptimo de inversión en más de un 2% aunque se disminuya en 90% el tamaño del propagador inicial.

En caso límite es usar un factor de escala muy grande, 100 por ejemplo, de tal forma que solo se requiera solo una etapa de propagador de 10 L y el fermentador final de 0,74 m<sup>3</sup>, luego de eso el factor de escala no afecta en nada al diseño, cabe mencionar que es un caso irreal y poco práctico pero se menciona para mostrar los límites del cálculo.

En base a los resultados se recomienda invertir en la planta para un factor de escala de 25 y utilizarlo para el factor óptimo que se encuentre durante la operación. Esto dará flexibilidad a la hora de producir, permitiendo variar el nivel en el que trabajan los reactores.

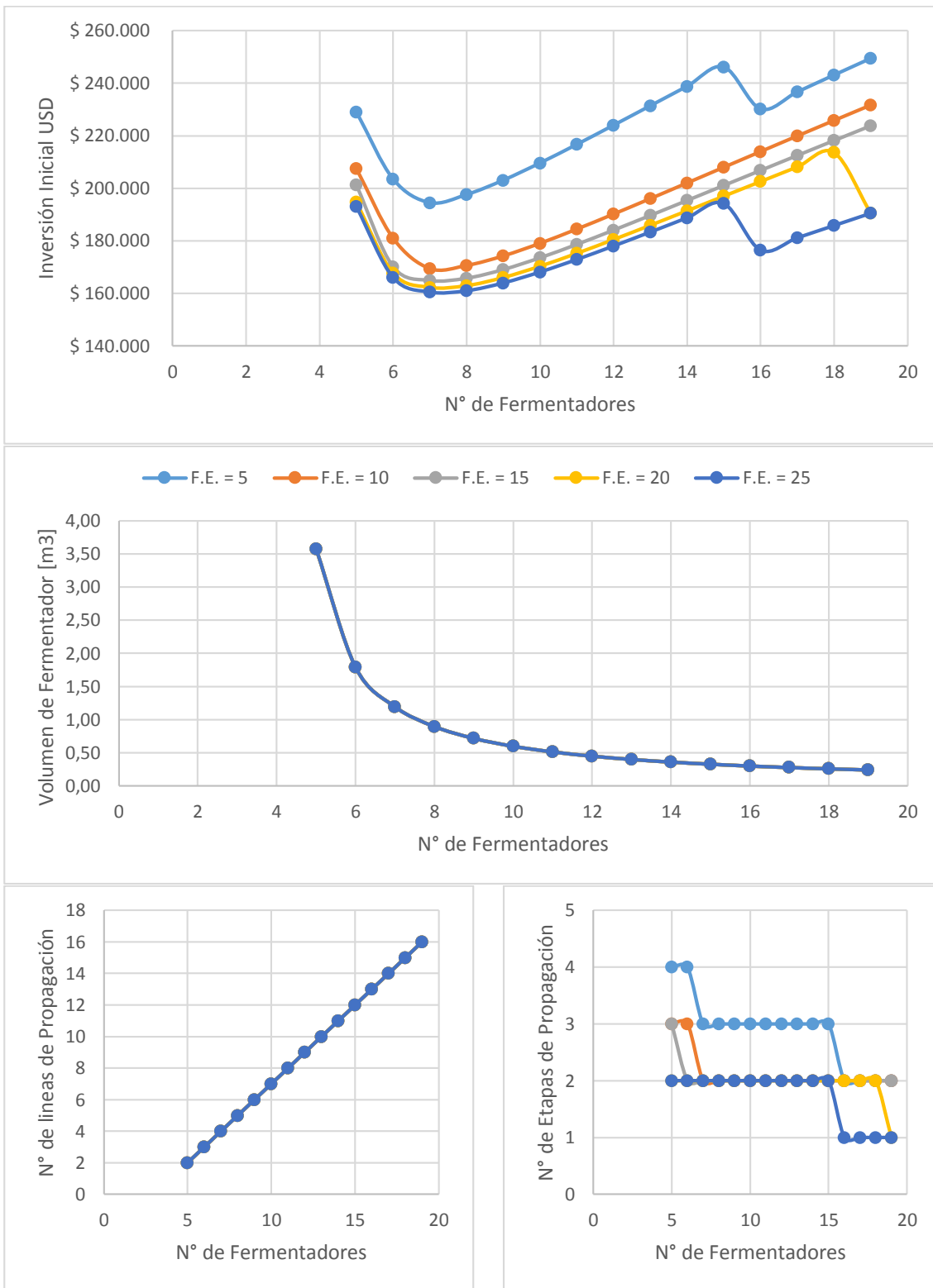


FIGURA 24 GRÁFICOS DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DEL FACTOR DE ESCALA



