



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Modelado de la transferencia de masa a
diferentes escalas en la producción de
soforolípidos a nivel laboratorio

Irazaí Yael Melchor Sánchez





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA

**"Modelado de la transferencia de masa a diferentes escalas en la
producción de soforolípidos a nivel laboratorio"**

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

Irazaí Yael Melchor Sánchez

Co-Directores:

Dr. Gerardo Saucedo Castañeda

Dr. Francisco José Valdés Parada

Jurado:

Dr. Sergio Huerta Ochoa

Dr. Victor Sánchez Vázquez

M. en B. Jessica Sánchez Vargas

Dr. José de Jesús Cázares Marinero

Iztapalapa, Ciudad de México, 2 de diciembre de 2022

Agradecimientos

La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, pertenece al Sistema Nacional de Posgrados del CONACYT y cuenta con apoyo del mismo Consejo; por lo que agradece la beca No. 773081, recibida para el desarrollo de esta tesis.

Agradecimientos personales

A mis papás, por siempre apoyar mis decisiones y motivarme cuando estoy dudando, por sus consejos y su presencia en todo momento.

A mis hermanos por distraerme cuando estoy agobiada y aguantar mis caprichos. A Gibreel porque cada que necesitaba ayuda él siempre estaba dispuesto a brindarmela, A Amaury porque sin él saberlo era mi motivación para seguir adelante con la intención de que siempre tenga un buen ejemplo de mi parte. A Ambos porque son el apoyo incondicional con el que siempre voy a contar.

Al Dr. Gerardo por su apoyo, por compartir conmigo su conocimiento y sus consejos, por sus pláticas motivacionales cuando yo no sabía para donde ir.

A Paco, por su enorme paciencia para explicarme una y otra vez lo que fuera necesario, y estar en la mejor disposición para enseñarme y apoyarme.

El jurado designado por la
Comisión Académica del Posgrado en Biotecnología
de la Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis que presentó

IRAZAÍ YAEL MELCHOR SÁNCHEZ

El día **16 de Agosto** del año **2022**

Miembros del Jurado

Dr. José de Jesús Cázares Marinero

Dr. Sergio Huerta Ochoa

M. en B. Jessica Sánchez Vargas

Dr. Victor Sánchez Vázquez

Dr. Sergio Huerta Ochoa.

Presidente

Dr. Victor Sánchez Vázquez.

Secretario

Dr. José de Jesús Cázares Marinero.

Vocal

M. en B. Jessica Sánchez Vargas.

Vocal



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00297

Matricula: 2202800522

Modelado de la transferencia de masa a diferentes escalas en la producción de soforolipidos a nivel laboratorio.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 16 del mes de agosto del año 2022 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. SERGIO HUERTA OCHOA
- DR. JOSE DE JESUS CAZARES MARINERO
- M. EN B. JESSICA SANCHEZ VARGAS
- DR. VICTOR SANCHEZ VAZQUEZ



Irazai Yael Melchor Sanchez

IRAZAI Yael MELCHOR SANCHEZ
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA
DE: IRAZAI Yael MELCHOR SANCHEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobac

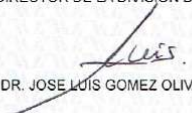
REVISÓ



MTRA. ROSALVA SEPIRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

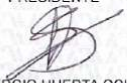
Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS



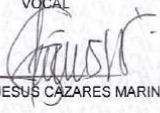
DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTE




DR. SERGIO HUERTA OCHOA

VOCAL



DR. JOSE DE JESUS CAZARES MARINERO

VOCAL



M. EN B. JESSICA SANCHEZ VARGAS

SECRETARIO



DR. VICTOR SANCHEZ VAZQUEZ

Índice general

1	Resumen	13
2	Abstract	15
3	Introducción	17
4	Revisión bibliográfica	21
4.1	Características de los biosurfactantes	21
4.2	Usos de los biosurfactantes	22
4.3	Crecimiento a futuro de los biosurfactantes	23
4.4	<i>Starmerella bombicola</i>	23
4.5	Generalidades sobre soforolípidos	24
4.6	Uso de los soforolípidos	25
4.7	Fermentación en estado sólido (FES)	26
4.8	Modelado matemático	29
4.8.1	Modelado matemático y transferencia de masa en la producción de biosurfactantes	29

4.8.2	Importancia y transferencia de masa del O ₂ en la producción de biosurfactantes	32
4.8.3	Modelado matemático en FES	34
4.8.4	Modelado matemático de biopelículas	35
4.8.5	Modelado multiescala de sistemas biológicos	37
4.9	Método experimental para la medición de O₂	41
5	Justificación e hipótesis	43
5.1	Justificación	43
5.2	Hipótesis	44
6	Pregunta de investigación y objetivos	45
6.1	Pregunta de investigación	45
6.2	Objetivo general	45
6.3	Objetivos específicos	45
7	Metodología	47
7.1	Glosario	47
7.2	Descripción del sistema	48
7.3	Definiciones fundamentales	50
7.3.1	Operadores de promediado	50
7.3.2	Teoremas	51
7.3.3	Hipótesis de equilibrio local másico	52
7.4	Modelado en el nivel de escala celular (Nivel V)	52
7.4.1	Metodología de promediado y escalamiento a escala celular	52
7.4.2	Metodología del análisis paramétrico y solución numérica	55
7.5	Modelado en el nivel de escala intrafibras (Nivel IV)	56
8	Resultados y discusión	59
8.1	Biopelículas: modelo para el O₂ y soforolípidos (Nivel V)	59
8.1.1	Planteamiento del modelo a escala celular	62

8.2	Escalamiento en la biopelícula	67
8.2.1	Método de promediado de la especie O	68
8.2.2	Cerradura	70
8.2.3	Problema de cerradura para el oxígeno	74
8.2.4	Modelo promedio cerrado para la transferencia de O ₂	75
8.2.5	Método de promediado para la especie S	77
8.2.6	Problema de cerradura	79
8.2.7	Modelo cerrado para soforolípidos	80
8.2.8	Problemas de cerradura adimensionales	81
8.3	Discusión: Análisis de la escala celular	83
8.4	Validación de los modelos macroscópicos de transferencia de masa	91
8.4.1	Soforolípidos	92
8.4.2	Oxígeno	94
8.5	Discusión de la validación de los modelos promedio utilizando el método DNS	96
8.6	Modelo del transporte de masa intrafibras (Nivel IV)	98
8.6.1	Nomenclatura	98
8.6.2	Modelo del transporte de masa dentro de las fibras planas	102
8.6.3	Modelo del transporte de masa dentro de las fibras considerando rugosidad	103
8.7	Resumen de los resultados	106
9	Conclusión	109
10	Prospectivas	111
	Bibliografía	113
A	Solución de los problemas de cerradura utilizando Comsol Multiphysics.	123
A.1	Solución para el Oxígeno	123
A.2	Solución del problema de cerradura para soforolípidos	126

1. Resumen

El creciente interés de la industria biotecnológica por generar productos sustentables, amigables con el ambiente y ecológicos, ha traído la búsqueda de alternativas al uso de productos químicos, un ejemplo de estas alternativas son los biosurfactantes; tal es el caso de los soforolípidos. Estos se han convertido en atractivos productos microbianos producidos por hongos, bacterias y levaduras, gracias a sus ventajas sobre los tensioactivos sintéticos en términos de sostenibilidad medioambiental, biodegradabilidad, salud pública mundial y el uso de residuos agroindustriales para su producción. En el caso de los soforolípidos, se producen en gran parte por la levadura no patógena *Starmerella bombicola*. Este interés ha llevado a la necesidad de comprender los fenómenos de transporte que suceden durante la producción de este biosurfactante y contar con modelos confiables que los simulen en estos sistemas. Es por ello que en este trabajo se desarrollaron modelos matemáticos que describen desde la escala celular cómo es el transporte por difusión de los soforolípidos y del O_2 . Se tiene interés en estudiar a los soforolípidos por las características que se han mencionado anteriormente. En el caso del O_2 , en las secciones siguientes se menciona su importancia en los bioprocesos aerobios. En este trabajo, se realizan algunas modificaciones al método de promedio volumétrico el cuál es una técnica clásica de promediado que parte de ecuaciones de transporte a escala microscópica para deducir ecuaciones a escala macroscópica o de medio efectivo. A partir de este método modificado, se deducen dos modelos matemáticos promedio que describen

la acumulación, difusión y reacción para dicha escala. Además, a diferencia de otros trabajos, se estudia el transporte de soforolípidos y O_2 considerando a la célula como un sistema no continuo. Es decir, se toman en cuenta los organelos que hay dentro de ella y en los cuales puede haber reacción de las especies y se estudió el efecto que pueden tener en la difusión a nivel celular. Esto trae como resultado modelos que se apegan más a la realidad. Teniendo estos modelos se calculan los coeficientes de difusividad efectiva para cada especie química estudiada. Aunado a ello, se llevan a cabo análisis paramétricos para definir qué parámetros son los que tienen mayor efecto en los coeficientes de difusión. Estos modelos son validados reproduciendo con un error $< 1\%$ los resultados de las simulaciones numéricas a escala microscópica. Por este motivo es que se puede considerar como punto de partida para el modelado matemático de las escalas superiores como las descritas en este trabajo.

2. Abstract

The growing demand of the biotechnology industry to generate sustainable, environmentally friendly and ecological products has led to the development of alternatives to the use of chemical products, an example of these alternatives are biosurfactants; such is the case of sophorolipids. They have become attractive microbial products due to their advantages over synthetic surfactants in terms of environmental sustainability, biodegradability, global public health and the use of agro-waste for their production. Moreover, they are mostly produced by non-pathogenic yeast *Starmerella bombicola*. Therefore, the interest to understand the processes that occur during the production of this biosurfactant and to have predictive models that simulate the transport phenomena in these systems. For this reason, in this work mathematical models are developed in order to describe the diffusion transport of sophorolipids and O_2 from the cellular scale. In this paper, some modifications are made to the volumetric averaging method, which is a classical technique that derives effective medium equations from transport equations at the microscopic scale. From this modified method, two average mathematical models are derived that describe the accumulation, diffusion and reaction for this scale. In addition, compared to other works, the transport of sophorolipids and O_2 is also studied considering the cell as a non-continuous system. In other words, the organelles inside the cell in which the species may react were taken into account as well as the effect they may have on diffusion at the cellular level. This results in models that describe transport phenomena in a

more accurate way. Using these models, the effective diffusivity coefficients are calculated for each chemical species under study. Furthermore, parametric analyses are carried out to identify which parameters have a major effect on the diffusion coefficients. Thus, they can be considered as a starting point for the mathematical modeling of larger scales such as those described in this work.

3. Introducción

La búsqueda de alternativas sustentables ha ganado importancia los últimos años, por lo tanto se ha buscado sustituir la elaboración y el uso de surfactantes sintéticos por biosurfactantes (Marchant y Banat, 2012). Este tipo de biosurfactantes son una fuente alternativa al uso de tensoactivos convencionales cuyo uso común a lo largo de los años ha traído daños notables al medio ambiente. Este interés se ve respaldado por las numerosas aplicaciones exitosas de los biosurfactantes que se han investigado en los últimos años, ya que presentan actividades específicas propias que encuentran su uso en diferentes sectores industriales. Las propiedades de los biosurfactantes llegan a ser superiores que los surfactantes sintéticos, reducen la tensión superficial de los líquidos, lo que les confiere un potencial como detergente, agente emulsionante, agente de solubilización y agente de dispersión de fases. También se consideran productos menos tóxicos y más biodegradables y pueden obtenerse de fuentes sostenibles (Marchant y Banat, 2012; Banat y *col.*, 2021). Estas ventajas se ven fortalecidas con el método de producción mediante la fermentación en medio sólido con el uso de residuos agroindustriales (Jiménez-Peñalever, 2017), por estos motivos, promover su producción es de gran interés, ya que pueden sustituir a sus análogos químicos.

Los sistemas en los que se producen los biosurfactantes son de naturaleza jerárquica, es decir, que los procesos que ocurren a un determinado nivel de escala están determinados por lo que ocurre en niveles de escala inferiores (Valdés-Parada, 2021). En este proyecto de maestría se desarrollan

modelos matemáticos deterministas para la transferencia de masa en los niveles de menor escala que componen al sistema. El propósito de este trabajo es modelar los procesos de transporte de masa a nivel celular, en particular de soforolípidos y el consumo de O_2 , asociados con la producción de biosurfactantes a través de una fermentación en medio sólido por la levadura *S. bombicola* ATCC22214, la cuál forma una biopelícula sobre el soporte sólido que en este caso es aserrín. Los modelos matemáticos se desarrollaron a partir de las ecuaciones que gobiernan la transferencia de masa a escala microscópica y describen el transporte difusivo de estas dos especies químicas. Es de interés estudiar a los soforolípidos debido a las características y ventajas que se han mencionado frente a sus análogos sintéticos. La segunda especie química se eligió ya que experimentalmente se cuenta con mediciones de O_2 y CO_2 , siendo estos perfiles muy similares, por lo tanto, basta con modelar uno de estos dos gases presentes. Otro motivo para estudiar esta especie es que para su medición experimental, no es necesario destruir la muestra, ya que son medidas que se hacen en línea y en tiempo real. A diferencia de otros trabajos, en este se tomó en cuenta una estructura más complicada de la célula, representando los organelos con geometrías sencillas. Esto con el fin de estudiar estructuras más realistas y posteriormente medir el efecto que tiene esta consideración sobre el transporte difusivo. Es importante describir el transporte por difusión a esta escala para posteriormente, a partir del promediado de estas ecuaciones y escalamiento, poder llevarlas a un nivel de escala mayor como un biorreactor. Estos modelos permiten simular el transporte de masa de las especies estudiadas a través de la biopelícula y permiten predecir los coeficientes de difusión para cada especie partiendo de la solución de los problemas de cerradura. El desarrollo de estos modelos matemáticos es una aportación relevante para el trabajo experimental ya que se hacen estimaciones de los perfiles de transferencia de masa en biopelículas. Estos modelos son eficientes herramientas para estudiar los fenómenos en las biopelículas e impactan en el diseño, control y optimización de estos sistemas a diferentes niveles de escala del sistema experimental (on Biofilm Modeling, 2006). También, a partir de un modelo ya propuesto por Whitaker (1999b), se estudió el efecto de la geometría del soporte que se utiliza en la fermentación en medio sólido a nivel intrafibras. Esto con el fin de dar diferentes perfiles dependiendo de la porosidad del material que se utilice como soporte.

El documento está organizado como sigue, primeramente se presenta una revisión crítica de la bibliografía ahondando en las características del microorganismo que se utiliza y los biosurfactantes. Además se definen a los soforolípidos y se describen sus usos y aplicaciones en la industria.

También, se presta especial atención a trabajos previos dedicados específicamente a la producción experimental a nivel laboratorio de soforolípidos. Más aún, en la producción de soforolípidos por medio de la fermentación en medio sólido. Estos trabajos sirven como antecedentes directos de la investigación actual. También se ahonda en la revisión de artículos donde se elaboran modelos matemáticos en sistemas biológicos, biorreactores de fermentación en medio sólido, para la producción de biosurfactantes y medición del O_2 . Con esta información se busca deducir un modelo propio que describa a diferentes escalas los procesos de transferencia de O_2 y de soforolípidos.

Posterior a la revisión bibliográfica, se presenta una descripción de los niveles de escala del sistema a estudiar, así como la justificación del trabajo. Más adelante se propone una hipótesis para este trabajo, junto con los objetivos (general y particulares) que se plantean llevar a cabo. Cada objetivo está enfocado a un nivel de escala específico del sistema. Más adelante, en la sección de metodología, se explica a detalle la estrategia de modelado para cumplir con cada uno de los objetivos particulares del trabajo. En el siguiente capítulo se presentan los resultados, es decir los modelos de medio efectivo que se dedujeron para las especies químicas estudiadas, su solución y el método para validar estos modelos. Posteriormente, se presentan las conclusiones y prospectivas correspondientes seguido de las referencias bibliográficas. Por último se incluye un anexo donde se detallan los pasos para resolver los modelos en el programa Comsol Multiphysics.

4. Revisión bibliográfica

La manufactura de surfactantes químicos ha traído efectos negativos al ambiente, ya que la mayoría de materias primas utilizadas para su elaboración son recursos no renovables y derivados de petróleo, estos últimos presentan altos índices de ecotoxicidad y bajos índices de biodegradabilidad (Singh y *col.*, 2018). Es por esto que se implementa el uso de surfactantes de base biológica, los cuales se derivan en su totalidad o en una parte significativa de productos biológicos o materiales agrícolas domésticos renovables (incluyendo materiales vegetales, animales y marinos) o materiales forestales. Sin embargo, este tipo de surfactantes se producen en gran medida mediante reacciones químicas tradicionales como los surfactantes sintéticos, consumiendo energía (calor y electricidad) generada por fuentes de hidrocarburos. Una alternativa sustentable ha sido el desarrollo y uso de la biotecnología para la producción de biosurfactante, los cuales son de origen biológico ya que provienen de microorganismos que los producen a partir de una fermentación utilizando medios sostenibles y no químicos. De esta manera se busca atenuar los efectos negativos del uso de los surfactantes sintéticos (Solutions, 2022; Banat y *col.*, 2021).

4.1 Características de los biosurfactantes

Los biosurfactantes son moléculas que se obtienen a partir de microorganismos, como bacterias, hongos y levaduras, los cuales se producen en su mayoría como metabolitos secundarios, que

permanecen adheridos a la superficie de la célula microbiana o son secretados fuera de las células (Jahan y *col.*, 2020). Los microorganismos y sus productos metabólicos, tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial e interfacial del agua y otros fluidos (Clercq y *col.*, 2021). La única diferencia entre la tensión interfacial y la tensión superficial es la interfaz líquido-líquido (interfacial) en lugar de la interfaz líquido-aire (superficial).

Los biosurfactantes se caracterizan por ser moléculas anfipáticas, es decir, que presentan una parte hidrófoba y otra hidrófila. Son un grupo estructuralmente diverso de moléculas tensoactivas, que presentan en general menor toxicidad y mayor biodegradabilidad que los surfactantes sintéticos (de la Rosa y *col.*, 2013). La parte hidrófila (la cabeza) suele consistir en un péptido, aminoácido, monosacárido, disacárido o polisacárido, mientras que la cola hidrófoba suele ser un ácido graso lineal, ramificado, saturado, insaturado o hidroxilado (Drakontis y Amin, 2020; Shekhar y *col.*, 2014). Los biosurfactantes microbianos se clasifican en dos categorías: compuestos de bajo peso molecular (LMW por sus siglas en inglés), como son glicolípidos, fosfolípidos y lipopéptidos; y compuestos poliméricos de alto peso molecular (HMW por sus siglas en inglés), por ejemplo, polisacáridos, proteínas o formas combinadas de lipoproteínas o lipopolisacáridos (Jahan y *col.*, 2020).

4.2 Usos de los biosurfactantes

Los biosurfactantes son utilizados en diferentes sectores, algunos ejemplos son el sector de cuidado e higiene personal por sus propiedades emulsificantes; el de limpieza como los detergentes para la ropa, donde se utilizan en lugar de los tensoactivos de síntesis química, en la agricultura para mejorar la solubilidad aparente de los contaminantes químicos, entre otros (Fakruddin, 2012; Drakontis y Amin, 2020). En el campo de la medicina, se ha reportado que los biosurfactantes presentan una actividad antimicrobiana y antiviral, mientras que en la industria alimentaria se utilizan en la formulación debido a su capacidad para reducir la tensión superficial y estabilizar las emulsiones (Santos y *col.*, 2016; Drakontis y Amin, 2020). También son utilizados para el transporte y extracción de petróleo crudo, en la limpieza de tanques de almacenamiento, para el tratamiento de residuos de petróleo y como agentes demulsificantes y anticorrosivos, entre otros usos (Almeida y *col.*, 2016; Drakontis y Amin, 2020). Las propiedades de los biosurfactantes como disminuir la tensión superficial, interfacial y aumentar la solubilidad llegan a ser superiores que los surfactantes sintéticos; por lo que promover su producción es de gran interés, ya que una formulación final

puede tener el mismo efecto pero usando una cantidad muy pequeña de biosurfactante. Estas características, combinadas con su baja toxicidad hacen que los biosurfactantes sean potencialmente más atractivos que los surfactantes sintéticos (Jahan y col., 2020). Además, su biodegradabilidad, biocompatibilidad, especificidad y la amplia variedad de estructuras químicas disponibles son una ventaja para el medio ambiente. Es por esto que se busca la manera de poder competir con las fórmulas sintéticas comerciales mediante la producción de biosurfactantes. (López, 2009).

4.3 Crecimiento a futuro de los biosurfactantes

Se prevé que el mercado de biosurfactantes alcance los 6,500 millones de dólares en 2027, con una tasa de crecimiento superior al 6%. Siendo los glicolípidos uno de los principales contribuyentes, con un CGAR (tasa de crecimiento anual compuesta por sus siglas en inglés) previsto del 5.7% (<https://www.marketsandmarkets.com>). Además, el reciente aumento de los métodos avanzados de ingeniería genética y la actual pandemia, han impulsado la investigación para la producción a escala industrial, ampliación y purificación de nuevos soforolípidos y el desarrollo de formulaciones innovadoras y sostenibles para aplicaciones más amplias. (Qazi y col., 2022). Sin embargo, el mercado de los soforolípidos aún no es tan explotado debido a los altos costes de producción, especialmente en lo que respecta a los procesos de producción en comparación con surfactantes sintéticos o de base biológica (Qazi y col., 2022; Banat y col., 2021). Un ejemplo son los pretratamientos que se aplican a los sustratos o las técnicas de extracción y purificación posterior a la obtención de los biosurfactantes ya que usualmente se obtienen de residuos agroindustriales (Banat y col., 2021; Celligoi y col., 2020).

4.4 *Starmerella bombicola*

S. bombicola es una levadura aerobia facultativa, de un tamaño de $2-3.8 \times 2.5-5 \mu\text{m}$ de forma ovoide a elipsoidal. Se considera uno de los más importantes productores microbianos de biosurfactantes, específicamente soforolípidos (Graeve y col., 2018). Esta levadura fue aislada de muestras de néctar de flores silvestres en 1959 y de miel de abejorros (1964-1967) por Spencer y col. (1970). Utiliza para su crecimiento, fuentes de carbono hidrofóbicas, como ácidos grasos, alcoholes grasos, alcanos, ésteres de ácidos grasos o de etilo y aceites vegetales y animales. Se reconoce como una especie bien caracterizada, de la que no se sabe que cause enfermedades en humanos adultos sanos (Graeve y col., 2018). Esta levadura tiene relevancia en este trabajo, ya que este mismo se

respalda por la investigación y resultados experimentales realizados por Pedraza y *col.* (2022), donde utilizaron como microorganismo productor al descrito en los párrafos anteriores.

4.5 Generalidades sobre soforolípidos

Los soforolípidos son un ejemplo de biosurfactantes del tipo de los glicolípidos. Están compuestos por el disacárido soforosa unido por un enlace glucosídico a través de un grupo hidroxilo situado en la penúltima posición de un ácido graso de 18 carbonos. El ácido graso puede variar en el grado de saturación, la posición de hidroxilación (terminal o sub-terminal) y la longitud de la cadena, principalmente presenta 16 y 18 átomos de carbono (Bogaert y *col.*, 2007; Ribeiro y *col.*, 2012). *S. bombicola* produce soforolípidos como metabolitos secundarios (Casas y *col.*, 1997), es la levadura más utilizada en la producción de soforolípidos debido a los altos rendimientos, logrando obtener $> 600 \text{ g L}^{-1}$ a una tasa de productividad de $> 4.5 \text{ g L}^{-1}\text{h}$ (Roelants y *col.*, 2019) y a la extensa aplicabilidad industrial (Ribeiro y *col.*, 2012). Este tipo de biosurfactante se presenta como una mezcla de formas lactónicas y acídicas y puede estar acetilado en las posiciones primarias del hidroxilo de los azúcares de la soforosa (Daverey y *col.*, 2010). Sin embargo también son producidos por otros microorganismos como *Torulopsis bombicola*, *T. petrophilum* and *T. apicola* (Sayyed y *col.*, 2021).

Hay varias hipótesis sobre el rol natural de los soforolípidos, por lo tanto, Clercq y *col.* (2021) las estudiaron detalladamente y pudieron comprobar algunas de estas en su trabajo. Se confirmó que los soforolípidos producidos por *S. bombicola* poseen actividad antimicrobiana, en específico los soforolípidos lactónicos. Estos se encuentran en mayor cantidad de forma extracelular, por lo tanto favorecen al microorganismo frente a otros competidores. También son utilizados como una reserva de fuente de carbono y promueven el crecimiento en algunos sustratos hidrofóbicos por un posible efecto de solubilización. Además, los soforolípidos producidos por este microorganismo han llamado la atención de la industria debido a sus excelentes propiedades de reducción de tensión superficial y la tensión interfacial aceite/agua, también por su perfil ecológico y su alta productividad volumétrica de hasta 0.9 g/Lh con una pureza del 97% (Bogaert y *col.*, 2010; Roelants y *col.*, 2015). Los soforolípidos solo son sintetizados en la última fase de crecimiento de la levadura, cuando la concentración de biomasa en el cultivo ha alcanzado el nivel estacionario, esto pasa cuando se consume por completo la fuente de nitrógeno (Casas y *col.*, 1997). La biosíntesis de lípidos se desencadena por el agotamiento de algunos nutrientes en el medio de cultivo ante el exceso de

carbono: principalmente la limitación de nitrógeno (Jeziarska y *col.*, 2020). Las fuentes de nitrógeno orgánicas tienen un efecto más favorable en la producción de biomasa que las fuentes inorgánicas. Las fuentes de nitrógeno orgánico son más adecuadas para el crecimiento de células de levadura y la producción de soforolípidos lactónicos. En comparación, el crecimiento celular disminuye y los soforolípidos ácidos se generan principalmente con fuentes de nitrógeno inorgánico como el sulfato de amonio, obteniendo hasta 15 diferentes moléculas de soforolípidos ácidos y solo 4 del tipo lactónico. (Ma y *col.*, 2011).

Los soforolípidos se pueden sintetizar a partir de una sola fuente de carbono como glucosa (síntesis de novo); sin embargo, se obtienen mayores rendimientos de biosurfactantes cuando se añade una segunda fuente de carbono hidrofóbica como diferentes tipos de aceite vegetal (soja, maíz, girasol) (Bogaert y *col.*, 2010).

4.6 Uso de los soforolípidos

Se ha comprobado que las propiedades surfactantes de los soforolípidos son ideales para varias aplicaciones ya que presentan excelentes propiedades de reducción de la tensión superficial e interfacial. Lo anterior los hacen ideales para ser utilizados en formulaciones de productos de limpieza o cosméticos (Jiménez-Peñalever, 2017). Debido a la formación de enlaces iónicos o micelas, mejoran la desorción de metales pesados de sedimentos del suelo. Esto a través de la formación de complejos de la forma libre del metal que reside en la solución con la forma aniónica de los soforolípidos; además en condiciones de tensión interfacial reducida, los soforolípidos en contacto con los metales se acumulan en la interfaz sólido-solución (Kang y *col.*, 2009; Qi y *col.*, 2018). También se han utilizado para aumentar la extracción de compuestos aromáticos insolubles mediante la solubilización micelar y la movilización de dichos materiales a través de una reducción de su tensión interfacial, aumentando la solubilidad aparente de los hidrocarburos en el agua. Por lo tanto, estos biosurfactantes son útiles para la biodegradación de suelos contaminados con hidrocarburos de baja solubilidad y para mejorar la tasa de biodegradación de los hidrocarburos del petróleo en un suelo contaminado (Celligoi y *col.*, 2020). Recientemente, se ha reportado que los soforolípidos y sus derivados disminuyen la gravedad del asma en un modelo *in vivo* y ha demostrado efectos positivos para eliminar células cancerígenas del páncreas (Fu y *col.*, 2008). El uso de biosurfactantes como alternativa ecológica, combinada con la creciente concientización sobre la sustentabilidad, apoya claramente el potencial de mercado de los biosurfactantes (Van-

Renterghem *y col.*, 2019). De hecho, diversas empresas como Evonik Degussa, DSM, Cargill, y Croda han invertido en investigación y producción ya que se ha visto un aumento en la aplicación de estas moléculas en la última década (Roelants *y col.*, 2019). Recientemente se ha estudiado la propiedad antimicrobiana y virucida de los soforolípidos para tratar el COVID-19, ya que debido a la presencia de los grupos acetil, les otorga hidofilia a los soforolípidos causando una perturbación sobre la membrana viral como la mayoría de los detergentes hacen (Borsanyiova *y col.*, 2015; Daverey *y col.*, 2021). Actúan incrementando la solubilización de la envoltura del virus, degradando así los componentes de éste e inhibiendo la interacción del virus, la inhibición de citoquinas y la activación de genes antiapoptóticos (Daverey *y col.*, 2021). Estos biosurfactantes tienen numerosas propiedades que los hacen superiores a los tensioactivos sintéticos, incluyendo estabilidad en un amplio rango de pHs, temperaturas y salinidad, baja formación de espuma y propiedades detergentes, el sinergismo entre las formas ácidas y lactónicas aumenta la actividad tensoactiva, todo esto sumado a la amplia gama de aplicaciones que se ha mencionado en párrafos anteriores.

4.7 Fermentación en estado sólido (FES)

Es un proceso heterogéneo donde hay una fase sólida, líquida y gaseosa y los microorganismos crecen generalmente en la superficie del material sólido, que se utiliza como soporte, y que puede o no tener nutrientes (Banat *y col.*, 2021). La fermentación en estado sólido se está convirtiendo en una estrategia prometedora para la producción de biosurfactantes, especialmente para superar el problema de la producción de espuma y viscosidad que se produce en las fermentaciones en medio líquido o sumergidas (FmL) y que complican el proceso. También, ha demostrado ser eficaz para la producción de varios compuestos con rendimientos superiores a los obtenidos en la FmL. En el caso de los soforolípidos llegaron a obtener un rendimiento superior, entre 2.5 a 3.5 veces más utilizando el mismo sustrato (Jiménez-Peñalever, 2017; Singh *y col.*, 2018). Otras ventajas de la FES es que se mejora la transferencia de O₂ sin producción de espuma, mitigando el riesgo de contaminación y reduciendo la cantidad de impurezas (Jiménez-Peñalever, 2017). Además, la fase gaseosa provee oxígeno a los microorganismos y a su vez elimina el CO₂. La baja cantidad de agua o su ausencia en la FES comparando con la FmL, trae beneficios como la reducción en los costos de operación; ya que utiliza un volumen menor de agua, el tamaño del biorreactor también se puede reducir. Aunado a esto, también hay una reducción de los requisitos de energía para la

agitación y la esterilización y producen menos aguas residuales (Pandey, 2003).

El costo del medio se puede reducir en los procesos de fermentación en estado sólido al utilizar residuos agroindustriales como son las melazas, ya que contienen azúcares, nitrógeno y minerales, cubriendo las necesidades nutrimentales del microorganismo (Sadh y *col.*, 2018). Relacionado con lo anterior, se hace uso de residuos agroindustriales y subproductos de la industria de extracción de petróleo como medio de cultivo o como soporte en la FES, (Drakontis y Amin, 2020) economizando el proceso. Sin embargo, una desventaja es que esta fermentación, se limita a cierto tipo de microorganismos debido al bajo porcentaje de humedad en el sistema, siendo las levaduras y los hongos buenos candidatos para ésta dado que son organismos pluricelulares que crecen a una baja actividad de agua, (los hongos y las levaduras tienen unas necesidades de actividad del agua de entre 0.5 y 0.6 y las bacterias de entre 0.8 y 0.9) (Banat y *col.*, 2021). El contenido de humedad es, la cantidad de agua que hay en un producto. Influye en las propiedades físicas de una sustancia, como el peso, la densidad, la viscosidad y la conductividad, entre otras. Generalmente se determina por la pérdida de peso al secarse. La actividad del agua, a_w , es una medida de la cantidad de agua libre, y por tanto disponible para que los microorganismos la utilicen para su crecimiento.

