

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y MANUFACTURERA



INFORME TECNICO

**CONTROL DE BIOPROCESOS EN
BIOTECNOLOGIA Y BIOHIDROMETALURGIA**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUIMICO

PRESENTADO POR

JORGE LUIS WONG DAVILA

PROMOCION 90-II

UNI, MARZO DE 1999

A mis padres

INDICE

Indice

I .- INTRODUCCION	3
II .- ACTIVIDAD PROFESIONAL	6
IIa .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN EL LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA (LMB) / UNALM	6
A .- Organo empresarial	6
B .- Relación profesional-empleador	11
C .- Trabajo profesional realizado	12
D .- Funciones desempeñadas	12
E .- Objetivos principales de las actividades	12
IIb .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN LA EMPRESA SINTESIS QUIMICA SA	14
A .- Organo empresarial	14
B .- Relación profesional-empleador	14
C .- Trabajo profesional realizado	15
D .- Funciones desempeñadas	16
E .- Objetivos principales de las actividades	17
IIc .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN LA EMPRESA SOUTHERN PERU LTD.	
A .- Organo empresarial	17
B .- Relación profesional-empleador	17
C .- Trabajo profesional realizado	18
D .- Funciones desempeñadas	19
E .- Objetivos principales de las actividades	20
F .- Alternativas de solución. Análisis técnico-económico	24
I.- LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA (LMB) / UNALM	
G .- Desarrollo y sustentación	26
Apéndice F	82

H .- Conceptos complementarios. Soluciones planteadas	82
I .- Control de desarrollo de las etapas de trabajo	82
J .- Determinación de la performance	83
K .- Evaluación económica final	83
L .- Conclusiones y resultados finales	83

II.- SINTESIS QUIMICA SA

G .- Desarrollo y sustentación	85
H .- Conceptos complementarios. Soluciones planteadas	110
I .- Control de desarrollo de las etapas de trabajo	114
J .- Determinación de la performance	114
K .- Evaluación económica final	114
L .- Conclusiones y resultados finales	115

III.- SOUTHERN PERU LTD.

G .- Desarrollo y sustentación	121
H .- Conceptos complementarios. Soluciones planteadas	156
I .- Control de desarrollo de las etapas de trabajo	158
J .- Determinación de la performance	160
K .- Evaluación económica final	161
L .- Conclusiones y resultados finales	163
Referencias / Bibliografía	164
Apéndice	173

INVESTIGACION Y APLICACION INDUSTRIAL DE PROCESOS DE BIOTECNOLOGIA EN EL PAIS: INSTRUMENTACION Y CONTROL DE OPERACIONES Y BIOPROCESOS UNITARIOS

I.- INTRODUCCION

Es conocido que a través de la biotecnología se puede lograr un desarrollo en países en desarrollo. Ella puede ser aplicada a la agricultura, mediante el tratamiento genético y el cultivo de tejidos, y también en la industria en general, mediante la producción de diversas enzimas que realizan procesos diversos (fermentación, acidificación, tratamiento ambiental de residuos contaminantes, etc).

Está anticipado que, dado el rápido paso del desarrollo de la biotecnología en las áreas agrícola, ambiental así como del cuidado de la salud, lo cual resulta en una mayor variedad de productos y una reducción de costos, la demanda por la nueva biotecnología en países en desarrollo tendrá un aumento gradual en el futuro cercano (y ya en el presente). Países en desarrollo que carecen de la infraestructura para la producción de compuestos y para los procesos de nueva biotecnología tendrán que depender de la importación de estos productos y en las licencias de los procesos de los países industrializados, repitiendo el ciclo de dependencia que ya ha ocurrido con otras tecnologías como la microelectrónica (Yuthavong & Gibbons, 1994). Es, por lo tanto, importante que los países en desarrollo formen un grupo capacitado para la biotecnología de punta, así como la convencional, para así poder cumplir con la creciente demanda.

El mercado mundial de la biotecnología en los 90s:

movimiento de ca. \$ 66000 millones / año

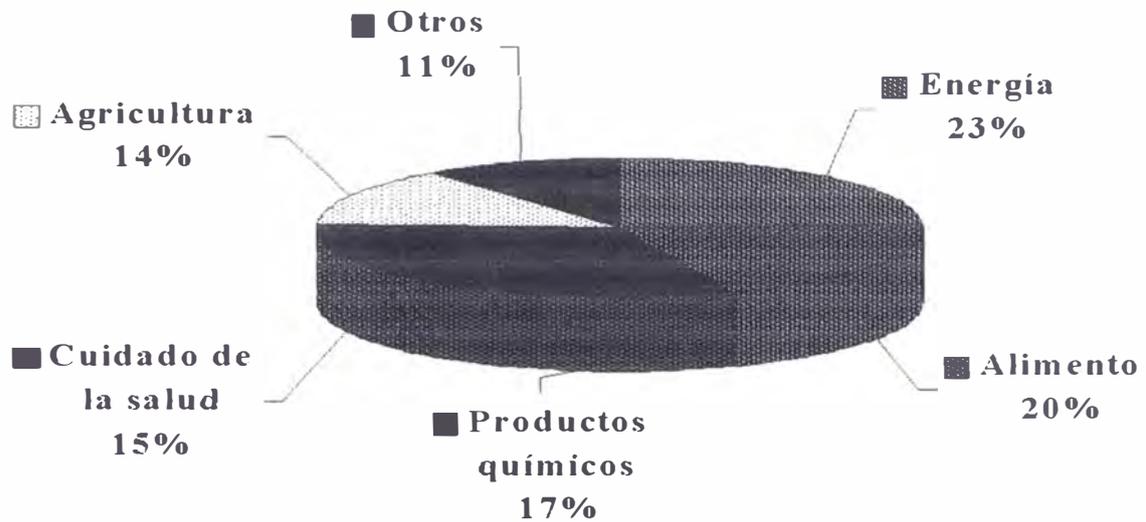


Figura 1

El mercado mundial de la biotecnología en los 90s: sector cuidado de la salud

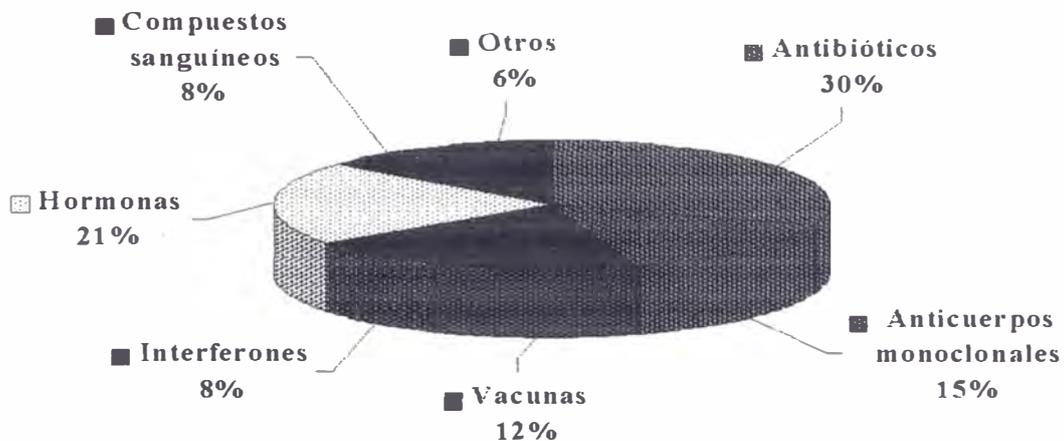


Figura 2

Uno de los mayores retos que enfrenta el mundo en el siglo 21 es lograr una seguridad en alimentos sin degradar la base de los recursos naturales. Las corporaciones que están envueltas internacionalmente en la agricultura están envueltas en un amplio rango de actividades que incluyen el campo de los fertilizantes, la protección de cultivos, la industria de semillas, la salud animal y la biotecnología. Las inversiones del sector privado en biotecnología son multidisciplinarias en las áreas de medicina, farmacéutica, agricultura y aplicaciones industriales tales como la fermentación. Entre los sectores público y privado no hay mayor incentivo de colaboración mutua en investigación agrícola que el enorme reto de la seguridad global de alimentos. Y en el panorama general, el desarrollo de aplicaciones en biotecnología es de capital intensivo, requiriendo inversiones sustanciales a largo plazo que a menudo pueden ser movilizados sólo por el sector privado (James, 1997).

El campo de la investigación y desarrollo, y el campo de la producción industrial (industria de procesos), en los que he tenido oportunidad de trabajar, deben marchar en forma paralela. Específicamente en la biotecnología, es necesario la armónica cooperación entre biólogos, ingenieros y químicos (Harshbarger *et al.*, 1995).

El siguiente breve tratado profesional se centra en la parte de los **mecanismos de control y automatización en procesos que incluyen el empleo de la biotecnología.**

El control de procesos es parte del desarrollo de la **inteligencia artificial**, la cual a su vez se identifica con los **sistemas expertos (Stephanopoulos & Stephanopoulos, 1986)**. Debido a que este informe analiza mi labor en 3 instituciones, se ha analizado sistemas de control con los que he laborado en los 3 casos, y se da pautas para la optimización de los sistemas.

Así, pues:

- Se estudia los fenómenos de transferencia de masa y calor, y los mecanismos de control y automatización necesarios para procesos de reacción en biotecnología, aplicados en cultivo de sustrato sólido para la producción de enzimas. Labor profesional en el **LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA (LMB) /Universidad Nacional Agraria.**
- Asimismo, se estudia la aplicación industrial de la biotecnología para la reacción en un lecho de catalizador inmovilizado, para la producción de compuestos medicinales. Labor profesional en la empresa **SINTESIS QUIMICA SA.**
- Finalmente, se estudia los mecanismos de control y automatización adicionales para los procesos de obtención de cobre a partir de la lixiviación ácida de óxidos y de la biolixiviación de sulfuros en botaderos. Labor profesional en la empresa **SOUTHERN PERU LTD.**

II .- ACTIVIDAD PROFESIONAL

IIa .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN EL LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA: LMB / UNALM

A .- Organo empresarial

Nombre de la empresa:

LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA (LMB)

/ Universidad Nacional Agraria La Molina

Razón social:

Laboratorio de investigación dependiente de la Universidad Nacional Agraria La Molina / Facultad de Ciencias. Institución no lucrativa.

Dirección:

Av. La Universidad s/n

Lima 12

Teléfono: 0 1 4352035 - 863

0 1 3495647 - 863

Fax: 1 1 3405670

Sector al que pertenece:

Investigación y Desarrollo en el área de Biotecnología

Estructura orgánica:

- Dirección
- Subdirección
- Asistencia de Investigación

La Figura 3 muestra el organigrama en el LMB:

Líneas de Investigación y Desarrollo:

- Procesos de cultivo en sustrato sólido (SSC)
- Control y automatización de procesos en SSC
- Producción de enzimas: Celulasa, xilanasa
- Inmovilización de enzimas
- Desarrollo de nuevas cepas de microorganismos

Layout

La **Figura 4** muestra el esquema del Cuarto minipiloto de Fermentación. La **Figura 5** muestra la distribución (layout) del laboratorio.

Para la **Figura 4** tenemos la siguiente leyenda:

I A/D	interface: convertidor analógico / digital
H1	humidificador
C1	compresor
GV1	generador de vapor
TV1	tanque de vapor
ET	estación de trabajo (engineering workstation)

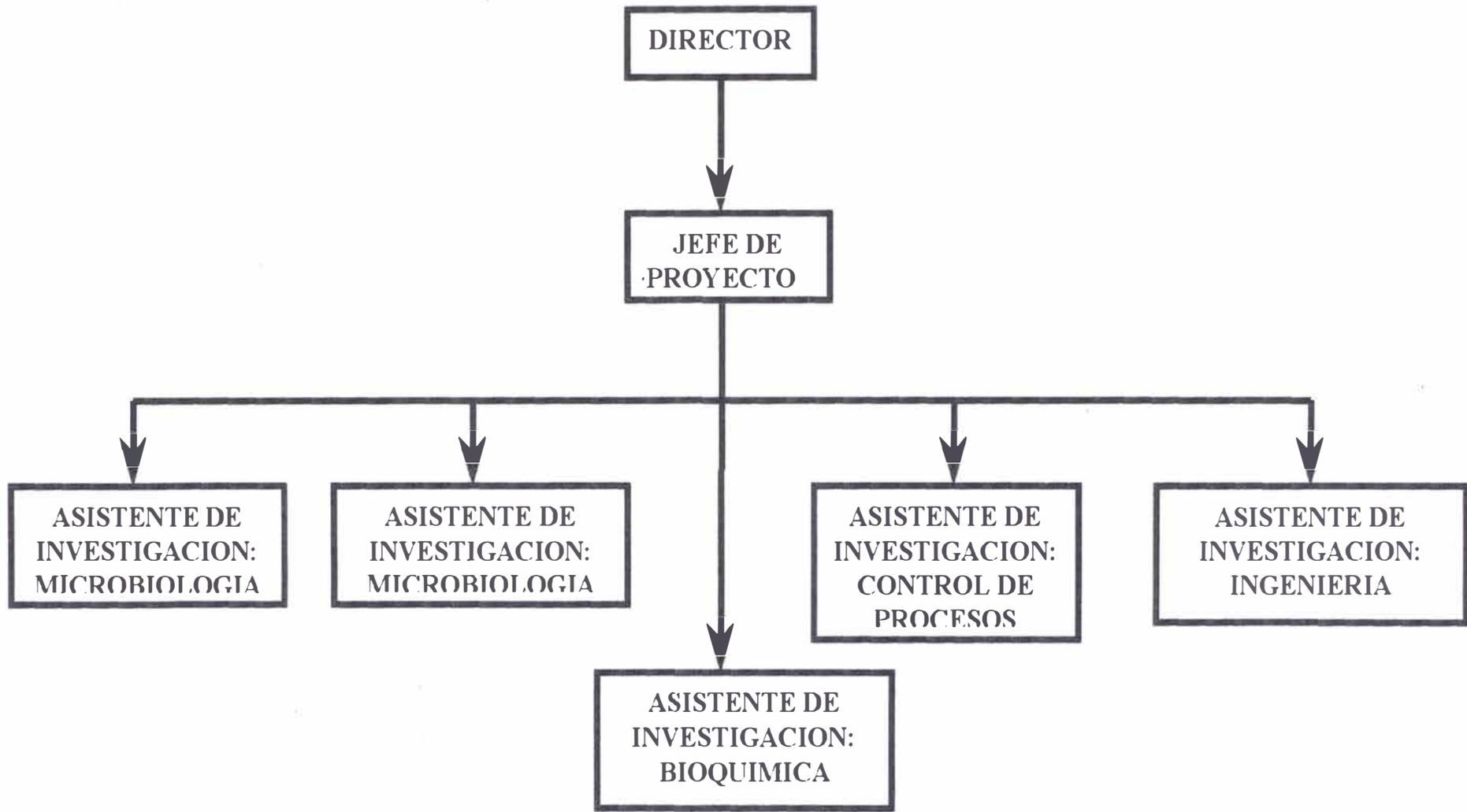


Figura 3
ORGANIGRAMA EN EL LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA

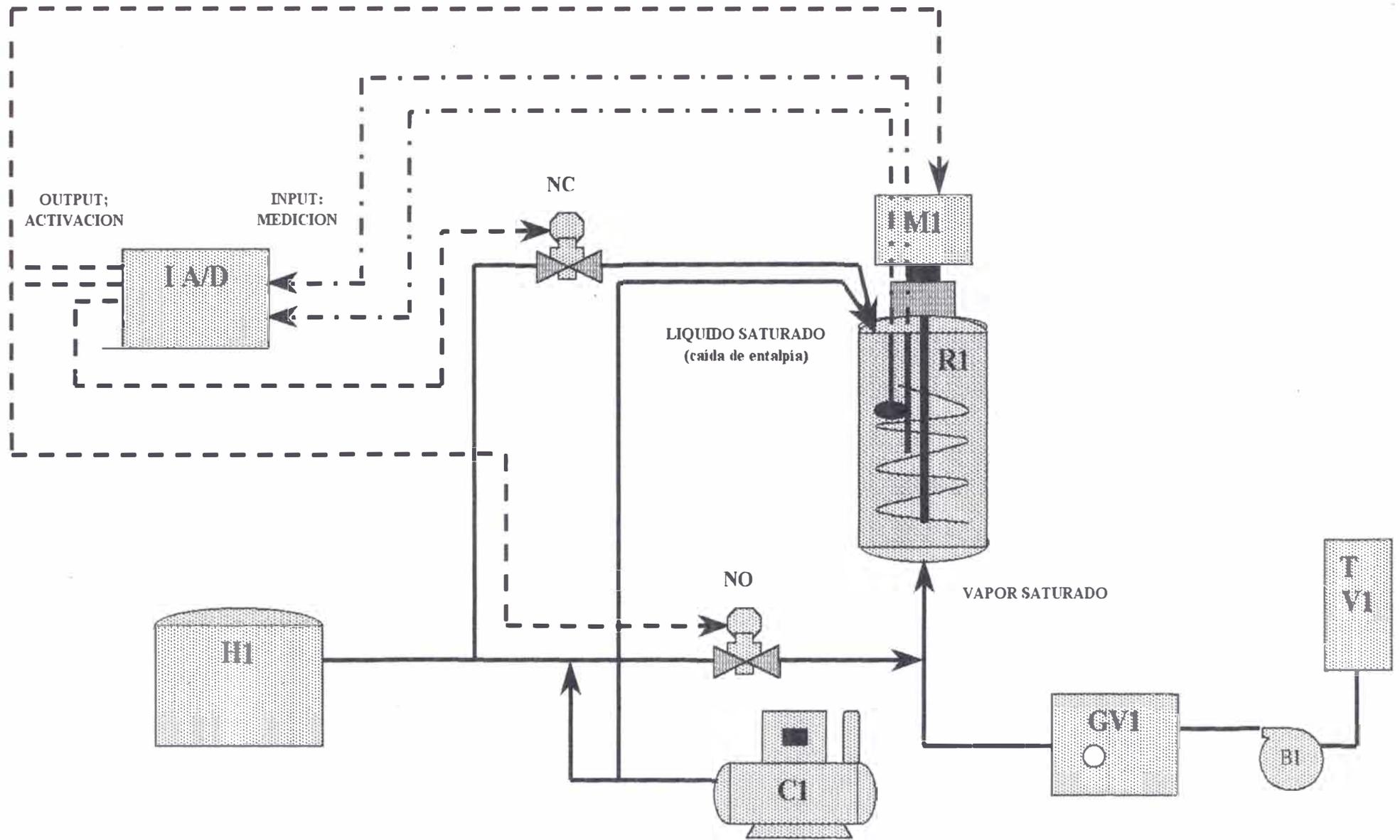


Figura 4
LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA
ESQUEMA DEL AREA DE FERMENTACION

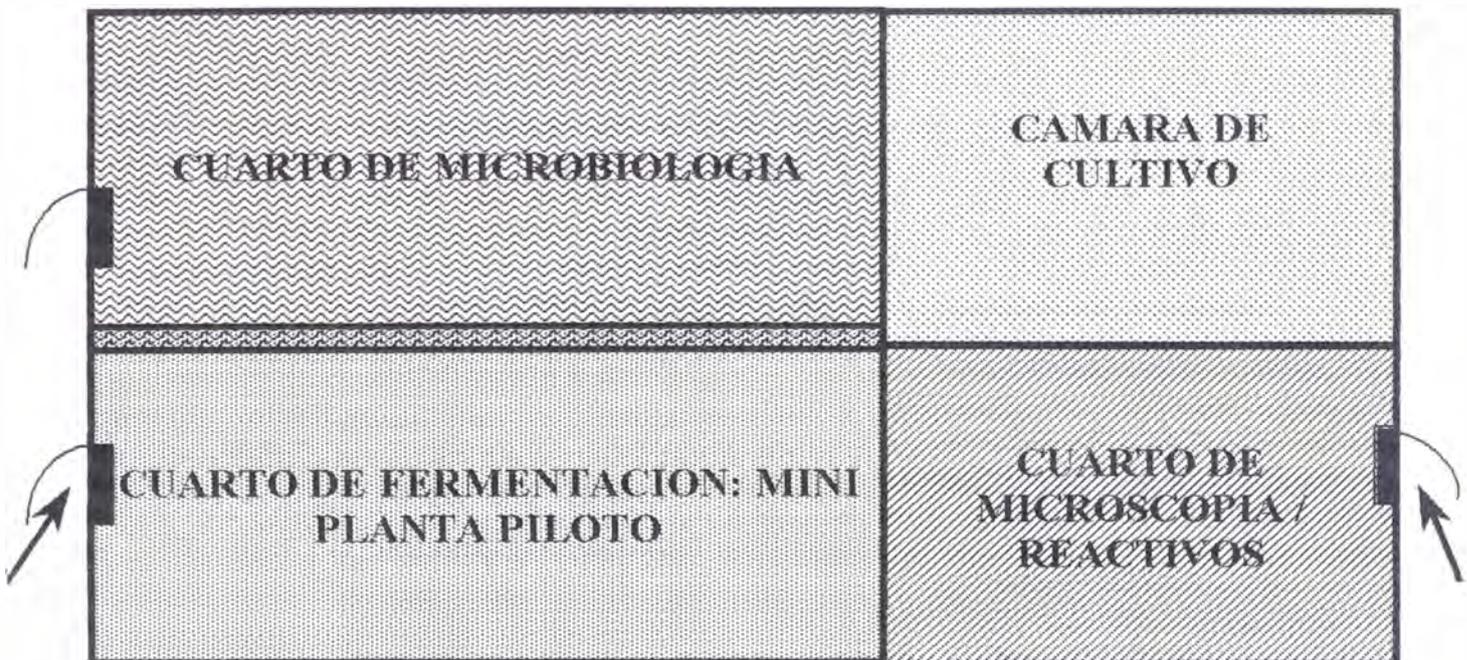


Figura 5
PLANO DE DISTRIBUCION DE AREAS EN EL LMB

B .- Relación profesional-empleador

- Condición: nombramiento
- Documento probatorio: Certificado de nombramiento y de prestación de servicios.

C .- Trabajo profesional desarrollado

Cargo desempeñado:
 Asistente de Investigación

Funciones asignadas:

Estudio de los fenómenos de transferencia involucrados en reacciones en sustrato sólido. Diseño de un sistema de control de procesos para cultivo en sustrato sólido.

Tiempo de prestación de servicios en la actividad descrita:

Dos años y dos meses.

D .- Funciones desempeñadas y la aplicación de técnicas profesionales**Técnicas de ingeniería necesarias:**

Simulación de control de bioprocesos para la óptima operación de una mini planta piloto, con aplicación de las técnicas de control de procesos y de análisis matemático. Asimismo, es necesaria la aplicación de las técnicas y la teoría de la transferencia de masa y la transferencia de calor.

Personal administrado:

No hubo personal administrado por mí en esta labor.

Formato de registro de actividades:

El registro de actividades estuvo conformado por los informes periódicos de las experiencias y avances al Director del Laboratorio.

E .- Objetivos, alcances y características principales de la labor

El LABORATORIO DE MICOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA (LMB) de la Universidad Nacional Agraria es un centro de Investigación y Desarrollo, donde los actuales trabajos se centran en el aprovechamiento de residuos vegetales para producción de enzimas, en especial de celulasa y xilanasa mediante el cultivo en sustrato sólido (CSS). Asimismo, se estudia actualmente la inmovilización de microorganismos y de enzimas.

Aplicaciones socio-económicas .-

Se busca nuevas fuentes de materias primas para aumentar la producción de biomasa microbiana y de otros productos (como enzimas) en la industria de la microbiología. Desde este punto de vista, la celulosa es de especial interés, puesto que puede ser usada como materia prima renovable y barata para la producción de alimento para animales. Su utilidad en la producción de biomasa microbiana depende con todo de varios factores, tal como se verá más adelante.

Sabemos que un gran porcentaje del carbono orgánico de la biomasa vegetal es acumulado como lignocelulosa, el principal componente estructural de las paredes vegetales. Este vasto recurso provee combustible y materiales como la madera, el papel y la fibra; también es la lignocelulosa –es decir, la celulosa unida con la lignina- una fuente potencial de alimento humano y para animales en general. Esta aplicación puede ser hecha mediante bioconversión. La resistencia a la bioconversión de la lignina presente con la celulosa es aun el principal obstáculo al mayor aprovechamiento biotecnológico de este recurso.

En la naturaleza, la lignocelulosa es digerida en el estómago de los rumiantes y en el sistema digestivo de insectos. La madera se degrada en los bosques, las plantas se descomponen sobre el suelo y en el agua. El residuo de esta descomposición es reciclado nuevamente al suelo y contribuye a su estructura y fertilidad. Gradualmente se va acumulando conocimientos para encauzar estos procesos en aplicaciones agroindustriales.

Particularmente, el cultivo en sustrato sólido, si se llega a conocer y dominar los mecanismos inherentes a este proceso, es socioeconómicamente muy adecuado para países en desarrollo.

IIb .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN LA EMPRESA SINTESIS QUIMICA SA

A .- Organo empresarial

Nombre de la empresa:

SINTESIS QUIMICA SA

Razón social:

Sociedad anónima

Dirección:

Fábrica

Calles 7 y 15 (Carr. Panamericana N. Km 31)

Lima 22

Tel.: 0 1 885071

Fax: 1 1 885068

Oficinas administrativas

Calle Bolognesi 125 (piso 11)

Lima 18

Tel.: 0 1 44744462

Fax: 1 1 4474420

Sector al que pertenece:

Empresa química industrial. Sector de farmoquímica.

Estructura orgánica:

En la Figura 4 se puede ver un organigrama de esta institución.

Layout

Podemos ver una disposición de planta en la Figura 16.

Líneas de producción

Compuestos β -lactámicos (penicilinas) / productos medicinales antibióticos derivados de la penicilina:

- Amoxicilina
- Ampicilina
- Cefalexina
- Cloranfenicol
- Cloxacilina
- Dicloxacilina
- Oxacilina

Estos productos son vendidos a clientes: Laboratorios en el Perú y en varios otros países.

B .- Relación profesional-empleador

- Condición: contrato
- Documentos probatorios: certificado de nombramiento, laboral y de prestación de servicios.

C .- Trabajo profesional desarrollado

Cargo desempeñado:

Ingeniero de Supervisión y control de Producción

Funciones asignadas:

Control y supervisión del área de Productos Intermedios, dependiente del Departamento de Producción. En esta área se produce ácido 6-aminopenicilánico (6-APA).

Tiempo de prestación de servicios:

Desde Junio 1993 hasta Setiembre 1993: Nombrado

Desde Setiembre 1993 hasta Agosto 1995: Contratado

D.- Funciones desempeñadas y la aplicación de técnicas profesionales

Técnicas de ingeniería necesarias:

Como Ingeniero de Control y Supervisión, fue necesario aplicar los conocimientos de Operaciones y Procesos Unitarios para considerar las posibles mejoras en la optimización de los procesos.

Personal administrado:

Se administró cuatro trabajadores: un técnico capataz y 3 obreros.

Formato de registro de actividades:

El control y supervisión de procesos de producción en lotes quedaba registrado en formatos de producción. **Un modelo de este formato se incluye en apéndice.**

E.- Objetivos, alcances y características

SINTESIS QUIMICA SA es una empresa química industrial que produce sustancias medicinales, de aplicación en la farmacéutica. Estas sustancias son β -lactamatos, derivados penicilánicos de una base común, que es la penicilina G ó V.

El área de producción en la cual se centra este trabajo es el de fabricación de 6-APA como producto final puro, sólido seco y en polvo.

El 6-APA es un ácido proteico que sirve de base para la manufactura de diversos compuestos derivados de la penicilina. Estos compuestos derivados (β -lactamatos) son también producidos en SINTESIS QUIMICA SA en un proceso conocido como semisíntesis. Este nombre se da debido a que provienen en este caso de la base intermedia 6-APA, no siendo producidas totalmente por biosíntesis, al contrario que la penicilina G o V propiamente dicha.

La estructura básica de las penicilinas es el 6-APA, el que consiste en un anillo pentagonal de tiazolidina con un anillo cuadrangular β -lactámico condensado.

La penicilina biosintética G ó V (y muy poco tipo O) son producidas por fermentación en forma comercial, a nivel industrial.

Las penicilinas semisintéticas son producidas mediante una ruptura química ó enzimática de la penicilina G (ó V) para formar 6-APA, el cual es químicamente 'reciclado' para producir otro derivado penicilánico.

Debido a sus mejores características (estabilidad en medio ácido, resistencia a las β -lactamasas, mayor efectividad antimicrobiana), las penicilinas semisintéticas han llegado a ser usadas ampliamente en terapia.

IIc .- ACTIVIDAD PROFESIONAL EN LA EMPRESA SOUTHERN PERU LTD.

A .- Organo empresarial

Nombre de la empresa:

SOUTHERN PERU LTD.

Razón social:

Sociedad de responsabilidad limitada

Dirección:

Oficina central:

Av. Caminos del Inca 181

Lima 22

Planta de lixiviación LIX / SX /EW: Toquepala

Sector al que pertenece:

Empresa química minero metalúrgica industrial. Sector de minería.

Estructura orgánica:

Podemos verla en el organigrama de la Figura 6.

Layout

Lo podemos ver en la Figura 7.

Líneas de producción

- (a) Cobre en placas: - Blister (99,3 % de pureza en cobre)
- De refinería (99,97% de pureza en cobre)
- De lixiviación... 99,999 % de pureza en cobre)
- (b) Molibdenita (sulfuro de molibdeno)

Estos productos son vendidos a clientes en el Perú y también son exportados.

B .- Relación profesional-empleador

- Condición: funcionario de la empresa.
- Documentos probatorios: certificado de nombramiento, laboral y de prestación de servicios.

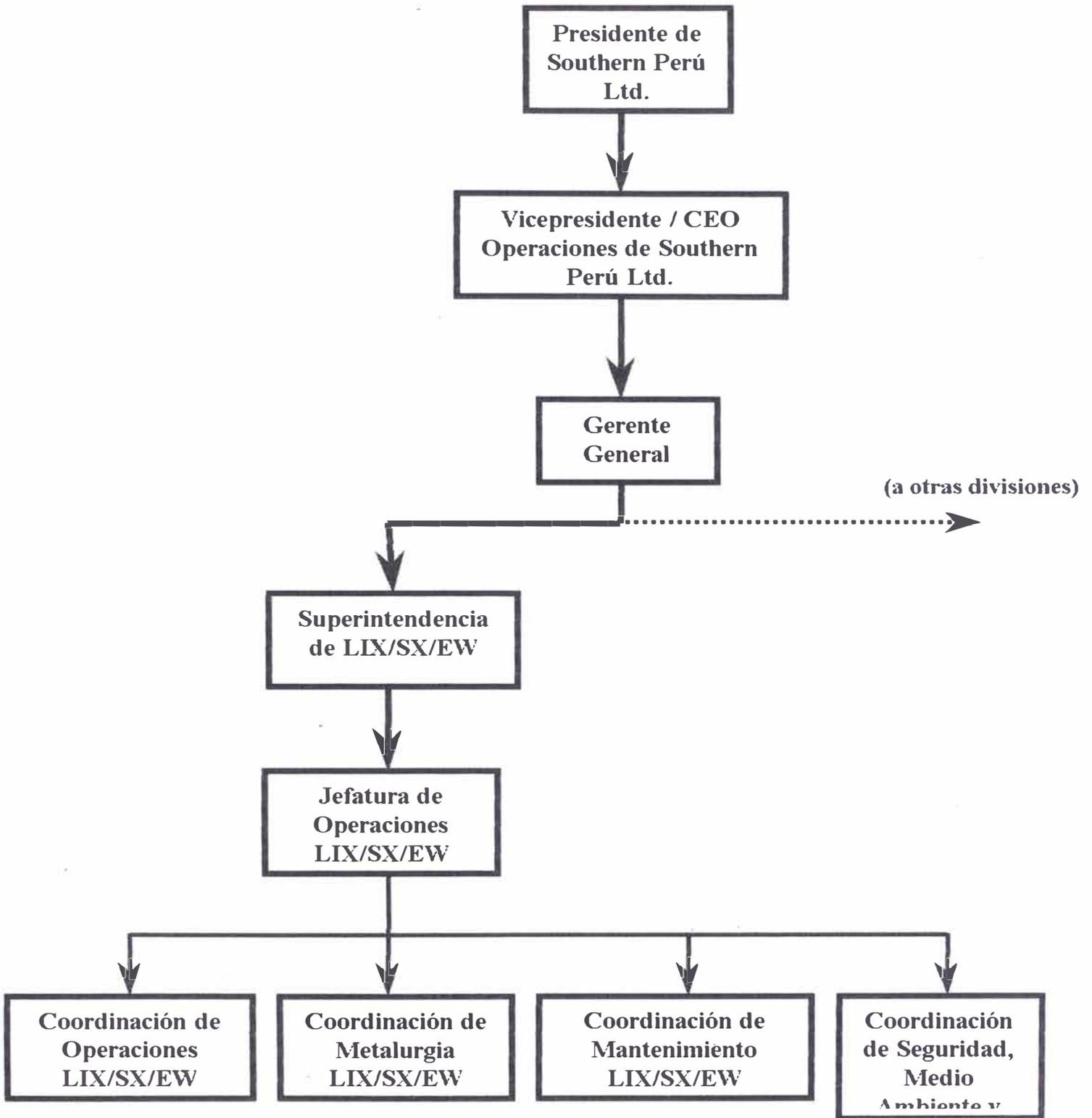
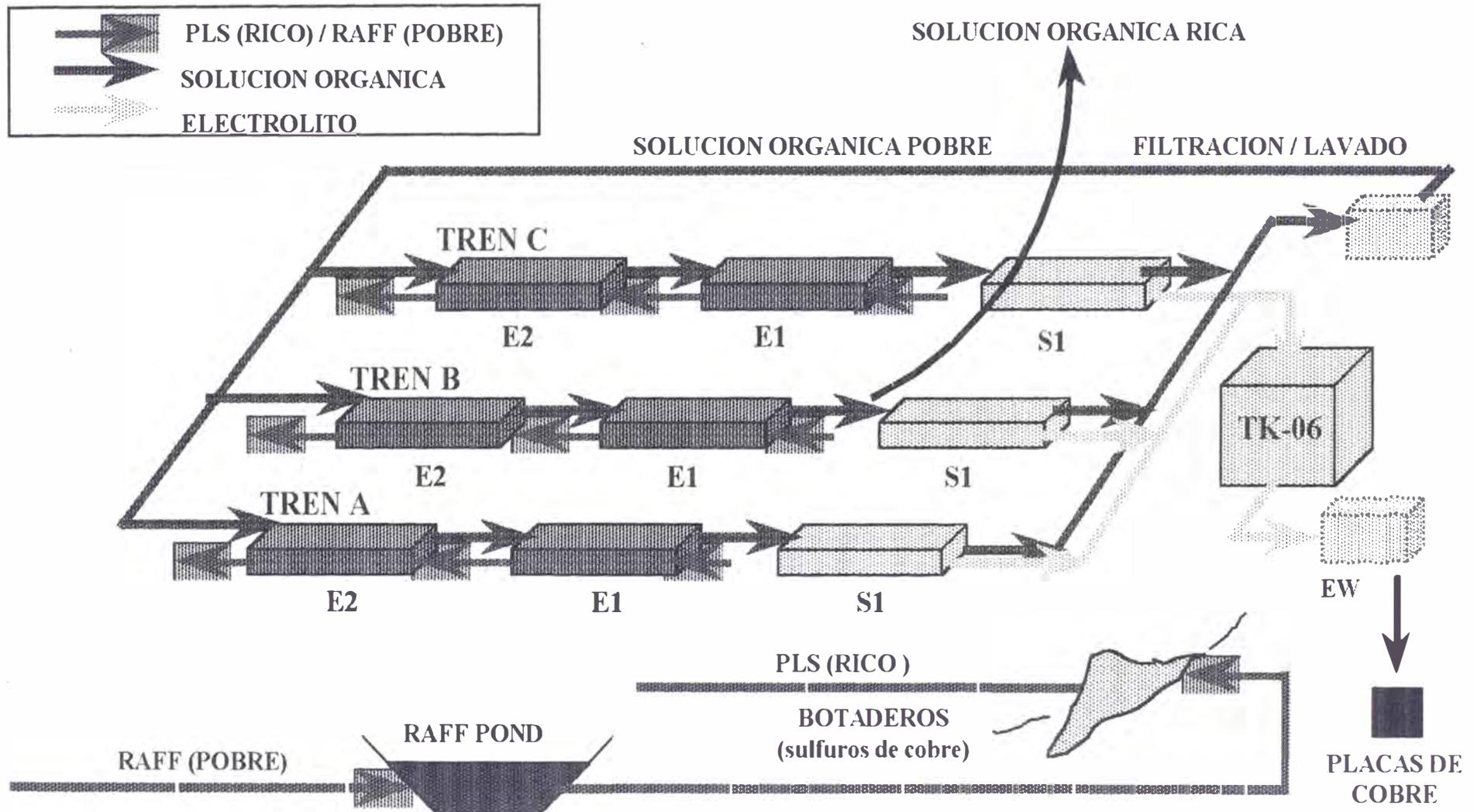


Figura 6
Organigrama en Southern Perú Ltd.