**TABLA 13 DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DEL FACTOR DE ESCALA**

Factor de Escala	Inversión [USD]	Fermentación		1° Etapa de Propagación		2° Etapa de Propagación		3° Etapa de Propagación	
		N <sub>F</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]
5	\$ 194.496	7	0,99	4	0,21	4	0,04	4	0,01
10	\$ 169.440	7	0,99	4	0,10	4	0,01	-	-
15	\$ 164.922	7	0,99	4	0,07	4	0,01	-	-
20	\$ 162.252	7	0,99	4	0,05	4	0,01	-	-
25	\$ 160.441	7	0,99	4	0,04	4	0,01	-	-
30	\$ 159.110	7	0,99	4	0,03	4	0,01	-	-
100	\$ 145.107	8	0,74	5	0,01	-	-	-	-

Elaboración Propia



## 2. Sensibilidad a la razón de tiempo de preparación y descarga

A mayor razón entre tiempo de preparación y descarga (A) el número de óptimo de fermentadores y el valor de inversión aumenta de forma considerable. Además se puede observar en la Figura 25 que el número de líneas de propagación aumenta con el número de fermentadores siguiendo una recta igual al N° de fermentadores menos el factor A.

Mientras las curvas de volumen del fermentador no varían en su forma, ni valores sino que se desplazan a la derecha debido a un aumento en la cantidad mínima de fermentadores desde la cual es viable hacer el proceso. Por otro lado las etapas de propagación no se ven afectada en sus valores óptimos, sino que varía en el rango de número de fermentadores en los cuales la inversión es alta y el volumen del reactor final es pequeño (menor a 1 m<sup>3</sup>) por lo que se considera inviable.

**TABLA 14 DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LA RAZÓN DE TIEMPO DE PREPARACIÓN Y TIEMPO DE DESCARGA**

$t_{preparación}$ $t_{descarga}$	Inversión [USD]	Fermentación		1° Etapa de Propagación		2° Etapa de Propagación	
		N <sub>F</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]
1	\$ 129.859	5	0,99	4	0,10	4	0,01
2	\$ 149.649	6	0,99	4	0,10	4	0,01
3	\$ 169.440	7	0,99	4	0,10	4	0,01
4	\$ 187.639	9	0,74	5	0,07	5	0,01
5	\$ 204.525	11	0,60	6	0,06	6	0,01