Las propiedades físicas del medio también son esenciales en la FES para proporcionar un entorno adecuado para el crecimiento microbiano y la producción de metabolitos tales como el tamaño y forma de partícula, la porosidad, y la transferencia de masa y energía del soporte. Se utiliza un soporte sólido que mantiene las propiedades físicas favorables para que se produzca una adecuada transferencia de masa y de calor, permitiendo, por ejemplo, que el tiempo de residencia de la fase gaseosa permita mantener niveles de O_2 aceptables mientras es consumido por el microorganismo. También hay factores que son críticos en el proceso de SSF, como medir el pH, lo cual se dificulta en este tipo de fermentación debido a la ausencia de agua libre. Por lo tanto solo se regula utilizando sales de amonio, urea, HCl, etc, La temperatura es de suma importancia, ya que en un medio sólido hay baja conductividad térmica, por lo tanto el calor se va a acumular en el medio. Como consecuencia, se van a ocasionar gradientes térmicos que afectan el crecimiento óptimo del microorganismo y por lo tanto la producción del biosurfactante (Banat y *col.*, 2021; Pandey, 2003). Para mantener la temperatura lo más cercana a la óptima para los microorganismos, se suministra aireación; sin embargo, también se debe tener precaución y contar con un control en las tasas de aireación ya que esto va a afectar el contenido de agua en la fase sólida.

Otro factor determinante es el contenido de humedad, el cual tiene variaciones en el proceso, al verse afectado por el calor metabólico va a repercutir en el crecimiento del microorganismo y en la producción de metabolitos. Un alto nivel de humedad compacta el sustrato sólido, provoca disminución de la porosidad ya que el agua satura los poros, reduce la transferencia de O_2 , hay un mayor riesgo de contaminación bacteriana, mayor formación de micelio aéreo y reducción del flujo de gas. Por lo tanto, la humedad óptima en la FES se encuentra entre 30% – 50% (Lonsane y *col.*, 1985; Jiménez-Peñalver y *col.*, 2016).

La composición del medio de cultivo y sus propiedades físicas se deben considerar ya que al utilizar subproductos industriales, estos ya tienen una composición que provee nutrientes al microorganismo que es variable de lote a lote, y es importante garantizar una composición estándar. Por lo tanto, se debe adecuar para optimizar y cumplir con los requerimientos del microorganismo (Banat y *col.*, 2021). Jiménez-Peñalver (2017) en su investigación, demostró también que en la fermentación en medio sólido el suministro de oxígeno, el uso de grasas como sustratos la esterilización del inóculo y la implementación de un mezclado intermitente en el biorreactor, aumentan la actividad biológica y por lo tanto la producción de biosurfactantes.

La mayor parte de la investigación para este tipo de fermentación se ha hecho a escala de laboratorio, ya que los gradientes de calor, agua y gas presentes, se incrementan conforme se aumenta la escala de producción (Jiménez-Peñalver, 2017). Para tratar este problema a nivel industrial se utilizan dos mecanismos: enfriamiento con evaporación de agua y agitación, encareciendo el proceso. Otros problemas que se presentan al escalar el proceso es la recuperación del producto de manera que sea amigable con el ambiente, debido a la necesidad actual del uso de solventes (Parekh y Pandit, 2012), por lo que es necesario proponer otros métodos que a la vez economicen el proceso de recuperación.

La principal razón de la falta de biorreactores de fermentación en medio sólido a escala industrial es la ausencia de modelos matemáticos eficientes que respalden los diseños de los biorreactores y el sistema de control automatizado que podría representar y superar con éxito la heterogeneidad con respecto a las transferencias de calor y masa (Arora y *col.*, 2018; Banat y *col.*, 2021). Estos modelos deben describir los fenómenos de transporte dentro del lecho de sustrato y los intercambios de masa y energía entre el lecho y los demás subsistemas del biorreactor. También deben describir la cinética del crecimiento microbiano, y cómo éste se ve afectado por las condiciones ambientales (Mitchell y *col.*, 2003). Todos estos elementos en los modelos son necesarios para optimizar el

funcionamiento de los biorreactores. Además, pueden proporcionar información sobre los diversos fenómenos dentro del sistema de fermentación para controlar el rendimiento general del proceso.

4.8 Modelado matemático

Los modelos matemáticos se han considerado el lenguaje en el que las teorías científicas se plantean, estas son traducidas a lenguaje matemático y dependiendo de su complejidad se complementan con el uso de ordenador y simulaciones. Los modelos matemáticos se pueden clasificar en empíricos y mecanicistas. Estos últimos, se centran en la cuestión de cómo un proceso global como el crecimiento, puede verse limitado por acontecimientos que ocurren a nivel de partículas individuales, y se utilizan para representar el crecimiento microbiano y sus procesos bioquímicos. Sin embargo, cuando se desconoce el mecanismo que gobierna el proceso, se utilizan empíricamente funciones matemáticas y la idoneidad del modelo se evalúa a partir de su capacidad para ajustarse a los datos experimentales basándose en criterios estadísticos (Moussa y *col.*, 2010). La mayoría de los modelos actuales de biorreactores son modelos cinéticos empíricos, ya que la heterogeneidad dentro de muchos biorreactores significa que el submodelo de equilibrio/transporte ya es bastante complejo (Mitchell y *col.*, 2004). Otra forma de clasificar el modelado de bioprocesos, es de acuerdo al conocimiento previo del proceso y de acuerdo con la cantidad de información adicional que brindan sobre el fenómeno. Se clasifican en fenomenológicos o de caja blanca: Sus principios de formulación son la ley de conservación y la ley de causalidad (ley de gradiente). Empíricos o de caja negra como ya se mencionó en párrafos anteriores y la combinación de fenomenológicos y empíricos o de caja gris. Dependiendo de la información adicional que brinden se agrupan en explicativos, descriptivos y puramente predictivos (Ortega y *col.*, 2017). Cada modelo matemático debe implicar hacer suposiciones, esto va a otorgarle simplicidad. Sin embargo, debe de mantener cierto nivel de complejidad el cual es otorgado por las consideraciones que se hagan sobre el modelo, como qué procesos incluir o cuáles se pueden simplificar (Amani, 2018), con el fin de que al resolverlo, los resultados se asemejen a los experimentales.

4.8.1 Modelado matemático y transferencia de masa en la producción de biosurfactantes

Dado que las materias primas en cualquier proceso contribuyen hasta el 75 % del costo total de producción, utilizando sustratos más económicos o provenientes de desechos agroindustriales

se pueden disminuir estos costos. Daverey y Pakshirajan (2009) utilizaron un medio fermentativo de bajo costo compuesto por melaza de caña y aceite de soya. Ajustaron algunos modelos cinéticos existentes en la literatura los cuales son esencialmente modelos logísticos no estructurados propuestos originalmente por Mercier y col. (1992) para describir la cinética del crecimiento de la biomasa, el consumo de sustrato y la acumulación de productos. Así optimizaron el efecto de diversas variables físicas y químicas que influyen en la producción de soforolípidos, utilizando la técnica de diseño experimental y un arreglo ortogonal. Se demostró que la agitación tiene un mayor efecto sobre la producción de soforolípidos que la concentración de sustratos, la edad del inóculo y la temperatura. Una vez optimizados los modelos, se modeló el tiempo de producción de soforolípidos, crecimiento de biomasa y consumo de sustratos con el objetivo de estimar las constantes biocinéticas en el proceso. Los parámetros cinéticos estimados a partir de estos modelos sugirieron que el medio convencional que contiene glucosa podía sustituirse por el medio fermentativo de bajo coste ya que se obtuvieron mayores rendimientos de producción.

Moussa y col. (2010) ajustaron un modelo logístico a datos experimentales para estimar el crecimiento de biomasa, la producción de biosurfactante y el consumo de sustrato a partir del crecimiento del microorganismo *Nocardia amarea*, utilizando como fuente de carbono el aceite de oliva en una fermentación sumergida. Con este modelo se describió la tasa de cambio en el crecimiento de biomasa considerando la fase exponencial y estacionaria. En el caso del rendimiento de producto se incluyó el coeficiente de mantenimiento (k_e) que tiene en cuenta el consumo de sustrato para el sustento y la viabilidad de la célula y otras actividades celulares como la asimilación, la producción de enzimas, la movilidad, etc. Ya que la formación de producto, en este caso biosurfactante está relacionada con el crecimiento de los microorganismos según la clasificación de Gaden, se consideraron dos coeficientes: α y β , que representan al coeficiente de formación de biosurfactantes y el coeficiente de correlación de no crecimiento, respectivamente. La precisión del modelo matemático se evaluó comparando las soluciones analíticas ajustadas con los datos medidos; el modelo dio una representación satisfactoria del crecimiento de la biomasa.

Rodrigues y col. (2006) llevaron a cabo el estudio de la capacidad de producción de biosurfactantes de cuatro cepas de *Lactobacillus*. Al igual que con la levadura *Starmerella bombicola*, la producción de biosurfactantes con este microorganismo puede producirse o estimularse en condiciones de crecimiento limitadas. Se modelaron los tiempos de consumo de la glucosa, producción de biomasa y de biosurfactante basándose en un modelo logístico propuesto anteriormente por

(Mercier y *col.*, 1992) ya que describe con fidelidad el crecimiento de la biomasa, el consumo de sustrato y el patrón cinético de acumulación de productos. Para las cuatro cepas de *Lactobacillus*, se encontró que los modelos eran adecuados para describir la respuesta de los experimentos relativos al consumo de glucosa, el crecimiento celular y la producción de biosurfactantes. Los modelos se validaron comparando los valores observados y los predichos, y se encontró una desviación de aproximadamente el 5%. El procedimiento de modelado permitió una mejor caracterización de la producción de biosurfactantes entre las diferentes cepas estudiadas mediante la determinación de los parámetros de fermentación pudiendo elegir de entre las cuatro cepas la que dio mayor producción.

Alcon y *col.* (2004) desarrollaron un método cuantitativo mediante citometría de flujo para medir la cantidad de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en el compuesto intracelular de la levadura *S. bombicola*. Se realizaron mediciones por medio de este método de los compuestos intracelulares mencionados. Estas mediciones adquiridas durante el crecimiento de *S. bombicola*, se emplearon para el desarrollo de una cinética de crecimiento estructurada. Se estableció que la biomasa formada es la suma de estos tres compuestos intracelulares. Para el desarrollo del modelo, se implementó un esquema de reacciones simplificadas de acuerdo con los datos experimentales de las tasas de producción de los compuestos intracelulares. Una vez establecidas las 3 tasas de reacción, se propusieron 3 ecuaciones cinéticas respectivamente y una más para el consumo de glucosa, teniendo en cuenta que la producción de los compuestos son dependientes del tiempo y las tasas de producción están en función del consumo de nitrógeno y concentración de biomasa. El modelo de la cinética de crecimiento fue ajustado con datos experimentales utilizando un método no lineal utilizando el algoritmo de Marquardt y se hizo la integración de las ecuaciones para posteriormente resolverlas utilizando el método numérico de cuarto orden de Runge-Kutta. Este modelo describe que la biomasa está formada por los 3 compuestos intracelulares, ajustándose con un error $< 4\%$ a los datos experimentales.

Jiménez-Peñalever (2017) estudió y optimizó la producción de soforolípidos a partir de fermentación en medio sólido mediante la optimización de la tasa de aireación y la relación de sustratos. Se obtuvo una ecuación polinomial que describe el rendimiento de soforolípidos y está en función de los dos parámetros optimizados. Este modelo cuadrático demostró que el aumento de la tasa de aireación y de la proporción de sustratos tuvo un efecto positivo en el rendimiento de soforolípidos. Lo que sugirió que las grasas utilizadas como sustratos y el suministro de oxígeno son clave para la

producción de soforolípidos.

4.8.2 Importancia y transferencia de masa del O₂ en la producción de biosurfactantes

Como ya se mencionó, la mayor parte de los estudios de la producción de biosurfactantes se han hecho a nivel laboratorio, por esto, hay una falta de conocimientos sobre la producción de biosurfactantes a una escala mayor. Una de las demandas más fundamentales de la industria es el desarrollo de estrategias de control para mantener el proceso en condiciones óptimas, lo que puede aumentar significativamente la productividad. El objetivo de diversos investigadores ha sido encontrar las condiciones óptimas de producción para aumentar el rendimiento de biosurfactantes, en este caso soforolípidos y disminuir los costos de operación. La producción de biosurfactantes microbianos requiere el desarrollo de biorreactores que permitan un suministro suficiente de oxígeno y en caso de ser una fermentación en estado líquido se necesita un control de la espuma que se produce. Optimizar el proceso de producción de biosurfactantes implica entender la influencia de las condiciones hidrodinámicas en el biorreactor (Fahim y col., 2013). En los bioprocesos aerobios, el oxígeno es un sustrato clave, ya que es un nutriente importante que utilizan los microorganismos para crecer, el mantenimiento y la producción de metabolitos. Por lo tanto, la escasez de esta especie química afecta al rendimiento del proceso (García-Ochoa y Gómez, 2009). La transferencia de oxígeno suele ser el paso limitante en los bioprocesos aerobios debido a la baja solubilidad de esta molécula en el medio. Por lo tanto, una correcta medición y/o predicción del coeficiente de transferencia de masa volumétrica, (K_La) gas-líquido, es un paso crucial en el diseño, funcionamiento y escalado de los biorreactores. La determinación de K_La en los biorreactores es esencial para establecer la eficiencia de la aireación y cuantificar los efectos de las variables de operación en el suministro de oxígeno disuelto (García-Ochoa y Gómez, 2009). Las células de las levaduras son muy sensibles a la limitación de oxígeno durante su crecimiento exponencial, por esto es importante contar con las condiciones óptimas de aireación para obtener el mayor rendimiento en la producción del metabolito de interés (Bogaert y col., 2007). Fahim y col. (2013) estudiaron el efecto del coeficiente K_La en el funcionamiento de un biorreactor de lecho fluidizado inverso de 3 fases (TPIFB) para la producción de biosurfactante a partir de la inmovilización de *Bacillus subtilis*. Resaltaron la influencia de los principales parámetros sobre el K_La como la tensión superficial del medio, la velocidad del gas (U_G) la velocidad del fluido (U_L), y la presencia de partículas sólidas en el biorreactor y propusieron una ecuación monomial que correlacionara K_La en función de estos

4 parámetros. Los valores experimentales y calculados de k_La con la correlación propuesta fueron similares, (desviación media del 6.0%). Los resultados obtenidos confirmaron que el efecto de la presencia de partículas sobre K_La era despreciable respecto a los demás parámetros. Además con esta correlación se pudo estimar la evolución de K_La durante la producción del biosurfactante con solo hacer medidas de la tensión superficial. El hecho de que dedujeran una ecuación adecuada permitió medir todas las variaciones de K_La , en cualquier etapa de la fermentación real demostrando que la tensión superficial era el parámetro que debía monitorearse para controlar con precisión el proceso de fermentación.

La absorción de O_2 en la biomasa microbiana en los sistemas de fermentación sólida ha recibido especial atención ya que la transferencia de masa de O_2 en los sistemas de crecimiento microbiano aerobio suele ser un factor limitante para el óptimo crecimiento y productividad. Thibault y *col.* (2000) utilizaron un modelo de difusión y reacción del O_2 para comparar la tasa de transferencia del O_2 en la superficie de la interfase de la biopelícula y dentro de ella. En la FES, se utiliza un lecho empacado de partículas de sustrato sólido húmedo para el crecimiento microbiano. Los microorganismos crecen dentro o en la superficie de las partículas sólidas, que están rodeadas por una fina película de líquido. Debido a la relativamente escasa cantidad de líquido en el entorno de crecimiento, los microorganismos están en estrecho contacto con el oxígeno gaseoso que fluye en el espacio vacío del lecho compacto. Por lo tanto, el coeficiente y las tasas de transferencia de masa de oxígeno podrían ser mas elevadas en la FES que en la FmL. Por este motivo, utilizaron un coeficiente de conductividad de biopelícula análogo al K_La utilizado en la FmL: kFa . Ese coeficiente representa la relación entre la difusividad del O_2 disuelto dentro del biopelícula y el grosor de ésta. Esto es necesario porque, a diferencia de la fermentación sumergida, en la fermentación sólida no hay una fase líquida mezclada uniformemente al otro lado de la interfase gas-líquido y, por lo tanto, es la difusión a través de la biopelícula el paso limitante en la transferencia de O_2 y depende en gran medida del espesor de la biopelícula.

Considerando la importancia del O_2 en sistemas aerobios y la necesidad de producir biosurfactantes a una escala mayor que la de laboratorio Amani (2018), describió métodos dinámicos para obtener datos escalables de los fermentadores aerobios. Desarrolló el escalamiento de la producción de los ramnolípidos en un reactor de 2.5L a 20L. basado en el coeficiente de transferencia de masa K_La . Ya que conforme se escala un proceso, aumenta el costo y ocupa más tiempo determinar las condiciones óptimas de operación el objetivo y la importancia de hacer una técnica de escalamiento

es poder mantener las condiciones óptimas basadas en una escala menor. En este caso se determinaron estas condiciones en un biorreactor de 2.5L, específicamente la velocidad de agitación y la tasa de aireación. Finalmente, en condiciones óptimas, se midió el coeficiente volumétrico de transferencia de masa de la fase líquida, K_La al cual se obtuvo el mayor rendimiento de producción de biosurfactantes, mediante un método dinámico en el fermentador. Para el modelo se hacen las siguientes suposiciones: en la reoxigenación el sistema está en un estado no estacionario y se supone que el coeficiente K_La es constante respecto al tiempo (Kshirsagar y col., 2012; Amani, 2018). Una vez planteado el modelo, se calculó K_La y este valor se mantuvo constante para realizar el escalamiento en un biorreactor de 20L. Encontraron los valores de la velocidad de agitación y la tasa de aireación a los cuales se obtuvo el mismo valor de K_La de la escala anterior. Al tener estas condiciones, se monitoreó el crecimiento de biomasa y producción de biosurfactante y se observó una tendencia similar e incluso se obtuvo un mayor rendimiento en la producción de ramnolípidos. De acuerdo con los resultados obtenidos, este método es una herramienta útil para el éxito del escalado de la producción de biosurfactantes y, posteriormente, para la determinación de las condiciones óptimas a gran escala constante manteniendo constante K_La , parámetro que desempeña un papel importante en la realización del diseño, el escalado y la economía del proceso.

4.8.3 Modelado matemático en FES

Se han descrito varios modelos cinéticos en los sistemas de fermentación en estado sólido, entre ellos el modelo lineal, el exponencial, el logístico y el de aceleración rápida-deceleración lenta. Todos estos modelos son empíricos, es decir, son ecuaciones que se ajustan a los perfiles de crecimiento experimentales mediante una regresión no lineal (Mitchell y col., 2004). Los modelos matemáticos de los biorreactores FES suelen utilizar la ecuación logística, ya que da una aproximación adecuada de toda la curva de crecimiento, incluyendo la fase de latencia y el cese del crecimiento en las últimas etapas de la fermentación. Ninguno de los modelos cinéticos mencionados incluyen el efecto de la concentración de nutrientes en el crecimiento. Para ello sería necesario modelar los procesos de difusión intrapartícula, es decir, proponer modelos mecanicistas.

Mitchell y col. (2004) realizaron una revisión de los avances en el modelado de la cinética de crecimiento microbiano y de los fenómenos intrapartícula en la fermentación en estado sólido. Después de esta revisión, notaron que podía ser difícil realizar estudios experimentales de crecimiento para determinar las ecuaciones cinéticas y sus parámetros. Es por ello, que muchos de los estudios

cinéticos realizados para determinar el modelo matemático se llevan a cabo en sistemas artificiales que permiten la medición de la biomasa microbiana, o bien se llevan a cabo en el sistema real pero utilizando mediciones indirectas del crecimiento. Sin embargo, estos dos tipos de mediciones pueden presentar problemas: la cinética de crecimiento en sistemas artificiales puede no reflejar la cinética en el sistema real, mientras que las mediciones indirectas pueden ser difíciles de interpretar. Un ejemplo es el modelado de la cinética de muerte de los microorganismos en el biorreactor de fermentación sólida. Este fenómeno es difícil de cuantificar experimentalmente, por lo que se buscó describir empíricamente las curvas de crecimiento. Ikasari y *col.* (1999) definieron un coeficiente de muerte de primer orden a partir del modelo de desaceleración (k). Este modelo se aplicó a los perfiles de crecimiento obtenidos a diferentes temperaturas, obteniendo k como función de la temperatura. Aunque se obtuvo un modelo empírico, se basó en consideraciones de procesos de crecimiento a microescala que potencialmente podrían ser investigados en otros proyectos.

Se han propuesto una serie de modelos que, a diferencia de aquellos de muerte celular y crecimiento que ofrecen descripciones empíricas de las curvas de crecimiento observadas, intentan describir cómo el crecimiento puede verse afectado por otros elementos como la difusión intrapartícula de O_2 , presencia de enzimas, productos de hidrólisis y otros nutrientes (Mitchell y *col.*, 2004). Rajagopalan y Modak (1995) desarrollaron un modelo compuesto por dos términos, el primero describía la difusión de una enzima dentro del sustrato, en este caso almidón, y el segundo término se obtuvo a partir del modelo de Michaelis-Menten para describir la hidrólisis del almidón a glucosa una vez que la enzima se encontraba dentro de la partícula del sustrato. En sus consideraciones tomaron en cuenta la difusión de O_2 y dieron una estructura a la biomasa microbiana, tratándola como una biopelícula húmeda de densidad constante. Se propuso una segunda ecuación que describía el proceso de difusión y consumo de la glucosa a través de la biopelícula y una tercera ecuación que describía la difusión y reacción del O_2 dentro de la biopelícula, donde se supuso que no cruzaba la interfase gas-sólido. Este modelo se utilizó para demostrar que, para este sistema, la limitación de O_2 era un problema más grave para el microorganismo que la limitación de glucosa.

4.8.4 Modelado matemático de biopelículas

La formación y uso de biopelículas ha llevado a los ingenieros la necesidad de comprender cómo se desarrollan los microorganismos en ella y cómo funciona. Se ha convertido en una herramienta empleada a través de estrategias bioquímicas para producir resultados positivos y

obtener su mayor provecho. Un entorno que es manipulado para la formación de biopelículas se considera un biorreactor, el cual se rige por los principios fisicoquímicos y biológicos para su ingeniería y funcionamiento (Eberl y Wade, 2020). El modelado matemático en las biopelículas es una herramienta útil que se ha utilizado para mejorar estos dos aspectos, y permite comprender los procesos que son difíciles de observar *in situ* o que empíricamente no se pueden probar. Los modelos y sus simulaciones pueden utilizarse para la predicción cuantitativa, el control y la optimización de los biorreactores. También pueden ser herramientas de ayuda para determinar variables físicas que no se pueden medir directamente por la complejidad del sistema. Los procesos de transformación y transporte son fundamentales para el desarrollo de modelos de biopelículas y dependen en gran medida del conocimiento bioquímico del sistema. De hecho, en los últimos años se comenzó a estudiar como un sistema viscoelástico que se deforma y no como un sistema rígido, forma en la cual se consideró por muchos años (Horn y Lackner, 2014). Horn y Lackner (2014) hicieron un estudio de los modelos tradicionales de biopelículas. En todos estos modelos se acoplan los fenómenos de difusión y reacción, la dinámica poblacional y la estructura de la biopelícula, el transporte de masa y el efecto de desprendimiento en la biopelícula, efecto que no siempre fue considerado pese a ser de gran importancia.

Uno de los modelos más utilizados para este sistema es el de Gujer y Wanner (1989), que consta de una ecuación diferencial que describe el balance de masa de cada componente que conforma la biomasa. El resultado de los estudios de simulación del modelo se rige principalmente por la cinética de las especies químicas implicadas. Los parámetros cinéticos del modelo son establecidos a partir de otros trabajos experimentales disponibles que se han realizado. Estos resultados pueden ser parcialmente predecibles ya que la mayoría de los procesos dinámicos tienen un comportamiento lineal. Sin embargo, estos resultados se complican al considerar el efecto de desprendimiento en la biopelícula. Debido a que se conocía muy poco sobre los mecanismos biológicos envueltos, se hicieron suposiciones sobre este efecto, como un grosor constante de la biopelícula y se consideró el esfuerzo de corte, el cual al aumentar, contribuye de forma significativa al desprendimiento de los microorganismos.

El modelado en biopelículas es complicado debido a varios factores, ya que es un sistema heterogéneo, existen gradientes de sustratos. Son sistemas dinámicos, es decir, se va desarrollando con el tiempo. En la mayoría de los casos hay presentes múltiples especies microbianas y multisustratos. Debido a esto, representa un reto formular y resolver numéricamente el modelo, Además,

el resultado del modelo depende en gran medida de dónde se encuentran las diferentes especies y en qué concentración (Horn y Lackner, 2014; Eberl y Wade, 2020). un modelo de biopelícula que intente capturar toda la complejidad tendría que incluir: (i) Ecuaciones de balance de masas para todos los procesos que ocurren para todos los componentes en todas las fases e interfases, (ii) Ecuaciones de continuidad y momento para el fluido en todas las fases, (iii) Condiciones definidas para todas las variables en todos los límites del sistema. La aplicación de un modelo de este tipo es poco práctica, incluso imposible. Por ello, incluso los modelos de biopelículas más complejos que existen en la actualidad contienen muchas suposiciones simplificadoras. La mayoría de los modelos de biopelículas actuales sólo capturan una pequeña fracción de la complejidad total de un sistema de biopelículas (on Biofilm Modeling, 2006),

Es por eso que Eberl y Wade (2020) en su estudio ofrecen una visión general del modelado matemático que se utilizan habitualmente para construir una representación de biorreactores de biopelícula, donde se hace notar que estos son estudiados como un sistema en conjunto. A diferencia de los modelos deducidos anteriormente, estos autores consideraron por separado el biorreactor y la biopelícula, ya que este último es un sistema heterogéneo donde se forman gradientes de sustrato. Por lo tanto, consideraron necesario hacer un modelo para la biopelícula y después incorporarlo al modelado del biorreactor. Para la biopelícula se consideró el modelo de Wanner-Gujjer para una biopelícula nitrificante; siguiendo a dos especies distintas que crecen según la cinética de Monod, se puede probar que solo la especie con menor requerimiento nutricional sobrevivía. Los procesos clave del modelo de la biopelícula son el crecimiento bacteriano debido al consumo de sustrato, la difusión de sustratos y metabolitos disueltos, así como su degradación y producción, la pérdida de biomasa hacia la fase acuosa por desprendimiento y el grosor del biofilm. Una vez modelado el desarrollo de la biopelícula, Eberl y Wade (2020) juntaron características del modelo desarrollado para un quimiostato para explicar cómo se da el transporte de masa en el biorreactor, siendo el planteamiento de los balances de masa para los sustratos en el biorreactor similares a los balances de un quimiostato.

4.8.5 Modelado multiescala de sistemas biológicos

En esta sección se revisan algunos trabajos relacionados con la deducción de modelos de medio efectivo para describir la transferencia de masa en sistemas biológicos usando el método del promedio volumétrico (Whitaker, 1999a). En este contexto, se entiende por modelo de medio

efectivo a una ecuación de transporte válida a un cierto nivel de escala en donde no se distingue entre las diferentes fases involucradas pero que captura la información esencial del transporte en el nivel de escala inferior (Valdés-Parada, 2021). A este tipo de modelos también se les conocen como modelos pseudo-continuos en la literatura típica de ingeniería. Aunque el modelado de los fenómenos de transporte en sistemas biológicos puede llevarse a cabo por una amplia variedad de metodologías (Truskey y *col.*, 2004), en esta sección se limita la revisión a aplicaciones del método del promedio volumétrico ya que esta es la técnica de escalamiento que se utiliza en este trabajo.

El primer trabajo dedicado al modelado de la transferencia de masa en sistemas biológicos usando el método del promedio volumétrico fue llevado a cabo por Ochoa-Tapia y *col.* (1986) quienes estudiaron el fenómeno de difusión y reacción en sistemas celulares. En su análisis propusieron que la transferencia de masa se da por difusión dentro y fuera de la célula y que el consumo de especies ocurre únicamente dentro de la célula siguiendo una cinética de primer orden. En la membrana celular se impuso una condición de frontera de continuidad del flux difusivo y además se consideraron resistencias a la transferencia de masa en términos de la permeabilidad de la membrana. Al aplicar el método de promedio volumétrico obtuvieron una ecuación que describe el transporte de masa a escala macroscópica, bajo la hipótesis de equilibrio local másico, con la cual es posible modelar el transporte dentro y fuera de las células. El modelo incorporó términos de acumulación, transporte por difusión efectiva y reacción. Más aún, el coeficiente de difusión efectiva se pudo predecir de manera analítica y numérica a partir de la solución del problema de cerradura asociado. Estos autores reportaron predicciones en términos de la razón de los coeficientes de difusión dentro y fuera de las células, el número de Biot y la fracción volumétrica de células. Como es de esperarse, encontraron que si aumenta el número de Biot, el coeficiente de difusión efectiva también aumenta.

La aportación de Ochoa-Tapia y *col.* (1986) fue continuada a finales del siglo pasado por Wood y Whitaker en una serie de trabajos. El primero fue dedicado específicamente a biopelículas (Wood y Whitaker, 1998); considerando la bicapa de la membrana celular y mecanismos acarreadores que transportan las especies químicas, y consideraron una cinética de tipo Michaelis-Menten en la reacción intracelular. La aportación principal de este trabajo es que consideran aspectos más realistas de sistemas celulares; sin embargo, se ignoró la dependencia de la difusividad efectiva con la reacción, además que no se consideró la presencia de organelos en las células. El modelo fue deducido bajo la suposición de equilibrio local másico y su estructura matemática es la misma

que la de Ochoa-Tapia y *col.* (1986). En un segundo trabajo, Wood y Whitaker (1999) extendieron el análisis para considerar diversas especies químicas, en particular el sustrato y el oxígeno cuyo consumo resulta acoplado mediante el término de reacción, en general. Un aspecto sobresaliente de su análisis es que consideraron el proceso de respiración endógena de oxígeno en las células. Sin embargo, en sus cálculos no consideraron la presencia de organelos, sino que supusieron que los procesos de transporte y reacción intracelulares son homogéneos en la célula, lo cual no siempre está justificado. Esta debilidad en el modelado se atiende en el presente trabajo de investigación. En el tercer trabajo de esta serie, Wood y Whitaker (2000) acoplaron el transporte y reacción de cada una de las especies químicas involucradas en una célula para desarrollar un modelo que fuera capaz de predecir el crecimiento celular. Desarrollan el principio de conservación de masa con un término que implica la transferencia de masa total dentro de la célula pudiendo considerar la mitosis, y otro término que implica la transferencia de masa dentro de la región de promediado. El modelo final puede usarse para predecir la densidad celular a partir del conocimiento de la tasa de consumo de sustrato y de oxígeno. Sin embargo, su modelo tiene un parámetro ajustable para tomar en cuenta el movimiento y deformación de las células.

