

Trabajo Fin de Grado

MODELADO DE FERMENTADOR DE BIOMETANO:
Fermentador aerobio para producción de
proteínas para alimento animal

BIOMETHANE FERMENTER MODELING: Aerobic
fermenter for protein production for animal feed

Autor

Fernando Rodrigo Carbó

Director

Salvador Izquierdo Estallo

Escuela de Ingeniería y Arquitectura (EINA)

Junio 2025

Resumen

El presente Trabajo de Fin de Grado se centra en el modelado de un fermentador alimentado con biometano, orientado a la producción de proteína unicelular (Single Cell Protein, SCP) mediante el cultivo de bacterias metanotróficas, concretamente *Methylococcus capsulatus*. La motivación del estudio parte de la necesidad de encontrar fuentes sostenibles de proteína para alimentación animal, así como de valorizar residuos gaseosos, como el metano, generado en procesos de digestión anaerobia.

El trabajo comienza con un análisis del estado del arte sobre la producción de SCP, el uso de residuos orgánicos y gaseosos, y los distintos tipos de biorreactores disponibles, concluyendo que los reactores tipo gas-lift, y en particular los de tipo U-loop, presentan ventajas significativas en cuanto a eficiencia de transferencia de masa y operación con gases. No obstante, debido a su complejidad, se opta por modelar un sistema simplificado basado en un reactor continuo de tanque agitado (CSTR), con el objetivo de comprender los factores que afectan al rendimiento del proceso.

Se desarrolla un modelo matemático basado en balances de masa para biomasa, oxígeno disuelto y metano disuelto, incorporando una cinética de crecimiento tipo Monod doblemente limitante, términos de mantenimiento celular y decaimiento, y transferencia de masa gas-líquido mediante coeficientes volumétricos (k_{La}). Este modelo se implementa en Python y se resuelve mediante métodos numéricos (Runge-Kutta), simulando el comportamiento del sistema bajo distintas condiciones operativas.

Posteriormente, se realiza un análisis de sensibilidad univariante y multivariante sobre los principales parámetros del sistema, como la tasa de crecimiento microbiano, las constantes de semisaturación, la tasa de dilución, el k_{La} y las concentraciones de saturación. Los resultados muestran cómo estos parámetros influyen en la estabilidad del cultivo, la acumulación de biomasa y la eficiencia global del proceso. Se identifican valores críticos que optimizan la producción de SCP, y se señalan limitaciones técnicas como la baja solubilidad de gases y la importancia de evitar el lavado celular.

Finalmente, se discute la aplicabilidad del modelo para el diseño y escalado de biorreactores reales, así como las implicaciones medioambientales y estratégicas de utilizar biometano como materia prima para la producción de proteína. El trabajo concluye que el modelo CSTR propuesto, aunque simplificado, constituye una herramienta válida para evaluar la viabilidad técnica del proceso y establecer las bases para desarrollos futuros más complejos y cercanos a la realidad industrial.

Abstract

This Final Degree Project focuses on the modeling of a bioreactor fed with biomethane, aimed at the production of single-cell protein (SCP) through the cultivation of methanotrophic bacteria, specifically *Methylococcus capsulatus*. The motivation behind the study arises from the need to find sustainable sources of protein for animal feed, as well as to valorize gaseous waste such as methane generated in anaerobic digestion processes.

The work begins with a state-of-the-art review on SCP production, the use of organic and gaseous waste, and the different types of bioreactors available. It concludes that gas-lift reactors, and particularly U-loop types, offer significant advantages in terms of mass transfer efficiency and gas-phase operation. However, due to their complexity, a simplified system based on a continuous stirred-tank reactor (CSTR) is modeled, with the aim of understanding the factors that influence process performance.

A mathematical model is developed based on mass balances for biomass, dissolved oxygen, and dissolved methane. The model incorporates double-substrate Monod-type growth kinetics, cell maintenance and decay terms, and gas-liquid mass transfer through volumetric coefficients (kLa). The model is implemented in Python and solved using numerical methods (Runge-Kutta), simulating system behavior under various operating conditions.

Subsequently, a univariate and multivariate sensitivity analysis is performed on key system parameters, such as microbial growth rate, half-saturation constants, dilution rate, kLa , and saturation concentrations. The results show how these parameters influence culture stability, biomass accumulation, and overall process efficiency. Critical values are identified that optimize SCP production, and technical limitations such as low gas solubility and the need to avoid biomass washout are highlighted.

Finally, the applicability of the model for the design and scaling of real bioreactors is discussed, along with the environmental and strategic implications of using biomethane as a feedstock for protein production. The project concludes that the proposed CSTR model, although simplified, constitutes a valid tool to assess the technical feasibility of the process and lays the groundwork for more complex and industrially relevant developments.

INDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. MOTIVACIÓN	6
1.2. ESTADO DEL ARTE	8
1.3. OBJETIVOS Y ALCANCE	16
2. METODOLOGÍA	18
2.1. MODELO CSTR	19
2.1.1. Modelos Empleados	19
2.1.2. Ecuaciones	22
2.1.3. Parámetros	23
2.1.4. Condiciones de Contorno	24
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD	25
3.1.1. Variación de Parámetros	25
3.1.2. Análisis Univariante	28
3.1.2.1. TASA DE CRECIMIENTO MÁXIMA y TASA DE MUERTE CELULAR	29
3.1.2.2. COEFICIENTE DE SEMISATURACIÓN	32
3.1.2.3. COEFICIENTE DE SATURACIÓN	34
3.1.2.4. COEFICIENTE kLa	36
3.1.2.5. TASA DE DILUCIÓN	38
3.1.2.6. OTROS PARÁMETROS	40
3.1.3. Análisis Multivariante con Correlaciones Operativas	41
3.1.3.1. ESCENARIO 1: Mejora de Transferencia Gas-Líquido	43
3.1.3.2. ESCENARIO 2: Condiciones Entorno Óptimas	44
3.1.3.3. ESCENARIO 3: Combinación Escenarios 1 y 2	45
4. CONCLUSIONES	47
4.1. EVALUACIÓN TÉCNICA DEL MODELO	48
4.2. LIMITACIONES DEL MODELO Y MEJORAS FUTURAS	49
4.3. IMPACTO AMBIENTAL Y ESTRATÉGICO	50
5. BIBLIOGRAFÍA	51

MODELADO DE FERMENTADOR DE BIOMETANO:
Fermentador aerobio para producción de proteínas para
alimento animal

Universidad de Zaragoza: EINA

6. ANEXO 1: CODIGO PYTHON CST	53
-------------------------------	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Tamaño del mercado de proteínas unicelulares por fuente (2021–2032). Reproducido de Global Market Insights, Single Cell Protein Market Size & Share, Growth Trends 2032, 2023.	7
Figura 2 Transferencia masa de O ₂ Gas líquido, Fuente: Juris Vanags [4]	10
Figura 3. Producción anual de estiércol en UE. Fuente: Köninger, J., Lugato, E., Panagos, P., et al. (2021). Manure management and soil biodiversity: Towards more sustainable food systems in the EU.	11
Figura 4. Concentración de oxígeno y resistencias de transferencia de masa según la teoría de las dos películas. Fuente: Adaptado de García-Ochoa y Gómez (2009) [5]	12
Figura 5. Esquema reactor CSTR, Fuente: Genge, B., Haller, P., & Enăchescu, C. (2019). Anomaly Detection in Aging Industrial Internet of Things.	13
Figura 6. Esquema de un reactor columna de burbujas. Fuente: Arjomandzadegan, M. et al. (2014). Efficacy evaluation and kinetic study of biosorption of nickel and zinc by bacteria isolated from stressed conditions in a bubble column. Asian Pacific Journal of tropical medicine	14
Figura 7. Esquema reactor U-loop, Fuente: Petersen, L. A. H. (2019) [7].....	15
Figura 8. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano con parámetros base....	28
Figura 9. Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor máximo tasa crecimiento celular máxima.....	30
Figura 10. Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor máximo tasa crecimiento celular máxima	30
Figura 11. Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor mínimo tasa decaimiento celular.....	31
Figura 12. Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor máximo tasa decaimiento celular.....	31
Figura 13. Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor máximo de K _s CH ₄ ..	33
Figura 14. . Concentraciones biomasa, O ₂ y CH ₄ para valor máximo de K _s CH ₄ ..	33

Figura 15. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores máximos de C^*	35
Figura 16. Figura x. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores mínimos de C^*	35
Figura 17. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos (g/L) para valores base y kLa máximo.....	37
Figura 18. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos (g/L) para valores base y kLa mínimo.	37
Figura 19. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores máximos de D	39
Figura 20. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores mínimos de D	39
Figura 21. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 1	43
Figura 22. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 2.....	44
Figura 23. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 3.....	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Ecuaciones modelo del bioreactor	22
Tabla 2 Parámetros base del modelo del biorecator	23
Tabla 3. Resumen variación parámetros	27
Tabla 4. Variación parámetros en los distintos escenarios	42

1. INTRODUCCIÓN

1.1. MOTIVACIÓN

La creciente presión sobre los sistemas alimentarios globales, derivada del crecimiento poblacional, el cambio climático y la degradación de los recursos naturales, ha impulsado la búsqueda de fuentes alternativas, sostenibles y eficientes de proteína. En este contexto, la proteína unicelular (Single-Cell Protein, SCP) representa una solución prometedora. Producida a partir del cultivo de microorganismos como bacterias, levaduras, hongos y microalgas, la SCP destaca por su alto contenido proteico (30–80%), su bajo requerimiento de agua y suelo, y su escasa huella de carbono [1].

Ésta es una idea que tiene sus raíces en el pasado. Uno de los primeros ejemplos documentados ocurrió en Alemania que, en respuesta a la escasez de proteínas causada por las Guerras Mundiales, trató de cultivar la levadura *Candida (Torula) utilis* utilizando azúcares como fuente de alimento, con el objetivo de alimentar a la población afectada por el hambre [2].

Más adelante se centraron en la producción de proteínas para alimento animal, estudiándose una gran variedad de microorganismos y procesos, aunque la mayoría sin éxito. El mayor éxito para la producción de SCP se obtuvo utilizando como materia prima gas metano y a la bacteria metano trófica *Methylococcus capsulatus* como microorganismo [2].

Además de sus ventajas ambientales y nutricionales, la SCP ofrece una flexibilidad productiva significativa: puede ser cultivada en biorreactores mediante procesos de fermentación sumergida o sólida, utilizando medios de cultivo baratos y accesibles. En este sentido, el uso de residuos alimentarios como sustrato ha cobrado especial relevancia dentro del enfoque de bioeconomía circular, ya que permite transformar desechos orgánicos en productos de alto valor agregado [1] [3]. Además de mitigar el problema de desperdicio de alimento, estimado en más de 1.3 mil millones de toneladas anuales y que supone pérdidas económicas de hasta 800 mil millones de euros [3], también contribuye a la producción sostenible de alimentos, especialmente en regiones con alta inseguridad alimentaria. En la Figura 1 podemos ver la evolución que se estima en los próximos años del proceso de SCP:

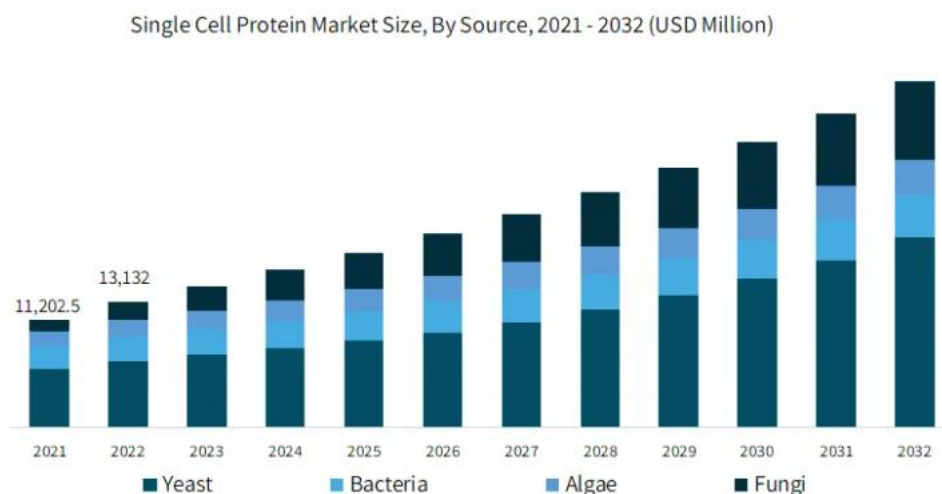


Figura 1 Tamaño del mercado de proteínas unicelulares por fuente (2021–2032). Fuente Global Market Insights, Single Cell Protein Market Size & Share, Growth Trends 2032, 2023.

Desde un punto de vista técnico, diversos estudios han demostrado que es posible optimizar los rendimientos de SCP mediante la adecuada selección del microorganismo y el control de parámetros operativos como temperatura (25–37 °C), pH (3.5–7), tipo de fermentación, aireación y fuente de nitrógeno. Por ejemplo, el uso de bacterias metanotróficas como *Methylobacter* y *Methylococcus* permite alcanzar rendimientos proteicos de hasta 70%, utilizando metano como fuente de carbono, lo que encaja perfectamente en una estrategia de valorización de residuos gaseosos en sistemas cerrados [1].

En el estudio realizado por Tropea (2022), evaluó un proceso de fermentación en un biorreactor de 5 L empleando *Saccharomyces cerevisiae* y una mezcla de residuos agroalimentarios (frutas y pescado), alcanzando una concentración de proteína cruda del 40.19% a las 120 horas de fermentación [3]. Este enfoque demostró que es posible biovalorizar múltiples residuos simultáneamente, sin necesidad de pretratamientos individuales, gracias a la implementación de un proceso de sacarificación enzimática simultánea a la fermentación, lo cual mejora significativamente el aprovechamiento del sustrato y la eficiencia del cultivo.

Por su parte, el trabajo de Sekoai (2024) destaca la necesidad de fomentar el desarrollo de biorrefinerías microbianas que, además de SCP, generen otros productos de interés como biolípidos, enzimas o metabolitos secundarios, abriendo así la puerta a

cadena de valor integradas y sostenibles en línea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas (ODS 2 y 12) [1].

En el presente Trabajo de Fin de Grado se propone diseñar y modelar un fermentador de biometano para la producción de SCP mediante bacterias (*Methylococcus capsulatus*), abordando los aspectos ingenieriles del sistema y su viabilidad técnica y ambiental dentro de un modelo productivo basado en la valorización de residuos y la sostenibilidad.

Con base en estas evidencias técnicas y sociales, se han llevado a cabo múltiples investigaciones en el ámbito de la biotecnología orientadas a aprovechar residuos gaseosos para la producción de biomasa microbiana. A continuación, se describe el estado actual del conocimiento en esta línea de trabajo.

1.2. ESTADO DEL ARTE

Diversas investigaciones han demostrado el potencial de utilizar microorganismos para transformar gases simples (como metano o dióxido de carbono) en biomasa microbiana rica en proteínas, aprovechando residuos gaseosos como el biogás proveniente de digestión anaerobia de residuos. Esta estrategia se alinea con los principios de economía circular y sostenibilidad en el sector [2].

Uno de los sistemas biotecnológicos más prometedores para la producción de proteína unicelular (SCP, por sus siglas en inglés), es el cultivo de bacterias metanotróficas en fermentadores, en los cuales se oxida metano (CH_4) como fuente de carbono y energía. Microorganismos como *Methylococcus capsulatus* y *Methylosinus trichosporium* pueden alcanzar, como se ha mencionado anteriormente, contenidos proteicos del 60–70% del peso seco celular, siendo adecuado para ser alimento animal. La eficiencia de este tipo de procesos está fuertemente influenciada por la transferencia de gas (especialmente de CH_4 y O_2), por el diseño del fermentador y dispersión de los gases.

El proceso de fermentación se lleva a cabo habitualmente en reactores de tanque agitado con alimentación de gases y control de variables como temperatura, pH, concentración de nutrientes, tasa de aireación y agitación. Además, la fuente de metano puede ser biogás obtenido directamente de residuos ganaderos, si se purifica adecuadamente para eliminar contaminantes como H_2S [2].

El modelado de fermentadores es clave para diseñar, escalar y optimizar procesos biotecnológicos de producción de SCP. La base de estos modelos suele ser un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) que describen balances de masa para biomasa, sustratos (CH_4 , O_2 , N, P), y productos (CO_2 , biomasa). La cinética microbiana frecuentemente se representa mediante ecuaciones tipo Monod, que vinculan la velocidad de crecimiento con la disponibilidad del sustrato limitante [3].