Elaboración Propia

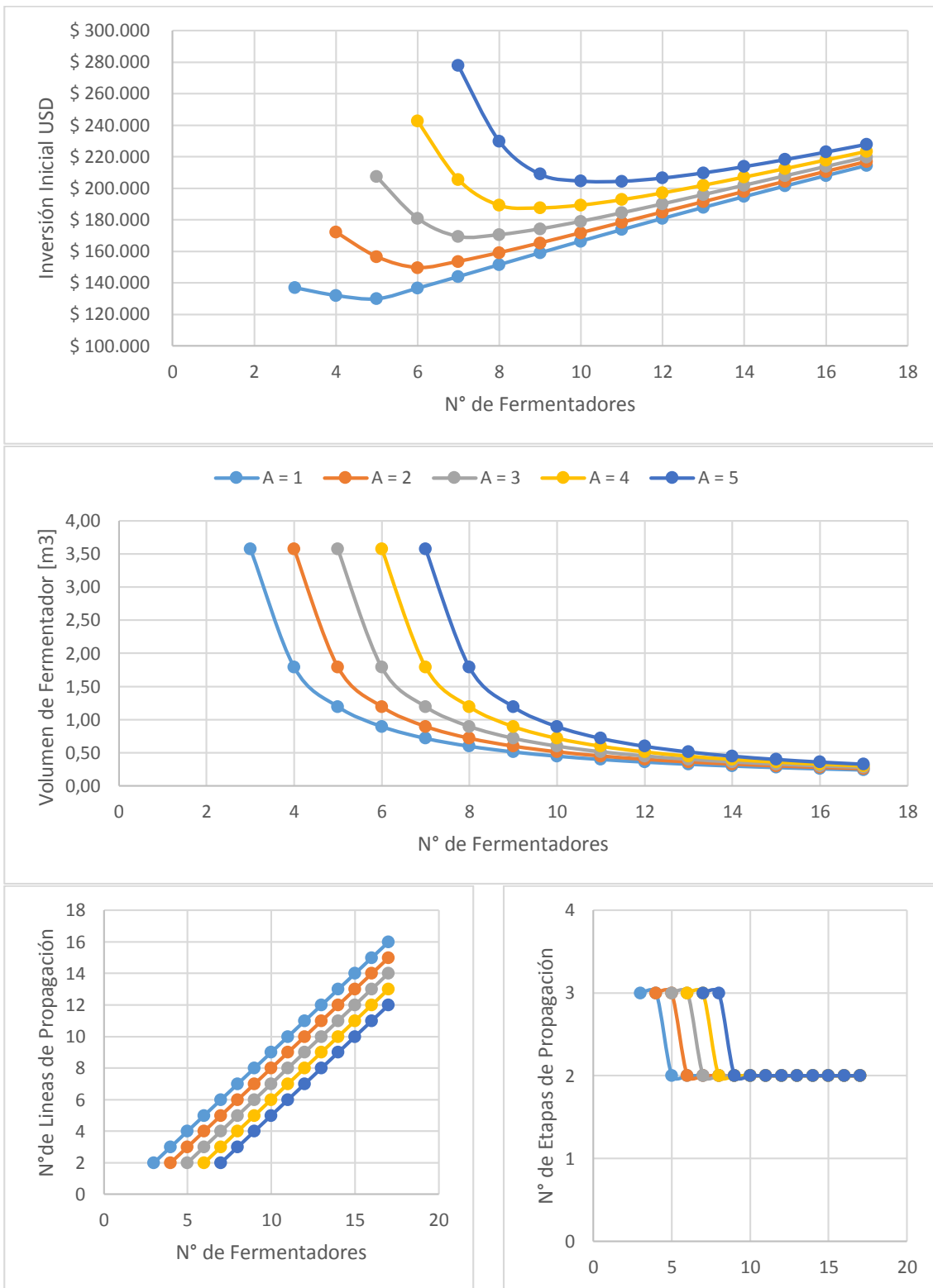


FIGURA 25 DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LA RAZÓN ENTRE TIEMPO DE PREPARACIÓN Y TIEMPO DE DESCARGA



### 3. Sensibilidad a las horas de fermentación.

Este factor en el diseño se considera como un parámetro dado para el microorganismo y tipo de bioproceso dado. Para el caso de *Kluyveromyces fragilis*, dependiendo del sustrato (suero de leche, queso, leche, otros) la fermentación puede durar desde 5 hasta 40 horas, por lo que es un factor de diseño importante de saber con precisión. De un punto de vista operativo sensibilizar este parámetro permite evaluar el margen necesario en los equipos considerando que la fermentación no ocurra de igual forma en escala industrial como funcionaba en laboratorio o entre un lote y otro.

En el caso del procesamiento de suero de leche, este proceso dura entre 6 horas (Simpson et al 2005) y 16 horas<sup>3</sup>. Por lo que al evaluar en ese rango se ve que la inversión aumenta de forma casi proporcional sin mover el número óptimo de fermentadores entre 7 y 8, y el número de líneas de propagación entre 4 y 5. Las curvas de volumen de fermentador suben de manera proporcional al aumento de horas de fermentación, pero el valor óptimo es una combinación de los distintos factores, por lo que no es una relación directa, se puede decir que tiende al alza con el aumento del tiempo de fermentación. Mientras la curva de número de líneas de propagación no varía con las horas de fermentación y mantiene la forma que el número de líneas es igual al número de fermentadores menos la razón entre tiempo de preparación y descarga.

Las horas de fermentación se observan como un factor muy relevante en la inversión y operación por lo que se recomienda invertir en aumentar la certeza de este valor en las condiciones de operación más cercana a lo real antes de invertir en los equipos finales, para no quedar con equipos de sobra, o de un tamaño menor.

---

<sup>3</sup> Lukondeh, T., Ashbolt, N.J. & Rogers P.L. J IND MICROBIOL BIOTECHNOL (2005) 32: 284. doi:10.1007/s10295-005-0245-y

