



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org

20330

PROGRAMA REGIONAL DE BIOTECNOLOGIA PARA AMERICA LATINA Y EL CARIBE
PNUD/UNESCO/ONU DI DP/RLA/83/003
Contrato 89/88

PROYECTO
DEGRADACION ENZIMATICA DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES
SEXTO INFORME E INFORME FINAL

Presentado por el Responsable Peruano
MARCEL GUTIERREZ-CORREA
Laboratorio de Micología y Biotecnología
Universidad Nacional Agraria La Molina

I N D I C E

I.	Introducción.....	1
II.	Resumen del Quinto Informe	
	2.1. Efectos del pretratamiento alcalino.....	2
	2.2. Cultivo semisólido en microfermentadores...	2
	2.3. Programa de Mutagénesis.....	2
	2.4. Pruebas mecánicas del prototipo.....	2
	2.5. Modificaciones al prototipo.....	2
	2.6. Visita del responsable peruano del proyecto a Chile.....	3
III.	Cultivo semisólido en microfermentadores	
	3.1. Estandarización del sistema.....	4
	3.2. Cinética de microfermentadores.....	6
	3.3. Otros experimentos.....	8
IV.	Programa de Mutagénesis.....	9
V.	Inicio de las pruebas de fermentación en el prototipo	
	5.1. Análisis del proceso para control.....	10
	5.2. Prueba de fermentación.....	32
VI.	Envío de dos técnicos peruanos a Chile.....	34
VII.	Otras actividades no programadas	
	7.1. Tesis.....	35
	7.2. Publicaciones.....	36
VIII.	Conclusiones.....	36

I. INTRODUCCION

Como parte del Programa Regional de Biotecnología para América Latina y el Caribe, el Proyecto "Degradación enzimática de Residuos Agro-industriales" (DP/RLA/83/003) ha sido ejecutado por Chile, Perú y Venezuela.

El presente documento corresponde al Sexto Informe de Avance e Informe Final del segundo año, y contiene las actividades pendientes solicitadas en los Términos de Referencia del Contrato 89/88.

Las actividades encomendadas a Perú en el segundo año (Contrato 89/88) incluyen: análisis de los efectos del pretratamiento alcalino del bagacillo (Actividad B), experimentos de cultivo semisólido a nivel de microfermentadores (Actividad C; C.1, C.2, C.3), continuación del programa de mutagénesis (Actividad D), pruebas de operación del prototipo (Actividad E), implementación de modificaciones en el prototipo (Actividad F), inicio de las pruebas de comportamiento fermentativo del prototipo (Actividad G), visita del responsable peruano del proyecto a Chile (Actividad H), envío de dos técnicos peruanos a Chile (Actividades I y J). Conforme a lo presentado en el Quinto Informe de Avance (Primero del segundo año), las actividades pendientes de informar son: Actividad C.2, C.3, Actividad G y Actividades I y J.

II. RESUMEN DEL QUINTO INFORME

2.1. Efectos del pretratamiento alcalino (Actividad B)

Se realizó una investigación más detallada sobre el efecto de los álcalis (soda y cal) en la delignificación del bagacillo. Se emplearon concentraciones de soda entre (g/g) 0.025 y 0.2 y de cal (g/g) entre 0.0025 y 0.05 a temperaturas de 90° y 121°C por 20 minutos daba lugar a una DEIV (digestibilidad enzimática in vitro) superior al 60%. El efecto de la cal fue pobre en todos los casos.

En una Adenda al Quinto Informe, se presentó un análisis económico sobre el uso de la soda en el pretratamiento (0.2 g/g) del bagacillo para ser usado éste como materia prima en fermentaciones, tomando como comparativo el precio del azúcar. El resultado indicó que la soda participa en el acondicionamiento del bagacillo, favorablemente, siendo entre 4.09 a 6.40 más barato que el azúcar.

2.2. Cultivo semisólido en microfermentadores (Actividad C)

2.2.1. Montaje y puesta en marcha de la Unidad de Microfermentadores (Actividad C.1)

Esta parte consistió en la fabricación de los microfermentadores de columna tipo Raimbault hechos en vidrio y constituyendo dos baterías de 12 microfermentadores cada una (ver lámina 4 del Quinto Informe).

2.3. Programa de Mutagénesis (Actividad D)

Se continuó con el programa de mutagénesis iniciado desde el primer año del proyecto a partir de la cepa *T. reesei* LM-UC4 y utilizando Etil-metano-sulfonato (EMS) al 5%, a una dosis de sobrevivencia de 10%. La temperatura de cribado fue de 41°C. Para el cribado secundario se desarrolló una técnica cuantitativa a la cual se le ha denominado "Técnica del Disco de Agar" (Juscamaita, Tengerdy & Gutiérrez-Correa, BIOTA, 1993). La técnica permite seleccionar rápidamente cepas termotolerantes con celulasas termotolerantes e insensibles a inhibición por glucosa. La cepa *T. reesei* LM-1 es la que presentó mejores características, por lo que continúa siendo utilizada.

2.4. Pruebas mecánicas del prototipo (Actividad E)

El prototipo fue probado en todos los aspectos mecánicos incluyendo estabilidad de los sellos, eficiencia de agitación, eficiencia de esterilización, eliminación de condensados y otros anexos. Como consecuencia se realizaron algunas modificaciones al diseño original.

2.5. Modificaciones al prototipo (Actividad F)

Por consideraciones prácticas se incluyeron dos

visores circulares tipo brida en la tapa en lugar de uno sólo rectangular. Se modificaron las pendientes de las tuberías para un mejor drenaje de los condensados. Debido a la baja presión de agua en La Molina, se diseñó y construyó un tanque de alimentación de agua para el generador de vapor para que suministre 3 h de operación continua (12 L) a un máximo de 200 psi. Debido a que sólo se pudo conseguir en el mercado nacional un motor de 2HP de corriente alterna monofásico y de 1800 rpm, se diseñó primero un sistema de poleas para reducir la velocidad a 5 rpm y, luego un regulador electrónico de velocidad que permite operar el motor entre 1 a 5 rpm en forma variable.

2.6. Visita del responsable peruano del proyecto a Chile (Actividades H y M)

El responsable peruano del proyecto viajó a la ciudad de Valparaíso, Chile, donde se realizó una reunión de coordinación en la Escuela de Ingeniería Bioquímica (Universidad Católica de Valparaíso) los días 15 al 17 de octubre de 1990. Se observó el desarrollo del prototipo y de los microfermentadores. Así mismo, se analizaron los avances del proyecto y se estableció el plan de trabajo para el tercer año.

III. CULTIVO SEMISOLIDO EN MICROFERMENTADORES (Actividades C.2 y C.3)

3.1. Estandarización del sistema (Actividad C.2).

3.1.1. Estandarización del inóculo

Para la estandarización del inóculo se tomó en cuenta la utilización de esporas o de micelio y se trabajó según el siguiente protocolo.

A. Protocolo

A.1. Cepas: *T. reesei* LM-UC4 y LM-1, mantenidas en agar papa glucosa (PDA, Difco).

A.2. Esporas: A partir de cuñas de PDA esporuladas se realiza una suspensión de esporas en una solución de Tween 80 al 0.01%. Se empleó una dosis de 2×10^7 esporas/g de sustrato.

A.3. Micelio: El micelio se produce a partir de esporas (ver A.2) en cultivo sumergido en agitación a 200 rpm, 30°C por 3 días. El medio de cultivo utilizado contiene las sales de Reese y Mandels sin sulfato de amonio ni úrea, con la inclusión de Tween 80, 0.1%; glicerol, 0.1%; peptona, 0.2%; bagacillo pretretado, 0.4%, y 2×10^7 esporas.

A.4. Sustrato: El bagacillo (0.5 - 2 mm) pretratado con soda fue llevado a una tasa C:N de 10:1 utilizando sales de R & M y sulfato de amonio y se esterilizó a 121°C por 20 minutos.

A.5. Inoculación: El sustrato estéril fue mezclado asépticamente con el inóculo (esporas o micelio) de tal forma de tener una humedad de 75%. La concentración de micelio se varió entre 1%, 1.5% y 2% (p/p). A cada columna se le agregó 5 g aprox. de sustrato inoculado.

A.6. Incubación: Las baterías de microfermen-

tadores cargados fueron incubadas a 30°C.

A.7. Evaluación: Periódicamente se realizaron las siguientes evaluaciones: Celulasa total (actividad de papel de filtro, APF), endoglucanasa (EGasa), β -glucosidasa (β Gasa), Xilanas (X asa), proteínas solubles utilizando la técnica de Bradford [Bradford, M.M., Anal. Biochem. 72:248 (1976)], biomasa considerándola como 2.5 veces el contenido de proteína miceliar (ésta es evaluada por la técnica de Bradford después de extracción por 2.5 h en hidróxido de sodio [Snyder, J.C. & S.L. Desborough, Theor. Appl. Genet. 52:135 (1978)]). APF, EGasa y Xasa fueron evaluadas convencionalmente (ver informes anteriores). β Gasa fue evaluada usando como sustrato del p-nitrofenil- β -D-Glucopiranosido, correspondiendo 1 UI de β Gasa como la cantidad de enzima que libera 1 μ mol de p-nitrofenol por minuto [Kubicek, C.P., Can. J. Microbiol. 29:163 (1983)].

B. Resultados

La mejor producción de enzimas celulolíticas se obtuvo cuando el sustrato fue inoculado con micelio. La inoculación con esporas produjo una fase lag muy larga (96 h) y los niveles máximos de enzimas fueron sensiblemente menores a los obtenidos con micelio y en mayor tiempo (entre 168 h y 192 h). Si bien se obtuvo una mejor producción de enzimas usando micelio al 2% (p/p), ésta no fue significativamente diferente de la obtenida con micelio al 1.5% (p/p), siendo los tiempos de máxima producción similares (entre 72 h y 96 h). Por estos resultados se consideró la inoculación con micelio al 1.5% (p/p).

3.1.2. Estandarización del medio

A. Protocolo

El protocolo seguido es esencialmente el mostrado anteriormente (ver 3.1.1.A), excepto que se incluyó también una formulación del sustrato con N orgánico utilizando torta de soya (0.83 g/g bag), pero manteniendo la tasa C:N en 10:1.

B. Resultados

En la estandarización del medio se realizaron comparaciones cinéticas en microfermentadores utilizando las cepas *T. reesei* LM-UC4 y LM-1. Como se mencionó anteriormente el inóculo utilizado fue micelio al 1.5% (p/p). En las figuras 1 a 3 se presentan las cinéticas de producción de APF, EGasa y β Gasa, respectivamente, en medio suplementado con sulfato de amonio. Con las dos cepas el pH descendió al segundo día a 2.8 - 3.0 y se mantuvo en esos niveles hasta el término de la fermentación. Con la cepa LM-UC4 los máximos de producción de enzimas se obtuvieron a las 72h, mientras que con la cepa LM-1 éstos fueron a las 96h. Sin embargo, la cepa LM-1 produjo títulos enzimáticos entre 20% (β Gasa y EGasa) y 100% (APF) superiores a los producidos por la cepa LM-UC4.

Los mismos experimentos anteriores fueron realizados suplementando el medio con torta de soya como fuente de N orgánico. En este caso el pH se mantuvo en el rango neutro en las dos cepas. En general los títulos enzimáticos fueron superiores a los producidos en medio con N mineral. La APF se incrementó en un 70% (LM-UC4) a 56% (LM-1), la EGasa entre 285% (LM-1) y 300% (LM-UC4), y la β Gasa entre un 53% (LM-1) y 63% (LM-UC4). Las cinéticas de producción de APF, EGasa y β Gasa en medio con N orgánico se presentan en las Figuras 4 a 6. Como en el caso anterior los niveles de enzimas producidas por la cepa LM-1 fueron superiores a los de la cepa LM-UC4. Sin embargo, los niveles de β Gasa y EGasa fueron sólo 10% superiores, mientras que los de APF fueron 70%. Estas diferencias serían explicadas considerando que uno de los efectos de la mutagénesis en la cepa LM-1 ha sido un incremento en la síntesis y/o secreción de celobiohidrolasa. Esta hipótesis está siendo investigada electroforéticamente en nuestro laboratorio.

Con el objeto de abaratar los costos de un posible proceso industrial, se realizaron otras formulaciones del medio en lo referente a la fuente nitrogenada. Se encontró que utilizando como fuente de N una mezcla de sulfato de amonio y úrea en una relación 2:1 y manteniendo la tasa C:N 10:1 se obtuvieron valores de producción de enzimas equivalentes a los obtenidos con torta de soya, por lo que en adelante se utilizó esta última formulación.

3.2. Cinética de microfermentadores (Actividad C.3)

A. Protocolo

Esencialmente se siguió el protocolo presentado anteriormente (ver 3.1.1.A). El inóculo utilizado

como estándar fue micelio al 1.5% (p/p). Se utilizó el medio con N mineral optimizado (sulfato de amonio: úrea, 2:1).

B. Resultados

Como en los experimentos de estandarización del medio de fermentación (3.1.2), se compararon cinéticamente a las cepas *T. reesei* LM-UC4 (mutante parental) y LM-1 (descendiente). A diferencia de los medios anteriores el pH tuvo un comportamiento más favorable. El pH descendió a 4.3 - 4.9 a las 72 h y luego se elevó hasta el término de la fermentación a 6.6 - 6.8 (Figura 14).

La cinética de producción de APF en medio mineral optimizado se presenta en la Figura 7. El nivel máximo de APF alcanzado por la cepa LM-1 (14.6 UI/g seco de sustrato inicial) fue 56% superior al de la cepa LM-UC4 (10.7 UI/g.i.). En ambos casos la máxima producción de APF fue a las 120 h. Con la cepa LM-1 las producciones máximas de EGasa (76.2 UI/g.i.) y de BGasa (13.98 UI/g.i.) fueron sólo 11% superiores que las de LM-UC4 (67 UI/g.i. y 12.64 UI/g.i., respectivamente); estos resultados se presentan en las Figuras 8 y 9. En relación a la producción de Xasa, la cepa LM-UC4 fue mejor productora (478 UI/g.i.) que la cepa LM-1 (381 UI/g.i.) como se muestra en la Figura 10.

La producción de proteínas solubles siguió el mismo comportamiento que para APF, EGasa y Xasa; es decir, el máximo de producción ocurrió a las 120 h (LM-UC4 = 6.5 mg/g.i.; LM-1 = 8.25 mg/g.i.), tal como se muestra en la Figura 11. Este mismo comportamiento fue encontrado para la producción de biomasa fúngica (Figura 12). El crecimiento de ambas cepas fue básicamente similar. La metodología empleada en este caso (ver 3.1.1 A.7) dio resultados comparables a los empleados anteriormente (proteína verdadera por microkjeldahl de masa fermentada precipitada con TCA), siendo el método más rápido, reproducible y barato.

Comparando los niveles de enzimas celulolíticos obtenidos en bagacillo con los obtenidos por el grupo Chileno en cozeta de remolacha, los nuestros son aparentemente menores. En una revisión de la metodología de expresión de resultados de actividad enzimática, se encuentra que éstas se evalúan y expresan en base a la cantidad de nuestra procesada (peso seco del momento), lo que da lugar a actividades mayores puesto que no se considera la cantidad de sustrato consumidos por crecimiento. En la Figura 13 se muestran los porcentajes de sustrato consumido a través del tiempo de fermentación. Se puede observar que al término de la fermentación se consume algo más del 70% del sustrato (más del 85% de la celulosa y hemicelulosa). Siguiendo la misma metodología que el grupo Chileno, se reportan en las Figuras 15 y 16 las cinéticas de producción de enzimas de las cepas LM-UC4 y LM-1, respectivamente. Los niveles de actividad enzimática así evaluados son muy superiores a los reportados

para *T. aureoviride* por el grupo Chileno.

La cepa LM-1 resultó ser mejor productora de celulasas que su parental LM-UC4 en todos los aspectos. En términos de productividad volumétrica de APF, la cepa LM-1 (17,850 UI m⁻³ h⁻¹) es 100% superior a la cepa LM-UC4 (8,820 UI m⁻³ h⁻¹).

3.3. Otros experimentos

3.3.1. Fermentación mixta en sustrato sólido

Se han realizado una serie de experimentos para estudiar los efectos en la cinética de producción de enzimas celulolíticas en forma mixta entre *T. reesei* LM-UC4 y *Aspergillus phoenicis* QM329 en bagacillo con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno (medio no optimizado). Utilizando inóculo miceliar de ambos hongos (2% para UC4 al inicio y 1% para QM329 48 h después) se encontró que la producción de las enzimas se incrementaba entre 3 veces (APF) y 4 veces (BGasa), tal como se muestra en la Figura 17. Estos resultados han sido enviados a publicación [Dueñas, R; R. P. Tenderdy & M. Gutiérrez-Correa, World J. Microbiol. Biotechnol., 1993 presentado]. Estos experimentos se han continuado incluyendo la cepa LM-1 y *A. niger* en bagacillo con medio orgánico y medio mineral optimizado. Aunque los resultados se encuentran en evaluación, parece ser que el éxito de una fermentación sólida mixta es dependiente de las cepas involucradas y de la riqueza (o balance) del medio.

3.3.2. Caracterización de celulasas procedentes a FSS.

Durante el estudio de los patrones electroforéticos de celulasas producidas por las cepas LM-UC4 y LM-1, se encontró que había una diferencia sustancial entre los patrones obtenidos con celulasas procedentes de fermentación sólida y los procedentes de fermentación sumergida. En la Lámina 1 se presenta como ejemplo los patrones de EGasa, Xasa y Proteínas solubles de la cepa LM-1 obtenidos por fermentación sumergida y fermentación sólida de bagacillo con N orgánico. Al parecer, existe la formación de agregados poliméricos desde muy temprano en la FSS, mientras que en la FS se empiezan a producir al final de la fermentación. Estos agregados poseen una muy alta actividad específica con actividades de APF, EGasa y Xasa. Los primeros resultados se enviarán a publicación prontamente [Ramos, R., L. Portal, P. Moreno, R.P. Tengerdy & M. Gutiérrez-Correa, Biotechnol. Lett.]. Estos estudios continúan y se evaluará la presencia de agregados por microscopía electrónica.

IV. PROGRAMA DE MUTAGENESIS (Actividad D)

Como fue mencioando en el acápite II, este programa fue iniciado desde el primer año. En el Quinto Informe se reportó ampliamente lo desarrollado al respecto. La cepa seleccionada fue *T. reesei* LM-1 por su mejor termotolerancia. En los experimentos de fermentación en sustrato sólido utilizando esta cepa, se encontró que a 32°C los niveles de enzimas eran similares a los obtenidos a 30°C, mientras que la cepa parental disminuía sus niveles de producción a un 70 - 80%. Cuando se realizaron fermentaciones a 35°C, la cepa LM-1 disminuyó sus niveles de producción a sólo 80-90%, mientras que la cepa LM-UC4 tuvo una disminución drástica a 40 - 50%. En la Figura 18 se muestran los resultados comparativos entre las dos cepas y a las dos temperaturas. Es notaria la termotolerancia de la cepa seleccionada LM-1. Nuevas cepas continúan siendo probadas para termotolerancia productiva a temperaturas superiores.

V. INICIO DE LAS PRUEBAS DE FERMENTACION EN EL PROTOTIPO (Actividad G)

Uno de los aspectos fundamentales del proyecto ha sido el diseño y construcción de un prototipo de biorreactor de fermentación en sustrato sólido. El diseño completo de nuestro prototipo se presentó en el Segundo Informe (características, ecuaciones y planos) y las pruebas mecánicas y modificaciones al diseño se presentaron en el Quinto Informe. Ahora se presentan el programa inicial de control automático y una prueba de fermentación con la cepa *T. reesei* LM-1.

5.1. Análisis de proceso para control

MODELAMIENTO MATEMATICO EN REACTOR SSF.-

Se describe las ecuaciones de balance de masa y energía para el proceso.