Modelos más avanzados incorporan fenómenos como la inhibición por sustrato, limitaciones de transferencia gas-líquido, y gradientes de concentración en el reactor, en el presente trabajo no vamos a tener en cuenta todos estos parámetros.

En el caso específico de sistemas alimentados por gases como metano, la solubilidad limitada tanto del O_2 como del CH_4 en líquido convierte la transferencia de masa en un factor crítico. Por ello, parámetros como el coeficiente de transferencia volumétrico de gas (k_La) deben incluirse para estimar correctamente la disponibilidad real del sustrato gaseoso. Este parámetro depende en gran medida del área de contacto entre ambas fases. Por esta razón, tanto el oxígeno como el metano se suministran al sistema en forma de burbujas, siendo óptimo un tamaño de entre 2 y 3 mm. Esta constante también está influenciada por la configuración del dispersor de gas y por diversas variables operativas como la viscosidad del líquido o el caudal del gas. En este contexto, resulta fundamental regular tanto la intensidad de la mezcla como el flujo de gas para asegurar concentraciones adecuadas de oxígeno y metano dentro del medio. Conocer y optimizar este parámetro es clave para el escalado efectivo del fermentador, ya que permite maximizar la eficiencia del proceso y, en consecuencia, la producción de proteína unicelular [4], [5].

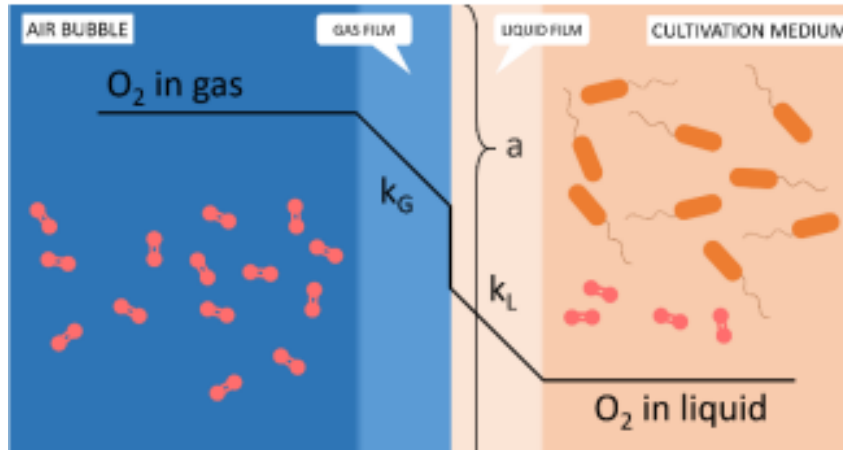


Figura 2 Transferencia masa de O_2 Gas líquido, Fuente: Juris Vanags [4]

Estas simulaciones basadas en los modelos mencionados anteriormente permiten predecir el comportamiento del sistema bajo distintos escenarios de operación (por ejemplo, distintas tasas de alimentación de gas, temperatura, aireación), facilitando así el análisis de sensibilidad y la optimización previa a la implementación física del sistema.

Dentro del marco de economía circular, la ganadería supone en Europa el motor de la economía rural como se ve en la Figura 3, aunque también genera una alta contaminación, siendo el principal subsector europeo generador de NH_3 y de CH_4 . Actualmente la gestión de los residuos generados en las granjas sigue planteando problemas como la eutrofización de las aguas, contaminación de aguas subterráneas o la degradación del suelo. La tesis doctoral de Petersen propone un modelo simplificado para evaluar la producción de SCP utilizando metano derivado del biogás generado en explotaciones ganaderas, al igual que el modelo de este trabajo. El modelo considera balances de masa para gases, nutrientes, biomasa, y contempla la eficiencia de conversión del metano en proteína. Este enfoque permite explorar la viabilidad técnica del proceso bajo distintas condiciones operativas, y constituye una herramienta útil para apoyar decisiones de diseño y dimensionamiento de biorreactores en sistemas reales de pequeña y mediana escala [2].

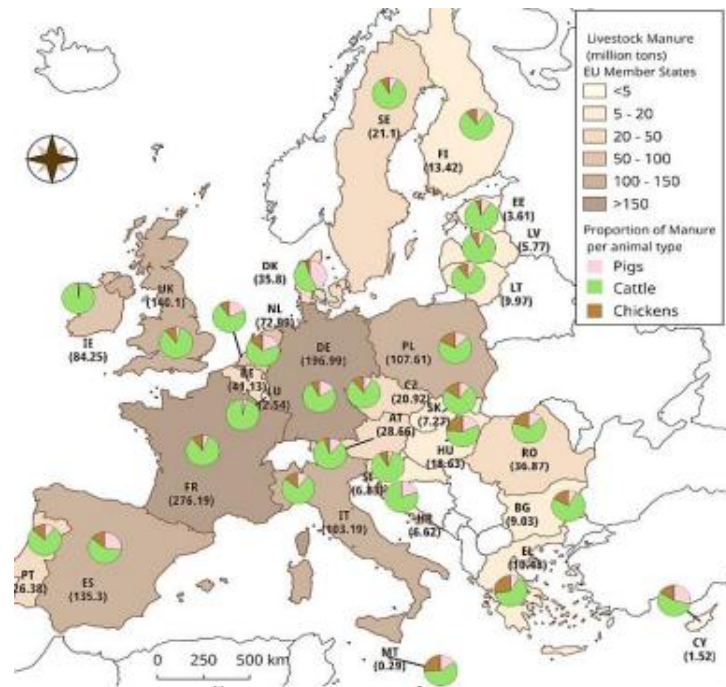


Figura 3. Producción anual de estiércol en UE. Fuente: Köninger, J., Lugato, E., Panagos, P., et al. (2021). Manure management and soil biodiversity: Towards more sustainable food systems in the EU.

El presente trabajo se centra en: la valorización de los efluentes líquidos ganaderos mediante la producción de proteína unicelular (SCP) a partir de biometano. Este gas se puede obtener en un digestor anaeróbico termofílico. Con esta configuración, al encontrarse el digestor anaerobio aguas arriba del fermentador aeróbico, el rendimiento del sistema global depende en gran medida de la calidad y estabilidad del biogás generado.

Cabe destacar que, para su uso como sustrato, el biogás requiere una etapa previa de purificación, orientada a eliminar compuestos tóxicos como sulfuros y amoníaco, que afectan tanto a la viabilidad de *Methylococcus capsulatus* como a la integridad de los equipos. Además, se debe evitar la formación de mezclas explosivas $\text{CH}_4\text{-O}_2$, por lo que es necesario un control preciso de la composición gaseosa.

Para poder utilizar la bacteria metanotrófica *Methylococcus capsulatus* en la producción de proteína unicelular (SCP), es indispensable contar con un sistema que pueda manejar grandes volúmenes de gas y, al mismo tiempo, garantizar una eficiente transferencia de masa entre el gas y el líquido, por lo que aquí entra en juego el parámetro k_La , nombrado anteriormente [2].

En este proceso, el biogás y el oxígeno se alimentan en fase gas a diferencia de la biomasa que se encuentra en el fermentador en fase líquida, existe una tasa de dilución que lo que hace es renovar el entorno, por lo que coexisten estas dos fases y tendremos que saber sus proporciones óptimas para que se produzca la transferencia. Como ya se ha dicho, el oxígeno tiene una solubilidad en líquido muy baja (k_{La} baja) lo que hace que no se produzca esta transferencia de una manera fácil y aunque el metano (que se encuentra en el biogás) tiene una constante mayor, también se genera este problema [4], [5].

Otro problema que surge en este tipo de procesos en el diseño de bioreactores, es el shear rate (tasa de cizalladura), que es una medida de cómo se deforma un fluido cuando se le aplica una fuerza tangencial. En bioprocesos, está directamente relacionada con la velocidad de agitación o circulación del fluido y se expresa en s^{-1} . En los bioreactores se genera principalmente por agitadores mecánicos, inyección de gas o bombeo de recirculación. Es una tasa critica debido a que determina la intensidad del esfuerzo mecánico que experimenta el líquido y por ende los microorganismos que están suspendidos en él (en nuestro caso las bacterias). Un shear alto equivale a una mejor mezcla, pero se corre el riesgo de daño celular mientras que uno bajo es mejor para microorganismos frágiles, aunque puede limitar la transferencia de oxígeno. Como se menciona en el artículo García-Ochoa, F., & Gomez, E. (2009), "La correcta elección del diseño y condiciones de operación del biorreactor influye directamente en la tasa de transferencia de oxígeno (OTR), lo que a su vez determina el crecimiento y producción metabólica de los microorganismos" [6]. En el modelo de este fermentador de biometano no se va a modelar este shear rate, pero sí se tendrá en cuenta para realizar los análisis pertinentes.

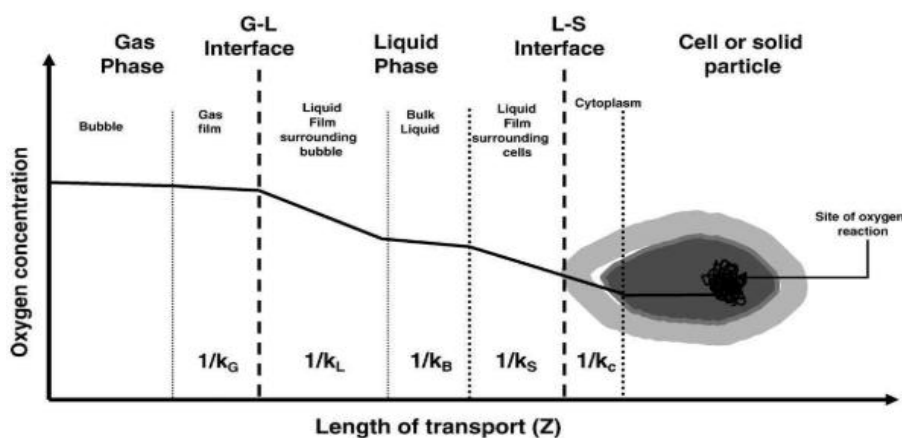


Figura 4. Concentración de oxígeno y resistencias de transferencia de masa según la teoría de las dos películas. Fuente: Adaptado de García-Ochoa y Gómez (2009) [5]

Debido a estos problemas, surge la duda de qué tipo de reactor usar, para ello tendremos que analizar los diferentes tipos de reactores. Entre los diferentes tipos de biorreactores utilizados en procesos de fermentación, el reactor de tanque agitado (Stirred Tank Reactor, STR) ha sido tradicionalmente valorado por su capacidad para lograr una buena mezcla en la fase líquida. Sin embargo, este tipo de reactor presenta limitaciones importantes cuando se trata de la transferencia de masa gas-líquido, especialmente a medida que aumenta la fracción volumétrica de gas. De hecho, fracciones de gas tan bajas como 0,05 pueden comprometer seriamente su funcionamiento, impidiendo el adecuado *gas hold-up* y el bombeo interno del líquido [7] [2].

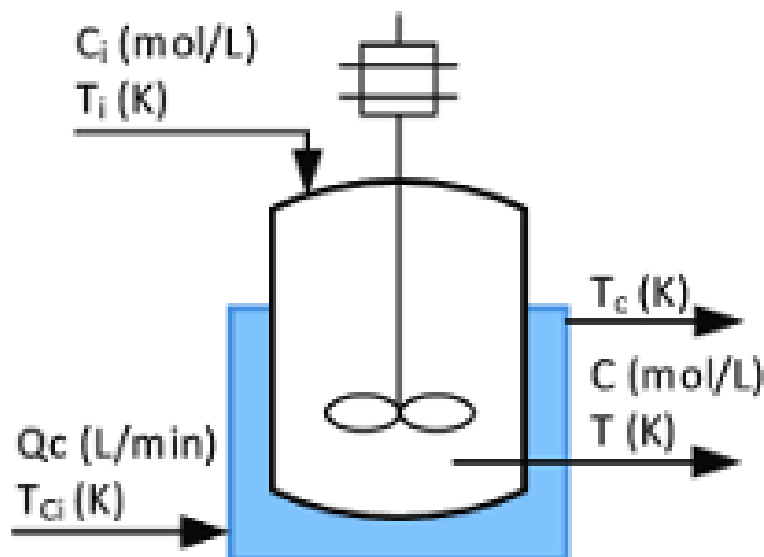


Figura 5. Esquema reactor CSTR, Fuente: Genge, B., Haller, P., & Enăchescu, C. (2019). *Anomaly Detection in Aging Industrial Internet of Things*.

Por otro lado, los reactores tipo columna de burbujas y airlift son capaces de manejar fracciones de gas significativamente mayores. No obstante, su principal desventaja radica en la baja eficiencia de transferencia de masa, debido a la ausencia de mecanismos que introduzcan energía mecánica en el sistema, lo que limita la mezcla y, por tanto, la eficacia del proceso [7], [2].

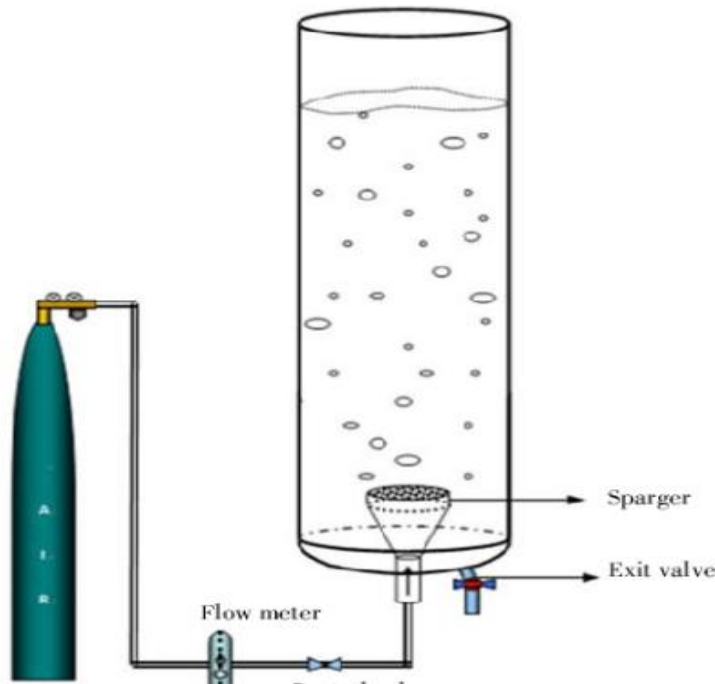


Figura 6. Esquema de un reactor columna de burbujas. Fuente: Arjomandzadegan, M. et al. (2014). *Efficacy evaluation and kinetic study of biosorption of nickel and zinc by bacteria isolated from stressed conditions in a bubble column.* Asian Pacific Journal of tropical medicine

Ante estas limitaciones, surge la necesidad de un sistema que combine lo mejor de ambos tipos: la capacidad de operar con altas fracciones de gas, sin sacrificar la eficiencia de mezcla ni la transferencia de masa. En este contexto, se emplea un biorreactor tipo U-loop, una configuración novedosa diseñada específicamente para optimizar la producción de proteína unicelular (SCP). Este reactor destaca por su capacidad para manejar volúmenes elevados de gas sin comprometer el rendimiento de mezcla, gracias a su geometría en forma de U, que incrementa el tiempo de retención del gas en el líquido, y a la incorporación de mezcladores estáticos y flujo forzado, similares a los presentes en los reactores de columna de burbujas [7].