Figura 7
 SOUTHERN PERU: PLANTA DE LIX / SX / EW
 DIAGRAMA DE PROCESO
 EXTRACCION POR SOLVENTES



C .- Trabajo profesional desarrollado**Cargo desempeñado:**

Ingeniero de Supervisión de Producción.

Funciones asignadas:

Planta de lixiviación: Control y supervisión de Operaciones en la planta.

Tiempo de prestación de servicios:

Desde el 01.06.97

D .- Funciones desempeñadas y la aplicación de técnicas profesionales**Técnicas de ingeniería necesarias:**

Como Ingeniero de Control y Supervisión, fue necesario aplicar los conocimientos de Operaciones y Procesos Unitarios para considerar las posibles mejoras en la optimización de los procesos.

Personal administrado:

En la planta de lixiviación se ha establecido un sistema basado en coordinación de guardia en el Area de Operaciones mediante un sistema de trabajo en equipo polifuncional. Este equipo en cada turno de guardia en el Area de Operaciones consta de 1 Coordinador y 4 Técnicos Polifuncionales (TPF). Además, durante el día, de 8 am a 5 pm, se administra la labor adicional de 4 TPFs encargados de las Operaciones de cosecha final de cobre.

El sistema polifuncional y de trabajo rotativo en equipo nos da un particular esquema:

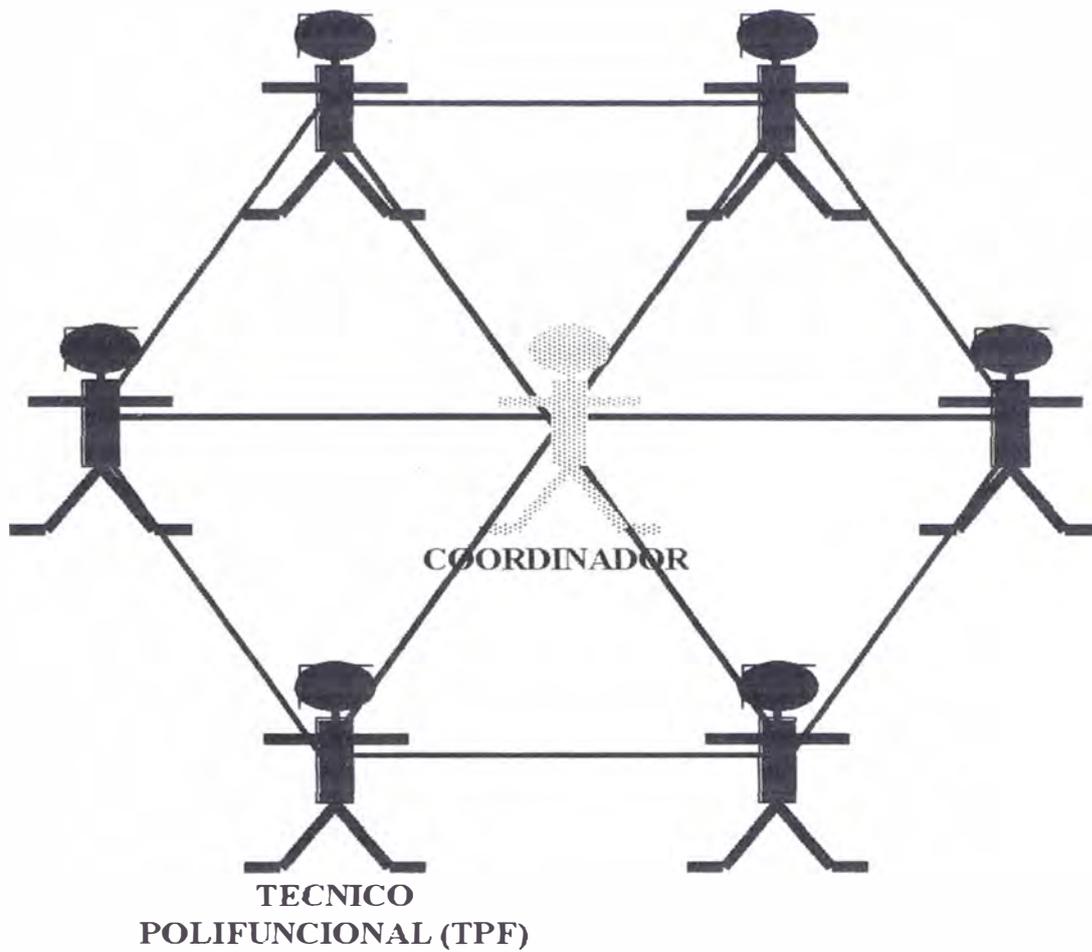


Figura 8
Esquema típico de comunicación de equipo polifuncional en el sector de lixiviación

Formato de registro de actividades:

El control y supervisión de producción queda registrado en formatos de producción, los que en general son impresos automáticamente

con data recopilada de la base de datos del sistema integrado Allen-Bradley.

E .- Objetivos, alcances y características

La automatización progresiva adicional de la planta de LIX / SX / EW, empleando sistemas inteligentes -hay un alto grado de automatización, mas con control clásico en general- es uno de los objetivos de la compañía Southern Perú Ltd. La expansión en las divisiones desde la mina hasta la fundición y la lixiviación, pasando por la concentración de minerales, está en pleno proceso.

F .- Alternativas de solución. Análisis técnico-económico

Estas se expondrán al final, luego de un análisis de los 3 campos de trabajo. Se resumen en la evaluación independiente de cada sistema, así como insertas en las conclusiones finales.

G .- Desarrollo y sustentación

I.- LMB

Generalidades / descripción del sistema / trabajo técnico y de ingeniería realizado .-

Como se mencionó antes, el objetivo en el LMB es obtener productos económicamente rentables por procesos de biotecnología, por lo que la ingeniería bioquímica para control de procesos y automatización es aplicada para establecer los mejores mecanismos de control en el complejo procesos del SSC, y así optimizarlo en calidad y costos.

Con todo, la optimización en la calidad estará dada principalmente por el establecimiento de una línea de flujo adecuada en el downstream. Ello es algo que no está incluido aquí, mas se menciona en general las sugerencias para un downstream processing eficiente para este sistema de SSF.

Definición: **fermentación** = crecimiento de microorganismos mediante transferencia de electrones a moléculas orgánicasceptoras, lo que es lo usual en condiciones anaeróbicas.

En biotecnología, el término fermentación también se ha ampliado para describir procesos de oxidación. La fermentación permite sólo una baja ganancia de energía, requiriendo por lo tanto un alto flujo de materia.

El residuo agrícola, con hidrato de carbono casi en su totalidad, es reducido y fija nitrógeno a la molécula básica, resultando un aminoácido fácilmente digerible por animales de ganadería.

La degradación de la celulosa mediante el hongo *Trichoderma reesei* se lleva a cabo a través de un sistema de inducción, que comprende varias celulasas. En este mecanismo, la celobiohidrolasa juega un rol principal. Actualmente, se está tratando de crear sistemas biocatalíticos que rompan (hidrolicen) la estructura cristalina de la biomasa celulósica. El complejo celulasa ideal debe ser altamente activo sobre el sustrato. La Figura ilustra la sinergia del complejo de enzimas. Actualmente, modelos moleculares electrónicos de las enzimas nos ayudan a comprender mejor su mecanismo de reacción.

A continuación se trata en detalle el mecanismo de modelamiento, simulación y control en el sistema de SSF en el LMB.

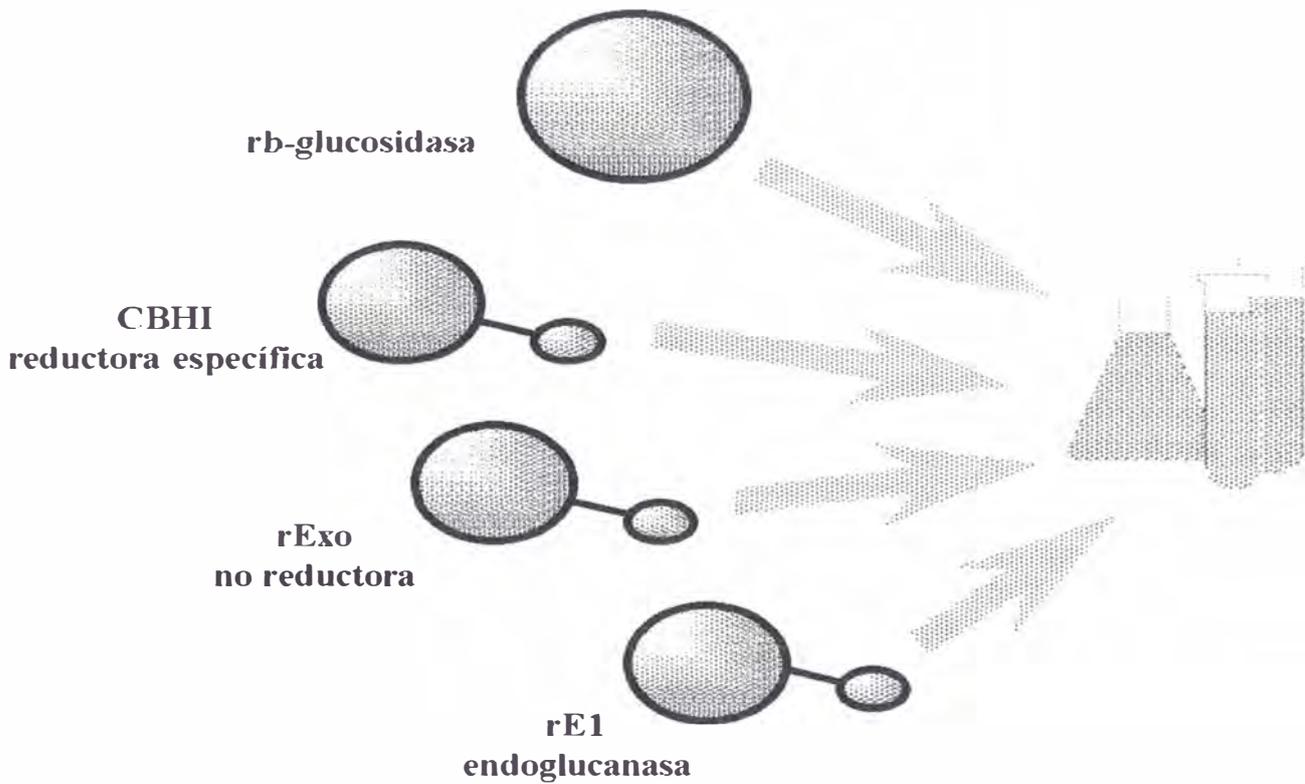


Figura 9
Acción sinérgica de celulasas sobre la celulosa

MODELAMIENTO MATEMATICO EN REACTOR SSF.-

Generalidades .-

Establecemos a continuación los **parámetros involucrados** en el sistema:

La eficiencia, productividad y economía de un CSS son afectadas por varios factores (Ralph, 1976; Hesseltine, 1972, 1977; Aidoo *et al.*, 1982; Lonsane *et al.*, 1982, 1985). El factor individual más importante es el contenido de humedad del medio, lo que hace al CSS fundamentalmente diferente del cultivo sumergido en medio líquido. La cantidad restringida de agua disponible produce lo siguiente:

- a) La actividad del agua en sustratos sólidos puede ser significativamente menor a 0,99, especialmente en cultivos de sustrato sólido, donde casi no hay agua libre. Ello tiende a favorecer el crecimiento de hongos filamentosos, los que en general se desarrollan bien en un rango de actividad de agua de 0,93 a 0,98 (Corry, 1973). La mayoría de las bacterias y levaduras crece en forma óptima con una actividad de agua mayor a 0,99.
- b) La transferencia de calor tiende a restringirse (Moo-Young *et al.*, 1983; Rathbun & Shuler, 1983), lo que puede producir problemas de sobrecalentamiento (Laukevics *et al.*, 1984). El enfriamiento por evaporación (arrastre de vapor, y consiguientemente de calor latente) es probablemente el método de enfriamiento más efectivo para CSS (Laukevics *et al.*, 1984), a pesar de que ello reduce la disponibilidad de agua (Trevelyan, 1974).

Actividad del agua .-

El parámetro actividad del agua (a_w) se define como la razón presión de vapor de agua sobre la superficie del sustrato a la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura (Scott, 1957):

$$a_w = \frac{P_{vs}}{P_v^o} = HR$$

La relación entre a_w y el contenido de humedad en el sistema no es lineal: más bien, cambios notables en el contenido de humedad producen cambios pequeños en la actividad del agua.

En la mayoría de los sustratos, el agua libre aparece antes de llegar a un nivel de contenido de humedad del 80 % (Moo-Young *et al.*, 1983). El rango usual de variación es de 30 % a 85 % (Laukevics *et al.*, 1984; Oriol *et al.*, 1988^a; Reid, 1989).

El contenido óptimo de humedad para el cultivo de microorganismos en CSS es altamente dependiente de las propiedades de enlace con agua que tenga el sustrato. Así, pues, el nivel de humedad es un parámetro poco confiable para predecir el crecimiento de un microorganismo. Actualmente se acepta que los requerimientos de agua de los microorganismos deben definirse en términos de la actividad del agua (a_w) del ambiente, y no tanto en términos del contenido de agua del sustrato sólido.

La disminución del valor de a_w tiene un marcado efecto sobre el crecimiento microbiano (Troller, 1980). En forma típica, una disminución en a_w prolonga el periodo de la fase lag (latente) de un organismo, disminuye la velocidad de crecimiento y resulta en menor cantidad de biomasa producida.

Generación y remoción de calor metabólico .-

La actividad metabólica de los microorganismos genera una gran cantidad de calor: 13000 – 14000 KJ/Kg de sustrato seco usado (Ryoo, 1990). Debido a la gran conductividad calorífica del sustrato semisólido, la acumulación de calor es un serio problema en la SSF. La elevación de temperatura afecta el crecimiento de los

microorganismos, la actividad enzimática y la formación de producto.

La tasa total de transferencia de calor puede ser limitada por las tasas de transferencia intra e interparticular, por el flujo de transferencia de la superficie de la partícula a la fase gaseosa, ó por la velocidad de remoción del calor en la fase gaseosa. Las características térmicas del material orgánico y el bajo contenido de humedad en el CSS crean condiciones especialmente difíciles para la transferencia de calor (Saucedo–Castañeda *et al.*, 1990).

La tasa de transferencia de calor de la fase sólida a la fase gaseosa puede ser considerablemente incrementada mediante el flujo forzado (convección forzada) del gas (aire) a través del medio sólido.

La transferencia de calor es probablemente el factor más crucial en procesos de CSS a escala industrial (Laukevics *et al.*, 1984). Los mecanismos convencionales de enfriamiento por convección ó conducción son inadecuados para disipar el calor metabólico debido a la baja conductividad térmica de la mayoría de sustratos sólidos, lo que provoca elevados gradientes de temperatura a lo largo del volumen de control. Sólo el enfriamiento mediante evaporación puede producir una aceptable disminución de temperatura. Aunque la función primaria de la aereación durante un cultivo en sustrato sólido es proveer oxígeno para el crecimiento de los microorganismos y expulsar el dióxido de carbono producido, también sirve para la transferencia de calor y humedad entre las fases sólida y gaseosa.

La tasa de evaporación, y por tanto la tasa de enfriamiento, puede ser controlada con una adecuada regulación del flujo de aire seco ó de la humedad del aire ingresante al reactor. Así, un aumento del flujo de aire puede usarse para reducir la temperatura en el sustrato. Cuando la temperatura es demasiado baja, una disminución del flujo

de aire hará aumentar la temperatura debido a la respiración microbiana. En este último caso, se debe tener cuidado en evitar que el oxígeno se convierta en limitante en la reacción (Cannel & Moo-Young, 1980b). El aire seco puede remover una cantidad mayor de calor del medio sólido que el aire saturado de humedad, pues, el aire saturado carga ya una energía extra de 58,2 J/l a 25 °C (Reid, 1989). Con todo, el aire seco también puede dar problemas por secado excesivo del sustrato en el medio.

En general, el mantener una temperatura y una humedad constantes en cultivos de sustrato sólido es generalmente difícil (Tengerdy, 1985). El tipo de reactor puede tener gran influencia en la calidad del control de temperatura. Se ha descrito (Barstow *et al.*, 1988) la operación de un sistema integrado de control de temperatura y humedad, donde un programa con valores fijados (seteados) de control para temperatura, humedad y humedad relativa (del aire) mantenían una temperatura y un contenido de humedad constantes durante el cultivo de *Rhizopus oligosporus* en maíz granulado en un bioreactor de tambor rotatorio de 15 l. En este sistema, fluye aire seco hacia el sustrato forzando un enfriamiento evaporativo, balanceándose a su vez el sistema con agua fría rociada sobre el sustrato para mantener un contenido constante de humedad.

Estudios realizados en fermentación de pajilla de trigo mediante *Chaetomium cellulolyticum* (Dale *et al.*, 1988) 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 propiamente dicha. El concepto es aquí forzar evaporación de agua para remover el calor metabólico, reemplazando al mismo

tiempo el agua evaporada según se necesite. De este modo, podremos controlar también la temperatura en el sistema.

En el caso del microorganismo *Trichoderma*, se sugiere una temperatura de más de 30 °C en un medio de pajilla (bagacillo) para su desarrollo y la producción de celulasa (Deschamps *et al.*, 1985).

Control aséptico:

El control frente a microorganismos contaminantes se puede realizar a un pH ácido, entre 3 y 5. Para el crecimiento de *Trichoderma reesei*, un pH adecuado es de 3,5 – 4. Ello ayuda a minimizar la contaminación por bacterias (Wood, 1982; Gibbons *et al.*, 1986; Yang, 1988).

Observando el sistema del reactor piloto, notamos que la diferencia de presión de entrada-salida en el bioreactor también ayuda a que microorganismos extraños fuera del volumen de control no penetren en el sistema. El aire pasa por un filtro antes de entrar al compresor (ver Figura 4). Además, un diseño helicoidal del agitador en el bioreactor resulta ser el más adecuado para la transferencia de masa y calor en un cultivo en sustrato sólido. Así, pues, el bioreactor diseñado en el LMB es del tipo tanque agitado, con una rosca helicoidal, similar a las empleadas en el modelo INRA-Dijon (Durand & Chereau, 1988), aunque el eje de nuestro reactor es fijo, frente al modelo mencionado, el cual tiene ejes móviles. cuestión está diseñado La transferencia de masa depende tanto de las características propias del sólido como de la humedad presente, del tamaño de partícula (malla) y del flujo de aire.

VARIABLES Y NOMENCLATURA :

HA	Humedad absoluta del aire (g agua/g aire seco)
F	Flujo total (l/min)
F _A	Flujo de aire seco (l/min)
F _w	Flujo de agua _(L) (l/min)
F _v	Flujo de agua _(V) (l/min)
F _{CO₂}	Flujo de CO ₂ (l/min)
T	Temperatura en el volumen de control / reactor (°C)
T _{AMB}	Temperatura exterior (del ambiente/alrededores) (°C)
h	Entalpía (cal/g)
h _o	Coefficiente de transferencia calorífica (cal/m ² -min-°C)
C _p	Calor específico (cal/g-°C)
M _s	Masa de sustrato (seco)
M _B	Biomasa (masa de microorganismos) (g)
M _P	Masa de producto formado (g)
M _w	Masa de agua _(L) (g)
M _v	Masa de agua _(V) (g)
M _T	M _s + M _B + M _P + M _w
\dot{m}_{v3}	Flujo másico (g/min)
ρ	Densidad (g/l)
Q _{METAB}	Flujo de calor metabólico (cal/g-min)
A	Area de superficie externa de reactor (m ²)
λ	Calor latente de vaporización/condensación (cal/g)
X	Concentración de biomasa (g microorg./g materia seca)
t	Tiempo (min)

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) con aire: goteo o rocío)
3	línea 3 (salida)
SP	set point

LÍNEA	DESCRIPCION
1	Entrada de aire
2	Entrada de agua (goteo, aspersion)
3	Salida de aire / vapor / CO ₂ del reactor
4	Salida de aire seco de compresor
5	Entrada de aire seco a humidificador
6	Entrada de aire seco a reactor
7	Entrada de agua a generador de vapor
8	Salida de vapor regulado de generador

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

Balance de masa / energía .-

Condiciones de asunción previa (ver Figura):

- La línea 2, para goteo y rociado de agua saturada, está normalmente cerrada, y sólo se abre 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 agitación es casi perfecta.
- 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 continuo flujo de aire / vapor / CO₂).
- La tasa de consumo de O₂ por los microorganismos para efectos de balance de masa es despreciable.
- La variación de masa seca (M) en el tiempo es despreciable.

En una primera instancia, se puede asumir una razón de consumo de O₂ aproximadamente igual a la de generación de CO₂ (Sugama & Okazaki, 1979) 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.

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

Sea:

$$r_{O_2} = \frac{dO_2}{dt} = \text{velocidad consumo de } O_2 \approx 0$$

$$r_{WM} = \frac{dm_{WM}}{dt} = \text{tasa de generación de agua por metabolismo} \approx 0$$

(esta generación se produce por reacción homogénea)

$$r_{\text{CO}_2} = \frac{dm_{\text{CO}_2}}{dt} = \text{tasa de generación de CO}_2$$

$$\frac{d(M_W + M_V)}{dt} = \text{velocidad de acumulación de agua (g/min)}$$

Además, sabemos que :

$$m_{V1} = \rho_{A1} F_{A1} H_{A1}$$

$$m_{V3} = \rho_{A3} F_{A3} H_{A3}$$

$$F_{A2} = 0$$

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 ('generación negativa') de oxígeno. Ello se debe al metabolismo de los microorganismos.

(a) Balance de masa total (BMT) :

$$\rho_1 F_1 + \rho_2 F_2 + r_W + r_{\text{CO}_2} + r_{\text{O}_2} = \rho_3 F_3 + \frac{dM_T}{dt}$$

(b) Balance de masa por componentes (BMC):

- Flujo de aire :

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

- Flujo de agua (líquido + vapor):

$$\rho_{V1}F_{V1} + \rho_{W2}F_{W2} + \Gamma_W = \rho_{V3}F_{V3} + \rho_{W3}F_{W3} + \frac{d(M_W + M_V)}{dt}$$

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

$$M_W \gg M_V$$

Luego:
$$\rho_{V1}F_{V1} + \rho_{W2}F_{W2} \approx \rho_{V3}F_{V3} + \frac{dM_W}{dt}$$

$$\rho_{A1}F_{A1} HA_1 + \rho_{W2}F_{W2} \approx \rho_{A3}F_{A3} HA_3 + \frac{dM_W}{dt}$$

$$\rho_1 F_1 \approx \rho_{A1} F_{A1} \quad (\rho_{A1} F_{A1} \gg \rho_{V1} F_{V1})$$

$$\rho_3 F_3 \approx \rho_{A3} F_{A3} \quad (\rho_{A3} F_{A3} \gg \rho_{V3} F_{V3})$$

$$\rho_{A1} F_{A1} \approx \rho_{A3} F_{A3}$$

$$\rho_{A1} \approx \rho_{A3} = \rho_A$$

Entonces,

$$F_{A1} \approx F_{A3} = F_A$$

- Flujo de CO₂:

$$\Gamma_{CO_2} = F_{CO_2 3}$$

2) Balance de energía (BE) .-

Es análogo al balance de masa:

Metabolismo:

$$E_{IN} + E_{GEN} = E_{OUT} + E_{GANADA} + ACUM. + \Delta Q_L$$

donde

E_{IN} = energía del aire y del vapor de la línea 1, y del agua líquida de la línea 2

E_{GEN} = energía del metabolismo

E_{OUT} = energía del aire y del vapor de la línea 3

E_{GANADA} = energía del VC al ambiente o viceversa (es función del coeficiente de transferencia de calor)

ΔQ_L = calor latente

Entonces:

$$(\rho_{A1}F_{A1}C_{PA1}T_{A1} + \rho_{V1}F_{V1}C_{PV1}T_{V1}) + \rho_{W2}F_{W2}C_{PW2}T_{W2} + Q_{METAB} =$$

$$(\rho_{A1}F_{A3}C_{PA3}T_{A3} + \rho_{V3}F_{V3}C_{PV3}T_{V3}) + h_c A(T - T_{AMB}) + \lambda (\rho_{V3}F_{V3} - \rho_{V1}F_{V1}) + \frac{d}{dt} [(M_S + M_B + M_P + M_W + M_V) C_P T]$$

$$M_S + M_B + M_P + M_W \gg M_V$$

Se asume aire saturado, en equilibrio.

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

Del balance de agua:

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

Y en un estado estacionario:

$$\frac{dM_{ws}}{dt} = 0 = \rho_A F_{As} (HA_1 - HA_3) + \rho_w F_{w2s}$$

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 objetivo 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):

Tomamos un proceso continuo, con las líneas (1), (2) y (3) normalmente abiertas.

Sea X = variable de proceso

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

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

Entonces :

$$\frac{d\bar{M}_w}{dt} = \rho_A (HA_1 - HA_3) \bar{F}_A + \rho_w \bar{F}_{w2}$$

Tomando transformadas de Laplace :

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

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

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

luego :

$$\bar{M}_{W(S)} = \frac{\rho_A (HA_1 - HA_3)}{s} \bar{F}_{A(S)} + \frac{\rho_W}{s} \bar{F}_{W2(S)} \dots\dots\dots(1)$$

Es decir,

$$\bar{M}_{W(S)} = G_{P1} \bar{F}_{A(S)} + G_{P2} \bar{F}_{W2(S)}$$

donde:
$$G_{P1} = \frac{\rho_A (HA_1 - HA_3)}{s}$$

$$G_{P2} = \frac{\rho_W}{s}$$

(G es función de transferencia)

Del balance de energía :

$$C_p T \frac{d}{dt} (M_S + M_B + M_P + M_W) + (M_S + M_B + M_P + M_W) C_p \frac{dT}{dt} =$$

$$\rho_A F_A [h_{A1} + HA_1 h_{v1} - h_{A3} - HA_3 h_{v3} + \lambda (HA_1 - HA_3)] +$$

$$\rho_W F_{W2} h_{W2} + Q_{METAB} + h_g A T_{AMB} - h_g A T$$

$$M_S + M_B + M_P + M_W \gg M_V$$

Por lo tanto:

$$M_S + M_B + M_P + M_W \cong M_T \quad (M_V \text{ es relativamente pequeño})$$

Y donde:

$$M_S + M_B + M_P = M_{\text{DRY}} = \text{masa seca}$$

C_p del sistema es aproximadamente constante. No hay mucha variación de temperatura en el volumen de control del reactor, que es lo que se puede asumir en un sistema con control automático.

$$\frac{dM_B}{dt} = 0 \quad (\text{asumido -ver asunciones más arriba})$$

$$M_T = M_{\text{DRY}} + M_W$$

$$\dot{Q}_{\text{METAB}} = Y_{Q/X} \frac{dM_B}{dt}$$

Ahora bien, nuestro objetivo es el control óptimo durante la fase de producción de enzima (celulasa), la cual es mayor durante la fase de crecimiento estacionaria del ciclo de vida del microorganismo (*T. reesei*). En esta fase,

$$\frac{dM_B}{dt} \approx 0$$

luego

$$\dot{Q}_{\text{METAB}} \approx 0 \quad (\text{es pequeño comparado con los restantes flujos de energía})$$

Entonces

$$C_p T \frac{d(M_{\text{DRY}} + M_W)}{dt} + (M_{\text{DRY}} + M_W) C_p \frac{dT}{dt} = a_1 F_A + a_2 F_{W2} + a_3 + a_4 T$$

donde C_p , a_1 y a_2 son CONSTANTES :

$$a_1 = \rho_A [h_{A1} + HA_1 h_{v1} - h_{A3} - HA_3 h_{v3} + \lambda (HA_1 - HA_3)]$$

$$a_2 = \rho_w h_{w2}$$

$$a_3 = h_o A T_{AMB}$$

$$a_4 = -h_o A$$

Del análisis del sistema, hemos concluido que los parámetros importantes a controlar del proceso son:

- Humedad en el reactor (masa de agua en el reactor): M_w
- Temperatura en el reactor: T

Por lo tanto, un objetivo de control es mantener un porcentaje de humedad constante en la 'fase' semisólida: estudios (Kim *et al.*, 1985; Gutiérrez-Correa, 1995) indican que el contenido adecuado de humedad es alrededor de 60 % en peso en base seca.

$$\frac{M_w}{M_{DRY}} = 0,6$$

Entonces $M_{DRY} = 1,667 M_w$

Recordamos también que:

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

Valores numéricos de variables de proceso .-

(en apéndice se adjunta tablas termodinámicas y psicrométricas)

M_W	\approx	constante (en un sistema de control afinado)	=	6000 g
M_{DRY}	=	peso seco (pajilla) en bioreactor	=	10000 g
HA_1	=	0,030 g agua/g aire seco		
HA_3	=	0,055 g agua/g aire seco		
h_{A1}	=	75,12 cal/g		
h_{A3}	=	72,72 cal/g		
h_{V1}	=	140,85 cal/g		
h_{V3}	=	136,35 cal/g		
h_{W2}	=	40 cal/g		
h_c	=	592 cal/m ² -min-°C		
C_p	=	0,63 cal/g-°C	\approx	constante
T_{AMB}	=	25 °C	=	298 °K
A	=	0,652 m ²		
λ	=	540 cal/g		
F_{ASP}	=	1 l/min (a T_{AMB})		
F_{W2SP}	=	0,2 ml/min (*)	=	0,0002 l/min (con agitación de 1 rpm)
ρ_A	=	1,15 g/l (aprox. constante)		
ρ_W	=	1000 g/l (constante)		
T_{SP}	=	37 °C	=	310 °K
a_1	=	-16,77 cal/l		
a_2	=	40000 cal/l		
a_3	=	9656 cal/min		
a_4	=	-386 cal/min-°C		
$Y_{CO_2/X}$	=	1	g/g	
Y_{Q/CO_2}	=	2500	cal/g	(Cooney <i>et al.</i> , 1984)

$$Y_{Q/X} = 2500 \text{ cal/g}$$

(*) Estimado como flujo de set point adecuado para un equilibrio

Asimismo : M_T y h_o varían en el tiempo

La ecuación de energía no es lineal, mas se puede hacer una linealización matemática mediante una aproximación con expansión en series de Taylor, para un rango pequeño aceptable de control.

Del estado estacionario, y con las sustituciones correspondientes, tenemos en forma linealizada:

$$\frac{d\bar{T}}{dt} = (-0,00006 h_o - 0,00003) \bar{T} - 0,00015 \bar{F}_A - 48,73 \bar{F}_{W2}$$

$$\bar{T}_{(s)} = G_{P3} \bar{F}_{A(s)} + G_{P4} \bar{F}_{W2(s)}$$

donde :

$$G_{P3} = \frac{-0,00015}{s + (0,00006 h_o + 0,00003)}$$

$$G_{P4} = \frac{-48,73}{s + (0,00006 h_o + 0,00003)}$$

Finalmente, tenemos las 2 relaciones de entrada / salida que se emplean para el sistema de control:

$$\begin{aligned} \bar{M}_{W(s)} &= G_{P1} \bar{F}_{A(s)} + G_{P2} \bar{F}_{W2(s)} \\ \bar{T}_{(s)} &= G_{P3} \bar{F}_{A(s)} + G_{P4} \bar{F}_{W2(s)} \end{aligned}$$

Estas 2 ecuaciones de primer orden representan los **modelos postulados** para este proceso: 1 modelo para la variable controlada **HUMEDAD** (masa de agua) y otro para la variable controlada **TEMPERATURA**. Este es un sistema MIMO en el que pesar de su relativa sencillez, hay valores fijados que deberán verificarse ó modificarse posteriormente.

Así, pues, aquí hay :

- **Dos variables controladas** : $M_{W(S)}$, $T_{(S)}$
- **Dos variables manipuladas** : $F_{A(S)}$, $F_{W2(S)}$

Las variables G_{P1} , G_{P2} , G_{P3} y G_{P4} son las 4 funciones de transferencia que relacionan las 2 salidas con las 2 entradas. Un cambio en F_A o en F_{W2} afecta a **ambas variables controladas**. Las 2 relaciones anteriores son, pues, **interdependientes**.

Nota: Recordemos que G representa una función en el dominio de Laplace: real – imaginario.

Haciendo un diagrama de bloques adecuado para las variables manipuladas, tenemos la Figura 10.

El valor de M_T disminuye por consumo microbiano, y h_o también disminuye, debido a corrosión / incrustación, por lo que podría incluirse un factor de corrección que opere cada cierto tiempo (e.g. cada mes, es decir, de modo discreto) para compensar al sistema de control a aplicar.