Efecto de la actividad del agua en el SSF.-

Estudios realizados por B. Dale et al. en fermentación de pajilla de trigo mdte. *Chaetomium cellulolyticum* demostraron que el cambio en la actividad del agua durante esta fermentación es casi nulo. Con todo, sabemos que el nivel de agua en este proceso es crucial. Por lo tanto, se concluye que no es el estado termodinámico del agua lo que importa aquí (equilibrio humedad en sustrato-humedad del aire en el reactor), sino más bien la humedad en el sustrato. El concepto es aquí forzar evaporación de agua para remover el calor metabólico, reemplazando al mismo tiempo el agua evaporada según se necesite.

VARIABLES Y NOMENCLATURA :

HA	Humedad absoluta del aire (g agua/g aire seco)
F	Flujo másico total (g/hr)
F _A	Flujo aire seco (g/hr)
F _w	Flujo agua _(L) (g/hr)
F _v	Flujo agua _(V) (g/hr)
F _{CO2}	Flujo CO ₂ (g/hr)
T	Temperatura (°C)
T _{AMB}	Temperatura exterior (del ambiente/alrededores) (°C)
H	Entalpía (cal/g)
h _o	Coefficiente de transferencia calorífica (cal/m ² -hr-°C)
C _p	Calor específico (cal/g-°C)
M _s	Materia seca fermentada (g)
M _w	Masa de agua _(L) (g)
M _v	Masa de agua _(V) (g)
M _T	M _s + M _w
Q _{METAB}	Calor metabólico (cal/g-hr)
A	Area superficie externa de reactor (m ²)
L	Calor latente de vaporización/condensación (cal/g)
X	Concentración de biomasa (g/g materia seca)
MX	Biomasa (masa de microorganismos) (g)

Subíndices :

AMB de los alrededores
 S masa seca (sustrato seco)
 A aire
 w agua_(L)
 v agua_(V)
 1 línea 1 (entrada aire/agua_(V))
 2 línea 2 (entrada agua_(L))
 2B línea 2B (entrada aire aspersion. No se considera en cálculo)
 3 línea 3 (salida)
 SP set point

LINEA	DESCRIPCION	ESTADO	FLUJO (l/min)
1	Entrada de aire/vapor de agua	V/G	0.67 (80% hum.) 1.00 (70% hum.)
2A	Entrada agua _(L)	L	(según control)
2B	Entrada aire para aspersion	G	(según control)
3	Salida (aire, agua, CO ₂ , ...)	V/G	...
5	Aire seco	G	0.67-1.00
6	Aire seco a humidificador	G	≈ 0.47-0.70
7	Aire seco a reactor	G	(según control)
8	Aire húmedo a reactor	V/G	0.67-1.00
9	Aire húmedo a reactor	V/G	0.67-1.00
10	Agua _(L) a generador vapor	L	(según control)
11	Agua _(V) a reactor	V/G	(según control)

Ver GRAFICO 1

Generación metabólica y acumulación.-

En una primera instancia, basados en cálculos de S. Sugama/N. Okazaki, se puede asumir una razón de consumo de O₂ aprox. igual a la de generación de CO₂. Y para efectos de un balance de masa para el análisis de la relación entre las variables manipulables en

control (funciones de transferencia), se puede considerar despreciable.

Otras expresiones :

$$r_{O_2} = \frac{dO_{2(G)}}{dt} = \text{velocidad consumo de } O_2 \approx 0 \quad (\text{ver más abajo})$$

$$r_{wM} = \frac{dm_{wM(G)}}{dt} = \text{razón generación de agua por metabolismo (reacción homogénea)}$$
$$\approx 0$$

$$r_{CO_2} = \frac{dm_{CO_2(G)}}{dt} = \text{razón generación de } CO_2$$

$$\frac{d(M_w + M_v)}{dt} = \text{veloc. acumulación de agua (Kg/hr)}$$

Además, sabemos que :

$$F_{v1} = F_{A1}HA_1$$

$$F_{v3} = F_{A4}HA_3$$

Balance de masa/energía .-
Condiciones de asunción previa:

- Las líneas 2 y 3 normalmente deben estar cerradas, y sólo se abren momentáneamente para regular alguna variable del proceso en el sistema de control. Por ello, en principio sólo hay una entrada y una salida.
- En el balance de energía se desprecia la producida por el trabajo de corte y agitación realizado por el agitador.
- La generación de agua por metabolismo es despreciable, así como su coeficiente de mantenimiento.
- El proceso es semicontinuo (hay una masa sólida en lote, pero un flujo de aire/vapor/ CO_2 continuo).
- La tasa de consumo de O_2 por los microorganismos para efectos de balance de masa es despreciable.
- En la línea 3 (abierta), la entrada de aire es despreciable.
- La variación de masa seca (M) en el tiempo es despreciable.

Establezcamos entonces las ecuaciones con los parámetros necesarios a considerar en una reacción bioquímica en estado sólido:

1) Balance de masa .-

$$\frac{\text{ENTRADA}}{t} +/\- \frac{\text{GENERACION/CONSUMO}}{t} = \frac{\text{SALIDA}}{t} + \frac{\text{ACUMULACION}}{t}$$

Existe una generación de agua y de dióxido de carbono, así como un consumo de oxígeno.

* Balance total (BMT) :

$$F_1 + F_2 + r_{wM} + r_{CO_2} - r_{O_2} = F_3 + \frac{dM_T}{dt}$$

* Balance por componentes (BMC) :

- Aire :

$$F_{A1} + r_{O_2} = F_{A3} + \frac{dM_A}{dt}$$

- Agua (líquido + vapor) :

$$F_{v1} + F_{w2} + r_{wM} = F_{v3} + F_{w3} + \frac{d(M_w + M_v)}{dt}$$

donde $r_{wM} = F_{w3} = 0$ (no hay salida de agua líquida)

y: $M_w \gg M_v$. Luego:

$$F_{v1} + F_{w2} \approx F_{v3} + \frac{dM_w}{dt}$$

- CO₂ :

$$r_{CO_2} = F_{CO_2}$$

2) Balance de energía (BE) .-

$$\frac{\text{ENERGIA ENTRADA}}{t} + \frac{\text{ENERGIA GENERADA (METAB.)}}{t} = \frac{\text{ENERGIA SALIDA}}{t} + \frac{\text{ENERGIA CALOR CONVECCION}}{t} + \frac{\text{ENERGIA GANADA (CALOR LAT.)}}{t} + \frac{\text{+ACUM.}}{t}$$

donde t = tiempo

$$F_{A1}C_{PA1}T_{A1} + F_{v1}C_{pv1}T_{v1} + F_{w2}C_{pw2}T_{w2} + Q_{METAB} = F_{A3}C_{PA3}T_{A3} +$$

$$F_{v3}C_{pv3}Tv_3 + h_oA(T-T_s) + L(F_{v3} - F_{v1}) + \frac{d}{dt}[(M_s + M_w + M_v)C_pT]$$

Para analizar la dinámica del proceso, tomamos las funciones de transferencia, según las ecuaciones anteriores, que describen al modelo.

Del balance de agua :

$$\frac{dM_w}{dt} = F_A(HA_1 - HA_3) + F_{w2}$$

(como el equilibrio termodinámico casi no influye en la relación entre HA y M_w , éstos se tratan de modo independiente)

En estado estacionario (steady state / SS) :

$$0 = F_{AS}(HA_1 - HA_3) + F_{w2S}$$

(s indica estado estacionario)

Funciones de transferencia.-

Ahora, bien, lo que sigue es la adaptación de estas ecuaciones de flujo de materia y flujo de energía a un sistema de funciones de transferencia.

Una función de transferencia nos permite relacionar parámetros de entrada a un sistema con parámetros de salida de un sistema. Esto significa que, al conocer el valor de una variable particular en el proceso (mediante un mecanismo sensor), se puede conocer qué -y cuánto- otra variable del proceso se debería alterar (voluntariamente) para que el proceso conserve su estado estacionario. Esto último es el fin primario en nuestro estudio.

Para obtener las relaciones entre **variables manipuladas** y **variables medidas**, se emplea el procedimiento matemático de transformadas de Laplace. Esto nos ayuda a visualizar las variaciones del sistema con respecto a un estado estacionario teórico.

En el desarrollo de estas relaciones, a continuación, no se detalla formas, leyes ó teoremas matemáticos (detalles específicos pueden obtenerse de tratados de matemática superior):

Sea X = variable de proceso

X_s = variable de proceso en estado estacionario (valor ideal)

Sea $\bar{X} = X - X_s$. Entonces :

$$\frac{dM_w}{dt} = (HA_1 - HA_3)F_A + F_{w2}$$

Tomando transformadas de Laplace :

$$s\bar{M}_{w(s)} - M_{w(0)} = (HA_1 - HA_3)F_{A(s)} + \bar{F}_{w2(s)}$$

Asumiendo que para $t=0$, $\bar{M}_w = 0$, entonces :

$$s\bar{M}_{w(s)} = (HA_1 - HA_3)F_{A(s)} + \bar{F}_{w2(s)}$$

luego :

$$\bar{M}_{w(s)} = \frac{HA_1 - HA_3}{s} F_{A(s)} + \frac{1}{s} \bar{F}_{w2(s)} \dots \dots \dots (1)$$

$$\bar{M}_{w(s)} = G_{1(s)}F_{A(s)} + G_{2(s)}\bar{F}_{w2(s)}$$

donde $G_{1(s)} = \frac{HA_1 - HA_3}{s}$ $G_{2(s)} = \frac{1}{s}$

(G_s es función de transferencia)

Del balance de energía :

$$C_p T \frac{d}{dt} (M_s + M_w + M_v) + (M_s + M_w + M_v) C_p \frac{dT}{dt} = F_A (H_{A1} + HA_1 H_{v1} - H_{A3} - HA_3 H_{v3} + L(HA_1) - L(HA_3)) + F_{w2} H_{w2} + Q_{METAB} + h_o AT_s - h_o AT$$

$$M_s + M_w \gg M_v, \quad \text{luego} \quad M_s + M_w + M_v \approx M_s + M_w$$

$$\frac{dM}{dt} = 0 \quad (\text{asumido. Ver asunciones más arriba})$$

$$\text{Sea:} \quad M_T = M + M_w$$

$$\begin{aligned} Q_{METAB} &= Y_{O/X} \mu MX \\ Q_{METAB} &= Y_{O/X} \mu (MX)_0 e^{\mu t} \quad (*) \end{aligned}$$

(*) La medición de MX (biomasa, en gramos en el desarrollo matemático que realizamos) no es on-line. Sólo se conoce luego de análisis de CO₂ (ver relación crecimiento micelial frente a generación de CO₂).

Se puede considerar el inicio de proceso en reactor en fase exponencial. En esta fase : $\mu = \text{constante}$.

$$C_p T \frac{dM_w}{dt} + M_w C_p \frac{dT}{dt} = a F_A + H_{w2} F_{w2} + Y_{O/X} \mu (MX)_0 e^{\mu t} - h_o A T + h_o A T_s$$

donde a , $h_o A T_s$ son CONSTANTES :

$$a = H_{A1} + HA_1 H_{v1} - H_{A3} - HA_3 H_{v3} + L(HA_1) - L(HA_3)$$

$$T_{AMB} = 25 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Del estado estacionario, y de modo análogo al anterior, tenemos:

$$C_p T (s \bar{M}_{w(s)} - M_{w(0)}) + M_w C_p s \bar{T}(s) = \bar{a} F_{A(s)} + \bar{H}_{w2} F_{w2(s)} + \frac{Y_{O/X} (MX)_0}{(-1/\mu) s + 1} - h_o A \bar{T}(s)$$

$$L \{ h_o A T_s \} = 0$$

($L \{ \}$ simboliza la transformación de Laplace de una función)

Luego :

$$C_p T s \bar{M}_{w(s)} + (M_w C_p s + h_o A) \bar{T}(s) = \bar{a} F_{A(s)} + \bar{H}_{w2} F_{w2(s)} \dots \dots \dots (2)$$

Combinando (1) con (2) :

$$C_p T s (G_{1(s)} F_{A(s)} + G_{2(s)} F_{w2(s)}) + (M_w C_p s + h_o A) \bar{T}(s) = \bar{a} F_{A(s)} + \bar{H}_{w2} F_{w2(s)}$$

Finalmente :

$$\bar{T}(s) = \frac{[a - C_p T (HA_1 - HA_3)] / h_o A}{\frac{M_w C_p}{h_o A} s + 1} F_{A(s)} + \frac{(H_{w2} - C_p T) / h_o A}{\frac{M_w C_p}{h_o A} s + 1} F_{w2(s)} + \frac{-Y_{O/X} (MX)_0 / h_o A}{\left[\frac{M_w C_p}{h_o A} s + 1 \right] \left[\frac{-1}{\mu} s + 1 \right]} \dots \dots \dots (3)$$

$$\bar{T}(s) = G_{3(s)} F_{A(s)} + G_{4(s)} F_{w2(s)} + G_{5(s)}$$

donde :

$$G_{3(s)} = \frac{[a - C_p T (HA_1 - HA_3)] / h_o A}{\frac{M_w C_p}{h_o A} s + 1} \quad G_{4(s)} = \frac{(H_{w2} - C_p T) / h_o A}{\frac{M_w C_p}{h_o A} s + 1}$$

$$G_{33}(s) = \frac{-Y_{OXX}(MX)_0/hA}{\left[\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1 \right] \left[\frac{-1}{\mu} s + 1 \right]}$$

Sea

$$\begin{aligned} G_{11}(s) &= G_1(s) & G_{21}(s) &= G_3(s) \\ G_{12}(s) &= G_2(s) & G_{22}(s) &= G_4(s) \\ & & G_{23}(s) &= G_5(s) \end{aligned}$$

Entonces, ordenando las funciones de transferencia de proceso:

$$G_{11}(s) = \frac{HA_1 - HA_3}{s} \qquad G_{12}(s) = \frac{1}{s}$$

$$G_{21}(s) = \frac{[a - C_p T (HA_1 - HA_3)] / h_o A}{\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1} \qquad G_{22}(s) = \frac{(H_w - C_p T) / h_o A}{\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1}$$

$$G_{23}(s) = \frac{-Y_{OXX}(MX)_0/hA}{\left[\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1 \right] \left[\frac{-1}{\mu} s + 1 \right]}$$

Las 2 relaciones de INPUT/OUTPUT (entrada/salida) son, por lo tanto :

$$\begin{aligned} \bar{M}_w(s) &= G_{11}(s) F_A(s) + G_{12}(s) F_{w2}(s) \\ \bar{T}(s) &= G_{21}(s) F_A(s) + G_{22}(s) F_{w2}(s) + G_{23}(s) \end{aligned}$$

Estas 2 ecuaciones de primer orden representan los **modelos postulados** para este proceso: 1 modelo para el output de **HUMEDAD** y otro para el de **TEMPERATURA**. A pesar de su relativa sencillez, hay valores fijados que deberán verificarse o modificarse posteriormente.

Así, pues, aquí hay : - 2 outputs controlados: $\bar{M}_w(s)$, $\bar{T}(s)$
 - 2 inputs manipulados : $\bar{F}_A(s)$, $\bar{F}_{w2}(s)$

$G_{11}(s)$, $G_{12}(s)$, $G_{21}(s)$ y $G_{22}(s)$ son las 4 funciones de transferencia que relacionan las 2 salidas con las 2 entradas. Un cambio en F_A o F_{w2} afecta ambas salidas controladas. Las 2 relaciones anteriores son, pues, **interdependientes**.

Haciendo un diagrama de bloques adecuado para las variables manipulables, tenemos : (ver GRAFICOS 2, 3)

Valores numéricos de variables de proceso .-
(en apéndice se adjunta tablas termodinámicas y psicrométricas)

	H_{A1}	= 75.12	cal/g
	H_{A3}	= 72.72	cal/g
	H_{v1}	= 140.85	cal/g
	H_{v3}	= 136.35	cal/g
	HA_1	= 0.030204	g/g
	HA_3	= 0.054688	g/g
	L	= 540	cal/g
	T	= 37	°C (para control)
	T_{AMB}	= 25	°C
	C_p	= 0.85	cal/g-°C
	$HA_3 - HA_1$	= 0.024484	g/g
	H_{w2}	= 40	cal/g
	a	= -14.023835	cal/g (cte.)
	$C_p T$	= 263.5	cal/g
	μ	= 0.2	hr ⁻¹ (°)
		.0033	min ⁻¹
	$Y_{CO2/X}$	= 1	g/g
	$Y_{Q:CO2}$	= 2500	cal/g (Cooney et al.)
entonces :	$Y_{Q/X}$	= 2500	cal/g
	A	= .652	m ²

Asimismo : M_T varían en el tiempo
 h_o

M_T disminuye por consumo microbiano, y h_o también disminuye, debido a corrosión/incrustación.

Al inicio, y durante un tiempo t razonable (inicio de proceso y en lazo de control) :

INICIO	M_T	= 10000 g
	h_o	= 35544.35 cal/hr-m ² -°C 592.406 cal/min-m ² -°C

Variación :

- h_o disminuye 5% cada mes por corrosión e incrustación. Esta variación la introduce el propio operador cada periodo. Pero para un lote (batch) de reacción, en el cual la duración es de 2-4 días, este valor se asume constante.

- El valor de M_T varía :

$$M_T = f(t)$$

Se ha asumido una función similar a las curvas de variación obtenidas en otras pruebas de SSF (con *R. oligosporus*).

(*) Asumido aproximado en este tipo de sustratos.

Antes de continuar con el análisis de los lazos de control, establezcamos las funciones de transferencia de los mecanismos de medición y de los elementos de control final.

MECANISMO DE MEDICION (SENSOR) .-

Higrómetro.-

Data técnica (Concept Control & Engineering. Humidity sensor. Gráfica)

$$\begin{aligned}\tau_{M1} &= 1 \text{ min. (aprox.)} \\ K_{M1} &= 1\end{aligned}$$

luego:
$$G_{M1} = \frac{1}{s + 1}$$

Termocupla.-

Data técnica (Cole-Parmer 1990 Catalog)

Termocupla rígida (en humidificador) : $\tau_{M2} = 9 \text{ seg.} = .15 \text{ min.}$
" flexible (en reactor) : $\tau_{M2} = 6 \text{ seg.} = .1 \text{ min.}$

En general, la función de transferencia del proceso para una termocupla (modelo capacidad unitaria-resistencia) es de primer orden.

$$K_{M2} = 1$$

Luego, tenemos la función de transferencia para el proceso con termocupla flexible en reactor:

$$G_{M2} = \frac{K_{M2}}{\tau_{M2}s + 1} = \frac{1}{.1s + 1}$$

ELEMENTO DE CONTROL FINAL .-

Están conformados por las válvulas solenoides V1 y V2/V3, una resistencia y un motor de agitador de reactor. Los elementos de interés para cálculo en los lazos de control son las válvulas V1 y V2A/V2B.

Para estas válvulas (mecanismo ON/OFF):

$$\begin{array}{ll} V1 & G_{F1} = K_{F1} = 1 \\ V2 & G_{F2} = K_{F2} = 1 \end{array}$$

Formación de lazos de control .-

Formando 2 lazos de control acoplado :

$$\begin{array}{ll} F_A & \text{con } M_w \\ F_{w2} & \text{con } T \end{array}$$

Los GRAFICOS 4 Y 5 muestran los lazos cerrados de control para el proceso.

Recordando las funciones del proceso:

$$\begin{aligned} \bar{M}_w(s) &= G_{11}(s)F_A(s) + \bar{G}_{12}(s)F_{w2}(s) \\ \bar{T}(s) &= G_{21}(s)F_A(s) + \bar{G}_{22}(s)F_{w2}(s) + G_{23}(s) \end{aligned}$$

Sean $G_{C1}(s)$ y $G_{C2}(s)$ las funciones de transferencia de los 2 controladores. Luego, los valores de las variables manipuladas en lazos de control son :

$$\begin{aligned} \bar{F}_A(s) &= G_{C1} (M_{wSP}(s) - M_w(s)G_{M1}) \\ \bar{F}_{w2}(s) &= G_{C2} (T_{SP}(s) - T(s)G_{M2}) \end{aligned}$$

Como nuestro objetivo es controlar tanto la humedad como la temperatura -interactuantes-, entonces el esquema del sistema consta de 2 lazos, ambos cerrados.