Más adelante, Golfer y *col.* (2009) elaboran un modelo de equilibrio local másico a una escala mayor que la escala celular estudiada previamente por Wood y Whitaker (2000). A este nivel de escala superior, se estudió un medio poroso que contiene a la biopelícula adherida en su superficie, la cual se modela con las ecuaciones deducidas en trabajos anteriores. De esta forma, afuera de la biopelícula se considera que el transporte de masa se da por convección y difusión, mientras que dentro de la biopelícula el transporte se da solo por difusión. Esta notable diferencia con el análisis en el nivel de escala celular se tradujo en que el modelo resultante (el cual se basó en la suposición de equilibrio local másico) sólo fuera aplicable cuando los efectos convectivos fuera de la biopelícula fueran despreciables respecto al transporte por difusión y cuando la tasa de reacción intracelular no fuera mayor que la tasa de transporte por difusión en las biopelículas.

Para atender las limitaciones que involucra el modelo de equilibrio, Davit y *col.* (2010) desarrollaron un modelo de no equilibrio y de una sola ecuación el cual es igual de práctico que el modelo de equilibrio pero involucrando menos suposiciones. Esto se tradujo en un mayor campo de aplicabilidad de esta nueva propuesta respecto al modelo de equilibrio. A pesar de lo anterior, vale la pena mencionar que los pasos a seguir para el desarrollo de los modelos de medio efectivo (incluso de equilibrio) son complicados y el desarrollo de la teoría ciertamente es deseable hacerlo

de formas alternativas más simples, sin que esto se traduzca en una pérdida de precisión del modelo. Este punto es tomado en cuenta en la presente investigación.

Más recientemente, de los Santos *y col.* (2016) replantearon el análisis iniciado por Ochoa-Tapia *y col.* (1986) y consideraron por primera vez la presencia de diversas especies celulares en sistemas biológicos. En específico, consideraron poblaciones celulares proliferantes, quiescentes y necróticas, en donde solo hay procesos metabólicos en las primeras dos. Además, se mostró cómo la presencia de diferentes poblaciones celulares afecta la predicción del coeficiente de difusión efectiva, la cual se predijo de manera exacta numéricamente y de manera aproximada con una expresión analítica.

Entre los antecedentes más directamente relacionados al presente trabajo, se encuentra el estudio de García-Ochoa y Casas (1999), quienes consideraron tres variables en el desarrollo de su modelo que fueron: biomasa, azúcar (glucosa) y soforolípidos. El modelo es de tipo *a posteriori*, pues requiere de información experimental para su desarrollo, lo cual es contrario a los otros trabajos reportados en los párrafos anteriores de esta sección, los cuales son *a priori*. En el modelo cinético que proponen, el nitrógeno del extracto de levadura es el nutriente limitante del crecimiento de la levadura, la glucosa se utiliza tanto en el crecimiento como en la producción de soforolípidos, y el aceite se utiliza en la formación de soforolípidos. Los parámetros del modelo cinético se estiman ajustando el modelo a los datos experimentales empleando una técnica de regresión no lineal.

Por último, en el trabajo de Benítez *y col.* (2016) se desarrolló un modelo matemático para la obtención de bioetanol en bioreactores de fermentación en estado sólido considerando bagazo como soporte. Los modelos de transporte se dedujeron a partir de la escala de poro (dentro del bagazo) hasta el nivel de escala del bioreactor usando el método del promedio volumétrico bajo la hipótesis de equilibrio local másico. A cada nivel de escala se resolvieron los problemas de cerradura asociados en celdas periódicas bidimensionales al igual que varios de los trabajos previamente mencionados en esta revisión. El modelo a escala del reactor se validó mediante comparaciones con resultados experimentales. Por lo anterior, este trabajo es de especial interés para el presente estudio pues la metodología de trabajo multiescala delineada por estos autores se conservará en el presente estudio. Sin embargo, es deseable considerar que en los sistemas experimentales prácticos, el uso de celdas bidimensionales puede ser cuestionable, por lo que en este trabajo se relajará dicha suposición y se considerarán estructuras tridimensionales. Además, la forma de desarrollar los modelos matemáticos ciertamente puede mejorarse y abreviarse para hacerlo accesible a muchas más personas que no sean necesariamente especialistas del método del promedio volumétrico.

4.9 Método experimental para la medición de O₂

La disponibilidad de oxígeno es de suma importancia para el aprovechamiento de sustratos durante la producción de soforolípidos. Para poder validar el modelo matemático descrito en este trabajo, se cuentan con datos experimentales obtenidos por el proceso de oximetría para medir el consumo de O₂. Marín (2021) llevó a cabo ensayos experimentales en botellas de 1 L de capacidad con tapas adaptadas con dos orificios para la conexión de las líneas de entrada y salida de gases. El soporte impregnado con el medio de cultivo e inoculado con la levadura, se introdujo en los biorreactores sin compactarlo y se operó el sistema bajo condiciones isotérmicas. Se utilizó un metabolímetro descrito en la patente 336733 desarrollada por Saucedo y *col.* (2013), el cual se trata de un sistema para medir CO₂ y O₂ en corrientes gaseosas provenientes de procesos biológicos (fermentación en medio sólido, entre otros). Este sistema se basa en una metodología para el monitoreo en línea, lo que permite el análisis y la toma de decisiones en tiempo real. El equipo registró mediciones de CO₂ y O₂ del gas de salida y entrada en intervalos de 40 minutos para cada unidad experimental. Se obtuvieron 140 mediciones en el lapso entre el inicio y el fin del cultivo en medio sólido.

En el trabajo de Pedraza y *col.* (2022), se determinó por estudios de respirometría en tiempo real la tasa de generación de CO₂ durante la producción de soforolípidos por la levadura *S. bombicola* ATCC 22214 en una fermentación en estado sólido. Este método patentado permite tomar decisiones en tiempo real sin perturbar el cultivo. En este trabajo, se observó un aumento inminente de la tasa de producción de CO₂, seguido de un rápido descenso que se estabilizó en una meseta para caer posteriormente. Este fue el comportamiento común observado en muchas de las fermentaciones productivas. También se mostró que la tasa de consumo de O₂ es similar a la tasa de producción de CO₂ durante los primeros días de incubación. Después, se observó un mayor consumo de O₂ respecto a la producción de CO₂ dando como resultado una disminución en el coeficiente respiratorio. En este trabajo se consideró que la producción de CO₂ era una variable del proceso que determina el momento de máxima producción de soforolípidos. También, se modeló la cinética de producción de soforolípidos, y el consumo de sustratos. A partir de los datos experimentales, se propusieron dos ecuaciones diferenciales cinéticas de decrecimiento de primer orden modificadas para el consumo correspondiente de glucosa y de aceite y una tercera que sigue una cinética de Gompertz para la producción de soforolípidos. Las observaciones descritas en los párrafos

anteriores son relevantes para este proyecto pues constituyen los datos experimentales con los que se valida el modelo final del proyecto.

5. Justificación e hipótesis

5.1 Justificación

En el capítulo anterior se expuso la relevancia que tiene el estudio de soforolípidos, la poca información que hay sobre su producción en una fermentación en medio sólido y la necesidad que se tiene de llevarlos a una producción industrial. En este sentido, el desarrollo de modelos matemáticos es una valiosa ayuda pues, tras ser validados, permiten encontrar los parámetros determinantes para la transferencia de masa y proponer las condiciones de diseño y operación más favorables, sin la necesidad de llevar a cabo numerosos experimentos. Esto junto con el método de obtención de los soforolípidos puede ofrecer un mercado de biosurfactantes económicamente competitivo. Además, en la revisión de los trabajos teóricos en sistemas biológicos se encontró la necesidad de: 1) considerar la presencia de organelos en el modelado al nivel de escala celular, 2) considerar geometrías tridimensionales en la solución de los problemas de cerradura asociados a la predicción de los coeficientes de transporte y 3) encontrar metodologías de deducción de modelos más sencillas que las reportadas en la literatura. Estos puntos son atendidos en el presente trabajo, el cual está enfocado a la transferencia de masa asociada en la producción de soforolípidos al nivel de escala de biopelículas. Ya que esta porción del sistema determina el desempeño del sistema en otros niveles de escala.

5.2 Hipótesis

Es posible deducir un modelo matemático a escala celular a partir del escalamiento de las ecuaciones que gobiernan la transferencia de masa por difusión y reacción a escala subcelular haciendo las suposiciones pertinentes.

6. Pregunta de investigación y objetivos

6.1 Pregunta de investigación

¿Es posible modelar matemáticamente la transferencia de masa y reacción de los soforolípidos y O_2 en un sistema celular mediante el promediado y escalamiento de las ecuaciones de transferencia de masa a nivel de escala celular?

6.2 Objetivo general

Desarrollar modelos matemáticos a escala celular que describan la transferencia de masa en la biopelícula involucrada en la producción de soforolípidos por la levadura *Starmerella bombicola* ATCC 22214 y que sirvan como herramienta para definir las mejores condiciones para el microorganismo .

6.3 Objetivos específicos

1. Desarrollar ecuaciones de medio efectivo que representen la transferencia del O_2 y soforolípidos al nivel de escala celular (biopelícula) e intrafibras, considerando diferentes casos y que ayuden a predecir la producción de soforolípidos y el consumo de O_2 por la levadura *Starmerella bombicola* ATCC 22214.
2. Una vez desarrolladas las ecuaciones de medio efectivo, predecir los valores de los coeficien-

tes de transporte del O_2 y soforolípidos en la biopelícula utilizando el método de elemento finito con el programa informático Comsol Multiphysics.

3. Realizar un análisis paramétrico de los coeficientes y variables involucradas en el modelo que tienen mayor influencia sobre la transferencia de masa por transporte difusivo, para cuantificar el efecto que tienen sobre la difusión de las especies en estudio.
4. Validar los modelos deducidos a nivel de escala celular utilizando el método de simulación numérica directa (DNS) para asegurar que el desarrollo del método de promediado es aplicable.

7. Metodología

En esta sección se aclaran algunas definiciones importantes para una mejor comprensión del vocabulario utilizado en las siguientes secciones y que facilite la descripción del sistema que se va a estudiar y en el que se va a llevar a cabo el modelado matemático. También se describen las estrategias de modelado que se seguirán para cumplir con cada objetivo particular.

7.1 Glosario

- **Biopelícula:** Capa de células procariotas y eucariotas ancladas a una superficie del sustrato e incrustada en una base orgánica de origen biológico. (on Biofilm Modeling, 2006)
- **Escalamiento:** proceso de filtrado de información para pasar de un nivel de escala a otro (Valdés-Parada, 2021).
- **Soforolípidos:** Compuestos tensioactivos sintetizados como metabolitos secundarios por un número seleccionado de especies de levadura. En este proyecto se manejan como una mezcla de formas lactónicas y ácidas e isómeros, con diferentes longitudes en la cadena hidrofóbica.
- **Promediado:** Método que se basa en suavizar espacialmente las ecuaciones que gobiernan los fenómenos de transporte. Se aplica un operador de integración (Whitaker, 1999b).
- **Modelo de medio efectivo:** ecuación de transporte válida a un cierto nivel de escala en donde no se distingue entre las diferentes fases involucradas pero que captura la información

esencial del transporte en el nivel de escala inferior (Valdés-Parada, 2021).

7.2 Descripción del sistema

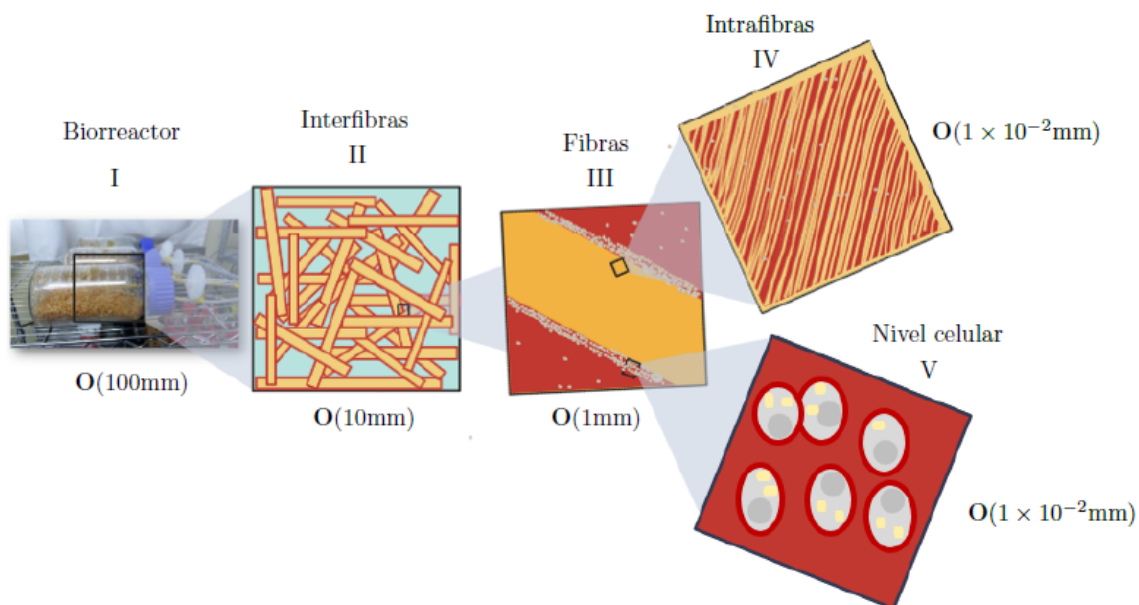


Figura 7.1. Esquema que representa las diferentes escalas del sistema en estudio.

Considere el esquema mostrado en la Figura 7.1 en donde se muestra un biorreactor a escala de laboratorio que consiste en frascos de vidrio de un litro de capacidad, con tapas adaptadas con dos orificios para la conexión de las líneas de entrada y salida de gases. El soporte está formado por aserrín de pino impregnado con el medio de cultivo e inoculado con *S. bombycola* ATCC 22214, se introdujo en los biorreactores sin oprimirlo. Evidentemente, el sistema es de naturaleza jerárquica, pues el transporte de masa que ocurre al nivel de escala del biorreactor está determinado por lo que ocurre en los niveles de escala inferiores. En específico, se identifican los siguientes niveles de escala:

Biorreactor (Nivel I) : Representa la escala del biorreactor y es en este nivel de escala en donde se pueden hacer las mediciones experimentales. Dado que el oxígeno se suministra por bombeo, es razonable suponer que su transporte de masa se da por difusión y convección en la fase fluida (gas) que contiene O₂, superior al medio poroso y, probablemente, también en las cercanías de la frontera medio poroso-fluido. En los siguientes párrafos, se refiere a este nivel de escala como la escala del biorreactor.

Interfibras (Nivel II) : En este nivel de resolución se pueden distinguir las diferentes fibras de

aserrín que componen al soporte del medio poroso y a la fase gaseosa. A este nivel de escala no se distinguen las fases internas de las fibras, por lo que se concibe esta región como un pseudo-continuo. El consumo de oxígeno solo se da en la superficie de cada fibra, que es donde se encuentra la biopelícula. A este nivel de escala se le denota en adelante como el nivel inter-fibras.

Fibras (Nivel III) : En este nivel de escala se estudia el transporte desde dentro de las fibras de aserrín hacia la biopelícula que se forma en la superficie. Para abordar el transporte a esta escala es necesario entonces contar con modelos de medio efectivo intra-fibras y al nivel de escala celular. En adelante se denota a este nivel de escala como el nivel de fibras.

Intrafibras (Nivel IV) : En este nivel de escala se distinguen dos fases, la fase fluida que contiene O_2 y un medio poroso, en este caso los canales que se forman en las fibras de aserrín. En este nivel de escala solo hay transporte por difusión de O_2 sin reacción, ya que la cantidad de células que pueden encontrarse entre las fibras es despreciable ya que se encuentran en su mayoría adheridas en la superficie. A este nivel de escala se le denota intrafibras.

Nivel celular (Nivel V) : En este nivel de escala se estudia a la biopelícula a nivel celular. Es decir, se presentan dos fases, la fase sólida compuesta por la célula que en este caso es la levadura *S. bombicola* ATCC 22214, y la fase fluida compuesta por el fluido extracelular y que contiene las dos especies a estudiar: el O_2 y los soforolípidos. En este nivel se aborda el transporte de masa de estas especies a través de la célula, considerando una reacción de producción de soforolípidos y una reacción de consumo del O_2 .

El transporte de O_2 en este nivel a grandes rasgos se produce de la siguiente manera:

- I. El O_2 es suministrado en forma de gas hasta la biopelícula, se transfiere desde la fase gaseosa a la interfase gas-líquido.
- II. Se mueve a través de la interfase gas-líquido.
- III. Se difunde a través de la biopelícula que rodea a las células.
- IV. Se mueve a través de la interfase líquido-célula.
- V. Atraviesa la pared y membrana celular de la célula.
- VI. Se transporta a través del citoplasma hasta el lugar donde se producen la reacción (mitocondrias).

En el caso de los soforolípidos, se transportan a través de la membrana celular hacia el exterior por "bombas" de energía. Estas "bombas" son proteínas que pertenecen a la superfamilia

de transportadores dependientes de ATP o transportadores ABC (del inglés ATP-binding cassette). Utilizan la hidrólisis del ATP para impulsar el transporte activo del sustrato contra su gradiente electroquímico a través de la membrana. Estas proteínas comparten cuatro dominios básicos: dos dominios transmembrana y dos dominios citosólicos. La hidrólisis del ATP causa un cambio conformacional en los dominios transmembrana, que alternan entre una orientación hacia adentro y otra hacia afuera. Este cambio conformacional empuja al sustrato desde un extremo de la membrana hacia el otro, siendo la afinidad por el sustrato lo que determina la dirección de transporte (Claus y col., 2022; Rees y col., 2009).

7.3 Definiciones fundamentales

Para facilitar la comprensión del método que se utilizó para realizar el promediado y escalamiento de las ecuaciones, en los diferentes niveles del sistema a estudiar, es conveniente definir los siguientes elementos esenciales

7.3.1 Operadores de promediado

- Promedio superficial: Sea ψ una función suave por tramos definida en una fase γ , el operador de promedio superficial se escribe como

$$\langle \psi \rangle_\gamma = \frac{1}{V} \int_{\mathcal{V}_\gamma} \psi dV \quad (7.1)$$

- Promedio intrínseco:

$$\langle \psi \rangle^\gamma = \frac{1}{V_\gamma} \int_{\mathcal{V}_\gamma} \psi dV, \quad (7.2)$$

En las ecuaciones anteriores V es el volumen del dominio de promediado \mathcal{V} . Esta región contiene porciones de las fases que haya presentes. \mathcal{V}_γ es el espacio ocupado por la fase γ en el dominio de promediado y su volumen es V_γ

- Relación de *Dupuit-Forchheimer*

$$\varepsilon_\gamma \langle \psi \rangle^\gamma = \langle \psi \rangle \quad (7.3)$$

Donde $\varepsilon_\gamma = V_\gamma/V$ representa la fracción volumétrica de la fase γ en el dominio de promediado \mathcal{V} .

$$\frac{V_\gamma}{V} = \varepsilon_\gamma \quad (7.4)$$

- Descomposición espacial de Gray

$$\psi_\gamma|_{\mathbf{r}} = \langle \psi_\gamma \rangle_\gamma|_{\mathbf{x}} + \tilde{\psi}_\gamma|_{\mathbf{r}} \quad (7.5)$$

Siendo \mathbf{r} y \mathbf{x} vectores de posición asociados con el operador de promediado, el vector \mathbf{r} localiza puntos en la fase fluida \mathcal{V}_γ en un sistema coordenado fijo, el vector de posición \mathbf{x} localiza el centro geométrico del dominio de promediado \mathcal{V} . Cabe mencionar que las variables promedio son, en general, funciones del vector de posición \mathbf{x} , es decir están asociadas a los cambios espaciales en la macroescala. Esto es cierto cuando se satisface la separación de longitudes características entre la microescala y la macroescala. Por lo tanto el vector de posición \mathbf{r} puede descomponerse como se muestra a continuación

$$\mathbf{r} = \mathbf{x} + \mathbf{y} \quad (7.6)$$

Siendo \mathbf{y} un vector de posición que localiza el mismo punto en la fase fluida que ubica el vector \mathbf{r} respecto al centroide del dominio de promediado.

7.3.2 Teoremas

- Teorema de promediado espacial: Se utiliza con el objetivo de intercambiar las operaciones de diferenciación e integración espacial, puede aplicarse tanto al operador gradiente como al de divergencia, tomando en cuenta la descomposición del vector \mathbf{r} en la ecuación (7.6) como se muestra a continuación

$$\langle \nabla_{\mathbf{r}} \mathbf{a} \rangle_\gamma = \nabla_{\mathbf{x}} \langle \mathbf{a} \rangle_\gamma + \nabla_{\mathbf{y}} \langle \mathbf{a} \rangle_\gamma + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_A} \mathbf{n} \mathbf{a} dA, \quad \text{aplicado al operador gradiente} \quad (7.7a)$$

$$\langle \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{a} \rangle_\gamma = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot \langle \mathbf{a} \rangle_\gamma + \nabla_{\mathbf{y}} \cdot \langle \mathbf{a} \rangle_\gamma + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_A} \mathbf{n} \cdot \mathbf{a} dA, \quad \text{aplicado al operador divergencia} \quad (7.7b)$$

Donde \mathbf{a} es una función vectorial continua en el espacio, \mathbf{n} es el vector unitario normal perpendicular a la superficie de la región de integración y \mathcal{A}_A es la superficie de la región arbitraria. Ya que la geometría en la región de promediado es periódica, y $\nabla_{\mathbf{y}}$ mide como cambian las propiedades naciendo del centro geométrico (\mathbf{x}), entonces tomando en cuenta esta periodicidad, los cambios de

$\mathbf{y} = \mathbf{0}$. Por esto, las ecuaciones (7.7) se expresan como se presenta a continuación

$$\langle \nabla_{\mathbf{r}} \mathbf{a} \rangle_{\gamma} = \nabla_{\mathbf{x}} \langle \mathbf{a} \rangle_{\gamma} + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_A} \mathbf{n} \mathbf{a} dA, \quad \text{aplicado al operador gradiente} \quad (7.8a)$$

$$\langle \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{a} \rangle_{\gamma} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot \langle \mathbf{a} \rangle_{\gamma} + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_A} \mathbf{n} \cdot \mathbf{a} dA, \quad \text{aplicado al operador divergencia} \quad (7.8b)$$

7.3.3 Hipótesis de equilibrio local másico

Esta hipótesis consiste en suponer que los promedios intrínsecos en las diferentes fases del sistema pueden igualarse. Es decir, es el estado en el que se puede utilizar una única concentración para describir un proceso de transferencia de masa en un sistema multifásico. Cuando se da esta condición, se puede utilizar un modelo de una sola ecuación y el análisis del proceso de transferencia de masa se simplifica. Esta suposición se ha corroborado que es pertinente cuando los mecanismos de transporte de masa en cada fase son los mismos y cuando la tasa de reacción no supera a la tasa de transporte por difusión (Wood y Whitaker, 1998; Ochoa-Tapia y *col.*, 1986; Golfier y *col.*, 2009). Todas estas condiciones se suponen aplicables al sistema bajo estudio y para ambas especies químicas.

$$\langle c_{\gamma} \rangle^{\gamma} = \langle c \rangle \quad (7.9)$$

7.4 Modelado en el nivel de escala celular (Nivel V)

7.4.1 Metodología de promediado y escalamiento a escala celular

Respecto al análisis de la transferencia de masa en la biopelícula, hay varias mejoras que se pueden hacer en la deducción del modelo de medio efectivo correspondiente con respecto a lo reportado en la literatura. Por lo que en este caso si se lleva a cabo una nueva deducción del modelo macroscópico, así como las simulaciones numéricas correspondientes para predecir el coeficiente de difusión efectiva en biopelículas, el cuál es un parámetro que va a cuantificar la transferencia de masa en este sistema multifásico (Kainourgiakis y *col.*, 2002). En este caso representa la forma en que se difunde en promedio el O_2 y los soforolípidos dentro y fuera de la célula. Para llevar a cabo esto se propone una modificación del método clásico del promedio volumétrico y se siguen estos pasos:

1. Se plantea el problema de transporte al nivel de escala celular. A diferencia del método

clásico de promedio volumétrico, en este método se plantea una sola ecuación diferencial que describe el transporte en ambas fases del sistema. También se incluyen las condiciones de frontera correspondientes para cada especie en estudio, considerando que hay transporte de masa en las dos fases. En este caso son dos especies químicas: soforolípidos y O_2 . Este paso involucra aceptar una serie de suposiciones de entrada, las cuales deben ser lo suficientemente razonables para no limitar considerablemente la aplicabilidad del modelo macroscópico resultante y que al resolverlo, se obtengan resultados que se apeguen a lo experimental. Algunas suposiciones son la existencia de una disparidad de longitudes características, que las especies químicas se encuentran en solución diluida y que las tasas de reacción son mucho menores que las de difusión.

Ya que el método de promediado para ambas especies es similar, a continuación se explica la metodología aplicada a una sola especie química.

2. Se define una región de promediado representativa del sistema, que incluye porciones de las fases de interés. Se identifican las longitudes de escala características del sistema. La longitud característica de la región de promediado (r_0), debe ser mucho menor que la menor longitud característica del sistema macroscópico (L) y, al mismo tiempo, debe ser mucho mayor que la máxima longitud característica de la escala microscópica (ℓ).
3. Se aplica un operador de promediado a la ecuación diferencial deducida en el paso 1 y se aplican los teoremas integrales (teorema del promediado espacial) y condiciones de frontera correspondientes. El modelo resultante es denominado *modelo no cerrado* pues tiene más incógnitas que ecuaciones. Por lo tanto requiere del desarrollo de una relación macroscópica entre las fuerzas impulsoras y los fluxes resultantes.
4. Para desarrollar la relación faltante en el paso anterior, se utiliza la descomposición espacial de Gray (1975) en la ecuación del punto 1 y, tomando en cuenta a la ecuación deducida en el punto 3, se desarrolla una ecuación para las desviaciones, espaciales de la concentración válida en cualquier fase, ya que el término de concentración puntual, es una variable que se desconoce. Estas ecuaciones se pueden simplificar a través de restricciones de escala espaciales y temporales mediante análisis de orden de magnitud.
5. Ya que se obtienen las ecuaciones diferenciales del paso anterior, se utiliza el teorema del promediado espacial aplicado a una divergencia, para intercambiar operaciones de diferenciación e integración. Las integrales que contienen a las variables en términos de

desviaciones pueden entenderse físicamente como filtros de información de la microescala.

6. Se aplica la descomposición espacial de Gray (1975) en las condiciones de frontera correspondientes para tenerlas en términos de concentraciones promedio y de desviaciones y así junto con las ecuaciones del paso 5 se plantea un problema de valor a la frontera que se propone resolver en una celda unitaria periódica representativa del sistema en estudio.
7. Se propone una solución formal en términos de la fuente del problema de las desviaciones. Esta solución formal contiene una *variable de cerradura*, la cual se encarga de mapear/medir la influencia de la fuente sobre los campos de las desviaciones en cada fase. Es decir, la solución formal representa la relación entre las variables de las desviaciones y las cantidades promedio en cada fase.
8. Se sustituye la solución formal en los filtros del modelo no cerrado y en las condiciones de frontera. Obteniendo así el modelo promedio cerrado o de medio efectivo. En este paso se definen además los coeficientes de medio efectivo correspondientes en términos de las variables de cerradura asociadas en la solución formal. De esta forma, los coeficientes pueden predecirse a partir de la solución de los problemas de cerradura correspondientes.

En la Figura 7.2 se presenta un esquema simplificando la metodología descrita anteriormente.

Esta metodología puede adaptarse tanto para la deducción de los modelos de equilibrio como de no equilibrio y de una sola ecuación. Sin embargo, dado que el transporte dentro y fuera de la biopelícula se da por difusión, es razonable considerar como primera opción al modelo de equilibrio.

La principal diferencia entre este método de promediado propuesto y el método clásico es que el primero parte de una sola ecuación diferencial que describe la concentración, difusión y reacción de todas las fases que estén presentes en el sistema. Esto se puede hacer ya que los mecanismos de transporte en las fases consideradas son los mismos. Es decir, es un método de un solo dominio (ODA, por sus siglas en inglés). Esta ecuación es válida en todas las fases y es la que se va a promediar. También se facilitó el proceso de promediado ya que no se sustituyó la ley de Fick en el término de flux difusivo hasta haber obtenido el modelo promedio no cerrado. Esto facilita la deducción del modelo ya que se maneja menor número de variables.

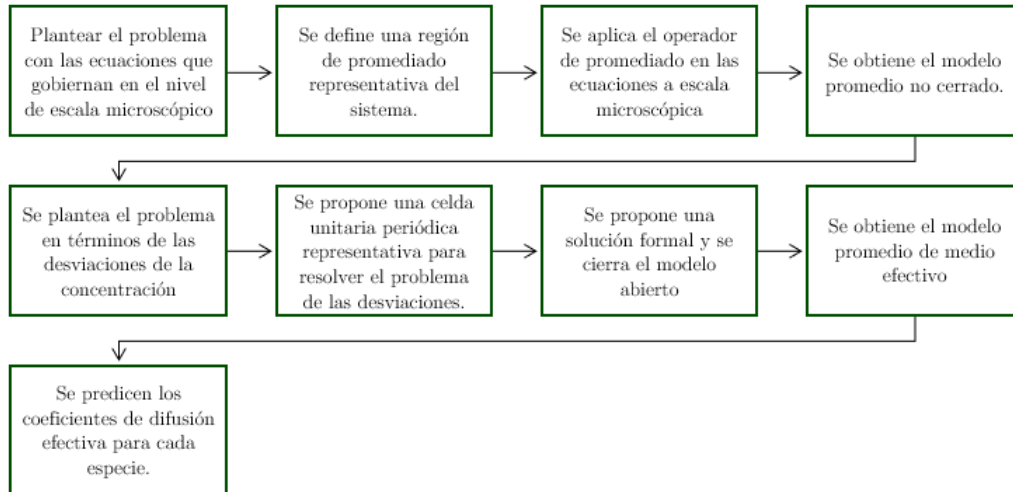


Figura 7.2. Metodología del proceso de promediado a escala celular.

7.4.2 Metodología del análisis paramétrico y solución numérica

El objetivo del análisis es comprobar el alcance que tiene el modelo de medio efectivo ante el efecto de las suposiciones iniciales que se consideraron para realizar el escalamiento. Cabe mencionar que en este análisis se tomará en cuenta una geometría tridimensional del sistema celular, donde se considera la presencia de organelos y se localizarán los sitios de consumo de especies químicas de acuerdo al metabolismo celular. Por ejemplo, el O_2 solo se consume en las mitocondrias de las levaduras y los soforolípidos se producen en el citosol de éstas.

1. Para obtener las soluciones numéricas en el sistema celular, el análisis paramétrico se realiza para cada especie química. Se recurre al software Comsol Multiphysics para resolver numéricamente las ecuaciones al nivel de escala celular, el cual utiliza el método de elemento finito. Este se basa en realizar aproximaciones de soluciones numéricas a ecuaciones diferenciales a computadora sobre geometrías complicadas. Es un método que divide la geometría en un número finito de pequeños elementos mediante nodos, que funcionan como puntos de unión entre elementos adyacentes, al conjunto de estos nodos se le conoce como malla computacional. Por lo tanto, resuelve un problema complejo al subdividirlo en problemas más simples. Las incógnitas del problema dejan de ser funciones matemáticas y se aproximan por el valor de la función en los nodos por medio de discretización matemática (Frías-Valero, 2004).
2. Para facilitar el análisis, a partir de las ecuaciones del problema de cerradura, se obtienen ecuaciones en términos de variables y parámetros adimensionales. Esto facilita la solución

del problema ya que se reduce el número de grados de libertad.