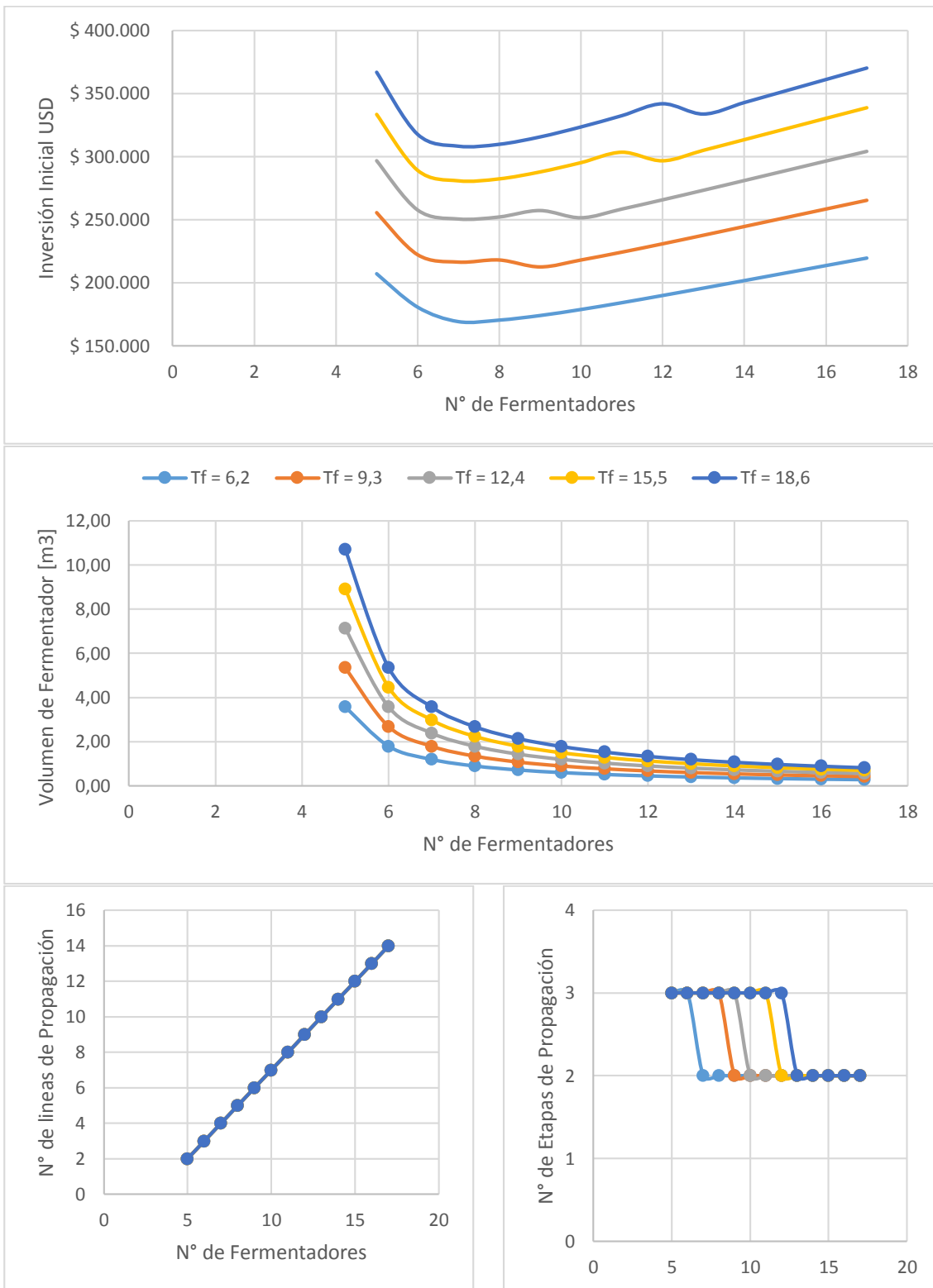


FIGURA 26 DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LAS HORAS DE FERMENTACIÓN



TABLA 15 VALORES ÓPTIMOS DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LAS HORAS DE FERMENTACIÓN.

Tiempo de Fermentación [h]	Inversión [USD]	Fermentación		1° Etapa de Propagación		2° Etapa de Propagación		3° Etapa de Propagación	
		$N_F^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	$N_P^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	$N_P^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]	$N_P^*$	$V_L$ [m <sup>3</sup> ]
6,2	\$ 169.165	7	0,99	4	0,10	4	0,01	-	-
9,3	\$ 212.638	9	0,89	6	0,09	6	0,01	-	-
12,4	\$ 250.611	7	1,98	4	0,20	4	0,02	4	0,01
15,5	\$ 280.938	7	2,48	4	0,25	4	0,02	4	0,01
18,6	\$ 308.522	7	2,97	4	0,30	4	0,03	4	0,01

Elaboración Propia

#### 4. Sensibilidad a la producción.

Este factor en el diseño se considera como un parámetro dado por el estudio de mercado y las proyecciones de consumo, sin embargo utilizando este método se puede evaluar de un punto de vista operativo cuanto margen en los equipos es necesario considerando que la eficiencia de la fermentación no ocurra de igual forma en escala industrial como funcionaba en laboratorio.