Entonces, para ambos lazos cerrados:

$$\begin{aligned} (G_{11}G_{C1}G_{M1} + 1)M_w + G_{12}G_{C2}G_{M2}T &= \bar{G}_{11}G_{C1}M_{wSP} + G_{12}\bar{G}_{C2}T_{SP} \\ G_{21}G_{C1}G_{M1}M_w + (G_{22}G_{C2}G_{M2} + 1)T &= \bar{G}_{21}G_{C1}M_{wSP} + \bar{G}_{22}G_{C2}T_{SP} + G_{23} \end{aligned}$$

Luego, tenemos las sgtes. relaciones entrada-salida para lazo cerrado :

$$\bar{M}_w = P_{11(s)} \bar{M}_{wSP} + P_{12(s)} T_{SP} + P_{13(s)}$$

$$T = P_{21(s)} \bar{M}_{wSP} + P_{22(s)} T_{SP} + P_{23(s)}$$

donde

$$P_{11(s)} = \frac{G_{11}G_{C1} + G_{C1}G_{C2}G_{M2}(G_{11}G_{22} - G_{12}G_{21})}{Q(s)}$$

$$P_{12(s)} = \frac{G_{12}G_{C2}}{Q(s)}$$

$$P_{13(s)} = \frac{-G_{12}G_{C2}G_{23}}{Q(s)}$$

$$P_{21(s)} = \frac{G_{21}G_{C1}}{Q(s)}$$

$$P_{22(s)} = \frac{G_{22}G_{C2} + G_{C1}G_{C2}G_{M1}(G_{11}G_{22} - G_{12}G_{21})}{Q(s)}$$

$$P_{23(s)} = \frac{G_{23}(G_{11}G_{C1} + 1)}{Q(s)}$$

$$Q(s) = (G_{11}G_{C1}G_{M1} + 1)(G_{22}G_{C2}G_{M2} + 1) - G_{12}G_{21}G_{C1}G_{C2}G_{M1}G_{M2}$$

Análisis sin interacción entre los lazos .-

$$\text{Sea} \quad : \quad G_{12} = G_{21} = 0 \quad (\text{sin interacción})$$

$$\text{Entonces} \quad G_{12} = \frac{1}{s} = 0 \quad s \rightarrow \infty$$

$$G_{21} = \frac{a - C_p T (HA_1 - HA_3)}{h_o A \frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1} = 0 \quad a = C_p T (HA_1 - HA_4)$$

$$\bar{M}_w = \frac{G_{11}G_{C1}}{G_{11}G_{C1} + 1} \bar{M}_{wSP} \quad T = \frac{G_{22}G_{C2}}{G_{22}G_{C2} + 1} T_{SP} + \frac{G_{23}}{G_{22}G_{C2} + 1}$$

Análisis de estabilidad.-

Recordemos que se analiza la estabilidad de un sistema independientemente de si éste está controlado o no. El criterio general de estabilidad (mediante la localización de los polos - raíces- de la función de transferencia) es:

Si hay al menos un polo (raíz) con parte real positiva, entonces el sistema es INESTABLE.

Por tanto, los valores de p y s deben ser negativos.

Obtención de valores de parámetros adecuados para control proporcional-integral-derivativo (PID).-

En las ecuaciones siguientes, se parte de un control sencillo hasta obtener el control deseado, hallando así valores numéricos para las ganancias y tiempos.

Cálculo de valores más adecuados para las constantes de tiempo τ_i y τ_D (para control PID):

Recordemos que K_C , τ_i y τ_D tienen siempre valores positivos.

τ_i está comprendido gralm. entre 0.1 y 50 minutos.

Asimismo, es recomendable tomar un valor de K_C entre 0.2 y 100.

Aplicando control proporcional (P) : $G_{C1} = K_{C1}$
 $G_{C2} = K_{C2}$

Esto es, ajustando un control P dentro del lazo de control adaptativo.

K_{Ci} = constante = GANANCIA DEL CONTROLADOR

Nota : Se dará valores de K_{Ci} , τ_i , con unidades de min.

Manteniendo h_o y M_T variables, tenemos las sgtes. expresiones para las funciones de transferencia de proceso^(*):

$$G_{11} = - \frac{.024484}{s}$$

$$G_{12} = \frac{1}{s}$$

$$G_{21} = - \frac{11.61395859/h_o}{(1.303680982M_T/h_o)s + 1}$$

$$G_{22} = - \frac{342.791411/h_o}{(1.303680982M_T/h_o)s + 1}$$

^(*)Unidades: g, m, min, °K, cal.

Sintonización de cada lazo por separado .-
 Lazos no interactuantes (controlador P):

De los denominadores de las ecuaciones dadas más arriba para M_w y T no interactuantes, se establece las ecs. características :

$$G_{11}G_{C1} + 1 = 0$$

$$G_{22}G_{C2} + 1 = 0$$

Cálculo de ganancia más adecuada :
De estas ecuaciones:

Lazo 1 cerrado/lazo 2 abierto :

$$1 + \frac{HA_1 - HA_3}{s} K_{C1} = 0 \qquad s = K_{C1}(HA_3 - HA_1)$$

NOTA :

En el desarrollo de estas ecuaciones y las siguientes, se establecerá datos numéricos, sobre todo para la etapa inicial, de modo que podamos tener gráficas de curvas de respuesta del sistema de control (controladores) frente a cambios unitarios, tanto en la humedad como en la temperatura del volumen de control.

$$HA_1 < HA_3 \text{ (ver valores dados más arriba) ,}$$

$$\text{luego : } s > 0 .$$

Por lo tanto, cuando el lazo 2 está abierto, el lazo 1 es INESTABLE siempre, en cualquier etapa del proceso, para cualquier ganancia K_{C1} . Esto se puede evitar en gran medida desacoplando los lazos.

Lazo 1 abierto/lazo 2 cerrado :

$$1 + \frac{(H_{w2} - C_p T) / h_o A}{\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1} K_{C2} = 0 \qquad s = \frac{K_{C2}(C_p T - H_{w2}) - h_o A}{M_T C_p}$$

$M_T C_p > 0$, luego lazo 2 es estable si :

$$K_{C2}(C_p T - H_{w2}) < h_o A$$

Entonces :

$$\text{Si } KC2 < \frac{h_o A}{(C_p T - H_{w2})} \text{ , entonces lazo 1 es estable}$$

$$\text{ETAPA INICIAL : } \qquad \text{si } K_{C2} < \frac{103.752 \text{ g/hr-}^\circ\text{C}}{1.7292 \text{ g/min-}^\circ\text{C}}$$

entonces lazo 2 es estable.

Recordemos que los valores límites (rangos) obtenidos en

sintonización por separado no garantizan estabilidad para el sistema total de control, en el que, de hecho en nuestro caso, ambos lazos están cerrados. Por ello, se debe hacer otra sintonización con los 2 lazos en interacción mutua.

Sintonización con ambos lazos cerrados .-

Lazos interactuantes (controlador P) :

Ecuación característica :

La estabilidad de las salidas de lazo cerrado de 2 lazos interactuantes se determina por las raíces de la ecuación :

$$Q(s) = (G_{11}G_{C1} + 1)(G_{22}G_{C2} + 1) - G_{12}G_{21}G_{C1}G_{C2} = 0$$

Recordemos que si hay por lo menos una raíz positiva en esta ecuación, entonces los 2 lazos interactuantes son inestables.

Por lo tanto : s debe ser < 0 siempre.

De aquí :

$$\frac{(HA_1 - HA_3)K_{C1} + 1}{s} - \frac{(H_{w2} - C_p T)K_{C2}/h_o A + 1}{\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1} = 0$$

$$\frac{1}{s} \left[\frac{a - C_p T(HA_1 - HA_3)}{\frac{M_T C_p}{h_o A} s + 1} \right] / h_o A K_{C1} K_{C2} = 0$$

Simplificando y ordenando :

$$M_T C_p s^2 + (h_o A + K_{C2} H_{w2} - K_{C2} C_p T + K_{C1} HA_1 M_T C_p - K_{C1} HA_3 M_T C_p) s + [K_{C1} HA_1 h_o A - K_{C1} HA_3 h_o A + K_{C1} K_{C2} (HA_1 - HA_3) (H_{w2} - C_p T) - K_{C1} K_{C2} (a - C_p T (HA_1 - HA_3))] = 0$$

Para esta ecuación de segundo grado se puede aplicar el criterio de estabilidad de Routh-Hurwitz.

Si se cumple :

$$M_T C_p < 0,$$

$$h_o A + K_{C2} H_{w2} - K_{C2} C_p T + K_{C1} HA_1 M_T C_p - K_{C1} HA_3 M_T C_p < 0, 0$$

$$K_{C1} HA_1 h_o A - K_{C1} HA_3 h_o A + K_{C1} K_{C2} (HA_1 - HA_3) (H_{w2} - C_p T) - K_{C1} K_{C2} (a - C_p T (HA_1 - HA_3)) < 0$$

entonces el comportamiento es INESTABLE.

En la ETAPA INICIAL, los valores numéricos para que el sistema sea estable serían (resolviendo las inecuaciones) :

$$K_{C2} \geq \begin{matrix} 43.52 & (\text{g/hr-}^\circ\text{C}) \\ .7254 & (\text{g/min-}^\circ\text{C}) \end{matrix}$$

$$K_{C1} \text{ debe ser } \leq \frac{10780.15525}{M_T} \quad 1/\text{min}$$

En total, si :

$$\text{(para } M_T = 10000 \text{ g)} \quad K_{C1} \leq \begin{matrix} 64.68, & (1/\text{hr}) \\ 1.078 & (1/\text{min}) \end{matrix} \quad \text{y}$$

$$43.52 \leq K_{C2} \leq \begin{matrix} 103.75 & (\text{g/hr-}^\circ\text{C}) \\ .7254 & (\text{g/min-}^\circ\text{C}) \end{matrix}$$

entonces el sistema es estable.

La ganancia indica el grado de sensibilidad. Por lo tanto, se escoge una ganancia alta :

$$\text{(en hr.)} \quad \text{Sea : } \begin{matrix} K_{C1} = 50 & (1/\text{hr}) \\ K_{C2} = 50 & (\text{g/hr-}^\circ\text{C}) \end{matrix} \quad \text{-->}$$

$$\text{(en min.)} \quad \text{Sea : } \begin{matrix} K_{C1} = .8333 & (1/\text{min}) \\ K_{C2} = .8333 & (\text{g/min-}^\circ\text{C}) \end{matrix} \quad \text{-->}$$

$$\text{o bien} \quad \begin{matrix} K_{C1} = 1 & (1/\text{min}) \\ K_{C2} = 1 & (\text{g/min-}^\circ\text{C}) \end{matrix} \quad (*) \quad \text{-->}$$

(*) Se comprueba posteriormente que esta ganancia puede ser mayor, sin afectar la estabilidad, en el controlador PID para lazo de control adaptivo :

$$\text{Sea, finalmente : } K_{C2} = 500 \text{ g/hr-}^\circ\text{C}$$

$$\text{(en min.)} \quad \text{Sea : } K_{C2} = 8.333 \text{ g/min-}^\circ\text{C}$$

$$\text{o bien : } K_{C2} = 10 \text{ g/min-}^\circ\text{C}$$

Hasta este punto, se ha analizado la estabilidad con control proporcional (P) en lazo de control adaptivo. Ahora bien, consideremos un control PI, para de ese modo obtener valores de τ_i (de las funciones G_c de control PI) que permitan discernir el grado de estabilidad para este control interno, y luego se puede calcular de modo similar valores de τ_D para control PID, que es más adecuado para control de temperatura.

Así, pues, consideramos las ecuaciones características, como en

el caso anterior para control P :

(ecs. de control PI) :

$$\begin{aligned} G_{11}G_{C1} + 1 &= 0 \\ G_{22}G_{C2} + 1 &= 0 \\ Q(s) &= (G_{11}G_{C1} + 1)(G_{22}G_{C2} + 1) - G_{12}G_{21}G_{C1}G_{C2} = 0 \end{aligned}$$

donde :

$$G_{C1} = K_{C1} \left(1 + \frac{1}{\tau_{I1} s} \right)$$

$$G_{C2} = K_{C2} \left(1 + \frac{1}{\tau_{I2} s} \right)$$

Resolviendo las ecuaciones como se hizo más arriba, y observando las restricciones para lazos abierto/cerrado e interactuantes :

$$\begin{aligned} \tau_{I1} &> 5.11 \text{ hr} \\ \tau_{I2} &> 0 \text{ hr} \quad (\text{puede tomar cualquier valor}) \end{aligned}$$

Así, pues, se podría fijar :

$$\begin{aligned} \tau_{I1} &= 6 \text{ hr} \\ \tau_{I2} &= 1 \text{ hr} \end{aligned}$$

Ahora, bien, calculando valores para la constante derivativa (τ_D) para control PID :

$$G_{C1} = K_{C1} \left(1 + \frac{1}{\tau_{I1} s} + \tau_{D1} s \right)$$

$$G_{C2} = K_{C2} \left(1 + \frac{1}{\tau_{I2} s} + \tau_{D2} s \right)$$

Entonces, aplicando los criterios anteriores, se obtiene valores de τ_D que permiten estabilidad al sistema :

$$\begin{aligned} \tau_{D1} &> 0.82 \text{ hr} \\ \tau_{D2} &> 0.76 \text{ hr} \end{aligned}$$

Luego, se puede fijar un valor adecuado de τ_D , no muy elevado:

$$\begin{aligned} \tau_{D1} &= 1 \text{ hr} \\ \tau_{D2} &= 1 \text{ hr} \end{aligned}$$

Nota: Las unidades de tiempo se dan en horas. Además : K_{C1} (1/hr), K_{C2} (g/hr-°C).

Diseño de lazos de control no interactuantes.-

El arreglo de ganancia relativa indica cómo deben acoplarse las entradas con las salidas para formar lazos de control con la menor cantidad de interacción.

Para mantener M_w constante : $\bar{M}_w = 0$

$$\bar{F}_A = - \frac{G_{12(s)}}{G_{11(s)}} F_{w2} = \frac{1}{HA_3 - HA_1} F_{w2}$$

Introduciendo al elemento dinámico : $D_{1(s)} = - \frac{G_{12(s)}}{G_{11(s)}}$

$$\text{donde } D_{1(s)} = \frac{F_A}{F_{w2}}$$

y donde el valor de F_{w2} es la entrada, la cual da como salida la magnitud en la que debe variar F_A para cancelar el efecto de F_{w2} sobre M_w .

D_1 : Desacoplador. Cancela cualquier efecto que el lazo 2 pueda tener sobre el lazo 1, pero NO viceversa.

Para eliminar interacción del lazo 1 sobre el lazo 2 se sigue el mismo procedimiento anterior :

$$\bar{T} = 0$$

$$\bar{F}_{w2} = - \frac{G_{21(s)}}{G_{22(s)}} \bar{F}_A - \frac{G_{23(s)}}{G_{22(s)}}$$

$$D_{2(s)} = - \frac{G_{21(s)}}{G_{22(s)}}$$

La función $G_{23(s)}$ proviene de una función $f_{(t)}$. Esta función se puede convertir en una constante por un periodo de tiempo discreto, con lo cual se anula esta función en el cálculo de desacoplamiento. Pero se hace variar su valor en cada periodo, para el cálculo en la ecuación del modelo de control.

Y así, obtenemos los diagramas de bloques con desacoplamiento (GRAFICOS 4 y 5).

Se comprueba que :

$$\bar{M}_w = \frac{G_{C1} G_{11} - \frac{G_{12}G_{21}}{G_{22}}}{1 + G_{C1} G_{11} - \frac{G_{12}G_{21}}{G_{22}}} M_{wSP} \quad -T = \frac{G_{C2} G_{22} - \frac{G_{12}G_{21}}{G_{11}}}{1 + G_{C2} G_{22} - \frac{G_{12}G_{21}}{G_{11}}} T_{SP}$$

Así, pues, en estas ecuaciones se nota un desacoplamiento total de los 2 lazos (la variable controlada por cada lazo depende de su propio set point).

Al conocer las funciones de transferencia para los controladores, se puede conocer también la función general para un cambio unitario en el SET POINT (valor fijo deseado) de humedad o de temperatura. Gráficas simuladas de la respuesta de control se dan en las figuras A a E, incluyendo tiempo de muestreo más adecuado en el registrador/muestrador (sampler) de control en modo digital (ver GRAFICOS 12 y 13). En estas respuestas se trata de establecer un compromiso entre el tiempo que tarda la variable en retomar su set point (referido como tiempo de respuesta, con un offset de $\pm 5\%$), la sensibilidad (cantidad de oscilaciones) y la amplitud de oscilación.

Se ve así que el control de humedad no presenta mayores problemas, no siendo así con el de temperatura. En este último, se puede, sin embargo, fijar una alta ganancia sin afectar la estabilidad del sistema.

Luego, con los valores ya fijados más arriba, la función de transferencia en el controlador (digital) es, al inicio :

CONTROLADOR .-

$$G_{C1} = 50 \left[1 + \frac{1}{L} + s \right]$$

$$G_{C2} = 500 \left[1 + \frac{1}{s} + s \right]$$

Función objetivo : Ajuste óptimo de los parámetros del controlador (sintonización adaptiva óptima).

Para SSF : Optimizar el proceso para lograr máxima productividad, mínimo costo de proceso y uso mínimo de materia prima.

Control adaptivo para control retroalimentación (feedback) de set point.-

Model reference adaptive control (MRAC -control de modelo adaptivo de referencia) : El set point se altera de acuerdo a la aplicación del modelo de referencia.

Postulación de modelo de referencia .-

Objetivo : Minimizar el cuadrado del error integral.

$$ISE = \int \epsilon_M^2 dt$$

$$\epsilon = f_{(t)} = M_{wMR} - M_w \quad (*)$$

$$M_{wMR} = M_{wMR(0)}$$

$$M_w = M_{w(0)}$$

Con los resultados anteriores, se toma un modelo de referencia, el cual se adapta según los valores reales obtenidos de medición on-line.

(*) MR = MODELO DE REFERENCIA

En los diagramas sgtes. (graficos 5 y 6), se puede ver el esquema de adaptación para humedad y temperatura en sustrato.

CONTROL DEL PROCESO DE FERMENTACION EN SUSTRATO SOLIDO (SSF).-

Objetivo.-

Mostrar la relación entre las variables o los parámetros de control inherentes a una fermentación SSF, así como la estructura de un programa simple de control semiautomático para este proceso.

Introducción.-

Se trata de establecer los bloques o estructuras de control que, mediante un sistema automatizado en una estación de trabajo, logre el mantenimiento de condiciones adecuadas y constantes en el proceso de biorreacción o fermentación en sustrato sólido. Para ello se requiere un programa de control adecuado.

Mencionemos en principio algunas condiciones o consideraciones previas:

- El reactor y las líneas de proceso tienen mecanismos de accionamiento y control ya instalados (salidas digitales/DO). Estos se describen más adelante.
- Se fijan algunos puntos de toma de muestra (entrada de datos mediante instrumentos de control).
- Se fija una entrada inicial a la estación de trabajo (engineering workstation) a partir de un transmisor de flujo ya instalado en el sistema.

Algunos datos sobre la unidad terminal remota (RTU -interface analógico/digital) :

Modelo Hewlett-Packard : HP 48060 Measurement and Control Unit.

No entradas analógicas disponibles: 4
 No " digitales " : 8

No	"	pulsantes	"	: 3
No	salidas	analógicas	"	: 0
No	"	digitales	"	: 4

Total: 19 CANALES de I/O disponibles.