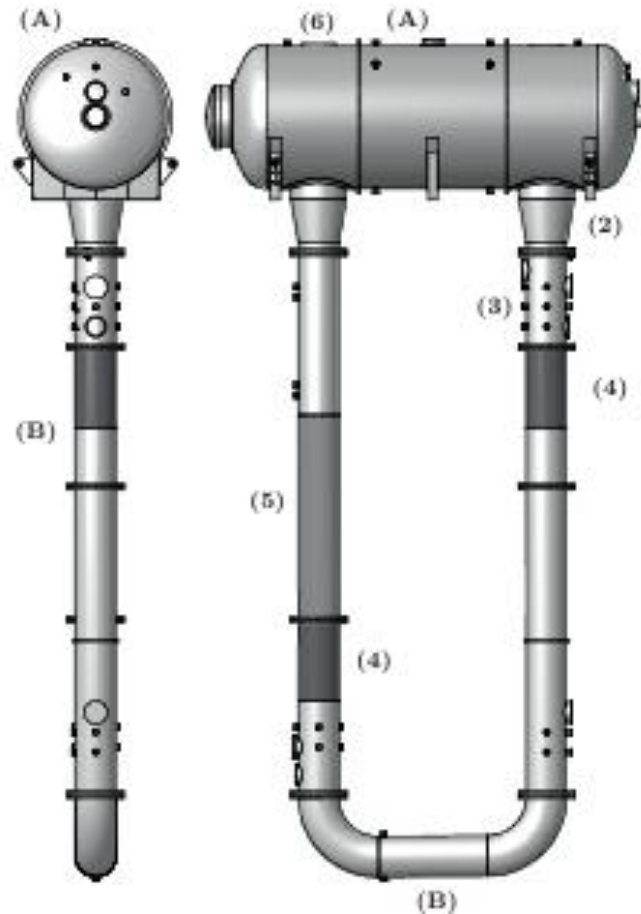


Figura 7. Esquema reactor U-loop, Fuente: Petersen, L. A. H. (2019) [8]

En conjunto, estas características hacen del U-loop un sistema ideal para maximizar la transferencia de masa y la eficiencia energética en procesos de fermentación aerobia, clave para la producción de SCP a partir de metano.

1.3. OBJETIVOS Y ALCANCE

Este Trabajo de Fin de Grado tiene como finalidad el desarrollo e implementación de un modelo matemático que represente la producción de proteína unicelular (SCP) a partir de biometano mediante el cultivo de la bacteria metanotrófica *Methylococcus capsulatus*. El enfoque se centra en la formulación y simulación de un sistema continuo simplificado, con el fin de estudiar su viabilidad técnica, analizar la influencia de parámetros clave y explorar su aplicabilidad a futuros diseños más complejos.

Para simplificar el modelado y dada la complejidad que presentan configuraciones reales como los reactores U-loop, se opta por representar el sistema mediante un fermentador continuo de tanque agitado (CSTR). Este tipo de reactor, a pesar de sus limitaciones en cuanto a transferencia de gases, permite una formulación más manejable del sistema dinámico y resulta útil para obtener una primera aproximación del comportamiento del cultivo en condiciones controladas [2], [6]. En este modelo, la extracción continua del medio líquido se modela mediante la tasa de dilución (D), arrastrando biomasa residual que, tras su recuperación y secado, constituye el producto final destinado a alimentación animal. Esta aproximación también facilita el análisis del régimen transitorio y del estado estacionario, así como su posible generalización a arquitecturas más complejas. De hecho, el modelo CSTR puede servir como bloque base para aproximar el comportamiento de un reactor gas-lift tipo U-loop, al ser utilizado en configuraciones modulares conectadas en serie con alimentaciones intermedias.

Objetivos específicos:

- Formular las ecuaciones de balance de masa para biomasa, metano y oxígeno disueltos en régimen continuo [2], [6].
- Implementar el modelo en Python aplicando métodos numéricos de integración.
- Simular el comportamiento dinámico del sistema y analizar su evolución hasta el estado estacionario.
- Evaluar la sensibilidad del sistema a los parámetros cinéticos y de transferencia de masa más representativos [5], [7].

- Establecer las bases conceptuales para extender el modelo hacia configuraciones modulares más complejas, como un U-loop, y valorar su aplicabilidad en procesos reales de producción de SCP.

Alcance del trabajo:

Este trabajo se limita al desarrollo teórico y numérico de un modelo CSTR simplificado, sin validación experimental ni diseño físico del sistema. No se abordan aspectos de escalado industrial ni cálculos energéticos o económicos detallados, aunque se discuten sus implicaciones potenciales en el marco de la bioeconomía circular. La formulación del modelo parte de condiciones homogéneas y controladas (pH, temperatura, concentración de gases disueltos) y se orienta a la comprensión cualitativa del proceso biotecnológico y su comportamiento en distintas condiciones de operación.

2. METODOLOGÍA

En esta sección se desarrolla un modelo matemático destinado a representar el comportamiento dinámico del fermentador continuo de tanque agitado (CSTR) empleado para la producción de proteína unicelular (SCP) a partir de biogás. El modelo se basa en balances de masa aplicados a las principales especies involucradas (biomasa microbiana, metano disuelto y oxígeno disuelto) e incorpora los fenómenos más relevantes del proceso, como la cinética microbiana, la transferencia de masa gas-líquido y el decaimiento celular.

La evolución temporal de las concentraciones se describe mediante un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs), considerando el consumo de sustrato tanto por crecimiento celular como por mantenimiento, y la entrada de gases desde la fase gaseosa al líquido mediante transferencia de masa. Para modelar el crecimiento microbiano, se utiliza una cinética tipo Monod con limitación simultánea por metano y oxígeno, adaptada a la baja solubilidad de estos compuestos en medio acuoso. Las condiciones de operación se mantienen constantes en esta primera fase, y la simulación se orienta a analizar el comportamiento del sistema bajo diferentes combinaciones de parámetros, así como su sensibilidad frente a cambios en las condiciones clave.

Además, se ha considerado la contribución de términos de mantenimiento y decaimiento celular, ya que es esta biomasa muerta la que nos interesa como producto final, aunque necesitamos también que un porcentaje vaya creciendo para que se establezca la concentración, así como la interacción entre la fase gaseosa y líquida a través de los términos de transferencia de masa, aspectos clave para reflejar adecuadamente la naturaleza del proceso. La estructura matemática resultante es un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) que se resuelve numéricamente para distintas condiciones de operación, se mostrarán en el siguiente apartado.

Este modelo no solo permite comprender los factores limitantes del sistema y su impacto sobre la eficiencia de conversión del biogás en biomasa, sino que también constituye una herramienta útil para el escalado futuro del proceso, mediante reactores más elaborados, por ejemplo una sucesión en serie de este CSTR para simular el comportamiento de un U-loop.

2.1. MODELO CSTR

Con el objetivo de abordar la complejidad del sistema fermentativo, se plantea un modelo simplificado basado en un fermentador continuo de tanque agitado (CSTR), representado únicamente en su fase líquida. Esta simplificación se justifica en la hipótesis de que la fase gaseosa, donde se encuentran el metano (CH₄) y el oxígeno (O₂), actúa como un reservorio ideal, asegurando una disponibilidad continua de ambos gases mediante mecanismos de transferencia gas-líquido. Así, se evita modelar directamente el comportamiento de la fase gaseosa y se reduce la complejidad computacional. Como ampliación a este modelo, se podría simular una serie de estos reactores conectados, variando el punto de entrada del gas en cada uno de ellos, con el objetivo de aproximar el comportamiento de un sistema más complejo, como un reactor tipo U-loop. como el que se plantea en la tesis de Petersen.

El modelo resultante considera tres variables principales: la concentración de biomasa microbiana (X), la concentración de metano disuelto (S_{CH₄}) y la concentración de oxígeno disuelto (O₂). Estas variables están interrelacionadas a través de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) que describen los balances de masa en el interior del reactor.

2.1.1. Modelos Empleados

La cinética microbiana, representa la tasa de crecimiento específico (μ) como función simultánea de las concentraciones de metano y oxígeno disueltos:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left(\frac{S_{CH_4}}{K_{S,CH_4} + S_{CH_4}} \right) \cdot \left(\frac{O_2}{K_{O_2} + O_2} \right)$$

Esta formulación refleja el hecho de que ambos compuestos son esenciales y limitantes para el crecimiento de *Methylococcus capsulatus*, el microorganismo seleccionado para este proceso.

A partir de esta tasa de crecimiento se calculan las siguientes contribuciones:

- Producción neta de biomasa: considerando tanto el crecimiento como el decaimiento celular.
- Consumo de sustratos (CH_4 y O_2): incluye el consumo asociado al crecimiento celular (según los coeficientes de rendimiento Y_{XS,CH_4} , Y_{XS,O_2}) y el consumo de mantenimiento (m_{S,CH_4} , m_{S,O_2}).
- Transferencia de masa desde la fase gaseosa: se modela como una entrada dependiente del gradiente de concentración entre la concentración de saturación (C^*) y la concentración actual en el líquido, multiplicado por un coeficiente volumétrico de transferencia ($k_L a$).

Cada balance de masa en el reactor sigue la estructura general:

$$\frac{dC}{dt} = D \cdot (C_{in} - C) + \text{Reacción} + \text{Transferencia}$$

Donde D es la tasa de dilución (flujo/volumen), tasa con la que se renueva el volumen del reactor, y C representa la concentración de cada especie. En este caso, las concentraciones de entrada de CH_4 y O_2 en el flujo líquido se consideran nulas, ya que la alimentación de gases se modela exclusivamente por transferencia desde la fase gas, y no se contempla recirculación de biomasa. El valor de D debe ser inferior a la tasa máxima de crecimiento de *M. capsulatus*, con el fin de evitar el lavado celular y permitir una mayor concentración de biomasa en el efluente. Este valor permite mantener el cultivo en condiciones estables y recuperar producto con alta densidad celular.

Esta recirculación no se realiza ya que sería redundante. En un reactor continuo de tanque agitado (CSTR), el contenido del reactor se mantiene perfectamente mezclado mediante agitación, lo que implica que las concentraciones de sustratos y productos son homogéneas en todo el volumen del tanque. Además, desde un punto de vista ingenieril, la recirculación implica un gasto energético adicional en bombeo sin beneficios evidentes sobre la transferencia de masa ni la conversión. Por estas razones, se considera que la recirculación interna no es aplicable ni operativamente útil en un CSTR de tanque agitado.

Este modelo se implementa mediante un código en Python incluido en los anexos. El sistema de ecuaciones se ha resuelto numéricamente utilizando el método de Runge-Kutta (RK45), estima la solución de ecuaciones diferenciales avanzando paso a paso en el tiempo, ajustando automáticamente el tamaño del paso según el error entre dos aproximaciones de distinto orden, este método está implementado en la función `solve_ivp` del paquete SciPy de Python. La simulación abarca un intervalo temporal que permita observar tanto la fase transitoria como la posible estabilización del sistema, permitiendo alcanzar un estado estacionario donde la biomasa generada y la muerta se equilibran, condición necesaria para obtener una producción estable del producto deseado. Asimismo, se han representado gráficamente las curvas de evolución de las concentraciones para facilitar la interpretación de los resultados.

Este modelo constituye una base sólida para evaluar los parámetros clave del proceso y explorar, en etapas posteriores, escenarios más complejos que incluyan balances en la fase gas, variaciones en el flujo de entrada, reactores en serie o la incorporación de fenómenos de inhibición y limitación estructural del reactor.

2.1.2. Ecuaciones

Una vez definidos los parámetros, el comportamiento del sistema se describe mediante un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) que modelan las tasas de cambio de biomasa, metano disuelto y oxígeno disuelto. Estas ecuaciones incorporan tanto la cinética microbiana como los fenómenos de transferencia de masa y los efectos de dilución propios de un reactor continuo. La Tabla 1 muestra las principales ecuaciones empleadas en el modelo, así como una descripción de su función dentro del sistema.

Tabla 1 Ecuaciones modelo del bioreactor

Nombre	Ecuación	Descripción
Crecimiento microbiano	$\mu = \mu_{\max} \cdot \left(\frac{S_{CH_4}}{K_{S,CH_4} + S_{CH_4}} \right) \cdot \left(\frac{O_2}{K_{O_2} + O_2} \right)$	Cinética tipo Monod doblemente limitante para metano y oxígeno.
Producción neta de biomasa	$\frac{dX}{dt} = D \cdot (X_{in} - X) + \mu X - k_d X$	Balance de biomasa: incluye dilución, crecimiento y decaimiento.
Consumo de metano	$\frac{dS_{CH_4}}{dt} = D \cdot (S_{in,CH_4} - S_{CH_4}) + r_{S,CH_4}^{transfer} + r_{S,CH_4}^{bio}$	Balance de metano disuelto: entrada/salida, consumo y transferencia gas-líquido.
Consumo de oxígeno	$\frac{dO_2}{dt} = D \cdot (O_{in} - O_2) + r_{O_2}^{transfer} + r_{O_2}^{bio}$	Balance de oxígeno disuelto: entrada/salida, consumo y transferencia gas-líquido.
Transferencia de masa	$r_i^{transfer} = k_L a^i \cdot (C_i^* - S_i)$	Tasa de transferencia de masa del gas i (CH ₄ u O ₂) hacia la fase líquida.
Consumo total de sustrato i	$r_i^{bio} = - \left(\frac{1}{Y_{Xi}} \mu X + m_i \right)$	Consumo total de metano u oxígeno: asociado a crecimiento y mantenimiento.
Tasa de dilución	$D = \frac{F}{V}$	Caudal de entrada dividido por el volumen del reactor. Controla renovación del medio.

Aunque un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) se analiza comúnmente en condiciones de estado estacionario, en este trabajo se ha optado por simular su comportamiento dinámico a lo largo del tiempo. Este enfoque permite representar el transitorio que ocurre desde unas condiciones iniciales arbitrarias hasta alcanzar el régimen permanente, facilitando el análisis de la estabilidad del sistema, el tiempo necesario para su estabilización y la sensibilidad ante cambios en parámetros operativos. La solución final obtenida tras este periodo de ajuste representa precisamente el estado estacionario del sistema, que es la condición típica de operación en un CSTR.

2.1.3. Parámetros

A continuación, se presenta un resumen de los parámetros utilizados en la formulación del modelo. Estos incluyen constantes cinéticas, coeficientes de transferencia de masa, rendimientos de conversión y condiciones operativas relevantes para el funcionamiento del fermentador continuo. Los valores asignados se han obtenido a partir de referencias bibliográficas [2], [8], [9] o supuestos razonables basados en estudios previos con *Methylococcus capsulatus* y sistemas similares. La Tabla 2 recoge esta información de forma estructurada, con sus respectivos símbolos, unidades y una breve descripción de su significado.

Tabla 2 Parámetros base del modelo del bioreactor

Parámetro	Símbolo	Valor	Unidades	Descripción
Tasa máx. de crecimiento específico	μ_{max}	0.228	h^{-1}	Tasa máxima de crecimiento específico de la biomasa.
Const. de semisaturación de metano	K_{S,CH_4}	0.01	g/L	Constante de semisaturación para el metano en la cinética de crecimiento.
Const. de semisaturación de oxígeno	K_{O_2}	0.002	g/L	Constante de semisaturación para el oxígeno en la cinética de crecimiento.
Rendimiento biomasa/metano	Y_{XS,CH_4}	0.76	g biomasa / g metano	Coeficiente de rendimiento de biomasa a partir de metano.
Rendimiento biomasa/oxígeno	Y_{XS,O_2}	0.4	g biomasa / g oxígeno	Coeficiente de rendimiento de biomasa a partir de oxígeno.
Mantenimiento de metano	m_{S,CH_4}	0.01	g metano / (g biomasa·h)	Consumo de metano para mantenimiento celular.
Mantenimiento de oxígeno	m_{S,O_2}	0.02	g oxígeno / (g biomasa·h)	Consumo de oxígeno para mantenimiento celular.
Tasa de decaimiento celular	k_d	0.01	h^{-1}	Tasa específica de decaimiento celular.
Transf. de masa metano (gas-líquido)	$k_L a^{CH_4}$	200	h^{-1}	Coeficiente volumétrico de transferencia de masa para el metano.
Transf. de masa oxígeno (gas-líquido)	$k_L a^{O_2}$	371	h^{-1}	Coeficiente volumétrico de transferencia de masa para el oxígeno.
Conc. de saturación metano	$C_{CH_4}^*$	0.014	g/L	Concentración de saturación de metano en la fase líquida.
Conc. de saturación oxígeno	$C_{O_2}^*$	0.008	g/L	Concentración de saturación de oxígeno en la fase líquida.
Tasa de dilución	D	0.1	h^{-1}	Tasa de renovación del volumen en el CSTR.
Conc. de entrada de metano	S_{in,CH_4}^*	0.005	g/L	Concentración de metano en la alimentación líquida.
Conc. de entrada de oxígeno	O_{in}^*	0.008	g/L	Concentración de oxígeno en la alimentación líquida.
Conc. de entrada de biomasa	X_{in}^*	0.01	g/L	Concentración de biomasa en la alimentación.

*Estas concentraciones tendrán este parámetro base a no ser que se diga lo contrario.