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

$$M_T = 16000 \text{ g} = 16 \text{ Kg}$$

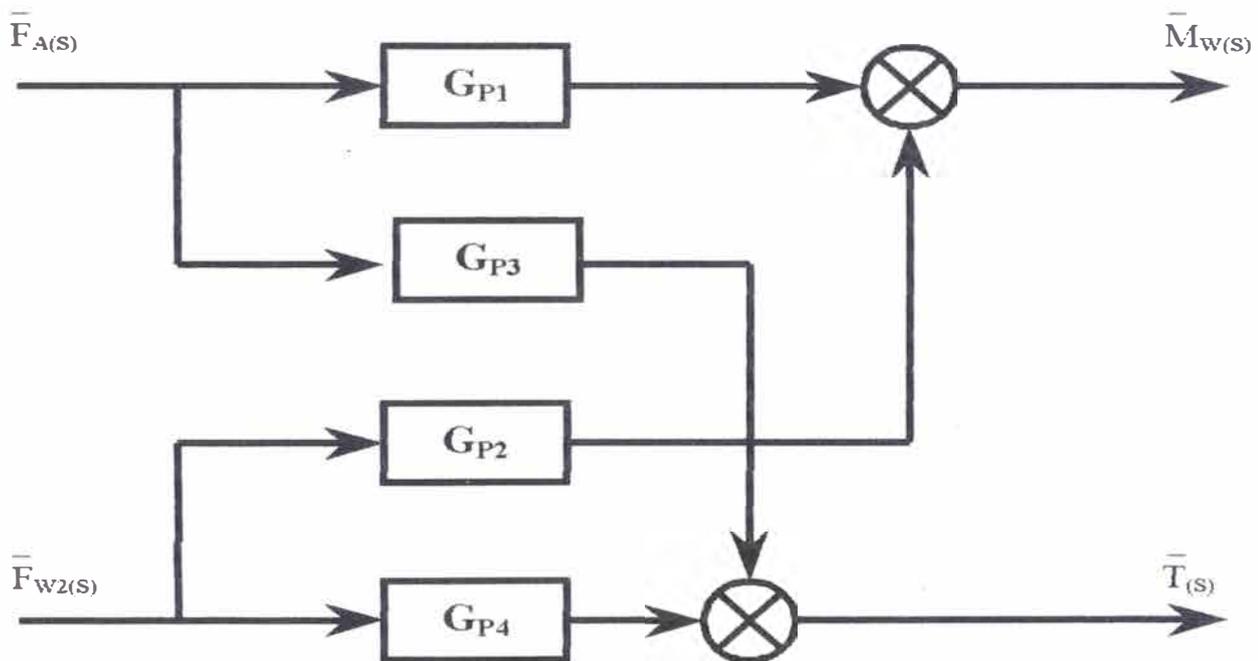


Figura 10
PROCESO CON 2 SALIDAS CONTROLADAS Y 2 VARIABLES
MANIPULADAS

M_T disminuye por consumo microbiano, y h_0 también disminuye, debido a corrosión / incrustación.

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

$$M_T = 16000 \text{ g} = 16 \text{ Kg}$$

Al inicio:

$$\begin{aligned} h_0 &= 35544,35 \frac{\text{cal}}{\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot^\circ\text{C}} \\ &= 592 \frac{\text{cal}}{\text{min}\cdot\text{m}^2\cdot^\circ\text{C}} \end{aligned}$$

Variación :

■ La constante h_0 disminuiría 2 % 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 durante el tiempo de reacción.

■ Asimismo, 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 *Rhizopus 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) .-

Los 2 instrumentos de medición empleados aquí son :

Higrómetro.-

Data técnica (Concept Control & Engineering)

$$t_{M1} = 0,25 \text{ min (aprox.)}$$

$$K_{M1} = 1$$

luego:
$$G_{M1} = \frac{1}{0,25 \text{ s} + 1}$$

Termocupla.-

Data técnica (Cole-Parmer 1990 Catalog)

Termocupla tipo K

Posición: dentro de reactor

$$t_{M2} = 6 \text{ s} = 0,1 \text{ min}$$

En general, la función de transferencia del proceso para una termocupla (modelo capacidad unitaria-resistencia) es de primer orden (Kinzie, 1973).

$$K_{M2} = 1$$

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

$$G_{M2} = \frac{K_{M2}}{t_{M2}s + 1} = \frac{1}{0,1s + 1}$$

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 solenoides V1 y V2A/V2B, y un relay para la activación del motor.

Para estas válvulas y para el relay tenemos un mecanismo ON/OFF:

$$V1: \quad G_{F1} = K_{F1} = 1$$

$$V2: \quad G_{F2} = K_{F2} = 1$$

Formación de lazos de control .-

Formando 2 lazos de control acoplando :

$$F_A \text{ con } M_w$$

$$F_{w2} \text{ con } T$$

La Figura 11 muestra los lazos cerrados de control para el proceso:

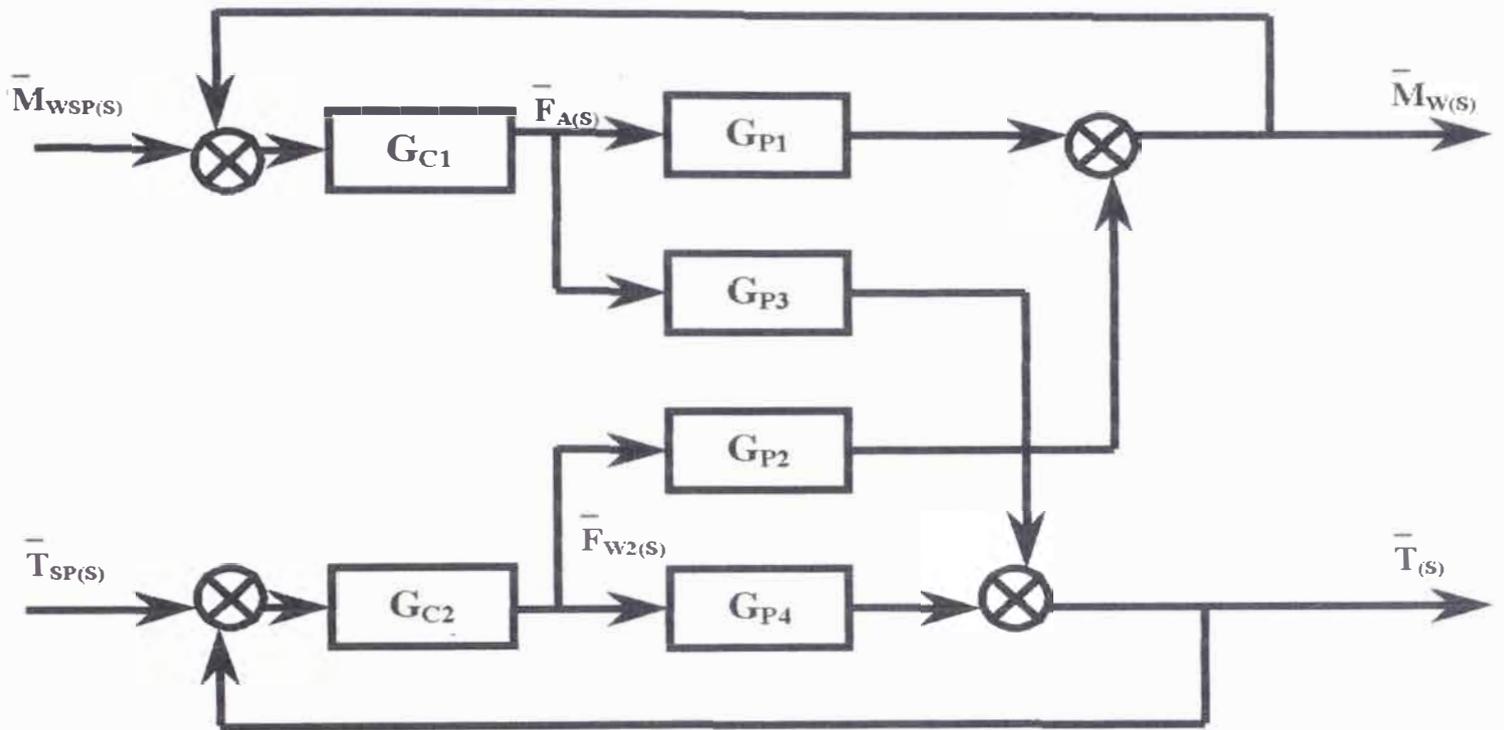


Figura 11
PROCESO CON 2 SALIDAS CONTROLADAS Y 2 VARIABLES
MANIPULADAS EN LAZO CERRADO

Recordando las funciones del proceso:

$$\bar{M}_W(s) = G_{P1}\bar{F}_A(s) + G_{P2}\bar{F}_{W2}(s)$$

$$\bar{T}(s) = G_{P3}\bar{F}_A(s) + G_{P4}\bar{F}_{W2}(s)$$

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

$$\begin{aligned}\bar{F}_{A(s)} &= G_{C1} (\bar{M}_{WSP(s)} - G_{M1}\bar{M}_{W(s)}) \\ \bar{F}_{W2(s)} &= G_{C2} (\bar{T}_{SP(s)} - G_{M2}\bar{T}(s))\end{aligned}$$

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:

$$\begin{aligned}(G_{C1}G_{M1}G_{P1} + 1)\bar{M}_W + G_{C2}G_{M2}G_2\bar{T} &= G_{C1}G_{P1}\bar{M}_{WSP} + G_{C2}G_{P2}\bar{T}_{SP} \\ G_{C1}G_{M1}G_{P3}\bar{M}_W + (G_{C2}G_{M2}G_{P2} + 1)\bar{T} &= G_{C1}G_{P3}\bar{M}_{WSP} + G_{C2}G_{P4}\bar{T}_{SP}\end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}\bar{M}_W &= P_1\bar{M}_{WSP} + P_{2(s)}\bar{T}_{SP} \\ \bar{T} &= P_3\bar{M}_{WSP} + P_4\bar{T}_{SP}\end{aligned}$$

Donde P representa otras funciones de transferencia:

$$P_1 = P_{1(s)} = \frac{G_{C1}G_{P1} + G_{C1}G_{C2}G_{M2}(G_{P1}G_{P4} - G_{P2}G_{P3})}{Q}$$

$$P_2 = P_{2(s)} = \frac{G_{C2}G_{P2}}{Q}$$

$$P_3 = P_{3(s)} = \frac{G_{C1}G_{P3}}{Q}$$

$$P_4 = P_{4(s)} = \frac{G_{C2}G_4 + G_{C1}G_{C2}G_{M1}(G_1G_4 - G_2G_3)}{Q}$$

Y

$$Q = (G_{C1}G_{M1}G_{P1} + 1)(G_{C2}G_{M2}G_{P4} + 1) - G_{C1}G_{C2}G_{M1}G_{M2}G_{P2}G_{P3}$$

Análisis sin interacción entre los lazos .-

Sea : $G_{P2} = G_{P3} = 0$ (sin interacción)

$$G_{P2} = \frac{1000}{s} = 0 \quad \Rightarrow \quad s \rightarrow \infty$$

$$G_{P3} = \frac{-0,00015}{s + (0,00006 \ln_0 + 0,00003)} = 0 \quad \Rightarrow \quad s \rightarrow \infty$$

$$\bar{M}_W = \frac{G_{P1}G_{C1}}{G_{P1}G_{C1} + 1} \bar{M}_{WSP} \quad \bar{T} = \frac{G_{P4}G_{C2}}{G_{P4}G_{C2} + 1} \bar{T}_{SP}$$

Consideraciones matemáticas:

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 ó eigenvalores- 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.

No se ha hecho una apertura del lazo de control para la curva de reacción de proceso (PRC) de Cohen-Coon para la respuesta dinámica sin control. Este análisis de sintonización se podría hacer posteriormente, una vez corriendo el proceso y con un control aceptable, para mejorar aun más la respuesta.

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

$$\begin{aligned} \text{Aplicando control proporcional (P) :} \quad G_{C1} &= K_{C1} \\ G_{C2} &= K_{C2} \end{aligned}$$

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

K_{Ci} = constante = GANANCIA DEL CONTROLADOR

Nota : En este análisis se darán valores de K_{Ci} , t_i , con unidades de minutos.

Sintonización de cada lazo por separado .-

Lazos no interactuantes: control P

De los denominadores de las ecuaciones dadas más arriba para M_w y T no interactuantes, se establecen las siguientes ecuaciones características :

$$G_{C1}G_{P1} + 1 = 0$$

$$G_{C2}G_{P4} + 1 = 0$$

Cálculo de ganancia más adecuada :

De estas ecuaciones:

Lazo 1 cerrado / lazo 2 abierto:

$$K_{C1} \left(\frac{-0,029}{s} \right) + 1 = 0 \quad \Rightarrow \quad s = 0,029 K_{C1}$$

NOTA :

En el desarrollo de estas ecuaciones y las siguientes, se establecerán 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.

Luego, vemos que $s > 0$, siempre.

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} . El lazo 1 no puede ser controlado si no se ejerce acción sobre la perturbación en el bloque 1.

Lazo 1 abierto / lazo 2 cerrado :

$$K_{C2} \left[\frac{-48,73}{s + (0,00006 h_p + 0,00003)} \right] + 1 = 0 ,$$

$$\Rightarrow s = 48,73 K_{C2} - (0,00006 h_p + 0,00003)$$

luego, lazo 2 es estable si :

$$K_{C2} < \frac{0,00006 h_p + 0,00003}{48,73}$$

Y donde, para $t \in [t_0, t_1]$ (lapso inicial de tiempo):

$$\text{si } K_{C2} < 0,0008 \text{ g/min-}^\circ\text{C}$$

en cualquier caso, lazo 2 es estable.

Recordemos que los valores limites (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 deben mantenerse 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 :

$$Q(s) = (G_1 G_{C1} + 1) (G_4 G_{C2} + 1) - G_2 G_3 G_{C1} G_{C2} = 0$$

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 :

$$\left(\frac{-0,029 K_{C1} + 1}{s} \right) \left(\frac{-48,73 K_{C2}}{s + (0,00006 h_o + 0,00003)} + 1 \right) - \frac{1000}{s} \left(\frac{-0,00015}{s + (0,00006 h_o + 0,00003)} \right) K_{C1} K_{C2} = 0$$

Simplificando y ordenando :

$$s^2 + (0,00006 h_o + 0,00003 - 0,029 K_{C1} - 48,73 K_{C2}) s + (1,56 K_{C1} K_{C2} - 0,0000017 h_o K_{C1} - 0,0000009 K_{C1}) = 0$$

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

Si se cumple por lo menos una de las siguientes desigualdades:

$$0,00006 h_b + 0,00003 - 0,029 K_{C1} - 48,73 K_{C2} < 0,$$

ó

$$1,56 K_{C1} K_{C2} - 0,0000017 h_b K_{C1} - 0,0000009 K_{C1} < 0$$

entonces el comportamiento es INESTABLE.

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

$$K_{C1} \leq 0,002 h_b + 0,001 - 1680,3 K_{C2}$$

$$K_{C2} \geq 0,0000011 h_b + 0,0000006$$

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

$$\begin{aligned} \text{(en min)} \quad \text{Sea : } K_{C1} &= 0,8333 \text{ min}^{-1} \\ K_{C2} &= 0,8333 \text{ g/min-}^\circ\text{C}^{(*)} \rightarrow \end{aligned}$$

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

Control PID: es más adecuado para control de temperatura.

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

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

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

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

$$t_{D1} > 0,82 \text{ h}$$

$$t_{D2} > 0,76 \text{ h}$$

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

$$t_{D1} = 1 \text{ h}$$

$$t_{D2} = 1 \text{ h}$$

Nota:

dimensión	unidades
t	h
K_{C1}	1/h
K_{C2}	g/h-°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 : $\bar{M}_w = 0$

$$\bar{F}_A = -\frac{G_2}{G_1} \bar{F}_{w2} = \frac{1}{HA_3 - HA_1} \bar{F}_{w2}$$

Introduciendo al elemento dinámico : $D_1 = -\frac{G_2}{G_1}$

$$\text{donde } D_1 = \frac{F_A}{F_{w2}}$$

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, mas NO viceversa.

La razón de tratar de desacoplar a este sistema es la precisión que deseamos lograr en el control de humedad y de temperatura, pues, el sistema microbiológico presente es muy sensible a cualquier ligero cambio en estos parámetros.

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

$$\bar{T} = 0$$

$$\bar{F}_{W2} = -\frac{G_3}{G_4} \bar{F}_A$$

$$D_2 = -\frac{G_3}{G_4}$$

Y así, obtenemos los diagramas de bloques con desacoplamiento (ver Figura 12 y Figura 13).

Se comprueba que

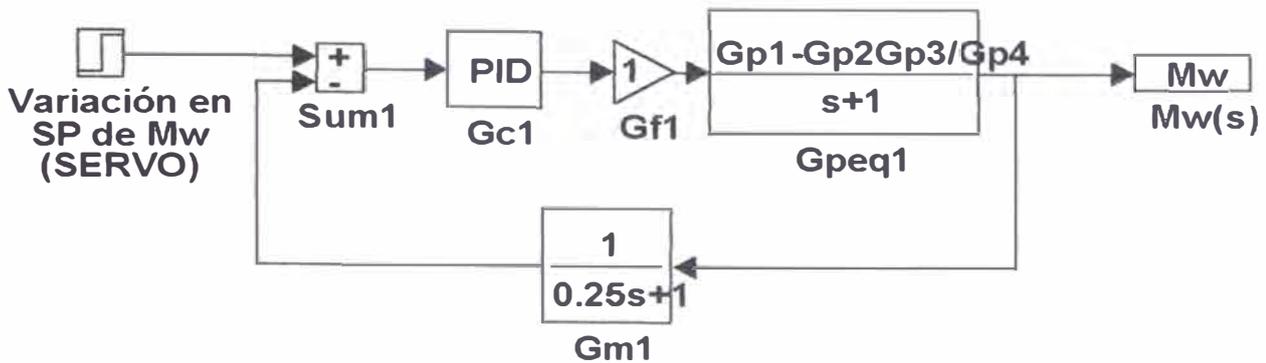
$$\bar{M}_{W(s)} = \frac{G_{C1} \left(\frac{G_{P1} - \frac{G_{P2}G_{P3}}{G_{P4}}}{G_{P4}} \right)}{1 + G_{C1} \left(\frac{G_{P1} - \frac{G_{P2}G_{P3}}{G_{P4}}}{G_{P4}} \right)} \bar{M}_{WSP(s)}$$

$$\bar{T}_{(s)} = \frac{G_{C2} \left(\frac{G_{P4} - \frac{G_{P2}G_{P3}}{G_{P1}}}{G_{P1}} \right)}{1 + G_{C2} \left(\frac{G_{P4} - \frac{G_{P2}G_{P3}}{G_{P1}}}{G_{P1}} \right)} \bar{T}_{SP(s)}$$

La Figura 12 representa el lazo desacoplado final para la temperatura. La Figura 13 representa lo mismo para la humedad.

FIGURA 12

LAZO CERRADO DE RESPUESTA DINAMICA DE CONTROL DE TEMPERATURA: DESACOPLADO



$$G_c = 9 \left(1 + \frac{1}{18s} + 0,033 \right)$$

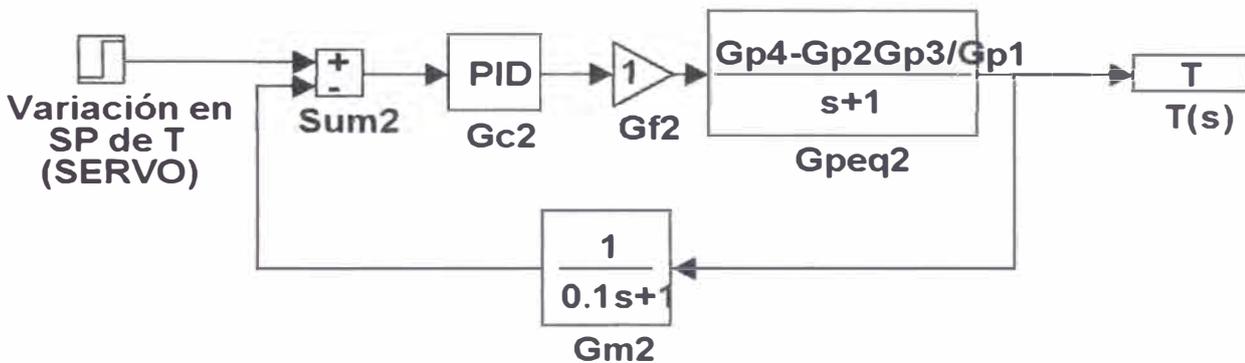
$$K_c = 9$$

$$t_i = 18$$

$$t_D = 0,033$$

M_w = masa de agua
 El elemento de activación final tiene una inversa con respecto al G_{peq} (válvula con ganancia constante = 1)

(A)
 Sistema de control: lazo cerrado feedback con desacoplamiento
 Entrada / salida de masa de agua (humedad en



$$G_c = 9 \left(1 + \frac{1}{18s} + 0,033 \right)$$

$$K_c = 9$$

$$t_i = 18$$

$$t_D = 0,34$$

T = temperatura
 El elemento de activación final tiene una inversa con respecto al G_{peq} (válvula con ganancia constante = 1)

FIGURA 13

Fermentación en sustrato semisolido: LMB

Sistema de control: lazo cerrado feedback con desacoplamiento total: diagrama de bloques
 entrada / salida para humedad

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 muestran más adelante. 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.

En general, siempre habrá una cierta interacción, pues, el sistema no se conoce en forma exacta. De hecho, los microorganismos tienen un complejo sistema que no es enteramente predecible. Con todo, en líneas generales, si se da el medio óptimo en el biosistema, puede afirmarse que con el mecanismo de control desacoplado se puede lograr una estabilidad aceptable.

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

CONTROLADOR .-

$$G_{c1} = 50 \left(1 + \frac{1}{6s} + s \right)$$

$$G_{C2} = 500 \left(1 + \frac{1}{s} + s \right)$$

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 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.

Esquema.-

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 bioreacción 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.

Esta es una unidad terminal remota (RTU) de relativa flexibilidad para el científico. Se opera con un control digital directo (DDC), y algo de programación, lo que la asemeja a un PLC también.

No. de entradas analógicas disponibles: 4

No. “ “ digitales “ : 8

No. “ “ pulsantes “ : 3

No. “ salidas analógicas “ : 0

No “ “ digitales “ : 4

Total: 19 CANALES de I/O disponibles.

El humidificador en la línea cumple además la función de autoclave. La función de autoclave la realiza en la etapa inicial de esterilización, previa al proceso de reacción.

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

SALIDAS DIGITALES (DIGITAL OUTPUTS)

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

Programa de control.-

Se hizo un programa de control sencillo, con los bloques ó 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).

Calibración de higrómetro: se puede calibrar con soluciones saturadas de K_2SO_4 y $CaSO_4$ (Ryoo, 1990).

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 (pues, se trata de mantener una concentración determinada de agua).
- 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.

Adquisición de data: los microprocesadores de la interface de conversión A/D y D/A envían la salida (output) de modo digital. El volumen de control incluye válvulas solenoides para control, lo que no es lo más adecuado a mediana o gran escala, mas puede ser aplicado con relativa eficiencia en la escala semipiloto con la que hemos laborado.

- 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) mediante instrucciones de direccionamiento, como por ejemplo:

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.

Pruebas de fermentación SSF .-

Patrón de medición de sustrato :

Peso de pajilla seca = 2 g

Volumen de sales de Reese/Mandels = 1,2 ml

(de modo que haya una concentración de 60 ml/100 g pajilla)

Volumen de medio de inóculo (MI) = (aprox.) 4 ml

(generalmente, hay una concentración de 0,01 g micelio seco/ml MI luego de 3-5 días de crecimiento. La dosis adecuada en la mezcla es 2 g micelio seco/100 g pajilla; luego, para 2 g pajilla se requiere 0,04 g micelio seco).

Peso de harina de soya = 1,654 g

(concentración de harina de soya = 0,827 g/g pajilla. Relación C:N = 10).

A mayor escala (reactor de 20 l) :

Se conoce : $Y_{Q/X} = 2500 \text{ cal/g biomasa}$

$M_0 X_0$: La cantidad de biomasa inicial debe ser tal que haya:

$$X_0 = \frac{2 \text{ g micelio (seco)}}{100 \text{ g pajilla seca}} = 0,02 \text{ g } \frac{\text{microorganismos}}{\text{g materia seca}}$$

Tomando la concentración promedio : $\frac{0,01 \text{ g micelio seco}}{1 \text{ ml medio de inóculo}}$

Y tomando una densidad promedio para el medio de inóculo (MI):

$$d_{MI} = 1 \text{ g/cm}^3 ,$$

entonces, para : $M_{S0} = 3000 \text{ g pajilla seca (inicial)}$

debe haber $(MX)_0 = 60 \text{ g micelio (seco)}$.

Esto significa $V_{MIO} = 6000 \text{ ml (medio de inóculo)}$

$$\text{luego, } M_{MIO} = 6000 \text{ g}$$

(masa de suspensión líquida, de densidad 1 g/cc)

Entonces,

$$M \text{ agua a añadir para lograr 70\% humedad} = 1000 \text{ g} = 1 \text{ l}$$

(siempre para una masa total inicial de 10 Kg = 10000 g)

Valores y coeficientes necesarios .-

Algunos se dan de forma temporal (simulados), asumiendo un valor acorde a datos de otros sistemas similares, a condiciones similares, o bien en función a ecuaciones de estado. Así, p. ejm., la humedad se calcula en función de la ecuación de Antoine (la medición exacta on-line la da naturalmente el sensor, y es este valor el que se toma en el cálculo real de control).

Presión de vapor de agua :

$$\text{Ec. Antoine : } \ln P_v = A - \frac{B}{T + C}$$

donde P_v (mm Hg)

T (°K)

Para el agua : $A = 18,8036$

$B = 3816,44$

$C = -46,13$

Asunción : T en reactor = 37 °C (constante)

Tomando $T_1 = T_{IN} = 33 \text{ }^\circ\text{C}$

$T_4 = T_{OUT} = 35\text{-}37 \text{ }^\circ\text{C}$

- Para remover el exceso de calor metabólico, se puede usar aire a 3-4 °C menos que la temperatura T_{SP} de fermentación (37 °C), para transferencia por convección.
- Además, se asume que a la salida, T aumenta 3-4°C.
- HA_3 correspondería aprox. a la humedad de aire saturado a la temperatura de salida.

$$HR = \frac{P_V}{676,2 - P_V} \quad HA = \frac{18}{29} HR$$

$$\begin{aligned} T_{OUT} = 37 \text{ }^\circ\text{C} \quad P_V &= 54,75 \\ HR &= 8,81 \% \\ HA &= 0,055 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} T_{IN} = 33 \text{ }^\circ\text{C} \quad P_V &= 31,38 \\ HR &= 4,87 \% \\ HA &= 0,030 \end{aligned}$$

Luego :

$$\begin{aligned} HA_1 &= 0,030 \text{ g agua/g aire seco} \\ HA_3 &= 0,055 \end{aligned}$$

Caída de presión en el reactor.-

Hay una caída de presión a lo largo del lecho del reactor, la cual es función de la velocidad lineal del aire en él.

Sea e = porosidad del lecho

e = volumen de hueco/volumen total

De cálculos (ensayo) con pajilla de caña de azúcar, con diámetro de partícula $D_p = [0,5-2]$ mm. y humedad de 70 %, se obtiene:

$$e_0 = 0,7 \text{ (aprox.)}$$

La porosidad es variable en el tiempo:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 - \frac{(MX)_0}{V_T d_{MX}} e^{mt}$$

$$\rho_{MX} = 0,001 \text{ g/cm}^3$$

$$\begin{aligned} \text{Calor específico : } C_{p\text{AGUA(V)}} &= C_{pV} = 0,45 \text{ cal/g-}^\circ\text{C} \\ C_{p\text{AIRE}} &= 0,24 \text{ cal/g-}^\circ\text{C} \end{aligned}$$

En reactor :

Sea C_p = calor específico de MASA TOTAL en reactor

El material de fermentación en reactor es una combinación de biomaterial y agua (biomaterial = biomasa seca + pajilla seca).

Asunción : C_p biomasa » C_p pajilla seca de caña de azúcar

$$C_{p \text{ PAJILLA/BIOMASA}} = 0,4 \text{ cal/g-}^{\circ}\text{C}$$

$$\text{Entonces : } C_p = C_{p \text{ PROM}} = \frac{C_{p \text{ PAJILLA/BIOMASA}} + x C_{p \text{ AGUA}}}{1 + x}$$

donde $x = \text{contenido de agua} = \text{g agua/g materia seca}$

Notamos que x puede ser variable, por lo que C_p puede también ser variable. Pero, como lo que se trata es precisamente de mantener la humedad constante, se asume que C_p no varía apreciablemente (así, p. ejm., para una humedad de 75 %, $C_p = 0,85$). De haber una variación instantánea de humedad, ésta sería corregida también inmediatamente. Luego, como la variación de temperatura es relativamente pequeña, se considera C_p constante.

Tomando un 70 % aprox. de humedad absoluta en el sólido, entonces ésto equivale a $x = 2,333$.

Luego : $C_p = 0,82 \text{ cal/g-}^{\circ}\text{C}$ (sujeto a variación, aunque despreciable, en el control)

Entalpía.-

Por unidad de masa :

$$H_{V1} = C_{pV} T_{IN} = 140,85 \text{ cal/g} \quad (T \text{ en } ^{\circ}\text{K})$$

$$H_{V4} = C_{pV} T_{OUT} = 136,35$$

$$H_{A1} = C_{pA} T_{IN} = 75,12$$

$$H_{A4} = C_{pA} T_{OUT} = 72,12$$

Masa y volumen de control en reactor.-

$$D = 34 \text{ cm}$$

$$L = 40 \text{ cm}$$

$$\text{Sustrato : } h \gg 2/3 L \quad , \text{ luego } h = 25 \text{ cm}$$

$$d_{\text{SUSTRATO}} \gg 0,414 \text{ g/ml} \quad (\text{humedad} = 70\%)$$

$$\text{Volumen de sustrato : } V_{\text{SUSTRATO}} = r^2 \circ h = 22,71$$

$$\text{Entonces : } W_s = 9,4 \text{ Kg}$$

$$\text{Si } h = 30 \text{ cm, entonces } W_s = 11,3 \text{ Kg.}$$

$$\text{Luego, se acuerda un peso : } W_s = M_T = 10 \text{ Kg}$$

$$\text{Humedad} = 70 \%$$

$$\text{Por lo tanto, : } W_{\text{SOLIDO}} = \text{peso de s\u00f3lido} = 3 \text{ Kg}$$

$$W_{\text{AGUA}} = \text{peso de agua} = 7 \text{ Kg}$$

$$M_T = 10 \text{ Kg}$$

En l\u00ednea (2), asumiendo agua (l) saturada y a 100 \u00b0C, entonces

$$H_{w2} = 40 \text{ cal/g} \quad (\text{de tablas termodin\u00e1micas})$$

Coefficiente de transferencia calorífica total y calor perdido por la superficie del reactor.-

El coeficiente de transferencia calorífica (h_o) se puede obtener a partir de la conductividad térmica en la superficie del reactor:

Material	Conductividad térmica k. (cal/h-m-°C)
Acero inox. 304	12440
Bronce	22350
Lana de vidrio (chaqueta aislante)	44,7
Plástico acrílico	167,2

Asunciones :

- Distribución homogénea de temperatura en el sustrato sólido (realmente, la distribución de temperatura en SSF llega a ser algo heterogénea, lo que se compensaría con la eficiencia de la agitación).
- Resistencia de las películas interna y externa despreciables.

Por lo tanto :

$$T_1 \approx T_1$$

$$h_i \approx 0$$

$$T_5 \approx T_o$$

$$h_o \approx 0$$

Valores:

$$r_1 = 17 \text{ cm}$$

$$r_2 = 17,04 \text{ cm}$$

$$r_3 = 17,675 \text{ cm}$$

$$r_4 = 17,875 \text{ cm}$$

$$r_5 = 17,925 \text{ cm}$$

$$L = 40$$

$k_A = -$ (no es necesario conocer este valor, pues, se asume resistencia de película interna despreciable).

$$k_B = 8,35$$

$$k_C = 15$$

$$k_D = 0,03$$

$$k_E = 15$$

Entonces, con las asunciones anteriores :

$$Q = \frac{T_I - T_O}{\frac{\ln(r_2/r_1)}{2pk_B L} + \frac{\ln(r_3/r_2)}{2pk_C L} + \frac{\ln(r_4/r_3)}{2pk_D L} + \frac{\ln(r_5/r_4)}{2pk_E L}}$$

Tomando $T_O = T_{O \text{ PROM}} = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

T_I equivale a la temperatura promedio del sustrato

entonces $T_I = 37 \text{ }^\circ\text{C}$ (temp. de SET POINT, el cual DEBE mantenerse constante)

Pero T_I en realidad oscila alrededor de este valor, por lo que se indica como variable.

Se sabe que :

$$Q = UA (T_I - T_O)$$

$$\text{donde } U = h_T$$

h_T y A pueden tomarse con respecto a las superficie interna o externa (es indistinto). En este caso, se ha tomado la superficie externa como referencia.

$$\text{Luego } h_T A = h_O A_O$$

$$A_1 = 907,9 \text{ cm}^2$$

Entonces, con los valores numéricos anteriores, obtenemos

$$Q_1 = 9895,52 (T_I - 25) \text{ cal/h}$$

(calor perdido por la superficie lateral del reactor)

$$U_1 A_1 = 9895,52 \text{ cal/h-}^\circ\text{K}$$

Sección superior:

$$r = 17,925 \text{ cm}$$

Se puede considerar las secciones superior e inferior como superficies planas circulares.

En la superficie superior:

Plástico piroxilina $e = 1 \text{ mm}$ $k = 111,614 \text{ cal/h-m-}^\circ\text{C}$

Bronce $e = 4 \text{ mm}$ $k = 22322,7$

$$\text{Area : } A = \pi r^2 = 0,101 \text{ m}^2$$

$$\text{Entonces : } Q_2 = h_2 A_2 (T_1 - T_0) = \frac{T_1 - 25}{\frac{1}{0,101} \frac{0,001}{111,614} + \frac{0,004}{22322,7}}$$

$$= 11045,484 (T_1 - 25) \text{ cal/h}$$

$$U_2 A_2 = 11045,484 \text{ cal/h-}^\circ\text{K}$$

Sección inferior : Análogamente al caso de la sección superior:

Capas :

Bronce $\varepsilon = 2 \text{ mm}$ $k = 22322,7 \text{ cal/h-m-}^\circ\text{K}$

Lana de fieltro $\varepsilon = 2 \text{ mm}$ $44,645$

$\varepsilon = 0,5 \text{ mm}$ $22322,7$

$$A_2 = A_3 = 0,101 \text{ m}^2$$

$$Q_3 = \frac{T_I - 25}{\frac{1}{0,101} + \frac{0,002}{22322,7} + \frac{0,002}{44,645} + \frac{0,0005}{22322,7}}$$

$$= 2247,66 (T_I - 25) \text{ cal/h}$$

Luego : $U_3 A_3 = 2247,66 \text{ cal/h-}^\circ\text{K}$

Entonces : $Q_{\text{TOTAL}} = 23188,66 (T_I - 25) \text{ cal/h}$

Además, asumiendo que : $A_T = A_1 + A_2 + A_3 = 0,652 \text{ m}^2$,

$$U = h_T = 35544,35 \text{ cal/h-m}^2\text{-}^\circ\text{K}$$

$$h_o A = UA = h_T A_T = 23188,66 \text{ cal/h-}^\circ\text{K}$$

$$386,478 \text{ cal/min-}^\circ\text{C}$$

LINEA (CURVA) DE MEDICION DE TEMPERATURA vs FUERZA ELECTROMOTRIZ.-

Termocupla tipo K

Chromel-P y Alumel

(Ni-10Cr y Ni-3Mn-2Al-1Si)

Las termocuplas de tipo Chromel-Alumel no siempre pueden ser calibradas y usadas con tanta **precisión y repetibilidad** como otras termocuplas, aun cuando son a menudo claramente superiores en

otros aspectos, cuando los errores ligeramente mayores son aceptables (Roeser & Wensel, 1941).