3. Se asignan magnitudes a los parámetros adimensionales, las cuales son obtenidos de literatura. Una vez establecidos los parámetros, se introducen las ecuaciones adimensionales del problema de cerradura al programa Comsol Multiphysics.
4. Para medir el peso que tiene cada parámetro sobre la difusividad efectiva, se realizan barridos paramétricos, es decir, se asigna un intervalo de valores a cada parámetro y se van haciendo variaciones para así poder observar cuales tienen mayor efecto o efecto nulo sobre la difusividad efectiva.
5. Una vez predichos los coeficientes de difusión de medio efectivo para cada especie, se resuelve y valida el modelo por medio de simulaciones numéricas directas y así se analiza la validez del modelo deducido.

7.5 Modelado en el nivel de escala intrafibras (Nivel IV)

En este nivel de escala, la atención se centra en el transporte de masa dentro de las fibras de aserrín. En este caso, sólo hay transporte de masa por difusión de O_2 ya que se supone que no es absorbido por el aserrín. Siendo ésta la única especie química en estudio, ya que se supone nula la presencia de levaduras y por lo tanto la producción de soforolípidos en este nivel. El modelo de medio efectivo correspondiente ya fue deducido por Whitaker (1999a) usando el método del promedio volumétrico y sólo es necesario llevar a cabo la solución del problema de cerradura asociado en una geometría razonable del sistema. En este caso, la geometría puede considerarse como un arreglo de canales paralelos inconexos, por tanto, no hay transporte de masa entre ellos. Se plantea dos casos, en el primero los canales se consideraron rectos, esto es conveniente para desarrollar incluso una expresión analítica del coeficiente de difusión efectiva. En el segundo caso, se considera que los canales presentan rugosidad, es decir, tienen ondulaciones. Esta característica complica el problema para resolverlo de forma analítica, por lo que se utilizó el software Comsol Multiphysics para la solución por medio del método de elemento finito. Se introducen las ecuaciones del problema de cerradura y se asignan rangos de valores a los parámetros que en este caso tienen efecto sobre la geometría establecida. Por último se hace una comparación del efecto de estos parámetros sobre el valor del coeficiente de difusividad efectiva.

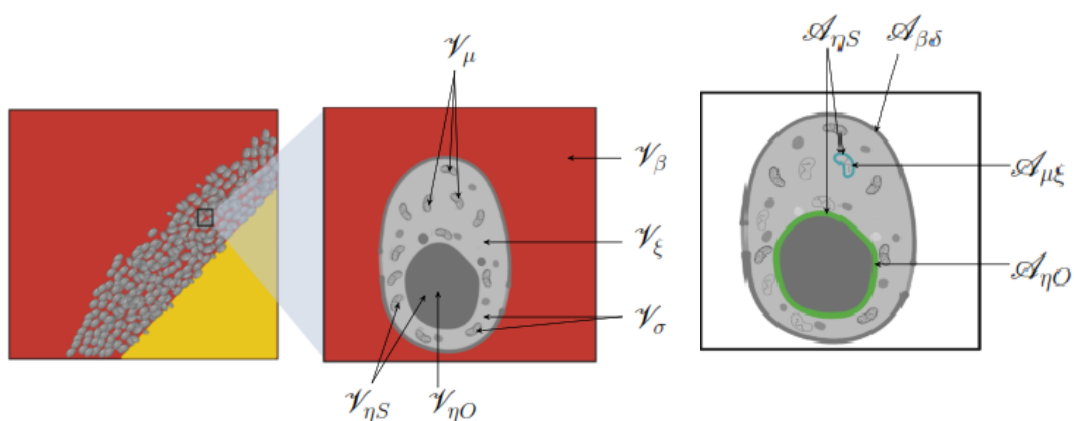
Con estos pasos se tendrá un modelo macroscópico que puede usarse para modelar el transporte dentro y fuera del medio poroso. Este proyecto abarca el modelado del nivel de escala IV y V, y

deja como prospectiva el subsecuente escalamiento hasta el nivel de escala del biorreactor, el cuál puede partir de los modelos deducidos en este trabajo.

8. Resultados y discusión

8.1 Biopelículas: modelo para el O_2 y soforolípidos (Nivel V)

Para el estudio de este sistema, se comienza con la escala más pequeña (V), se trata de un organismo unicelular, *Starmerella bombicola*, la cual es una levadura aerobia con la capacidad de producir soforolípidos. El oxígeno es una especie relevante en los procesos biotecnológicos aerobios, ya que actúa como limitante en el crecimiento microbiano. El microorganismo requiere una cantidad pequeña de este sustrato para cumplir con sus requerimientos metabólicos. En los cultivos aerobios, la transferencia de O_2 entre fases suele ser el problema más importante debido a su



(a) Esquema de la escala celular, donde se representan las regiones de promediado.

(b) Esquema de una levadura donde se identifican las superficies de promediado.

Figura 8.1. Esquemas que representan las regiones y superficies de promediado en la escala celular.

baja solubilidad en agua a diferencia de los demás nutrientes como la fuente de carbono hidrofílica, fuente de nitrógeno, micronutrientes y antioxidantes, (Montoya y Bermúdez, 2003). Una vez que es consumido por los microorganismos, el O_2 es transportado a través de la membrana celular, posteriormente se difunde a través del sistema, y finalmente es consumido en las mitocondrias. Por su parte, los soforolípidos son producidos en el citosol al unirse un carbohidrato, en este caso una soforosa, con un ácido graso de cadena larga (18 C), una vez formados, son transportados fuera del sistema. El transporte y la reacción de cada especie química es distinto no solo en cuanto a sus tasas de reacción sino incluso en los dominios disponibles para el transporte. Debido a esto, se proponen las siguientes definiciones de los dominios para el estudio de este sistema, las cuales son representadas en la Figura 8.1 y también se define la nomenclatura que se utiliza a lo largo de este capítulo para facilitar su comprensión.

Especies

- Especie O: Representa a la especie química oxígeno (O_2). Donde subíndice O hace referencia a esta especie.
- Especie S: Representa a la especie química soforolípidos. Donde subíndice S hace referencia a esta especie.

Región de promediado

- \mathcal{V} : Dominio de promediado que incluye a las fases de estudio. Para que esta región se considere representativa, se debe cumplir con la siguiente restricción de escala:

$$r_0 \ll L \quad (8.1)$$

- r_0 = longitud característica del dominio.
- ℓ = máxima longitud característica de la escala celular \mathbf{O} ($2-5\mu\text{m}$), (Graeve y col., 2018).
- L = menor longitud característica de la biopelícula entera \mathbf{O} ($400-1000\mu\text{m}$).

Esto quiere decir que la región de promediado (\mathcal{V}) debe ser lo suficientemente grande para que las no uniformidades en el medio poroso sean suavizadas en el espacio pero, al mismo tiempo, lo suficientemente pequeña para que no se pierda demasiada información de la microestructura en el proceso de promediado.

- \mathcal{V}_β : Representa el espacio ocupado por el fluido extracelular en el dominio de promediado.
- \mathcal{V}_μ : Representa el espacio ocupado por las mitocondrias de todas las células contenidas en el

dominio de promediado \mathcal{V} .

- \mathcal{V}_ξ : Representa el espacio ocupado por el citosol de todas las células contenidas en el dominio de promediado \mathcal{V} .
- \mathcal{V}_σ : Corresponde a la unión entre los dos últimos espacios definidos arriba. Esto es, $\mathcal{V}_\sigma = \mathcal{V}_\mu + \mathcal{V}_\xi$.
- $\mathcal{V}_{\eta O}$: Corresponde al espacio ocupado por los organelos donde no hay transporte de oxígeno.
- $\mathcal{V}_{\eta S}$: El espacio ocupado por los organelos donde no hay transporte de soforolípidos. Esto es: $\mathcal{V}_{\eta S} = \mathcal{V}_{\eta O} + \mathcal{V}_\mu$.
- $\mathcal{A}_{\beta\delta}$: Corresponde a la membrana y pared celular, la cual es tratada como una superficie divisoria.
- $\mathcal{A}_{\eta O}$: Denota las superficies entre la fase- σ (mitocondrias y citosol) con los organelos donde no hay transporte de oxígeno.
- $\mathcal{A}_{\eta S}$: Denota las superficies entre el citosol y los organelos donde no hay transporte de soforolípidos.
- $\mathcal{A}_{\mu\xi}$: Denota las superficies entre las mitocondrias y el citosol.
- \mathbf{b}_i : Variable vectorial de cerradura, ($i = O, S$), [m].
- Bi: Número de Biot: Representa la relación entre la transferencia de masa por convección respecto a la transferencia de masa por difusión.
- c_{ij} : Concentración molar de la especie química i en la fase j . ($i = O, S$), ($j = \beta; \xi; \mu$) [mol/m^3].
- $\langle c_i \rangle$: Concentración local promedio de la especie i , ($i = O, S$), [mol/m^3].
- $\langle c_{ij} \rangle^j$: Concentración promedio intrínseca de la especie i en la fase j , ($i = O, S$), ($j = \beta; \xi; \mu$), [mol/m^3].
- \tilde{c}_{ij} : Desviaciones espaciales de la concentración. ($i = O, S$), ($j = \beta; \xi; \mu$), [mol/m^3].
- \mathcal{D}_{ij} : Coeficiente de difusión molecular de la especie química i en la fase j , ($i = O, S$), ($j = \beta; \xi; \mu$), [m^2/s].
- \mathbf{D}_{ief} : Tensor de difusividad efectiva de la especie i , ($i = O, S$), [m^2/s].
- \mathbf{I} : Tensor identidad.
- \mathbf{j} : Vector que describe el flux difusivo de las especies.
- k_O : Constante de reacción de la especie O, [$1/s$].
- K_S^M : Coeficiente de reacción modificada para la producción de soforolípidos, [$1/s$].
- k_M : Coeficiente interfacial de transferencia de masa, [m/s].

- \mathbf{l}_i : Vector de la celda unitaria en la dirección i , ($i = 1; 2; 3$).
- \mathbf{n}_{ij} : Vector unitario normal perpendicular a la superficie de la región de integración que va de la fase i a la fase j , ($i, j = \beta, \xi, \mu$).
- P : Concentración de soforolípidos (obtenido a partir de trabajo experimental), [g/kg_{de masa seca}].
- P_{max} : Concentración máxima de soforolípidos (obtenido a partir de trabajo experimental), [g/kg_{de masa seca}].
- \mathbf{r}_i : Vector de posición que localiza puntos de la fase i , ($i = \beta, \xi, \mu$).
- t : Tiempo, [s].

Símbolos griegos

- α : Coeficiente de partición.
- ε_i : Fracción volumétrica de la fase i , ($i = \beta, \xi, \mu$).
- $\gamma^* = Bi^{-1}$: Número adimensional que representa la resistencia en la membrana y pared celular.
- ϕ_i^2 : Módulo de Thiele. Número adimensional que relaciona la tasa de reacción respecto a la tasa de difusión, ($i = O, S$).
- κ_i : Razón entre los coeficientes de difusión molecular de la especie i , ($i = O, S$).

8.1.1 Planteamiento del modelo a escala celular

Considerese un sistema compuesto por células (fase- σ) y fluido extracelular (fase- β). En ambas fases se transportan numerosas especies químicas, de las cuales en este trabajo la atención se centra en dos: la especie O , que representa al oxígeno disuelto en la biopelícula, y la especie S que denota a los soforolípidos. Estos dos compuestos se transportan por medio de difusión dentro y fuera de las células y sólo dentro de las células tiene lugar una reacción homogénea de consumo para el oxígeno y de producción para los soforolípidos. El análisis de cada especie va a estar restringido bajo la suposición de que tanto la especie S como la especie O forman una solución diluida en el fluido dentro y fuera de las células, por lo que se puede usar la ley de Fick en ambas fases. De esta forma, la ecuación que representa la transferencia de masa para cada especie química en las dos

fases al nivel de escala celular es

$$\underbrace{\frac{\partial c_S}{\partial t}}_{\text{acumulación}} + \underbrace{\nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_S}_{\text{transporte por difusión}} = \underbrace{R_S(\mathbf{r})}_{\text{tasa de reacción}} \quad (8.2)$$

$$\underbrace{\frac{\partial c_O}{\partial t}}_{\text{acumulación}} + \underbrace{\nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_O}_{\text{transporte por difusión}} = \underbrace{R_O(\mathbf{r})}_{\text{tasa de reacción}} \quad (8.3)$$

En donde

$$R_S(\mathbf{r}) = k_S(\mathbf{r})c_S \quad (8.4)$$

$$R_O(\mathbf{r}) = -k_O(\mathbf{r})c_O, \quad (8.5)$$

De esta forma c_S representa la concentración de la especie química S y c_O la concentración de la especie O , mientras que \mathbf{j} es el vector que describe el flux difusivo de cada especie. Además, k_S y k_O son las constantes de reacción para cada especie, en el caso del O₂ es una reacción de consumo de primer orden, y para los soforolípidos se considera una reacción de producción de pseudo-primer orden.

A continuación, se especifica la dependencia con la posición de las variables definidas en el párrafo anterior para cada especie química:

- Oxígeno

$$\frac{\partial c_{O\beta}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{O\beta} = 0 \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.6)$$

$$\frac{\partial c_{O\xi}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{O\xi} = 0 \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.7)$$

$$\frac{\partial c_{O\mu}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{O\mu} = -k_O c_O \quad \text{en } \mathcal{V}_\mu \quad (8.8)$$

- Soforolípidos

$$\frac{\partial c_{S\beta}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{S\beta} = 0 \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.9)$$

$$\frac{\partial c_{S\xi}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{S\xi} = k_S c_S \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.10)$$

En la ecuación (8.10), el término de reacción de la producción de soforolípidos se propuso a partir del trabajo experimental realizado por (Pedraza y *col.*, 2022) en el que se basa la deducción de los

modelos macroscópicos de la especie O y S . En el trabajo mencionado, se realizó la caracterización de la cinética de producción de soforolípidos durante 15 días en un cultivo en medio sólido. Una vez teniendo resultados experimentales, se propuso un modelo que mejor se ajustara, por lo tanto se recurrió al modelo de Gompertz el cual se representa de forma diferencial como se muestra a continuación

$$\frac{\partial P}{\partial t} = kP \ln \left| \frac{P_{\text{máx}}}{P} \right| \quad (8.11)$$

Donde P es la concentración de soforolípidos c_S , $P_{\text{máx}}$ es la concentración máxima obtenida experimentalmente en g/kg de masa seca. k es una constante específica de primer orden [h^{-1}].

Se hace un cambio de variable

$$P_{\text{máx}} = c_S \xi_{\text{máx}} = 88.9 \text{g/kg}_{\text{masa seca}} \quad (8.12)$$

Para completar el planteamiento del problema a escala celular es necesario contar con las condiciones de frontera en las diversas interfases. En la frontera entre el fluido extracelular y las células ($\mathcal{A}_{\beta\delta}$) no hay una reacción química y se suponen despreciables los fenómenos de transporte tangenciales y de acumulación respecto al transporte que ocurre perpendicular a la membrana celular y pared celular, al igual que son despreciables los efectos por el cambio en la superficie divisoria. Bajo estas condiciones, la condición de salto se reduce a la siguiente expresión

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\mathbf{j}_{\beta} - c_{\beta} \mathbf{w}) = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\mathbf{j}_{\xi} - c_{\xi} \mathbf{w}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.13)$$

En donde $\mathbf{n}_{\beta\delta}$ es el vector unitario dirigido de la fase extracelular hacia la interfase formada por la membrana y pared celular, representadas como fase δ , y \mathbf{w} representa la velocidad de desplazamiento de la membrana celular. Con la intención de simplificar la ecuación anterior, se restringe el análisis a situaciones en las que el transporte de masa interfacial ocurra a una velocidad mucho mayor que \mathbf{w} . Esto excluye del análisis a situaciones en las que se presente motilidad celular, mitosis, apoptosis, entre otras. Bajo esta suposición, la ecuación anterior se reduce a

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.14)$$

Además, en la membrana y pared celular se consideran resistencias a la transferencia de masa, dadas por la siguiente ecuación cuya forma asemeja a la ley de enfriamiento de Newton:

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{\xi} = k_M(c_{\beta} - \alpha c_{\xi}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.15)$$

En donde k_M y α representan al coeficiente interfacial de transferencia de masa y al coeficiente de partición, respectivamente, los cuales son distintos para cada especie:

$$k_M, \alpha = \begin{cases} k_{SM}, \alpha_S, & \text{para soforolípidos} \\ k_{OM}, \alpha_O, & \text{para O}_2 \end{cases} \quad (8.16)$$

En el caso del O₂, el transporte a través de la membrana se realiza por difusión pasiva, es decir, se transporta a través de la membrana dirigiéndose al sitio donde hay menor concentración, con una resistencia mínima ya que es una molécula muy pequeña y apolar al igual que la membrana (Cessa y col., 2017), es por esto que $k_{O\mu}$ se considera una constante.

Los soforolípidos, se transportan a través de la membrana celular hacia el exterior por las proteína ABC. Este tipo de transporte se conoce como difusión activa (Claus y col., 2022), y la resistencias que se puedan presentar se consideran en el término de k_{SM} . Por último, la ausencia de transferencia de masa intracelular de las especies químicas entre la fronteras de los organelos disponibles y no disponibles se representa con las siguientes ecuaciones

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathbf{j}_{O\sigma} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O}, \quad \text{para O}_2 \quad (8.17a)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \mathbf{j}_{S\xi} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S}, \quad \text{para soforolípidos} \quad (8.17b)$$

De esta forma, las ecuaciones que gobiernan el transporte de masa a escala celular para cada especie pueden escribirse como sigue:

- Oxígeno

$$\frac{\partial c_O}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_O = R_O(\mathbf{r}) \quad (8.18a)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.18b)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{O\xi} = k_{O\mu} (c_{O\beta} - \alpha_O c_{O\xi}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.18c)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathbf{j}_{O\sigma} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.18d)$$

■ Soforolípidos

$$\frac{\partial c_S}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_S = R_S(\mathbf{r}) \quad (8.19a)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{S\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.19b)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathbf{j}_{S\xi} = k_{SM} (c_{S\beta} - \alpha_S c_{S\xi}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.19c)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \mathbf{j}_{S\xi} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.19d)$$

Además, en las ecuaciones (8.18a) y (8.19a) aplican ahora las siguientes definiciones para cada fase

$$c_O, \mathbf{j}_O, R_O(\mathbf{r}) = \begin{cases} c_{O\beta}, \mathbf{j}_{O\beta}, 0, & \text{en } \mathcal{V}_\beta \\ c_{O\mu}, \mathbf{j}_{O\mu}, R_{O\mu} = -k_{O\mu} c_{O\mu}, & \text{en } \mathcal{V}_\mu \\ c_{O\xi}, \mathbf{j}_{O\xi}, 0, & \text{en } \mathcal{V}_\xi \end{cases} \quad (8.20)$$

$$c_S, \mathbf{j}_S, R_S(\mathbf{r}) = \begin{cases} c_{S\beta}, \mathbf{j}_{S\beta}, 0, & \text{en } \mathcal{V}_\beta \\ c_{S\xi}, \mathbf{j}_{S\xi}, R_{S\xi} = K_S^M c_{S\xi}, & \text{en } \mathcal{V}_\xi \end{cases} \quad (8.21)$$

La ecuación a escala microscópica que describe el transporte de masa en cada fase para cada especie, se puede compactar en una sola como se hizo en las ecuaciones (8.18a) y (8.19a) ya que el mecanismo de transporte en todas las fases descritas es el mismo. Esto se conoce como método de un solo dominio (ODA). Por último, al inicio se supone conocida y constante la concentración de

cada especie en el sistema

$$\text{Cuando } t = 0 \quad c_S, c_O = c_{S0}, c_{O0} \quad (8.22)$$

Para el caso del transporte de oxígeno, se imponen las siguientes condiciones en la interfase entre el citosol y las mitocondrias

$$c_{O\xi} = c_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.23a)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \mathcal{D}_{O\mu} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.23b)$$

Estas condiciones implican que no hay resistencias a la transferencia de masa de oxígeno en la membrana mitocondrial y se despreciaron los fenómenos de transporte tangencial a dicha membrana respecto al transporte perpendicular a ella. Además de que no hay acumulación ni reacción en la frontera, ni cambios en la superficie divisoria

8.2 Escalamiento en la biopelícula

A continuación se describen los pasos del proceso de promediado y escalamiento para deducir los modelos macroscópicos de medio efectivo bajo la suposición de equilibrio local másico para cada especie química. Con este fin, es conveniente retomar la definición del operador de promediado definido en la ecuación (7.2) para expresarla como sigue

$$\langle c_O \rangle = \frac{1}{V_\beta + V_\sigma} \int_{\gamma} c_O dV = \frac{1}{V_\beta + V_\sigma} \int_{\gamma_\beta} c_{O\beta} dV + \frac{1}{V_\beta + V_\sigma} \int_{\gamma_\sigma} c_{O\sigma} dV = \frac{\varepsilon_\beta \langle c_{O\beta} \rangle^\beta + \varepsilon_\sigma \langle c_{O\sigma} \rangle^\sigma}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma} \quad (8.24a)$$

$$\langle c_S \rangle = \frac{1}{V_\beta + V_\xi} \int_{\gamma} c_S dV = \frac{1}{V_\beta + V_\xi} \int_{\gamma_\beta} c_{S\beta} dV + \frac{1}{V_\beta + V_\xi} \int_{\gamma_\xi} c_{S\xi} dV = \frac{\varepsilon_\beta \langle c_{S\beta} \rangle^\beta + \varepsilon_\xi \langle c_{S\xi} \rangle^\xi}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} \quad (8.24b)$$

En las ecuaciones anteriores se usaron las siguientes definiciones de las fracciones volumétricas $\varepsilon_\beta = V_\beta/V$, $\varepsilon_\sigma = V_\sigma/V$, $\varepsilon_\xi = V_\xi/V$, además

$$c_{S\sigma}, c_{O\sigma} = \begin{cases} 0, c_{O\mu}, & \text{en } \mathcal{V}_\mu \\ c_{S\xi}, c_{O\xi}, & \text{en } \mathcal{V}_\xi \end{cases} \quad (8.25)$$

Ya que el proceso de escalamiento para ambas especies es similar, a continuación se desarrolla el método de promediado aplicado al O_2 , tomando en cuenta que al final se presentarán los modelos macroscópicos para ambas especies.

8.2.1 Método de promediado de la especie O

Aplicando el operador de promediado definido en la ecuación (8.24a) a la ecuación (8.18a) se obtiene la siguiente ecuación promedio

$$\frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} + \langle \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_O \rangle = \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.26)$$

Note que en el primer término del lado izquierdo se intercambiaron las operaciones de diferenciación temporal e integración espacial directamente ya que no se está considerando el movimiento de las membranas celulares, por lo que la región de integración no cambia con el tiempo. Para intercambiar las operaciones de diferenciación e integración espacial se usa el teorema del promediado espacial definido en la ecuación (7.7), de esta forma se obtiene que

$$\frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{x}} \cdot \langle \mathbf{j}_O \rangle = \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.27)$$

De acuerdo a las definiciones dadas en las ecuaciones (8.20) y (8.24a) el promedio del término de reacción toma la siguiente forma para el oxígeno:

$$\langle R_O(\mathbf{r}) \rangle = \frac{1}{V_\beta + V_\sigma} \int_{\mathcal{V}} R_O dV = \frac{1}{V_\beta + V_\sigma} \int_{\mathcal{V}_\mu} R_{O\mu} dV = -\frac{\varepsilon_\mu}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma} k_O \langle c_{O\mu} \rangle^\mu \quad (8.28)$$

El modelo dado en la ecuación (8.27) requiere del conocimiento de $\langle \mathbf{j}_O \rangle$ para estar cerrado. Con este fin, es conveniente expresar la ley de Fick de la siguiente forma

$$\mathbf{j}_O = -\mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}c_O = \begin{cases} -\mathcal{D}_{O\beta}\nabla_{\mathbf{r}}c_{O\beta}, & \text{en la fase-}\beta \\ -\mathcal{D}_{O\sigma}\nabla_{\mathbf{r}}c_{O\sigma}, & \text{en la fase-}\sigma \end{cases} \quad (8.29)$$

Aplicando el operador de promediado a esta ecuación se obtiene que

$$\langle \mathbf{j}_O \rangle = -\langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}c_O \rangle \quad (8.30)$$

O bien, al usar la descomposición de Gray (7.5) en la concentración

$$\langle \mathbf{j}_O \rangle = -\langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \rangle \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle - \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_O \rangle \quad (8.31)$$

Al sustituir esta expresión en la ecuación (8.27), se obtiene el modelo promedio no cerrado como se muestra a continuación

$$\frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} - \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \rangle \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_O \rangle) = \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.32)$$

Claramente, esta expresión requerirá de conocer las desviaciones de la concentración. Por ello, en los siguientes párrafos se deduce, simplifica y resuelve formalmente el problema para \tilde{c}_O , lo cual constituye el esquema de cerradura. Para concluir esta sección, es conveniente notar que, con base en las ecuaciones (8.24), tomando en cuenta la hipótesis de equilibrio local másico, la ecuación (8.31) puede escribirse como

$$\langle \mathbf{j}_O \rangle = - \frac{\varepsilon_{\beta} \mathcal{D}_{O\beta} + \varepsilon_{\mu} \mathcal{D}_{O\mu} + \varepsilon_{\xi} \mathcal{D}_{O\xi}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma}} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle - \frac{\varepsilon_{\beta} \mathcal{D}_{O\beta} \langle \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\beta} \rangle^{\beta} + \varepsilon_{\mu} \mathcal{D}_{O\mu} \langle \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\mu} \rangle^{\mu} + \varepsilon_{\xi} \mathcal{D}_{O\xi} \langle \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\xi} \rangle^{\xi}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma}} \quad (8.33)$$

Para conocer las desviaciones de la concentración, se va a proponer una solución formal, la cuál se va a sustituir en el modelo no cerrado y así obtener el modelo promedio cerrado o de medio efectivo para la transferencia de masa. Además, resolver los esquemas de cerradura que se proponen a continuación es necesario ya que posibilitan la predicción de los diferentes coeficientes

involucrados en los modelos deducidos. Se producen tantos problemas de cerradura como fuentes haya en el problema de las desviaciones.

8.2.2 Cerradura

Para resolver el problema de las desviaciones, se propone una celda unitaria periódica representativa del sistema a escala microscópica, donde es razonable suponer que las desviaciones espaciales de la concentración son periódicas. Con el fin de deducir la ecuación diferencial que gobierna a \tilde{c}_O , se resta la ecuación (8.27) a la ecuación (8.18a) para obtener la siguiente expresión

$$\frac{\partial \tilde{c}_O}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \tilde{\mathbf{j}}_O = R_O(\mathbf{r}) - \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.34)$$

Para conocer $\tilde{\mathbf{j}}_O$, se resta la ecuación (8.31) a la ecuación (8.29) para obtener

$$\tilde{\mathbf{j}}_O = -\mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}\tilde{c}_O - \tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{x}}\langle c_O \rangle + \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}\tilde{c}_O \rangle \quad (8.35)$$

Sustituyendo esta expresión en la ecuación (8.34) resulta la siguiente ecuación diferencial para las desviaciones de la concentración

$$\frac{\partial \tilde{c}_O}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}\tilde{c}_O) + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{x}}\langle c_O \rangle) - \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}\tilde{c}_O \rangle + R_O(\mathbf{r}) - \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.36)$$

Con el fin de simplificar la ecuación (8.36), primeramente, se proponen los siguientes estimados de orden de magnitud

$$\frac{\partial \tilde{c}_O}{\partial t} = \mathbf{O} \left(\frac{\tilde{c}_O}{t^*} \right) \quad (8.37a)$$

$$\nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{r})\nabla_{\mathbf{r}}\tilde{c}_O) = \mathbf{O} \left(\frac{\mathcal{D}_O\tilde{c}_O}{\ell^2} \right) \quad (8.37b)$$

De esta forma, con base en la siguiente restricción de escala temporal

$$\frac{\ell^2}{\mathcal{D}_O} \ll t^* \quad (8.38)$$

es razonable suponer que

$$\frac{\partial \tilde{c}_O}{\partial t} \ll \nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_O) \quad (8.39)$$

y por tanto se desprecia el término de acumulación respecto al término difusivo local, y la ecuación (8.36) se reduce a

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_O) + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot (\tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle) - \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_O \rangle + R_O(\mathbf{r}) - \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.40)$$

En este momento, es conveniente utilizar la siguiente descomposición del operador gradiente

$$\nabla_{\mathbf{r}} = \nabla_{\mathbf{x}} + \nabla_{\mathbf{y}} \quad (8.41)$$

Tomando en cuenta que las variables macroscópicas experimentan *cambios lentos* (es decir, sus derivadas no nulas son respecto a \mathbf{x}) y que las variables microscópicas experimentan *cambios rápidos* (es decir, sus derivadas no nulas son respecto a \mathbf{y}), la ecuación (8.40) toma la siguiente forma

$$0 = \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{y}) \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_O) + \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{r}) \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{x}}^2 \langle c_O \rangle - \nabla_{\mathbf{x}} \cdot \langle \mathcal{D}_O(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_O \rangle + R_O(\mathbf{r}) - \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.42)$$

Más aún, localizando el sistema coordenado en el centro geométrico de la celda unitaria se tiene que $\mathbf{r} = \mathbf{y}$ y usando el teorema del promediado espacial se obtiene que

$$0 = \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{y}) \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_O) + \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{y}) \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \tilde{\mathcal{D}}_O(\mathbf{y}) \nabla_{\mathbf{x}}^2 \langle c_O \rangle - \langle \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\mathcal{D}_O(\mathbf{y}) \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_O) \rangle + R_O(\mathbf{y}) - \langle R_O(\mathbf{y}) \rangle \quad (8.43)$$

Esta ecuación puede usarse en cualquiera de las fases. De hecho, en el seno de cada fase el coeficiente de difusión es constante, por lo que sus desviaciones espaciales son nulas. De esta forma, las ecuaciones diferenciales para las desviaciones espaciales de la concentración de la especie O en

cada fase son

$$0 = \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\beta} - \langle \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta}) \rangle^{\beta}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.44a)$$

$$0 = \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\xi} - \langle \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) \rangle^{\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.44b)$$

$$0 = \mathcal{D}_{O\mu} \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\mu} - \langle \nabla_{\mathbf{y}} \cdot (\mathcal{D}_{O\mu} \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\mu}) \rangle^{\mu} - k_O \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.44c)$$

En la última ecuación, se tomó en cuenta la suposición de equilibrio local másico por lo que $\langle R_O(\mathbf{y}) \rangle = \langle R_{O\mu}(\mathbf{y}) \rangle^{\mu}$. Usando el teorema de la divergencia, considerando la naturaleza periódica de los campos de las desviaciones, las ecuaciones anteriores se expresan como sigue

$$\nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\beta} = \frac{1}{V_{\beta}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta}) \, dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.45a)$$

$$\begin{aligned} \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\xi} &= -\frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) \, dA + \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\eta O}} \mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) \, dA \\ &+ \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) \, dA \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \end{aligned} \quad (8.45b)$$

$$\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\mu} = \frac{1}{V_{\mu}} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\mu\xi} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\mu}) \, dA + \frac{\kappa_O k_O}{\mathcal{D}_{O\sigma}} \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.45c)$$

Donde $\kappa_O = \mathcal{D}_{O\sigma} / \mathcal{D}_{O\beta}$ representa la razón entre los coeficientes de difusión de oxígeno dentro y fuera de la célula. En las ecuaciones anteriores se supuso que los coeficientes de difusión del oxígeno dentro de la mitocondria y en el citosol son los mismos. Esto es, $\mathcal{D}_{O\xi} = \mathcal{D}_{O\mu} = \mathcal{D}_{O\sigma}$.