2.1.4. Condiciones de Contorno

Para poder simular el comportamiento dinámico del sistema en régimen continuo, es necesario definir las condiciones de contorno que determinan el estado del fluido en el reactor en un instante inicial. Estas condiciones iniciales permiten establecer el marco sobre el cual se resuelve el sistema de ecuaciones diferenciales planteado, garantizando la coherencia del modelo con una operación de tipo CSTR en flujo estacionario. Los valores asignados a estas condiciones se detallan en el apartado correspondiente de simulación:

- $X_o = 1 \text{ g/l}$ (Valor que podemos variar para ver cómo influye en el modelo)
- $O_2 = 0.00001 \text{ g/l}$ (Valor muy pequeño debido a que en el instante inicial no hay gas disuelto en el líquido)
- $S_{CH_4} = 0.00001 \text{ g/l}$ (Valor muy pequeño debido a que en el instante inicial no hay gas disuelto en el líquido)

Se va a suponer que, en el instante inicial, solo se tiene biomasa disuelta en agua, formando un lodo y que el oxígeno y el metano entran en contacto con esta solo por transferencia gas-líquido como ya se ha comentado anteriormente.

Finalmente, se ha planteado un análisis de sensibilidad para evaluar la influencia relativa de los parámetros cinéticos y fisicoquímicos sobre la respuesta del sistema. Este análisis se basa en la variación individual de cada parámetro dentro de rangos definidos por literatura especializada, y se detalla junto con sus resultados en el apartado siguiente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el objetivo de analizar la influencia de los parámetros más relevantes del modelo sobre el comportamiento del sistema, se ha realizado un análisis de sensibilidad basado en rangos de variación extraídos directamente de la literatura científica relacionada con cultivos metanotróficos. Este análisis contempla ajustes en los parámetros cinéticos y fisicoquímicos de forma individual, manteniendo constantes el resto de las variables, con el fin de identificar su impacto relativo en la productividad del proceso.

3.1. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

3.1.1. Variación de Parámetros

Los principales parámetros que rigen el comportamiento del modelo presentan una alta sensibilidad frente a condiciones fisicoquímicas del entorno, así como a variables operativas del biorreactor. Esta sensibilidad ha sido ampliamente documentada en la literatura científica y se ha considerado a la hora de definir los rangos de variación para este análisis de sensibilidad.

En primer lugar, la tasa máxima de crecimiento microbiano (μ_{\max}) depende principalmente de factores como la temperatura, el pH y el nivel de estrés celular. Se ha observado que μ_{\max} disminuye cuando el sistema se somete a condiciones extremas, tales como temperaturas elevadas, pH fuera del rango óptimo o agitación excesiva, que puede inducir daño celular o aumentar el consumo energético para mantenimiento interno [7], [10]. Aunque en este modelado simplificado no se tenga en cuenta T^a y pH, se pueden variar de forma lógica los valores que dependan de ellos para ver cómo influirían.

Por otro lado, las constantes de semisaturación para el metano (K_{s,CH_4}) y para el oxígeno (K_{s,O_2}) reflejan la afinidad del sistema por estos sustratos en fase disuelta, y su valor está influenciado por factores como la presión parcial del gas, la eficiencia de dispersión (tamaño de burbuja) y la temperatura. A temperaturas más elevadas y en presencia de burbujas grandes, se reduce la disolución efectiva de gases en el medio, lo que eleva el valor de K_s e impide un crecimiento eficiente de la biomasa [11]. En

particular, la disponibilidad de oxígeno afecta la actividad de la metano monooxigenasa (MMO), enzima clave en el metabolismo metanotrófico, haciendo que la K_{s,O_2} aumente en condiciones de baja oxigenación.

Los coeficientes de transferencia de masa (kLa), tanto para oxígeno como para metano, son altamente sensibles al régimen hidrodinámico del reactor y a la geometría del sistema de aireación. Se ha documentado que tecnologías como la microburbujeo o el uso de membranas aumentan significativamente kLa frente a métodos tradicionales de burbujeo, mejorando así la disponibilidad de sustrato gaseoso en la fase líquida [12].

En paralelo, la concentración de saturación (C^*) de los gases en el líquido, determinada por la ley de Henry:

$$C_i^* = H_i P_i$$

Donde H_i es la constante de Henry del elemento y P_i su presión parcial, por lo que esta concentración en la saturación queda condicionada por la presión y temperatura, aunque sean parámetros que no hemos incluidos en el modelado.

El rendimiento en biomasa respecto al sustrato consumido (Y_{xs}) es otro parámetro clave cuyo valor depende de la eficiencia metabólica del microorganismo. Diversos estudios indican que *Methylococcus capsulatus* puede alcanzar rendimientos de entre 0.5 y 0.7 g biomasa/g CH_4 , dependiendo de si está activa la enzima pMMO o sMMO. Esta expresión enzimática, a su vez, está regulada por la presencia de iones cobre y la disponibilidad de oxígeno [13].

Finalmente, los parámetros asociados al mantenimiento celular (m) y a la tasa de muerte celular (k_d) tienden a incrementarse en condiciones operativas adversas. Por ejemplo, el exceso de oxígeno, el estrés oxidativo o una agitación excesiva pueden inducir un aumento en el consumo de energía de las células para reparar daños o simplemente mantenerse vivas, elevando la tasa de mantenimiento. En situaciones extremas, este estrés también puede derivar en una mayor tasa de muerte celular, afectando negativamente la estabilidad del sistema y su productividad global [7], [14].

A partir de esta revisión y considerando las condiciones típicas de operación descritas en la literatura para procesos de producción de proteína unicelular mediante metanotrofos, se han definido los valores base y los rangos de variación aplicados en el análisis de sensibilidad. En la siguiente tabla se recoge esta información, la cual servirá

como base para evaluar el impacto de cada parámetro sobre el comportamiento del sistema modelado. Todos los valores han sido seleccionados dentro de márgenes realistas y fundamentados en estudios previos, con el objetivo de garantizar la coherencia del análisis y su aplicabilidad a contextos reales de operación.

Tabla 3. Resumen variación parámetros

Parámetro	Valor base	Rango lógico de variación (%)	Justificación
μ_{max}	0.228 h ⁻¹	±30 % (0.16–0.30)	Sensible a T y pH
K_{S,CH_4}	0.01 g/L	±100 % (0.001–1 g/L)	Afectado por dispersión y T
Y_{XS,O_2}	0.002 g/L	±100 % (0.0001–0.01 g/L)	Muy sensible a presión parcial O ₂
Y_{XS}	0.4-0.6 g/g	±20 %	Influido por metabolismo; menor el oxígeno que el metano
$k_L a^{O_2}$	371 h ⁻¹ (O ₂)	±40 % (260–520)	Depende de agitación y geometría
$k_L a^{CH_4}$	200 h ⁻¹ (CH ₄)	±40 % (200–500)	Depende de agitación y geometría
m	0.01–0.1 g/g·h	±100 %	Aumenta bajo estrés
k_d	0.01 h ⁻¹	±100 % (0.005–0.02)	Se duplica bajo shear alto
$C^*_{CH_4}$	0.014	±15–20 %	Varía con presión/T
$C^*_{O_2}$	0.008	±15–20 %	Varía con presión/T
D	0.1 h ⁻¹	±50 % (0.05–0.15)	Ajuste operativo del proceso

Los rangos de variación de los parámetros incluidos en la tabla se basan en valores reportados en la bibliografía [7], [10]– [14] y en principios generales de ingeniería bioquímica. Aunque no siempre se indican porcentajes exactos, los intervalos propuestos reflejan estimaciones razonables según la sensibilidad de cada parámetro a condiciones operativas como temperatura, pH, presión y agitación.

A continuación, se va a presentar el análisis del modelo, con el objetivo de identificar los parámetros que más influyen en el comportamiento del sistema. Para ello, se han planteado dos enfoques complementarios: una variación univariante de

parámetros de forma independiente y un escenario multivariante donde se contemplan correlaciones lógicas entre variables operativamente relacionadas.

3.1.2. Análisis Univariante

En primer lugar, se ha realizado un análisis de sensibilidad univariante, en el que se ha evaluado el efecto individual de cada parámetro del modelo sobre las variables de salida más relevantes del sistema, como la concentración de biomasa, el consumo de metano y oxígeno, y la estabilidad del régimen estacionario. Para ello, cada parámetro se ha variado de forma independiente dentro del rango definido a partir de la literatura científica, mientras que el resto se ha mantenido constante. Este enfoque permite identificar cuáles son los parámetros más influyentes sobre el comportamiento del sistema y proporciona una primera aproximación para priorizar futuras estrategias de control, optimización o diseño del proceso.

En la Figura 9 se presentan los resultados de la simulación del biorreactor de mezcla perfecta (CSTR) con los parámetros cinéticos, operativos y de transferencia definidos como condiciones base:

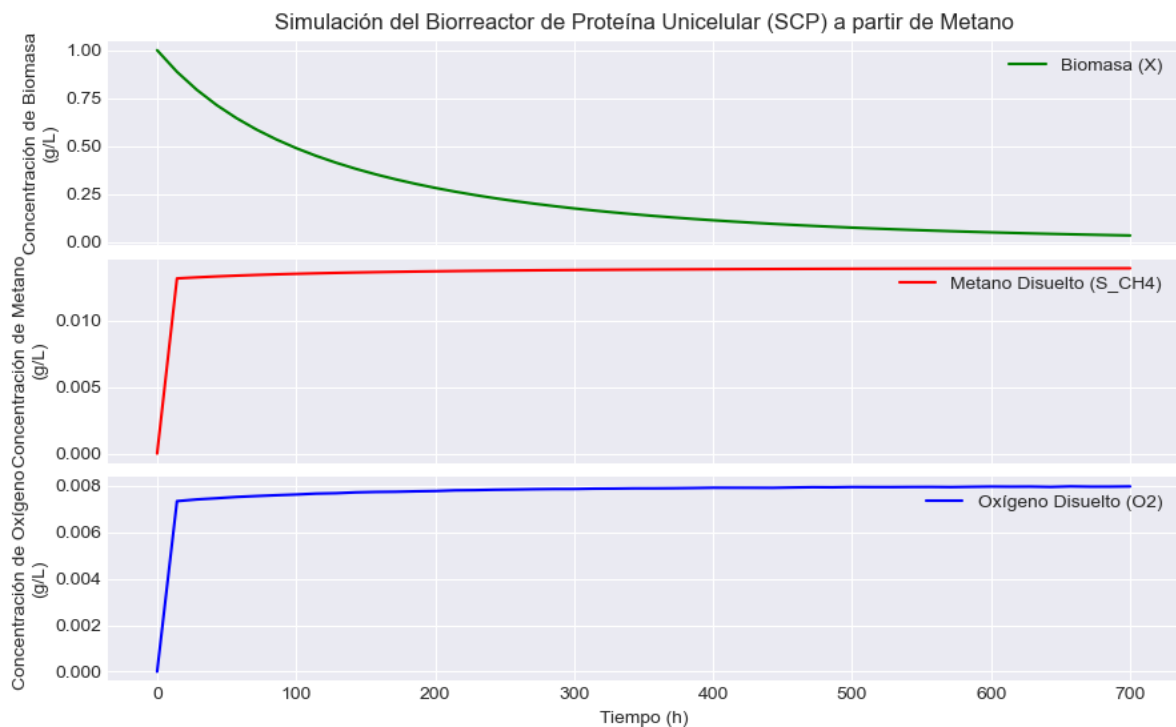


Figura 8. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano con parámetros base

Como puede observarse, la concentración de biomasa disminuye progresivamente con el tiempo hasta estabilizarse en valores cercanos a 0 a partir de las 500h, lo que indica que las condiciones iniciales no permiten un crecimiento sostenido del cultivo, ya que llega al estacionario en valores muy cercanos a 0. Esta tendencia puede explicarse por la baja concentración inicial de biomasa y por la posible descompensación entre la tasa de crecimiento y la tasa de decaimiento celular. En contraposición, tanto el metano como el oxígeno disuelto alcanzan rápidamente concentraciones de saturación, lo cual sugiere que la transferencia gas-líquido es eficiente, pero no acompañada de un consumo activo por parte de la biomasa. Los valores de saturación se alcanzan en un corto periodo de tiempo, ya que su magnitud es reducida. Este comportamiento inicial es relevante como referencia para evaluar el efecto de modificar los distintos parámetros en el análisis de sensibilidad que se presenta a continuación.

3.1.2.1. TASA DE CRECIMIENTO MÁXIMA y TASA DE MUERTE CELULAR

Dentro del análisis univariante, se ha considerado adecuado agrupar la evaluación de la tasa máxima de crecimiento celular (μ_{max}) y la tasa de decaimiento celular (k_d), ya que ambos parámetros están directamente relacionados con la evolución de la biomasa en el sistema y su influencia principal se manifiesta sobre la misma variable de salida. A través de este análisis se busca determinar en qué medida afectan al rendimiento del proceso y cuáles serían las condiciones más favorables para maximizar la producción de biomasa.

En primer lugar, la variación de la tasa de crecimiento máximo muestra una influencia clara sobre la acumulación de biomasa en el sistema. Con valores altos de μ_{max} ($0.3h^{-1}$) la biomasa alcanza concentraciones de hasta 3.5 g/L en torno a las 150 h, estabilizándose. Mientras los sustratos (CH_4 y O_2) se consumen parcialmente sin alcanzar su saturación total. En cambio, al disminuir μ_{max} al mínimo evaluado ($0.16h^{-1}$), la biomasa desciende rápidamente hasta desaparecer en unas 80 h, lo que se traduce también en una saturación rápida y sostenida de ambos gases, que ya no son consumidos por la biomasa. Este comportamiento indica que una baja capacidad de

MODELADO DE FERMENTADOR DE BIOMETANO:
Fermentador aerobio para producción de proteínas para
alimento animal

Universidad de Zaragoza: EINA

crecimiento imposibilita la sostenibilidad del cultivo frente a la dilución y la muerte celular. En la siguiente figura podemos ver las gráficas de las simulaciones.