Centramos el análisis de la termocupla en su comportamiento para el rango de trabajo en cuestión. Como se mencionó, se trata de realizar una bioreacción a unos 37 °C, por lo que

$$\text{Se toma : Rango} = [20 - 60] \text{ } ^\circ\text{C} = [68 - 140] \text{ } ^\circ\text{F}$$

Sabemos que la relación entre emf (ó V, fuerza electromotriz) y temperatura (T) en una termocupla está dada por las ecuaciones generales :

$$\text{emf} = V = a + bT + cT^2, \text{ o}$$

$$\text{emf} = V = aT + bT^2 + cT^3$$

El empleo de una ú otra ecuación depende del tipo de termocupla. Así, p. ej., la termocupla tipo T cumple una ecuación de tipo cuadrática. Así, pues, introducimos este conocimiento heurístico en nuestra base de data.

Para una termocupla tipo K, tenemos (Nachtigal, 1990):

$$\text{Output promedio} = 2,20 \text{ mV} / 100 \text{ } ^\circ\text{F}$$

$$\text{Temperatura máxima} = 1260 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Atmósfera permisible: oxidante

$$\text{Precisión general: } 4 \text{ F}^\circ (0,75 \%)$$

Con todo, se ha reportado (Roeser & Wensel, 1941) que no ha habido éxito en cuadrar estas ecuaciones a la curva de calibración en el intervalo [0 - 300] °C para la termocupla tipo K.

Por ello, se tomó un rango de temperatura más pequeño y aceptable en el proceso de fermentación SSF, con el cual se pueda asumir una relación lineal:

$$\text{emf} = V = a + bT$$

Para el rango mencionado de [20 - 60] °C, se comprueba que :

$$a = -0,753014$$

$$b = 0,022753$$

$$r = 0,999993$$

Luego, se cumple con gran aproximación la ecuación lineal sgte. :

$$\text{emf} = V = -0,753014 + 0,022753 T$$

(cambiar límite superior de 60 a 130 °C, para incluir el proceso de esterilización)

De este modo :

$$T = 24,416349 \text{ emf} + 0,608067 \quad (T \text{ en } ^\circ\text{C})$$

$$T = 43,949428 \text{ emf} + 33,094521 \quad (T \text{ en } ^\circ\text{F})$$

Entonces, se establece la función lineal anterior. El error absoluto máximo en grados Celsius es menor que 0,1 °C.

Apéndice F .- Alternativas de solución

Mejoramiento: inmovilización de células microbianas. Como proyecto de investigación posterior se ha estado haciendo pruebas con inmovilización de las cepas de *Trichoderma reesei* UC4 en malla de polietileno, esto en cultivo líquido. Ya se ha reportado resultados (Sachse *et al.*, 1990) de pruebas de este tipo en malla de acero inoxidable en un reactor de disco rotatorio, para una rentable producción de celulasa. La producción de enzima fue mantenida por 3 ciclos sucesivos de lotes (ca. 30 días), y la actividad de la enzima fue mayor que la producida en un reactor tanque agitado, pues, el bajo esfuerzo cortante no dañó a la enzima (Sachse *et al.* 1990). Habrá así un menor costo por las operaciones y procesos de purificación (downstream).

La celulasa es una proteína enzima hidrolítica que podría ser rentablemente producida por un sistema de microorganismos inmovilizados. Ha habido una gran investigación en este proceso.

La producción de celulasa fue investigada en un sistema de cultivo en lote repetido empleando mutantes inmovilizados de *Trichoderma reesei*.

H .- Conceptos complementarios. Planteamiento de la solución

Lapso adecuado de apertura de válvula de agua (solenoide) para cuando la humedad decrezca. Para la escala relativamente pequeña de trabajo, puede resultar la válvula solenoide instalada todavía más rentable que una válvula de control (electropneumática).

- Una válvula de control daría con todo siempre un control más adecuado, asegurando una estabilidad en el control.

I.- Control de desarrollo de las etapas de trabajo

- Pruebas de determinación de población microbiana (*Trichoderma reesei*) en medio sólido: resultados no concluyentes a escala de laboratorio (tubos de fermentación). Solución: probar directamente a escala semipiloto en el bioreactor de 60 l, teniendo el esquema de control establecido y operativo.
- Automatización: calibración correcta de higrómetro y colocación de un adecuado elemento de activación final.
- Flujo óptimo para purificación final de productos: downstream processing.

J.- Determinación de la performance

Se ha establecido un mecanismo útil de control para un sistema MIMO, con poco retraso en el tiempo de respuesta. Esto es una parte del costo involucrado en el proceso total.

K.- Evaluación económica final

Para ello, se considera lo mencionado en F. Como se mencionó en las alternativas de solución, estando comprobada la eficiencia de la cepa de *Trichoderma* obtenida en el LMB, con materia prima libre, un consumo bajo de energía (mantención de temperatura a 37 °C, agitación intermitente). Queda por afinar el sistema de control, analizando su estabilidad en las pruebas en el bioreactor.

Por lo tanto, contando con una adecuada eficiencia de producción de biomasa y de enzima a un bajo costo, quedará por seguir

analizando los pasos siguientes de purificación de producto (downstream processing).

L .- Conclusiones y resultados finales

La participación conjunta de la biología, la ingeniería química / bioquímica con la ingeniería electrónica se comprueba vital en el campo de la biotecnología. Ello hace obtener óptimos resultados en corto tiempo.

El SSC es una forma rentable de producir nuevas sustancias con el empleo de la biotecnología en países en desarrollo.

La automatización de sistemas en biotecnología se orienta hacia el empleo de sistemas inteligentes, dada la complejidad de los mecanismos bioquímicos. Controles adicionales con lógica difusa ayudarán a mejorar eventualmente la estabilidad en el sistema.

.....

II.- SINTESIS QUIMICA SA

Generalidades / descripción del sistema / trabajo técnico y de ingeniería realizado .-

En principio, nos situamos en la clasificación de los productos manufacturados en SINTESIS QUIMICA SA: **metabolitos secundarios (antibiótica).**

Entre los productos microbianos tenemos los metabolitos.

Los metabolitos son compuestos producidos por microorganismos en el proceso de **metabolismo**, mediante el cual los elementos vitales (organógenos y biogénicos) son movilizados desde los nutrientes hacia la célula.

Los metabolitos pueden ser:

- **Primarios.** Necesarios para el desarrollo del organismo. Alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas.
- **Secundarios.** Compuestos secundarios producidos por algunos microorganismos. Son productos laterales, mas no indispensables para la vida del microorganismo. Antibióticos, exotoxinas. SINTESIS QUIMICA SA produce metabolitos secundarios aplicados en la terapéutica.

Los metabolitos secundarios pueden explicarse en el mundo de los microorganismos como productos de desecho, subproductos de un metabolismo imperfecto. Así, pues, ellos representan 'apéndices bioquímicos' que han perdido una importante función en una temprana etapa de la evolución. Son productos de mecanismos de detoxificación y que actualmente no tienen un uso particular para el microorganismo generador. Un antibiótico a bajas concentraciones inhibe el crecimiento.

Desde una perspectiva comercial y clínica, los antibióticos constituyen la clase más importante de fármacos que se obtiene de los microorganismos.

Actualmente, la mayoría de antibióticos producidos en el mundo son compuestos β -lactámicos, principalmente penicilinas y cefalosporinas, las cuales son obtenidas en su mayor parte de cultivos de hongos (60-65%). El porcentaje restante de antibióticos (30-40%) proviene mayormente de bacterias.

Actualmente se aplica unos 150 antibióticos en el mundo.

Síntesis Química SA produce compuestos del grupo de los metabolitos secundarios, compuestos antibióticos, y particularmente β -lactamatos. El anillo β -lactámico está compuesto por 3 átomos de carbono y 1 de nitrógeno. Los β -lactamatos son probablemente los menos tóxicos de todos los grupos principales de antibióticos. A pesar de que todavía no se ha esclarecido totalmente los mecanismos por los cuales los antibióticos β -lactámicos ejercen su acción destructora sobre las bacterias, parece bastante claro que interrumpen la formación de la pared celular. De manera específica, obstruyen la síntesis y ensamblaje de peptidoglucano, principal constituyente de la pared; actúan uniéndose al menos a 3 enzimas – transpeptidasa, carboxipeptidasa y endopeptinasa-, que catalizan la polimerización e inserción del peptidoglucano en la pared. La interrupción de este último proceso trae consigo la disolución y muerte de la célula. A la ubicuidad del peptidoglucano en la pared celular y a su ausencia en organismos superiores se debe la alta toxicidad selectiva de los antibióticos β -lactámicos (Aharonowitz & Cohen, 1981).

Técnicas de producción en biotecnología en medio líquido:

En medio líquido, una bioreacción puede ser operada por:

- Microorganismos inmersos en el bioreactor.
- Microorganismos inmovilizados en esferillas de gel ó en superficies de gel ó de algún material orgánico adsorbente.
- La enzima de los microorganismos (el compuesto activo, responsable de la formación de los metabolitos) inmovilizada, como en el caso anterior.

En SINTESIS QUIMICA SA se emplea esta última técnica, con enzima inmovilizada en esferillas de gel de poliacrilamida.

La penicilina es materia prima en el proceso. Esta se emplea como una sal de potasio, sólido en polvo. La penicilina de tipo sal alcalina, como la que es empleada en este caso, y la de tipo alcalina-térrea es soluble en agua, mas casi insoluble en compuestos orgánicos. Esta propiedad es aprovechada para la ionización de la penicilina G ó V en agua, a un pH regulado de 8,0: medio básico. A este valor de pH se logra una buena disolución e ionización de la penicilina. Sin embargo, un pH más elevado rompería el anillo pentagonal de la molécula en la unión del átomo de azufre.

La reacción de conversión a 6-APA se produce e $T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 1\text{ atm}$ (presión atmosférica), y a un pH de 8,0 en un reactor de 3000 l (que será en lo sucesivo etiquetado como R_2), agitado mediante 2 juegos de paletas de agitador de tipo Intermig (ver Figura 13), un tipo de agitador que produce bajo vortex y de alta eficiencia, adecuado para la suspensión de sólidos en el sistema al convertir gran parte de la energía mecánica en flujo vertical (MacNeil & Harvey, 1993; Fasano *et al.*, 1994; Corpstein *et al.*, 1994). El

catalizador de la reacción es la enzima penicilinacilasa ó la enzima penicilinamidasa, las cuales están libres de otras enzimas que puedan producir reacciones secundarias indeseables, como por ejemplo la lactamasa, la que rompe el anillo β -lactámico, lo cual no es deseado. La enzima está inmovilizada en gel de poliacrilamida, en esferas pequeñas de más ó menos 1 mm de diámetro.

La enzima PGA ha sido previamente obtenida desde cepas recombinantes adecuadas del microorganismo *Escherichia coli*. Para la producción de proteínas farmacéuticas mediante técnicas de rDNA, las cepas de *E. coli* son las más ampliamente usadas debido a que sus propiedades genéticas son bien conocidas.

Se trabaja con 2 tipos de penicilina, que tienen una ligera diferencia entre sí.

La estructura química y la función de las penicilinas y las cefalosporinas (estas últimas también eran producidas anteriormente) se basan en el anillo β -lactámico de 4 miembros (ver las figuras más abajo). De ahí que las drogas se llamen antibióticos β -lactámicos. El anillo de este principio activo es esencial para la misión de estos compuestos: **detener el levantamiento de la pared celular de la bacteria**. Si se añaden grupos laterales al anillo, aumentará la potencia del antibiótico y se llevarán a cabo así sus propiedades farmacológicas. En el caso de las penicilinas, varía sólo un grupo lateral. En el proceso de producción comercial, la penicilina G sirve de estructura central parra la adición de nuevas cadenas laterales, una vez eliminado el grupo bencilo.

La ampicilina se muestra eficaz contra las bacterias gram negativas, lo que hace que su demanda sea alta en el mercado de productos medicinales.

La Figura 15 nos muestra la estructura molecular de la penicilina potásica empleada.

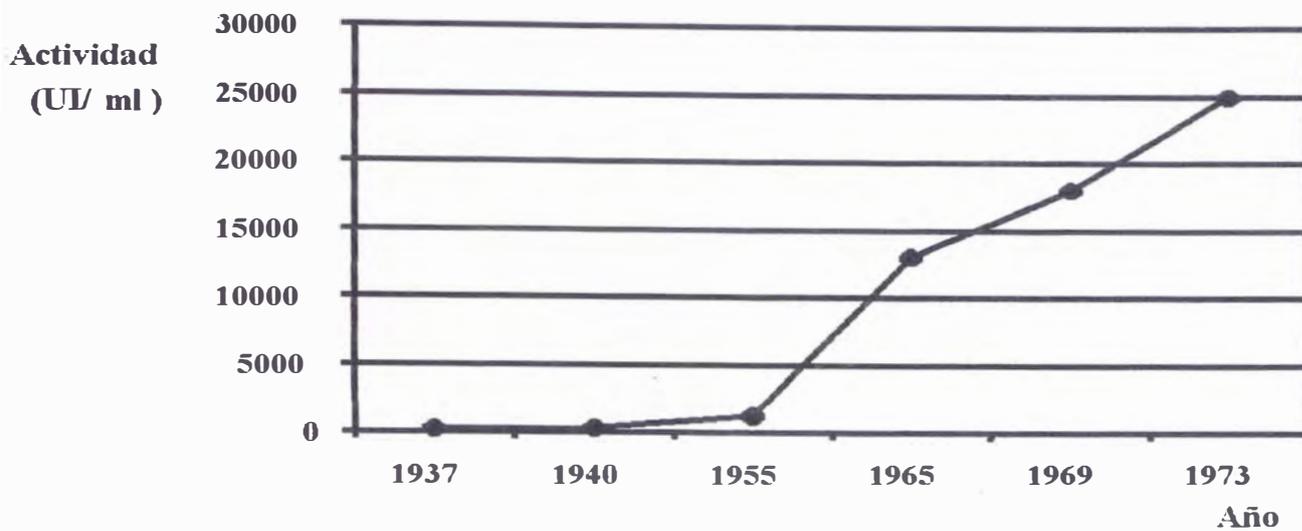
En la Figura 14 podemos ver un ejemplo del progreso en la capacidad reactiva de un compuesto proveniente de cepas modificadas de un parental inicial, así como en los últimos años de ADN recombinante (principalmente en *Escherichia coli*):

La reacción enzimática, así como la ya casi no empleada reacción química, son mostradas en la Figura 15.

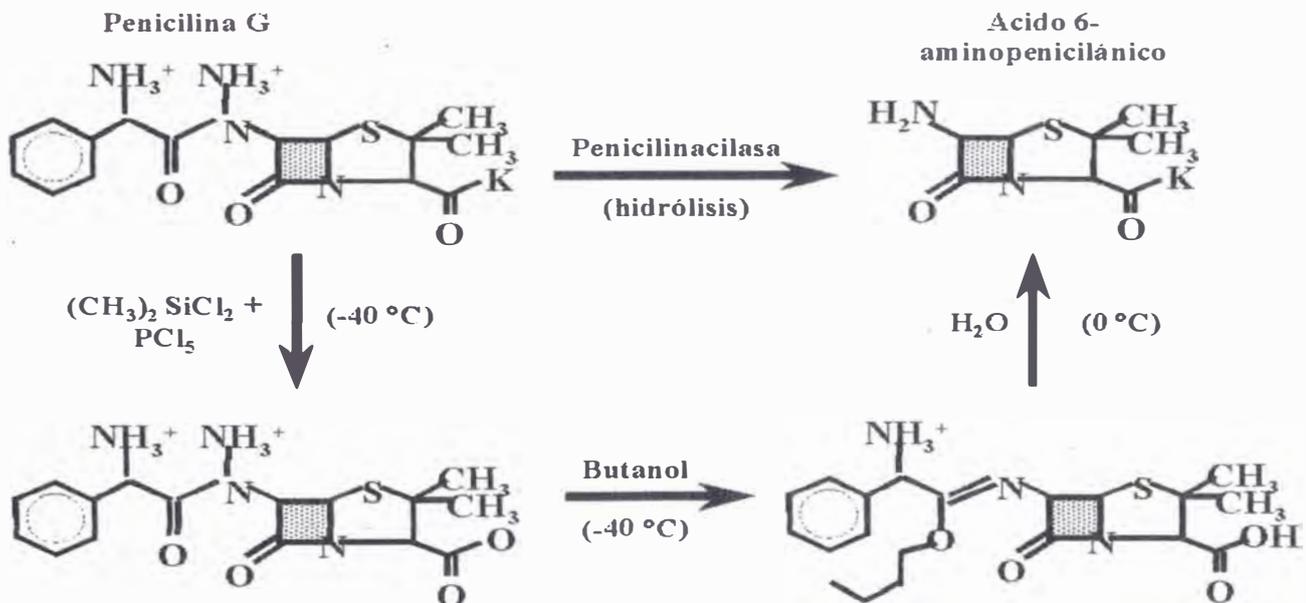
Como podemos ver, la penicilina V posee un radical adicional -O- en su molécula. La penicilina G es más usada que la V para la producción de penicilinas (derivados penicilánicos) de semisíntesis en SQSA, y en general, en todo el mundo. Ello es debido a que es la penicilina más estable y comercialmente rentable (bajo costo de producción): un 80% de la penicilina producida en el mundo es del tipo G. Más de un 40% de esta penicilina es empleada para la producción de **derivados penicilánicos semisintéticos**, cerca del 40% lo es para aplicación directa en medicina humana, y un 10% lo es en medicina veterinaria (Queener & Swartz, 1979).

Esta anterior diferencia no influye en el proceso de producción del 6-APA. La diferencia entre el empleo de la penicilina V o de la G se presenta en el **subproducto** formado: Fenilacetato o bien fenoxiacetato. Estos subproductos deben ser recuperados es, para

Figura 14



Progreso en la actividad de la penicilina G producida a partir de una cepa parental de *Penicillium notatum* durante las décadas de los 30s a los 70s



Producción de 6-APA: conversión microbiológica (síntesis enzimática) vs conversión (síntesis) química

Figura 15

(reciclados), pues, pueden ser reutilizados en la producción de la misma penicilina G ó V (se añade ácido fenil ó fenoxiacético al reactor en el proceso de fabricación de penicilina como inductor para elevar su porcentaje de rendimiento), y también se puede emplear sobre otros β -lactamatos como el ácido 7-aminocefalosporánico para producir cefalosporina N.

Además, el reciclaje forma parte del compromiso de la empresa para cumplir con las normas ambientales, evitando la contaminación de las aguas mediante el tratamiento de los efluentes y corrientes de residuos.

Producción de antibióticos .-

La ingeniería ó tecnología genética interactúa con la biotecnología, y una de estas aplicaciones de interacción es la mejora ó el reemplazo de procesos biotecnológicos clásicos.

Una de las primeras aplicaciones de la tecnología genética en el área de la biotecnología fue el desarrollo de cepas de *Escherichia coli* recombinante como superproductores de penicilinacilasa (Mayer *et al.*, 1979). La penicilina tipo G y la tipo V, producidas a bajo costo, son muy sensibles a la degradación por β -lactamasas bacterianas, por lo que necesitan altas concentraciones de suero, lo que conduce a la formación de complejos con proteínas de la sangre y a alergia a la penicilina.

Con todo, un problema de contaminación sigue siendo el flujo de una alta concentración de butilacetato como efluente. Más adelante se indicará algo sobre su posible tratamiento.

La mayoría de penicilinas (*) comerciales modernas son, por lo tanto, derivados semisintéticos producidos a partir de ácido 6-aminopenicilánico (6-APA). SINTESIS QUIMICA SA se creó

precisamente con el objetivo de producir derivados penicilánicos, y en el que la penicilina (G ó V) fuera una materia prima para la manufactura de compuestos en los que no hubiera problemas de degradación por β -lactamasas.

SINTESIS QUIMICA SA DIAGRAMA DE PROCESO PRODUCCION DE 6-APA

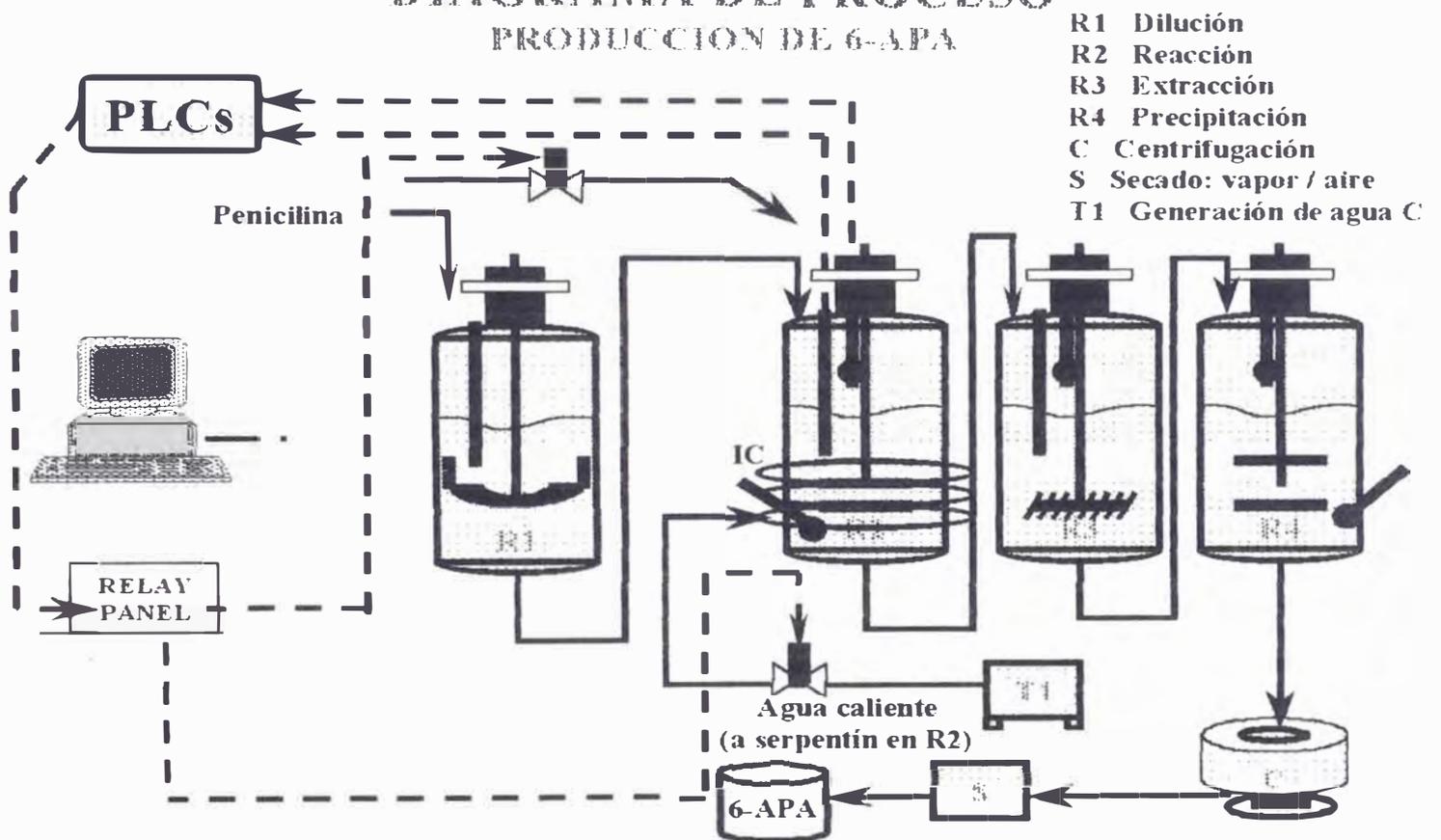


Figura 16

(*) Al mencionar la palabra penicilinas, en plural, nos referimos a los derivados penicilánicos, además de la propia penicilina.

Ahora bien, la penicilinacilasa ó la penicilinamidasa provenientes del *E. coli* e inmovilizadas en gel de poliacrilamida han sido liberadas totalmente de lactamasa, de modo que la eficiencia de reacción de conversión a 6-APA sea óptima.

Cualquiera de las 2 enzimas mencionadas (penicilin-G-acilasa ó penicilin-V-amidasa), e importadas por SINTESIS QUIMICA SA de Alemania e Italia, rompen la molécula de penicilina por el sector del radical -CO-R, produciendo ácido fenil (fenoxi) acético y 6-APA.

La secuencia establecida en SINTESIS QUIMICA SA para el proceso de producción del 6-APA se describe así:

Disolución de la penicilina .- En el reactor R₁.-

Formamos una solución al 8% aproximadamente. La disolución para esta concentración es rápida.

Carga: Se coloca 700 l de agua deionizada en R1 ⁽¹⁾. Se disuelve luego 3 Kg de H₃PO₄ para lograr una solución buffer (tampón), la que a su vez es regulada a un pH = 7,8-8,0 con ayuda de NH₄OH.

Como la penicilina es bastante lábil, la disolución de ésta debe ser lo más rápida posible.

La concentración será la adecuada para tener una concentración inicial de un 12 % en R2.

⁽¹⁾ Estrictamente, las normas de la FDA y de las GMP (Buenas Prácticas de Manufactura) exigen agua esterilizada, pero los costos de tratamiento para este sistema (que idealmente, como sistema biotecnológico, debería tener flujos de entrada asépticos), junto con la comprobación estadística de que la actividad de la

enzima inmovilizada no decrece de modo apreciable, aun sin esterilización de por medio, han hecho que se opte por la no esterilización y por el uso de agua deionizada.

Una forma de reacción en biotecnología es la conversión de compuestos con la ayuda de enzimas producidas por microorganismos. Ahora, bien, esto implica formas variadas de presencia de la enzima en el bioreactor, siendo actualmente las formas más importantes:

- Enzima inmovilizada en bolillas de gel inerte
- Microorganismos en el lecho del reactor
- Enzima diluida en el medio de reacción
- Microorganismos inmovilizados en bolillas de gel, agitados en suspensión en el medio del reactor.

**CONTROL DE ADICIÓN AUTOMÁTICO: TÍPICA CURVA DE NH_3 (al 9%) AÑADIDO AL VOLUMEN DE CONTROL. CONTROL DE pH
pH SET POINT = 8,0**

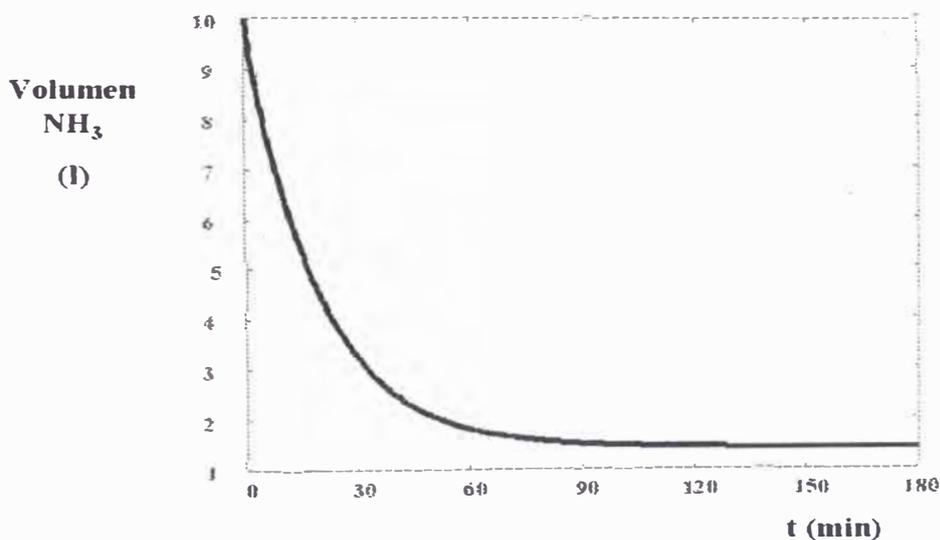


Figura 17

La técnica de la inmovilización es conveniente porque se evita pérdidas que se dan cuando la enzima ó los microorganismos no están inmovilizados, y se evita procesos de tratamiento para recuperación, los que implican consumo de energía y un alto costo.

Reacción de hidrólisis de la penicilina .-

En el reactor R₂, mediante la acción de la enzima penicilinamidasa (ó penicilinacilasa) inmovilizada. Esta reacción produce ácido 6-aminopenicilánico (penicilanato de potasio) en solución. La agitación continua se efectúa mediante un agitador de tipo Intermig, el cual produce bajo vortex y es de alta eficiencia, adecuado para la suspensión de sólidos en el sistema al convertir gran parte de la energía mecánica en flujo vertical. La Figura 44 (p.130) nos ilustra el esquema del agitador.

La reacción se da por lotes (batch), y durante ella se debe controlar el mantenimiento de los siguientes parámetros:

$$P_{ABS} = 1 \text{ atm}$$

$$T = 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\text{pH} = 8,00$$

Agitación constante

$$t = 2 \text{ h}$$

Se produce una reacción de acidificación, por lo que el pH decrece espontáneamente en la reacción. El control del pH es

constante, y se logra mediante la adición de un ácido ó de una base según sea el caso. De hecho, al ser una reacción de acidificación, el medio tiende a volverse ácido, por lo que el pH tiende a disminuir de 8. Ahora bien, se debe tratar de mantener la reacción a $\text{pH} = 8,00$ todo el tiempo de reacción debido a lo siguiente:

- Se ha comprobado experimentalmente que a este pH se logra el mayor porcentaje de conversión, independientemente de los otros factores de reacción.
- Se debe evitar que se alcance el equilibrio químico dinámico tan rápidamente, pues, al disminuir el pH no habría conversión adicional de penicilina a 6-APA. El porcentaje de conversión sería demasiado bajo, por lo cual se hace que la reacción se desplace hacia la derecha en cada instante, controlando la adición de amoníaco como desacidificador (alcalinizador).

Por lo tanto, el reservorio principal para restabilización de pH es un tanque con solución alcalina (hidróxido); en este caso se tiene NH_4OH diluido al 8% aproximadamente.

Control automático: De pH, mediante un control de retroalimentación, con controladores (tarjetas de control) Philips KC-840, en el modo de control PID, el cual es el modo adecuado para control de temperatura. Dos indicadores de pH: los sensores son electrodos de pH en solución de $\text{AgCl} / \text{AgNO}_3$, insertados en un armazón metálico de seguridad dentro del reactor, para evitar ruptura. La Figura 18 ilustra el esquema del pHmetro.

Uno de ellos trabaja en coordinación con el controlador, en el sistema de control de retroalimentación en lazo cerrado (ver Figura 19), y el otro se emplea como referencia.

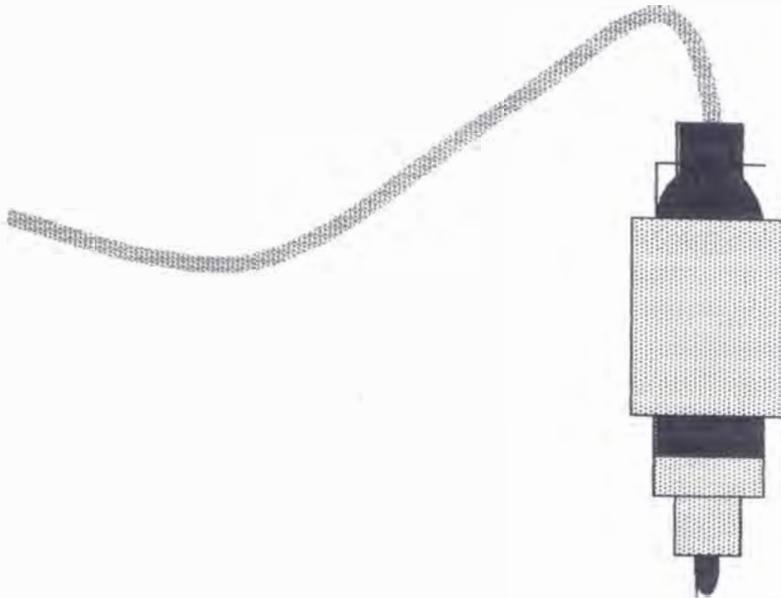


Figura 18
Electrodo de pH con su protección de acero y cable de conexión a transmisor



Figura 19
Posición de los 2 electrodos de pH (principal de medición y control y referencial) en R2

Influencia de la viscosidad: En el proceso en SINTESIS QUIMICA SA, la viscosidad casi no varía (valor aproximado: 1,3 cpo, un tanto mayor que la viscosidad del agua). En R1 y en R2 se mantiene el fluido como fluido viscoso no newtoniano (McNeil & Harvey, 1993).

Transferencia de la solución a extractor R3 líquido-líquido .-
[agitador con 1 impulsor tipo turbina]

La extracción es un primer paso en los procedimientos de purificación del 6-APA. La extracción es el cuello de botella en nuestro procedimiento. Es realizada en el reactor R3, un recipiente de 4000 l con agitador tipo turbina. El procedimiento es el siguiente: la fina suspensión coloidal (casi una solución) de 6-APA es mezclada mediante potente agitación con butilacetato en R3. Este compuesto orgánico coge al radical fenil ó fenoxi que proviene de la molécula de penicilina inicial.

Para realizar esta operación con éxito, las condiciones óptimas de operación son:

Baja temperatura: 0-2 °C es un rango adecuado.

Rápida acidificación de las 2 fases en agitación (suspensión de 6-APA y butilacetato).

Estabilidad del 6-APA .-

La molécula de 6-APA es estable en un rango de pH ácido, y hasta un pH básico de 9. A un pH superior a 9 (es decir, en un medio claramente alcalino), la molécula de 6-APA se desdobra, abriéndose por el enlace de azufre covalente. Por lo tanto, es muy importante tratar de no sobrepasar el nivel de 8 en ningún momento.