Para ello se simuló un incremento de la producción de un 80% en 4 pasos de 20%, notando que el valor optimo va aumentando hasta el 80% con un máximo de 9 fermentadores, luego este valor se estanca en 7 fermentadores hasta llegar a una producción de 10 veces la original. (no se incluye valor en grafico por claridad en el gráfico). Esto quiere decir que en temas de cantidad de equipos y por ende de superficie de las instalaciones, las soluciones óptimas son estables al aumento en la producción, debido a que el aumento en volumen no afecta en la superficie a utilizar considerando que el reactor se puede hacer más alto.

El grafico presenta anomalías entre 6 y 10 fermentadores debido a que en ese rango está el cambio en el número de etapas de propagación lo cual hace variar la inversión como un escalón, para luego comportarse como una recta.

Se recomienda para este caso comprar equipos considerando una producción de hasta 160% (antes de que cambie la cantidad de fermentadores), debido a que es la misma cantidad de



equipos, con holgura para operar y que la inversión aumenta solo en 30%.

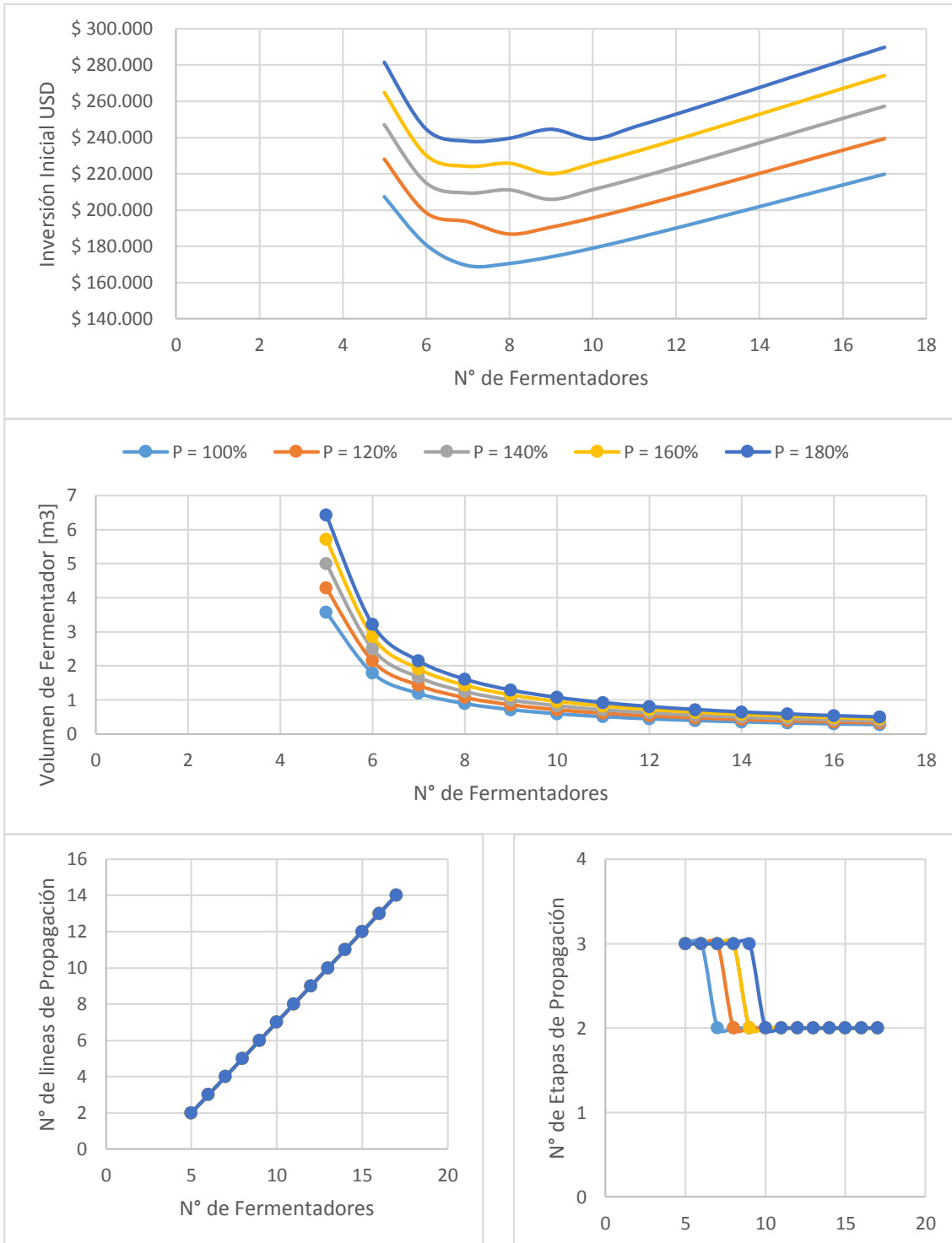


FIGURA 27 DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LA PRODUCCIÓN.