Hay que resaltar que a partir del ODA, se dedujeron las ecuaciones anteriores, las cuales son consistentes con las deducidas por Wood y Whitaker (1998) utilizando el método de promedio volumétrico clásico, demostrando que se puede utilizar el método propuesto en este trabajo y obtener los mismos resultados.

Usando la descomposición espacial de Gray (7.5) bajo la suposición de equilibrio local másico en las condiciones de frontera que se expresan en las ecuaciones (8.18b)-(8.18d) se obtienen las

siguientes ecuaciones

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O - 1) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.46a)$$

$$\alpha_O \tilde{c}_{O\xi} = \tilde{c}_{O\beta} + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \gamma_O \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_O \gamma_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.46b)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathcal{D}_{O\sigma} \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathcal{D}_{O\sigma} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.46c)$$

Para simplificar la notación, en las ecuaciones anteriores se utilizó la siguiente definición

$$\gamma_O = \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{k_{O\mu}}, \quad (8.47)$$

Cabe agregar que, para el oxígeno es necesario contar, además de las condiciones de frontera anteriores, con condiciones de frontera en la superficie de las mitocondrias. Por ello, se aplica la descomposición espacial de Gray a las ecuaciones (8.23) para obtener, bajo la suposición de equilibrio local másico, las siguientes expresiones

$$\tilde{c}_{O\xi} = \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.48a)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.48b)$$

Estas ecuaciones indican la continuidad de las desviaciones y del flux y fueron posibles debido a las suposiciones de equilibrio local másico y de igualdad de los coeficientes de difusión. Por último, se imponen las condiciones de periodicidad en las superficies de entrada y salida de la celda unitaria periódica donde se resolverá el problema de las desviaciones de la concentración

$$\psi(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \psi(\mathbf{r}), \quad \psi = \tilde{c}_{O\beta}, \tilde{c}_{O\xi}, \tilde{c}_{O\mu}; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.49)$$

y la siguiente restricción promedio para acotar los campos de las variables de desviación

$$\langle \tilde{c}_{O\beta} \rangle^\beta = 0; \quad \langle \tilde{c}_{O\xi} \rangle^\xi = 0; \quad \langle \tilde{c}_{O\mu} \rangle^\mu = 0 \quad (8.50)$$

8.2.3 Problema de cerradura para el oxígeno

Para esta especie química, el problema de las desviaciones en su forma simplificada está dado por las siguientes ecuaciones

$$\nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\beta} = \frac{1}{V_{\beta}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta}) dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.51a)$$

$$\begin{aligned} \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\xi} &= -\frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) dA + \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\eta O}} \mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) dA \\ &+ \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\xi\mu}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}) dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \end{aligned} \quad (8.51b)$$

$$\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{O\mu} = \frac{1}{V_{\mu}} \int_{\mathcal{A}_{\xi\mu}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\mu}) dA + \frac{\kappa_O k_O}{\mathcal{D}_{O\xi}} \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.51c)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O - 1) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.51d)$$

$$\alpha_O \tilde{c}_{O\xi} = \tilde{c}_{O\beta} + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \gamma_O \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_O \gamma_O \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.51e)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathcal{D}_{O\sigma} \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathcal{D}_{O\sigma} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.51f)$$

$$\tilde{c}_{O\xi} = \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.51g)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.51h)$$

$$\boldsymbol{\psi}(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \boldsymbol{\psi}(\mathbf{r}), \quad \boldsymbol{\psi} = \tilde{c}_{O\beta}, \tilde{c}_{O\xi}, \tilde{c}_{O\mu}; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.51i)$$

$$\langle \tilde{c}_{O\beta} \rangle^{\beta} = 0; \quad \langle \tilde{c}_{O\xi} \rangle^{\xi} = 0; \quad \langle \tilde{c}_{O\mu} \rangle^{\mu} = 0 \quad (8.51j)$$

Este es un problema lineal, por lo que su solución formal contiene solo una variable de cerradura y puede expresarse en términos de la única fuente como sigue

$$\tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{b}_{O\beta} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.52a)$$

$$\tilde{c}_{O\xi} = \mathbf{b}_{O\xi} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.52b)$$

$$\tilde{c}_{O\mu} = \mathbf{b}_{O\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.52c)$$

En donde $\mathbf{b}_{O\beta}$, $\mathbf{b}_{O\xi}$ y $\mathbf{b}_{O\mu}$ son variables de cerradura que resuelven el siguiente problema de valor

a la frontera en una geometría periódica

$$\nabla_{\mathbf{y}}^2 \mathbf{b}_{O\beta} = \frac{1}{V_{\beta}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\beta}) dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.53a)$$

$$\begin{aligned} \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \mathbf{b}_{O\xi} &= -\frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}) dA + \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\eta O}} \mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}) dA \\ &+ \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}) dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \end{aligned} \quad (8.53b)$$

$$\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^2 \mathbf{b}_{O\mu} = \frac{1}{V_{\mu}} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\mu\xi} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\mu}) dA + \frac{\kappa_O k_O}{\mathcal{D}_{O\xi}} \mathbf{b}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.53c)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} (\kappa_O - 1) + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.53d)$$

$$\alpha_O \mathbf{b}_{O\xi} = \mathbf{b}_{O\beta} + \mathbf{n}_{\beta\delta} \gamma_O + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_O \gamma_O \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.53e)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\sigma\eta O}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.53f)$$

$$\mathbf{b}_{O\xi} = \mathbf{b}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.53g)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.53h)$$

$$\psi(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \psi(\mathbf{r}), \quad \psi = \mathbf{b}_{O\beta}, \mathbf{b}_{O\xi}, \mathbf{b}_{O\mu}; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.53i)$$

$$\langle \mathbf{b}_{O\beta} \rangle^{\beta} = \mathbf{0}; \langle \mathbf{b}_{O\xi} \rangle^{\xi} = \mathbf{0}; \langle \mathbf{b}_{O\mu} \rangle^{\mu} = \mathbf{0}; \quad (8.53j)$$

Con esta información se procede en los siguientes párrafos a la deducción del modelo macroscópico cerrado para el O_2 . Se sustituye la solución formal del problema de las desviaciones en los filtros del modelo no cerrado para obtener el modelo promedio cerrado o de medio efectivo

8.2.4 Modelo promedio cerrado para la transferencia de O_2

Regresando la atención a la ecuación (8.33), se multiplican ambos lados por la suma de las fracciones volumétricas para obtener la siguiente expresión

$$\begin{aligned} (\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma}) \langle \mathbf{j}_O \rangle &= -(\varepsilon_{\beta} \mathcal{D}_{O\beta} + \varepsilon_{\sigma} \mathcal{D}_{O\sigma}) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle - \varepsilon_{\beta} \mathcal{D}_{O\beta} \langle \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\beta} \rangle^{\beta} \\ &\quad - \varepsilon_{\xi} \mathcal{D}_{O\xi} \langle \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\xi} \rangle^{\xi} - \varepsilon_{\mu} \mathcal{D}_{O\mu} \langle \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{O\mu} \rangle^{\mu} \end{aligned} \quad (8.54)$$

Utilizando el teorema del promediado espacial, la ecuación anterior se puede expresar de la siguiente forma

$$\begin{aligned}
(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma)\langle \mathbf{j}_O \rangle = & -(\varepsilon_\beta \mathcal{D}_{O\beta} + \varepsilon_\sigma \mathcal{D}_{O\sigma}) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle - \frac{\mathcal{D}_{O\beta}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \tilde{c}_{O\beta} dA + \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \tilde{c}_{O\xi} dA \\
& - \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\eta\sigma}} \mathbf{n}_{\sigma\eta} \tilde{c}_{O\xi} dA - \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \tilde{c}_{O\xi} dA + \frac{\mathcal{D}_{O\mu}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \tilde{c}_{O\mu} dA
\end{aligned} \tag{8.55}$$

Note que, debido a la condición de continuidad en la interfase citosol-mitocondria (ecuación 8.51g) y a que $\mathcal{D}_{O\xi} = \mathcal{D}_{O\mu} = \mathcal{D}_{O\sigma}$, los últimos dos términos en el lado derecho de la ecuación anterior se cancelan entre sí. Sustituyendo en la ecuación (8.55) la solución formal dada en las ecuaciones (8.52) da como resultado la siguiente expresión para el flux difusivo de masa a escala macroscópica

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma)\langle \mathbf{j}_O \rangle = -\mathbf{D}'_{Oef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle \tag{8.56}$$

En donde se definió al tensor de difusión efectiva del oxígeno como

$$\mathbf{D}'_{Oef} = (\varepsilon_\beta \mathcal{D}_{O\beta} + \varepsilon_\sigma \mathcal{D}_{O\sigma}) \mathbf{I} + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} (\mathcal{D}_{O\beta} \mathbf{b}_{O\beta} - \mathcal{D}_{O\xi} \mathbf{b}_{O\xi}) dA + \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\eta\sigma}} \mathbf{n}_{\sigma\eta} \mathbf{b}_{O\xi} dA \tag{8.57}$$

De esta forma, al sustituir la ecuación (8.56) en la ecuación (8.27) se obtiene que

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma) \frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}'_{Oef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle) + (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma) \langle R_O(\mathbf{r}) \rangle \tag{8.58}$$

Ya que se consideran condiciones de equilibrio local másico, a partir de la ecuación (8.28), el último término del lado derecho de la ecuación anterior se expresa de la siguiente manera

$$\langle R_O(\mathbf{r}) \rangle = -\frac{\varepsilon_\mu}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma} k_O \langle c_O \rangle \tag{8.59}$$

Con esta expresión, la ecuación (8.58) puede escribirse como

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma) \frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}'_{Oef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle) - \varepsilon_\mu k_O \langle c_O \rangle \tag{8.60}$$

Al dividir ambos lados entre la suma de las fracciones volumétricas, la ecuación anterior puede reformularse como se presenta a continuación

$$\frac{\partial \langle c_O \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}_{Oef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle) - \frac{\varepsilon_{\mu}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma}} k_O \langle c_O \rangle \quad (8.61)$$

\mathbf{D}_{Oef} representa al tensor de difusividad efectiva del oxígeno y se define de la siguiente manera

$$\mathbf{D}_{Oef} = \frac{\mathbf{D}'_{Oef}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma}} \quad (8.62)$$

8.2.5 Método de promediado para la especie S

Como se mencionó antes, la aplicación y el procedimiento para aplicar el método de promediado para la especie S es muy similar al ya desarrollado en las secciones 8.2.1-8.2.4. Por este motivo, se describirán principalmente las diferencias que se presentan en cada sección de promediado y las ecuaciones resultantes.

En el caso de los soforolípidos, se toma en cuenta que el volumen de promediado \mathcal{V} está conformado por dos fases: \mathcal{V}_{β} y \mathcal{V}_{ξ} , ya que a diferencia del O_2 , esta especie no se difunde ni reacciona dentro de las mitocondrias.

Al aplicar el operador de promediado a la ecuación a escala microscópica (8.19a), se obtiene la siguiente expresión

$$\frac{\partial \langle c_S \rangle}{\partial t} + \langle \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_S \rangle = \langle R_S(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.63)$$

De acuerdo a la definición dada en la ecuación (8.24b) en el término de la reacción, se obtiene lo siguiente

$$\langle R_S(\mathbf{r}) \rangle = \frac{1}{V_{\beta} + V_{\xi}} \int_{\mathcal{V}} R_S dV = \frac{1}{V_{\beta} + V_{\xi}} \int_{\mathcal{V}_{\xi}} k_S \ln \left| \frac{c_{S\xi}^{\text{máx}}}{c_{S\xi}} \right| dV \quad (8.64)$$

Es importante poner particular atención a la tasa de reacción en la fase ξ para la especie S. En la ecuación (8.64), es evidente que se trata de una cinética no lineal, lo cual complica el proceso de escalamiento. Para atender esta situación, se aplica la descomposición espacial de Gray al término

de la concentración $c_{S\xi}$ que se encuentra en el denominador del logaritmo natural

$$c_{S\xi} = \langle c_{S\xi} \rangle^\xi + \tilde{c}_{S\xi} \quad (8.65)$$

Además se impone la suposición de equilibrio local másico, es decir $\langle c_{S\xi} \rangle^\xi = \langle c_S \rangle$, para obtener la siguiente expresión

$$k_S \ln \left| \frac{c_{S\xi}^{\text{máx}}}{c_{S\xi}} \right| = k_S \ln \left| \frac{c_{S\xi}^{\text{máx}}}{\langle c_S \rangle + \tilde{c}_{S\xi}} \right|, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi. \quad (8.66)$$

Esta ecuación es no lineal, tanto para la concentración promedio como para sus desviaciones. Lo primero es aceptable para el modelo promedio que se deduce mas adelante, pero lo segundo es un obstáculo importante para el proceso de cerradura. Para superar esta última dificultad, se impone la siguiente suposición

$$\langle c_S \rangle \gg \tilde{c}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi. \quad (8.67)$$

Bajo estas condiciones, la tasa de reacción representada en la ecuación (8.66) se puede expresar de la siguiente forma aproximada

$$k_S \ln \left| \frac{c_{S\xi}^{\text{máx}}}{\langle c_S \rangle} \right| = K_S^M, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.68)$$

donde K_S^M representa un coeficiente de reacción modificada para la producción de soforolípidos. Una vez que se obtiene este coeficiente, el promedio del término de reacción para la especie S se expresa de la siguiente forma

$$\langle R_S(\mathbf{r}) \rangle = \frac{1}{V_\beta + V_\xi} \int_{\mathcal{V}} R_S dV = \frac{1}{V_\beta + V_\xi} \int_{\mathcal{V}_\xi} R_{S\xi} dV = \frac{\varepsilon_\xi}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} K_S^M \langle c_S \rangle \quad (8.69)$$

Al sustituir la ley de Fick y aplicar la descomposición espacial de Gray en la ecuación (8.63) se obtiene el modelo promedio no cerrado de transporte de masa de la especie S

$$\frac{\partial \langle c_S \rangle}{\partial t} - \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\langle \mathcal{D}_S(\mathbf{r}) \rangle \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle + \langle \mathcal{D}_S(\mathbf{r}) \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_S \rangle) = \langle R_S(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.70)$$

Se plantea a continuación el problema de cerradura en términos de las desviaciones de la concentra-

ción \tilde{c}_S . Este problema se resuelve en una celda unitaria periódica.

8.2.6 Problema de cerradura

Las ecuaciones diferenciales y condiciones de frontera que representan el problema simplificado de las desviaciones para los soforolípidos son las siguientes

$$\nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{S\beta} = \frac{1}{V_{\beta}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\beta}) dA, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.71a)$$

$$\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^2 \tilde{c}_{S\xi} = -\frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\xi}) dA + \frac{1}{V_{\xi}} \int_{\mathcal{A}_{\eta S}} \mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\xi}) dA - \frac{\kappa_S K_S^M}{\mathcal{D}_{S\xi}} \tilde{c}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.71b)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_S - 1) \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.71c)$$

$$\alpha_S \tilde{c}_{S\xi} = \tilde{c}_{S\beta} + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \gamma_S \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_S \gamma_S \nabla_{\mathbf{y}} \tilde{c}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.71d)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{c}_{S\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.71e)$$

$$\boldsymbol{\psi}(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \boldsymbol{\psi}(\mathbf{r}), \quad \boldsymbol{\psi} = \tilde{c}_{S\beta}, \tilde{c}_{S\xi}; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.71f)$$

$$\langle \tilde{c}_{S\beta} \rangle^{\beta} = 0; \quad \langle \tilde{c}_{S\xi} \rangle^{\xi} = 0 \quad (8.71g)$$

La diferencia entre el problema de cerradura del O_2 y los soforolípidos, reside en la fase donde hay reacción de cada especie y la consideración del efecto de los organelos presentes en la célula en el transporte por difusión. Las ecuaciones (8.51b) y (8.71b) representan el transporte de masa en la fase- ξ , es decir, dentro de la célula para cada especie respectivamente. En el caso del oxígeno se consideran las fronteras de los organelos donde no hay difusión de esta especie. Para los soforolípidos aparte de considerar el espacio donde no se difunde, el tercer término de la ecuación (8.71b) representa la reacción de producción de esta especie. Además, el problema de cerradura del O_2 tiene una ecuación integral más (ec.8.51c), la cuál expresa el transporte por difusión dentro de las mitocondrias y la reacción de consumo de esta especie en ellas.

Ya que la difusión de soforolípidos se presenta solo en dos fases del sistema estudiado, y el problema de cerradura es lineal, se proponen dos soluciones formales con una variable de cerradura

ya que solo hay una fuente.

$$\tilde{c}_{S\beta} = \mathbf{b}_{S\beta} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.72a)$$

$$\tilde{c}_{S\xi} = \mathbf{b}_{S\xi} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.72b)$$

En donde $\mathbf{b}_{S\beta}$ y $\mathbf{b}_{S\xi}$ son variables de cerradura que resuelven el siguiente problema de valor a la frontera en una geometría periódica

$$\nabla_{\mathbf{y}}^2 \mathbf{b}_{S\beta} = \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\beta} \, dA \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.73a)$$

$$\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^2 \mathbf{b}_{S\xi} = -\frac{1}{V_\xi} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\xi}) \, dA + \frac{1}{V_\xi} \int_{\mathcal{A}_{\eta S}} \mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\xi}) \, dA - \frac{\kappa_S k_S^M}{\mathcal{D}_{S\xi}} \mathbf{b}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.73b)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\beta} = \mathbf{n}_{\beta\delta} (\kappa_S - 1) + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_S \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.73c)$$

$$\alpha_S \mathbf{b}_{S\xi} = \mathbf{b}_{S\beta} + \mathbf{n}_{\beta\delta} \gamma_S + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_S \gamma_S \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.73d)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{S\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\eta S}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.73e)$$

$$\psi(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \psi(\mathbf{r}), \quad \psi = \mathbf{b}_{S\beta}, \mathbf{b}_{S\xi}; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.73f)$$

$$\langle \mathbf{b}_{S\beta} \rangle^\beta = \mathbf{0}; \quad \langle \mathbf{b}_{S\xi} \rangle^\xi = \mathbf{0} \quad (8.73g)$$

8.2.7 Modelo cerrado para soforolípidos

Siguiendo el mismo procedimiento para deducir el modelo promedio cerrado ahora para la especie S

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi) \langle \mathbf{j}_S \rangle = -\mathbf{D}'_{Sef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle \quad (8.74)$$

En donde se definió al tensor de difusión efectiva de los soforolípidos como

$$\mathbf{D}'_{Sef} = (\varepsilon_\beta \mathcal{D}_{S\beta} + \varepsilon_\xi \mathcal{D}_{S\xi}) \mathbf{I} + \frac{1}{V} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} (\mathcal{D}_{S\beta} \mathbf{b}_{S\beta} - \mathcal{D}_{S\xi} \mathbf{b}_{S\xi}) \, dA + \frac{\mathcal{D}_{S\xi}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\eta S}} \mathbf{n}_{\xi\eta} \mathbf{b}_{S\xi} \, dA \quad (8.75)$$

De esta forma, al sustituir la ecuación (8.75) en la ecuación (8.19a), siguiendo una metodología

similar a la especie O , se obtiene que

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi) \frac{\partial \langle c_S \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}'_{Sef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle) + (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi) \langle R_S(\mathbf{r}) \rangle \quad (8.76)$$

Dirigiendo la atención al último término en el lado derecho, se tiene de la ecuación (8.69), bajo condiciones de equilibrio local másico, la siguiente expresión para la tasa de reacción

$$\langle R_S(\mathbf{r}) \rangle = \frac{\varepsilon_\xi}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} K_S^M \langle c_S \rangle \quad (8.77)$$

De esta forma, la ecuación (8.76) puede escribirse como

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi) \frac{\partial \langle c_S \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}'_{Sef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle) + \varepsilon_\xi k_S \ln \left| \frac{c_{\xi}^{\text{máx}}}{\langle c_S \rangle} \right| \langle c_S \rangle \quad (8.78)$$

donde además se sustituyó la ecuación (8.68). Ciertamente, la ecuación anterior puede reformularse de la siguiente forma al dividir ambos lados entre la suma de las fracciones volumétricas:

$$\frac{\partial \langle c_S \rangle}{\partial t} = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}_{Sef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle) + \frac{\varepsilon_\xi}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} k_S \ln \left| \frac{c_{\xi}^{\text{máx}}}{\langle c_S \rangle} \right| \langle c_S \rangle \quad (8.79)$$

En la ecuación anterior, se usó el siguiente cambio de variable

$$\mathbf{D}_{Sef} = \frac{\mathbf{D}'_{Sef}}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} \quad (8.80)$$

Las ecuaciones (8.61) y (8.79) son el resultado de aplicar la técnica de promediado que se ha ido describiendo y representan a los modelos macroscópicos o de medio efectivo para la transferencia de O_2 y soforolípidos respectivamente. Estos modelos describen el transporte de masa en forma promedio en la escala celular.

8.2.8 Problemas de cerradura adimensionales

Se plantean los siguientes parámetros y variables adimensionales, ya que al manejarlos de esta forma, se reducen los grados de libertad en las ecuaciones de los problemas de cerradura.

$$\nabla^* = \ell \nabla; \quad \mathbf{b}_S^* = \frac{\mathbf{b}_S}{\ell}; \quad \mathbf{b}_{O^*} = \frac{\mathbf{b}_O}{\ell}; \quad \gamma^* = \frac{\gamma}{\ell}; \quad \phi_S^2 = \frac{k_S^M \ell^2}{\mathcal{D}_{S\xi}}; \quad \phi_O^2 = \frac{k_O \ell^2}{\mathcal{D}_{O\xi}} \quad (8.81)$$

De esta forma, la versión adimensional del problema de cerradura para el oxígeno se expresa como sigue

$$\nabla_{\mathbf{y}}^{*2} \mathbf{b}_{O\beta}^* = \frac{1}{V_{\beta}^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\beta}^*) dA^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.82a)$$

$$\begin{aligned} \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^{*2} \mathbf{b}_{O\xi}^* &= -\frac{1}{V_{\xi}^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^*) dA^* + \frac{1}{V_{\xi}^*} \int_{\mathcal{A}_{\eta O}} \mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^*) dA^* \\ &+ \frac{1}{V_{\xi}^*} \int_{\mathcal{A}_{\xi\mu}} \mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^*) dA^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \end{aligned} \quad (8.82b)$$

$$\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^{*2} \mathbf{b}_{O\mu}^* = \frac{1}{V_{\mu}^*} \int_{\mathcal{A}_{\mu\xi}} \mathbf{n}_{\mu\xi} \cdot (\kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\mu}^*) dA^* + \kappa_O \phi_O^2 \mathbf{b}_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\mu} \quad (8.82c)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\beta}^* = \mathbf{n}_{\beta\delta} (\kappa_O - 1) + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_O \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.82d)$$

$$\alpha_O \mathbf{b}_{O\xi}^* = \mathbf{b}_{O\beta}^* + \mathbf{n}_{\beta\delta} \gamma_O^* + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_O \gamma_O^* \nabla_{\mathbf{y}} \mathbf{b}_{O\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.82e)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^* = -\mathbf{n}_{\sigma\eta O}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.82f)$$

$$\mathbf{b}_{O\xi}^* = \mathbf{b}_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.82g)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\xi}^* = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.82h)$$

$$\psi(\mathbf{r}^* + \mathbf{l}_i^*) = \psi(\mathbf{r}^*), \quad \psi = \mathbf{b}_{O\beta}^*, \mathbf{b}_{O\xi}^*, \mathbf{b}_{O\mu}^*; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.82i)$$

$$\langle \mathbf{b}_{O\beta}^* \rangle^{\beta} = \mathbf{0}; \quad \langle \mathbf{b}_{O\xi}^* \rangle^{\xi} = \mathbf{0}; \quad \langle \mathbf{b}_{O\mu}^* \rangle^{\mu} = \mathbf{0}; \quad (8.82j)$$

También se expresa de manera adimensional al tensor de difusividad efectiva del oxígeno como

$$\frac{\mathbf{D}'_{Oef}}{\mathcal{D}_{O\beta}} = (\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\sigma} \kappa_O) \mathbf{I} + \frac{1}{V^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} (\mathbf{b}_{O\beta}^* - \kappa_O \mathbf{b}_{O\xi}^*) dA^* + \frac{\kappa_O}{V^*} \int_{\mathcal{A}_{\eta O}} \mathbf{n}_{\sigma\eta O} \mathbf{b}_{O\xi}^* dA^* \quad (8.83)$$

De forma similar al problema de cerradura adimensional para la especie O, se plantea para la

especie S.

$$\nabla_{\mathbf{y}}^{2*} \mathbf{b}_{S\beta}^* = \frac{1}{V_{\beta}^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\beta}^* dA^* \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.84a)$$

$$\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^{2*} \mathbf{b}_{S\xi}^* = -\frac{1}{V_{\xi}^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\xi}^*) dA^* + \frac{1}{V_{\xi}^*} \int_{\mathcal{A}_{\eta S}} \mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot (\kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\xi}^*) dA^* - \kappa_S \phi_S^2 \mathbf{b}_{S\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.84b)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\beta}^* = \mathbf{n}_{\beta\delta} (\kappa_S - 1) + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_S \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.84c)$$

$$\alpha_S \mathbf{b}_{S\xi}^* = \mathbf{b}_{S\beta}^* + \mathbf{n}_{\beta\delta} \gamma_S^* + \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \alpha_S \gamma_S^* \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.84d)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \nabla_{\mathbf{y}}^* \mathbf{b}_{S\xi}^* = -\mathbf{n}_{\xi\eta S}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.84e)$$

$$\psi(\mathbf{r}^* + \mathbf{l}_i^*) = \psi(\mathbf{r}^*), \quad \psi = \mathbf{b}_{S\beta}^*, \mathbf{b}_{S\xi}^*; \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.84f)$$

$$\langle \mathbf{b}_{S\beta}^* \rangle^{\beta} = \mathbf{0}; \quad \langle \mathbf{b}_{S\xi}^* \rangle^{\xi} = \mathbf{0} \quad (8.84g)$$

De igual manera se plantea de forma adimensional al tensor de difusión efectiva para los soforolípidos.

$$\frac{\mathbf{D}'_{Sef}}{\mathcal{D}_{S\beta}} = (\varepsilon_{\beta} + \kappa_S \varepsilon_{\xi}) \mathbf{I} + \frac{1}{V^*} \int_{\mathcal{A}_{\beta\delta}} \mathbf{n}_{\beta\delta} \left(\mathbf{b}_{S\beta}^* - \kappa_S \mathbf{b}_{S\xi}^* \right) dA^* + \frac{\kappa_S}{V^*} \int_{\mathcal{A}_{\eta S}} \mathbf{n}_{\xi\eta S} \mathbf{b}_{S\xi}^* dA^* \quad (8.85)$$

Los problemas anteriores se resuelven numéricamente usando el programa Comsol Multiphysics; al conocer los campos de las variables de cerradura, se utilizan para calcular las componentes del tensor de difusividad efectiva correspondiente a cada especie.

8.3 Discusión: Análisis de la escala celular

Se representa a la levadura *Starmerella bombicola* dentro de una celda periódica unitaria, con una geometría simplificada como se muestra en la Figura 8.2, donde se consideran los organelos que pueden representar un obstáculo para la difusión y que participan en la producción de soforolípidos y en el consumo de O_2 . En esta geometría, la levadura se representa como un elipsoide, fuera de ella se encuentra el fluido extracelular y su fracción volumétrica (ε_{β}) es de 0.85. Dentro de la levadura se encuentra el citosol, cuya fracción volumétrica (ε_{ξ}) es del 0.11. Se colocó una esfera como geometría simplificada, que representa aproximadamente el 20% del volumen ocupado por las mitocondrias (\mathcal{V}_{μ}) dentro del citosol (Lorenzo, 2019), la fracción volumétrica (ε_{μ}) ocupada por esta

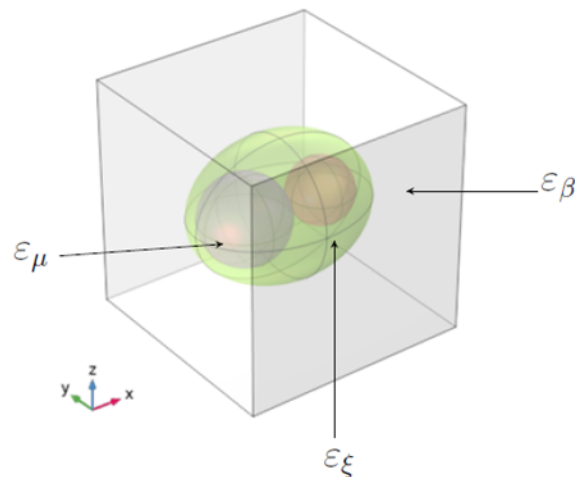


Figura 8.2. Esquema de la celda unitaria periódica utilizada para la solución del problema de cerradura en la biopelícula. ε_{μ} :Fracción volumétrica ocupada por las mitocondrias. ε_{ξ} :Fracción volumétrica ocupada por el citosol. ε_{β} :Fracción volumétrica ocupada por el fluido extracelular.

esfera es del 0.027. Por último, también se consideró al núcleo ya que representa un obstáculo para la difusión, ocupando entre un 8%-10% del total de una célula eucarionte (Bruce, 2015), siendo su fracción volumétrica de 0.013.

El problema de cerradura para cada especie se resolvió usando el software de elemento finito Comsol Multiphysics 5.6, se utilizó un resolvidor directo en un esquema donde las ecuaciones en cada fase estaban totalmente acopladas. Además, en la condición de frontera dada en las ecuaciones (8.84d) y (8.82e) se utilizó una restricción débil enfocada en las variables dependientes individuales para facilitar la convergencia del programa. Mas aún, se llevaron a cabo pruebas rutinarias de convergencia de malla, con el fin de elegir una que genere simulaciones precisas y consistentes. Se seleccionó una malla fina donde la forma de los elementos fue tetraédrica, con 31,623 elementos de dominio y 3,444 elementos en las fronteras ya que el error con respecto a mallas con más elementos no fue mayor al 2%.

Se establecieron valores basados en la revisión bibliográfica para los grados de libertad en la formulación adimensional de los problemas de cerradura, siendo la razón de las difusividades moleculares κ y el inverso del número de Biot $\gamma^* = \gamma/\ell$ (donde ℓ representa el largo de cada lado de la celda unitaria) la resistencia en la membrana a la difusividad (Wood y Whitaker, 1998; Valdés-Parada y *col.*, 2019). Estos parámetros son los que tienen mayor influencia sobre la transferencia de masa por transporte difusivo; cabe mencionar que κ y γ son parámetros específicos para cada especie. Se establecieron rangos de valores para los grados de libertad κ [0.1,10] (Wood y Whitaker,

1998), $\gamma^*[0,10]$ (Wood y Whitaker, 1998), y el módulo de Thiele $\phi^2 = k\ell^2/\mathcal{D}_\xi$ el cual indica la relación entre la reacción y la difusión con valores de $[0.01, 1]$ (Valdés-Parada y col., 2019); donde κ , γ^* y ϕ^2 corresponden a cada especie química.