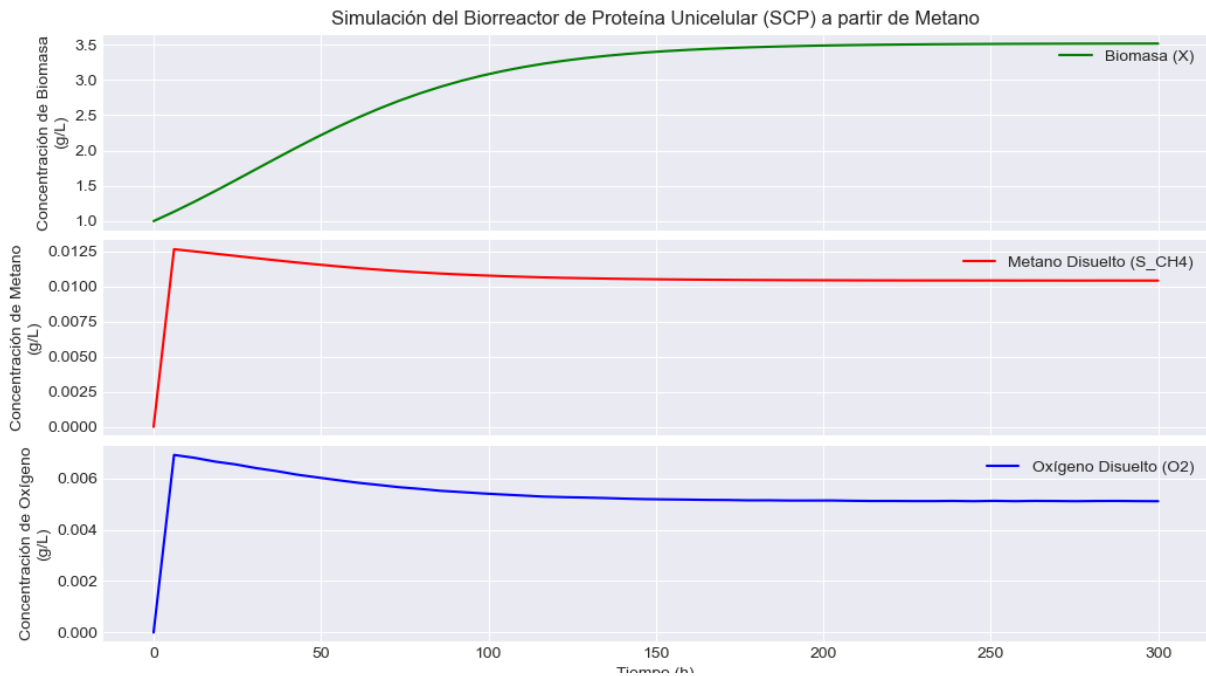


Figura 9. Concentraciones biomasa, O2 y CH4 para valor máximo tasa crecimiento celular máxima

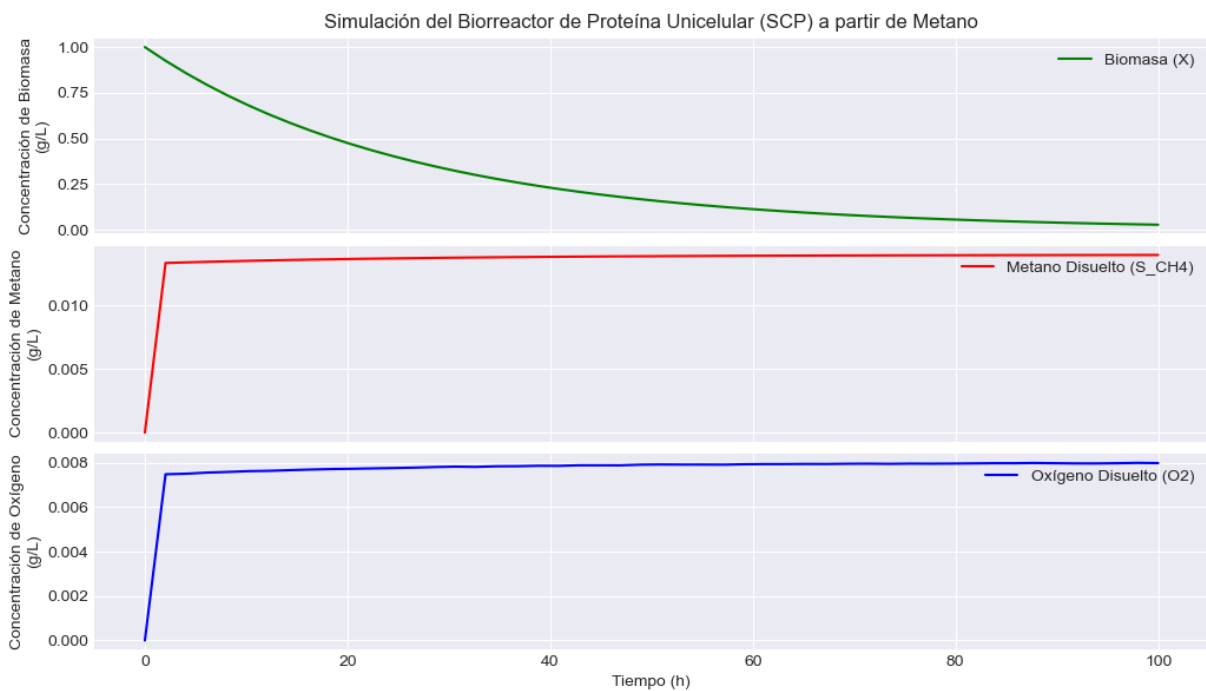


Figura 10. Concentraciones biomasa, O2 y CH4 para valor máximo tasa crecimiento celular máxima

Por su parte, la tasa de decaimiento celular (k_d) afecta principalmente a la velocidad con la que se pierde biomasa. Aunque en estado estacionario el sistema tiende al colapso en ambos casos, el valor alto de k_d (0.02h^{-1}) acelera este proceso, haciendo que la biomasa desaparezca en unas 300 h, frente a más de 1000 h en el caso del valor mínimo (0.005h^{-1}).

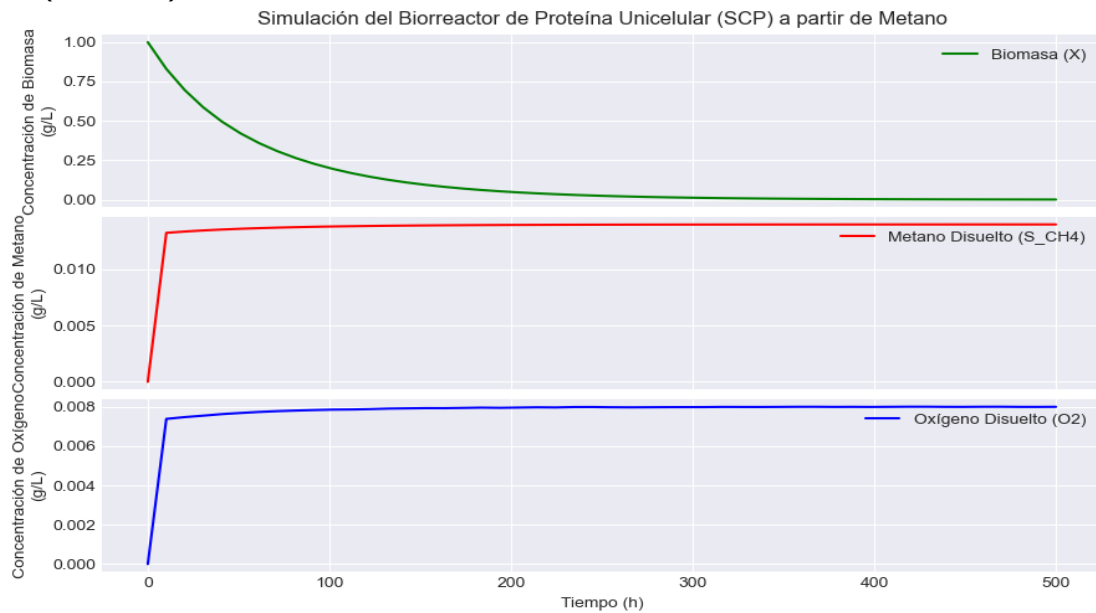


Figura 11. Concentraciones biomasa, O2 y CH4 para valor mínimo tasa decaimiento celular

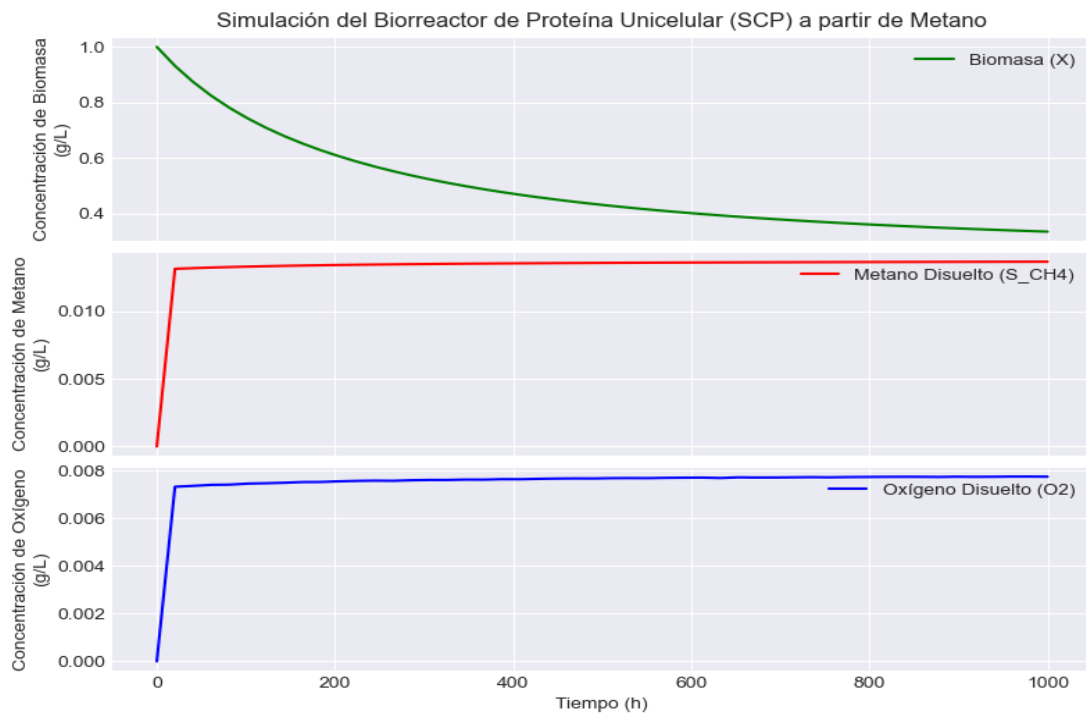


Figura 12. Concentraciones biomasa, O2 y CH4 para valor máximo tasa decaimiento celular

3.1.2.2. COEFICIENTE DE SEMISATURACIÓN

En el análisis univariante se ha observado que la variación de la constante de semisaturación para el oxígeno (K_{O_2}) tiene un impacto muy limitado sobre el comportamiento del sistema. El aumento de su valor provoca una ligera disminución en la concentración final de biomasa, aunque sin afectar significativamente a la dinámica global del proceso. Esto sugiere que, en este caso, el oxígeno no es el factor limitante principal. No obstante, mantener valores bajos de K_{O_2} resulta conveniente para asegurar una buena captación del oxígeno disuelto, especialmente en condiciones de baja presión parcial o transferencia limitada. Según Petersen et al. (2019), esta constante puede mantenerse baja mediante un adecuado control de la presión parcial de oxígeno y una optimización del sistema de transferencia de masa, que garantice una buena disponibilidad del gas a nivel enzimático.

Por el contrario, la constante de semisaturación para el metano (K_{S,CH_4}) presenta una influencia mucho más pronunciada. En los rangos más altos analizados (por ejemplo, 0.1–1 g/L), el comportamiento del sistema apenas cambia respecto al caso base, la única diferencia es el tiempo que tarda hasta llegar a estado estacionario. Sin embargo, al reducir K_{S,CH_4} a valores muy bajos, como 0.001 g/L, se produce un incremento significativo en la concentración final de biomasa, alcanzando valores próximos a 7 g/L. A partir del valor de 0.01 g/L, con los demás parámetros en sus condiciones iniciales, se nota un cambio importante, la concentración de biomasa en estacionario supera el valor inicial de 1 g/L, por lo que tendremos que procurar que no se sobre pase este valor. Además, tanto el oxígeno como el metano disuelto dejan de alcanzar sus concentraciones de saturación y se estabilizan en niveles más bajos, lo que indica un consumo efectivo por parte de la biomasa en crecimiento. Este comportamiento es coherente con lo observado por Petersen et al. (2019) [8], donde se demuestra que una alta afinidad por el metano está asociada a un mayor rendimiento en la producción de biomasa. Para conseguir valores bajos de K_{S,CH_4} , es esencial mejorar la eficiencia de la transferencia gas-líquido, ya que una mayor disponibilidad local del sustrato facilita su captación celular, utilizando técnicas de dispersión por microburbujeo.

MODELADO DE FERMENTADOR DE BIOMETANO:
Fermentador aerobio para producción de proteínas para
alimento animal

Universidad de Zaragoza: EINA

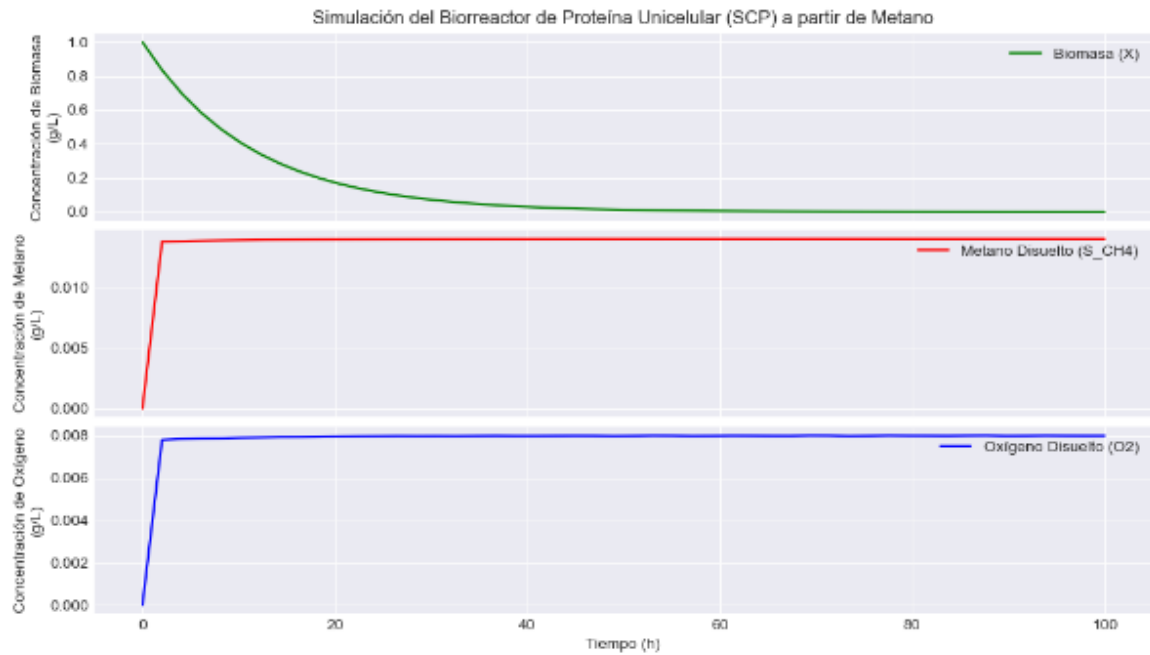


Figura 13. Concentraciones biomasa, O₂ y CH₄ para valor máximo de K_{sCH4}

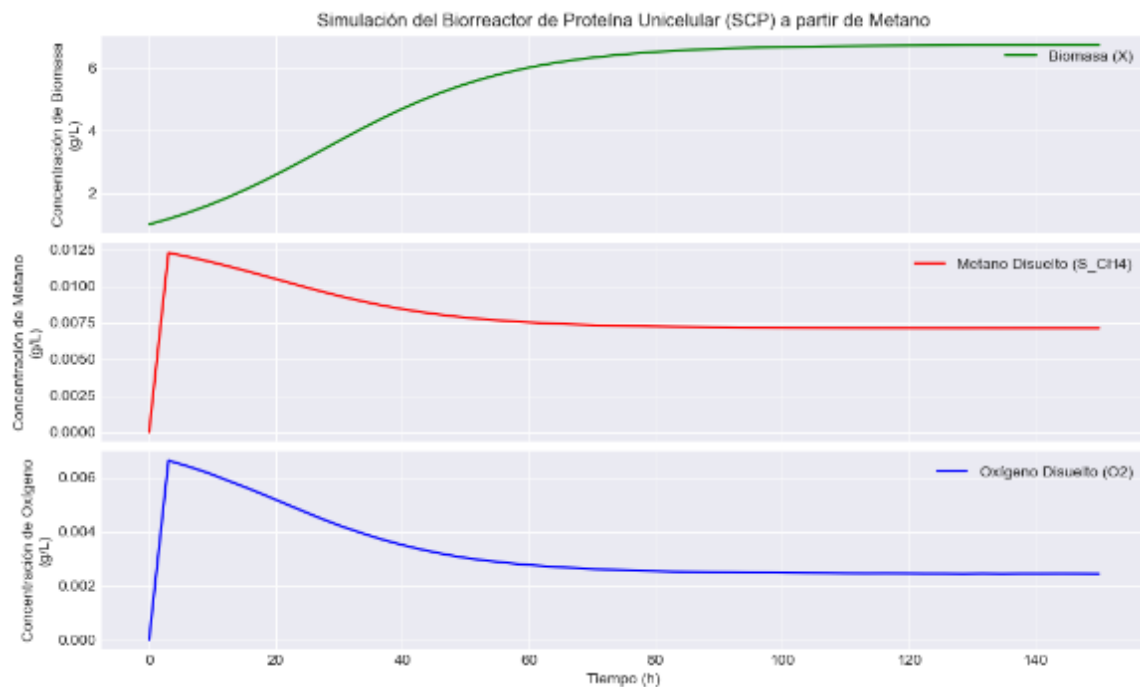


Figura 14. . Concentraciones biomasa, O₂ y CH₄ para valor máximo de K_{sCH4}

3.1.2.3. COEFICIENTE DE SATURACIÓN

La influencia de las concentraciones de saturación de metano y oxígeno en fase líquida ($C^*_{O_2}$, $C^*_{CH_4}$), las cuales definen la máxima solubilidad alcanzable por cada gas bajo condiciones determinadas de presión y temperatura, según la ley de Henry. Dado que estos dos gases se suministran simultáneamente al biorreactor y ambos actúan como sustratos limitantes en el metabolismo microbiano, su disponibilidad efectiva en el medio líquido condiciona directamente la transferencia de masa gas-líquido y, por tanto, el crecimiento celular. A continuación, se analizan los resultados obtenidos al variar estos parámetros dentro de un rango realista basado en valores de la literatura.