De estos canales de I/O, no todos son independientes, es decir, en algunos casos un canal contiene 2 I/O, por lo que se debe decidir por sólo 1 de ellos.

En nuestro caso particular, las salidas digitales (DO) tienen preponderancia sobre las entradas digitales (DI), no empleando ninguna de estas últimas, pues, no se emplean instrumentos de medición digital.

1) Medición de datos de entrada (input).-

Mediante instrumentos de control se realiza la toma de datos cada cierto tiempo en 5 puntos de la línea de proceso.

No de inputs : 5	4 inputs analógicos
	1 input pulsante

El número de inputs se ha fijado en consideración a la capacidad que ofrece la interface de trabajo.

ENTRADAS ANALOGICAS (ANALOG INPUTS)

CANAL	PARAMETRO DE MEDICION	CODIGO	INSTRUMENTO DE MEDICION
0	Temperatura de aire en humidificador ³	T1	Termocupla (tipo K)
1	Temperatura en reactor (sección superior)	T2	Termocupla (tipo K)
2	Temperatura en reactor (sección inferior)	T3	Termocupla (tipo K)
3	Humedad relativa de sustrato en reactor	H1	Higrómetro

³ El humidificador en la línea es más exactamente un humidificador/autoclave. La función de autoclave la realiza en la etapa inicial de esterilización, previa al proceso propiamente dicho.

ENTRADAS PULSANTES (PULSE COUNTER INPUTS)

CANAL	PARAMETRO DE MEDICION	CODIGO	INSTRUMENTO DE MEDICION
0	Flujo volum. aire	F1	Transmisor de flujo

2) Activación de valores de salida (output).-

SALIDAS DIGITALES (DIGITAL OUTPUTS)

CANAL	PARAMETRO DE ACTIVACION	MECANISMO DE ACTIVACION	CODIGO
0	Flujo de aire seco a reactor	Válvula solenoide	V1
1	Flujo de aire/agua de aspersión a reactor	Válvulas solenoides	V2/V3
2	Agitación a medio	Motor de eje	M1
3	Temperatura aire húmedo a reactor	Resistencia eléctrica	R1

Aspectos del software de la Unidad Terminal Remota HP 48060 (interface o convertidor analógico/digital).-

Applications Development Software (ADS).-

Este es el nombre de un paquete cuyo contenido principal es un Archivo de Base de Datos

Programa de control.-

Se ha bosquejado un programa de control sencillo, con los bloques o secciones fundamentales necesarios para este tipo de operaciones :

- Inicialización / Fijación de variables.
- Ciclo o lazo de fijación y control de tiempo (reloj).
- Ciclo de control principal.
- Sector de subrutinas de control (subprogramas).

Algunas consideraciones y aspectos descriptivos.-

Recordando el diagrama de proceso: (ver GRAFICO 1)

A Humidificador
 B Reactor
 C Interface

- D Compresor/generador de aire seco
- E Generador de vapor

Sistema de control .-
Consideraciones :

- Para un control adecuado del sistema conviene tener un mecanismo de adaptación de los valores experimentales con los de los reales (on-line). Se deja de lado por ahora una comparación numérica de estos valores por faltar datos de medición.

- Para un control adecuado de temperatura, y en la transferencia de calor, donde el tiempo es factor esencial, es conveniente un sistema de control proporcional-integral-derivativo (PID), debido a que permite fijar ganancias (K_c) altas para obtener respuesta rápida frente a variaciones sin detrimento de la estabilidad del sistema. Para el control de humedad se ha optado también por un lazo PID.

- Como ya se vio en cálculos anteriores, se ha fijado lazos de control PID para humedad y temperatura dentro del esquema general de control adaptativo. Los valores de estabilización simulados para el control de ambos factores (gráficas de simulación) muestran que este lazo de control es el más conveniente, permitiendo gran flexibilidad sin perjudicar la estabilidad del sistema.

- El controlador almacena valores de entrada/lectura -tanto on line como de simulación- en memoria de base de datos (database). A ellos se accesa y ellos se fijan en programas de control (BASIC) mdte. instrucciones de direccionamiento, como p. ejm. :

GETDB(129,0,0,2,0) Lectura de valores en este punto.
PUTDB 128,0,0,1,0,40 Fijación de valores en un punto.

5.2. Prueba de fermentación

A. Protocolo

A.1. Pretratamiento:

El bagacillo (0.5-2 mm) fue pretratado con soda (0.2 g/g) a 121°C por 20 minutos de acuerdo a lo informado anteriormente. El prototipo se cargó con 6.5 kg de bagacillo. El proceso se realizó en el mismo reactor.

A.2. Inóculo:

El inóculo fue preparado en un fermentador líquido de 3L (2L de trabajo) y en 2 grascos de 3L acondicionados para cultivo líquido agitado, de acuerdo a

lo especificado anteriormente. La dosis de inoculación del prototipo fue de 1.5% (p/p) de micelio.

A.3. Medio:

Se utilizó la formulación optimizada con sulfato de amonio y úrea (2:1).

A.4. Temperatura:

El sistema de control se niveló a 32°C con máximo de 35°C y mínimo de 30°C.

A.5. Humedad:

El sistema de control se niveló a una humedad de 75% con máximo 80% y mínimo 70%.

B. Resultados

El biorreactor y sus sistemas accesorios fueron diseñados para que todo el proceso se lleve a cabo in situ. En las pruebas iniciales de pretratamiento se obtuvo a partir de 6.5 kg de bagacillo, 4.4 kg de materia seca pretratada. La cantidad de micelio requerido fue de 66 g. La inoculación se realizó vía mangueras y bomba peristáltica desde los fermentadores hacia el prototipo. En esencia, el sistema de control automático funcionó de acuerdo a lo programado con una agitación nivelada a periodos de 5 minutos de agitación (2 rpm) son intervalos horarios de descanso.

La cinética de producción de enzimas, proteína soluble y biomasa se presentan en la Figura 19. Todos los parámetros biológicos alcanzaron su máximo nivel a las 144h, excepto β Gasa que lo hizo a las 192h. Los valores máximos obtenidos (APF = 40.6 UI/g; EGasa = 207,35 UI/g; β Gasa = 38.32 UI/g; Xasa = 1033.2 UI/g; Biomasa = 342.82 g/kg; proteína soluble = 24.32 mg/g) equivalen a un 70 - 80% de los obtenidos en microfermentadores. En pruebas posteriores es necesario realizar algunas modificaciones al protocolo para disminuir los tiempos de máxima producción.

VI. ENVIO DE DOS TECNICOS PERUANOS A CHILE (Actividades I y J)

Inicialmente estuvo programado enviar a un técnico a Chile (Actividad I) y otro a Venezuela (Actividad J), pero debido al poco avance que tenía el grupo Venezolano en el desarrollo del proyecto, se decidió previa consulta enviar ambos a Chile, a la Escuela de Ingeniería Bioquímica (Valparaíso).

Las personas enviadas a Chile fueron los Bachilleres Sr. Roberto Ramos Ch. y Sr. Víctor Meza C., ambos ahora están contratados como Profesores Jefe de Prácticas. El Sr. Víctor Meza ha concluido sus estudios de Maestría en Tecnología de Alimentos en la UNALM. Ambos permanecieron en Valparaíso 30 días realizando pruebas de fermentación en microfermentadores siguiendo los protocolos del grupo Chileno. La estadía de ambos técnicos fue notoriamente fructífera.

En el verano de 1992, recibimos en nuestro Laboratorio por 1 mes al Sr. Christian Bernet procedente de la Escuela de Ingeniería Bioquímica (Valparaíso, Chile). El Sr. Bernet realizó pruebas de fermentación en microfermentadores siguiendo nuestro protocolo. Esta visita resultó, también, muy beneficiosa para el intercambio de experiencias.

VII. OTRAS ACTIVIDADES NO PROGRAMADAS

Un aspecto importante del presente proyecto es el de haber permitido fomentar el aprendizaje y entrenamiento de profesionales muy necesarios para el país mediante la ejecución de tesis de pre y post-grado. Igualmente se han publicado artículos científicos donde se hace referencia al proyecto.

7.1. Tesis

- "Enriquecimiento proteico de residuos de papa (*Solanum tuberosum*) mediante fermentación en sustrato sólido con *Chaetomium cellulolyticum*", para el título de Biólogo de Julia Griselda Muñiz Durán. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
- "Estudio preliminar para la obtención de ácido cítrico por fermentación en estado sólido a partir de residuos de *Opuntis ficus indica*, tuna", para el grado de Bachiller en Ciencias Biológicas de Juana Julia Flores Candia. Universidad Particular Ricardo Palma.
- "Producción de celulasas y β -glucosidasa en sistemas de fermentación sólida usando cultivos mixtos", para el título de Biólogo de Nilda Rocío Dueñas Linares. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
- "Obtención de mutantes hipercelulolíticas y desreprimidos de *Trichoderma reesei* mediante mutagénesis química", para el título de Biólogo de Juan Gabriel Juscamaita Morales. UNALM.
- "Diseño y construcción de un bioreactor de fermentación sólida automatizado", para el título de Ingeniero Químico de José Peralta Flores. Universidad Nacional de Ingeniería (UNI).
- "Fusión de protoplastos de mutantes de *Trichoderma reesei* LM-UCN2", para el título de Biólogo de Víctor Meza Contreras. UNALMm.
- "Transformación con DNA nativo de *Trichoderma harzianum* LM-1307", para el título de Biólogo de María Rosario Castillo Figueroa, se encuentra en ejecución, UNALM.
- "Determinación de patrones electroforéticos de celulasas producidas por fermentación en sustrato sólido por mutantes de *Trichoderma reesei*", para el título de Biólogo de Roberto Ramos Chaupín. UNALM.
- "Fermentación mixta en sustrato sólido de bagacillo

para la producción de celulasas", para el título de Biólogo de Leticia Portal Villegas. UNALM.

- "Diseño, elaboración del software y operación de un sistema de control computarizado para biorreactores agitados de fermentación sólida", para el título de Ingeniero Químico de Jorge Wong. UNI.
- "Cinética de crecimiento sobre sustrato sólido de *Trichoderma reesei* LM-UC4 y mutantes derivados", para el grado de **Magister Scientiae** en Microbiología de Emilio Pascual Valentín. UNMSM.
- "Producción de celulasas por *Trichoderma reesei* LM-28 en un biorreactor Air-Lift", para el grado de **Magister Scientiae** en Tecnología de Alimentos de Víctor Meza Contreras. UNALM.

7.2. Publicaciones

- Gutiérrez-Correa, M. & A. Ceroni. 1992. Algunos aspectos sobre la regulación de la producción de celulasas por *Trichoderma harzianum*, Biociencia 2: (en prensa).
- Muñiz, G., M. Gutiérrez-Correa & R.P. Tengerdy. 1993. Solid substrate fermentation of potato cellulosic residues with *Chaetomium cellulolyticum*. Agro-Industry Hi-Tech. January/February.
- Flores, J.J., M. Gutiérrez-Correa & R.P. Tengerdy. 1993. Citric acid production by solid substrate fermentation of prickly pear peel with *Aspergillus niger*. Agro-Industry Hi-Tech (aceptado para publicación).
- Juscamaita, J., R.P. Tengerdy & M. Gutiérrez-Correa. Tamizado secundario de hongos celulolíticos por la técnica del disco de agar. Biota (presentado en marzo, 1993).
- Castillo, M. & M. Gutiérrez-Correa, Técnica optimizada para la extracción de DNA genómico de *Trichoderma harzianum* LM-1307. Biota (presentado en marzo, 1993).
- Dueñas, R., R.P. Tengerdy & M. Gutiérrez-Correa. Cellulase production by mixed fungal solid substrate fermentation of residual bagasse. World Journal of Microbiology and Biotechnology (presentado en Febrero, 1993).

VIII. CONCLUSIONES

- Por lo expuesto en el presente informe queda claro

que el Proyecto "Degradación Enzimática de Residuos Agroindustriales" (DP/RLA183/003) ha sido muy beneficiosa para el país.

- Hasta el momento se dispone de la cepa *T. reesei* LM-1 con un buen nivel de termotolerancia (80%) y altos valores enzimáticos.

- Se dispone de un medio optimizado para la fermentación en sustrato sólido de bagacillo.

- Se dispone de un procedimiento para el pretratamiento del bagacillo el cual es económicamente rentable.

- Se dispone de los parámetros cinéticos para la óptima producción de enzimas celulolíticas.

- Se dispone de los parámetros cinéticos para la óptima producción de enzimas celulolíticas.

- Se ha diseñado y construido un biorreactor prototipo para la fermentación en sustrato sólido el cuál, además, permite realizar el pretratamiento in situ. Por el volumen de trabajo puede considerarse de nivel semi-piloto.

- Se ha elaborado una primera versión del software para el control computarizado del biorreactor prototipo.

- La formación de recursos humanos se ha beneficiado mediante el intercambio de técnicos y la ejecución de 12 tesis de pre y post-grado.

IX. PARTICIPANTES

Los siguientes profesionales han participado directamente en esta parte del proyecto, por lo que el Responsable Peruano desea expresar su agradecimiento y felicitación en este Informe, sobretodo por trabajar en las difíciles condiciones del país.

Patricia Moreno, Profesor, Jefe de Operaciones del LMB.