La explicación física para cada valor establecido es el siguiente

- $\kappa = 0.1$, $\gamma^* = 0$: El transporte por difusión es 10 veces menor dentro de la célula, no hay resistencia en la membrana celular a la transferencia de masa.
- $\kappa = 0.1$, $\gamma^* = 10$: El transporte por difusión es 10 veces menor dentro de la célula, hay resistencia en la membrana celular a la transferencia de masa.
- $\kappa = 10$, $\gamma^* = 0$: El transporte por difusión es 10 veces más rápido dentro de la célula, no hay resistencia en la membrana celular a la transferencia de masa.
- $\kappa = 10$, $\gamma^* = 10$: El transporte por difusión es 10 veces más rápido dentro de la célula, hay resistencia en la membrana celular a la transferencia de masa.

Cada uno de estos casos se puede favorecer por diversas condiciones en el sistema biológico. Por ejemplo, el contenido de humedad, un alto contenido de humedad provoca descensos de la porosidad y por consiguiente de la difusión de O_2 (Pastrana, 1996). Por lo tanto, una vez consumido el O_2 por la célula no tiene problemas para difundirse dentro de ella pero fuera de ella se va a ver reducida la difusión. Otro parámetro que se debe controlar es la temperatura. Esta interacciona con la actividad de agua, La actividad microbiana se desacelera o se detiene y puede traer problemas con la difusión de las especies dentro de la célula. Una temperatura inferior a la óptima reduce la productividad del microorganismo (Pastrana, 1996). El grosor, la geometría y la compactación de la biopelícula son elementos que van a complicar la difusión de especies fuera de la célula (on Biofilm Modeling, 2006). Igualmente la contaminación con otros microorganismos que a su vez formen micelios o impurezas que estén presentes en la biopelícula por el uso de residuos agroindustriales, dificulta la difusividad de O_2 . Por otro lado, una correcta tasa de aireación que se establece de acuerdo al requerimiento del microorganismo va a favorecer la difusión fuera de la célula junto con una adecuada eliminación de CO_2 por agitación. En el caso de la resistencia a la membrana esta se ve afectada en la etapa de la producción de los soforolípidos, ya que estos actúan reduciendo la tensión interfacial sobre la bicapa lipídica, aumentando su solubilidad y por consecuencia, reduciendo la resistencia de ésta (Franco y col., 2021). También problemas en la expresión del conjunto de genes que codifican a las proteínas transportadoras para los soforolípidos dificultarán su difusión fuera de la célula ya que tendrán problemas para ser expulsados.

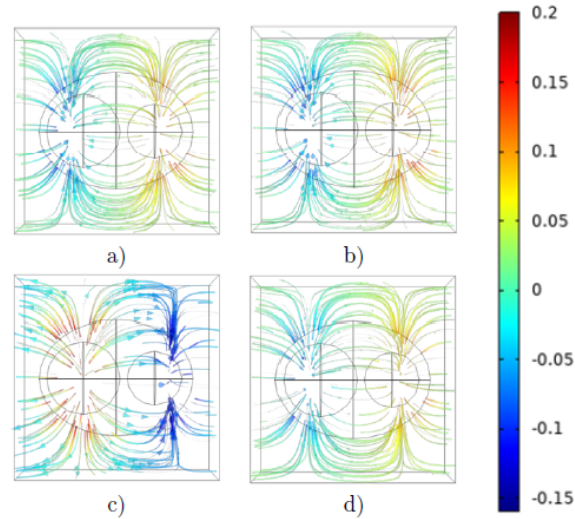
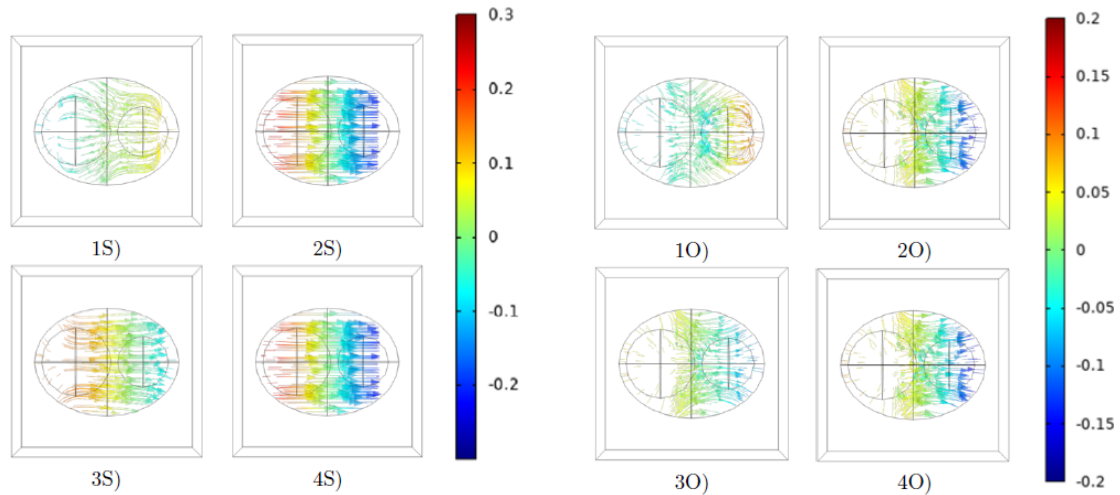


Figura 8.3. Ejemplos de los campos de la componente x de la variable de cerradura $\mathbf{b}_{S\beta}^*$ para los soforolpidos en el fluido extracelular, para diferentes valores de la relación de difusividades κ_S con variaciones en la resistencia en la membrana γ_S^* . a) $\kappa_S = 0.1, \gamma_S^* = 0$. b) $\kappa_S = 0.1, \gamma_S^* = 10$. c) $\kappa_S = 10, \gamma_S^* = 0$. d) $\kappa_S = 10, \gamma_S^* = 10$.

La solución del problema de cerradura en \mathcal{V}_β se ejemplifica para la especie S en la Figura 8.3 ya que para el O_2 se obtuvieron resultados similares. En las Figuras 8.4 y 8.5 se presenta la solución para la componente x de las variables $\mathbf{b}_{S\xi}^*$ y $\mathbf{b}_{O\xi}^*$ respectivamente en el dominio \mathcal{V}_ξ y \mathcal{V}_μ . En los perfiles reportados las flechas representan al gradiente de los campos de la variable de cerradura; en la Figura 8.3 se representan los campos de valores de la componente x de la variable $\mathbf{b}_{S\beta}^*$ para diferentes valores de κ_S y γ_S^* . Se puede apreciar la formación de un dipolo, con valores positivos para las flechas que van de la membrana celular hacia la biopelícula, y valores negativos en dirección contraria. Los valores de la variable de cerradura aumentan en la interfase $\mathcal{A}_{\beta\delta}$ y conforme se aleja sus valores disminuyen, estando dentro de un rango de $[-0.15, 0.2]$. Este efecto se debe a que al irse alejando de la célula, esta deja de representar un obstáculo para la difusión de las especies, siendo el perfil c) con las condiciones más favorecedoras, ya que no hay resistencia en la membrana y la difusión dentro de ella se da con mayor facilidad. Para el perfil a) aún sin tener resistencia en la membrana, la difusión dentro de la célula se complica, ya que es más lenta. En el perfil b) hay resistencia en la membrana, pero aún, la difusión dentro de la célula es menor que fuera de ella. En el perfil d) aunque la difusión se dé con mayor facilidad dentro que fuera de la célula, esta se complica ya que hay resistencia en la membrana celular. Estos últimos 3 perfiles mencionados son casos similares ya que de alguna manera la difusión no se ve favorecida, por lo tanto κ_S y γ_S^* no presentaron un efecto considerable sobre los valores de $b_{xS\beta}^*$.



(a) Ejemplos de los campos de la componente x de la variable de cerradura $\mathbf{b}_{S\xi}^*$, para los soforolípidos dentro de la célula

(b) Ejemplos de los campos de la componente x de la variable de cerradura $\mathbf{b}_{O\xi}^*$, para el O_2 dentro de la célula.

Figura 8.4. Ejemplos de los campos de la componente x de las variables de cerradura \mathbf{b}_{ξ}^* para diferentes valores de la relación de difusividades κ con variaciones en la resistencia en la membrana γ^* dentro de la célula. 1 S/O) $\kappa = 0.1, \gamma^* = 0$. 2 S/O) $\kappa = 0.1, \gamma^* = 10$. 3 S/O) $\kappa = 10, \gamma^* = 0$. 4 S/O) $\kappa = 10, \gamma^* = 10$.

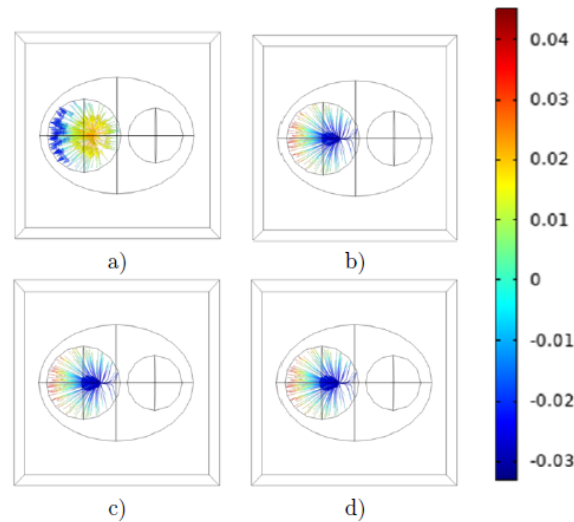


Figura 8.5. Ejemplos de los campos de la componente x de la variable de cerradura $\mathbf{b}_{O\mu}$ para diferentes valores de la relación de difusividades κ_O con variaciones en la resistencia en la membrana γ_O^* , para el O_2 dentro de las mitocondrias. a) $\kappa_O = 0.1, \gamma_O^* = 0$. b) $\kappa_O = 0.1, \gamma_O^* = 10$. c) $\kappa_O = 10, \gamma_O^* = 0$. d) $\kappa_O = 10, \gamma_O^* = 10$.

En la Figura 8.4a, se reportan los campos de valores de la componente x para la variable $\mathbf{b}_{S\xi}^*$. En los perfiles de la variable de cerradura se puede apreciar la formación de dipolos dentro de la célula. En las interfases entre el citosol y los organelos de la célula aumentan los valores de $b_{xS\xi}^*$, esto debido a que estos organelos dificultan el transporte por difusión, siendo en las zonas lejanas

a estas interfases donde los valores de $b_{xS\xi}^*$ son aproximadamente 0, ya que dejan de representar un obstáculo. En el perfil 1S), la difusividad dentro de la célula va a ser menor que fuera de ella, mas aún, no hay resistencia en la membrana, esto se refleja en los valores de $b_{xS\xi}^*$, ya que son menores con un rango de [-0.1, 0.1]. En el perfil 2S), al aumentar la resistencia en la membrana, se dificulta la difusión de la especie S, por lo tanto los valores de $b_{xS\xi}^*$ también aumentan en un rango de [-0.3, 0.3]. En los perfiles 3S) y 4S) sucede el mismo fenómeno, al incrementar la resistencia en la membrana, se dificulta el transporte difusivo en el citosol y como consecuencia, aumenta el campo de valores de la variable de cerradura. El mismo fenómeno sucede en la Figura 8.4b para la variable $b_{xO\xi}^*$, cabe resaltar que en este caso, esta variable comienza a tomar relevancia a partir de la zona entre la mitocondria y el núcleo, esto se debe a que la especie O ingresa a la célula, reacciona dentro de la mitocondria, y posteriormente una fracción es expulsada nuevamente a la célula. En general, los campos de las variables de cerradura mapean la influencia de las fuentes sobre las desviaciones, al haber mas resistencias a la transferencia de masa, es razonable pensar que la concentración no es uniforme en toda la celda unitaria y por ello aumentan los valores de los campos de las desviaciones.

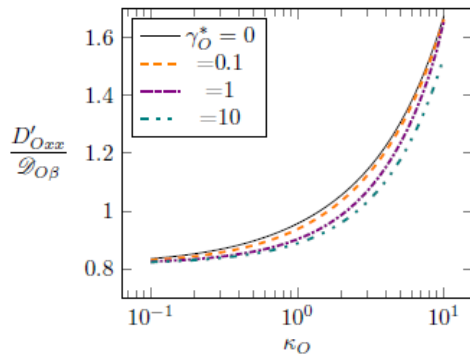
Además, como se observa en la Figura 8.5, haciendo el mismo análisis sobre la variable de cerradura $b_{xO\mu}^*$, se observa un efecto similar respecto a la variación de γ^* , al aumentar la resistencia en la membrana celular, el campo de valores de $b_{xO\mu}^*$ incrementa; tal es el caso del perfil a), al no haber resistencia en la membrana celular, la difusión de oxígeno se ve favorecida y los valores de la variable $b_{xO\mu}^*$ son prácticamente 0. Estos efectos en los valores de las variables de cerradura, se traducen en que las desviaciones de la concentraciones respecto a su valor promedio deben aumentar. En general, el efecto que se observa de κ es que al complicar la difusión dentro de la célula ($\kappa < 1$), esto va a afectar sobre la difusión global de la célula y por ende a a difusividad efectiva. Al aumentar el valor de γ , también se está complicando la difusión de las especies ya que representa una mayor resistencia en la membrana y pared celular, teniendo el mismo efecto sobre la difusividad efectiva ya que se “empobrece” el transporte difusivo. El primer parámetro representa las complicaciones en las fases, y el segundo es las complicaciones en las interfases. Como puede apreciarse, al contar con organelos dentro de la célula y al aumentar γ^* , se complica el transporte por difusión en la celda unitaria.

Al contar con los resultados de la solución de los problemas de cerradura para ambas especies, se pueden calcular las componentes de los tensores de difusividad \mathbf{D}'_{Sef} y \mathbf{D}'_{Oef} . Para analizar el

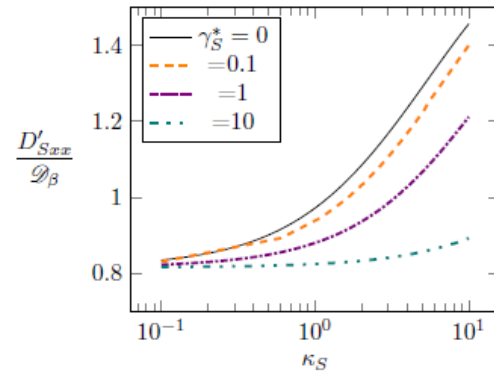
efecto que tienen los parámetros κ y γ^* sobre los tensores, se realizaron análisis paramétricos respecto a una geometría en 3 dimensiones con características anisótropas como se muestra en la Figura 8.2. Por lo tanto, es necesario cuantificar la influencia de las 9 componentes de los tensores \mathbf{D}'_{Sef} y \mathbf{D}'_{Oef} , respectivamente. Se estimaron los valores de cada componente utilizando los valores mínimos y máximos de cada parámetro ya mencionado y así se encontró que la influencia de las componentes fuera de la diagonal es despreciable respecto a las componentes xx , yy y zz ya que sus valores son muy similares entre sí a pesar de su geometría anisótropa. Se calculó la diferencia relativa entre las 3 componentes de la diagonal de los tensores de difusividad y se estimó que existe aproximadamente 3% de diferencia entre ellas, es decir, son isotropas. Por este motivo, es razonable tratar a los tensores de difusión como si fueran esféricos y realizar los análisis paramétricos solamente sobre la componente longitudinal (xx) para obtener los valores de los coeficientes efectivos de transporte que describen los procesos de difusión y reacción de las especies químicas estudiadas a nivel celular.

Haciendo las consideraciones anteriores, se procedió a hacer barridos paramétricos para cuantificar el efecto que tienen los parámetros sobre las componentes longitudinales de los tensores \mathbf{D}'_{Sef} y \mathbf{D}'_{Oef} . Para el primer barrido, se cuantificó el efecto de ϕ^2 sobre el tensor de difusividad, se supone que al aumentar ϕ^2 el consumo de O_2 será mayor en las mitocondrias al igual que la producción de soforolípidos en el citosol. Al hacer las evaluaciones numéricas, se encontró que para valores de $\phi^2 \leq 1$, tanto para el caso de los soforolípidos como del O_2 , no se encontró una dependencia notable del coeficiente de difusividad efectiva con ϕ^2 , esto se atribuye al hecho que bajo estas condiciones la tasa de reacción no supera al transporte difusivo, lo cual es consistente con la literatura (Valdés-Parada y Alvarez, 2010; Valdés-Parada y *col.*, 2019).

Una vez demostrado que ϕ^2 no tiene efecto significativo sobre los tensores \mathbf{D}_{Sef} y \mathbf{D}_{Oef} se evaluó la influencia de los parámetros restantes. En la Figura 8.6, se reporta la dependencia de la componente xx del tensor de difusividad para cada especie con los grados de libertad restantes que fueron κ y γ^* con el valor fijo de $\phi^2 = 1$. Ya que κ representa la razón entre los coeficientes de difusión molecular, es de esperarse que al incrementar esta razón, aumente el valor de la difusividad efectiva para las dos especies químicas como se observa en la Figura 8.6. Sin embargo, al incrementar las resistencias en la membrana celular a la transferencia de masa ya sea de soforolípidos o de O_2 (mediante el incremento de γ^*) el transporte de especies por difusión se ve limitado y los valores del coeficiente de difusividad efectiva disminuyen. Esto es de esperarse con base en el

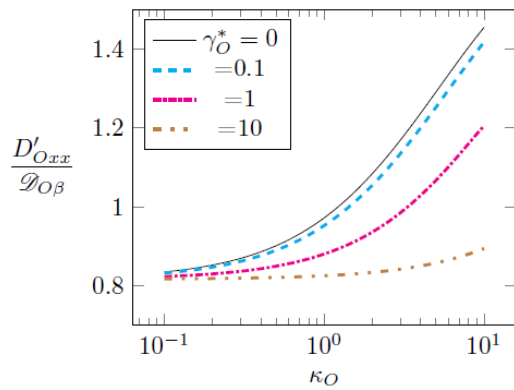


(a) Efecto de κ_O sobre la componente D'_{Oxx} del tensor de difusividad con diferentes valores de γ_O^* .

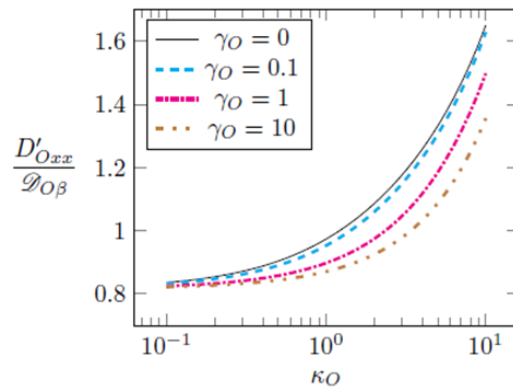


(b) Efecto de κ_S sobre la componente D'_{Sxx} del tensor de difusividad con diferentes valores de γ_S^* .

Figura 8.6. Efecto de la razón de difusividades moleculares κ sobre el coeficiente de difusividad efectiva con diferentes valores de la resistencia en la membrana celular a la difusividad γ^* .



(a) Efecto de κ_O sobre la componente D'_{Oxx} del tensor de difusividad con diferentes valores de γ_O^* considerando el volumen mitocondrial $\mathcal{V}_\mu < 1\%$.



(b) Efecto de κ_O sobre la componente D'_{Oxx} del tensor de difusividad con diferentes valores de γ_O^* considerando el volumen mitocondrias $\mathcal{V}_\mu = 5\%$.

Figura 8.7. Efecto de la razón de difusividades moleculares del O_2 κ_O sobre la componente D'_{Oxx} del tensor de difusividad sobre el coeficiente de difusividad efectiva con diferentes valores de la resistencia en la membrana celular γ_O^* considerando al volumen mitocondrial $\mathcal{V}_\mu \ll 20\%$.

análisis que se realizó para los valores de las variables de cerradura. En el caso del oxígeno, este efecto es más notorio para valores de κ mayores a la unidad, lo cual es consistente con el estudio realizado por Wood y Whitaker (1998). Sin embargo, debido a que las mitocondrias favorecen el transporte de la especie O hay mayor espacio para la difusión, como se observa en la Figura 8.6a, los valores de D'_{Oxx} tienen variaciones muy pequeñas. Para el caso de los soforolípidos, las mitocondrias representan un obstáculo para la difusión de la especie S dentro de la célula. De acuerdo a la Figura 8.6b, toma mayor relevancia el efecto de γ_S^* para valores mayores a uno, es decir, $\gamma_S^* = 10$, ya que disminuye notoriamente el valor del coeficiente de difusividad efectiva \mathbf{D}_{Seff} ; sin embargo, tiene cambios muy pequeños aún aumentando la razón entre los coeficientes de difusión κ_S .

Por último, se hizo un análisis del efecto que tienen los organelos dentro de la célula en el valor de la difusividad efectiva para cada especie, en este caso se consideró a las mitocondrias ya que son los espacios donde el oxígeno lleva a cabo una reacción. Como se mencionó, una célula eucarionte como lo es la levadura *Starmerella bombicola* tiene un volumen mitocondrial de aproximadamente el 20%. Sin embargo, las células pueden estar sometidas a diferentes condiciones donde este volumen es afectado y disminuye, como la presencia de toxinas diftéricas (López y col., 2020) o la adaptación a medios hiperosmóticos (Martinez-Pastor, 2011). En la Figura 8.7 se considera este caso, donde el volumen mitocondrial es $\ll 20\%$. En la Figura 8.7a se observa que los valores de la componente xx del tensor \mathbf{D}'_{Oef} son muy similares a los valores de \mathbf{D}'_{Seff} , esto se debe a que al haber menos espacio mitocondrial, el oxígeno se transporta dentro de la célula al igual que los soforolípidos, donde las mitocondrias no juegan un papel relevante. Sin embargo, en la Figura 8.7b se observa que las mitocondrias toman relevancia sobre la componente xx del tensor \mathbf{D}'_{Oef} con un volumen $\geq 5\%$, especialmente conforme aumenta la resistencia al transporte en la membrana celular, ya que estas, se consideran como espacios que facilitan el transporte de O_2 por difusión.

8.4 Validación de los modelos macroscópicos de transferencia de masa

Se va a utilizar el método de simulaciones numéricas directas (DNS) para validar los modelos de medio efectivo de transporte de masa que se obtuvieron anteriormente. Para aplicar este método, se parte de las ecuaciones (8.18) y (8.23) que gobiernan la transferencia de masa a escala microscópica y en estado estacionario para el oxígeno y las ecuaciones (8.19) para los soforolípidos y se obtiene una solución numérica del problema planteado para cada especie en un arreglo periódico horizontal



Figura 8.8. Arreglo horizontal de $N=10$ celdas unitarias periódicas para la validación de los modelos de medio efectivo de transporte de soforolípidos y O_2 .

de N celdas unitarias, como se muestra en la Figura 8.8. El uso de este método valida las suposiciones realizadas durante el proceso de escalamiento, por lo que son importantes como primera validación de los modelos deducidos; sin embargo, no reemplazan a la validación experimental.

8.4.1 Soforolípidos

$$0 = \mathcal{D}_{S\beta} \nabla_{\mathbf{r}}^2 c_{S\beta}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.86a)$$

$$0 = \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{r}}^2 c_{S\xi} + k_S^M c_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.86b)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{S\beta} \nabla_{\mathbf{r}} c_{S\beta} = -\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{S\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.86c)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{S\xi} = k_{SM} (c_{S\beta} - \alpha_S c_{S\xi}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.86d)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \mathcal{D}_{S\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{S\xi} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.86e)$$

Ya que el problema se va a resolver en un arreglo horizontal, se imponen las siguientes condiciones de periodicidad para las fronteras faltantes.

$$c_S(x, 0, z) = c_S(x, \ell, z); \quad c_S(x, y, 0) = c_S(x, y, \ell) \quad (8.86f)$$

Se establecen las siguientes condiciones Dirichlet a la entrada y salida del sistema para completar el planteamiento del problema

$$\text{en } x = 0, \quad c_S = 0 \quad \text{en } x = L, \quad c_S = c_{Sen} \quad (8.86g)$$

A continuación se muestra el modelo macroscópico deducido en la ecuación (8.79) que describe

el transporte por difusión de la especie S , y se va a obtener su solución numérica para comparar con la solución del modelo a escala microscópica.

$$0 = \nabla_{\mathbf{x}} \cdot (\mathbf{D}_{sef} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_S \rangle) + \frac{\varepsilon_{\xi}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\xi}} k_S^M \langle c_S \rangle \quad (8.87a)$$

Tomando en cuenta el arreglo periódico de celdas unitarias mostrado en la Figura 8.8, la ecuación anterior se puede simplificar como se muestra a continuación

$$0 = D_{xx} \frac{\partial^2 \langle c_S \rangle}{\partial x^2} + \frac{\varepsilon_{\xi}}{\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\xi}} k_S^M \langle c_S \rangle \quad (8.87b)$$

De igual manera, la ecuación anterior está sujeta a las mismas condiciones de frontera mencionadas en el problema para la escala microscópica, ecuaciones (8.86g).

Para una fácil interpretación, se reformulan los modelos anteriores de forma adimensional, por lo tanto se definen las siguientes variables y parámetros

$$\begin{aligned} x = L = N\ell; \quad x^* = N; \quad c_S^* = \frac{c_S}{c_{Sen}}; \quad \nabla^* = \ell \nabla; \quad t^* = \frac{t \mathcal{D}_{S\xi}}{\ell^2}; \quad \gamma_S = \frac{\mathcal{D}_{S\xi}}{k_{SM}} = \gamma_S^* = \frac{\gamma_S}{\ell}; \\ \phi_S^{*2} = \frac{k_S^M \ell^2}{\mathcal{D}_{S\xi}}; \quad \kappa_S = \frac{\mathcal{D}_{S\xi}}{\mathcal{D}_{S\beta}} \end{aligned} \quad (8.88)$$

Con estas definiciones, las ecuaciones (8.86) y (8.87) se replantean de la siguiente manera

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}}^{*2} c_{S\beta}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\beta} \quad (8.89a)$$

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}}^{*2} c_{S\xi}^* + \phi_S^{*2} c_{S\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_{\xi} \quad (8.89b)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{S\beta}^* = -\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_S \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{S\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.89c)$$

$$\alpha_S c_{S\xi}^* - \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \gamma_S^* \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{S\xi}^* = c_{S\beta}^* \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.89d)$$

$$\mathbf{n}_{\xi\eta S} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{S\xi}^* = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta S} \quad (8.89e)$$

$$c_S^*(x^*, 0, z^*) = c_S^*(x^*, 1, z^*); \quad c_S^*(x^*, y^*, 0) = c_S^*(x^*, y^*, 1) \quad (8.89f)$$

$$\text{en } x^* = 0, \quad c_S^* = 0 \quad (8.89g)$$

$$\text{en } x^* = N, \quad c_S^* = 1 \quad (8.89h)$$

De la misma manera se plantea el modelo macroscópico de forma adimensional

$$0 = \frac{D_{xx}}{\mathcal{D}_{S\xi}} \frac{\partial^2 \langle c_S^* \rangle}{\partial x^{*2}} + \frac{\varepsilon_\xi}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\xi} \phi_S^2 \langle c_S^* \rangle \quad (8.90a)$$

$$\text{en } x^* = 0, \quad c_S^* = 0 \quad (8.90b)$$

$$\text{en } x^* = N, \quad c_S^* = 1 \quad (8.90c)$$

8.4.2 Oxígeno

Para la especie O, se tienen el siguiente sistema de ecuaciones que describen el transporte de masa a escala microscópica

$$0 = \mathcal{D}_{O\beta} \nabla_{\mathbf{r}}^2 c_{O\beta}, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.91a)$$

$$0 = \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{r}}^2 c_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.91b)$$

$$0 = \mathcal{D}_{O\mu} \nabla_{\mathbf{r}}^2 c_{O\mu} - k_{OC} c_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{V}_\mu \quad (8.91c)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\beta} = -\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\xi}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.91d)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\xi} = k_{OM} (c_{O\beta} - \alpha_{OC} c_{O\xi}), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.91e)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \mathcal{D}_{O\sigma} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\xi} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.91f)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \mathcal{D}_{O\xi} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\xi} = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \mathcal{D}_{O\mu} \nabla_{\mathbf{r}} c_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.91g)$$

$$c_{O\xi} = c_{O\mu}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.91h)$$

El modelo anterior se va a resolver en el mismo arreglo de la Figura 8.8, por lo tanto se imponen las siguientes condiciones de periodicidad

$$c_O(x, 0, z) = c_O(x, \ell, z); \quad c_O(x, y, 0) = c_O(x, y, \ell) \quad (8.91i)$$

Por último, se proponen las siguientes condiciones de frontera con concentraciones conocidas

$$\text{en } x = 0, \quad c_O = 0 \quad (8.92a)$$

$$\text{en } x = L, \quad c_O = c_{Oen} \quad (8.92b)$$

El modelo de medio efectivo de transporte de masa deducido en la ecuación (8.61) se simplifica ya que la dimensión espacial que toma importancia es x por la geometría del sistema, y es el siguiente

$$0 = D_{xx} \frac{\partial^2 \langle c_O \rangle}{\partial x^2} - \frac{\varepsilon_\mu}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma} k_O \langle c_O \rangle \quad (8.93)$$

Esta ecuación también está sujeta a las mismas condiciones de frontera del modelo a escala microscópica, ecuaciones (8.92).

Para reducir los grados de libertad, se plantean los modelos anteriores de forma adimensional, por lo tanto se definen las siguientes variables y parámetros adimensionales

$$c_O^* = \frac{c_O}{c_{Oen}}; \quad \nabla^* = \ell \nabla; \quad \gamma_O = \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{k_{SM}}; \quad \gamma_O^* = \frac{\gamma_O}{\ell}; \quad \phi_O^2 = \frac{k_O \ell^2}{\mathcal{D}_{O\xi}}; \quad \kappa_O = \frac{\mathcal{D}_{O\xi}}{\alpha \mathcal{D}_{O\beta}} \quad (8.94)$$

Con estas definiciones, el modelo microscópico y macroscópico quedan planteados como se muestra a continuación

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}}^{*2} c_{O\beta}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.95a)$$

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}}^{*2} c_{O\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_\xi \quad (8.95b)$$

$$0 = \nabla_{\mathbf{r}}^{*2} c_{O\mu}^* - \phi_O^2 c_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{V}_\mu \quad (8.95c)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\beta}^* = -\mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \kappa_O \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\xi}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.95d)$$

$$c_{O\xi}^* - \mathbf{n}_{\beta\delta} \cdot \gamma_O^* \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\xi}^* = c_{O\beta}^* \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\delta} \quad (8.95e)$$

$$\mathbf{n}_{\sigma\eta O} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\xi}^* = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\eta O} \quad (8.95f)$$

$$-\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\xi}^* = -\mathbf{n}_{\xi\mu} \cdot \nabla_{\mathbf{r}}^* c_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.95g)$$

$$c_{O\xi}^* = c_{O\mu}^*, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\xi\mu} \quad (8.95h)$$

$$c_O^*(x^*, 0, z^*) = c_O^*(x^*, 1, z^*); \quad c_O^*(x^*, y^*, 0) = c_O^*(x^*, y^*, 1) \quad (8.95i)$$

$$\text{en } x^* = 0, c_O^* = 0 \quad (8.95j)$$

$$\text{en } x^* = N, \quad c_O^* = 1 \quad (8.95k)$$

8.5 Discusión de la validación de los modelos promedio utilizando el método DNS

De la misma manera se plantea el modelo macroscópico de forma adimensional

$$0 = \frac{D_{xx}}{\mathcal{D}_{O\xi}} \frac{\partial^2 \langle c_O^* \rangle}{\partial x^{*2}} - \frac{\varepsilon_\mu}{\varepsilon_\beta + \varepsilon_\sigma} \phi_O^2 \langle c_O^* \rangle \quad (8.96a)$$

$$\text{en } x^* = 0, \quad c_O^* = 0 \quad (8.96b)$$

$$\text{en } x^* = N, \quad c_O^* = 1 \quad (8.96c)$$

Ya que se plantean los problemas a escala microscópica y macroscópica de forma adimensional para ambas especies, se resuelven numéricamente utilizando el software Comsol Multiphysics. La discusión de los resultados se presentan en la siguiente sección.