Podemos asumir la siguiente data para pH y temperatura adecuados para la enzima y para el 6-APA:

Medio	pH adecuado	T adecuada (°C)
enzima en almacenamiento	7,0	2,0 - 4,0
enzima en reacción	8,0	28,0 - 29,0
6-APA en reacción	8,0	28,0 - 9,0
6-APA antes de extracción	7,0 - 8,0	0,0 - 2,0
6-APA luego de extracción	1,8 - 2,0	4,0 - 5,0
6-APA purificado (sólido)	3,3 - 3,6	<= 25,0

El 6-APA tiene un punto isoeléctrico a un pH = 4,0. Esto quiere decir que a este pH el 6-APA en la fina suspensión (semisolución: mencionar tamaño de partícula) cristaliza.

En el proceso de extracción líquido-líquido, le objetivo es el siguiente: Separar el 6-APA del ácido fenilacético ó ácido fenoxiacético (según se haya trabajado con penicilina G ó con penicilina P, respectivamente), que también está en solución.

La extracción líquido-líquido es realizada del siguiente modo: Se transvasa el 6-APA con el ácido fenil- ó fenoxiacético en solución al recipiente R₃, en el cual se mezcla con aprox. 1000 l de butilacetato, el cual actúa como solvente orgánico.

Aquí existen 2 fases líquidas:

Fase acuosa: Suspensión de 6-APA al 8 % aproximadamente.

Fase orgánica: Butil acetato

Se mantiene una agitación constante durante el proceso, lo cual se logra con 2 agitadores de tipo turbina coaxiales (en un mismo eje).

Este es un sistema adecuado para obtener una fina dispersión de las 2 fases inmiscibles (Fasano *et al.*, 1994).

Se disminuye la temperatura de 28 °C hasta aprox. 0-1 °C, y a continuación se añade ácido sulfúrico (concentración = 70%), el cual acidifica al medio, bajando el pH rápidamente de 7-8 hasta aproximadamente 2. La reacción con ácido sulfúrico es notoriamente exotérmica, y ello es la razón para que antes de la extracción se disminuya la temperatura. Luego de la acidificación con H₂SO₄, la temperatura queda en aproximadamente 4-5 °C.

Se mencionó que el proceso de acidificación debía ser veloz, pues, la disminución del pH de 8 a 2 implica el paso del pH por el punto isoelectrico del 6-APA. Por lo tanto, se debe evitar lo siguiente:

- Adición demasiado lenta: no se supera el punto isoelectrico con suficiente rapidez, por lo cual precipitará algo de 6-APA en este punto, no logrando la purificación deseada.
- Concentración demasiado baja de ácido: la variación de pH es también lenta, y además puede llegar a un pH > 2 al final de la adición.
- Agitación demasiado pobre: al pasar por el punto isoelectrico en estas condiciones, y bajando hasta llegar al pH 2, habrá cristalización de 6-APA localizada.

Naturalmente, no se desea que el 6-APA cristalice al pasar por el punto isoelectrico, pues, el fin es una separación de fases líquidas para purificación del 6-APA. La precipitación de cierta cantidad de 6-APA sólo ocasionará problemas adicionales de impurezas presentes en esta etapa.

Es importante mencionar la importancia de la agitación:

En R₂:

$$D = 1,3 \text{ m}$$

$$H \text{ de reactor} = 2,3 \text{ m}$$

$$H \text{ de medio} = 1,0 \text{ m}$$

$$V \text{ de medio} = 1300 \text{ l}$$

$$V \text{ de reactor} = 3000 \text{ l}$$

$$N = 1 \text{ s}^{-1}$$

Como fue mencionado, R₂ contiene un lecho de enzima inmovilizada, la cual descansa sobre una malla de 250 micras. Esta malla permite el transvase de la solución acuosa, pero retiene la enzima inmovilizada, quedando ésta en el reactor como un lecho permanente.

Luego de la acidificación se detiene la agitación, formándose las 2 fases, y se da unos 8-10 min para una separación aceptablemente eficiente en el recipiente de extracción R3.

En cifras, podemos resumir la fabricación de 6-APA por lotes en la planta industrial del siguiente modo:

Peso de penicilina (G ó P) inicial	120 Kg
Volumen de agua deionizada en reactor	1300 l
Concentración óptima de penicilina inicial	110 g/l
Tiempo de reacción	2h
Peso de 6-APA producido en 1 lote	aprox. 60 Kg

$$\text{pH} = 8$$

$$T = 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

La eficiencia es de 84 % en promedio, la que está de acuerdo con la eficiencia teórica.

Producción	Kg de 6-APA producidos por día
Productividad:	$\frac{\text{Kg de 6-APA producidos}}{\text{Kg de penicilina por día}}$
Eficiencia	$\frac{\text{Kg de 6-APA producidos}}{\text{Kg de 6-APA producidos idealmente}}$

Estos 3 factores son los indicadores de la buena ó mala marcha del proceso. El control de la actividad enzimática es esencial para predecir el comportamiento de la producción en los siguientes lotes.

Agitación:

Comentaremos sobre el sistema de agitación en los reactores:

En R1: agitador tipo ancla

En R2: agitador tipo Intermig. Para fluidos muy viscosos, este tipo de agitador presenta problemas de excesiva vibración. Pero ello no se da en el proceso en R2, debido a que la viscosidad del medio no es mucho mayor que la del agua.

El agitador Intermig es un agitador de alta eficiencia, adecuado para lograr una distribución homogénea de las partículas sólidas. En R2, hay 2 fases: una fase líquida, de viscosidad un poco mayor que la del agua, mas no muy alta; y una fase sólida, formada por pequeñas partículas de gel (de diámetro medio = 0,5 mm) dentro de las cuales está la enzima inmovilizada.

El objetivo es tener una distribución homogénea de las partículas del gel (es decir, de la enzima) en el medio de la solución de penicilina,

para lograr la máxima conversión a 6-APA en la reacción de hidrólisis.

Sabemos que un agitador de alta eficiencia, ya sea del tipo de 3 paletas con doblez angular antivortex, ó bien del tipo Intermig (Figura Apéndice) son recomendados para suspensión de sólidos y para transferencia homogénea de calor. Por ello es preferido frente al agitador de tipo turbina Rushton. Esta última es adecuada para reacciones de lote (batch) rápidas, lo cual no es nuestro caso, pues, en promedio la reacción de hidrólisis en R2 toma unas 2 h, o a veces una media hora más.

F.- Alternativas de solución

Actividad enzimática y rendimiento de los lotes .-

Se ha determinado que las razones potenciales, y que de hecho han sido la causa de problemas en el rendimiento en la formación de 6-APA, se pueden agrupar en:

1. Condiciones de reacción subóptimas

1.1 Actividad inicial no adecuada de la enzima PGA.

$$\text{Eficiencia} = \frac{v_0 \text{ en } R_2}{v_0 \text{ en reactor de lab}}$$

donde v_0 es la tasa inicial de reacción (UI de PGA / g de penicilina G de potasio).

Para el diseño del reactor R2, se ha establecido la velocidad adecuada de agitación con el agitador Intermig de la empresa Ekato.

Ahora bien, una actividad inicial baja de la enzima obliga a aumentar el tiempo de reacción. La actividad óptima de la enzima se

obtiene a $T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a $\text{pH} = 8,00$. Por lo tanto, es muy importante lo siguiente:

Mantener la temperatura y el pH en los valores anteriores, cuidando de ello sobre todo al inicio de la reacción. El sistema de control es semiautomático, con un control automático de la temperatura (control de retroalimentación PID). Sin embargo, durante los primeros minutos de la reacción, particularmente durante los primeros 30 minutos, el control depende en un buen porcentaje de la acción de control humana.

Acortar en lo posible los tiempos de retraso ocasionados por los transvases de un recipiente a otro. La penicilina es lábil (se degrada con relativa facilidad), por lo que tiende a descomponerse con relativa facilidad, aún estando sólo en un medio acuoso.

Ahora bien, durante el tiempo en el que la enzima inmovilizada no es usada (tiempos muertos, detención temporal de la producción), se debe cuidar de mantener esta enzima a condiciones adecuadas para evitar su descomposición. La enzima debe ser lavada con agua deionizada, y luego:

- Si el tiempo no es muy largo ($\leq 0,5\text{ h}$): mantener la enzima suspendida en una solución buffer a $\text{pH} = 7,0$.
- Si el tiempo es $> 0,5\text{ h}$: suspender la enzima en solución buffer a $\text{pH} = 7,0$ y a $T = 3-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Si el tiempo es $> 2\text{ días}$: luego del lavado, retirar la enzima del medio acuoso y colocarla en recipientes para su refrigeración a $T = 3-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.2 Razón enzima / penicilina inicial (sustrato) no adecuada

La actividad de la enzima está limitada por el tiempo. Una actividad inicial demasiado baja del PGA disminuye la productividad. Y una actividad demasiado alta del PGA disminuye el tiempo de reacción y aumenta la demanda por el catalizador con la posibilidad de un uso inefectivo de él. Por ello, se debe controlar la adición correcta de enzima a R2 para una adecuada actividad. Esta tarea es hecha con un promedio de adición de 1 Kg de enzima inmovilizada (peso bruto, incluyendo al gel inmovilizante) cada 3 meses.

1.3 Estabilidad decreciente de la enzima durante la producción

Las oscilaciones en la estabilidad son producidas por una oscilación muy remarcada en el pH ó en la temperatura. La reacción de hidrólisis de la penicilina es una reacción ligeramente exotérmica, y es conveniente para la enzima no sobrepasar los 29-30 °C. Por lo tanto, se debe disponer de un sistema de control de enfriamiento - calentamiento adecuado. Un serpentín de enfriamiento, como del que dispone el reactor R2 (ver figura) es un sistema adecuado para una buena transferencia de calor.

1.3.1 Inadecuada velocidad de agitación

Una mezcla ineficiente aumenta el tiempo de reacción y disminuye la actividad, pues, la frecuencia de contacto enzima - penicilina disminuye. El movimiento y el vórtice pueden ser visualizados en la Figura

1.3.2 Defectos y tolerancias en el control de pH y temperatura

Las desviaciones de los valores nominales de estos 2 parámetros pueden dañar a la enzima.

1.3.3 Adición subóptima de amoníaco

El amoníaco demasiado concentrado, al provocar un elevado pH local (puntual) al ser añadido por apertura de una válvula solenoide e inyección de NH_4OH a presión, puede dañar a la enzima.

2. Calidad subóptima de la penicilina usada

A veces hay exceso de impurezas perjudiciales para la enzima, que causan su contaminación.

3. Calidad de la enzima debajo del standard aceptable

Aspectos de ingeniería:

Agitación

La agitación de un medio líquido para mantener partículas sólidas en suspensión es una de las más comunes aplicaciones de la tecnología de la mezcla en operaciones químicas. Como sabemos, los aparatos de flujo axial, tales como impulsores de alta eficiencia y turbinas de paletas inclinadas, son los más apropiados para proveer los patrones de flujo necesario en un tanque para mantener los sólidos en suspensión.

El reactor cristalizador R4 contiene una turbina de paletas inclinadas, mas para una óptima cristalización, con formación máxima de cristales agrupamiento desde el inicio, un impulsor de alta eficiencia podría ser conveniente. El NH_4OH añadido para la cristalización a pH 4 cae en forma de un delgado chorro, por lo que es necesario que los cristales microscópicos de 6-APA que se van formando desde el comienzo puedan quedar suspendidos hasta la mayor altura posible.

El sistema de Intermig en el reactor central R2, y el sistema de doble turbina en el extractor R3 son adecuados para las funciones que éstos tienen (Kipke, 1984; Kipke, 1985; Rehm, 1980). En R4 podría optimizarse la eficiencia, pues, un impulsor de alta eficiencia instalado puede proveer el mismo nivel de sólidos en suspensión a costos de capital y operativos reducidos.

El Ekato – Interprop es un desarrollo adicional del impulsor de tipo propulsor, con 2 aletas en lugar del clásico Intermig de 3. De acuerdo a información de la compañía, este sistema provee una mayor transferencia de calor y de masa, alta dispersión de gotas y burbujas, distribución homogénea de partículas sólidas, así como bajo costo de inversión. Se esperaría, si se decide por esta renovación, una disminución de los esfuerzos de corte (cizalla) existentes, y que tienden a dañar un sistema con microorganismos o de enzima inmovilizada. Aun no hay aplicaciones en condiciones prácticas.

Optimización en el control del proceso

Se necesita dotar de sensores a algunos puntos en la línea de producción: pHmetro con mantenimiento constante en R4.

Programación del horario de lotes (batch scheduling): se puede reprogramar el horario de procesamiento de los lotes para un óptimo dimensionamiento del proceso, en los casos de variación (aumento) de la producción, y para optimizar el diseño de la planta, la que ha estado un tanto sobredimensionada para la producción que se ha hecho hasta 1995.

Para una solución razonable, determinamos un conjunto de bases de diseño, el que incluye:

- Filosofía de operación de la planta: 24 h / día, 7 días / semana, en 3 turnos de producción por día. Mantenimiento preventivo a implementar.
- Escalamiento de operación.
- Tiempo requerido para reacondicionamiento de equipo entre lotes (batches): carga, preparación y almacenamiento de materia prima y de soluciones buffer para su carga, recalibración de instrumentos y sensores (recarga de solución electrolítica para electrodos de pH), etc.

Contaminación ambiental y calidad total

La empresa tiene la obligación de cumplir con las Normas de Buenas Prácticas en Manufactura (GMP), (Harshberger *et al.*, 1995), así como con las **normas ambientales internacionales**. Por ello, la empresa ha hecho seminarios para los trabajadores al respecto (e.g. Seminario: Las BPM en SINGUISA y los Requerimientos FDA, 1995 –ver Apéndice E) y se hace estudios para una eficiente y rentable recuperación del ácido fenilacético ó del ácido fenoxiacético.

El procedimiento, con pruebas aun a escala de laboratorio, para la recuperación de fenoxiacetato (subproducto obtenible de la semisíntesis de 6-APA) es: Se trata al ácido disuelto en agua con NaOH concentrado, y se realiza luego una filtración en vacío de los cristales de fenoxiacetato de sodio.

Aprovechamiento de la capacidad instalada

R2: Volumen de trabajo = 1300 l. Volumen de reactor = 3000 l.
Una fracción adecuada de ocupación en un reactor es $2/3$ (66 %) a $3/4$ (75 %), por lo que se podría aprovechar el reactor hasta con 2000 l de volumen de trabajo, sin que haya mayores problemas en la eficiencia de agitación. El costo adicional para una mayor potencia de agitación es muy pequeño (Fasano *et al.*, 1994).

En R4: dos impulsores de paleta inclinada a 45 °:

Sea

Z = nivel de líquido en el reactor (m)

T = diámetro del reactor (m)

$D = D_{\text{IMPULSOR}}$

$Z = 0,8$ m

$V_{\text{reactor}} = 4000$ l

$V_{\text{empleado}} = 2700$ l (cada 2 cargas, cada una de 1300 l, se hace una extracción)

$T = 1,5$ m

$D = 1,1$ m

$H_{\text{reactor}} = 2,3$ m

$N = 1,3$ s⁻¹

El valor Z/T actual es $0,8 / 1,5 = 0,53$, por lo que estamos a buena distancia del límite máximo recomendado para un Re en el rango de trabajo en cuestión.

Ahora, bien, en los cálculos de ingeniería para mezcla, la variable U : porcentaje de uniformidad de la mezcla, es una función de una constante de mezclado, k_m , donde U es inversamente proporcional a k_m .

Sea N la velocidad angular del agitador. Entonces, la constante adimensional k_m / N es, en tanques standard con baffles como R4, una función de Re y de la geometría del reactor. Cuando $Re > 10000$, k_m es sólo una función de la geometría, y es independiente de Re . Para condiciones totalmente turbulentas, k_m puede ser determinado experimentalmente a partir de N , D , T y Z con la siguiente relación:

$$k_m = a N \left(\frac{D}{T} \right)^b \left(\frac{T}{Z} \right)^{0.5}$$

Los cuellos de botella para un mayor volumen de trabajo son una confiable agitación en R3 para una extracción óptima del 6-APA, así como la capacidad actual de la centrífuga: vibración excesiva a gran masa centrifugada. En el diseño original, no se proyectó una producción muy grande. De hecho, el ritmo de producción actual de 380 Kg de 6-APA/día es más que suficiente para cubrir con el mercado de clientes.

H.- Conceptos complementarios. Planteamiento de la solución

Debemos tener en cuenta que los Intermigs causan severas dificultades por vibración en fluidos altamente viscosos; con todo, se ha comprobado eficiente en el sistema líquido no muy viscoso presente en R2, obteniéndose una dispersión eficiente de la enzima inmovilizada.

Ampliando el panorama, en relación específica a la producción de biomada filamentosa (de hongos microorganismos), la opinión general es que el reactor tanque agitado (STR) convencional

equipado con la usual turbina Rushton tiene severas limitaciones. Aun así, el STR es todavía uno de los tipos de reactor más comúnmente hallados, pues, se necesitaría una fuerte inversión de capital para adquirir nuevas y aun no probadas tecnologías de reactor, comparado con el largo tiempo de experiencia que se tiene en la tecnología de fermentación operando con STRs, y la inherente flexibilidad de este tipo de reactor.

Como muestra de avance, se ha sugerido algunas modificaciones menores al STR básico para mejorar ciertos aspectos de su performance. Así tenemos e.g. los análisis (Nienow, 1990) de eficiencia en fermentaciones de micelio. En la Figura 40 podemos ver tipos comunes de agitador empleados actualmente en reactores tanque agitado.

El agitador helicoidal se ha comprobado eficiente no sólo para el SSF, como se mencionó en la labor en el LMB, sino también en fermentación en medio líquido viscoso como el de pululano (Choplin *et al.*, 1987). Este agitador ayuda a eliminar zonas estancadas. (ver arriba).

I.- Control de desarrollo de las etapas de trabajo

Validación: el propósito de las cGMP (BPM) en la empresa es minimizar el riesgo de contaminación en las personas que maniobran con y emplean los productos farmacéuticos, y estipular los requisitos mínimos para asegurar la manufactura de productos de calidad. La validación es un proceso continuo, que se debe dar para cada especificación que se desee establecer en la producción, y continúa durante todo el tiempo de vida de la planta de producción.

El propósito de los Requerimientos del GMP es:

- a) asegurar que el producto tenga siempre la misma calidad, consistencia y seguridad.
- b) Asegurar que el producto es manufacturado con reproducibilidad, con la mínima posibilidad de error.
- c) Asegurar completa y extensiva documentación.

Hasta los momentos previos a mi retiro de SINTESIS QUIMICA SA, se estaba coordinando un convenio de investigación y desarrollo de enzima penicilinacilasa inmovilizada en gel, con la Universidad Católica de Valparaíso, lo que significará una costosa materia prima que será ahorrada por la empresa. Ello también significará otro proceso de validación con las GMP.

En el caso de la producción actual, tanto el proceso de hidrólisis de 6-APA como el proceso de semisíntesis de los derivados antibióticos, implica un control específico del proceso en la purificación (downstream), mas, aunque parezca curioso, uno de los procesos centrales, el cual es la reacción química de hidrólisis de la penicilina en 6-APA, no necesita un control aséptico estricto. De hecho, no hay una esterilización previa; la FDA no ha desaprobado particularmente esta forma de operación.

Validación

El propósito de las cGMPs es minimizar el riesgo de contaminación a personas que empleen productos medicinales, y estipular los mínimos requisitos para asegurar la manufactura de productos de calidad. La validación reafirma con documentación que el diseño de una planta cumple con las normas de las cGMPs. Para el ingeniero químico, ello significa que cualquier diseño que se realice debe ser validado según los requisitos de las cGMPs con las

especificaciones que se establecen en la planta. Es importante recordar que la validación es un proceso continuo, y continúa a lo largo de toda la vida de la planta.

Elementos de validación:

- a) Documentación o desarrollo: protocolos, un plan maestro (master plan) y métodos para colección y evaluación de data; procedimientos operativos standard, archivos del equipo de planta (biblioteca); procedimientos de higiene industrial; procedimientos de mantenimiento preventivo; especificaciones e.g., standards y límites de pureza de la materia prima y del producto, y parámetros críticos de control.
- b) Calibración de todos los instrumentos.
- c) Ingeniería: diagramas de tuberías e instrumentación (P&IDs), diagramas de equipo; instalación calificada con documentación escrita (los equipos y los sistemas auxiliares deben estar instalados de acuerdo al diseño y a las especificaciones), y calificación operacional.
- d) Calificación del proceso: documentación que establezca la evidencia de la consistencia o la reproducibilidad de la operación de un sistema.
- e) Certificación de entrenamiento de personal: control continuo de calidad y programas de aseguramiento de la calidad.

Las regulaciones de los Estados Unidos para las Buenas Prácticas en Manufactura (GMP), y aplicadas o por aplicar por norma de la FDA en SINTESIS QUIMICA SA son:

21 CFR 210	cGMP in Manufacturing Process	Packaging or Holding of Drugs	General
21 CFR 211	cGMP for Finished Pharmaceuticals		
21 CFR 600-680	cGMP for Biological Products		

(*) De concretarse un proceso de fabricación de enzima por la propia empresa, la regulación 21 CFR 600-680 para productos biológicos se aplicaría también.

CFR = Code of Federal Regulations

Es conveniente distinguir la diferencia entre la aplicación de las normas para productos del grupo de medicamentos / drogas y los productos biológicos. La producción en SINTESIS QUIMICA SA está en el rubro de la primera columna: medicamentos / drogas:

Sustancia activa definida y aislada	Bulk(masa) intermedia, a menudo no aislada
Disponibles en grandes cantidades	Disponibles sólo en pequeñas cantidades
Procedimientos de ensayo sensitivos específicos	El ensayo puede depender de la actividad biológica
Manufactura consistente (total estabilidad)	Variabilidad entre lote y lote
Sin especificación codificada	Especificaciones para bulks establecidos en la Product License Application PLA
visión FDA empieza con la sustancia: medicamento o d	Revisión FDA empieza con la producción de materia prima
R: Centro para la Evaluación y la Acción en Medicamentos / Drogas	CBER: Centro de Evaluación e Investigación de Productos Biológicos

Algunas consideraciones de GMP para medicamentos y productos biológicos

J.- Determinación de la performance

Rendimiento teórico de 6-APA: 85 %

El rendimiento es calculado así:

$$\frac{\text{peso molecular de 6-APA}}{\text{peso de penicilina inicial}}$$

Con una carga de 120 Kg de penicilina G ó V inicial, se produce unos 62 Kg de 6-APA. La performance química es aceptable, estando el rendimiento cerca al valor de rendimiento teórico. La performance de ingeniería podría mejorar optimizando la eficiencia de la transferencia de calor y de masa. Para ello, más pruebas de agitación son necesarias.

La performance en la investigación de recuperación de fenoxiacetato de sodio está en progreso.

K.- Evaluación económica final

SINTESIS QUIMICA SA sigue una línea de producción según pedidos de los clientes, por lo que mantiene poco producto en stock. Un sistema just-in-time gobierna la compra de materia prima -penicilina- y la venta de los productos de la compañía a sus clientes.

Downstream processing: los procesos de purificación del 6-APA y de los productos antibióticos derivados de éste -también producidos en SINTESIS QUIMICA SA-, contribuyen con más de 75% de los costos de producción, lo que es de esperar para los productos farmacéuticos, debido a la alta pureza requerida en ellos (Aiba *et al.*, 1965; Atkinson & Sainter, 1982; Rosen & Datar, 1983; Bjurstrom, 1985; Datar, 1986; Cliffe, 1988). Ello es una marcada diferencia con respecto al SSC.

L.- Conclusiones y resultados finales

Vemos una proyección en la industria de antibiótica: el precio en el mercado sería estable. Los β -lactamatos en general tienen aceptación en la medicina. En general no tiene efecto adverso secundario, o bien, éste se ha manifestado en mínima proporción.

Producción y tecnología de optimización: a largo plazo se podría hablar de uso de microorganismos inmovilizados en la producción de 6-APA en R2 (la versatilidad de manipulación del *E. coli* recombinante lo hace apto para ello), teniendo a la enzima inmovilizada como un mecanismo auxiliar. Aun cuando unos 150 sustancias de antibiótica son producidas comercialmente hoy en día, la mayoría de ellas es producida por procesos microbianos (Furusaki *et al.*, 1992). En el caso de SINTESIS QUIMICA SA, se puede hablar de una derivación de este proceso, pues, lo que se emplea no es los microorganismos en sí, sino su enzima, la cual se ha inmovilizado para un menos costoso proceso de downstream.

Sin embargo, es importante mencionar este punto, pues, la penicilina materia prima no necesariamente debería ser adquirida del mercado internacional, sino que con una proyección podría ser fabricada en una empresa del Perú (actualmente se compra la penicilina de Brasil y de China).

Uno de los más importantes temas relacionados a la producción de antibióticos empleando células inmovilizadas (vivas) es una continua y estable producción de metabolitos secundarios no asociados con el crecimiento. Varias aplicaciones ya han sido reportadas (Constantinides & Mehta, 1991). Uno de los problemas esenciales para una continua y estable producción de antibiótica mediante microorganismos inmovilizados es cómo regular la concentración de sustratos limitantes del crecimiento tales como oxígeno (Trueck *et al.*, 1990), nitrógeno (Trueck *et al.*, 1990),

fosfato (Constantinides & Mehta, 1991; Trueck *et al.*, 1990), y amino ácido (Chun & Agathos, 1991) para mantener la actividad biosintética de los antibióticos. Aparentemente, la alimentación periódica de un sustrato limitante de crecimiento (Constantinides & Mehta, 1991) es una buena estrategia operativa. De hecho, se ha logrado demostrar (Keshavarz *et al.*, 1990) la producción continua de antibiótico con una baja tasa de crecimiento usando un mutante del ciclo de división celular que es sensible a la temperatura.

En el caso actual, se podría hablar de una producción de enzima (penicilinacilasa o penicilinamidasas) por SINTESIS QUIMICA SA, en una proyección análoga a futuro al caso del cultivo en sustrato sólido en el Laboratorio de Micología y Biotecnología.

Futuros prospectos: en el caso de hidrólisis en medio líquido del proceso en SINTESIS QUIMICA SA, el sistema con microorganismos inmovilizados tiene varias ventajas. No se tiene que adquirir una enzima ya preparada a alto costo, y los efectos fisiológicos causados por la inmovilización sobre el metabolismo de los microorganismos aumentan las posibilidades de estabilizar la producción de sustancias químicas útiles. Los efectos de microambientes físicos y/o químicos sobre los microorganismos inmovilizados en los sistemas metabólicos celulares serán gradualmente investigados en forma más precisa. Los estudios de interacciones mutuas y relaciones simbióticas entre diferentes tipos de células inmovilizadas puede ofrecer algunas interesantes aplicaciones.

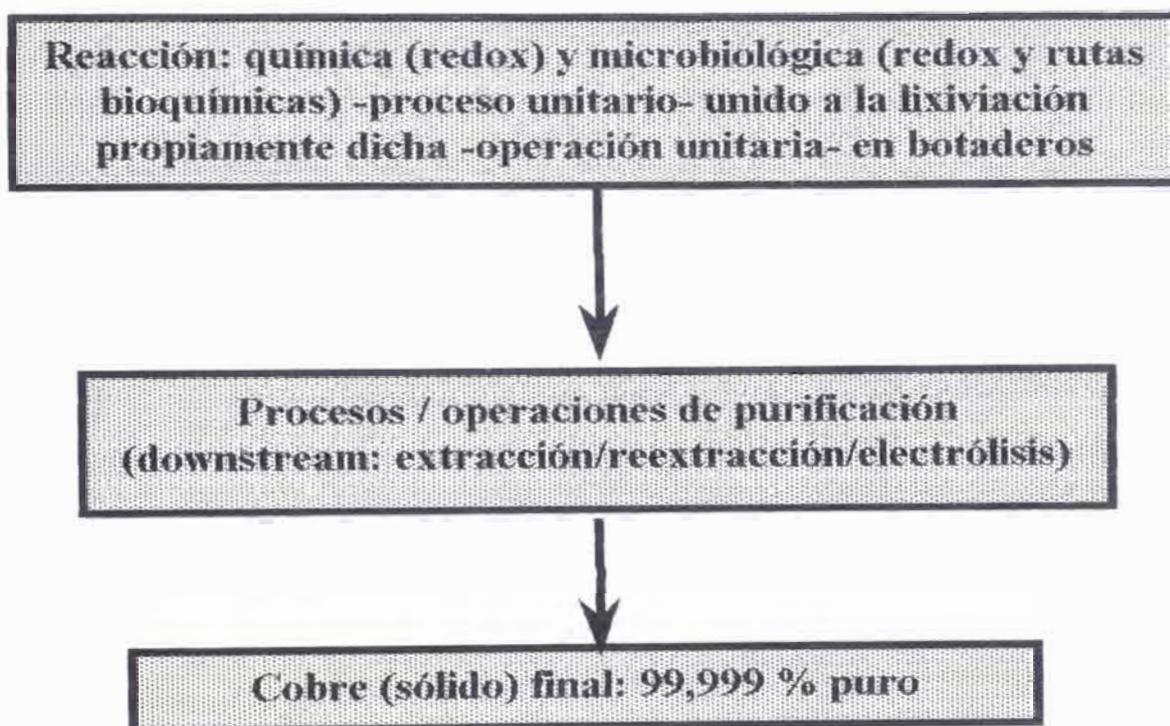
En el interín, se ha desarrollado nuevas actividades biocatalíticas de varios tipos de células. Además, los biocatalizadores serán producidos por biotecnología de punta, lo que incluye técnicas de manipulación genética, técnicas de fusión de protoplastos, e ingeniería de proteínas. Y esta inmovilización también devendrá en

nuevas formas de control en el campo de la ingeniería de bioprocesos (Luyben, 1994).

Otros aspectos que es importante detallar son la logística y la cartera de clientes. El saludable signo del aumento del capital social de SINTESIS QUIMICA SA en 1995-1996 es una muestra de la orientación hacia la calidad para el cliente, lo que ha estado expandiendo el mercado de la empresa a países en Asia.

III.- SOUTHERN PERU LTD.: PLANTA DE LIX / SX / EW

Veamos un diagrama de flujo generalizado de las operaciones y procesos unitarios en la planta de LIX / SX / EW:



En los botaderos de sulfuros minerales en Toquepala se realiza lo siguiente: lixiviación con solución acidulada, llamada raffinate o raff simplemente, a pH = 2, con riego en aspersion sobre la superficie de los botaderos, cargados con chalcocita

y algo de chalcopirita. Flujo continuo durante 2 meses, luego de los cuales se procede a un periodo de reposo de 6 meses para promover la actividad y la fase de crecimiento y reproductiva de los microorganismos del ecosistema, promoviendo así la oxidación y la difusión (transferencia de masa y calor).

El ciclo de lixiviación-descanso es repetido indefinidamente en tanto quede aun una cantidad económicamente atractiva de cobre adicional que pueda ser recuperada desde una particular sección de un botadero. Para mantener este ciclo y asegurar al mismo tiempo un continuo flujo de solución cargada de cobre hacia las etapas de extracción, aproximadamente un cuarto del área disponible en los botaderos está en lixiviación en un instante particular, y 3 cuartos están en reposo. Se espera con la biolixiviación recuperar un 37 – 38 % del cobre total en los botaderos en un periodo de 12 años.

El raffinate es bombeado a los 6 botaderos a una tasa nominal de 14000 gal/min. Cada uno de los 6 botaderos tiene una o más secciones, llamadas bloques, y cada una con una línea de tubería troncal y varias subtruncales. Este entramado de tubería lleva al raff a las tuberías y aspersores a una tasa de 10 gal/día-ft².

Luego de los 2 meses de cada tercera lixiviación, se hace un acondicionamiento ('golpe') de ácido; una solución concentrada de ácido es añadido para disolver el sulfato ferroso (FeSO₄), azufre elemental (S) y otras sales minerales, los que forman una capa sobre la superficie de los minerales de cobre. Este 'golpe' de ácido es necesario periódicamente, pues, de lo contrario las reacciones de oxidación-reducción de la biolixiviación se detendrían. El lapso de acondicionamiento es de 2 semanas.

Como se mencionó, a medida que el raff percola hacia abajo por entre los intersticios en los botaderos, disuelve algo de cobre, formando un PLS con una concentración de cobre de 3,5-4 g/l. Se estima que un 16 % de la solución en los botaderos se pierde por evaporación y por retención dentro de los botaderos, por lo que aproximadamente 12000 gal/min fluyen a la extracción por solventes.

El PLS es colectado en la base de los botaderos y es bombeado uniéndose con el PLS de Cuajone, que contribuye con un 14 % del cobre total que es producido luego de la electrodeposición.

Hay 3 bloques de extracción-reextracción en cada uno de 3 series en el sector SX. En los 2 primeros mezcladores – sedimentadores en serie (2 etapas de extracción), cobre es transferido (extraído) de la fase acuosa a la fase orgánica. Esta fase orgánica está conformada por un extractante orgánico especial y un diluyente derivado del kerosene. La fase resultante pobre en cobre –es decir, la fase acuosa luego de la extracción de cobre- es acidificada un tanto más con un pequeño flujo de electrolito de bleeding y es recirculada a los botaderos.

La fase orgánica, cargada, es entonces transferida a una etapa de reextracción en un mezclador – sedimentador, donde el cobre es reextraído de la fase orgánica a la fase acuosa de electrolito. Esta última fase, como electrolito ‘rico’, es acidificada según sea necesario para una buena eficiencia en reextracción. Ello es hecho con una constante adición de H_2SO_4 .

Veamos un resumen de la situación actual en la planta:

RESERVAS DE MINERAL LIXIVIABLE:

- En botaderos de sulfuros de baja ley de cobre en Toquepala (0,2 %): 500 millones de Ton
- Masa de sulfuros por llevar a botaderos: 150 millones de Ton (0,25 % de Cu)
- Oxidos de alta ley de Cuajone: 15 millones de Ton

BREVE DESCRIPCION DEL PROCESO DE LIXIVIACION (LIX)

TOQUEPALA:

- Biolixiviación en los botaderos de sulfuros.
- Flujo de solución acuosa para irrigación a botaderos: 14000 gal/min

- Flujo de solución impregnada de cobre (PLS): 12000 gal/min. Concentración de cobre = 4 g/l
- Cobre de alta pureza (99,999%) producido = 115 Ton/día

BREVE DESCRIPCION DEL PROCESO DE LIXIVIACION (LIX) - CUAJONE:

- Trituración, aglomeración y curado de óxidos de cobre.
- Lixiviación en pilas: pads de lixiviación.
- Flujo de solución acuosa acidulada de irrigación = 350 gal/min.
- Flujo de solución impregnada de cobre = 300 gal/min: $[Cu^{2+}] = 7 \text{ g/l}$
- Flujo másico diario de $Cu^{2+} = 15 \text{ Ton/día}$

BREVE DESCRIPCION DEL PROCESO DE EXTRACCION POR SOLVENTES (SX) -TOQUEPALA:

- Alimentación a SX: 12000 gal/min de PLS.
- El sector SX es un conjunto de 3 trenes iguales y paralelos, cada uno compuesto de: 2 bloques o etapas de extracción con solución orgánica extractante (en contracorriente) y 1 etapa de reextracción (stripping).
- Recuperación de cobre luego de la extracción-reextracción: 90 %.