Roberto Ramos, Jefe de Prácticas

Víctor Meza, Jefe de Prácticas

Juan Juscamaita, Jefe de Prácticas

Leticia Portal, Asistente de Investigación

Jorge Wong, Asistente de Investigación

María Castillo, Asistente de Investigación

Emilio Pascual, Asistente de Investigación

Figura 1
Cinética de producción de celulasa total
en FSS a 30°C con N mineral

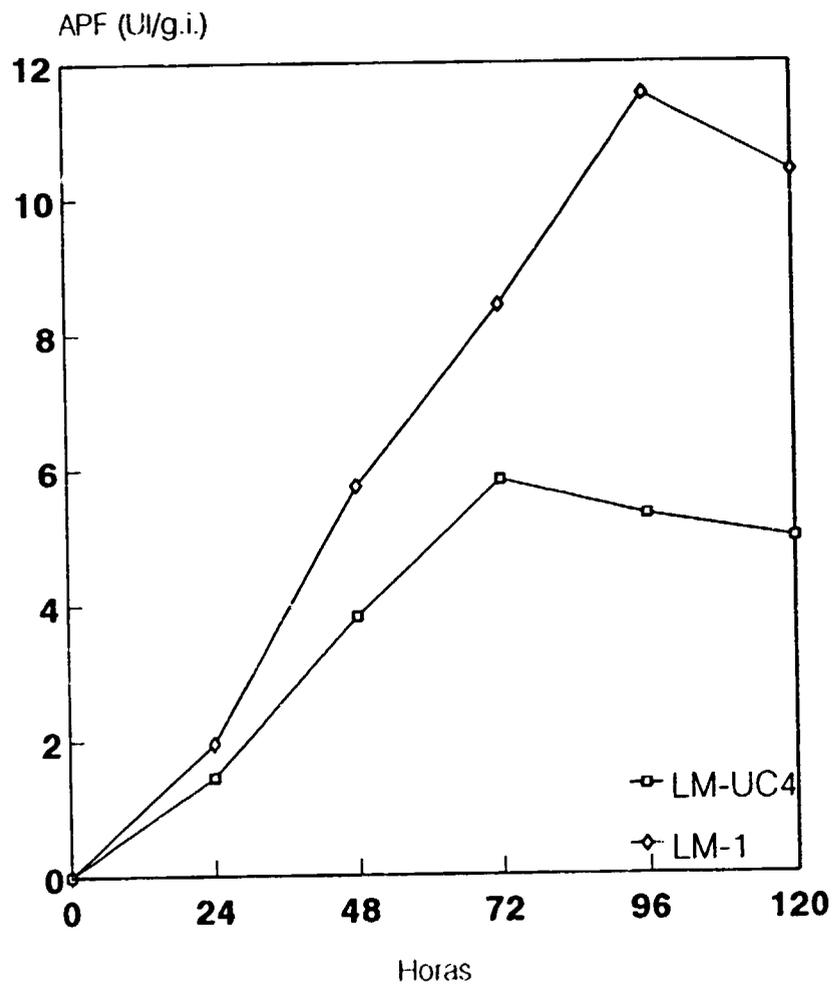


Figura 2
Cinética de producción de endoglucanasa
en FSS a 30°C con N mineral

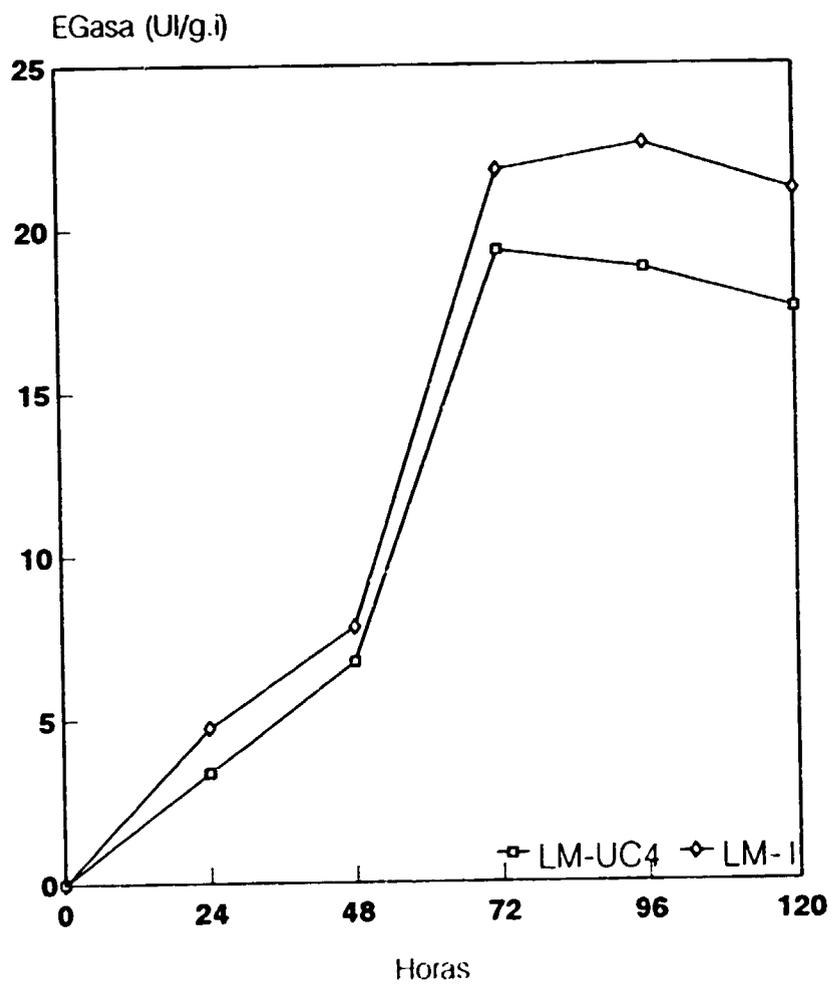


Figura 3
Cinética de producción de β -glucosidasa
en FSS a 30°C con N mineral

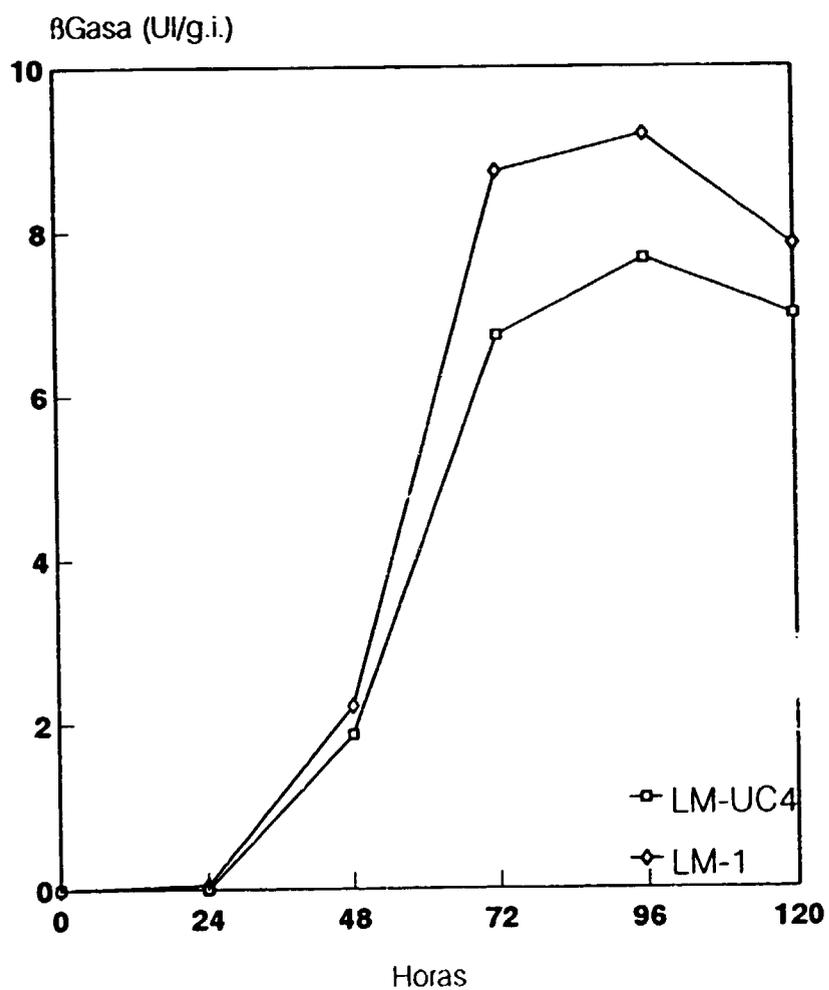


Figura 4
Cinética de producción de celulasa total
en FSS a 30C con N orgánico

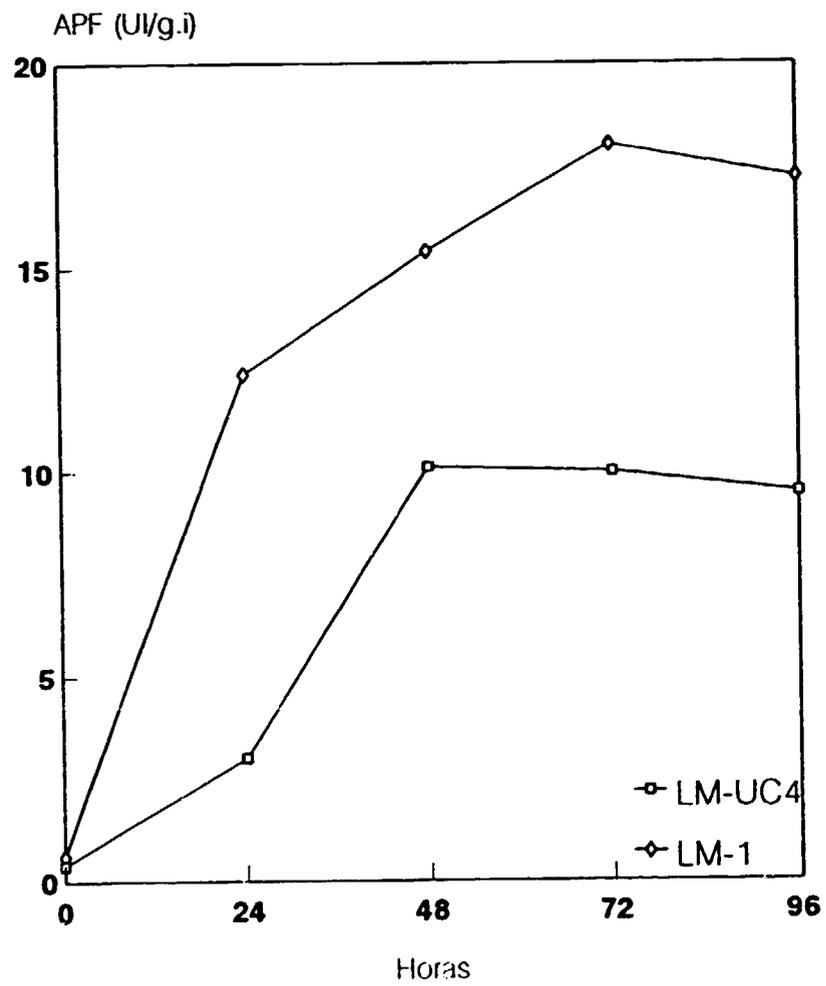


Figura 5
Cinética de producción de endoglucanasa
en FSS a 30°C con N orgánico

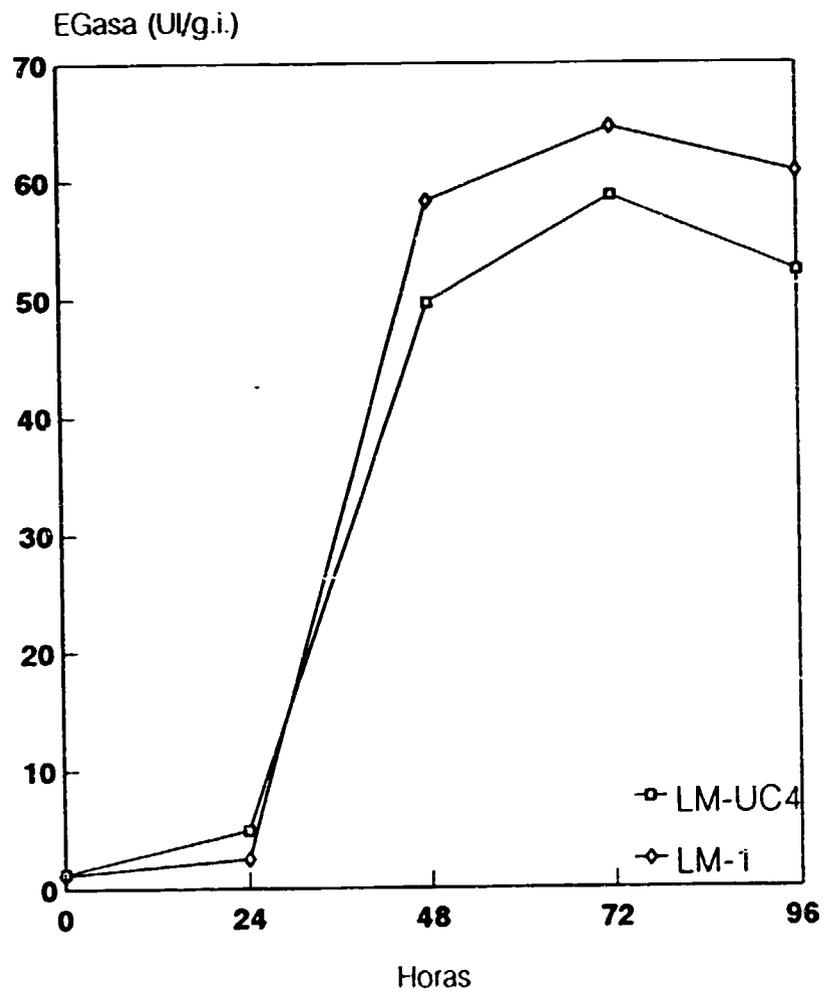


Figura 6
Cinética de producción de β -glucanasa en
FSS a 30°C con N orgánico

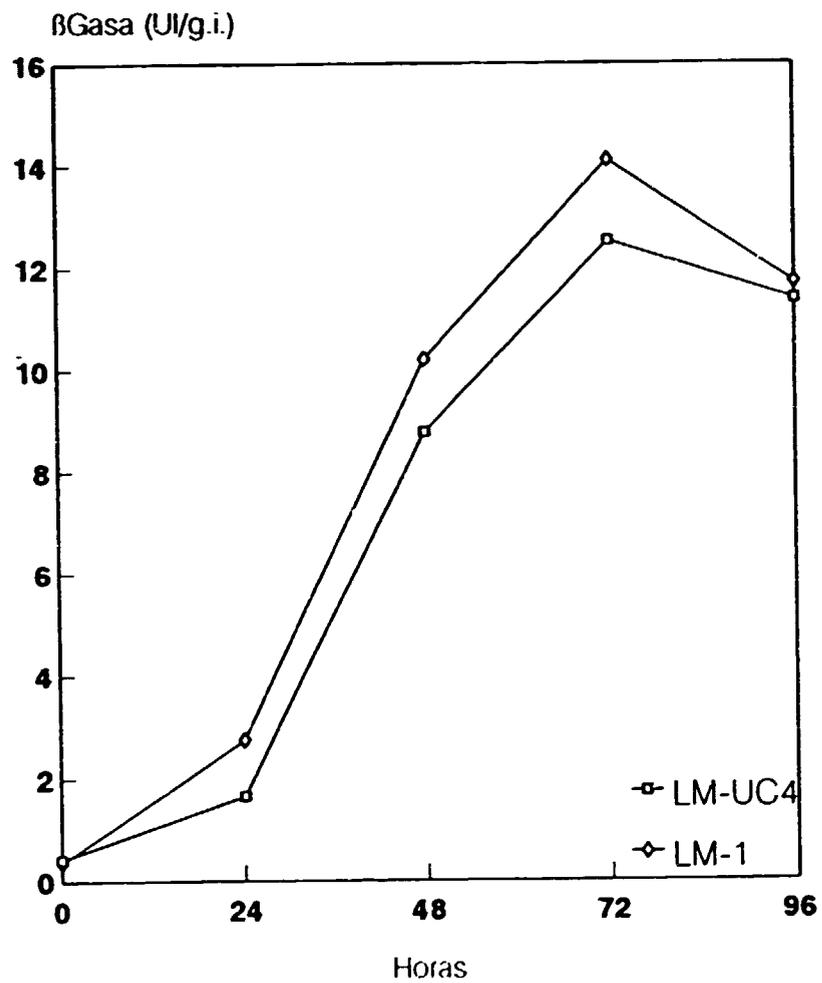


Figura 7
Cinética de producción de celulasa total
en FSS de bagacillo con N mineral