8.5 Discusión de la validación de los modelos promedio utilizando el método DNS

Para resolver el problema a escala microscópica se utilizó un resolvidor directo donde las ecuaciones en cada fase estaban totalmente acopladas. Después de llevar a cabo pruebas de convergencia con diferentes mallas, se seleccionó un malla extra fina con 661,111 elementos de dominio y 71,358 elementos en las fronteras. Se establecieron valores para los grados de libertad $\kappa = 0.1$, $\gamma^* = 0$, y $\phi^2 = 0.1$, siendo estos parámetros específicos para cada especie. La solución del problema a escala microscópica se ejemplifica para ambas especies en la Figura 8.9 donde se representa un arreglo de 10 celdas periódicas con los campos de valores de la concentración de soforolípidos y en el caso de la mitocondria se representa la concentración de O_2 en cada celda unitaria. En esta figura se observa como la concentración disminuye conforme recorre cada celda unitaria hasta llegar a $x^* = 0$ donde la concentración es prácticamente 0. Una vez resuelto el problema de la concentración a escala microscópica, se calcula el promedio superficial de cada valor de la concentración, esto se hace utilizando la relación de Dupuit-Forcheimer (ec 7.3) y las definiciones de concentración promedio de las ecuaciones (8.24b) y (8.24a) respectivamente. A su vez, se resuelve el modelo macroscópico para cada especie que se dedujo en la sección anterior, con el cual se obtiene el valor del tensor de difusividad efectiva. Una vez que se obtuvo el valor del tensor de difusividad en su componente xx , se resuelven las ecuaciones (8.90a) y (8.96a) para poder comparar los valores de la concentración entre el modelo a escala microscópica y escala macroscópica.

8.5 Discusión de la validación de los modelos promedio utilizando el método DNS

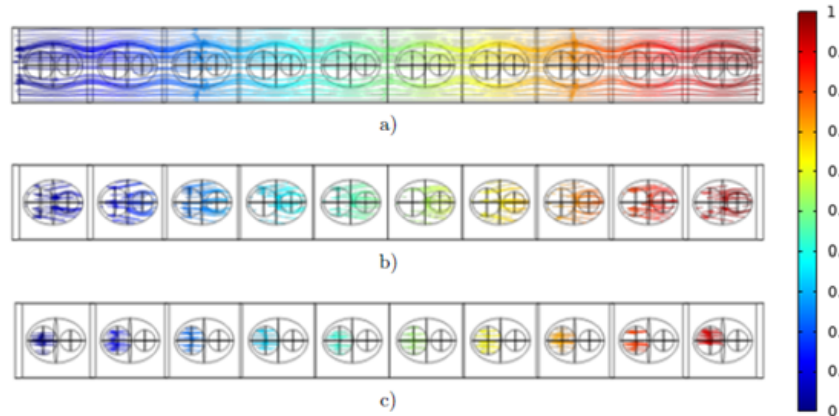


Figura 8.9. Campos de los valores de la concentración a escala microscópica en las fases a) \mathcal{V}_β : Fluido extracelular, b) \mathcal{V}_ξ : Citosol, c) \mathcal{V}_μ : Volumen mitocondrial, con la relación de difusividades $\kappa = 0.1$, resistencia a la difusión en la membrana celular $\gamma^* = 0$, módulo de Thiele $\phi^2 = 0.1$, y $N = 10$ celdas.

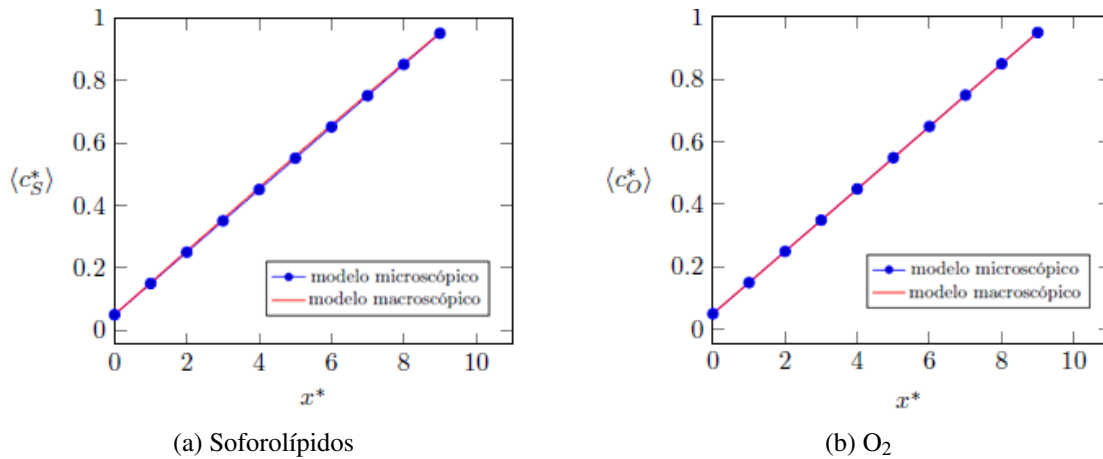


Figura 8.10. Comparación de la concentración de soforolípidos y O_2 a escala microscópica con la solución numérica del modelo macroscópico con $\kappa = 0.1$, $\gamma^* = 0$, $\phi^2 = 0.1$, $N = 10$ celdas.

En la Figura 8.10 se muestra la comparación de la concentración macroscópica con las simulaciones numéricas a escala microscópica, tomando un arreglo de 10 celdas periódicas. Se puede observar que el modelo promedio en ambas especies reproduce los resultados de las simulaciones numéricas a escala microscópica con un error máximo de 1.75% para los soforolípidos y de 0.8% para el O_2 , por lo tanto, se considera como una primera validación de los modelos de medio efectivo para el transporte de masa ya que el porcentaje de error es bajo, Esto quiere decir, que el método de promediado y las suposiciones hechas durante el método de escalamiento fueron apropiadas. Por esto mismo, se esperaría que al utilizar otros valores para los parámetros se obtuvieron resultados similares con un porcentaje de error bajo.

8.6 Modelo del transporte de masa intrafibras (Nivel IV)

Para poder desarrollar los modelos que se muestran a continuación a este nivel de escala, se proponen las siguientes definiciones para una mejor comprensión.

8.6.1 Nomenclatura

- Fase β : Fase fluida que contiene al O_2 .
- Fase κ : Fase sólida (fibras de aserrín).
- \mathcal{V} : Dominio de promediado.
- $\mathcal{A}_{\beta\kappa}$: Superficie divisoria entre las fibras de aserrín y la fase fluida.
- a : Amplitud de onda, $[m]$.
- a_v : Área interfacial por unidad de volumen, $[m^{-1}]$.
- \mathbf{b}_β : Variable vectorial de cerradura, $[m]$.
- c_O : Concentración molar del O_2 , $[mol/m^3]$.
- $\tilde{c}_{O\beta}$: Desviaciones de la concentración molar del O_2 , $[mol/m^3]$.
- $\langle c_O \rangle^\beta$: Promedio intrínseco de la concentración del O_2 , $[mol/m^3]$.
- $\mathcal{D}_{O\beta}$: Coeficiente de difusividad molecular del O_2 , $[m^2/s]$.
- \mathbf{D}_{fef} : Tensor de difusión efectiva del O_2 en las fibras de aserrín, $[m^2/s]$.
- \mathbf{I} : Tensor identidad.
- $\mathbf{j}_{O\beta}$: Vector que describe el flux difusivo del O_2 .
- \mathbf{l}_i : Vector de la celda unitaria en la dirección i ($i = 1; 2; 3$), $[m]$.
- ℓ_κ : Anchura de las fibras de aserrín, $[m]$.
- $\mathbf{n}_{\beta\kappa}$: vector unitario dirigido de la fase fluida a la fase sólida.
- \mathbf{r} : Vector de posición que localiza puntos de la fase β , $[m]$.
- V : Volumen del dominio de promediado.
- V_β : Volumen de la fase β .

Simbolos griegos

- ω : Fracción de ℓ_κ
- ε : Porosidad, fracción volumétrica de la fase β sobre el volumen del dominio de promediado.

Para el estudio de la transferencia de masa de O_2 en este nivel de escala, se utilizó el modelo de medio efectivo desarrollado por ? quien lo obtuvo aplicando el método de promedio volumétrico, como se describe en el capítulo 1 de su texto. Este método se basa en suavizar espacialmente las

ecuaciones que gobiernan la transferencia de masa a escala microscópica y sus condiciones de frontera para deducir un modelo de medio efectivo es decir, ecuaciones que son válidas en ambas fase del sistema. Este modelo implica restricciones de escala y suposiciones típicas de esta técnica de escalamiento. Se supuso que el medio poroso está saturado por una sola fase fluida que contiene una especie química que se encuentra diluida, en este caso O_2 , y no hay reacción del O_2 en ninguna fase. Además, el medio poroso se supone rígido y homogéneo. Esto quiere decir que la porosidad ε es constante en el espacio y en el tiempo. Ya que el medio poroso sólo contiene una fase fluida, la porosidad corresponde al valor de la fracción volumétrica de la fase fluida (fase β) en la región de promediado. Esto es,

$$\varepsilon = \frac{V_\beta}{V}, \quad (8.97)$$

donde V es el volumen del dominio de promediado \mathcal{V} , y V_β es el volumen de la fase fluida.

En su análisis, Whitaker (1999b) supuso que en la interfase sólido-fluido no hay acumulación superficial, ni deformación ni reacción química. La ecuación que gobierna la transferencia de masa del O_2 a escala microscópica es la siguiente

$$\underbrace{\frac{\partial c_O}{\partial t}}_{\text{acumulación}} + \underbrace{\nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_O}_{\text{transporte por difusión}} = \underbrace{R_O(\mathbf{r})}_{\text{tasa de reacción}} \quad (8.98)$$

Ya que no hay reacción química del O_2 en la fase fluida, la ecuación anterior se expresa como sigue

$$\frac{\partial c_{O\beta}}{\partial t} + \nabla_{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{j}_{O\beta} = 0, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.99)$$

Ademas, en la interfase entre el fluido y las fibras de aserrín ($\mathcal{A}_{\beta\kappa}$), se suponen también despreciables los fenómenos de transporte tangenciales y de acumulación respecto al transporte que ocurre perpendicular a las fibras de aserrín. Bajo estas condiciones, es razonable proponer la siguiente expresión

$$\mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot (\mathbf{j}_{O\beta} - c_{O\beta} \mathbf{w}_O) = \mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot (\mathbf{j}_{O\kappa} - c_{O\kappa} \mathbf{w}_O), \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\kappa} \quad (8.100)$$

En donde $\mathbf{n}_{\beta\kappa}$ es el vector unitario dirigido de la fase fluida hacia la interfase y \mathbf{w}_O representa la velocidad de desplazamiento de las fibras de aserrín. Ya que el aserrín es un soporte sólido y no

sufre cambios en su superficie, su velocidad de desplazamiento es 0. Finalmente se establece que no existe transferencia de masa entre la fase- β y la fase- κ . Por lo tanto la ecuación (8.100) se reduce a

$$\mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \mathbf{j}_{O\beta} = 0, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\kappa} \quad (8.101)$$

Una vez que se promedian las ecuaciones (8.99) y (8.101), se obtiene el modelo no cerrado de la transferencia de masa ya que está en términos de concentración promedio y sus desviaciones, y se presenta a continuación

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{c}_{O\beta}}{\partial t} &= \nabla \cdot (\mathcal{D}_{O\beta} \nabla \tilde{c}_{O\beta}) - \varepsilon^{-1} \nabla \varepsilon \cdot (\mathcal{D}_{O\beta} \nabla \langle c_{O\beta} \rangle^\beta) \\ &- \varepsilon^{-1} \nabla \cdot \left(\frac{\mathcal{D}_{O\beta}}{V} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} \mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \tilde{c}_{O\beta} \right) dA, \quad \text{en la fase } -\beta. \end{aligned} \quad (8.102a)$$

Y la condición de frontera en términos de desviaciones de la concentración queda expresada como se muestra a continuación

$$-\mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla \tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\kappa} \quad (8.102b)$$

Por lo tanto para poder cerrar ese modelo, se resuelve el problema de las desviaciones en una celda unitaria periódica con geometría representativa del sistema. Además, se simplifica el problema haciendo restricciones de escala temporales y espaciales mediante estimados de ordenes de magnitud. Las restricciones de escala temporales y espaciales que se aplican al modelo para simplificarlo, se encuentran en el libro de Whitaker (1999b).

Las ecuaciones diferenciales y condiciones de frontera que representan el problema simplificado de las desviaciones para el O_2 son las siguientes

$$0 = \mathcal{D}_{O\beta} \nabla^2 \tilde{c}_{O\beta} - \varepsilon^{-1} \nabla \varepsilon \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla \langle \tilde{c}_{O\beta} \rangle^\beta, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.103a)$$

$$-\mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla \tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \mathcal{D}_{O\beta} \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle^\beta, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\kappa} \quad (8.103b)$$

$$\tilde{c}_{O\beta}(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \tilde{c}_{O\beta}(\mathbf{r}); \quad i = 1, 2, 3 \quad (8.103c)$$

$$\langle \tilde{c}_{O\beta} \rangle^\beta = 0; \quad (8.103d)$$

Dada la naturaleza lineal del problema, Whitaker propuso una solución formal en términos de la

fuente del problema la cual contiene a la variable de cerradura \mathbf{b}_β , siendo para este caso la siguiente solución

$$\tilde{c}_{O\beta} = \mathbf{b}_{O\beta} \cdot \nabla_{\mathbf{x}} \langle c_O \rangle, \quad \text{en } \mathcal{V}_\beta \quad (8.104)$$

obteniendo así el siguiente problema de valor a la frontera

$$\nabla^2 \mathbf{b}_\beta = \mathbf{0}, \quad \text{en la fase-}\beta \quad (8.105a)$$

$$\mathbf{n}_{\beta\kappa} \cdot \nabla \mathbf{b}_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\kappa}, \quad \text{en } \mathcal{A}_{\beta\kappa} \quad (8.105b)$$

$$\mathbf{b}_\beta(\mathbf{r} + \mathbf{l}_i) = \mathbf{b}_\beta(\mathbf{r}), \quad i = x, z \quad (8.105c)$$

$$\langle \mathbf{b}_\beta \rangle^\beta = \mathbf{0} \quad (8.105d)$$

Al sustituir la solución formal en el modelo no cerrado (8.102a), Whitaker dedujo el modelo de medio efectivo que está dado por la siguiente ecuación diferencial, que para la situación física de interés, la porosidad se considera constante.

$$\underbrace{\frac{\partial \langle c_{O\beta} \rangle^\beta}{\partial t}}_{\text{acumulación}} = \nabla \cdot \underbrace{(\mathbf{D}_{fef} \cdot \nabla \langle c_{O\beta} \rangle^\beta)}_{\text{difusión efectiva}}. \quad (8.106)$$

$\langle c_{O\beta} \rangle^\beta$ representa el promedio intrínseco de la concentración de la especie química en la interfibra y está definido como

$$\langle c_{O\beta} \rangle^\beta = \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{V}_\beta} c_{O\beta} dV, \quad (8.107)$$

donde \mathcal{V}_β es el dominio ocupado por la fase- β en la región de promediado. Por último, \mathbf{D}_{fef} representa al tensor de difusividad efectiva en la interfibra de aserrín, y se define como

$$\frac{\mathbf{D}_{fef}}{\mathcal{D}_\beta} = \mathbf{I} + \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} \mathbf{n}_{\beta\kappa} \mathbf{b}_\beta dA \quad (8.108)$$

El dominio de solución de este problema es una celda unitaria periódica que debe ser representativa de la microestructura de las fibras del soporte. De acuerdo a la evidencia experimental, es razonable considerar a las fibras como un arreglo de canales paralelos no conectados. Por ello,

en la ecuación (8.105c), la periodicidad se impone en dos de las tres direcciones del sistema. Más aún, si se suponen planas a las paredes de los canales, entonces el problema dado en las ecuaciones (8.105) puede resolverse analíticamente y da como resultado las siguientes expresiones para las componentes del vector \mathbf{b}_β :

$$b_x = 0, \quad b_y = -y \quad (8.109)$$

Sustituyendo estos resultados en la ecuación (8.108), se deduce que, en este caso, las componentes del tensor de difusividad efectiva son:

$$D_{fxx} = D_{fxy} = D_{fyx} = \mathcal{D}_\beta; \quad D_{fyy} = 0 \quad (8.110)$$

Sin embargo, aún hace falta considerar el efecto de la curvatura de las paredes en las componentes del tensor de difusión efectiva.

8.6.2 Modelo del transporte de masa dentro de las fibras planas

Como se muestra en la Figura 8.11, el dominio de solución de este problema de cerradura es una celda unitaria periódica que debe ser representativa de la microestructura de las fibras del soporte. En la Figura 8.11a se esquematiza una fibra de aserrín plana, mientras que el caso donde presenta rugosidad se ilustra en la Figura 8.11b.

Como se explicó en la metodología, el modelo de medio efectivo fue desarrollado por Whitaker (1999), y está dado por la ecuación (8.106). Por las suposiciones que se hicieron respecto a la geometría del medio poroso, el problema dado en las ecuaciones (8.105) puede resolverse analíticamente. Dado que las fibras de aserrín se consideran canales profundos sin ondulaciones, es correcto considerar al sistema como unidimensional que depende solo de la componente y , esto es consistente con los resultados obtenidos al resolver el problema de cerradura y obtener los valores de \mathbf{b}_β , de acuerdo con las soluciones reportadas en la ecuación (8.109).

Es de interés ahora predecir el valor de las componentes del tensor de difusividad efectiva, por lo tanto, se desarrolla la ecuación (8.108) respecto a cada componente del tensor de difusividad y

se obtienen las siguientes ecuaciones

$$\frac{D_{xx}}{\mathcal{D}_\beta} = 1 + \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} n_x b_x dA \quad (8.111a)$$

$$\frac{D_{xy}}{\mathcal{D}_\beta} = \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} n_x b_y dA \quad (8.111b)$$

$$\frac{D_{yx}}{\mathcal{D}_\beta} = \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} n_y b_x dA \quad (8.111c)$$

$$\frac{D_{yy}}{\mathcal{D}_\beta} = 1 + \frac{1}{V_\beta} \int_{\mathcal{A}_{\beta\kappa}} n_y b_y dA \quad (8.111d)$$

Se sustituyen los valores de las expresiones (8.109), en las ecuaciones (8.111) y se obtienen las siguientes soluciones para las componentes del tensor de difusividad efectiva

$$D_{xx} = \mathcal{D}_\beta; \quad D_{xy} = D_{yx} = D_{yy} = 0 \quad (8.112)$$

Se deduce que en este tipo de geometría, la única componente que tiene influencia es D_{xx} ; sin embargo, ya que el medio poroso no ofrece ningún tipo de resistencia al flujo de O_2 la difusión en esta dirección va a ser igual a la difusión molecular \mathcal{D}_β . Se puede suponer que conforme cambia la geometría de las fibras de aserrín, el vector unitario $\mathbf{n}_{\beta\kappa}$ va a tener relevancia en sus demás componentes. Esto va a influir en el aporte que tiene cada componente de la variable de cerradura \mathbf{b}_β y se verá reflejado en los valores de las componentes del tensor de difusividad \mathbf{D}_{fef} . Este efecto se estudia en la siguiente sección del trabajo.

8.6.3 Modelo del transporte de masa dentro de las fibras considerando rugosidad

Para resolver el problema de cerradura definido en las ecuaciones (8.105) en este caso particular, se visualiza una celda unitaria periódica como se muestra en la Figura 8.11b) que representa la microestructura de las fibras del soporte como un arreglo de canales paralelos e inconexos, con ondulaciones simétricas. La rugosidad de la interfase sólido-fluido se definió mediante la curva paramétrica $a \sin(2\pi s/\ell)$. En donde s es una variable cuyos valores están comprendidos en el intervalo cerrado $[0, \ell]$, mientras que la amplitud de onda se definió como

$$a = \omega \ell_\kappa, \quad (8.113)$$

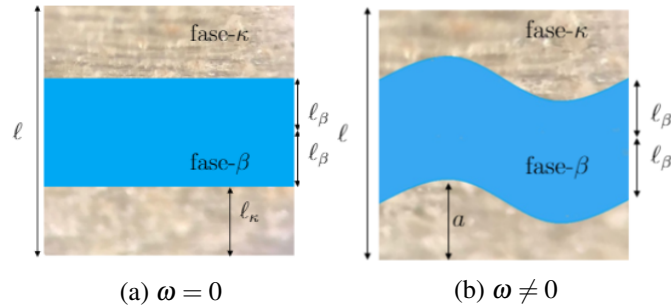


Figura 8.11. Esquema de una celda unitaria simplificada en dos dimensiones de la geometría real de las fibras de aserrín.

donde ω es un parámetro adimensional comprendido en el intervalo $[0, 1)$ y representa la fracción de ℓ_κ que se ocupa en la oscilación. De acuerdo a la Figura 8.11, el análisis debe restringirse a situaciones en las que $\omega < 1$ para evitar que los canales se conecten entre sí y no romper con la periodicidad de la celda unitaria. Debido a lo anterior, en la ecuación (8.105c), la condición de periodicidad se impone solo en dos de las tres direcciones del sistema.

Sin embargo, cuando $\omega \neq 0$, no es sencillo resolver el problema de forma analítica y se recurre al uso del software de Comsol Multiphysics 5.6 para llevar a cabo la solución numérica. Se resolvió el problema utilizando diferentes tamaños de malla computacional, se eligió una malla fina ya que con ella se alcanzó la convergencia y se consiguieron resultados precisos con un error no mayor al 1%.

En la Figura 8.12 se reportan algunos ejemplos de la solución numérica del problema de cerradura. Como se puede apreciar, los campos de la componente x de la variable de cerradura son similares independientemente de la geometría del canal. Es decir, en las superficies superiores se aprecian cambios de signo consistentes con los cambios de pendiente. Mientras que en las superficies inferiores, los cambios de signo son opuestos a los cambios de pendiente. Esto se debe al cambio de signo que tiene el vector normal, el cual es, de hecho, la única fuente en el problema de cerradura dado en las ecuaciones (8.105). Más aún, los resultados muestran que los valores de la variable de cerradura disminuyen conforme aumenta la porosidad, lo cual se traduce en que las desviaciones de la concentración, respecto a su valor promedio, deben disminuir. Lo anterior, permite pensar que la variable de cerradura aumenta conforme el transporte difusivo es más complicado a través de la celda unitaria. Esto último, se confirma al comparar los campos entre las dos filas de la Figura 8.12. Como puede apreciarse, al aumentar ω , se incrementan los valores de la variable de cerradura y esto quiere decir que se complica el transporte por difusión. Al

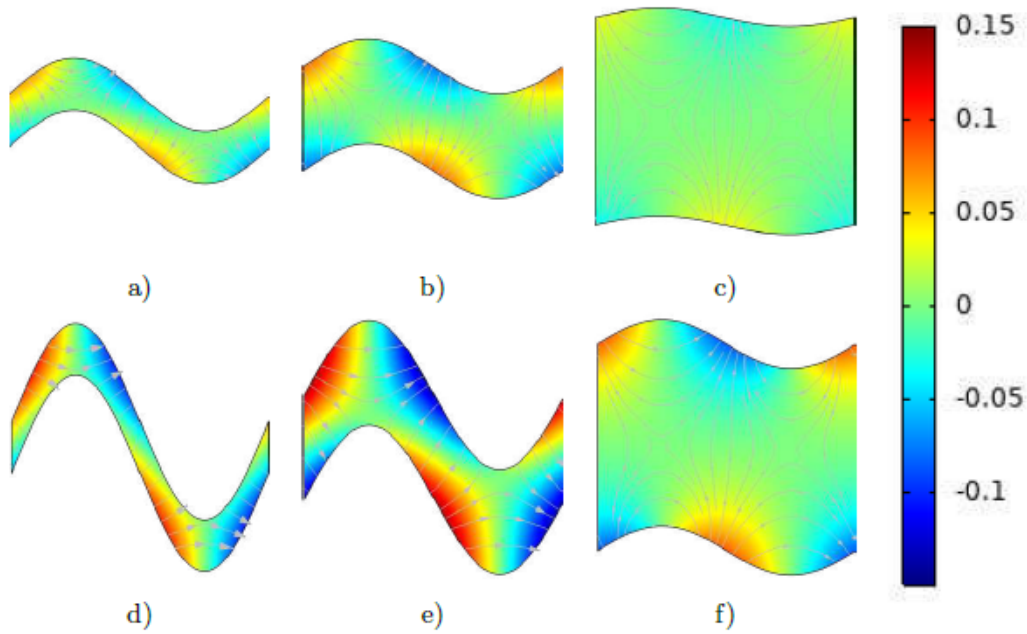


Figura 8.12. Campos de la componente x de la variable de cerradura (\mathbf{b}_β) para 3 valores diferentes de la porosidad (ε) con variaciones en la amplitud de ondulación (ω). a) $\varepsilon = 0.2, \omega = 0.35$. b) $\varepsilon = 0.4, \omega = 0.35$. c) $\varepsilon = 0.8, \omega = 0.35$. d) $\varepsilon = 0.2, \omega = 0.95$. e) $\varepsilon = 0.4, \omega = 0.95$. f) $\varepsilon = 0.8, \omega = 0.95$.

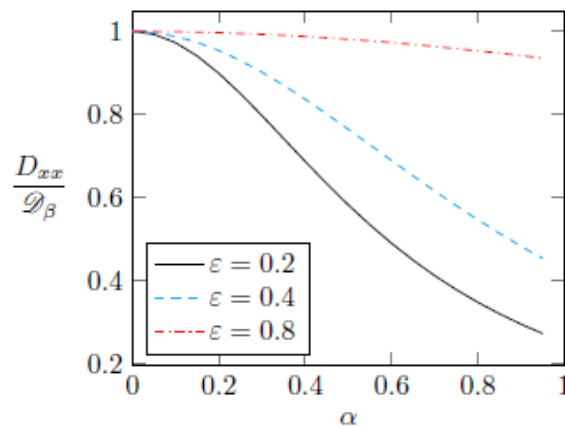


Figura 8.13. Dependencia de la componente xx del tensor de difusividad efectiva con la amplitud de las oscilaciones (ω) en la celda unitaria para 3 valores diferentes de porosidad (ε).

contar con los resultados de la solución del problema de cerradura, se pueden calcular cada uno de los componentes del tensor de difusividad efectiva. Al calcular las dos componentes de la variable de cerradura, es decir, b_x y b_y se calcularon todas las componentes del tensor \mathbf{D}_{fef} (ecuaciones 8.111). Se encontró que, para las condiciones geométricas consideradas en este trabajo, la única componente no nula del tensor de difusividad efectiva es la componente xx . Por lo anterior, en la Figura 8.13 se presentan las predicciones de la componente xx del tensor de difusividad efectiva para diferentes valores de porosidad ($\varepsilon = 0.2$, $\varepsilon = 0.4$ y $\varepsilon = 0.8$), con un intervalo de variación en

la amplitud de ondulación $\omega = [0.0, 0.95]$ de la interfase sólido-fluido. Como puede apreciarse, al aumentar la porosidad, el coeficiente de difusividad efectiva se incrementa. Lo cual es consistente con las observaciones hechas acerca de la variable de cerradura. De hecho, en todos los casos, se notó que al aumentar ω disminuye el valor de D_{xx} . Como es de esperarse, dicha disminución es menos pronunciada conforme aumenta la porosidad.

8.7 Resumen de los resultados

En este trabajo se dedujeron dos modelos de medio efectivo que describen el transporte de masa y reacción a nivel celular a partir del promediado y escalamiento de las ecuaciones de transferencia de masa a escala microscópica. Además, a partir de las ecuaciones promediadas por Whitaker (1999b) por medio del método de promedio volumétrico se pudo predecir cómo afecta la geometría interna del aserrín en el transporte difusivo del O_2 .

Para el nivel de escala V, se realizaron algunas modificaciones al método clásico de promedio volumétrico, para así deducir de una forma más sencilla los modelos de medio efectivo para la transferencia de masa. Este método es válido ya que se obtuvieron las mismas ecuaciones deducidas por Wood y Whitaker (1998). Con este método de promediado, se obtuvieron modelos no cerrados de cada fase para cada especie. Seguido, se planteó el problema para las desviaciones de la concentración, el cuál se resuelve en una geometría simplificada de la real representada por una celda unitaria periódica. Para resolver este problema, se propuso una solución formal en cada fase que compone al sistema la cual contiene a la variable de cerradura respectiva. Con esta información se dedujo el modelo de medio efectivo para la el transporte y producción o consumo de soforolípidos y O_2 , respectivamente. Posteriormente, se introdujo la información en el software, donde se obtuvieron los perfiles de los problemas descritos. Al cuantificar el efecto de los parámetros adimensionales sobre el tensor de difusividad, la razón de las difusividades moleculares (κ) y la resistencia en la membrana (γ) son los que tienen un mayor efecto. Para favorecer la difusión a este nivel de escala, los valores de los parámetros deben ser:

- $\kappa = 10$. Es decir, que la difusividad fuera de la célula sea mayor que dentro de ella. Esto se logra si se proporciona una correcta tasa de aireación al sistema. Además de controlar parámetros como la humedad para evitar que un exceso de ella y dificulte la difusión del O_2 .
- $\gamma = 0$. Es decir que no hay resistencia a la transferencia de masa en la membrana y pared celular, lo cual tiene sentido pues en el caso del O_2 se transporta por difusión pasiva. Esta

resistencia también se ve afectada con la presencia de los soforolípidos, los cuales van a aumentar la solubilidad de la membrana.

La reacción tiene poca influencia sobre la predicción del coeficiente de difusividad efectiva del modelo, por que se supuso que la tasa de reacción no supera al transporte difusivo ya que este se ve favorecido por la aireación y agitación y mecanismos acarreadores. El punto anterior se relaciona con el efecto de las mitocondrias sobre el tensor de difusividad efectiva. Pese a ser organelos donde tiene reacción el O_2 , tienen un mayor efecto como espacio para transportar a esta especie por difusión. Por el contrario, en el caso de los soforolípidos se ven como obstáculos que ralentizan la difusión.

En el caso del nivel de escala intrafibras (nivel IV), el modelo a escala macroscópica para la transferencia de O_2 está compuesto por los términos de acumulación y difusión, debido a que esta especie no reacciona con el medio poroso que en este caso es el aserrín, el cual es un material inerte. Ya que solo hay transporte difusivo de O_2 , se estudió cómo el tensor de difusividad efectiva se ve afectado con la geometría de las fibras del aserrín.