DESCRIPCION DEL PROCESO DE ELECTRODEPOSICION (EW) - TOQUEPALA:

- Placas madre cátodos de acero inoxidable (Mount ISA).
- Número de celdas: 122, con 62 cátodos por celda.
- Periodo de formación de placa de cobre: 7 días. Out: 115 Ton de Cu/día.
- Calidad de cobre: excede el Grado A LME (Bolsa del Mercado de Metales de London: London Metal Exchange).

COSTOS:

- Costos de operación: 50 % de los costos de operación promedio en el resto de la empresa.
- Costos de producción de Cu por lixiviación: \$ 0,24 / lb en promedio.
- Comparación: mediante concentración de minerales y fundición el costo es aprox. \$ 0,62 / lb.
- Precio actual de Cu en el mercado mundial de metales: \$ 0,77 / lb.

BENEFICIOS DE LA LIXIVIACION:

- Costos notoriamente menores a los de fundición.
- Ausencia de emisión de SOx. En general, un mejor equilibrio con el medio ambiente.

ANALISIS DE LA RENTABILIDAD DE UN PROCESO DE LIXIVIACION:

- La biolixiviación es un proceso que toma años hasta la degradación de un botadero. Las pruebas de rigor en columnas deben ser realizadas, de modo que se concluya que un botadero pueda producir un PLS con buena extracción, manteniendo al mismo tiempo un consumo relativamente bajo de H₂SO₄. Estos aspectos son los más importantes en el análisis de la rentabilidad económica de un botadero.

DATOS DE COSTOS EN LIXIVIACION
Costos de operación: representan un 50 % de los costos de operación en el resto de la empresa
Costo de producción de Cu: \$ 0,24 / lb en promedio
Comparación: el costo de producción mediante concentración y fundición / refinación: \$ 0,56 / lb
Precio actual del cobre en el mercado mundial: \$ 0,76 / lb

FUERZA LABORAL:

- Toquepala: 58 personas.
- Cuajone: 11 personas (*).
- Operadores multidisciplinarios (Técnicos Polifuncionales)
- Organización basada en equipo
- Entrenamiento en skills técnicos

(*) planta de trituración/lixiviación ácida en Cuajone

Algunos valores comunes en el proceso de obtención de Cu por biolixiviación son:

PLS con 1 – 5 g/ml de Cu^{2++}

Electrolito rico con 50 g/ml de Cu^{2++}

Electrolito pobre con 35 g/ml de Cu^{2++}

Cobre final con < 20 ppm de impurezas

Algunos aspectos de la química y la microbiología del proceso de biolixiviación en los botaderos

Las reacciones pueden proceder sin acción bacteriana, mas éstas son aceleradas grandemente por enzimas (biocatalizadores) producidas por las bacterias (Torma, 1991). Esta acción catalítica es atribuida al *Thiobacillus thiooxidans* y al *Thiobacillus ferrooxidans*, entre otros (Twidwell, 1984).

La mayoría de aguas minerales de sulfuros contienen bacteria activa. El uso de esta agua para la lixiviación de soluciones (con ayuda de H_2SO_4 diluido y a un pH ácido estabilizado) automáticamente provee los cultivos iniciales de bacteria para lixiviación. Para una óptima acción bacteriana, la lixiviación debe ser llevada a cabo bajo condiciones a las cuales la bacteria se desarrolla, a saber:

- pH: 2 – 3,5
- T: 25 – 60 °C (estas temperaturas son naturalmente generadas en las pilas y en los botaderos de sulfuros por reacción exotérmica de oxidación–reducción –Cathles & Murr, 1980).
- Un adecuado suministro de oxígeno: ayudado por el rociamiento y durante el reposo (Twidwell, 1984).

Mecanismos directo, indirecto y electroquímico:

Los minerales no sulfurados (e.g. óxidos de baja ley en Cuajone) son lixiviados directamente por una solución acuosa de H₂SO₄, en reacciones rápidas ácido – base:

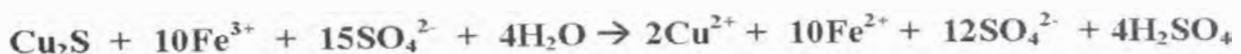


La lixiviación de minerales sulfuros requiere, sin embargo, un oxidante además del H₂SO₄. El más importante y fuerte oxidante aquí es el Fe³⁺, el cual es generado por reacciones bacterianas con O₂ del aire:

Los microorganismos continúan con la oxidación del Fe²⁺ formado



Ahora bien, el Fe³⁺ formado, por ser un fuerte oxidante, oxida al S en la chalcocita (Cu₂S), que conforma más del 80 % de la composición en el mineral sulfuro en Toquepala y Cuajone:



Vemos que esta reacción produce Fe^{2+} , al reducirse el Fe y oxidarse el S. Este Fe^{2+} es nuevamente oxidado por reacción microbiológica redox, cerrándose así el ciclo. Hay además un equilibrio entre el H_2SO_4 extra formado por las reacciones de arriba y el que se pierde por neutralización ácido-base de otros minerales presentes en el sistema, como e.g. calcita.

El ión férrico es un poderoso agente oxidante, como ya se vió. Por ello, su presencia en una pequeña proporción es ya suficiente como para generar un potencial de 400 mV a más, con lo que puede proceder las reacciones redox microbiológicas para el ataque necesario a los sulfuros metálicos, y para la generación del ATP necesario para el metabolismo del microorganismo (éste opera a condición óptima a Eh de 0,6 V).

El empleo de cloruro férrico (FeCl_3) como solución acidulada no es probablemente lo más conveniente, aunque se ha hecho en algunos procesos de biolixiviación en el mundo. Además de ser corrosivo, se ha comprobado que el crecimiento de microorganismos como *Thiobacillus ferrooxidans* es inhibido inicialmente en un medio conteniendo una alta razón de cloruro férrico a sulfato ferroso. Esta inhibición se debe al requerimiento de una alta proporción relativa de iones sulfato para la oxidación correspondiente del hierro. Con todo, se produce siempre una adaptación por mutación espontánea selectiva en el ecosistema del volumen de control (Lazaroff, 1963). **Sobre los microorganismos del ecosistema acondicionado en los botaderos de sulfuros (dumps):** El típico habitat del *T. ferrooxidans* de pH 1,5 - 3,5 no es uno que se desarrolle espontáneamente. Se cree actualmente (Béchar, 1996) que estas condiciones son producidas por un consorcio de bacteria actuando en sucesión, el que incluiría al *T. thioparus* a pH neutro, dando paso al *metallogenium* a pH 3,5 - 4,5 (Walsh & Mitchell, 1972), y finalmente al *T. ferrooxidans* a pH bajo (ácido).

La actividad metabólica del *T. ferrooxidans* es dependiente de la temperatura, con un pico a 30-35 °C (Roman & Benner, 1973). Asimismo, se ha demostrado (Leduc & Ferroni, 1994) que las cepas de *T. ferrooxidans* son sitio específicas.

Veamos una tabla con velocidades de lixiviación de minerales de Cu con solución ácida de H_2SO_4 :

Mineral	Tiempo promedio (extracción rentable)
carbonatos, sulfatos, tenorita, crisocola	varias horas con agitación
cuprita, chalcocita, cobre nativo, bornita, covelita	varios meses de lixiviación en pilas
chalcopirita	varios años de lixiviación en botaderos

Los carbonatos, sulfatos y algunos óxidos disuelven completamente en H_2SO_4 diluido. Los sulfuros, por otro lado, forman compuestos intermedios y sulfuro elemental –en el interín de las reacciones de oxidación-reducción. Estos compuestos inhiben el movimiento de los iones Fe^{3+} y del O_2 hacia la superficie aun no lixiviada (Hiskey, 1986) y tienden a hacer más lentas a las reacciones.

La hipótesis (Hiskey, 1993) es que

- a) el Fe del $CuFeS_2$ lixivía antes que el Cu, dejando una capa pasiva de CuS_2 metaestable. Por ello, en el reporte de análisis metalúrgico, el parámetro de potencial electroquímico es un valor importante a observar. Este debe mantenerse en promedio en ≥ 600 mV (0,6 V) para una buena actividad microbiológica. Nos referimos a la Figura 35.
- b) La lixiviación subsiguiente de cobre del CuS_2 deja una capa de azufre (amarillenta) recubriendo a las rocas de mineral.

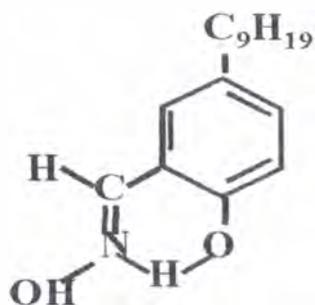
Algunos aspectos de la cinética y el equilibrio en la extracción / reextracción

Como se mencionó, la extracción / reextracción es parte de las operaciones unitarias y procesos unitarios de purificación (downstream).

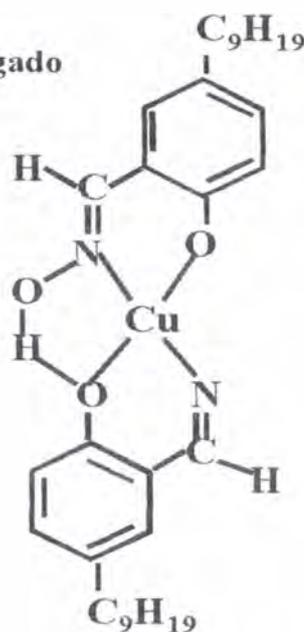
En la planta, el extractante usado para el proceso es una mezcla de salicilaldioxima con cetoxima, al 10 % aproximadamente, en una solución orgánica

diluyente formada por una mezcla de derivados de kerosene (con cadenas alifáticas y aromáticas).

(a) Cargado



(b) Descargado



Molécula de nonil salicilaldioxima y complejo de Cu (Dalton *et al.*, 1986). Dos moléculas de salicilaldioxima se acomplejan con un catión Cu^{2+} y liberan 2 cationes H^+

Figura 21

El extractante orgánico remueve al Cu^{2+} del PLS mediante la reacción



La carga del extractante en la solución orgánica con Cu^{2+} es favorecida por una baja concentración de iones H^+ en la fase acuosa, y ello no se debe precisamente al equilibrio químico. Tal parece que el extractante empieza a degradarse a concentraciones altas de H^+ , tanto en el PLS como sobre todo en el electrolito. El control de la concentración de H^+ en el electrolito aun pobre, previo a su enriquecimiento por el contacto con la solución orgánica, es así un punto importante. Como veremos más adelante con el conjunto de lazos de control diseñados para el volumen de control bloques de SX / Tank Farm (sector de volúmenes de los fluidos del sistema en tanques), esta concentración, sobre la cual podemos tener hasta ahora análisis off-line (refiérase Ud. a la tabla de Análisis en el Apéndice), tiene un control semiautomático. La lógica en este sector es en general: mantener un sistema estable en las concentraciones de electrolito en el sector de los bloques de SX (electrolito pobre, electrolito rico y electrolito a celdas, 3 puntos que guardan cierto equilibrio entre sí) con ayuda de la coordinación humana (sistema basado en conocimiento); a partir de allí, un control de nivel puede ser realizado automáticamente, manteniendo al sistema estable.

Así, pues, el contacto de la solución acuosa de PLS con el extractante orgánico resulta en la extracción de Cu desde la fase acuosa hacia la fase orgánica.

Luego de este paso, las fases orgánica y acuosa son separadas por gravedad. El raff (la solución acuosa ya pobre) es reciclado para lixiviación, en tanto la fase orgánica cargada es 'desnudada' (stripped) por el electrolito pobre.

La reacción de reextracción es inversa a la de extracción:



Como se puede ver, la reacción es desplazada hacia la derecha con un aumento de la concentración de H^+ en el electrolito (el proceso de reextracción es ayudado por una recirculación de electrolito en el bloque de stripping, S1). Mas, recordemos que no debe sobrepasarse una determinada concentración de equivalentes –ya fijada por acuerdo según la experiencia en la operación- ácidos so pena de degradar al extractante, y disminuir a la larga la eficiencia de este último.

En resumen, el extractante empleado cumple en general con:

- una extracción eficiente de Cu.
- Un eficiente 'stripping' al electrolito.
- Una extracción selectiva, sobre todo frente a presencia de Fe.
- Una aceptable cinética.
- Una buena solubilidad en un diluyente kerosénico.
- Una rápida transferencia de masa.
- No absorber H_2SO_4 .
- Ser estable y no dañino (en grado sumamente riesgoso).

Mencionemos reactivos adicionales empleados en la extracción-reextracción y en la electrodeposición, además del compuesto orgánico diluyente y del extractante (LIX 984):

- **Galactasol ('Guartec')**: compuesto orgánico que protege a las placas madre de contaminación y ayuda a una deposición de cobre sin excesivos nódulos de potencial cortocircuito.
- **Sulfato de cobalto**: inhibe el desgaste de los ánodos.
- **Cera**: evita incrustación de cobre en el filete inferior de las placas madre.
- **Arcilla**: ayuda en la operación de filtración, adsorbiendo impurezas semisólidas (crud).

El Fe es un contaminante cuya presencia debe ser siempre controlada en el proceso. De hecho, una parte en masa de Fe por cada 1000 de Cu es transferida (Kordosky *et al.*, 1987). Por ello, hay un retorno de masa de Fe con una parte de electrolito pobre hacia la solución de PLS. Esto mantiene una acidez más o menos constante en el PLS para su posterior aplicación a los botaderos, evitando al mismo tiempo la acumulación de Fe en el sistema de extracción / reextracción y electrodeposición.

El mezclador-separador ('sedimentador') crea una dispersión y un subsiguiente flujo tipo laminar de esta dispersión hacia delante, para una transferencia de masa con ayuda de un tiempo de residencia, durante el cual

Se trata de evitar un entrapamiento de gotillas de una fase en otra. Una agitación más o menos lenta ayuda a ello. Se ha visto adecuada la siguiente relación:

$$\omega = \frac{70}{(D_{\text{IMPELLER}})^{2/3}}$$

donde

ω : rpm

D_{IMPELLER} : diámetro (m)

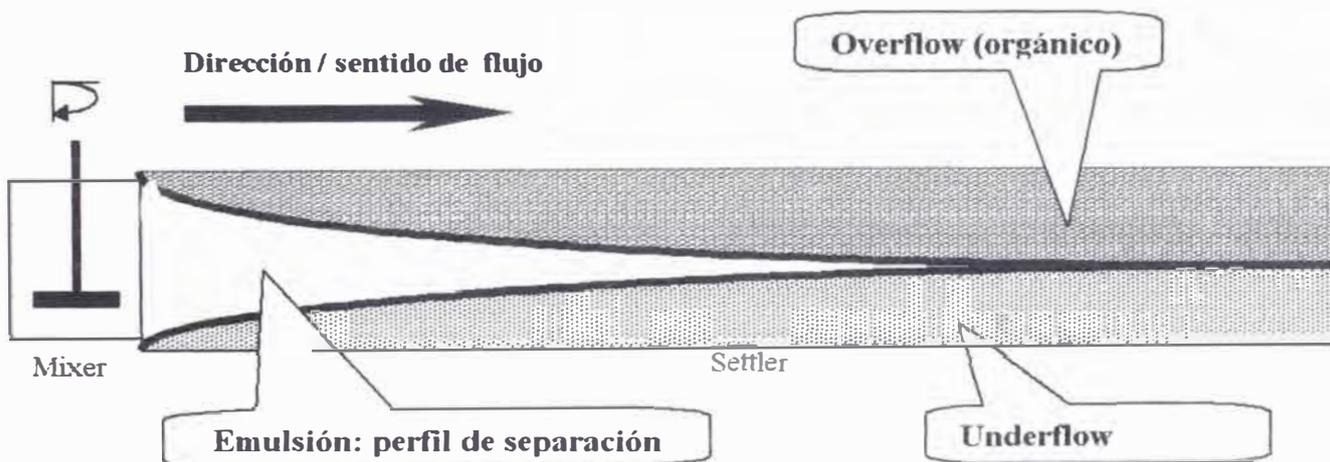


Figura 22
Corte de perfil transversal de flujo: settler

Con reductores de velocidad en los motores, se mantiene una agitación regularmente lenta en los mixers en la planta (40 – 60 rpm).

Agitador tipo turbina modificada, de la empresa Lightnin

Tiempo de residencia en mixer: 1 min

Tiempo de residencia en settler: 10 min

(la separación de fases en el laboratorio se produce en 1 a 2 minutos –Kordosky *et al.*, 1987)

Operación en orgánico continuo:

En general, se opera en orgánico continuo (razón O/A ≥ 1). Recordemos que los mezcladores sedimentadores pueden ser operados en acuoso continuo o en orgánico continuo. No es deseable tener gotillas de orgánico en el líquido acuoso, pues,

- a) el orgánico en el raff tiende a quedarse en las pilas de lixiviación;
- b) el orgánico en el electrolito tiende a contaminar a los cátodos en la nave de electrodeposición.

Por lo tanto, lo más conveniente es tratar de mantener la relación O / A lo más cercana posible a 1, con un margen de seguridad de +0,15 como adecuado.

El extractante LIX 984 tiene la siguiente capacidad extractiva:

$\frac{1}{4}$ Kg de cobre por m³ de fase orgánica por cada 1 % de LIX 984 en el orgánico

Actualmente se emplea un 11 % de porcentaje en volumen de extractante en la solución orgánica.

Algunos aspectos de la química de la electrólisis: electrodeposición

Los cátodos son placas 'madre' de acero inoxidable 316L. Recordemos la reacción neta redox de electrodeposición:



Como vemos, aparte del producto adicional oxígeno, que va a la atmósfera, se regenera H_2SO_4 en la solución de electrolito ya pobre, reciclándose en el circuito.

El potencial eléctrico necesario para la electrodeposición del cobre es aproximadamente 2 V, comparado con 0,3 V para la electrorefinación.

Factor	Potencial (V)
Voltaje teórico para la reacción redox	0,9
Sobrevoltaje: deposición de O_2	0,5
Sobrevoltaje: deposición de Cu	0,05
Resistencia eléctrica a la densidad actual (200 A/m ²)	0,5

Al ser el voltaje directamente proporcional a la energía, la energía requerida para la electrodeposición es también considerablemente mayor que la requerida para electrorefinación: unos 2000 KW-h / Ton de cobre en el primer caso frente a 300-400 KW-h / Ton cobre en la electrorefinación.

Notemos también otra diferencia entre electrodeposición y electrorefinación, además del voltaje: se emplea ánodos de aleación Pb-Sn-Ca, precisamente por ser resistente al alto voltaje, y no doblarse fácilmente, además de formar una superficie no propensa a desintegrarse, lo que evita la contaminación de los cátodos con

plomo. El doblar de un ánodo puede causar corto circuito por contacto con el cátodo, con pérdida consecuente de energía.

Maximización de la pureza del cobre

Las 2 principales impurezas en la deposición de los cátodos son el Pb (de la contaminación del ánodo) y el S (del entrapamiento de electrolito y del PbSO₄ producto de corrosión). La pureza del cátodo es maximizada por:

- a) cátodos rectos verticales equidistantes y ánodos sin contacto ánodo-cátodo;
- b) ánodos inertes estables con productos de corrosión coherentes;
- c) remoción frecuente de productos de corrosión de la base de la celda;
- d) electrolito libre de sólidos y de orgánico;
- e) flujo continuo y tibio (46 °C es buena temperatura) de electrolito puro a través de todas las caras de los cátodos;
- f) empleo de agentes aditivos (e.g. galactasol), que dan depósitos con una fina superficie;
- g) Lavado de los cátodos justo después de su cosecha.

En cuanto a los cátodos, actualmente se está prefiriendo el uso de acero inoxidable en lugar de la delgada placa iniciadora de cobre de antes. El uso del acero se justifica porque:

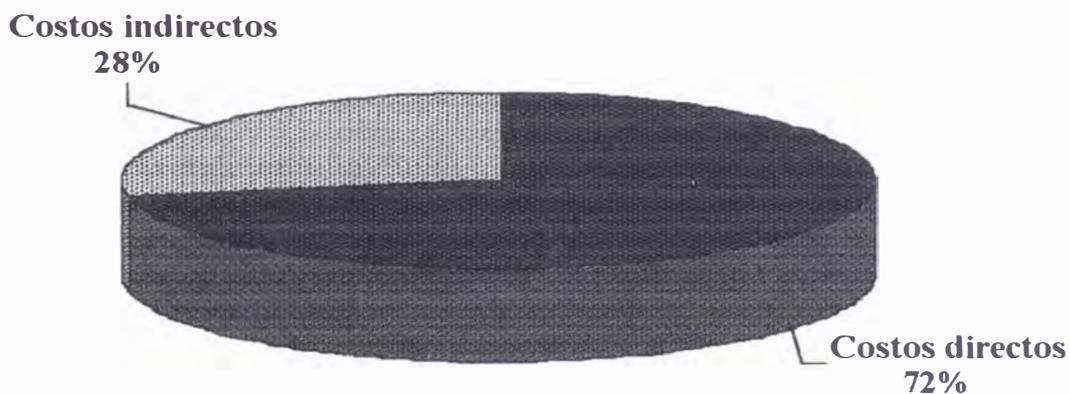
- a) el cobre formado llega a ser más puro,
- b) la labor manual es menor,
- c) la productividad es mayor,
- d) el requisito de energía es menor.

Con estos cátodos, los electrodos pueden ser colocados muy cerca unos de otros, y la eficiencia de corriente llega a ser alta (en promedio, 93 %). Así también, se puede operar a una alta densidad de corriente.

Con todo, para el empleo del acero inoxidable se requiere una alta inversión inicial que incluye una línea de deslaminado (línea de producción Mount ISA, original de Australia, y que se ha probado eficiente y reductora de costos).

Mejoramiento de control en el sistema : hacia una planta virtual

Hay un esquema establecido de automatización progresiva en la planta. Ellos se incluyen en los objetivos de cada año en la planta, y la acciones son coordinadas con al Area de Mantenimiento. Un esquema óptimo de control puede ser establecido, de modo que además del control clásico de retroalimentación, se pueda establecer otros



En los últimos meses:	
Costos directos	\$ 0,16 / lb
Costos indirectos	\$ 0,07
Costo total de producción	\$ 0,23 / lb

Precio actual del cobre en el mercado mundial = \$ 0,75 / lb

Figura 23
Costos de producción: cobre por lixiviación

lazos más eficientes con la base de data acumulada desde su inicio de operación en Setiembre 1995.

Veamos algunas acciones de control diseñadas para un sector específico, a implementar en corto plazo, en coordinación con el Area de Mantenimiento (Instrumentación):

Acciones para el control en la concentración del sistema y en el nivel del TK-06 .-

El TK-06 es un almacenador de electrolito rico, tal como se puede ver en los diagramas de flujo mostrados. No hay aun un control automático del nivel en este reservorio. A continuación se puede ver algunas pautas para hacer este control de modo efectivo.

Se señala los mecanismos de acción final para un control óptimo. La demostración es teórica, por cuanto queda aun pendiente la instalación final de unas válvulas de control, reprogramado en el área de Mantenimiento.

En los diagramas adjuntos se muestra las acciones a tomar sobre las válvulas de control en el sistema (ver informes anteriores como referencia adicional).

Situaciones: Se puede producir 2 situaciones:

- **Nosotros podemos variar el set point del flujo de bleed en el sistema.** Ello es una 'perturbación' que puede ocurrir, y de hecho ocurre con cierta frecuencia (es una operación manual normal que 1 vez por día nosotros variamos el bleed en +/- 1 gal/min en cada tren de SX por ejemplo). En este caso, debemos tomar las acciones necesarias para mantener el equilibrio en el balance luego de un tiempo prudencial, manteniendo constantes las concentraciones de ácido y cobre en el sistema (esto último se hace en forma semiautomática: ver nuestro Reporte de *Análisis Puntuales*, en el Control Room).

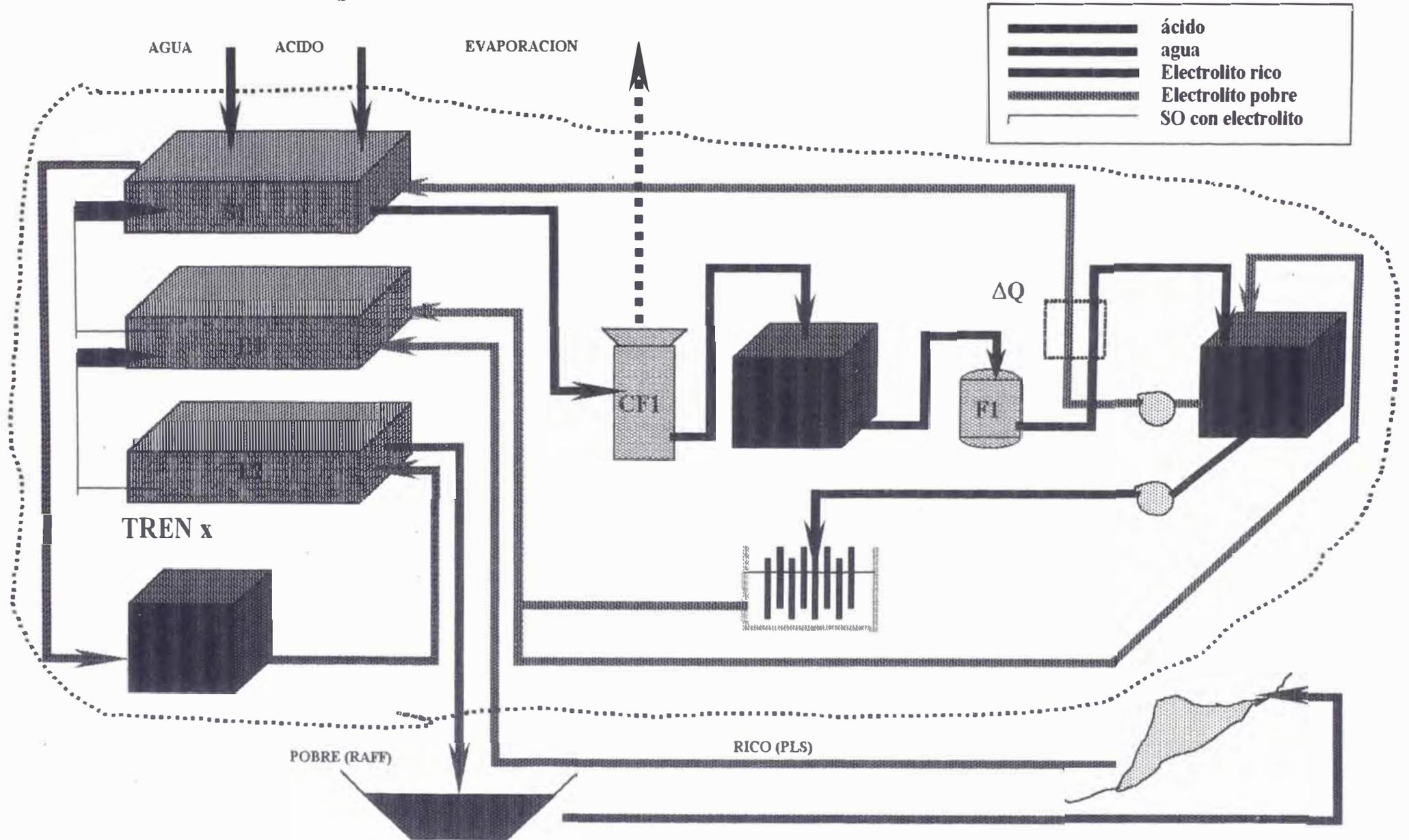
- **Nosotros podemos variar el set point del porcentaje de nivel en TK-06** según nuestro deseo, y según los flujos presentes en nuestro sistema (un porcentaje adecuado en un tanque de almacenamiento es, como sabemos, de 75%; eventualmente se irá aumentando el porcentaje de nivel SET POINT según nuestra capacidad). En este caso, debemos alcanzar el nuevo nivel en un tiempo prudencial y sin alterar mucho el equilibrio en el sistema.

Lo arriba mencionado se expresa en los diagramas adjuntos más adelante. El fin de estos diagramas -lazos relativamente simples con sus respuestas dinámicas- es dar una verificación teórica de la eficiencia en estabilidad, robustez y tiempo de respuesta de los mecanismos de control final llevados a cabo mediante los algoritmos descritos.

- El control de nivel en TK-06 implica un sistema esclavo de regulación de flujos en sector de SX, mas con la necesaria y siguiente restricción: mantención de una concentración adecuada de cobre y de ácido en el sistema (en el ER, EW y EP).
- No se hace por el momento un enlace virtual de un bloque mayor, como lo podría ser la concentración en línea automática con el nivel, pues, el control en concentraciones es semiautomático, con análisis offline, que no hacen factible aun este enlace. Se mencionó antes el carácter semiautomático en el control de las concentraciones en el sistema del electrolito. No hay por el momento una forma adecuada on line de medición (y consiguiente control) de estos valores. Un electrodo redox podría darnos un valor de $[Cu^{2+}]$, mas no hay una relación matemática directa con $[H^+]$ -además hay variación en la ley de PLS-, por lo que es más conveniente gobernar entretanto al cobre mediante la I_R de electrodeposición. Actualmente $[H^+]_{ER} = 140 \text{ g/l}$ es un valor aceptable, para 42000 - 43000 A de intensidad actual de corriente en la nave. La densidad de corriente es también un parámetro importante para medir la 'fuerza' que está siendo aplicada sobre cada electrodo ánodo-cátodo:

Figura 24

SOUTHERN PERU: PLANTA DE LIX / SX / EW ESQUEMA DE FLUJOS EN VOLUMEN DE CONTROL



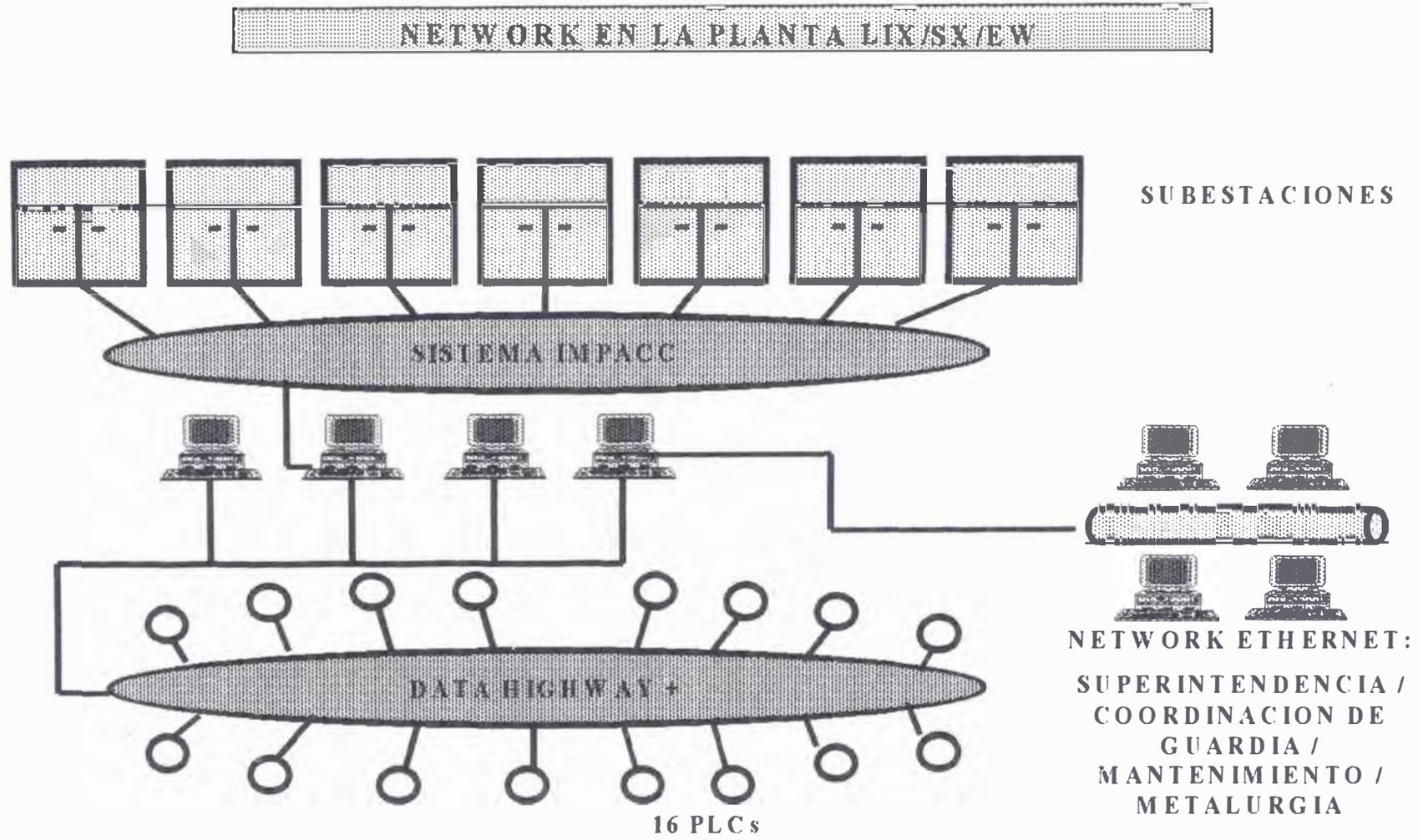


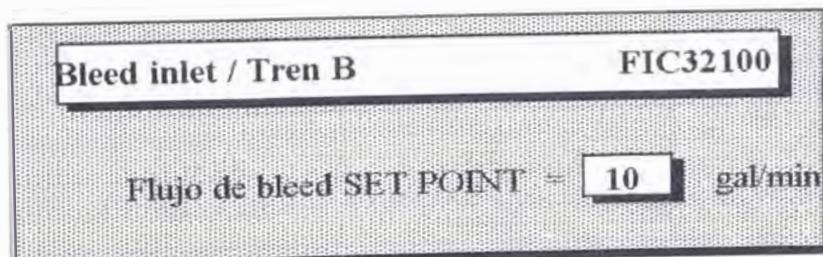
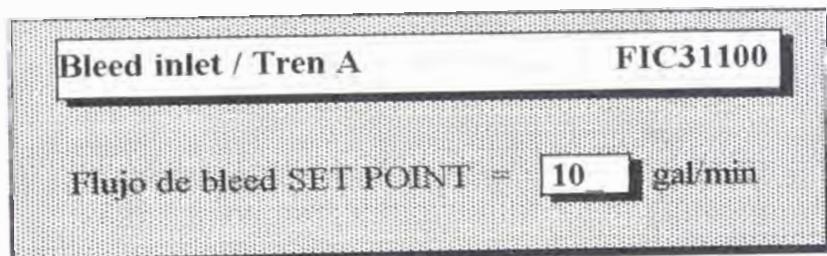
Figura 25

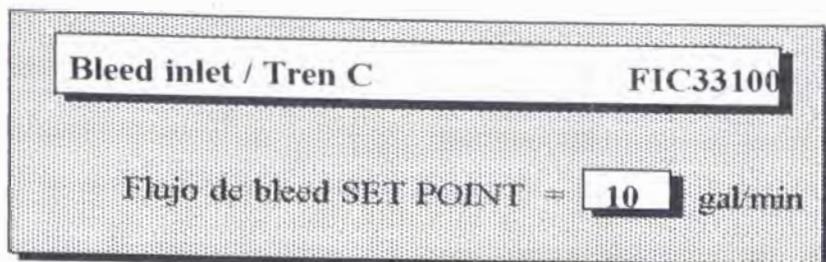
Condiciones / restricciones

Para cada una de las 122 celdas actuales en serie (por supuesto, la expansión actual de celdas que está en pleno desarrollo no afecta el valor de I aplicado) tenemos:

$$\text{Densidad de corriente} = \frac{I}{A} = \frac{42500 \text{ A}}{63 \text{ placas/celda} \times 2 \text{ m}^2/\text{placa}} = 337 \text{ A/m}^2$$

- Situación de retrolavado en filtros (backwash): antes de la electrodeposición se realiza un retrolavado automático de los filtros de electrolito. Acción probable de control: desactivar al sistema. Dirección de desactivación: a fijar. También se podría variar el control no señalando límite superior máximo de nivel en TK-06, lo que es menos aconsejable.
- Situación de desborde: el desborde es la limpieza de lodos residuales del desgaste de ánodos. En este caso, al suprimir la intensidad de corriente en 2 celdas, la acción óptima sería desactivar al sistema para evitar un mayor desequilibrio. Regulamos el F_{bleed} SET POINT:





Estas ventanas operan siempre, ya sea que el sistema esté activado o desactivado. Maniobramos el flujo de bleed en este último caso por 2 h para un desborde. Arriba se colocó 10 gal/min como un valor aceptable de set point para este tiempo. Luego de 2 h se reactiva el sistema de control.