Las simulaciones muestran que, cuando las concentraciones de saturación de metano y oxígeno son bajas (0.011 y 0.006 g/L respectivamente), la biomasa no es capaz de sostenerse en el sistema: su concentración desciende progresivamente hasta desaparecer, mientras que los gases alcanzan rápidamente su valor máximo y se mantienen sin ser consumidos, indicando una pérdida total de actividad microbiana. En cambio, al incrementar hasta valores máximos (0.017 y 0.010 g/L), se produce un crecimiento sostenido de biomasa, alcanzando más de 2 g/L en unas 500 h. En este caso, las concentraciones de gases disueltos se estabilizan por debajo de la saturación, lo que evidencia un consumo activo por parte de la biomasa. Este comportamiento refleja la importancia de mantener una alta disponibilidad de sustratos gaseosos para favorecer tanto la cinética de crecimiento como la eficiencia global del proceso. Según Petersen et al. (2019), la mejora de la transferencia de gases y la elevación de la presión parcial son estrategias eficaces para aumentar C^* [8], mientras que la revisión de X. Zheng et al. (2024) destaca el uso de tecnologías como la aireación por membranas o el microburbujeo, que incrementan el área interfacial y mejoran la eficiencia de disolución [12]. Por tanto, operar con concentraciones de saturación elevadas, dentro de los márgenes físicos del sistema, resulta esencial para maximizar el rendimiento en la producción de proteína microbiana. En las siguientes gráficas vemos las simulaciones realizadas.

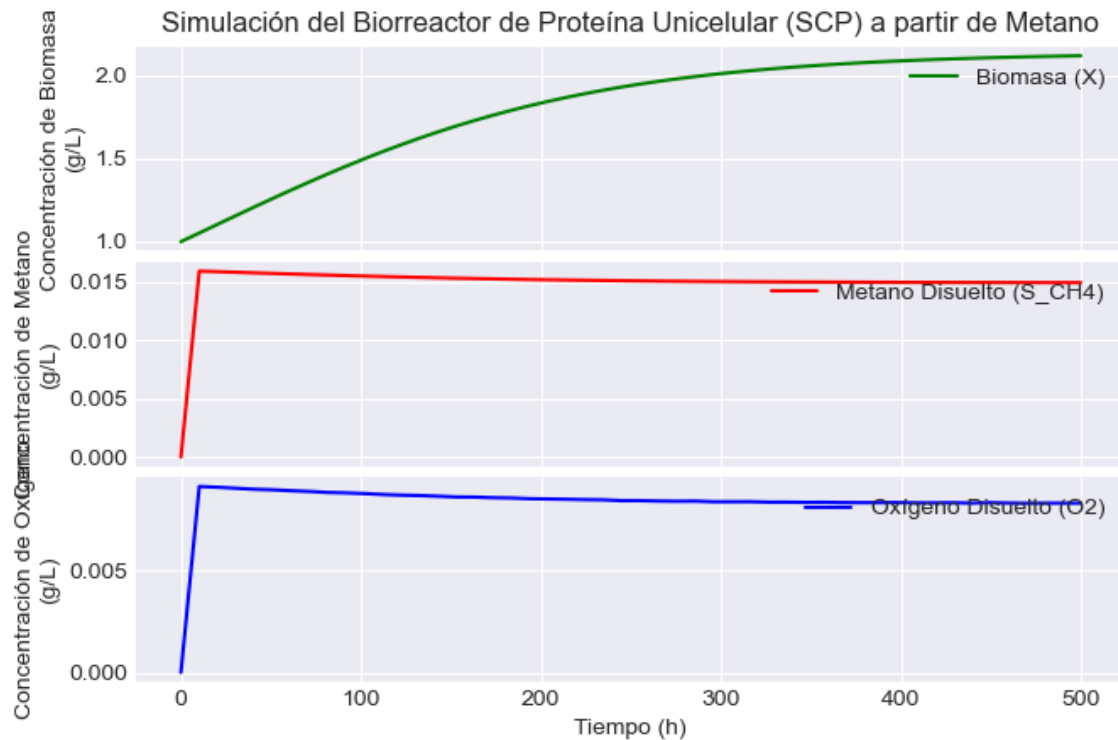


Figura 15. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores máximos de C^*

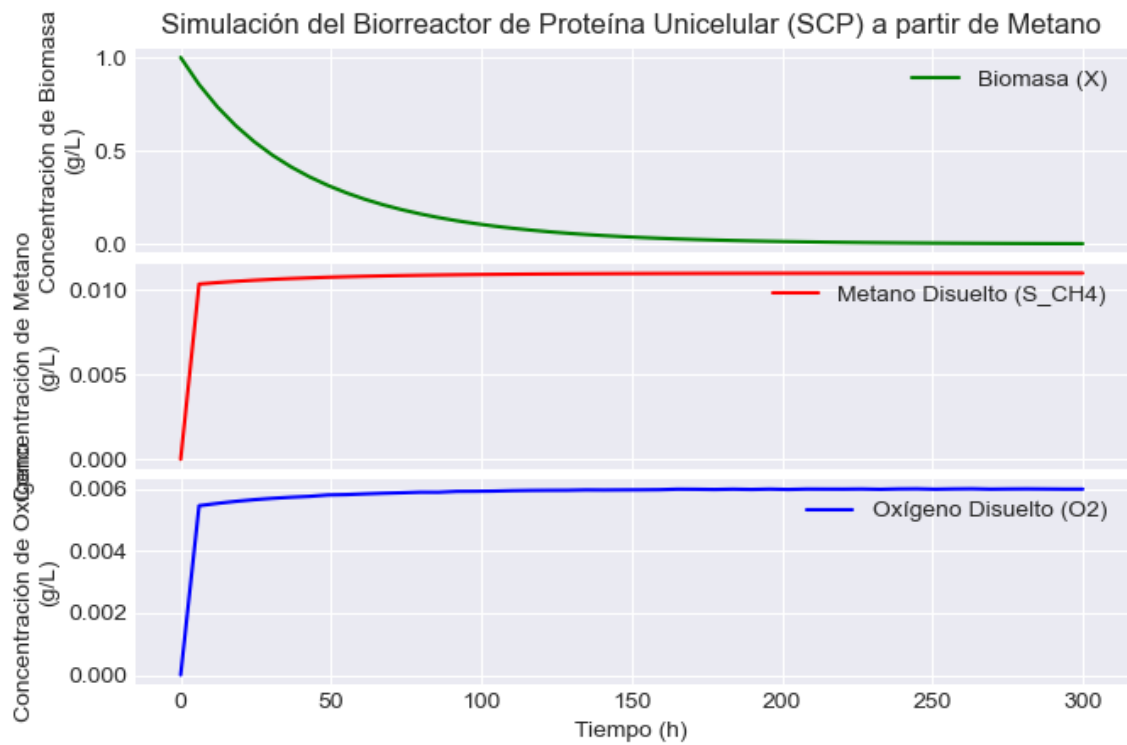


Figura 16. Figura x. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores mínimos de C^*

3.1.2.4. COEFICIENTE k_L Como tu a

La evaluación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa para metano y oxígeno (k_{La}) se ha realizado de forma conjunta, dado que ambos gases se suministran simultáneamente al sistema y su disponibilidad en fase líquida depende del mismo mecanismo de dispersión gas-líquido. Además, al tratarse de un proceso de crecimiento aeróbico donde ambos sustratos son limitantes en la cinética de Monod doble, cualquier mejora en la transferencia de uno implica, en condiciones normales, una mejora en la del otro. Los resultados obtenidos muestran que la variación de estos parámetros tiene un efecto limitado cuando la biomasa cae rápidamente a cero, como ocurre en escenarios con tasas de crecimiento bajas.

No obstante, cuando se fuerza el sistema a condiciones más favorables —por ejemplo, manteniendo una μ_{max} de 0.3 h^{-1} — se observa una mejora clara en la acumulación de biomasa a medida que se incrementan los valores, llegando en los valores máximos de k_{La} ($280 \text{ h}^{-1} \text{ CH}_4$; $520 \text{ h}^{-1} \text{ O}_2$) al doble de la concentración (de 3 a 6 g/L). Este comportamiento se explica por la mayor disponibilidad de sustratos gaseosos disueltos, que facilita un mayor consumo y una tasa de crecimiento efectiva superior. Para mejorar los valores de (k_{La}), la literatura destaca el uso de tecnologías como microburbujeo, aireación mediante membranas o diseños avanzados de impelentes, capaces de incrementar el área interfacial y la turbulencia sin comprometer la viabilidad celular [12]. Asimismo, Petersen (2019) también subraya la importancia de optimizar el régimen hidrodinámico y la presión parcial del gas para maximizar la transferencia, especialmente en cultivos con bajo coeficiente de solubilidad como los que emplean metano [2] [8].

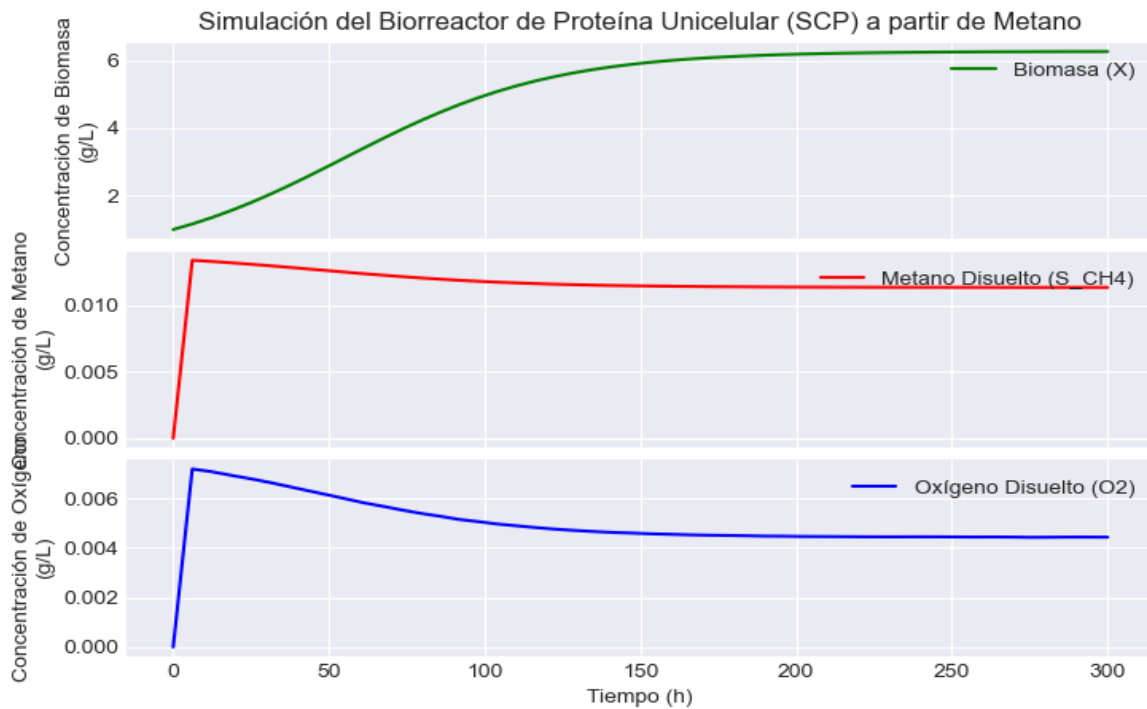


Figura 17. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos (g/L) para valores base y kLa máximo.

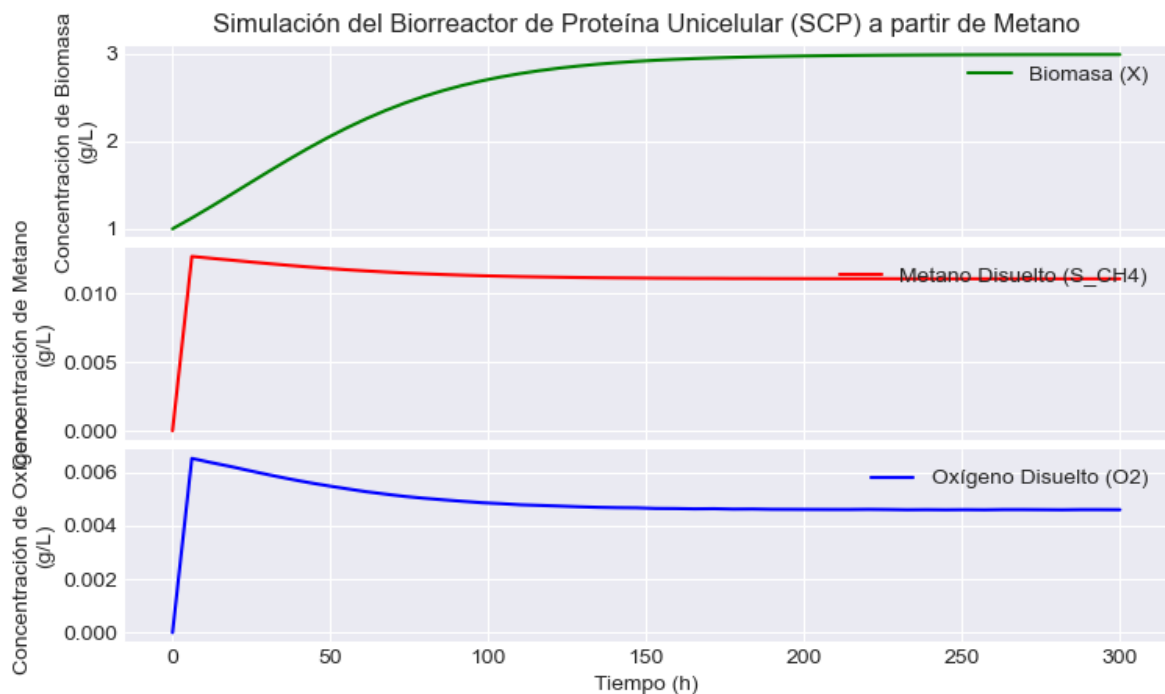


Figura 18. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos (g/L) para valores base y kLa mínimo.

3.1.2.5. TASA DE DILUCIÓN

La tasa de dilución (D) es un parámetro operativo clave en reactores continuos de tipo CSTR, ya que representa la velocidad con la que se renueva el contenido del reactor a través del flujo de entrada y salida. En este apartado se analiza cómo la variación de D dentro de un rango realista afecta al comportamiento dinámico del sistema, particularmente en lo que respecta al crecimiento de biomasa y al consumo de los gases reactivos. Se han evaluado dos valores extremos de operación (0.05 h^{-1} y 0.15 h^{-1}) para valorar su impacto en la estabilidad del cultivo y el rendimiento del proceso.

Los resultados muestran una fuerte sensibilidad del sistema a la tasa de dilución. A valores bajos de D (0.05 h^{-1}), el sistema alcanza concentraciones de biomasa superiores a 10 g/L en unas 200 horas, mientras que el metano y el oxígeno disueltos no llegan a la saturación, indicando un consumo activo y sostenido por parte de la biomasa en crecimiento. En cambio, cuando D se incrementa hasta 0.15 h^{-1} , se observa un fenómeno de lavado celular: la biomasa cae rápidamente hasta desaparecer alrededor de las 75 horas, y los gases se acumulan en el medio sin ser consumidos, lo que evidencia una pérdida total de actividad biológica. Este comportamiento es consistente con el umbral clásico de lavado en biorreactores, que se produce cuando la tasa de dilución supera la capacidad de crecimiento del microorganismo ($D > \mu_{efectiva}$). Tal y como señalan Petersen et al. (2019) [8], para evitar este efecto y garantizar la estabilidad del cultivo, es fundamental ajustar D por debajo de la tasa máxima de crecimiento efectiva del sistema, teniendo en cuenta las limitaciones reales de transferencia de masa y mantenimiento celular. En términos operativos, la reducción de D puede lograrse disminuyendo el caudal de alimentación o aumentando el volumen útil del reactor. Sin embargo, esta estrategia debe aplicarse con cautela, ya que una dilución demasiado baja puede generar acumulación de subproductos o desequilibrios en la composición del medio. Por ello, encontrar un punto de operación óptimo en el que la biomasa se mantenga estable sin comprometer la renovación del entorno es clave para la viabilidad del proceso.