**TABLA 16 VALORES ÓPTIMOS DISEÑO DE PLANTA EN FUNCIÓN DE LA PRODUCCIÓN.**

Producción [%]	Producción [TPA]	Inversión [USD]	Fermentación		1° Etapa de Propagación		2° Etapa de Propagación		3° Etapa de Propagación	
			N <sub>F</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]	N <sub>P</sub> *	V <sub>L</sub> [m <sup>3</sup> ]
100%	75,9	\$ 169.440	7	1,19	4	0,12	4	0,01	-	-
120%	91,1	\$ 186.845	8	1,07	5	0,11	5	0,01	-	-
140%	106,2	\$ 205.792	9	1,00	6	0,10	6	0,01	-	-
160%	121,4	\$ 219.944	9	1,14	6	0,11	6	0,01	-	-
180%	136,6	\$ 237.881	7	2,15	4	0,21	4	0,02	4	0,01
1000%	758,7	\$ 577.137	7	11,92	4	1,19	4	0,11	4	0,01
1020%	774,0	\$ 583.888	8	9,12	5	0,91	5	0,09	5	0,01

Elaboración Propia



## Resumen Análisis de Resultados

Al aumentar el rango de sensibilidad de la razón de preparación y descarga a entre 1 y 5, se observa que aumenta la cantidad mínima de fermentadores para que el proceso pueda tener un flujo de salida continuo, y que la inversión y cantidad óptima de fermentadores aumenta. Además se observó que la cantidad de líneas de propagación para asegurar un proceso continuo es igual a la cantidad de fermentadores menos la razón de preparación y descarga.

Al sensibilizar respecto al factor de escalamiento, se observa que trabajar con un factor bajo 10 incrementa la inversión en gran manera, mientras que entre 10 y 25 la variación es despreciable por lo que se recomienda comprar los equipos para el factor de escala de 25 y operar según sea lo más estable

Al sensibilizar respecto a la producción el valor óptimo de fermentadores no varía y la inversión y tamaño de equipos aumenta de forma proporcional sin alterar la forma de las curvas.

Al sensibilizar respecto al tiempo de fermentación se observó que aunque el número óptimo de fermentadores no varía, si lo hace el volumen necesario del fermentador, por lo que se recomienda invertir considerando el mayor tiempo de fermentación.



## Capítulo 5 Conclusiones y Recomendaciones

Nuestro resultado muestra que el método de Borzani, siendo simple entrega un resultado inicial cercano al número óptimo de fermentadores, pero subestimando la inversión en gran medida, debido a que no considera el costo de la línea de propagación, equipo auxiliar ni las condiciones mínimas para asegurar un proceso continuo junto con el supuesto de tiempos de preparación y descarga iguales, por lo que su uso se limita a una estimación inicial del número y volumen de equipos, pudiendo llegar a duplicarse en el peor de los casos.

El método propuesto entrega valores óptimos de equipos levemente superior y un mayor detalle del número de equipos que el método de Simpson et al y Borzani, debido a que considera la cantidad de propagadores y el número de etapas de propagación variable.

Además se observó la tendencia de que el sistema aun teniendo grados de libertad para colocar distintos números de equipos en cada etapa de propagación, entregó de resultado que todas las etapas de propagación tienen el mismo número de propagadores siendo este igual a la cantidad de fermentadores menos la razón de tiempo de preparación y descarga.

Por otro lado, el método propuesto siendo más complejo, permite sensibilizar el modelo frente a la razón de preparación y descarga, factor de escalamiento y horas de fermentación, mostrando que no presenta ningún efecto en la inversión ni el número de equipos usar un factor de escala mayor a 25, debido a que el tamaño del fermentador está definido por la producción por lo que seguir aumentando el factor de escala es solo reducir el tamaño de los propagadores iniciales hasta llegar al punto de tener un inóculo inicial y el fermentador final.

Otra conclusión obtenida de sensibilizar las horas de fermentación es que se debe invertir en tener una precisión en el tiempo de fermentación, debido a que su efecto en el tamaño de los propagadores. De la sensibilidad frente a la razón de preparación y descarga ( $A$ ), la variación entre inversiones de mayor razón de preparación y descarga es de un 10% por cada unidad que aumenta  $A$ , por lo que se considerando una planta que operará con  $A$  igual a 3, invertir un 20% más y elegir la de  $A$  igual a 5, lo que da una mayor robustez al proceso, holgura operacional y capacidad de aumentar la producción en un futuro.