Algoritmos de control

- Se hace el control en cada uno de los 3 trenes en igual forma. Los set points maestros (de nivel en TK-06, de flujo de bleed / TA, flujo de bleed / TB y flujo de bleed / TC) son de ingreso independiente.
- Se regula el flujo de agua y de ácido (slave) en cada tren, de modo que se mantenga una concentración similar a la del electrolito rico (es decir, para que la concentración en el sistema no varíe).
- Se regula un segundo control esclavo en cascade, de flujo de recirculación, para mantener el nivel adecuado en los trenes de SX.

DIRECCIONES ELECTRONICAS DE SEÑALES DE PLC ACTIVADAS (ABIERTAS) PARA LECTURA:

Lectura de flujo de	Dirección	Instrumento
Acido / TA	N37:34	FIT3180
Agua / TA	N21:10	FIT3190
Bleed / TA	(falta address en PLC)	FIT31100
Rec. / TA	N17:58	FIT3135
Acido / TB	N37:35	FIT3280
Agua / TB	N21:4	FIT3290
Bleed / TB	(falta address en PLC)	FIT32100
Rec. / TB	N18:58	FIT3235
Acido / TC	N48:85	FIT3380
Agua / TC	N21:8	FIT3390
Bleed / TC	N48:94	FIT33100
Rec. / TC	N19:58	FIT3335

Estas direcciones son de entradas: la dirección en el flujo de ácido en TA indica que la conexión está en la tarjeta (slot) 37, entrada analógica 34 de esta tarjeta.

Se emplea tarjetas Allen-Bradley de entradas y salidas analógicas y digitales, en modo de intensidad de corriente de 4 a 20 mA (rango Standard internacional).

P&ID diagrama de tuberías e instrumentación.

DIAGRAMA DE BLOQUES: SISTEMA DE CONTROL DE NIVEL EN TK-06 (AUTOMATICO) / SISTEMA DE CONTROL DE CONCENTRACION EN SECTOR SX (SEMIAUTOMATICO)

**SENSORES
FLUJO
ACIDO:
FE 3180
FE 3280
FE 3380**

**FITs
FLUJO
ACIDO:
FIT 3180
FIT 3280
FIT 3380**

**FICs FLUJO
ACIDO:
FIC 3180
FIC 3280
FIC 0**



**VALVULAS CONTROL
FLUJO ACIDO:
FV 3180
FV 3280
FV 3380**



**FLUJO BLEED SET
POINT: Fbleedsp
PERTURBACION
(input acción humana)**

**FICs
FLUJO
AGUA:
FIC 3190
FIC 3290
FIC 3390**



**FICs FLUJO
RECIRCULACION
(ELECTROLITO):
FIC 3135
FIC 3235
FIC 3335**

**VALVULAS
CONTROL FLUJO
RECIRCULACION
(ELECTROLITO):
FV 3135
FV 3235
FV 3335**

**SENSOR
NIVEL TK-06
(presión
diferencial):
LE 4000**

**NIVEL
REAL (%)
TK-06:
PNt6**

**TK-06 /
CONTROL DE
NIVEL:
LIC 4000
(MASTER)**

**FITs / FLUJO DE
RECIRCULACION
(ELECTROLITO):
FIT 3135
FIT 3235
FIT 335**

**SENSORES / FLUJO
RECIRCULACION
(ELECTROLITO):
FE 3135
FE 3235
FE 3335**

Los siguientes gráficos ilustran las respuestas simuladas de control para la instrumentación a añadir en el sector SX:

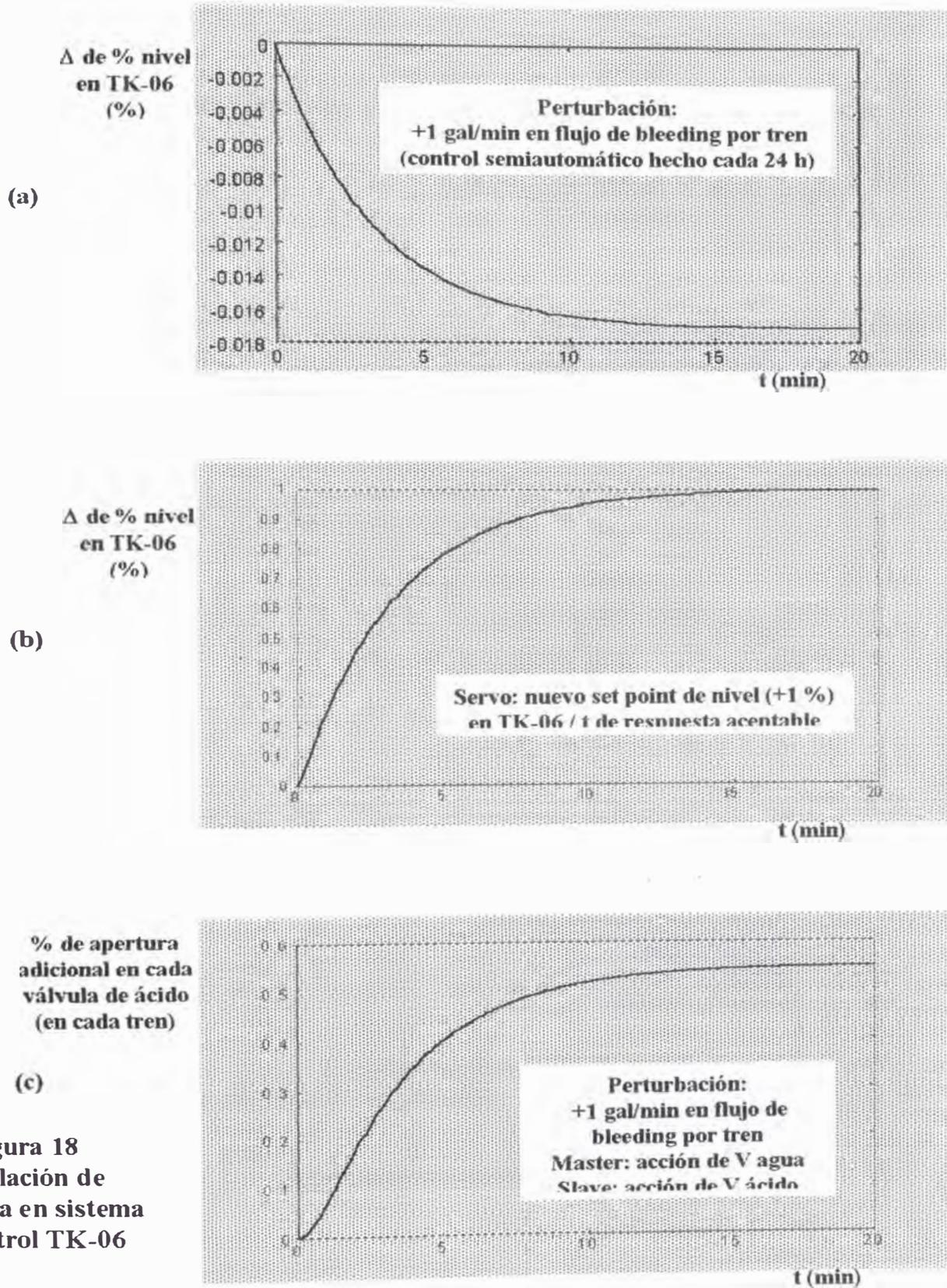
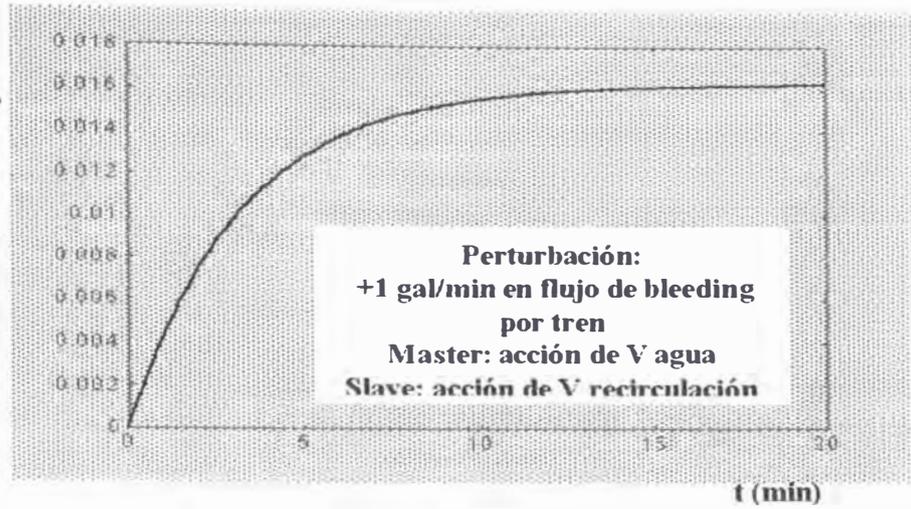


Figura 18
Simulación de
respuesta en sistema
de control TK-06

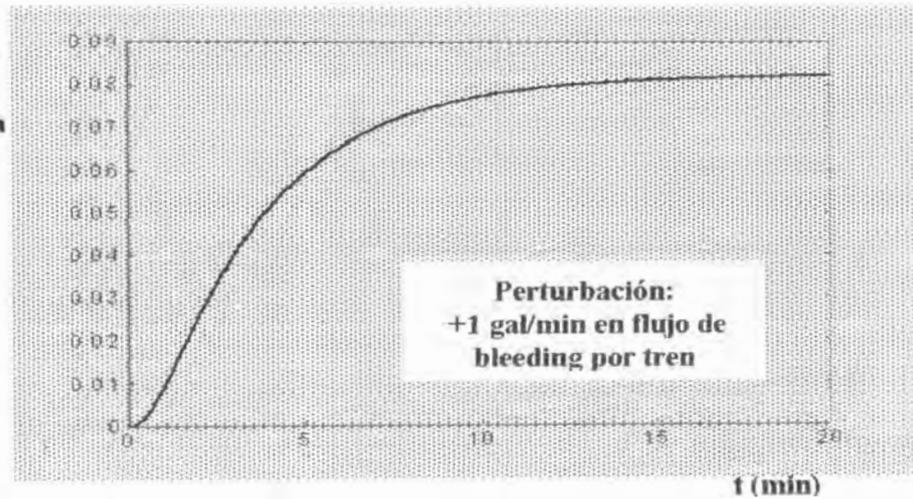
**% apertura
adicional en
cada válvula de
recirculación
(en cada tren)**

(d)



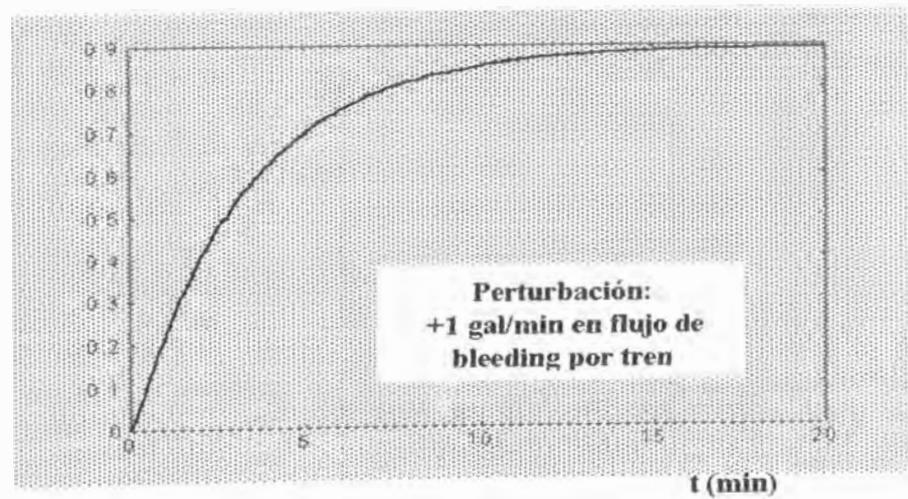
**Δ flujo de
ácido en
cada válvula
(gal/min)**

(e)



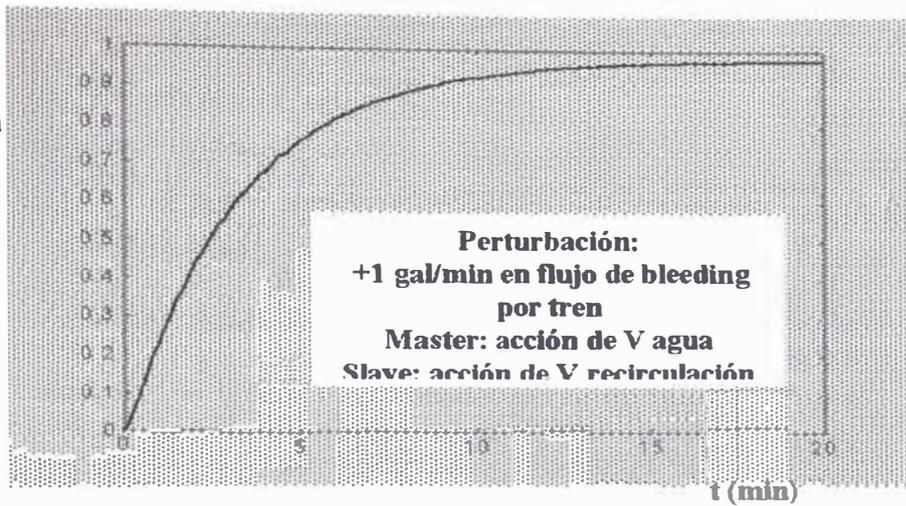
**Δ flujo de
agua en cada
válvula
(gal/min)**

(f)



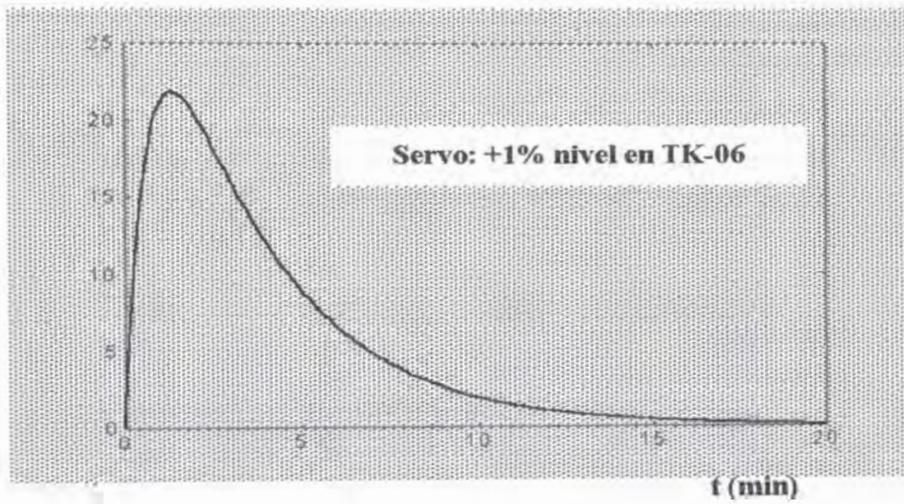
Variación en flujo de recirculación en cada válvula (gal/min)

(g)



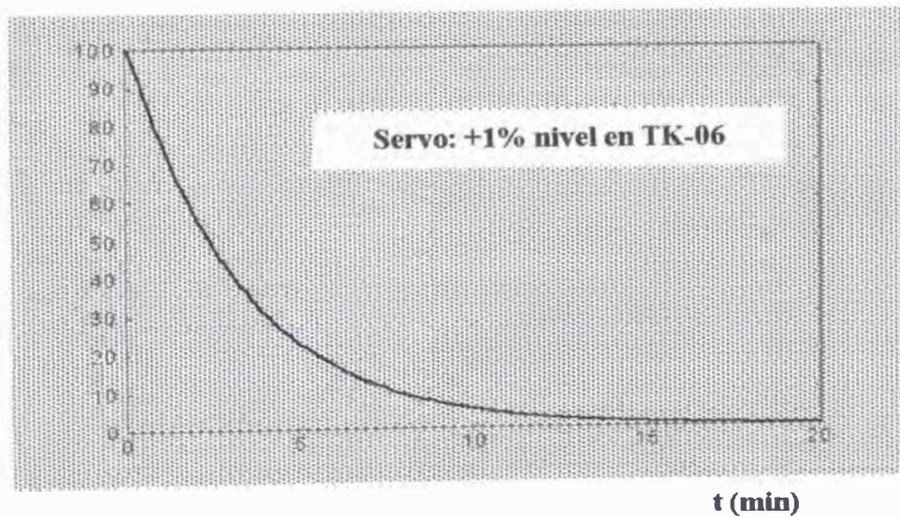
% apertura adicional en cada válvula de ácido (en cada tren)

(h)



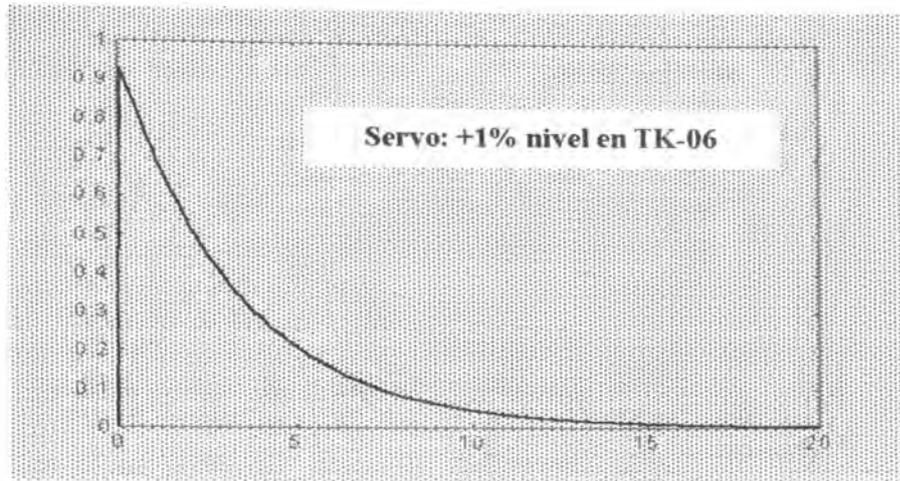
% apertura adicional en cada válvula de agua (en cada tren)

(i)



**% apertura
adicional en cada
válvula de
recirculación (en
cada tren)**

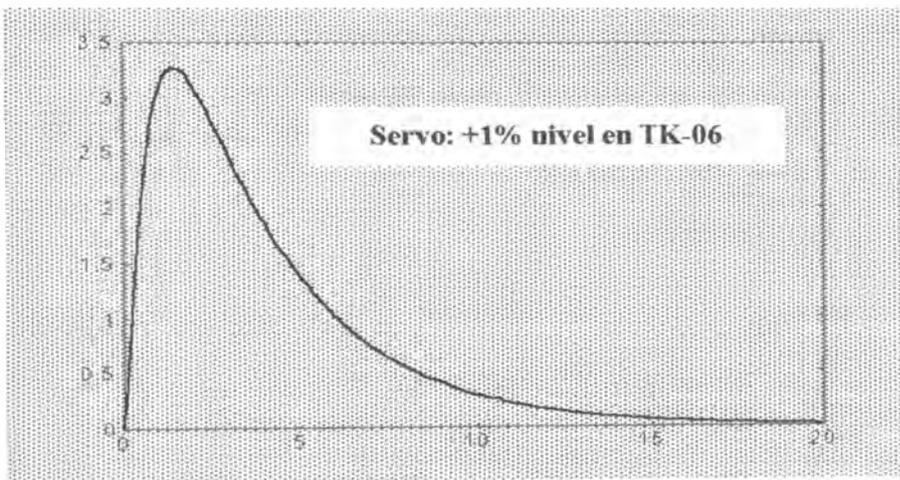
(j)



t (min)

**Variación en flujo
de ácido en cada
tren
(gal/min)**

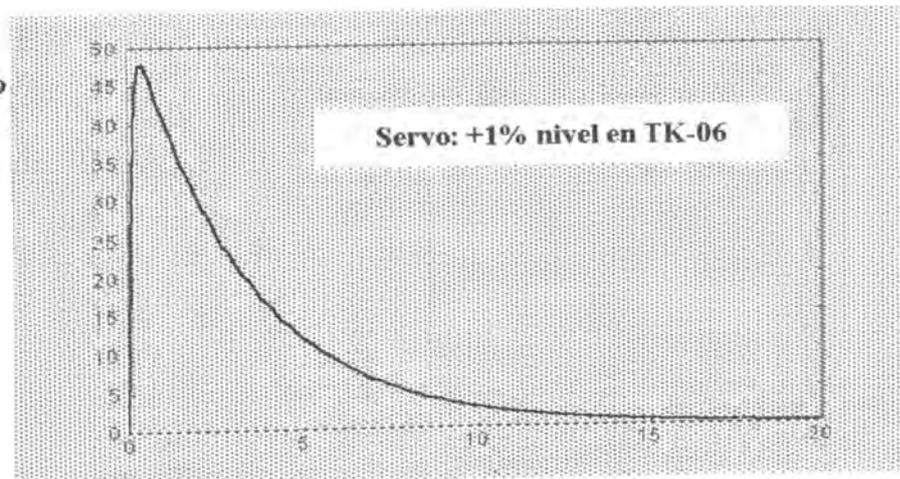
(k)



t (min)

**Variación en flujo
de agua en cada
tren
(gal/min)**

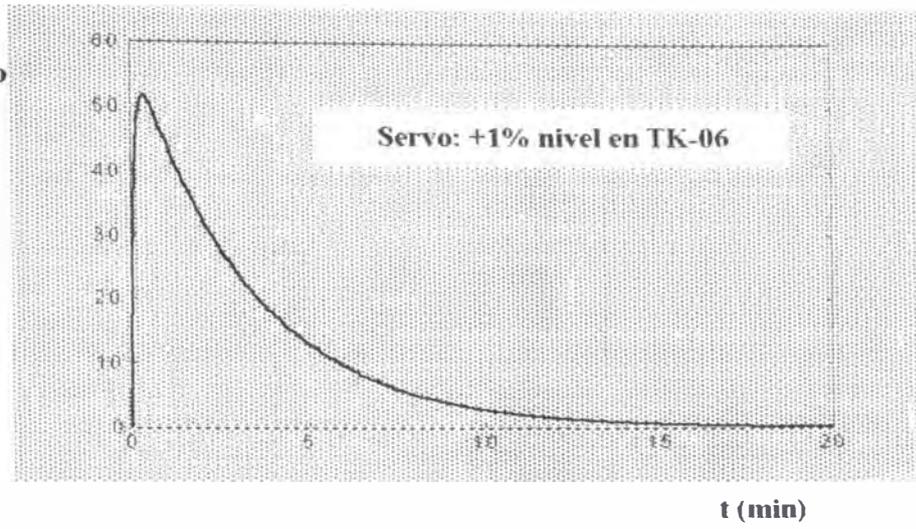
(l)



t (min)

Variación en flujo
de recirculación
en cada tren
(gal/min)

(m)



SISTEMA DE CONTROL
 CLOSED LOOP: RESPUESTA DINAMICA DE NIVEL EN TK-06
 CAMBIO EN LOAD (FLUJO DE BLEED EN LOS TRENES): $\Delta = +1$ gal/min en cada tren
 WITH CASCADE LOOP

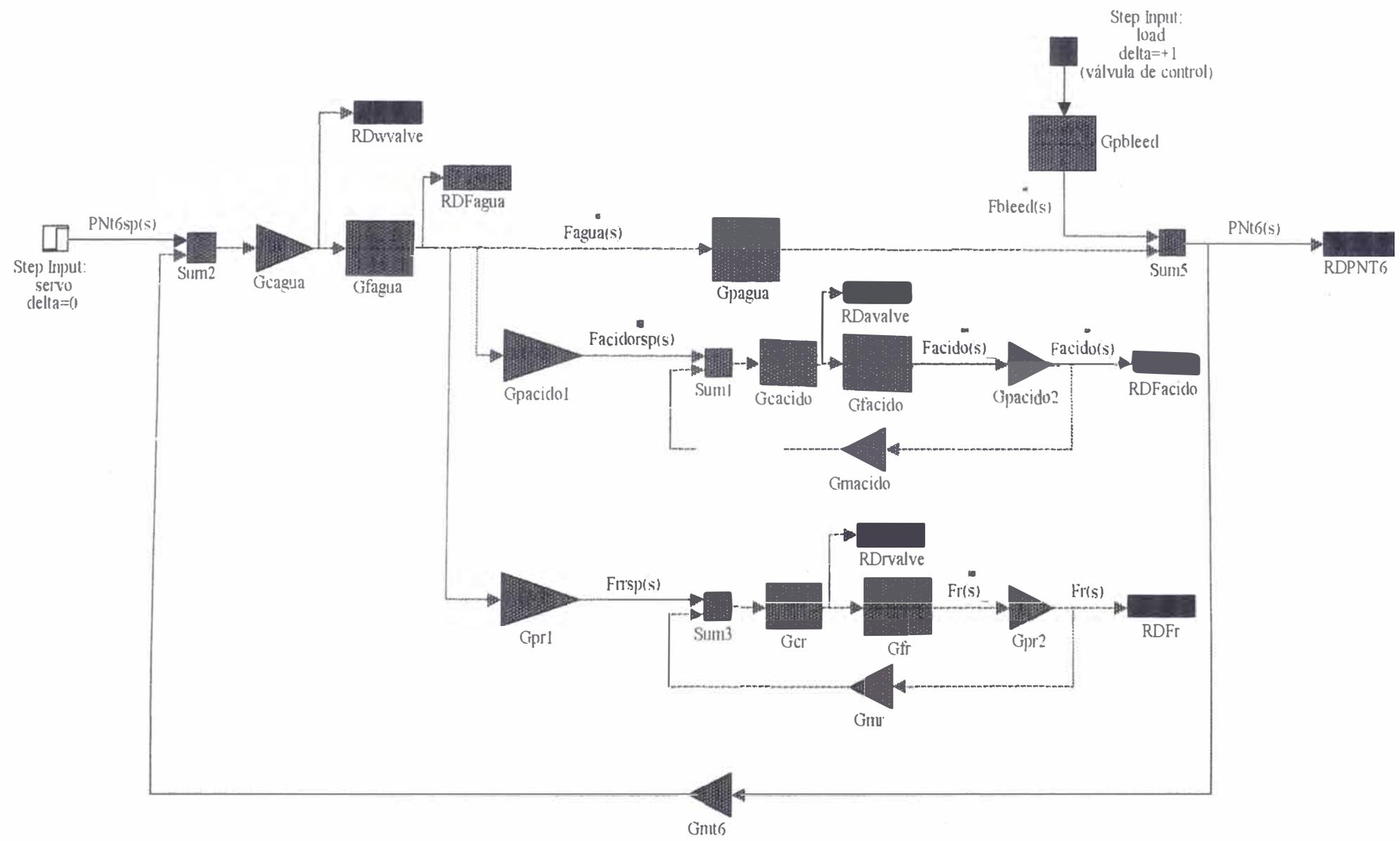


Figura 26

Veamos la secuencia adecuada de los algoritmos del sistema (en lenguaje simple, traducible a instrucciones ladder):

```
// Activation / desactivation //   Input false / 0, ... to desactivate: address
B... (to be defined)
// Recordar: Válvulas en OFF: normally CLOSED. Válvulas de control
LINEAL //

T = Step time = 5   // seconds //

// CONTROL DEL SISTEMA PARA UNA VARIACION DE FLUJO DE
BLEED //

Read (address de bleed TA), (address de bleed TB), N48:94   // lectura
individual de Fbleed en Tren A, Tren B y Tren C //
Read F8:21           // Altura efectiva de TK-06 //
Read N21:10          // Flujo de agua Tren A //
%AVWTA = 100*N21:10/52 // Porcentaje de apertura de VaguaTA //
Read N21:4           // Flujo de agua Tren B //
%AVWTB = 100*N21:4/52 // Porcentaje de apertura de VaguaTB //
Read N:21:8         // Flujo de agua Tren C //
%AVWTC = 100*N21:8/52 // Porcentaje de apertura de VaguaTC //
Read N37:34         // Flujo de ácido Tren A //
%AVATA = 100*N37:34/15 // Porcentaje de apertura de VacidoTA //
Read N37:35         // Flujo de ácido Tren B //
%AVATB = 100*N37:35/15 // Porcentaje de apertura de VacidoTB //
Read N48:85         // Flujo de ácido Tren C //
%AVATC = 100*N48:85/15 // Porcentaje de apertura de VacidoTC //
Read N17:58         // Flujo de recirculación Tren A //
%AVRTA = 100*N17:58/6000 // Porcentaje de apertura de VrTA //
Read N18:58         // Flujo de recirculación Tren B //
%AVRTB = 100*N18:58/6000 // Porcentaje de apertura de VrTB //
Read N19:58         // Flujo de recirculación Tren C //
%AVRTC = 100*N19:58/6000 // Porcentaje de apertura de VrTC //

i = time   // (in seconds) //
If (Fbleedspt - Fbleedspt-5 > 0) then j = 0 else
  if (Fbleedspt - Fbleedspt-5 < 0) then j = 1 else
    if (Fbleedspt - Fbleedspt-5 = 0) then return
  k = abs(Fbleedspt - Fbleedspt-5)
  begin
```

// Activación de válvula de agua //

For n=0 to 24: t = nT: %AVWTAsp = (-1)^j *k*40*t + %AVWTA

%AVWTBsp = %AVWTAsp

%AVWTCsp = %AVWTAsp

For n=25 to 72: t = nT: %AVWTAsp = (-1)^j *k*(16*t + 0,45) + %AVWTA

%AVWTBsp = %AVWTAsp

%AVWTCsp = %AVWTAsp

For n=73 to 120: t = nT: %AVWTAsp = (-1)^j *k*(5*t + 1,15) + %AVWTA

%AVWTBsp = %AVWTAsp

%AVWTCsp = %AVWTAsp

For n=121 to 192: t = nT: %AVWTAsp = (-1)^j *k*(0,8*t + 1,55) + %AVWTA

%AVWTBsp = %AVWTAsp

%AVWTCsp = %AVWTAsp

// Activación de válvula de ácido //

For n=0 to 48: t = nT: %AVATAsp = (-1)^j *k*9*t + %AVATA

%AVATBsp = %AVATAsp

%AVATCsp = %AVATAsp

For n=49 to 72: t = nT: %AVATAsp = (-1)^j *k*(4,5*t + 0,15) + %AVATA

%AVATBsp = %AVATAsp

%AVATCsp = %AVATAsp

For n=73 to 120: t = nT: %AVATAsp = (-1)^j *k*(2*t + 0,32) + %AVATA

%AVATBsp = %AVATAsp

%AVATCsp = %AVATAsp

For n=121 to 192: t = nT: %AVATAsp = (-1)^j *k*(0,5*t + 0,47) + %AVATA

%AVATBsp = %AVATAsp

%AVATCsp = %AVATAsp

// Activación de válvula de recirculación //

For n=0 to 24: t = nT: %AVRTAsp = (-1)^j *k*0,38*t + %AVRTA

%AVRTBsp = %AVRTAsp

%AVRTCsp = %AVRTAsp

For n=25 to 48: t = nT: %AVRTAsp = (-1)^j *k*(0,2*t + 0,003) + %AVRTA

%AVRTBsp = %AVRTAsp

%AVRTCsp = %AVRTAsp

For n=49 to 72: t = nT: %AVRTAsp = (-1)^j *k*(0,1*t + 0,007) + %AVRTA

%AVRTBsp = %AVRTAsp

%AVRTCsp = %AVRTAsp

For n=73 to 120: t = nT: %AVRTAsp = (-1)^j *k*(0,04*t + 0,011) + %AVRTA

%AVRTBsp = %AVRTAsp

%AVRTCsp = %AVRTAsp

For n=121 to 192: t = nT: %AVRTAsp = (-1)^j *k*(0,04*t + 0,0145) + %AVRTA

%AVRTBsp = %AVRTAsp

%AVRTCsp = %AVRTAsp

// se repite el ciclo de barrido en lapsos de 5 segundos //

El siguiente recuadro resume una lista de instrumentos adicionales por adquirir o ya comprados (compra directa): Requisición de equipo; labor de logística: de almacén y por compra.

Instrumento

Sensor ultrasónico de nivel Milltronics

Indicador / transmisor de flujo Micro Motion (Elite)

Indicador / transmisor de flujo Rosemount para línea de agua

Transductor electropneumático Fisher / Rosemount 546S, para válvula de control

Flujómetro de masa Micro Motion (para línea de 1")

Válvula de control Fisher de 1"

Flujómetro magnético Deltaflux / Altometer - Sliedrecht, para líneas de 1" y de 2"

Válvula de control de flujo Masoneilan / Camflex II, de 1"

Flujómetro magnético Foxboro, para línea de 2"

Aspectos de ingeniería:

H.- Conceptos complementarios. Planteamiento de la solución

Estructura base impermeable para control ambiental en los reservorios de solución orgánica (extractante) y acidulada (ácido, PLS, electrolito): superficies o liners de HDPE son el material principalmente empleado para mantener un control hermético de los volúmenes líquidos contenidos en la planta. Bajo los botaderos de sulfuro no hay una capa de liner, con todo, se recupera un 85% de lo que ingresa, perdiéndose el 15% restante en evaporación y en filtración fuera del volumen de control de interés. Un monitoreo constante de los alrededores es hecho para determinar el impacto ambiental.