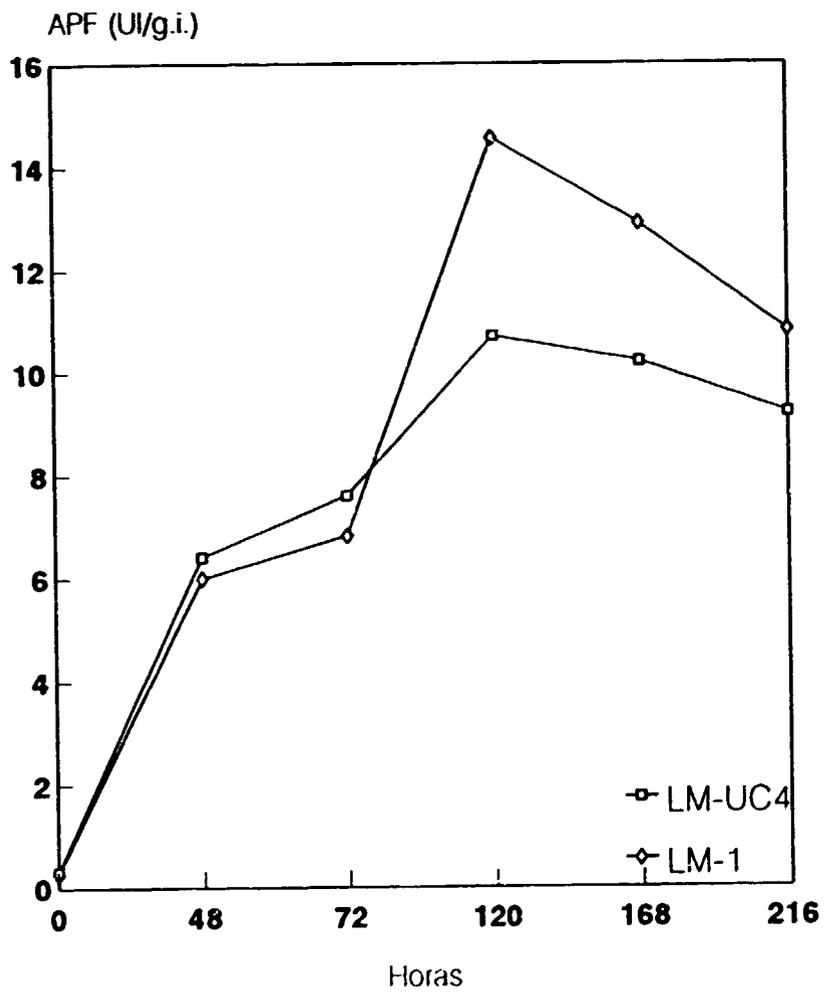


Figura 8
Cinética de producción de endoglucanasa
en FSS con medio optimizado

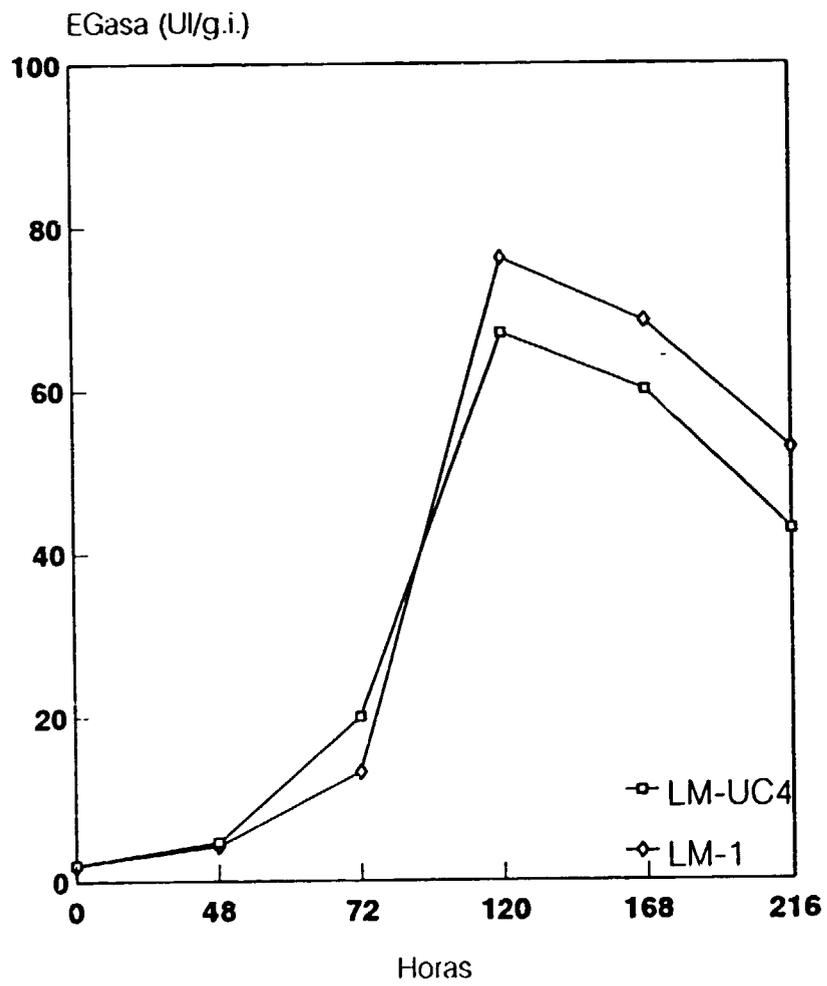


Figura 9
Cinética de producción de β -Glucosidasa
en FSS con medio optimizado

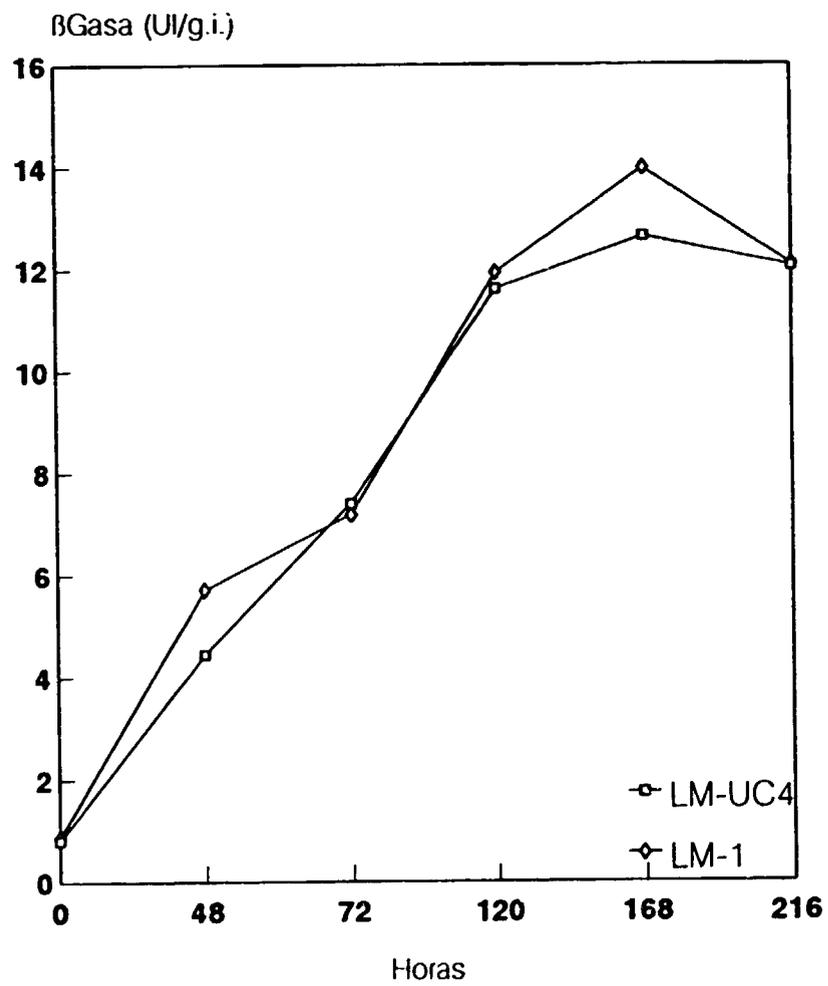


Figura 10
Cinética de producción de xilanasa en
FSS con medio optimizado

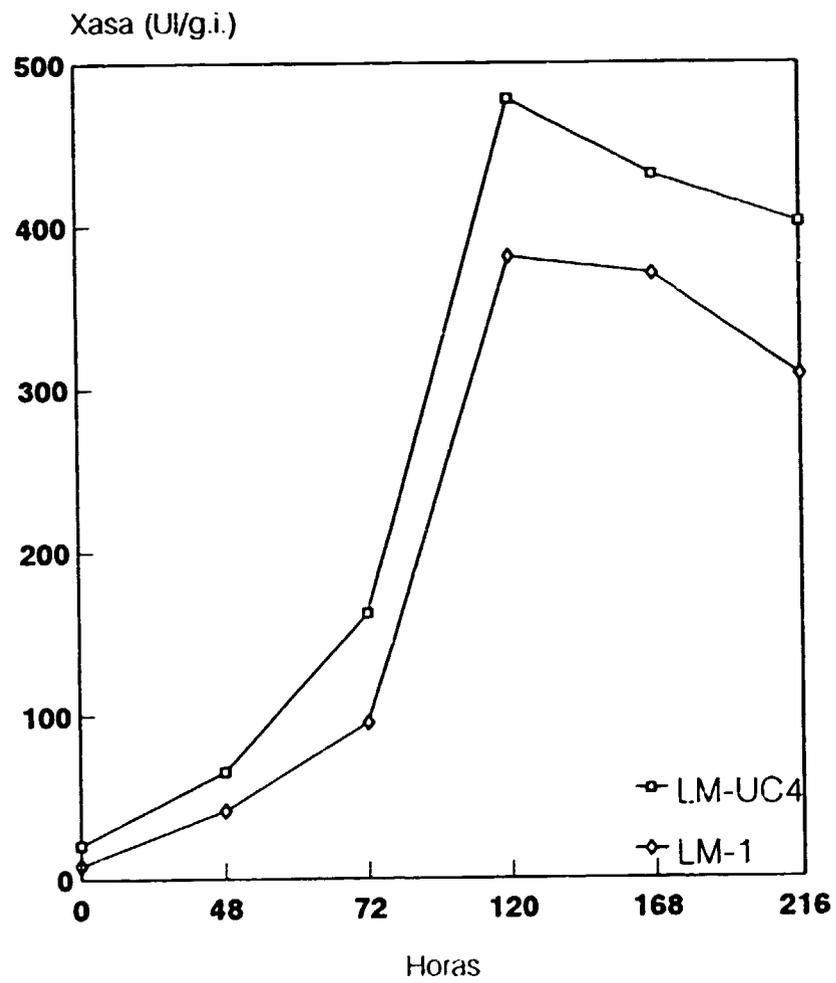


Figura 11
Cinética de producción de proteínas
solubles en FSS de bagacillo

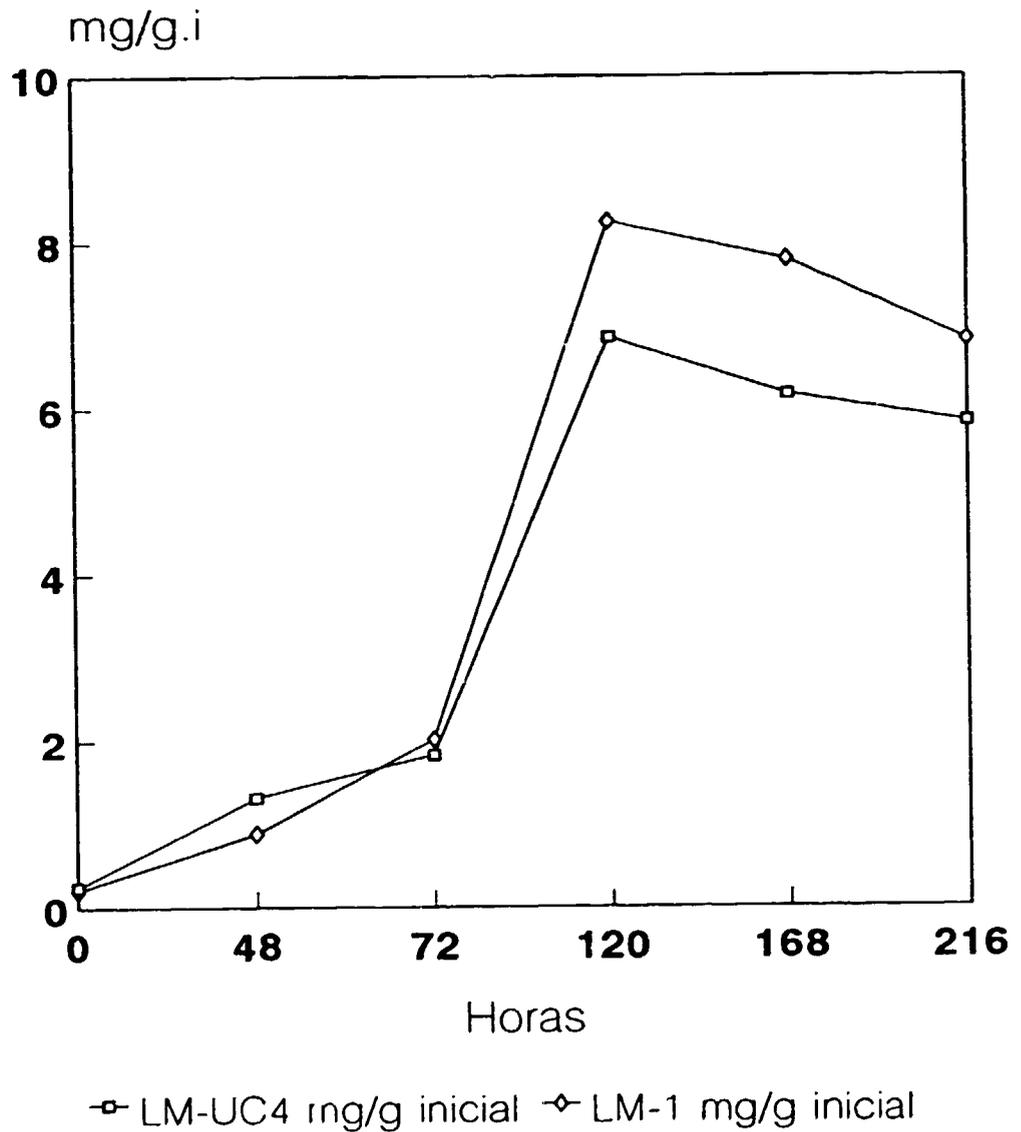


Figura 12
Cinética de crecimiento de *T. reesei* en
FSS con medio optimizado

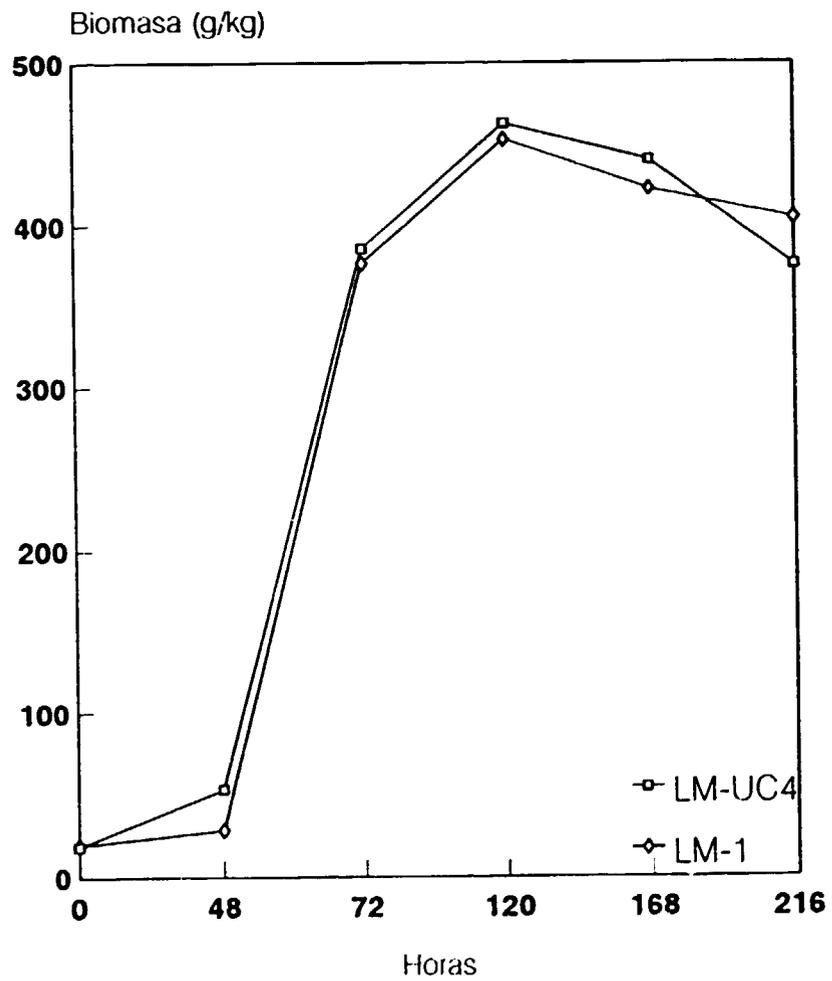


Figura 13
Cinética de consumo de sustrato en FSS
con medio optimizado

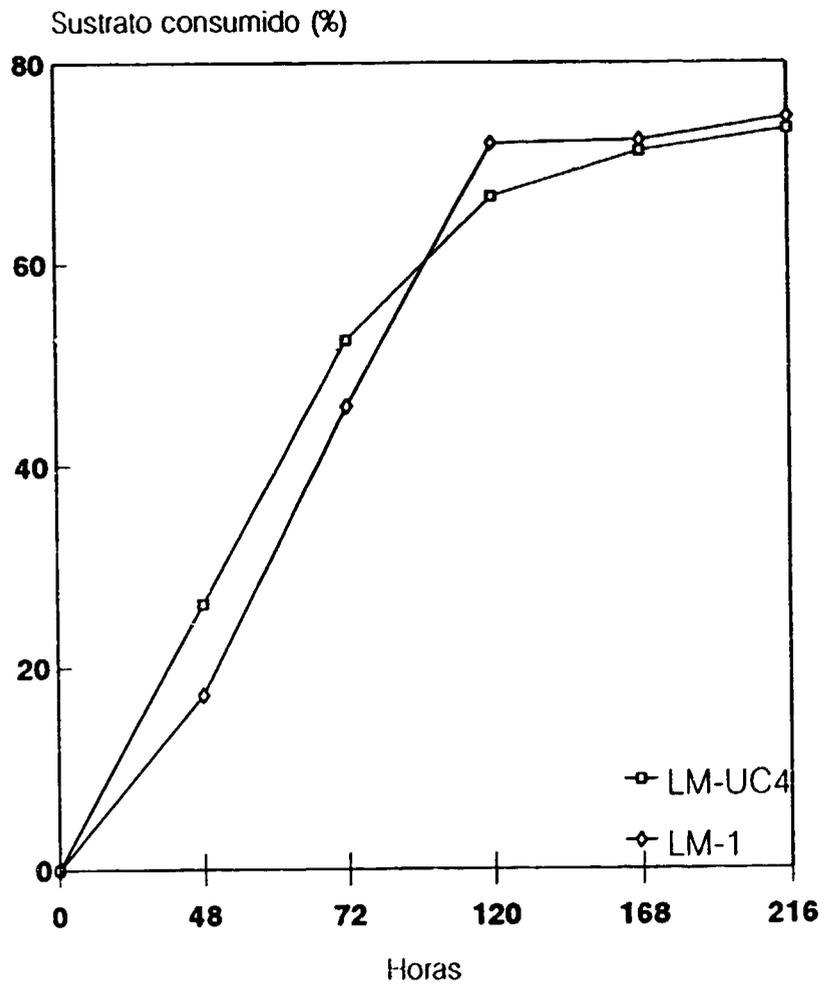


Figura 14
Variación del pH durante la FSS
con medio optimizado

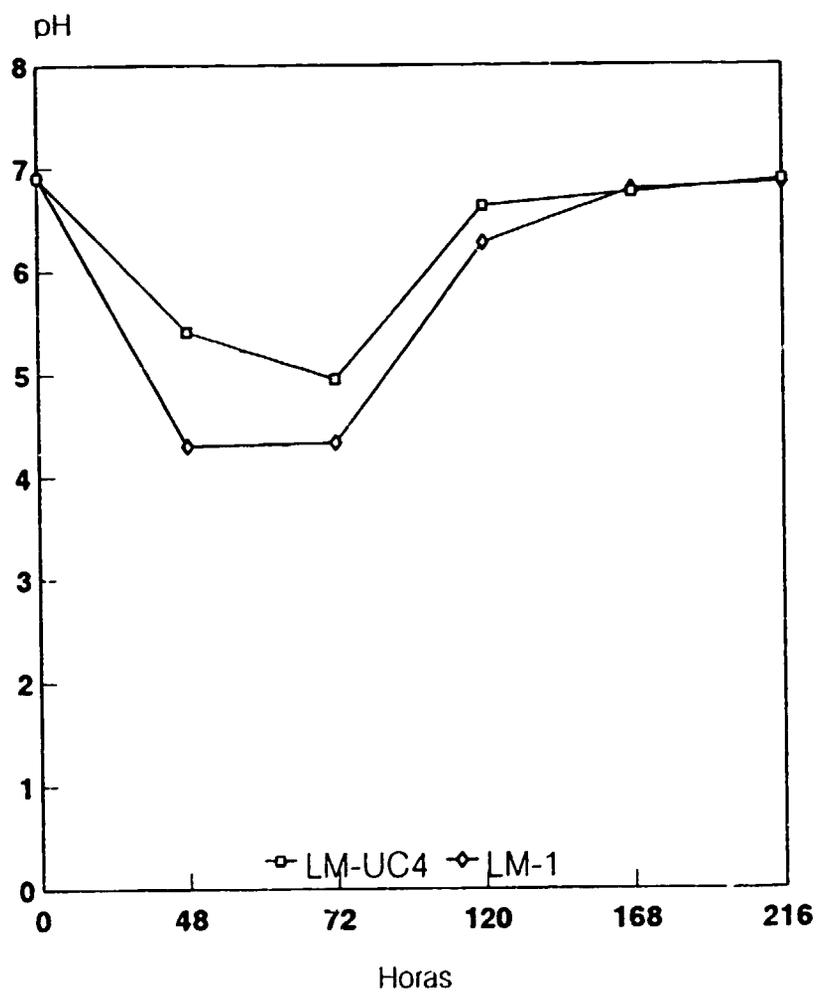


Figura 15
 Cinética de producción de celulasas por
T. reesei LM-UC4 con medio optimizado

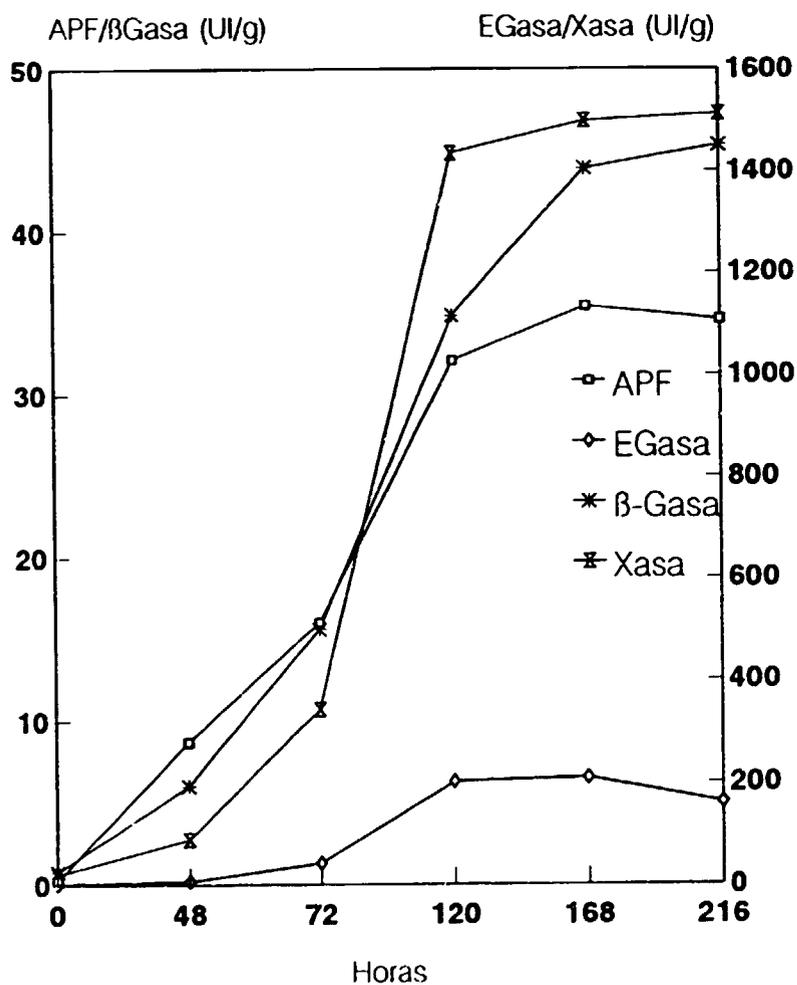


Figura 16
Cinética de producción de celulasas por
T. reesei LM-1 con medio optimizado

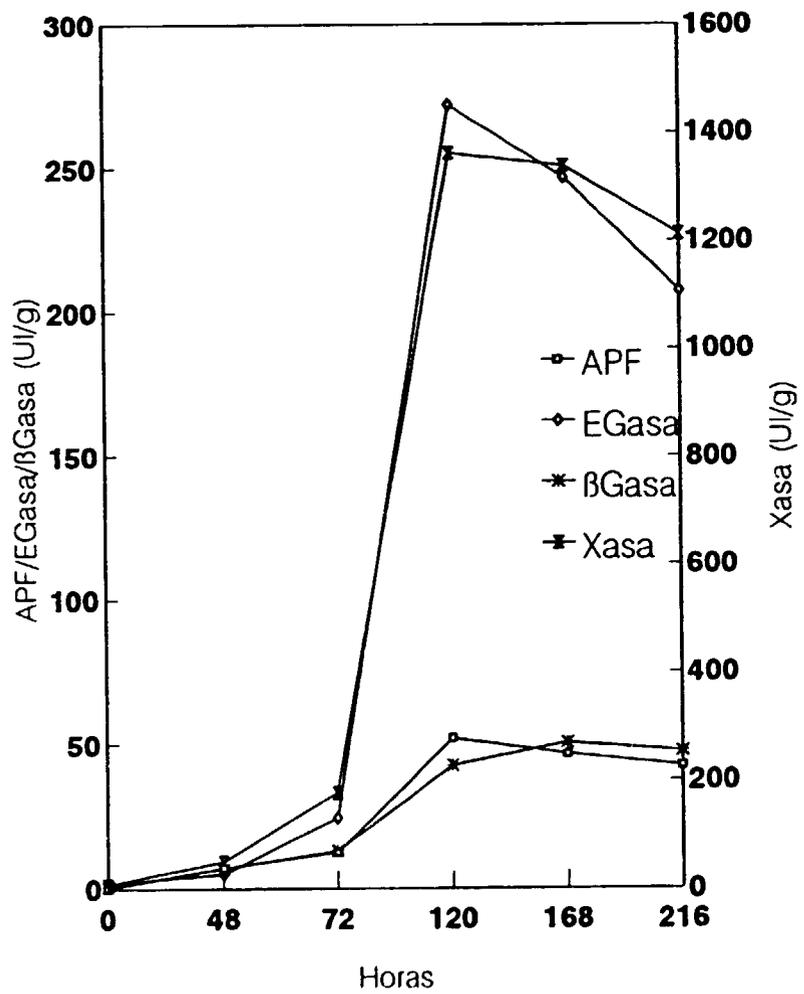


Figura 17
Producción de celulasas mediante FSS
mixta con *T. reesei* y *A. phoenicis*