## Futuras Investigaciones

Siguiendo la línea de simulación de operaciones de bioreactores, se podría continuar programando un método de simulación evalúen distintas combinaciones de planta (N° de líneas, etapas de propagación, tamaños de plata y factor de escalamiento) en el cual se considere además de la inversión, volumen de equipos y líneas de propagación, el tiempo de utilización de los equipos para evaluar que tanta holgura se tiene en cada línea y que tan necesario es tener un respaldo de cada equipo.

Otra opción es considerar dentro de los costos, en función de la cantidad de equipos, la cantidad de operadores y el horario de producción.



## Bibliografía.

### Papers

Al-Shabibi, M. M. A., & Younis, N. A. J. (1984). Fermentation of Whey Filtrate by *Kluyveromyces fragilis*: the Effect on Cell Lipids. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 17(2), 117–120.

Barbosa-Póvoa, A. P. (2007). A critical review on the design and retrofit of batch plants. *Computers & Chemical Engineering*, 31(7), 833–855.

Borzani, W. (1980). The ethanol based economy—the Brazilian experiment. In *Future Sources of Organic Raw Materials: CHEMRAWN I* (pp. 495–511).

Cavin, L., Fischer, U., & Moř, A. (2005). Batch process optimization in a multipurpose plant using Tabu Search with a design-space diversification, 29, 1770–1786.

Cavin, L., Fischer, U., Glover, F., & Hungerbühler, K. (2004). Multi-objective process design in multi-purpose batch plants using a Tabu Search optimization algorithm, 28, 459–478.

Chen, K.-C., Lee, T.-C., & Houn, J.-Y. (1992). Search method for the optimal medium for the production of lactase by *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 14(8), 659–664.

Coelho Sampaio, F., da Conceição Saraiva, T. L., Dumont de Lima e Silva, G., Teles de Faria, J., Grijó Pitangui, C., Aliakbarian, B., Converti, A. (2016). Batch growth of *Kluyveromyces lactis* cells from deproteinized whey: Response surface methodology versus Artificial neural network—Genetic algorithm approach. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 305–311.

Demain, A. L. (2012). The business of biotechnology, 3(3), 269–283.

Dietz, A., Aguilar-lasserre, A., Azzaro-pantel, C., Pibouleau, L., & Domenech, S. (2008). A fuzzy multiobjective algorithm for multiproduct batch plant : Application to protein production, 32, 292–306.

Dietz, A., Pibouleau, L., & Domenech, S. (2007). Optimal design of batch plants under economic and ecological considerations : Application to a biochemical batch plant, 46, 109–123.



Dietz, A., Pibouleau, L., & Domenech, S. (2008). Strategies for multiobjective genetic algorithm development : Application to optimal batch plant design in process systems engineering, 54, 539–569.

Duran-Villalobos, C. A., Lennox, B., & Lauri, D. (2016). Multivariate batch to batch optimisation of fermentation processes incorporating validity constraints, 46, 34–42.

Fumero, Y., Moreno, M. S., Corsano, G., & Montagna, J. M. (2016). A multiproduct batch plant design model incorporating production planning and scheduling decisions under a multiperiod scenario, 40, 3498–3515.

Junker, B. H. (2004). Scale-Up Methodologies for Escherichia coli and Yeast Fermentation Processes, 97(6), 347–364.

Kalk, J.O., Langlykke, A.F., Cost estimation for biotechnological projects, in: A.L. Demain, N.A. Solomon (Eds.), Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1986, pp. 363–385.

Karuppiyah, R., & Grossmann, I. E. (2008). Global optimization of multiscenario mixed integer nonlinear programming models arising in the synthesis of integrated water networks under uncertainty, 32, 145–160.

Kondili, E., Shah, N., & Pantelides, C. C. (1993). Production planning for the rational use of energy in multiproduct continuous plants. *Computers & Chemical Engineering*, 17, S123–S128.

Lukondeh, T., Ashbolt, N. J., & Rogers, P. L. (2005). Fed-batch fermentation for production of *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 cultivated on a lactose-based medium. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 32(7), 284–288.

Mo, A., Cavin, L., Fischer, U., & Hungerb, K. (2008). Multiobjective optimization of multipurpose batch plants using superequipment class concept, 32, 512–529.