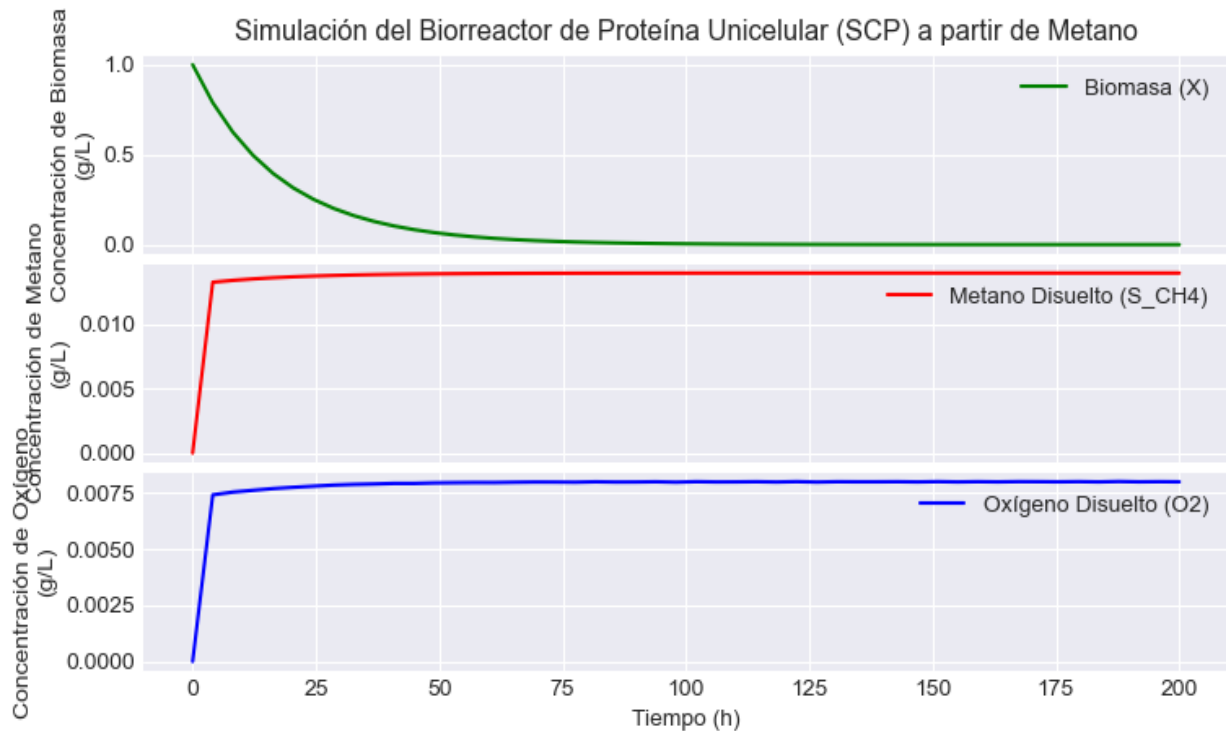


Figura 19. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores máximos de D .

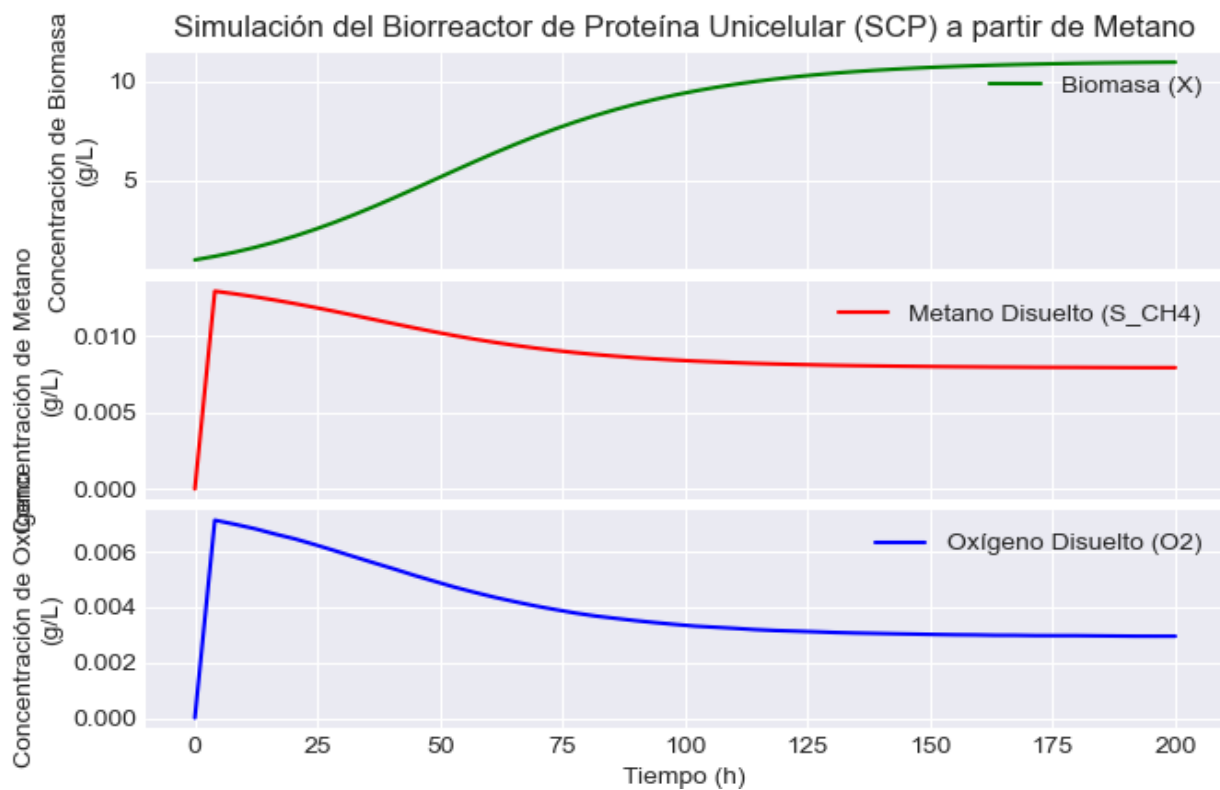


Figura 20. Concentraciones de biomasa, metano y oxígeno disueltos para valores base y valores mínimos de D .

3.1.2.6. OTROS PARÁMETROS

Por otro lado, se ha comprobado que parámetros como los coeficientes de mantenimiento celular (m) y los coeficientes de rendimiento (Y_{XS}) presentan una influencia muy limitada sobre el comportamiento general del sistema en las condiciones evaluadas. Esta baja sensibilidad se debe tanto a la pequeña variación relativa de sus valores en la literatura como al hecho de que su impacto queda compensado por otros procesos dominantes, como la tasa de crecimiento o la dilución. En particular, Petersen (2019) y Khadem et al. (2012) señalan que, en condiciones no limitantes, la eficiencia de conversión o el gasto de mantenimiento energético se mantiene en un rango relativamente constante, por lo que su efecto sobre la biomasa o el consumo de sustrato es marginal en comparación con parámetros cinéticos u operativos clave [2], [8], [9].

El análisis univariante ha permitido identificar los parámetros con mayor influencia en el comportamiento del modelo: la tasa de dilución (D), la tasa máxima de crecimiento celular (μ_{max}), la tasa de decaimiento celular (k_d) y la constante de semisaturación del metano (K_{s,CH_4}).

Para mejorar el rendimiento del proceso, se debería aumentar μ_{max} , mediante el uso de cepas robustas y condiciones óptimas de pH y temperatura, y reducir K_{s,CH_4} , mediante una mejor transferencia de gas, por ejemplo, con microburbujeo o mayor presión parcial de metano. Además, mantener una dilución baja (D) y minimizar el decaimiento celular (k_d), evitando condiciones de estrés como el exceso de cizalladura, favorece la acumulación sostenida de biomasa.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Petersen (2019) y servirán como base para el análisis multivariante, en el que se evaluarán combinaciones realistas de parámetros operativos para optimizar la producción de biomasa en el reactor [2], [7], [12].

3.1.3. Análisis Multivariante con Correlaciones Operativas

Tras el análisis univariante, en el que se ha evaluado el impacto de cada parámetro de forma aislada, se propone ahora un análisis multivariante para explorar combinaciones de parámetros más realistas, teniendo en cuenta que muchas variables del sistema están correlacionadas en la práctica. Este enfoque permite evaluar de forma más precisa cómo afectaría, por ejemplo, mejorar la transferencia de masa o reducir el estrés celular en conjunto, y cuál sería su impacto acumulativo sobre la producción de biomasa, ya que la tasa de dilución no tiene correlaciones con los demás parámetros, la vamos a suponer con valores de 0.075 h^{-1} , ya que se ha observado en el párrafo anterior que valores más pequeños hacen que aumente la concentración de biomasa en el reactor.

Como se ha visto en el análisis univariante, parámetros como k_{La} , μ_{max} , k_d , K_{s,CH_4} y C^* tienen una influencia determinante en la producción de biomasa. Sin embargo, en condiciones reales estos parámetros no actúan de forma independiente, sino que están correlacionados a través de factores físicos y operativos del sistema.

Por ejemplo, incrementar k_{La} (mediante agitación o aireación eficiente) aumenta la concentración de gas disuelto ($\uparrow C^*$) y reduce la constante de semisaturación ($\downarrow K_s$) al mejorar la disponibilidad del sustrato [4], [6], [7]. Técnicas como el uso de burbujas más pequeñas pueden elevar k_{La} hasta un 50 % [4], [5].

La temperatura también afecta simultáneamente a varios parámetros: entre 30 y 37°C se incrementa μ_{max} [8], pero también puede disminuir C^* (por menor solubilidad de gases) y aumentar el gasto energético celular ($\uparrow m$) [7], [13], [14].

Aumentar la presión parcial de los gases mejora directamente C^* y, con ello, el rendimiento del sistema [7] [12]. Por otro lado, una agitación excesiva, si bien mejora k_{La} , puede elevar la tasa de decaimiento celular ($\uparrow k_d$) por daño por cizalladura [6] [14].

Estas interdependencias se tendrán en cuenta en el siguiente análisis multivariante, donde se plantean tres escenarios combinando cambios lógicos y realistas en los parámetros del modelo:

- Mejora de la transferencia gas-líquido: se simula un aumento de k_{La} y reducción de K_{S,CH_4} , sin incrementar k_d , lo cual representa mejoras en difusión (burbujas pequeñas, presión parcial) sin dañar las células.
- Condiciones de entorno óptimas: se mejora μ_{max} y se reduce k_d mediante una temperatura adecuada (30–37 °C), pH neutro y baja cizalladura, representando un cultivo en condiciones fisiológicas ideales.
- Escenario combinado: se combinan ambas estrategias para simular una configuración operativa óptima, con buena transferencia y mínimo estrés celular.

Estos escenarios se han elegido porque reflejan las estrategias más realistas y efectivas que podrían aplicarse a un reactor de cultivo con *M. capsulatus* para optimizar la producción de biomasa, manteniendo el sistema biológico en condiciones sostenibles.

Tabla 4. Variación parámetros en los distintos escenarios

Parámetro	Escenario 1: Transferencia gas-líquido	Escenario 2: Buen entorno fisiológico	Escenario 3: Combinado
k_{La}	↑ 30–50 % (O ₂ 520 h ⁻¹ ; CH ₄ 280 h ⁻¹)	↔ (se mantiene)	↑ 30–50 %
K_S	↓ 20–30 % (O ₂ 0.0016 g/L; CH ₄ 0.007 g/L)	↔ (se mantiene)	↓ 20–30 %
C^*	↑ 10–20 % (O ₂ 0.0092 g/L; CH ₄ 0.016 g/L)	↓ levemente (por temperatura ↑)	↑ neto 7%
μ_{max}	↔	↑ 20–30 % (0.3 h ⁻¹)	↑ 20–30 %
k_d	↔	↓ 30–50 % (0.007 h ⁻¹)	↓ 30–50 %
m	↔ o ↑ ligeramente	↔ o ↓ (si estrés baja)	↔

3.1.3.1. ESCENARIO 1: Mejora de Transferencia Gas-Líquido

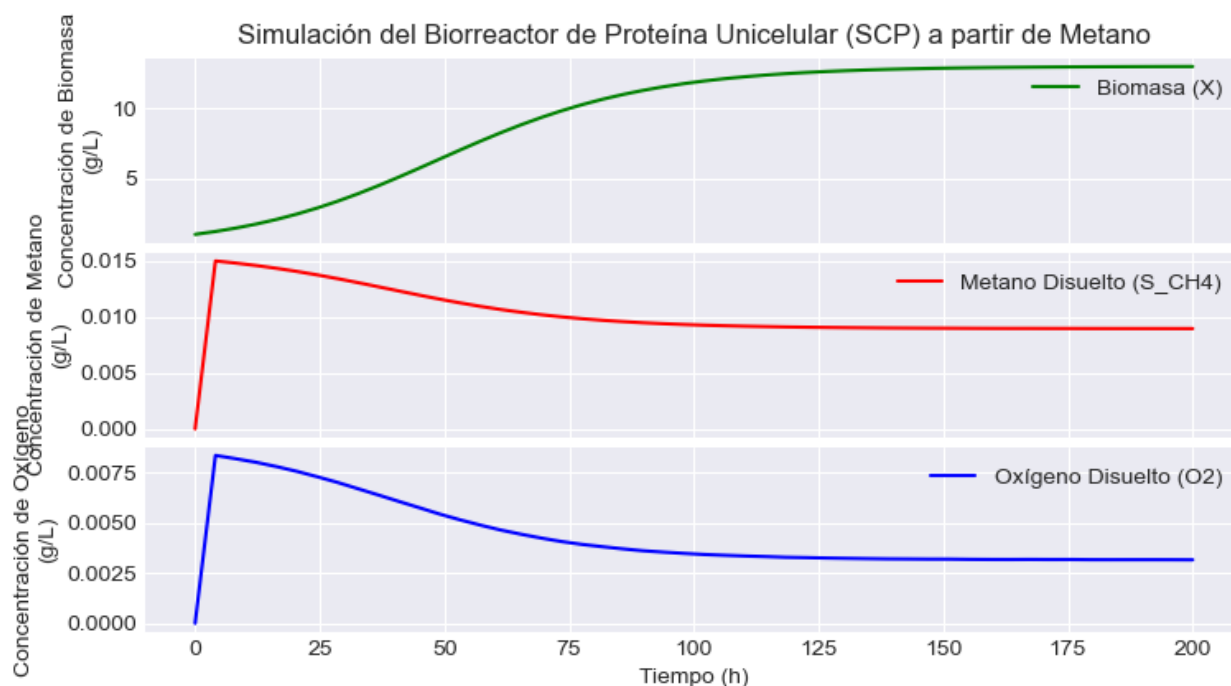


Figura 21. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 1

Este escenario evalúa los efectos de una mayor eficiencia de transferencia de masa gas-líquido, mediante el aumento de k_{La} a para CH_4 y O_2 (en un 40 %) y la consecuente mejora en las concentraciones de saturación y las constantes de afinidad. El resultado es una acumulación sostenida de biomasa que alcanza aproximadamente 11 g/L en 200 h, mientras que los sustratos gaseosos (CH_4 y O_2) se mantienen por debajo de sus concentraciones de saturación, lo que indica un consumo eficiente por parte del cultivo. Este comportamiento concuerda con lo descrito por García-Ochoa et al. [6] y Doran [7], quienes destacan que el uso de microburbujeo, aumento de presión parcial y geometrías de dispersión mejoradas pueden incrementar significativamente k_{La} , con mejoras directas sobre el crecimiento celular. Además, al reducir los valores de K_s , se favorece la captación de los sustratos a bajas concentraciones, potenciando aún más la eficiencia del proceso.