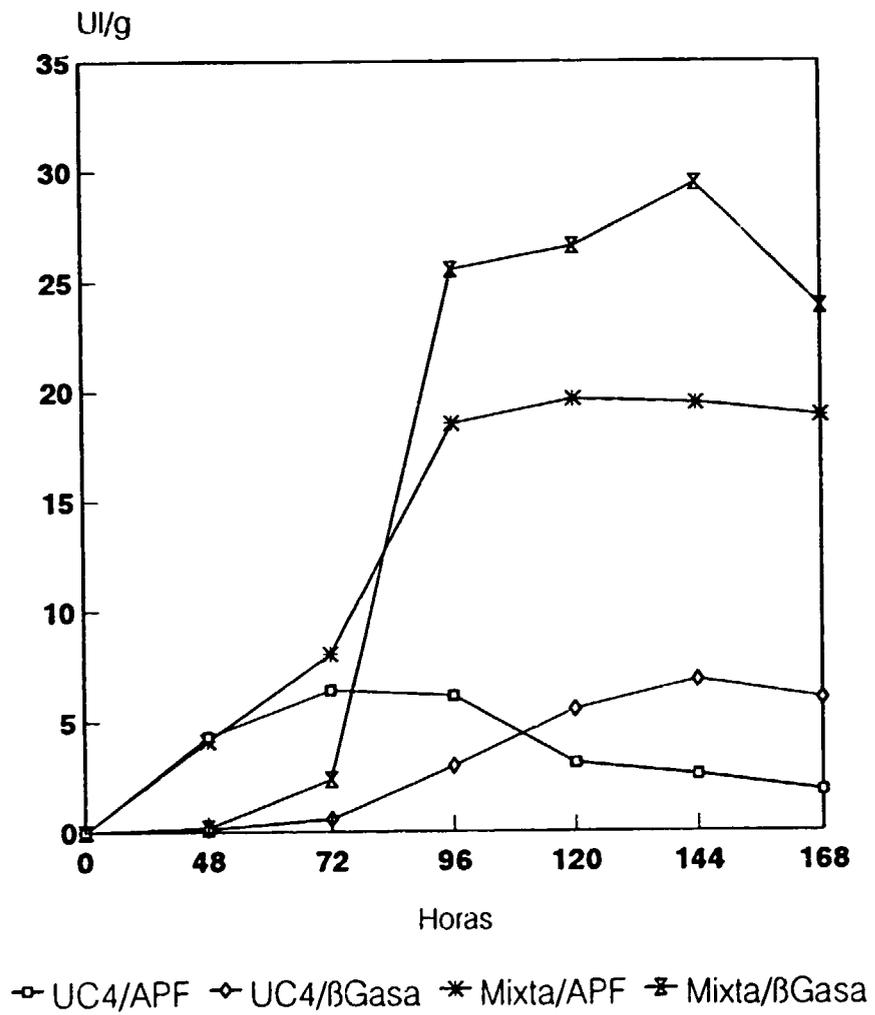


Figura 18
 Efecto de la temperatura sobre la
 producción de celulasas mediante FSS

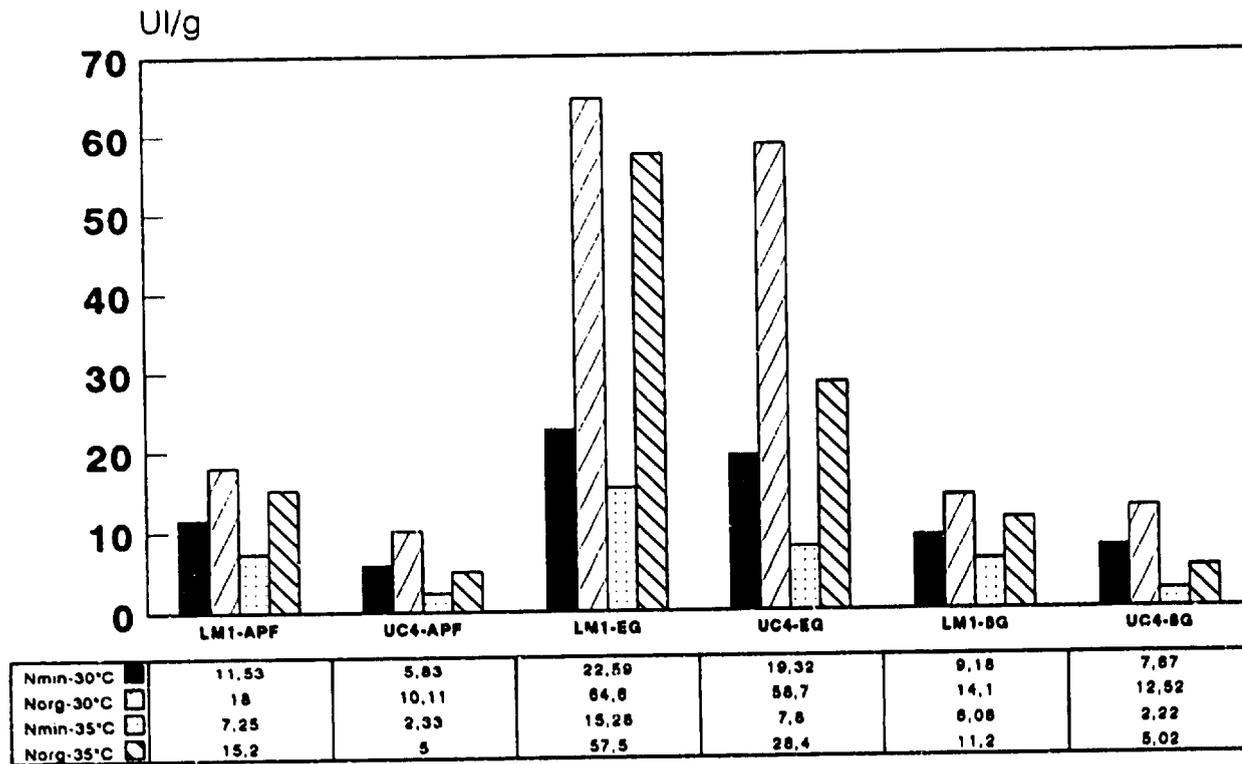
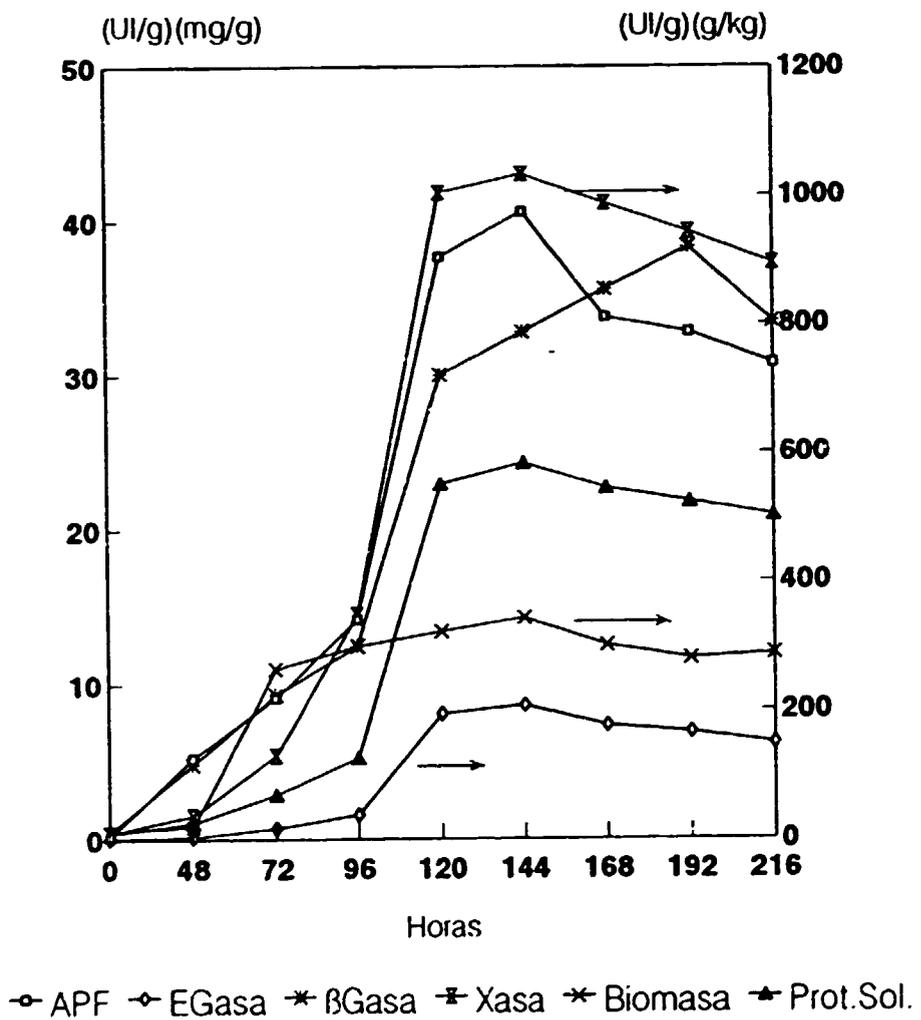
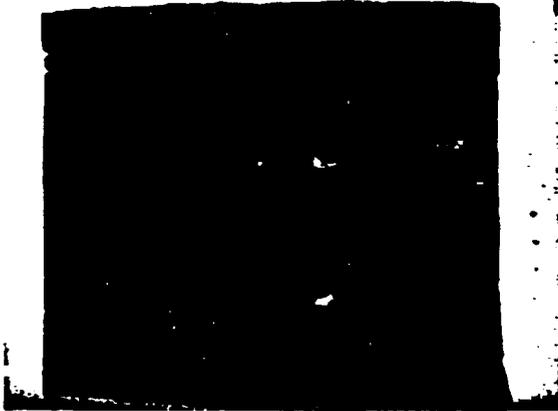


Figura 19
 Producción de celulasas por *T. reesei*
 LM-1 en biorreactor agitado

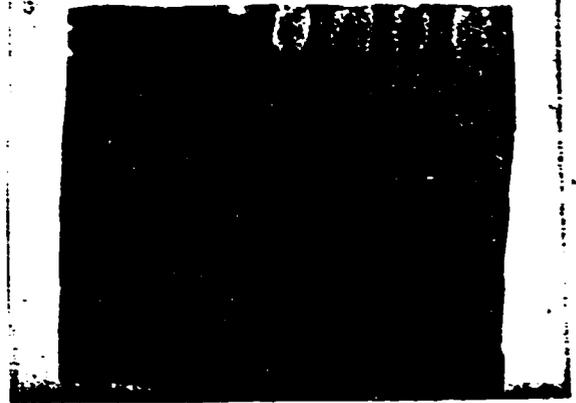


Endoglucanasa

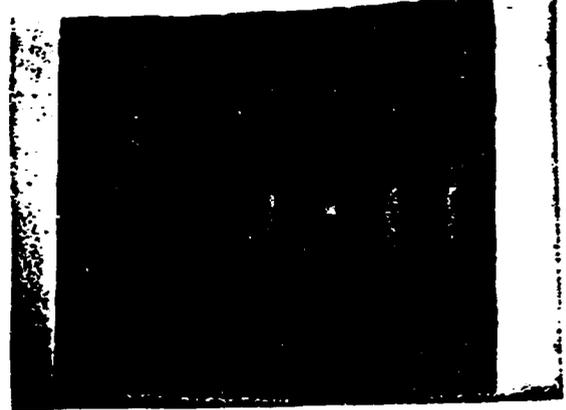
Sumergido
Días 0 al 6



Sólido
Días 0 al 6



Xilanasa



Proteínas Solubles

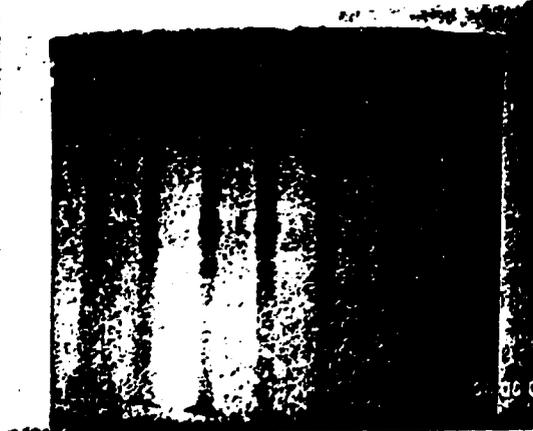


Lámina 1

Patrones electroforéticos de celulasa de la cepa LM-1

GRAFICO 2

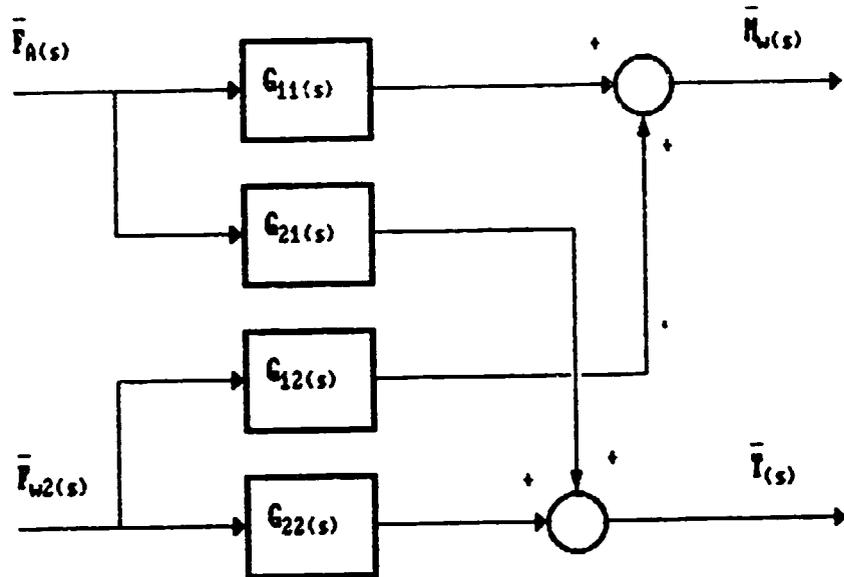


FIG. 1 : PROCESO CON 2 SALIDAS CONTROLADAS Y 2 VARIABLES MANIPULADAS

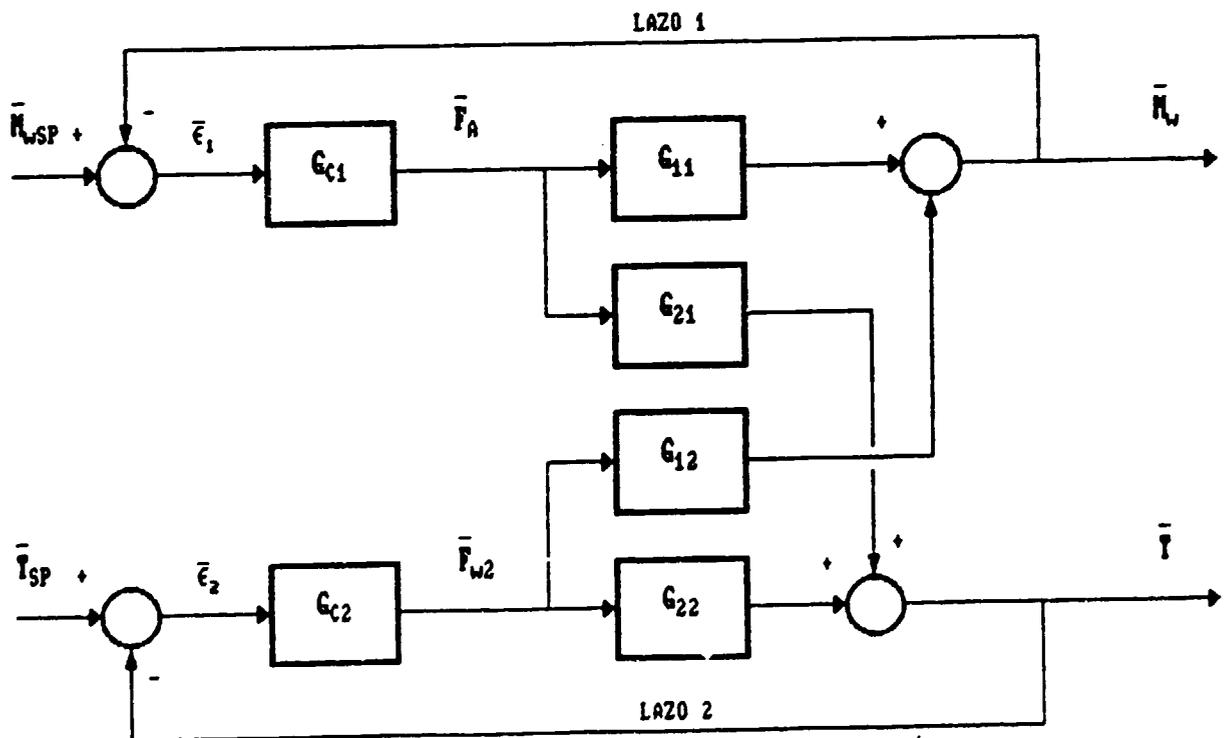
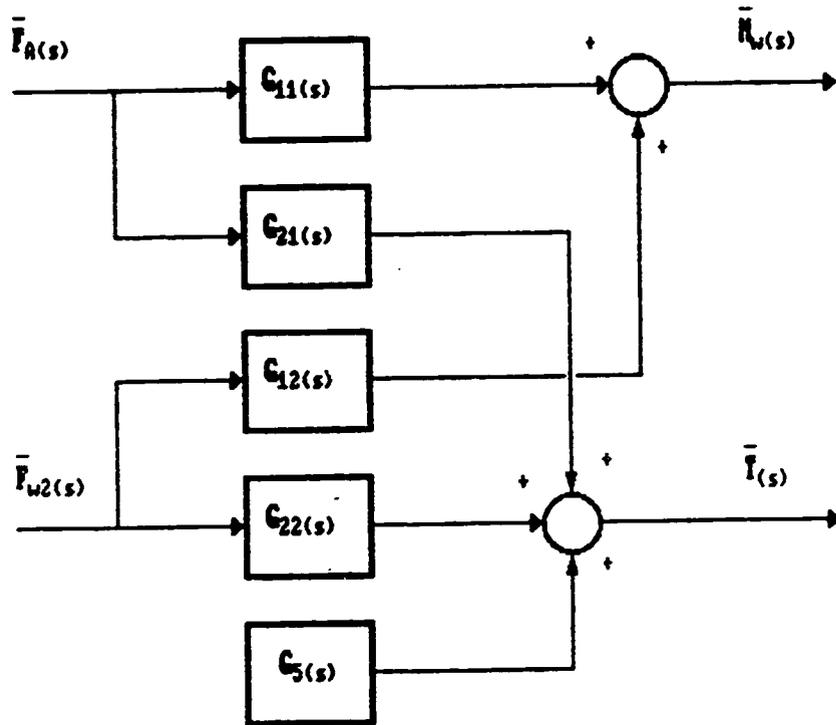


FIG. 2 : DIAGRAMA DE BLOQUES DEL PROCESO CON 2 SALIDAS CONTROLADAS Y 2 VARIABLES MANIPULADAS EN LAZO CERRADO

GRAFICO 3



PROCESO CON 2 SALIDAS CONTROLADAS Y 2 VARIABLES MANIPULADAS
(CONSIDERANDO VARIACION DE MASA POR CONSUMO)