Möllers, K., Cannella, D., Jørgensen, H., & Frigaard, N.-U. (2014). Cyanobacterial biomass as carbohydrate and nutrient feedstock for bioethanol production by yeast fermentation. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 64.



Moreno, M. S., Montagna, J. M., & Iribarren, O. A. (2007). Multiperiod optimization for the design and planning of multiproduct batch plants, 31, 1159–1173.

Mošat, A., Fischer, U., & Hungerbühler, K. (2007). Multiobjective batch process design aiming at robust performances, 62, 6015–6031.

Nagao, N., Matsuyama, T., Yamamoto, H., & Toda, T. (2003). A novel hybrid system of solid state and submerged fermentation with recycle for organic solid waste treatment. *Process Biochemistry*, 39(1), 37–43.

Ordenes, C., Ortega, M., Thesis, School of Biochemical Engineering, Catholic University of Valparaiso, 1995, 430 pp.

Özilgen, M., Ollis, D. F., & Ogrydziak, D. (1988). Kinetics of batch fermentations with *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 10(3), 165–172.

Padín, C. Díaz, M. (2009). Lactoserum alcoholic fermentation by *Kluyveromyces marxianus* and organic solvents extractants. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*; 29 110-116

Ramirez, A. Rivas, N (2003), Producción y caracterización parcial de b-galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* propagada en suero de leche desproteínizado. ISSN 0004-0622

Reklaitis, G.V., Overview of scheduling and planning of batch process operations, in: G.V. Reklaitis, A.K. Sunol, D.W. Rippin, O. Hortacsu (Eds.), *Batch Processing System Engineering*, Springer, Berlin, 1996, pp. 660–705.

Rippin, D. W. T. (1993). Batch process systems engineering: A retrospective and prospective review. *Computers & Chemical Engineering*, 17, S1–S13.

Simpson, R., Almonacid, S., & Teixeira, A. (2003). Optimization criteria for batch retort battery design and operation in food canning plants. *Journal of Food Process Engineering*, 25(6), 515–538.

Simpson, R., Astudillo, C., & Acevedo, F. (2005). A new methodology for the optimal design of batch fermentation plants. *Biochemical Engineering Journal*, 27(2), 155–160.

Tello, P., Vergara, G., Thesis, School of Biochemical Engineering, Catholic University of Valparaiso, 2001, 367 pp.



Watson, J., Woodruff, D. L., & Strip, D. R. (2008). Progressive Hedging Innovations for a Class of Stochastic Resource Allocation Problems, 1–27.

Yoshida, H., Araki, K., & Kawai, M. (1988). Production of lactase by mutants of *Kluyveromyces lactis*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52(4), 951–955.

Yuan, J., Liu, C., Zhang, X., Xie, J., Feng, E., Yin, H., & Xiu, Z. (2016). Optimal control of a batch fermentation process with nonlinear time-delay and free terminal time and cost sensitivity constraint. *Journal of Process Control*, 44, 41–52.

Zhang, Z. (2008). Multiobjective optimization immune algorithm in dynamic environments and its application to greenhouse control, 8, 959–971.

## Libros

Brown, C.M.; Campbell, I; Priest, F.G. *Introduction to Biotechnology*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987. p .57.

Blakebrough, N. *Industrial Fermentations*. In: Blakebrough, N. *Biochemical and Biological Engineering Science*. Nova York, Academic Press, 1967. v. 1, p.25-8.

Borzani, W., Lima, U., Aquarone, E. (2001), *Biotecnología Industrial, Volumen Engenharia Bioquímica*, Chapter 9 *Fermentacao descontinua*, Blucher Editores, Sao Paulo, pp. 200-204.

Douglas, J. (1988). *Conceptual Design of Chemical Processes*. Chapter 4, McGraw-Hill

Gautam, N. (2012). *Analysis of Queues Methods and Applications*. Chapter 1

Mah, Richard S.H. (1989) *Chemical process structures and information flows*. Chapter 5 and 6

Reisman, H.B.,(1988), *Economic Analysis of Fermentation Processes*, CRC Press, Boca Raton, FL, Chapter 1.

Peters, M., Timmerhaus K, (1991) *Plant design and economics for chemical engineers*, Chapter 6

Simpson R., *Optimizing batch processing*, in: P. Richardson (Ed.), *Improving Thermal Processing*, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 2004, Chapter 4.



Scott, H. Vennema, C. (2006) Elements of Chemical Reaction Engineering Fourth Edition. Chapter 4.

Watson, J., Woodruff, D. L., & Strip, D. R. (2008). Progressive Hedging Innovations for a Class of Stochastic Resource Allocation.