Al aumentar el valor de la amplitud de onda de las fibras (ω) y disminuir la porosidad (ϵ), la geometría se complica, representando un mayor obstáculo para la difusión del O_2 . Se sabe por trabajos experimentales, que la porosidad del aserrín de pino que suele usarse como soporte, está entre 0.8 – 0.85 (Pineda–Pineda y *col.*, 2012). Por lo mencionado anteriormente esto va a favorecer el transporte de O_2 ; sin embargo, se tiene que considerar el otro factor que es la amplitud de onda, entre mas pequeña sea esta, también favorecerá en la difusión de la especie química.

9. Conclusión

Ya que es un sistema de naturaleza jerárquica, los procesos a la escala mas pequeña que es la celular pueden tener una influencia directa en la escala macroscópica que en este caso es el biorreactor. Se partió de las ecuaciones al nivel celular que describen el consumo de oxígeno y la producción de un tipo específico de biosurfactante que son los soforolípidos generados por la levadura *S. bombicola* ATCC 22214. Como en el reactor hay una cantidad considerable de células y en ellas ocurren los mismos cambios, entonces, se promediaron estas ecuaciones para filtrar la información que no sea redundante y así describir el consumo de oxígeno y la producción de soforolípidos al nivel de escala de biopelícula. Se realizaron algunas modificaciones al método de promedio volumétrico para llegar a los modelos macroscópicos. A diferencia de modelos deducidos anteriormente para biopelículas donde se estudia a la célula como un medio continuo sin tomar en cuenta los organelos que la componen, en estos modelos se hizo una aportación importante, ya que se consideró a los organelos donde puede haber transporte de masa de cada especie y las interfases entre estos, además, la solución de los problemas se hizo considerando una geometría tridimensional. En este trabajo se considero relevante la participación de estos organelos en el transporte de masa de las especies químicas estudiadas, ya que la levadura *S. bombicola* es un microorganismo unicelular eucarionte. Los modelos de medio efectivo deducidos en este trabajo son capaces de capturar los fenómenos de transporte más importantes de la microescala y los

presenta en la escala celular mediante términos de acumulación, difusión y reacción. También se encontraron los parámetros que tienen mayor influencia sobre el transporte por difusión de estas especies y sus valores para acercarse a las condiciones óptimas que necesita el microorganismo.

A partir de estos dos modelos matemáticos se puede predecir el coeficiente de difusión efectiva para la producción de soforolípidos y el consumo de O_2 respectivamente, por la levadura *S. bombicola* ATCC 22214, en la escala celular, lo que sirve de ayuda para predecir las condiciones más favorables para la producción de los soforolípidos que es la especie de interés.

10. Prospectivas

A fin de dar continuidad a este trabajo, ya que es un tema extenso y que se puede alimentar para hacer un estudio más grande de los fenómenos de transporte que suceden en las escalas mencionadas del sistema descrito en el capítulo 7, se listan los siguientes puntos a considerar

- Una vez que se dedujeron los modelos a escala celular, plantear un segundo escalamiento ahora a nivel de escala de las fibras. En este nivel de escala se toman como punto de partida las ecuaciones desarrolladas en los niveles de escala anteriores para describir el transporte dentro de las fibras hacia la biopelícula. Dado que en todas las fases el transporte se da por difusión, es razonable seguir la misma técnica de escalamiento usada en la escala anterior para deducir el modelo de transporte correspondiente.
- Siguiendo este proceso de escalamiento, proseguir en los niveles de escala hasta llegar al nivel de escala de biorreactor. Esto permitirá deducir un modelo que tome en cuenta las características esenciales de todas las escalas inferiores.
- Se podrá entonces validar los modelos tanto para oxígeno como soforolípidos al nivel de escala de biorreactor, al considerar las condiciones experimentales correspondientes y comparar las predicciones teóricas con las mediciones experimentales que se disponen del grupo de trabajo.
- Una vez validado el modelo, proceder a la última etapa del trabajo que consiste en resolver

el modelo macroscópico deducido bajo distintas condiciones de flujo y transporte. Esto, con el fin de encontrar las condiciones más favorables de operación y así concluir con recomendaciones para trabajos experimentales futuros.

- Acoplar el transporte de masa con las ecuaciones de transferencia de calor, ya que es un fenómeno muy importante en sistemas biológicos que repercuten en el crecimiento de biomasa y en la producción de metabolitos.
- Ya que son modelos predictivos, se pueden implementar para otros sistemas experimentales similares y para otras especies químicas. Por ejemplo al nivel de escala celular se puede modificar el orden de la reacción de otra especie química que sea de interés estudiar.
- Estudiar el transporte de cantidad de movimiento y ver la influencia que tiene sobre el transporte convectivo de masa entre el O_2 y el soporte.

Bibliografía

- Alcon, A., Santos, V.E., Casas, J., García-Ochoa, F. (2004). Use of flow cytometry for growth structured kinetic model development. *Enzyme and Microbial Technology* **34**, 399–406.
- Almeida, D.D., de Cássia F. Soares Da Silva, R., Luna, J., Rufino, R., Santos, V., Banat, I., Sarubbo, L. (2016). Biosurfactants: Promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Frontiers in Microbiology* **7**.
- Amani, H. (2018). Application of a dynamic method for the volumetric mass transfer coefficient determination in the scale-up of rhamnolipid biosurfactant production. *Journal of Surfactants and Detergents* **21**, 827–833.
- Arora, S., Rani, R., Ghosh, S. (2018). Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects. *Journal of Biotechnology* **269**, 16–34.
- Banat, I.M., Carboué, Q., Saucedo-Castañeda, G., Cázares-Marinero, J. (2021). Biosurfactants: The green generation of speciality chemicals and potential production using solid-state fermentation (SSF) technology. *Bioresource Technology* **320**, 51.
- Benítez, G., Valdés-Parada, F.J., Saucedo, J. (2016). Derivation of an upscaled model for mass transfer and reaction for non-food starch conversion to bioethanol. *International Journal of Chemical Reactor Engineering* **14**, 1115–1148.

- on Biofilm Modeling, I.T.G. (Ed.) (2006). *Mathematical modeling of biofilms*. volumen 18. IWA Publishing. 1 edición.
- Bogaert, I.N.A.V., Roelants, S., Develter, D., Soetaert, W. (2010). Sophorolipid production by *Candida bombicola* on oils with a special fatty acid composition and their consequences on cell viability. *Biotechnology Letters* **32**, 1509–1514.
- Bogaert, I.N.A.V., Saerens, K., Muynck, C.D., Develter, D., Soetaert, W., Vandamme, E. (2007). Microbial production and application of sophorolipids. *Applied Microbiology and Biotechnology* **76**, 23–34.
- Borsanyiova, M., Patil, A., Mukherji, R., Prabhune, A., S.Bopegamage (2015). Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. *Folia Microbiologica* **61**, 85–89.
- Bruce, A. (2015). *Molecular biology of the cell*. Garland Science, Taylor and Francis Group, New York, NY. 4 edición.
- Casas, J., de Lara, S.G., García-Ochoa, F. (1997). Optimization of a synthetic medium for *Candida bombicola* growth using factorial design of experiments. *Enzyme and Microbial Technology* **21**, 221–229.
- Celligoi, M.A., Silveira, V.A., Hipólito, A., Caretta, T.O., Baldo, C. (2020). Sophorolipids: A review on production and perspectives of application in agriculture. *Spanish Journal of Agricultural Research* **18**, e03R01.
- Cessa, A., Rojas, A., and L.I. Lozano, E. (2017). Transporte membranar.
- Claus, S., Jezierska, S., Elbourne, L.D.H., Bogaert, I.V. (2022). Exploring the transportome of the biosurfactant producing yeast *Starmerella bombicola*. *BMC Genomics* **23**, 17.
- Clercq, V.D., Roelants, S.L.K.W., Castelein, M.G., Maeseneire, S.L.D., Soetaert, W.K. (2021). Elucidation of the natural function of sophorolipids produced by *starmerella bombicola*. *Journal of Fungi* **7**, 917.
- Daverey, A., Dutta, K., Joshi, S. (2021). Sophorolipid: a glycolipid biosurfactant as a potential therapeutic agent against COVID-19. *Bioengineered* **12**, 9550–9560.

- Daverey, A., Pakshirajan, K. (2009). Kinetics of growth and enhanced sophorolipids production by *Candida bombicola* using a low-cost fermentative medium. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **160**, 2090–2101.
- Daverey, A., Pakshirajan, K., Sumalatha, S. (2010). Sophorolipids production by *Candida bombicola* using dairy industry wastewater. *Clean Technologies and Environmental Policy* **13**, 481–488.
- Davit, Y., Debenest, G., Wood, B., Quintard, M. (2010). Modeling non-equilibrium mass transport in biologically reactive porous media. *Advances in Water Resources* **33**, 1075–1093.
- Drakontis, C., Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **48**, 77–90.
- Eberl, H.J., Wade, M.J. (2020). Challenges and perspectives in reactor scale modeling of biofilm processes, en: *Recent Trends in Biofilm Science and Technology*. Elsevier. capítulo 16, pp. 359–383.
- Fahim, S., Dimitrov, K., Vauchel, P., Gancel, F., Delaplace, G., Jacques, P., Nikov, I. (2013). Oxygen transfer in three phase inverse fluidized bed bioreactor during biosurfactant production by *Bacillus subtilis*. *Biochemical Engineering Journal* **76**, 70–76.
- Fakruddin, M. (2012). Biosurfactant: Production and application. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology* **3**.
- Franco, P., Ortiz, J., da Silva, S.S., Ortiz, A. (2021). Interaction of an acidic sophorolipid biosurfactant with phosphatidylcholine model membranes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **207**, 112029.
- Frías-Valero, E. (2004). *Aportaciones al estudio de las maquinas eléctricas de flujo axial mediante la aplicación del método de los elementos finitos*. phdthesis. Universitat Politècnica de Catalunya, Departament d'Enginyeria Elèctrica.
- Fu, S., Garnett, I., Wallner, S.R., Zenilman, M.E., Gross, R., Bluth, M.H. (2008). QS305. sophorolipids and their derivatives are lethal against human pancreatic cancer cells. *Journal of Surgical Research* **144**, 388.

- García-Ochoa, F., Casas, J. (1999). Unstructured kinetic model for sophorolipid production by *Candida bombicola*. *Enzyme and Microbial Technology* **25**, 613–621.
- García-Ochoa, F., Gómez, E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances* **27**, 153–176.
- Golfier, F., Wood, B.D., Orgogozo, L., Quintard, M., Buès, M. (2009). Biofilms in porous media: Development of macroscopic transport equations via volume averaging with closure for local mass equilibrium conditions. *Advances in Water Resources* **32**, 463–485.
- Graeve, M.D., Maeseneire, S.L.D., Roelants, S.L.K., Soetaert, W. (2018). *Starmerella bombicola*, an industrially relevant, yet fundamentally underexplored yeast. *FEMS Yeast Research* **18**.
- Gray, W.G. (1975). A derivation of the equations for multi-phase transport. *Chemical Engineering Science* **30**, 229–233.
- Gujer, W., Wanner, O. (1989). *Modeling mixed population biofilms*. Biofilms, John Wiley & Sons, New York. pp 397-445.
- Horn, H., Lackner, S. (2014). Modeling of biofilm systems: A review, en: *Productive Biofilms*. Springer International Publishing, pp. 53–76.
- Ikasari, L., Mitchell, D.A., Stuart, D.M. (1999). Response of *Rhizopus oligosporus* to temporal temperature profiles in a model solid-state fermentation system. *Biotechnology and Bioengineering* **64**, 722–728.
- Jahan, R., Bodratti, A.M., Tsianou, M., Alexandridis, P. (2020). Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science* **275**, 102061.
- Jeziarska, S., Claus, S., Bogaert, N.A.V. (2020). Identification and importance of mitochondrial citrate carriers and ATP citrate lyase for glycolipid production in *Starmerella bombicola*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **104**, 6235–6248.
- Jiménez-Peñalever, P. (2017). *Sophorolipids production by solid-state fermentation: from lab-scale to pilot plant*. Tesis de doctorado. Universitat Autònoma de Barcelona.

- Jiménez-Peñalver, P., Gea, T., Sánchez, A., Font, X. (2016). Production of sophorolipids from winterization oil cake by solid-state fermentation: Optimization, monitoring and effect of mixing. *Biochemical Engineering Journal* **115**, 93–100.
- Kainourgiakis, M., Kikkinides, E., Charalambopoulou, G., Stubos, A. (2002). Simulation of adsorption in 3-d reconstructed mesoporous materials by a simulated annealing algorithm, en: Rodríguez-Reinoso, F., McEnaney, B., Rouquerol, J., Unger, K. (Eds.), *Characterization of Porous Solids VI*. Elsevier. volumen 144 de *Studies in Surface Science and Catalysis*, pp. 147–154.
- Kang, S., Kim, Y., Shin, J., Kim, E. (2009). Enhanced biodegradation of hydrocarbons in boil by microbial biosurfactant, sophorolipid. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **160**, 780–790.
- Kshirsagar, P., Suttar, R., Nilegaonkar, S., Kulkarni, S., Kanekar, P. (2012). Scale up production of polyhydroxyalkanoate (pha) at different aeration, agitation and controlled dissolved oxygen levels in fermenter using *Halomonas campisalis* mcm b-1027. *Journal of Biochemical Technology* **4**, 512–517.
- Lonsane, B., Ghildyal, N., Budiartman, S., Ramakrishna, S. (1985). Engineering aspects of solid state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology* **7**, 258–265.
- Lorenzo, A. (2019). Mitocondria. estructura y composición. *asturnatura.com[en línea]* Disponible en <https://www.asturnatura.com/articulos/organulos-energeticos/mitocondria-estructura-composicion.php>.
- López, Nancy I. Raiger Iustman, L.J. (2009). Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Química Viva* .
- López, Y., Rodríguez, R., Rodríguez, M., López, A., Torres, J., Avila, E. (2020). Caracterización de las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae* que expresan la enzima de entamoeba histolytica ehtoxin-like. *JÓVENES EN LA CIENCIA* **5**.
- Ma, X., H., Shao, L., Shen, J., Song, X. (2011). Effects of nitrogen sources on production and composition of sophorolipids by *Wickerhamiella domercqiae* var. sophorolipid CGMCC 1576. *Applied Microbiology and Biotechnology* **91**, 1623–1632.

- Marchant, R., Banat, I.M. (2012). Microbial biosurfactants: challenges and opportunities for future exploitation. *Trends in Biotechnology* **30**, 558–565.
- Martinez-Pastor, M. (2011). *Análisis de la función y la regulación de la mitocondria de la levadura Saccharomyces cerevisiae en respuesta a estrés osmótico*. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia.
- Marín, R. (2021). *Estudio comparativo de la producción de soforolípidos en cultivo en medio líquido y sólido por Starmerella bombicola*. mathesis. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Mercier, P., Yerushalmi, L., Rouleau, D., Dochain, D. (1992). Kinetics of lactic acid fermentation on glucose and corn by *Lactobacillus amylophilus*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **55**, 111–121.
- Mitchell, D.A., von Meien, O.F., Krieger, N. (2003). Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. *Biochemical Engineering Journal* **13**, 137–147.
- Mitchell, D.A., von Meien, O.F., Krieger, N., Diba, F., Dalsenter, H. (2004). A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* **17**, 15–26.
- Montoya, D., Bermúdez, M. (2003). *Modelamiento de la transferencia de oxígeno para el cultivo de microorganismos en un biorreactor de columna de burbujeo*. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería y Arquitectura.
- Moussa, T., A.Gaber, Abdel-Hamid, S. (2010). Mathematical model for biomass yield and biosurfactant production by *Nocardia amarae*. *NEW ASPECTS of FLUID MECHANICS, HEAT TRANSFER and ENVIRONMENT* , 27–33.
- Ochoa-Tapia, J., Stroeve, P., Whitaker, S. (1986). Diffusion and reaction in cellular media. *Chemical Engineering Science* **41**, 2999–3013.
- Ortega, F., , H.Álvarez, Botero., H. (2017). Enfrentando el modelado de bioprocesos: una revisión de las metodologías de modelado. *Revista ION* **30**, 73–90.
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* **13**, 81–84.

- Parekh, V., Pandit, A. (2012). Solid state fermentation (SSF) for the production of sophorolipids from *Starmerella bombicola* NRRL Y-17069 using glucose, wheat bran and oleic acid. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* **6**, 418–424.
- Pastrana, L. (1996). Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicación a la industria alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* **1**, 4–12.
- Pedraza, L., Rodríguez-Durán, L., Saucedo, G., Cázares., J. (2022). *Application of Microorganisms in Biosurfactant Production in Bioprospecting of Microorganisms Based Industrial Molecules*. Wiley.
- Pineda–Pineda, J., del Castillo, F.S., Ramírez–Arias, A., Castillo–González, A.M., Valdés–Aguilar, L.A., del Carmen Moreno–Pérez, E. (2012). Aserrín de pino como sustrato hidropónico. i: Variación en características físicas durante cinco ciclos de cultivo. *Revista Chapingo. Serie horticultura* **18**, 95 – 111.
- Qazi, M.A., Wang, Q., Dai, Z. (2022). Sophorolipids bioproduction in the yeast *Starmerella bombicola*: Current trends and perspectives. *Bioresource Technology* **346**, 13.
- Qi, X., Xu, X., Zhong, C., Jiang, T., Wei, W., Song, X. (2018). Removal of cadmium and lead from contaminated soils using sophorolipids from fermentation culture of *Starmerella bombicola* cgmcc 1576 fermentation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **15**.
- Rajagopalan, S., Modak, J.M. (1995). Evaluation of relative growth limitation due to depletion of glucose and oxygen during fungal growth on a spherical solid particle. *Chemical Engineering Science* **50**, 803–811.
- Rees, D.C., Johnson, E., Lewinson, O. (2009). ABC transporters: the power to change. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **10**, 218–227.
- Ribeiro, I., Bronze, M.R., Castro, M.F., Ribeiro, M.H.L. (2012). Sophorolipids: improvement of the selective production by *Starmerella bombicola* through the design of nutritional requirements. *Applied Microbiology and Biotechnology* **97**, 1875–1887.
- Rodrigues, L., Moldes, A., Teixeira, J., Oliveira, R. (2006). Kinetic study of fermentative biosurfactant production by *Lactobacillus* strains. *Biochemical Engineering Journal* **28**, 109–116.

- Roelants, S., Ciesielska, K., Maeseneire, S.D., Moens, H., Everaert, B., Verweire, S., Denon, Q., Vanlerberghe, B., Bogaert, I.V., der Meeren, P.V., Devreese, B., Soetaert, W. (2015). *Towards the industrialization of new biosurfactants: Biotechnological opportunities for the lactone esterase gene from *Starmerella bombicola**. *Biotechnology and Bioengineering* **113**, 550–559.
- Roelants, S., Solaiman, D.K., Ashby, R.D., Lodens, S., Van-Renterghem, L., Soetaert, W. (2019). *Production and applications of sophorolipids, en: Biobased Surfactants*. Elsevier, pp. 65–119.
- de la Rosa, N., Sánchez, E., Ortiz, M. (2013). *Biosurfactantes y su papel en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas*. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*. **4**.
- Sadh, P., Duhan, S., Duhan, J. (2018). *Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review*. *Bioresources and Bioprocessing* **5**.
- Santos, D., Rufino, R., Luna, J., Santos, V., Sarubbo, L. (2016). *Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century*. *International Journal of Molecular Sciences* **17**, 401.
- de los Santos, R., Valdés-Parada, F.J., Chirino, Y.I. (2016). *Upscaling diffusion and reaction processes in multicellular systems considering different cell populations*. *Chemical Engineering Science* **142**, 144–164.
- Saucedo, G., E.Favela, Viniegra, G., Torres, M., Figueroa, A., Rosales, G. (2013). *Sistema de respirometría con administración remota para el monitoreo en línea de la concentración de CO₂ y O₂ y flujo de los flujos de salida de procesos biológicos*.
- Sayyed, R., El-Enshasy, H.A., Hameeda, B. (Eds.) (2021). *Microbial Surfactants Volume I: Production and Applications. volumen 1*. Taylor & Francis Ltd. 1st edición.
- Shekhar, S., Sundaramanickam, A., Balasubramanian, T. (2014). *Biosurfactant producing microbes and their potential applications: A review*. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **45**, 1522–1554.
- Singh, P., Patil, Y., Rale, V. (2018). *Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies*. *Journal of Applied Microbiology* **126**, 2–13.

- Solutions, L.B. (2022). Biosurfactants vs. bio-based surfactants... what's the difference? <https://locusbioenergy.com/learning-center/biosurfactants-vs-bio-based-surfactants/>.*
- Spencer, J.F.T., Gorin, P.A.J., Tulloch, A.P. (1970). *Torulopsis bombicola* sp. n. Antonie van Leeuwenhoek **36**, 129–133.*
- Thibault, J., Pouliot, K., Agosin, E., Pérez-Correa, R. (2000). Reassessment of the estimation of dissolved oxygen concentration profile and *KLa* in solid-state fermentation. *Process Biochemistry* **36**, 9–18.*
- Truskey, G.A., Yuan, F., Katz, D.F. (2004). Transport Phenomena in Biological Systems. Prentice Hall. primera edición.*
- Valdés-Parada, F., Alvarez, J. (2010). On the effective diffusivity under chemical reaction in porous media. *Chemical Engineering Science* **65**, 4100–4104.*
- Valdés-Parada, F., Lasseux, D., Whitaker, S. (2019). Upscaling reactive transport under hydrodynamic slip conditions in homogeneous porous media. *Water Resources Research* **56**, 27.*
- Valdés-Parada, F. (2021). Modelado matemático en sistemas de escalas múltiples.*
- Van-Renterghem, L., Clicque, H., Huyst, A., Roelants, S., Soetaert, W. (2019). Miniaturization of *Starmerella bombicola* fermentation for evaluation and increasing (novel) glycolipid production. *Applied Microbiology and Biotechnology* **103**, 4347–4362.*
- Whitaker, S. (1999a). The Method of Volume Averaging. Springer Netherlands.*
- Whitaker, S. (1999b). Theory and Applications of Transport in Porous Media :The Method of Volume Averaging. volumen 13. Springer Netherlands.*
- Wood, B.D., Whitaker, S. (1998). Diffusion and reaction in biofilms. *Chemical Engineering Science* **53**, 397–425.*
- Wood, B.D., Whitaker, S. (1999). Cellular growth in biofilms. *Biotechnology and Bioengineering* **64**, 656–670.*
- Wood, B.D., Whitaker, S. (2000). Multi-species diffusion and reaction in biofilms and cellular media. *Chemical Engineering Science* **55**, 3397–3418.*

A. Solución de los problemas de cerradura utilizando Comsol Multiphysics.

A.1 Solución para el Oxígeno

1. Seleccione ModelWizard → 3D. Seleccione por triplicado Transport of diluted species (tds), (tds2), (tds3) y nombre las variables de concentración (bb), (bz), (bm). Presione Add → Study → Stationary → Done.
2. En *Parameters* escriba
 - ko: Representa a κ_O , (relación de las difusividades moleculares)
 - tilo: Representa a ϕ_O^2 , (módulo de Thiele).
 - go: Representa a γ_O , (resistencia en la membrana).y en *Expression* asigne valores para cada parámetro.
3. Haga click en *Geometry* → Block (*blk1*) → Width:1, Depth:1, Height:1. → Position x: 0m, y: 0m, z: 0m.
4. En *Geometry* → Ellipsoid (*elp1*) → a-semiaxis: 0.4m, b-semiaxis: 0.3m, c-semiaxis: 0.3m → Position x: 0m, y: 0m, z: 0m.
5. En *Geometry* → Sphere (*sph1*) → Radius: 0.142m. → Position x: 0m, y: 0m, z: 0m.
6. En *Geometry* → Sphere (*sph2*) → Radius: 0.19m. → Position x: -0.17m, y: 0m, z: 0m.
7. Haga click en *Geometry* → Booleans and partitions → Difference y substraiga *sph1*.
8. Seleccione Build All Objects.

9. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Vb → Seleccionar dominio 1 (*blk1*). Representa a la fase- β .
10. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Vz → Seleccionar dominio 2 (*elp1*). Representa a la fase- ξ .
11. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Vm → Seleccionar dominio 3 (*sph2*). Representa a la fase- μ .
12. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Abd. → Geometric entity level elija Boundary → Seleccione la superficie que conforma a (*elp1*). Representa a la interfase $\mathcal{A}_{\beta\delta}$.
13. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Aho. → Geometric entity level elija Boundary → Seleccione la superficie que conforma a (*sph1*). Representa a la interfase $\mathcal{A}_{\eta\theta}$.
14. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Amz. → Geometric entity level elija Boundary → Seleccione la superficie que conforma a (*sph2*). Representa a la interfase $\mathcal{A}_{\mu\xi}$.
15. En *Definitions* → Nonlocal couplings → Average → Operator name: avb → Seleccione el dominio 1.
16. En *Definitions* → Nonlocal couplings → Average → Operator name: avz → Seleccione el dominio 2.
17. En *Definitions* → Nonlocal couplings → Average → Operator name: avm → Seleccione el dominio 3.
18. Haga click derecho en *Definitions* → Variables. Defina
 - $D_{xx}: eb+ez*ko+Abd(tds.nx*(bb-ko*bz))+ko*Aho(tds2.nx*bz).$
 - $eb: Vb(1).$
 - $ez: Vz(1).$
 - $em: Vm(1).$
19. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Transport properties. Asigne como 1 al valor del coeficiente de difusión.
20. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Reactions → Reactions. Seleccione al dominio 1 y en la tasa de reacción escriba

$$-Abd(tds.nx*bbx+tds.ny*bby+tds.nz*bbz)/eb$$

21. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Flux. En Boundary selection elija Abd. En Flux type, habilite la casilla para bb y escriba $tds.nx*(ko-1)+ko*(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)$
22. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Periodic conditions. Seleccione 2 caras del cubo. Repita 2 veces mas este paso para seleccionar las caras faltantes del cubo.
23. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Global → Global Constraint. En *Apply reaction terms on* elija User defined. En *Constraint expression* escriba avb(bb). En *Constraint force expression* escriba test(avb(bb)).
24. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Transport properties. Asigne como 1 al valor del coeficiente de difusión.
25. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Reactions → Reactions. Seleccione al dominio 2 y en la tasa de reacción escriba $Abd(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)/ez-Aho(tds2.nx*bzx+tds2.ny*bzy+tds2.nz*bzz)/ez.-Amz(tds2.nx*bzx+tds2.ny*bzy+tds2.nz*bzz)/ez$
26. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Concentration. En *Boundary selection* elija Abd. Active la casilla de bz y escriba $bb+tds.nx*go+go*(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)$. En *Constraint settings* elija *individual dependent variables* y active *use weak constraints*.
27. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Flux → Boundary selection: Aho. Active casilla de especie bz y escriba -tds2.nx
28. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Flux → Boundary selection: Amz. Active casilla de especie bz y escriba $(tds2.nx*bmz+tds2.ny*bmy+tds2.nz*bmz)$.
29. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Global → Global Constraint. En *Apply reaction terms on* elija User defined. En *Constraint expression* escriba avz(bz). En *Constraint force expression* escriba test(avz(bz)).
30. Haga click derecho en *transport of diluted species 3* → Transport properties. Asigne como 1 al valor del coeficiente de difusión.
31. Haga click derecho en *transport of diluted species 3* → Reactions → Reactions. Seleccione al dominio 3 y en la tasa de reacción escriba $-Amz(tds3.nx*bmz+tds3.ny*bmy+tds3.nz*bmz)/em-tilo^2*bm$
32. Haga click derecho en *transport of diluted species 3* → Concentration. En *Boundary selection*

- elija Amz. Active la casilla de bm y escriba bz
33. Haga click derecho en *transport of diluted species 3* → Global → Global Constraint. En *Apply reaction terms on* elija User defined. En *Constraint expression* escriba avm(bm). En *Constraint force expression* escriba test(avm(bm)).
 34. En Mesh → *fine* → Build all.
 35. De click en *Study 1* → Solver configuration → Solution 1 → Stationary solver 1 → Fully coupled.
 36. De click en *Study 1* → Compute.
 37. Una vez que haya terminado de ejecutar el programa haga click derecho en *Derived values* → Global evaluation. En Expressions escriba Dxx
 En el caso de querer hacer un barrido paramétrico para calcular la dependencia de la componente Dxx del tensor de difusividad con los parámetros definidos, antes de ejecutar el programa (36)
 38. Dar click derecho en *Study 1* → Parametric sweep. En *Parameter name* se elige el parámetro de interés para realizar el barrido. En *Parameter value list* se elige el rango de valores que se va a utilizar.
 39. De click en *Study 1* → Compute.
 40. Una vez que haya terminado de ejecutar el programa haga click derecho en *Derived values* → Global evaluation. En Expressions escriba Dxx

Ya que la solución del problema de cerradura para los soforolípidos es similar, a continuación se mencionan los cambios que se deben de hacer, los cuales consisten en el numero de fases y en la reacción de producción.

A.2 Solución del problema de cerradura para soforolípidos

1. Seleccione ModelWizard → 3D. Seleccione por duplicado Transport of diluted species (tds), (tds2), y nombre las variables de concentración (bb), (bz). Presione Add → Study → Stationary → Done.
2. En *Parameters* escriba
 - ks: Representa a κ_S , (relación de las difusividades moleculares)
 - tils: Representa a ϕ_S^2 , (módulo de Thiele).

- g_s : Representa a γ_s , (Resistencia en la membrana).
- y en *Expression* asigne valores para cada parámetro
- 3. Repetir pasos 3-6 para construir la geometría que representa a la célula.
- 4. Haga click en *Geometry* → Booleans and partitions → Difference y substraiga *sph1* y *sph2* ya que los soforolípidos no reaccionan en las mitocondrias ni se difunden en el núcleo.
- 5. Seleccione Build All Objects.
- 6. Repita pasos 9, 10 y 12.
- 7. Haga click en *Definitions* → Nonlocal couplings → Integration → Operator name: Ahs. → Geometric entity level elija Boundary → Seleccione la superficie que conforma a *sph1* y *sph2*. Representa a la interfase $\mathcal{A}_{\eta S}$.
- 8. Repita pasos 15 y 16.
- 9. Haga click derecho en *Definitions* → Variables. Defina
 - Dxx: $eb+ez*ks+Abd(tds.nx*(bb-ks*bz))+ks*Ahs(tds2.nx*bz)$
 - eb: Vb(1).
 - ez: Vz(1).
 - em: Vm(1).
- 10. Repita paso 19 y 20.
- 11. Haga click derecho en *transport of diluted species* → Flux. En Boundary selection elija Abd. En Flux type, habilite la casilla para bb y escriba

$$tds.nx*(ks-1)+ks*(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)$$
- 12. Repita pasos 22-24.
- 13. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Reactions → Reactions. Seleccione al dominio 2 y en la tasa de reacción escriba

$$Abd(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)/ez -Ahs(tds2.nx*bzx+tds2.ny*bzy+tds2.nz*bzz)/ez+tils^2*bz$$
- 14. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Concentration. En *Boundary selection* elija Abd. Active la casilla de bz y escriba

$$bb+gs*tds.nx+gs*(tds.nx*bzx+tds.ny*bzy+tds.nz*bzz)$$
. En *Constraint settings* elija *individual dependent variables* y active *use weak constraints*.
- 15. Haga click derecho en *transport of diluted species 2* → Flux → Boundary selection: Ahs. Active casilla de especie bz y escriba -tds2.nx
- 16. Repita pasos 34-40.