GRAFICO 4
LAZO 1

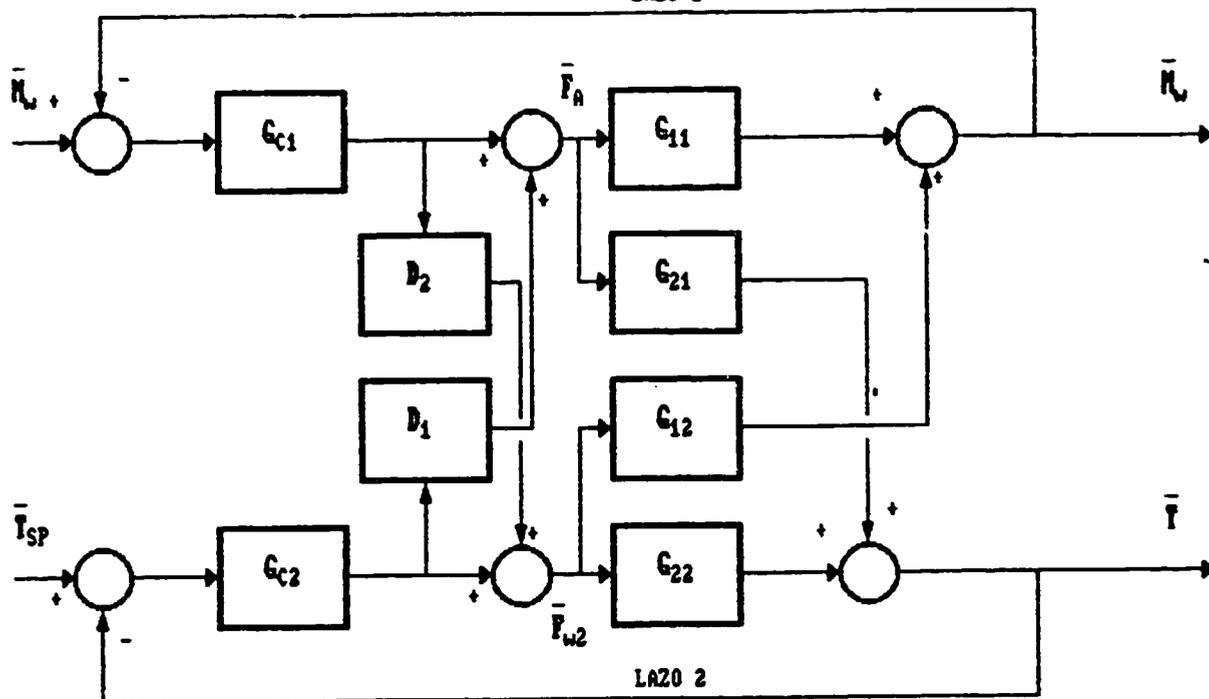


FIG. 3 : DIAGRAMA DE BLOQUES CON 2 LAZOS DE CONTROL DE RETROALIMENTACION (FEEDBACK) Y 2 DESACOPLADORES

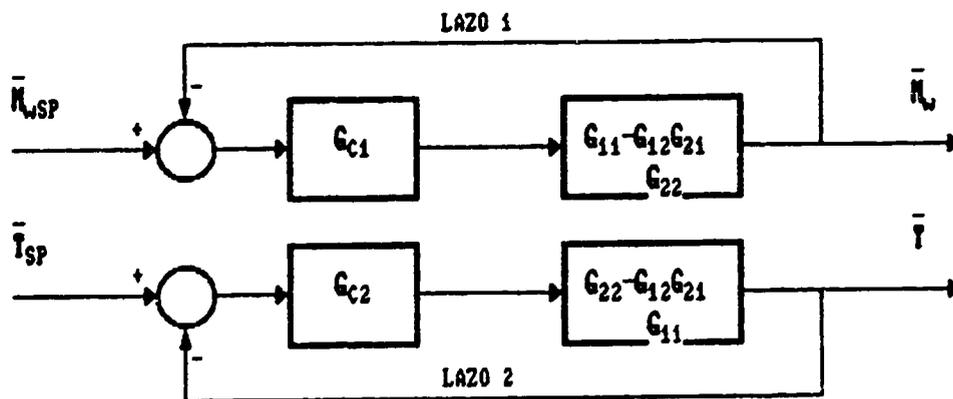


FIG. 4 : DIAGRAMA DE BLOQUES CON DESACOPLAMIENTO TOTAL (EQUIVALENTE AL ANTERIOR)

GRAFICO 5

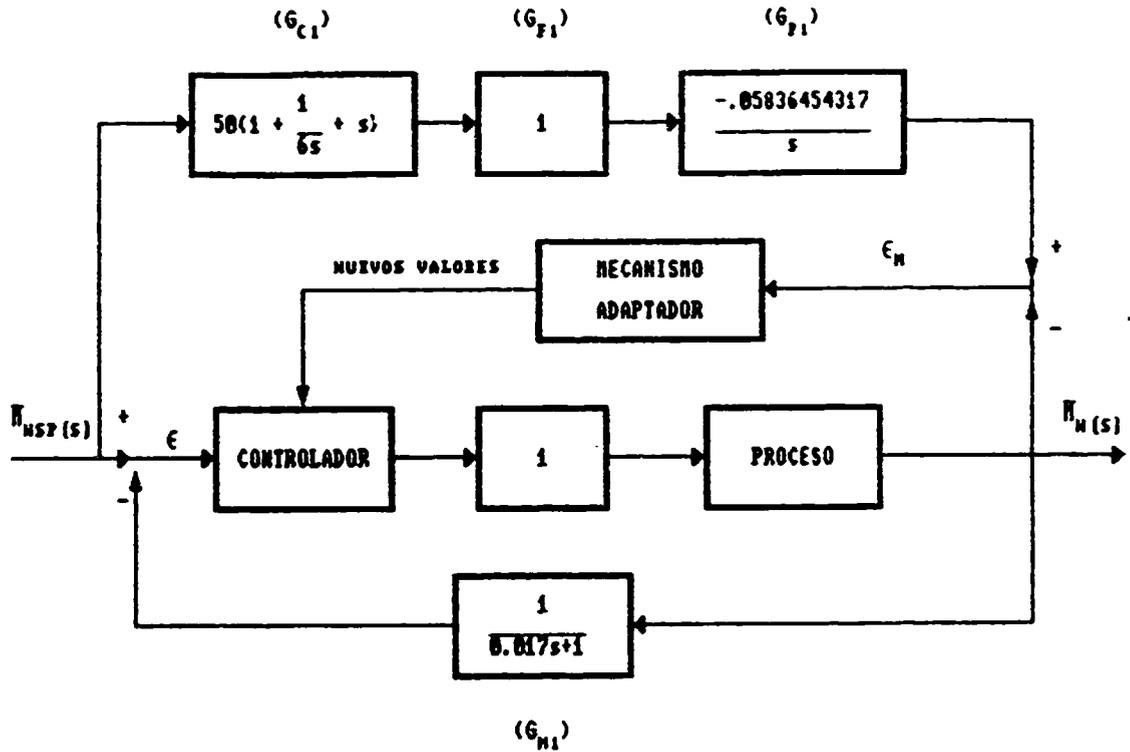


DIAGRAMA DE CONTROL ADAPTIVO DE HUMEDAD, PARA VARIACION EN SET POINT (LAZO DESACOPLADO)

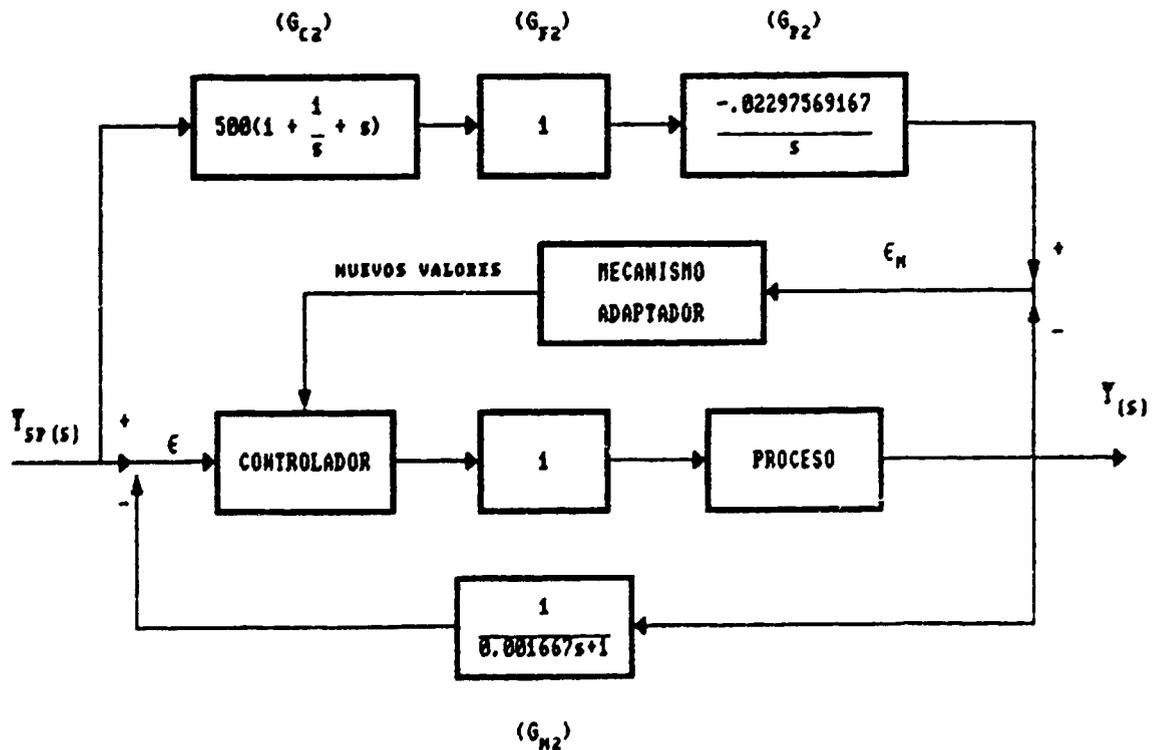


DIAGRAMA DE CONTROL ADAPTIVO DE TEMPERATURA, PARA VARIACION EN SET POINT (LAZO DESACOPLADO)

GRAFICO 6

Respuesta analógica en simulación para cambio de humedad de sólido en reactor

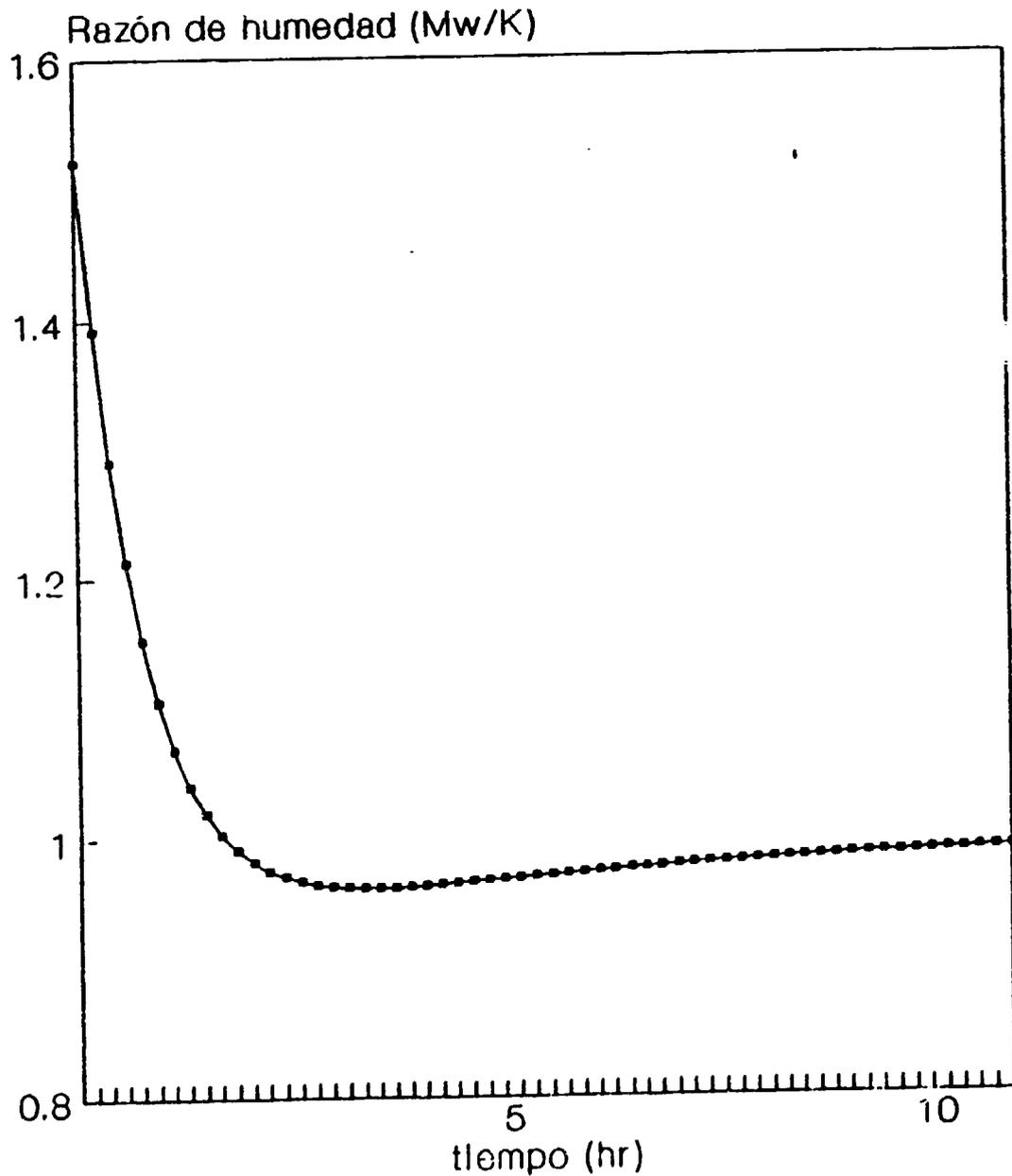


GRAFICO 7

Respuesta discreta en simulación para cambio de humedad de sólido en reactor

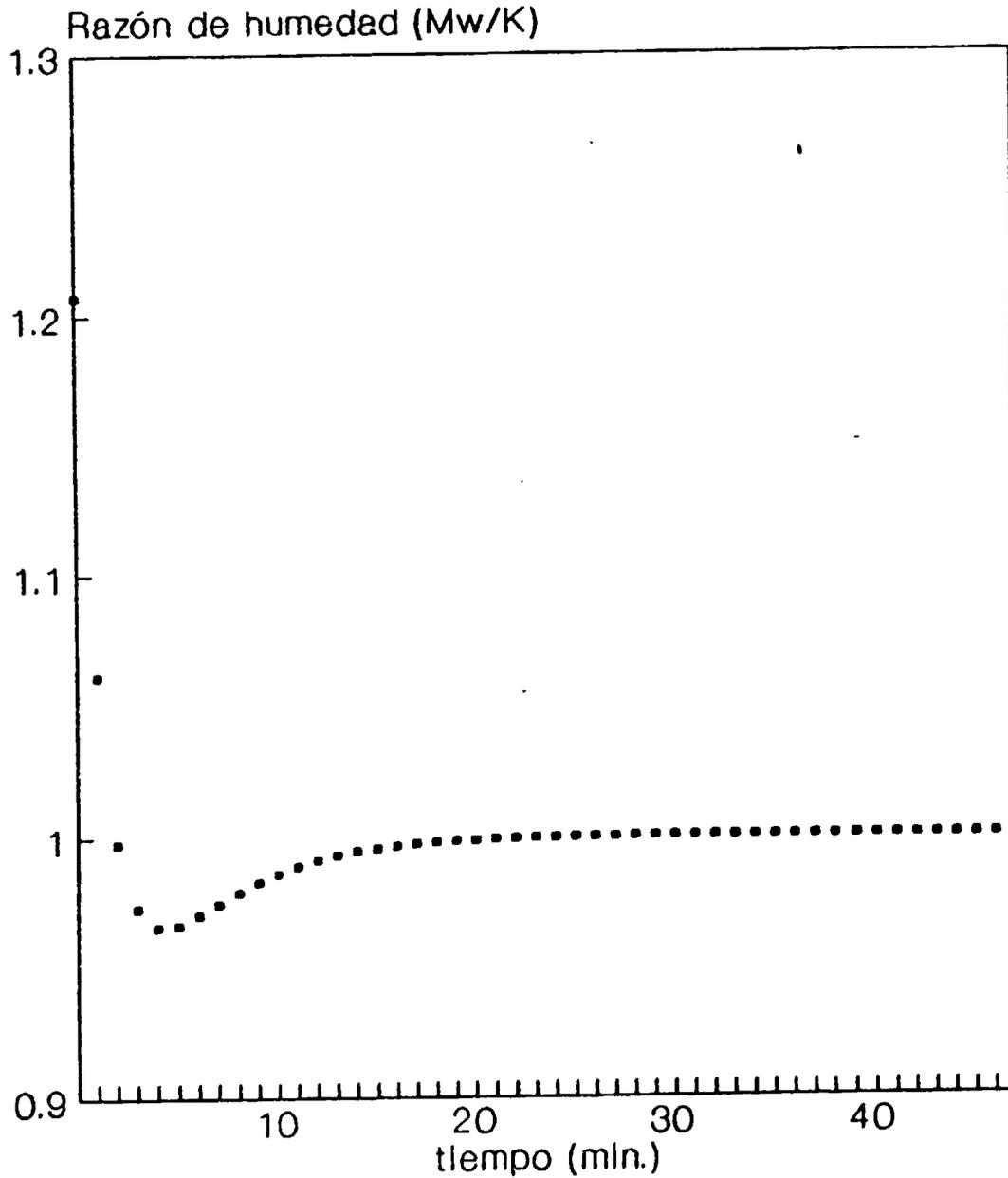


GRAFICO 8
Respuesta analógica en simulación para
cambio de temperatura en reactor

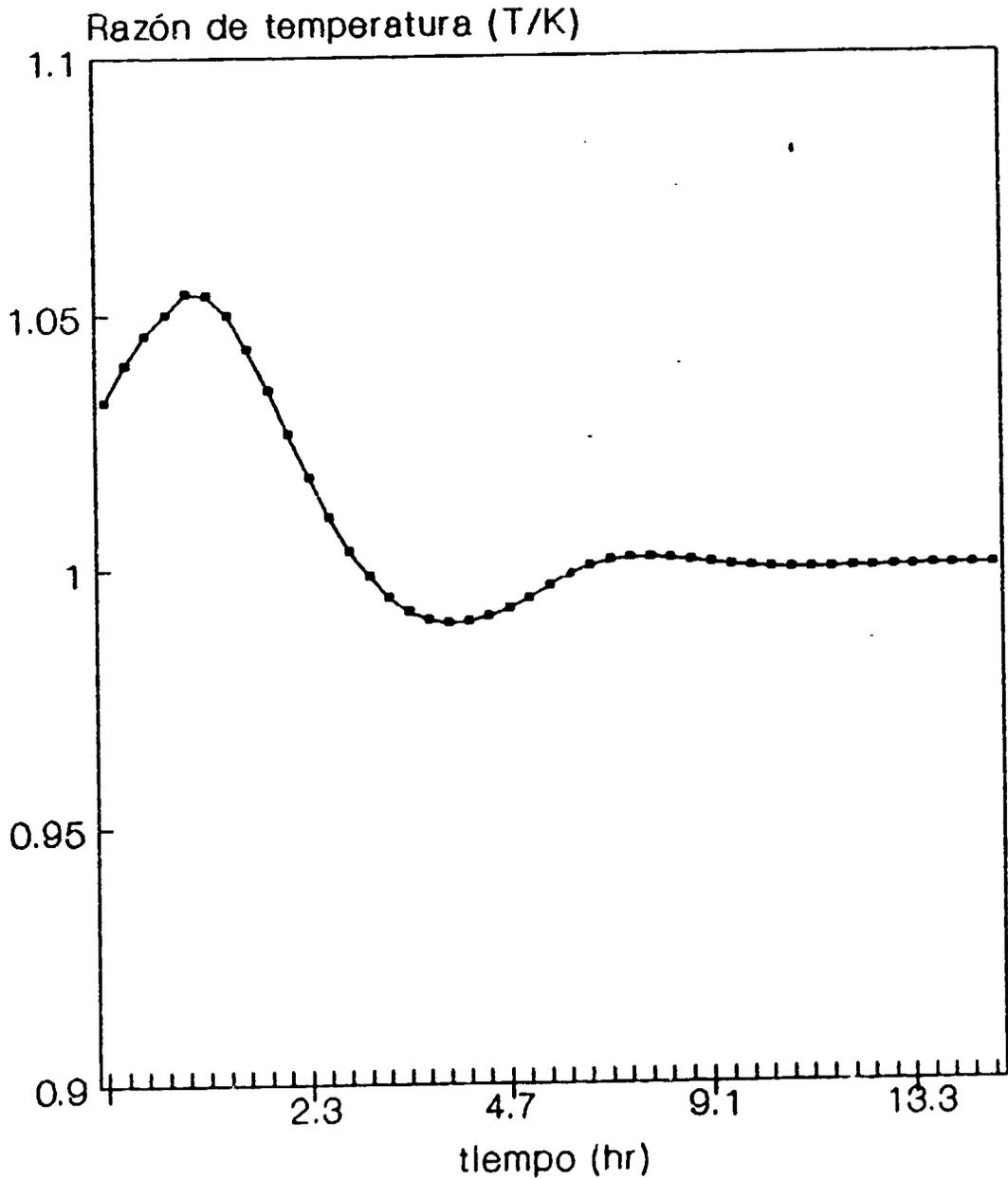


GRAFICO 9

Respuesta discreta en simulación para
cambio de temperatura en reactor