La Figura 28 nos ilustra la estructura de recubrimiento típica en el área de trabajo.

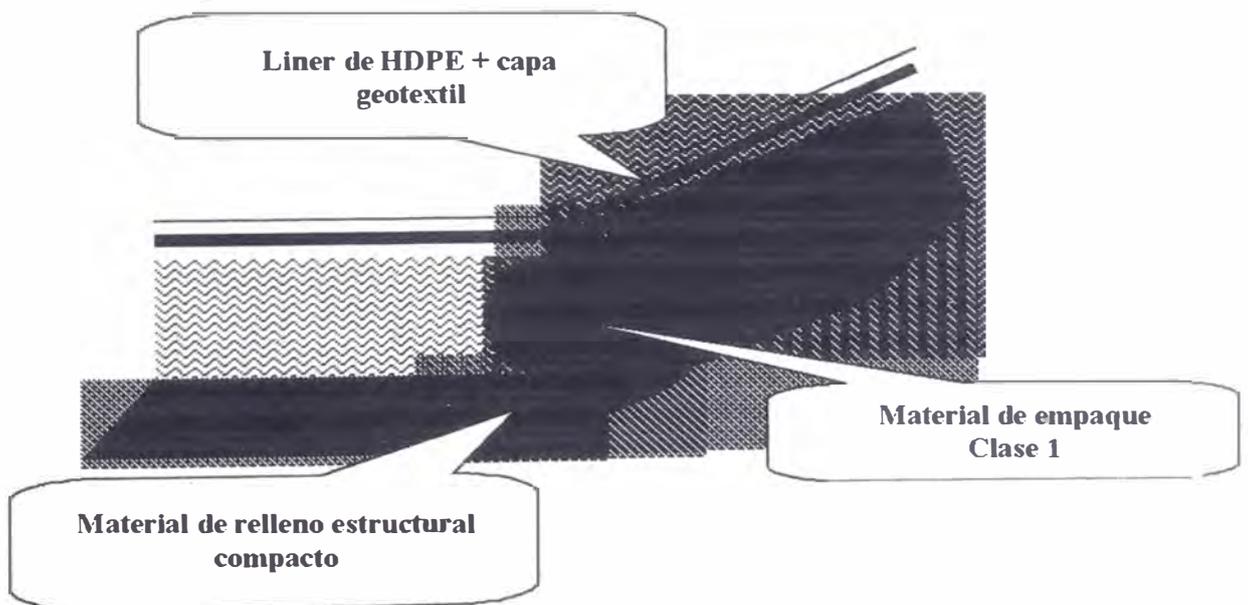


Figura 28
Estructura básica de recubrimiento con liner (pozas de PLS)

Planteamiento de soluciones: reducción de costos / economía

Biolixiviación / microbiología

- Cultivos en medio 9K han sido hechos. Se continuará con los ensayos microbiológicos de fisiología, producción y morfología (identificación) de microorganismos con medio *Sulfolobus*. En la planta se puede hacer análisis químico, para lo cual se ha diseñado procedimientos de operación para la determinación confiable del contenido metálico en solución. También se puede determinar la densidad de población microbiana. Gracias al contacto con, y a la buena disposición del LMB y del Laboratorio de Virología del CIP, se puede continuar con el análisis bioquímico (DNA polimerasa). Ello es de hecho un objetivo: determinar los microorganismos presentes en el ecosistema de Toquepala y Cuajone, lo cual no se conoce a ciencia cierta aun.

Al parecer, habría también cepas de *Sulfolobus* sp. o *Sulfobacillus* sp. Presentes en el sistema, debido a las temperaturas de 55 °C registradas tan sólo a 15 cm de profundidad. Es casi seguro que haya por lo tanto microorganismos mesofílicos y/o termofílicos.

Extracción – reextracción:

- Se dispone de un diagrama McCabe-Thiele de desempeño del extractante empleado actualmente. (la que nos ilustra el número de etapas adecuadas para una óptima extracción de cobre desde el PLS.)
- **Análisis de la tasa de evaporación de la solución orgánica:** En realidad, nos referimos aquí a la tasa de evaporación de la solución orgánica diluyente, pues, el extractante, una cadena polimérica larga, casi no se evapora en el rango de temperatura

de operación. Es importante determinar este valor con relativa exactitud, pues, éste representa una pérdida en el volumen de control que debe ser repuesta con un flujo adecuado constante, de modo que se mantenga la concentración adecuada de extractante en la mezcla (el extractante, una cadena polimérica larga, casi no se evapora en el rango de temperatura de operación) para una extracción eficiente. Recordemos que el extractante está inmerso en la solución orgánica diluyente. Se ha hecho pruebas para determinación de la tasa de evaporación de la solución diluyente (pérdida hacia el medio ambiente en el volumen de control), en recipientes con superficie expuesta a ambiente y con una leve agitación, que dé un patrón energético de movimiento similar al del flujo laminar de la mezcla por los mezcladores, en los bloques de sedimentación y en los vertederos. Algunos resultados son:

T = 32 °C (aproximadamente constante)

Pruebas de evaporación en recipiente

Peso (g)	t (días)	Δpeso (g)	ρ_{PPROM} (g/cm ³)	[EXTRACTANTE] (%)	Flux (gal/día-m ²)
2582,8	0	0	0,827	11,90	
2575,2	0,75	7,6	0,827	11,94	0,167
2567	1,67	15,8	0,827	11,97	0,156
2539,8	4,71	43	0,827	12,1	0,15
2527,3	6,58	55,5	0,827	12,16	0,139
2516,2	7,65	66,6	0,827	12,21	0,143

Flux promedio de pérdida = 0,151 gal/día-m²

Este resultado parece ser confiable, habiendo además resultados de otras pruebas:

Flux promedio (a) = 0,14

Flux promedio (b) = 0,13

El extractante empleado se muestra óptimamente eficaz a 32 °C. Además, a esta temperatura, se logra un equilibrio adecuado con la temperatura del electrolito al fluir hacia la nave de electrodeposición; el electrolito no debe estar sobresaturado para la concentración de ácido, el que a su vez está en equilibrio con el cobre, pues, de lo contrario habría cristalización no deseada en el electrolito.

Los bloques de extracción / reextracción y los tanques donde hay solución orgánica tienen un adecuado techo y recubrimiento en general, para evitar en lo posible la transferencia de masa por evaporación y convección.

Por lo descrito, la pérdida actual de solución orgánica a la atmósfera es algo con lo que contamos, mientras se estudia cadenas orgánicas más estables a las altas temperaturas.

Se ha verificado además que el efecto de la adición de diluyente en tandas intermitentes de gran volumen tiene un efecto oscilante que puede durar hasta 5 días, hasta que la concentración de extractante se equilibre en forma homogénea. Por ello, es conveniente añadir diluyente en forma continua, y a una tasa de 0,1 gal/min en nuestro caso particular. Ello es lo que se hace precisamente.

No se conoce muy bien la cinética de reacción de la oxima LLX 984NC empleada, de la empresa Henkel Corp. Esta es en realidad una mezcla de oxima cetónica con salicilaldioxima a una razón tal que se combina la gran fuerza de extracción de la salicilaldioxima con la capacidad de donación (stripping) de la cetoxima. Con todo, se proyecta analizar más este aspecto de la eficiencia, para una posible reducción de costos si se opta por comprar extractante a otro proveedor, que puede ser de Perú.

Efectos del calor en el sistema de los botaderos de sulfuros.-

Sabemos, además, que la ventaja de los microorganismos usados en sistemas de biolixiviación frente a sistemas convencionales de reacción química es que los microbios aplican la energía disponible de modo más preciso donde se necesita, ya sea directamente sobre el mineral de interés o catalizando eficientemente la producción.

El rol del balance de calor ha sido siempre importante en sistemas de biolixiviación. Y en ello, el análisis termodinámico macroscópico –temperaturas de solución, condiciones climáticas– es muy importante para determinar relaciones con el grado de extracción de cobre.

Así, pues, se ha establecido algunos modelos que han sido analizados por simulación y comparados con el proceso en el campo (Cathles & Schlitt, 1980). La función propuesta por Cathles y Schlitt incluye la conservación de masa y el momentum (flujo de aire) en un balance energético:

$$\rho_m C_p \frac{dT}{dt} = K_m V^2 T - V (q y + q_1 c_1) + A$$

donde

ρ_m = densidad del aire (g/cm^3)

C_p = calor específico del botadero ($cal/g-^{\circ}C$)

T = temperatura en el sistema ($^{\circ}C$)

t = tiempo (s)

K_m = conductividad térmica del botadero ($cal/cm-s-^{\circ}C$)

V = volumen de aire en el sistema –por los intersticios (cm^3)

q = flux másico de aire (g/cm^2-s)

y = pseudo calor específico del aire –incluye efectos de saturación del vapor de agua ($cal/g-^{\circ}C$)

q_1 flux másico de aire (g/cm^2-s)

Como vemos, se tiene un avance en el modelamiento de sistemas, del cual continuaremos para tener modelos predictivos confiables de concentración de cobre, cobalto, etc. en el sistema botaderos - planta de extracción por solventes-electrodeposición.

Celdas de electrodeposición:

Podríamos analizar una posibilidad de aplicar un control inteligente de lógica difusa (fuzzy) al sistema de generación de corriente por los rectificadores: cada 2 días se detiene la electrodeposición en 2 celdas para su limpieza (conocida como desborre), la cual dura 4 horas; por lo tanto, cada 2 días se corta y se restituye la corriente al inicio de la limpieza y se vuelve a hacer lo mismo al final de ella. Todo lo mencionado, finalmente, hace variar el flujo y la concentración de ácido en el sistema por 4 horas, debido a la menor deposición de cobre por las 2 celdas sin operar. Estos eventos hacen que se pueda tomar acciones en base a valores condicionales.

Un bosquejo, a grosso modo aun, por analizar e implementar, tiene la siguiente semántica:

If current intensity is low and , then bleed is low and...

Fijar un flujo constante y definido de sulfato de cobalto. Actualmente es de 350 g/Ton, mas podría disminuir. Lo más adecuado para determinar el punto óptimo es continuar con una disminución gradual en la planta, con monitoreo mensual, lo que se está realizando. Menos costos y menor degradación del ecosistema,

pues, recordemos que el CoSO_4 ingresa al sistema, mas no sale del ciclo, acumulándose eventualmente en los botaderos.

- Aumento de la capacidad de producción: + 50 %. Ello implica no sólo un aumento de celdas de electrodeposición, sino también un aumento gradual en la corriente suministrada, por lo que el tiempo de siembra hasta la cosecha puede disminuir de 7 a 6 días. Esto significa una reprogramación del horario laboral o un aumento de la eficiencia de cosecha de cobre: mayor velocidad o flujo de cobre en placas de salida a distribución. Recordemos que las grúas empleadas para la cosecha tienen una resistencia de carga determinada, no siendo recomendable sobrecargarlas con mayor peso, lo que habría de mantenerse un lapso de 7 días desde siembra hasta cosecha. Esta posible variación es a mediano-largo plazo, pues, a corto –mediano plazo está la expansión en el número de celdas, manteniendo entretanto I más o menos constante, con un pequeño aumento dentro del rango de seguridad de operación de las grúas en cuestión.

I.- Control de desarrollo de las etapas de trabajo

Sistemas de control

- a) Operaciones: coordinación
- b) Sistemas de control de procesos
 - Análisis del sistema: especificación de volúmenes de control
 - Definición del sistema de control adecuado. Simulación.
 - Coordinación con el Area de Instrumentación / logística para conseguir las partes faltantes necesarias.
- c) Progreso en la microbiología del sistema
- Identificación, morfología de las cepas de microorganismos presentes.

- A más largo plazo, ensayos de posible mejoramiento, por mutación esencialmente.
- Análisis de efecto de contaminantes como el cobalto sobre el ecosistema.
- Relacionado con el acápite anterior, se puede proyectar a largo plazo un mayor control ambiental mediante el aprovechamiento del cobalto que aun no es reciclado en el sistema, sino que, como se había mencionado anteriormente, se queda en el electrolito (ya estabilizado con un valor de concentración constante) y en el PLS, el cual desemboca finalmente en los botaderos, aumentando así continuamente la concentración de cobalto en el ecosistema. Esta recuperación se podría llevar a cabo rentablemente por intercambio iónico, en una columna de intercambio iónico de compartimento múltiple (MCIX). Recordemos que el cobalto es un metal estratégico y crítico. De reciclarse, esto se haría en la línea de bleeding ('sangrado') de electrolito, previo a su desembocadura en el raff ('réfino').

J.- Determinación de la performance

La performance del sistema con un control de retroalimentación se comprueban aceptables y óptimos para el volumen de control considerado. Como se mencionó antes, se seguirá conectando los volúmenes de control, particularmente el sector de la nave de electrodeposición, con el objetivo de virtualizar un mayor volumen con inteligencia artificial.

K.- Evaluación económica final

La producción de placas de alta pureza de cobre mediante la biolixiviación, con la ayuda adicional de un 15% de cobre para la planta de LIX / SX / EW en Toquepala proveniente de un flujo

constante de PLS proveniente de la lixiviación ácida en pads en Cuajone, se realiza con un costo relativamente bajo: aprox. \$ 0,24 / lb de cobre.

Precio promedio actual en el mercado: \$ 0,75 / lb de cobre

L .- Conclusiones y resultados finales

Se aplica un programa de reducción de costos, por lo que se tiene como objetivos para este año y los siguientes una expansión en la capacidad de producción , aprovechando la economía de escala beneficiosa para la empresa, continuación con una automatización en el sistema (un objetivo es la integración virtual del control en la planta), mayor control de las requisiciones de material.

Estos objetivos están siendo llevados a cabo. En el caso particular de la automatización, el control se efectúa con la consiguiente instrumentación en el sistema. Queda por continuar con la labor en microbiología, determinando tiempos de vida de los microorganismos, su aislamiento y su adaptación frente a contaminantes como cobalto.

Referencias / Bibliografía

- **Segundo Simposio Latinoamericano (1987): Biotecnología para la Producción de Biomasa.** Antigua: p. 89-107.
- **Abdullah, A. L. Optimization of Solid Substrate Fermentation of Lignocellulosic Residues.** M. S. Thesis. Colorado State University; Fort Collins, 1983.
- **Aharonowitz, Y. / Cohen, G.; 1981. The microbial Production of Pharmaceuticals.** *Scientific American*, No. 245: p. 106-118.
- **Aiba, S. / Humphrey, A. E. / Millis, N. Biochemical Engineering,** 2nd. Academic Press; London, 1965.
- **Aidoo, K. E. / Hendry, R. / Wood, B. J. B.; 1982. Solid substrate fermentations.** *Advanced and Applied Microbiology*, V. 28: p. 201-237.
- **Alvarez-Martínez, L. Modelling Fungal Growth on Extruded Corn by Solid Substrate Fermentation.** Ph. D. Dissertation. Colorado State University; Fort Collins, 1987.
- **Atkinson, B; Reactores Bioquímicos.** Ed. Reverté; Barcelona, 1986 (295 p.).
- **Atkinson, B. / Sainter, P.; 1982. Development of downstream processing.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, V. 32: p. 100-108.
- **Barstow, L. M. / Dale, B. E. / Tengerdy, R. P.; 1988. Evaporative moisture and temperature control in solid substrate fermentation.** *Biotechnology Techniques*, V. 2: p. 233-236.
- **Béchar, G.; 1996. Natural Resources Canada: personal communication to Mills, C.**
- **Biswas, A. K. / Davenport, W. G.; Extractive Metallurgy of Copper** (3rd ed.). Pergamon Press / Elsevier Science Ltd.; Oxford, 1994 (500 p.).

- Bjurstrom, E. E.; 1985. **Biotechnology, fermentation and downstream processing.** Feature report. *Chemical Engineering*, V. 92: p. 126-158.
- Cannel, E. / Moo-Young, M.; 1980. **Solid state fermentation systems.** *Process Biochemistry*, V. 15: p. 2-7.
- Carrizales, V. *et al.* Proyecto ONUDI-CONICIT, 1990.
- Cathles, L. M. / Murr, L. E.; Evaluation of an experiment involving large column leaching of low grade copper sulfide waste: a critical test of a model of the waste leaching (**Leaching and Recovering Copper from As-mined materials.** Schlitt, W. J. / SME; Littleton, 1980 (p. 29-48).
- Choplin, L. / Guernik, K. / LeDuy, A.; **On the Use of an Extracellular Microbial Polysaccharide Fermentation Broth for Improvement in Bioreactor Design,** in Proceedings on the 4th European Congress in Biotechnology. Ed. Elsevier; Amsterdam, 1987 (p. 225-232).
- Chun, G. T. / Agathos, S. N.; 1991. *Biotechnology and Bioengineering*. V. 37: p. 256-260.
- Cliffe, K.; 1988. **Downstream processing.** In **Biotechnology for Engineers, Biological Systems in Technical Processes.** Ellis Horwood Ltd., Chichester, p. 302-321.
- Constantinides, A. / Mehta, N.; 1991. *Biotechnology and Bioengineering*. V. 37: p. 1010-1020.
- Corpstein, R. / Fasano, J. / Myers, K.; 1994. **The high efficiency road to liquid-solid agitation.** *Chemical Engineering*, V. 101, No. 10: p. 138-144.
- Corry, J. E. L.; 1973. **The water relations and heat resistance in microorganisms.** *Progress in Industrial Microbiology*, V. 12: p. 73-108.

- Dale, B. E. / Linden, J. C.; 1988. **Fermentation substrates and economics.** *Annual Review of Fermentation Procedures*, V. 7: p. 107-134.
- Dalton, R. F. / Severs, K. J. / Stephans, G.; **Advances in Solvent Extraction for Copper by Optimised Use of Modifiers.** Mining Latin America; Santiago de Chile, 1986.
- Datar, R.; 1986. **Economics of primary separation steps in relation to fermentation and genetic engineering.** *Process Biochemistry*, V. 21: p. 19-26.
- Doelle, H. W. / Mitchell, D. A. / Rolz, C. E.; **Solid Substrate Cultivation.** Elsevier Science Publishers Ltd.; Barking, 1992 (466 p.).
- Durand, A. / Chereau, D.; 1988. **A new pilot reactor for solid-state fermentation: Application to the protein enrichment of sugar beet pulp.** *Biotechnology and Bioengineering*, V. 31: p. 476-486.
- Dutrizac, J. E. / MacDonald, R. J. C.; 1974. **Ferric ion as a leaching medium.** *Minerals Science and Engineering*, V. 6, No. 2: p. 59-100.
- Fasano, J. / Bakker, A. / Penney, W. R.; 1994. **Advanced Impeller Geometry boosts liquid agitation.** *Chemical Engineering*, V. 101, No. 8: p. 110-116.
- Furusaki, S. / Seki, M.; 1992. **Use and engineering aspects of immobilized cells in biotechnology.** *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, V. 46: p. 161-185.
- Gervais, P. / Molin, P. / Grajek, W. / Bensoussan, M.; 1988. **Influence of the water activity of a solid substrate on the growth rate and sporogenesis of filamentous fungi.** *Biotechnology and Bioengineering*, V. 31: p. 457-463.
- Gibbons, W. R. / Westby, C. A. / Dobbs, T. L.; 1986. **Intermediate-scale, semicontinuous solid-phase fermentation process for production of fuel ethanol from sweet sorghum.** *Applied Environmental Microbiology*, V. 51: p. 115-122.

- Kern, D.; **Procesos de Transferencia de Calor**. Cía. Editorial Continental; México D.F., 1984 (545 p.).
- Keshavarz, T. / Eglin, R. / Walker, E. / Bucke, C. / Holt, G. / Bull, A. T. / Lilly, M. D.; 1990. *Biotechnology and Bioengineering*, V. 36: p. 763-770.
- Kim, J. H. / Hosobushi, M. / Kishimoto, M. / Seki, T. / Yoshida, T. / Tagushi, H. / Ryu, D. D. Y.; 1985. **Cellulase production by a solid state culture system**. *Biotechnology and Bioengineering*, V. 27: p. 1445-1450.
- Kinzie, P.; **Thermocouple Temperature Measurement**. John Wiley & Sons; New York, 1973 (610 p.).
- Kipke, K.; 1984. **Verbesserung der Fermentationsparameter durch gezielte Rührorgan-Auswahl**. *Chemie-Technik*, V. 13, No. 8: p. 46-51.
- Kipke, K.; 1985. **Rührtechnische Auslegungsaspekte von Industriefermentern**. *BTF-Biotech-Forum*, V. 2: p. 64-72.
- Kordosky, G. A. / Olafson, S. M. / Lewis, R. G. / Deffner, V. L. / House, J. E.; 1987. **A state-of-the-art discussion on the solvent extraction reagents used for the recovery of copper from dilute sulfuric acid leach solutions**. *Separation Science*, V. 22 (2-3): p. 215-233.
- Kordosky, G. A.; 1992. **Copper solvent extraction: the state of the art**. *Journal of Metals*, V. 44 (5): p. 40-45.
- Laukevics, J. J. / Apsite, A. F. / Viesturs, U. E. / Tengerdy, R. P.; 1984. **Solid substrate fermentation of wheat straw to fungal protein**. *Biotechnology and Bioengineering*, V. 26: p. 1465-1474.
- Lazaroff, N.; 1963. **Sulfate requirement for iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans***. *Journal of Bacteriology*, V. 85: p. 77-83.
- Leduc, L. G. / Ferroni, G. D.; 1994. **The need for *Thiobacillus ferrooxidans* strain selection in applications of bioleaching**, in

Procedures Biominet, 10th Annual General Meeting, Minister of Supply and Services Canada: p. 25-42.

- Lipiec, I. A. / Bautista, R. G.; 1998. **Heat effects in bioleach systems.** EPD Congress 1998. B. Mishra / The Minerals, Metals & Materials Society.
- Lonsane, B. K. / Ghildyal, N. P. / Murthy, V. S.; 1982. **Solid state fermentation processes and their challenges.** In *Technical Brochure: Symposium on Fermented Foods, Food Contaminants, Biofertilizers and Bioenergy / Association of Microbiologists, India.*
- Lonsane, B. K. / Ghildyal, N. P. / Budiatman, S. / Ramakrishna, S. V.; 1985. **Engineering aspects of solid state fermentation.** *Enzyme Microbiology and Technology*, V. 7: p. 258-265.
- Luyben, W. L.; **Process Modeling, Simulation and Control for Chemical Engineers (2nd ed.).** McGraw-Hill, Inc.; New York, 1990 (310p).
- **Manual on the Use of Thermocouples in Temperature Measurement.** ASTM; Baltimore, 1981 (368 p.).
- Mayer, H. / Collins, J. / Wagner, F.; **Plasmids of medical, environmental and commercial Importance.** Elsevier Science Publishers Ltd.; London, 1979 (254 p.).
- McNeil, B. / Harvey, L. M.; 1993. **Viscous Fermentation Products.** *Critical Reviews in Biotechnology*. V. 13, No. 4: p. 275-304.
- Nachtigal, C. L.; **Instrumentation and Control: Fundamentals and Applications.** John Wiley & Sons, Inc.; New York, 1990 (455 p).
- Nienow, A. W.; 1990. **Agitators for Mycelial Fermentations.** *Trends in Biotechnology*. V. 8: p. 224-232.
- Oriol, E. / Raimbault, M. / Roussos, S. / Vinegra-González, G.; 1988. **Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, V. 27: p. 498-503.

- Poncelet, D. / Poncelet de Smet, B. / Beaulieu, C. / Huguet, M. L. / Fournier, A. / Neufeld, R. J.; 1995. **Production of alginate beads by emulsification / internal gelation. II. Physicochemistry.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, V. 43: p. 644-650.
- Queener, S. / Swartz, R.; **Secondary Products of Metabolism.** Academic Press, New York, 1979 (234 p.).
- Ralph, B. J.; 1976. **Solid substrate fermentations.** *Food Technology Australia*, V. 28: p. 247-251.
- Rathbun, B. L. / Shuler, M. L.; 1983. **Heat and mass transfer effects in static solid substrate fermentations: design of fermentation chambers.** *Biotechnology and Bioengineering*, V. 25: p. 929-938.
- Rehm, H.-J.; **Industrielle Mikrobiologie, 2. Auflage.** Springer Verlag, Berlin, 1980 (368 p.).
- Reid, I. D.; 1989. **Solid-state fermentations for biological delignification.** *Enzyme Microbiology and Technology*, V. 11: p. 786-803.
- Renard, P. / Dochain, D. / Bastin, G. / Naveau, H. / Nyns, E.-J.; 1988. *Biotechnology and Bioengineering*, V. 31: p. 287-294.
- Robas, N. / Zouheiry, H. / Branlant, G. / Branlant, C.; 1993. **Improved penicillin amidase production using a genetically engineered mutant of *Escherichia coli* ATCC 11105.** *Biotechnology and Bioengineering*, V. 41: p. 14-24.
- Roeser A. / Wensel, B. **Thermoelectric Thermometry Temperature: Its Measurement and Control in Science and Industry**, V. 1. Reinhold Ed. Publishers; New York, 1976 (420 p.).
- Roman, R. J. / Benner, B. R.; 1973. **The dissolution of copper concentrates.** *Minerals Science and Engineering*, V. 5, No. 1: p. 3-

- Rosen, C. G. / Datar, R.; 1983. **Primary separation steps in fermentation processes.** Procedures of the 1st International Conference of Commercial Applied & Duplication Biotechnology. Online Publishers Ltd., Northwood.
- Ryoo, D.; **Dissertation: On-line Estimation and Control in Solid Substrate Fermentation.** Colorado State University.; Fort Collins, 1990 (220 p.).
- Sachse, H. / Kude, J. / Kerns, G. Berger, R.; 1990. *Acta Biotechnologica*. V. 10: p. 523-526.
- Saucedo-Castañeda, G. / Gutiérrez-Rojas, M. / Bacquet, G. Raimbault, M. / Viniegra-Gonzalez, G.; 1990. **Heat transfer simulation in solid substrate fermentation.** *Biotechnology and Bioengineering*, V. 35: p. 802-808.
- Scott, W. J.; 1957. **Water relations of food spoilage microorganisms.** *Advanced Food Research*, V. 7: p. 83-127.
- Stephanopoulos, G.; **Chemical Process Control.** Prentice-Hall Inc.; Englewood Cliffs, 1984 (806 p.).
- Stephanopoulos, George / Stephanopoulos, Gregory; 1986. **Artificial Intelligence in the Development and Design of biochemical Processes.** *Trends in Biotechnology*, V. 4: p. 241-249.
- Sugama, S. / Okazaki, N.; 1979. **Growth estimation of *Aspergillus oryzae* cultured on solid media.** *Journal of Fermentation Technology*. V. 57, No. 5: p. 408-412.
- Tengerdy, R. P.; 1985. **Solid substrate fermentation.** *Trends in Biotechnology*, V. 3: p. 96-99.
- Torma, A. E.; **Electrochemistry of a Semiconductor Chalcopyrite Concentrate Leaching by *Thiobacillus Ferrooxidans*.** Copper 91, V.III / Hydrometallurgy and electrometallurgy of Copper (Cooper, W. G. / Kemp, D. J. / Lagos, G. E. / Tan, K. G.). Pergamon Press, New York, 1991 (p.73-85).

- Trevelyan, W. E.; 1974. **The enrichment of cassava by moist solids fermentation.** *Tropical Science*, V. 16: p. 179-194.
- Troller, J. A.; 1980. **Influence of water activity on microorganisms in food.** *Food Technology*. V. 34: p. 76-82.
- Trueck, H. U. / Chmiel, H. / Hammes, W. P. / Troesch, W.; 1990. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 34: p. 1-11.
- Trueck, H. U. / Chmiel, H. / Hammes, W. P. Troesch, W. P.; 1990. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 33: p. 139-148.
- Twidwell, L. G. /Haung, H. H. / Miller, J. D.; **Hydrometallurgy, Unit Proceses in Extractive Metallurgy.** Montana College of Mineral Science and Technology; Montana, 1984 (5.7.1-5.7.6).
- Valdman, B. / Bojorge, N. / Valdetaro, E.; 1992. **Noveno Seminario de Instrumentação.** IBP, Rio de Janeiro: p. 305-316.
- Walsh, F. / Mitchell, R.; 1972. **A pH dependent succession of iron bacteria.** *Environmental Science and Technology*, V. 6, No. 9: p. 809-812.
- Wood, B. J. B.; **Fermented Foods.** Ed. A. H. Rose / Academic Press; London, 1982.
- Yang, S. S.; 1988. **Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid-state fermentation.** *Biotechnology and Bioengineering*. V. 32: p. 886-890.
- Zeikus, G. / Johnson, E. A.; **Mixed Cultures in Biotechnology.** McGraw-Hill, Inc.; New York, 1993.

APENDICE .-

ENSAYOS DE CRECIMIENTO DE *Trichoderma reesei*: FERMENTACION DE SUSTRATO SOLIDO DE PAJILLA DE CAÑA DE AZUCAR

En la prueba de crecimiento de micelio de *T. reesei* en los tubos de fermentación, el punto de partida o inicio de la fermentación es con la adición (para $t=0$) de micelio de la mezcla inoculante al tubo de fermentación. Esto se hace para evitar el tiempo que toma la fase de latencia (lag time), que se produciría de introducir los microorganismos fermentantes en forma de esporas.

Para un buen control de variables en el proceso de fermentación en sustrato sólido (SSF) se necesita conocer algunos parámetros o coeficientes (constantes) del proceso.

Así, pues, en la fermentación SSF de la pajilla (bagacillo) de caña de azúcar, tenemos el esquema sencillo mostrado en la Figura 1 del flujo de este proceso en un reactor a escala de planta piloto

Recordemos que es necesario mantener un proceso constante y óptimo para lograr resultados satisfactorios en el producto final (es decir, que el producto cumpla con los requisitos fijados). Luego, es necesario tener relaciones entre las diversas características finales mensurables y aquellas cuya medición es más difícil, o bien poco conveniente (siendo el problema de contaminación aquí un factor de desventaja, mas inhibido en gran medida por la diferencia de presión positiva en el reactor).

Por ello, la medición de la generación de CO_2 en el flujo de salida del proceso nos puede dar un medio indirecto y sencillo de cálculo del crecimiento del microorganismo empleado, a la vez que también

puede relacionarse con el consumo de O_2 (Sugama & Okazaki, 1979).

El fin, pues, en las pruebas en tubos de incubación/fermentación es obtener una razón (constante) de CO_2 generado a peso de micelio formado, así como con respecto a O_2 consumido.

Variables de entrada (medición) y variables a controlar.-

Tanto en los ensayos llevados a cabo en los tubos de incubación / fermentación como en las mediciones en el sistema del reactor a escala, las tomas de muestra son manuales, no automáticas. Esto se hace presente en el programa de control, en el que se opera un aviso previo para toma de muestra manual.

Volviendo al análisis de crecimiento de micelio, describimos al proceso :

- Sustrato y mezcla inoculante.-

Para una prueba inicial se tomó como base una masa de sustrato seco pretratado de

m sustrato seco (p) 4 g (*)

(*) masa inicial de sustrato seco en 1 tubo de incubación y fermentación

Nota :

Las sales de Reese & Mandels añadidas al medio de fermentación SSF están preparadas sin contenido alguno de nitrógeno (esta decisión se fijó ya por pruebas anteriores de crecimiento de micelio). Debido a ello se hace la adición de harina de soya con fuente de nitrógeno en la fase exponencial del crecimiento.

PREPARACION .-

(las cantidades se mencionan para 1 tubo de incubación y fermentación)

Microorganismos .-

Se emplea *T. reesei* UC4.

Medios y condiciones de cultivo .-

Como sustrato se emplea 4 g de pajilla de caña de azúcar seca (bagacillo) pretratada. Para abreviar, se le menciona como sustrato (p).

El medio de inóculo (MI) se ha preparado previamente. Este MI está compuesto por : Sales de Reese & Mandels (6,1% v/v), Tween 80 (0,1% v/v), glicerol (0,1% v/v), peptona (0,2% w/v), sustrato (p) (0,4% w/v) y agua (restante para 100%).

El MI ha desarrollado micelio en un medio líquido durante 3 días a 30 °C, agitado a 200 rpm. Tras ello, se mide siempre el contenido de micelio seco (g micelio seco / ml MI).

El sustrato (p) es añadido a la mezcla inoculante (MEZI) descrita abajo, mezclado hasta homogeneidad y colocado para fermentación en el tubo de incubación y fermentación.

El MEZI está conformado por :

- MI (2 g micelio seco / 100 g sustrato (p)).
- Sales de Reese & Mandels sN (60 ml / 100 g sustrato (p)).
- Harina de soya (razón C:N = 10, lo que equivale a aprox. 0,827 g harina / g sustrato (p)).
- Agua (para un total de 80% humedad en la mezcla final).

Nota: sN=sin nitrógeno

Se mantiene la razón másica sgte. :

$$\text{MEZI:sustrato (p)} = 4:1$$

Por lo tanto, la mezcla homogénea final formada contiene :

$$\begin{aligned} \text{MEZI} & : 16 \text{ ml} \gg 16 \text{ g} \\ \text{Sustrato (p)} & : 4 \text{ g} \end{aligned}$$

Para asegurar ingreso de aire libre de CO_2 se hace circular al aire primero por un recipiente lavador con 100 ml solución NaOH 10% (w/v), y por otro volumen con 20 ml solución NaOH 6,5%, antes de pasar al tubo de incubación y fermentación.

Se entrega un flujo constante e igual de aire a cada uno de los 5 tubos de fermentación colocados. El aire a un flujo aprox. de 100 ml/h para cada tubo (Sugama & Okazaki, 1979) se obtiene de una pequeña bomba (peristáltica) y se distribuye en 5 flujos, hacia la entrada inferior de los 5 tubos.

Determinación de CO_2 .-

El flujo de salida es recolectado en un tubo con 20 ml solución NaOH 2%, la cual absorbe el CO_2 . El contenido para cada toma se transfiere a un vaso beaker (100 ml) y se añade 10 ml solución BaCl_2 20%. Finalmente se titula el volumen a $\text{pH} = 9$ con HCl 0,5 N.

La cantidad de CO_2 generado es igual a :

$$m_{\text{CO}_2} = 11 * (b - a)$$

donde $a = \text{vol. HCl añadido}$

$b = \text{vol. HCl añadido para un volumen igual de solución NaOH sin CO}_2$

Se toma muestras cada 24 h

Contenido de micelio seco en MI = 0,0128 (**)
(g micelio seco / ml MI)

(**) Generalmente el valor está cerca a 0,01 g / ml MI

Objetivos de investigación y desarrollo en biolixiviación: planta de LIX / SX / EW .-

En la tabla siguiente se menciona algunos objetivos de trabajo fijados:

Objetivo	Tasks a corto / mediano plazo
1	- Análisis conjunto de lixiviación y del ecosistema en botaderos - Continuación con semiaislamiento de microorganismos en B1, BT11 y B3250 (viales numerados en Lab. Toquepala: en refrigeración)
2	- Control de Procesos: direccionamiento en PLC - Instrumentación: elementos de control final
3	- Acciones sobre temperatura en nave de EW