3.1.3.2. ESCENARIO 2: Condiciones Entorno Óptimas

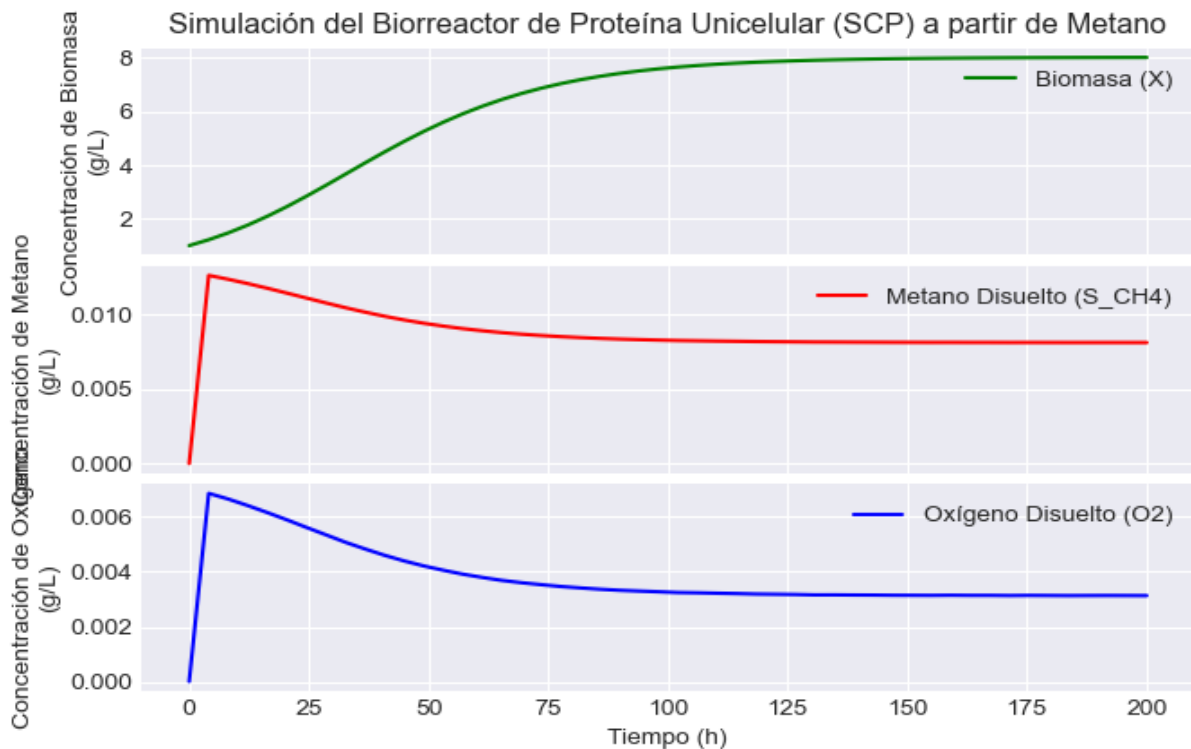


Figura 22. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 2.

En este caso se simula un entorno fisiológicamente favorable: se maximiza la tasa de crecimiento ($\mu_{max}=0.3$) y se reduce la tasa de muerte celular ($k_d=0.07$). La biomasa alcanza un valor de aproximadamente 8 g/L, algo inferior al del escenario anterior, pero con un comportamiento estable y sin signos de colapso. Este resultado refleja la importancia de mantener condiciones que minimicen el estrés celular (como temperatura óptima entre 30–37 °C, pH neutro y baja cizalladura), tal como proponen Petersen et al. [8] y Khadem [9], ya que estas condiciones permiten que la biomasa maximice su potencial metabólico sin verse afectada por pérdidas por mantenimiento o daño estructural. No obstante, la mejora en el rendimiento es más limitada que en el escenario 1, ya que el consumo de sustratos sigue estando condicionado por la capacidad de transferencia del sistema.

3.1.3.3. ESCENARIO 3: Combinación Escenarios 1 y 2

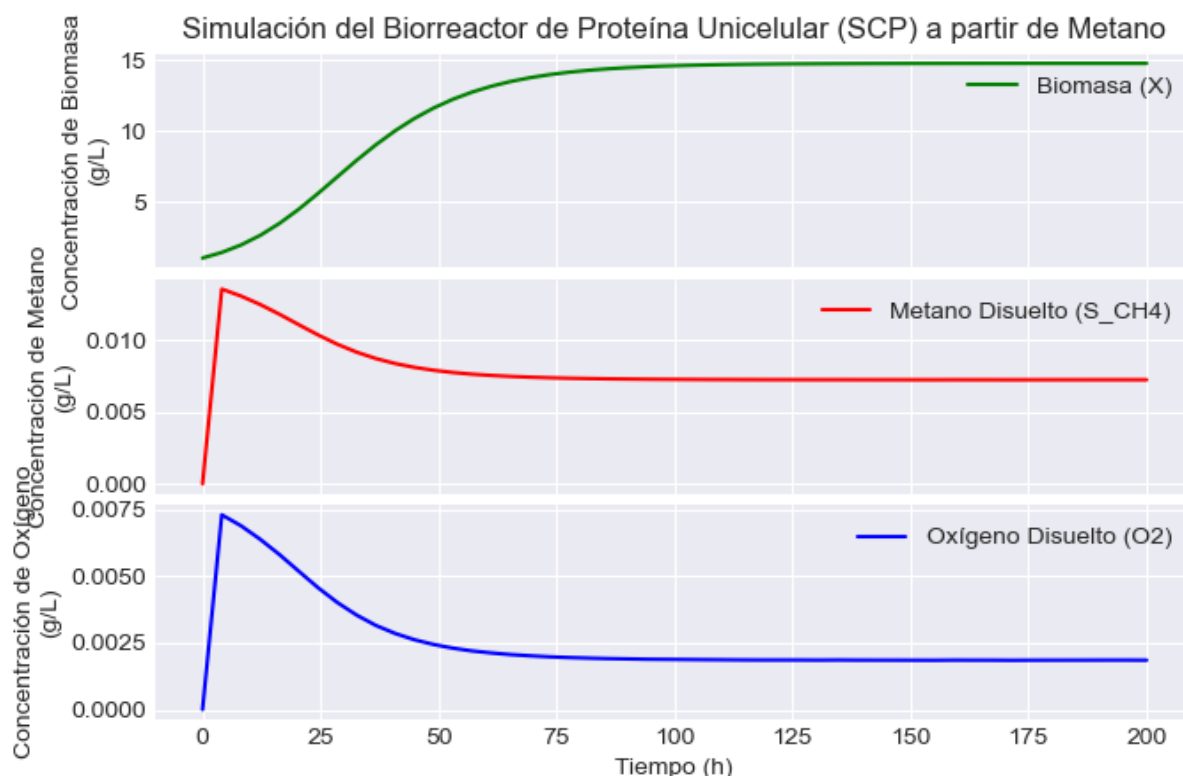


Figura 23. Concentraciones biomasa, oxígeno y metano disuelto para condiciones del escenario 3.

Al combinar mejoras en la transferencia de masa con condiciones fisiológicas óptimas, se observa el mejor desempeño del sistema, con una concentración de biomasa final superior a 15 g/L. La eficiencia en el consumo de sustratos es máxima: tanto el metano como el oxígeno se estabilizan en valores cercanos a 0.0025–0.006 g/L, indicando que el sistema se encuentra bien acoplado entre la oferta de sustrato y su aprovechamiento biológico. Este escenario representa el equilibrio ideal entre las estrategias de mejora técnica y biológica. Como señalan Vanags y Suleiko [4] y The Good Food Institute [14], un diseño de proceso óptimo requiere no solo eficiencia en la transferencia, sino también la protección del sistema biológico frente a factores como el shear, el exceso de presión o condiciones de agitación severas.

Los resultados obtenidos en el análisis multivariante demuestran que las mejoras operativas tienen un impacto sinérgico cuando se aplican de forma combinada. Mientras que la mejora en la transferencia de masa permite aprovechar mejor los sustratos disponibles, el control de las condiciones del entorno celular garantiza la viabilidad del cultivo en el tiempo. En conjunto, estos dos enfoques permiten superar las limitaciones observadas en el análisis univariante y alcanzar rendimientos superiores, lo que resulta fundamental para optimizar el diseño y escalado de biorreactores destinados a la producción de SCP a partir de metano. Además, estos escenarios reflejan estrategias realistas y técnicamente alcanzables, según lo documentado por estudios recientes sobre fermentación y valorización de gases en sistemas metanotróficos [1], [6], [12].

4. CONCLUSIONES

Este Trabajo de Fin de Grado ha abordado el modelado de un fermentador continuo tipo CSTR gas-lift para la producción de proteína unicelular (SCP) a partir de biometano, una estrategia que gana relevancia en el contexto de bioeconomía circular y sostenibilidad alimentaria. Organismos metanotróficos como *Methylococcus capsulatus* ofrecen un alto potencial para la valorización de metano, contribuyendo a la reducción de emisiones y la obtención de fuentes alternativas de proteína [1], [3], [15].

El principal objetivo ha sido desarrollar un modelo matemático que permita evaluar la viabilidad técnica del proceso, incorporando variables operativas como la tasa de dilución, coeficientes de transferencia de masa (kLa), y parámetros cinéticos de crecimiento y mantenimiento celular [7], [8]. Aunque estos parámetros ya se han analizado en detalle en la metodología y los resultados, aquí se ha demostrado cómo influyen en la estabilidad y eficiencia del sistema.

La base teórica se ha apoyado en una revisión bibliográfica rigurosa, incluyendo fuentes recientes sobre producción de SCP a partir de residuos gaseosos [1], [2], [10], [11], así como en manuales clásicos de ingeniería bioquímica [7]. Además, el modelo numérico ha sido implementado en Python mediante integración directa con el solver `solve_ivp`, lo que ha permitido simular la evolución del proceso bajo distintos escenarios y condiciones límite.

En conjunto, el trabajo proporciona una base sólida para futuras optimizaciones del sistema y refuerza la viabilidad teórica de emplear fermentadores aireados para convertir biometano en biomasa útil, tanto desde el punto de vista técnico como ambiental [12], [15].

4.1. EVALUACIÓN TÉCNICA DEL MODELO

El modelado del proceso fermentativo en un reactor tipo gas-lift, representado mediante un CSTR con mezcla perfecta, ha permitido evaluar la viabilidad teórica de la producción de proteína unicelular a partir de biometano. El modelo se ha basado en balances de masa y una cinética de tipo Monod doble, considerando limitación simultánea por metano y oxígeno disueltos, así como mantenimiento y decaimiento celular. Esta formulación ha sido suficiente para capturar la dinámica básica del sistema y su respuesta ante variaciones paramétricas.

Aunque el coeficiente de transferencia de masa k_{La} es un parámetro clave en fermentaciones gas-líquido, en este estudio su variación no ha mostrado una influencia tan crítica como otros parámetros, como la constante de semisaturación del metano (K_{S,CH_4}) o la tasa de dilución (D). Esto puede explicarse por el hecho de que, incluso en condiciones de baja transferencia, el modelo logra alcanzar concentraciones cercanas a la saturación de gases, lo que reduce la sensibilidad del proceso a este parámetro en el rango considerado [6], [7].

En cambio, se ha observado una fuerte dependencia del sistema respecto a parámetros como K_{S,CH_4} , cuya disminución mejora notablemente el rendimiento, y la tasa de dilución, que determina el umbral de lavado celular. Estos resultados están en línea con lo descrito en estudios como los de Petersen [2], [8] y Khadem [9], que destacan la baja afinidad de las bacterias metanotróficas por el metano y la sensibilidad del cultivo a las condiciones hidráulicas del reactor.

Por último, la elección de un reactor tipo gas-lift frente a otros sistemas agitados mecánicamente se justifica por su eficiencia energética y simplicidad constructiva, como recogen Vanags y Suleiko [4]. Aunque en este trabajo se ha asumido mezcla perfecta, el comportamiento hidrodinámico homogéneo observado en este tipo de sistemas respalda esta aproximación para un análisis preliminar.

En conjunto, el modelo ha resultado adecuado para el objetivo propuesto, permitiendo identificar las variables más influyentes del proceso y estableciendo una base sólida para futuras optimizaciones o escalado.

4.2. LIMITACIONES DEL MODELO Y MEJORAS FUTURAS

Si bien el modelo propuesto ofrece una base útil para analizar el comportamiento general del sistema de producción de proteína unicelular a partir de biometano, presenta diversas limitaciones que pueden abordarse en futuros desarrollos.

En primer lugar, el modelo asume condiciones de operación ideales y constantes, sin considerar variaciones dinámicas en parámetros fisicoquímicos como la viscosidad del medio, posibles limitaciones de oxígeno, o fluctuaciones en la concentración efectiva de sustratos. Aunque el crecimiento microbiano se ha modelado mediante una cinética de tipo Monod, y los parámetros se han ajustado a partir de literatura específica sobre *Methylococcus capsulatus* (como Petersen [2], [8] o Khadem [9]), se reconoce que una formulación más detallada, basada en datos experimentales directos, podría mejorar significativamente la precisión del modelo y su capacidad predictiva en distintos escenarios operativos.

En segundo lugar, no se incluye en el modelo el consumo real de metano, al asumirse una disponibilidad ilimitada del sustrato. Esto imposibilita el cálculo del rendimiento real de biomasa respecto al metano consumido (g biomasa/g CH_4) o el análisis del balance de carbono. Si bien se ha discutido el rendimiento en términos teóricos a partir de la literatura (por ejemplo, 0.76 g/g CH_4 para *M. capsulatus*) [8], incorporar una ecuación de consumo de metano permitiría cuantificar la eficiencia del proceso y evaluar su viabilidad de forma más completa.

En tercer lugar, el trabajo no aborda el balance energético ni la estimación de costos operativos, aspectos fundamentales en etapas de escalado industrial. Como señalan Doran [6] y otros autores, elementos como la aireación, esterilización y recuperación de biomasa pueden representar una parte sustancial del coste total en procesos fermentativos aeróbicos, por lo que su inclusión futura resulta imprescindible.

Asimismo, el modelo actual se basa en un único CSTR, pero su estructura lo convierte en una base adecuada para extenderse hacia configuraciones modulares más realistas. Conectando varios CSTRs en serie y considerando alimentaciones intermedias, es posible aproximar el comportamiento de un reactor gas-lift tipo U-loop, como se ha planteado en trabajos como el de Petersen [2]. Esta adaptación permitiría simular con

mayor fidelidad los gradientes de concentración, las zonas de recirculación y los efectos hidrodinámicos característicos de este tipo de reactores, acercando el modelo a condiciones reales de operación industrial.

Por último, sería recomendable realizar una validación experimental a pequeña escala, que permita contrastar los resultados del modelo con datos reales de operación. Trabajos como los de Petersen [2] o Khadem [9] ofrecen referencias metodológicas útiles para el diseño de este tipo de ensayos y para la posterior calibración del modelo.

4.3. IMPACTO AMBIENTAL Y ESTRATÉGICO

El proceso modelado ofrece beneficios ambientales relevantes en el contexto de economía circular y mitigación de gases de efecto invernadero. La conversión de biometano residual en proteína unicelular permite cerrar el ciclo de nitrógeno y carbono, transformando un residuo emitido en un producto con valor nutricional [1], [15].

Un análisis de ciclo de vida (LCA) reciente sobre producción de SCP a partir de biometano reporta una reducción significativa del impacto ambiental frente a proteínas derivadas de cultivos tradicionales, incluyendo menor consumo de tierra y energía, así como menores emisiones de CO₂ equivalentes [16].

Finalmente, desde una perspectiva estratégica, este enfoque es coherente con las políticas de la Unión Europea para la bioeconomía circular y el tratamiento sostenible de residuos orgánicos. Tecnologías como la SCP a partir de metano son técnicamente viables y ofrecen beneficios integrales frente a sistemas basados en agricultura o ganadería, tal como plantea Sekoai [1].

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] P. T. Sekoai, «Valorization of Food Waste into Single-Cell Protein: An Innovative Technological Strategy for Sustainable Protein Production,» *Microorganisms*, vol. 12, nº 166, 2024.
- [2] A. H. Pertersen, *Single cell protein production in U-loop bioreactors: Fundamentals, Modeling & Control, Ph.D. dissertation, Dept. Chem. and Biochem. Eng., Tech. Univ. of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark*, 2019.
- [3] A. Tropea, «Single Cell Protein Production through Multi Food-Waste Substrate Fermentation,» *Fermentation*, vol. 8, nº 91, 2022.
- [4] J. Vanags y A. Suleiko, «kLA_in_Bioreactors,» [En línea]. Available: www.bioreactors.net.
- [5] J. M. e. al., «kLa prediction in gas-lift bioreactors using machine learning,» *Biochem. Eng. J.*, 2023.
- [6] F. G. E. García-Ochoa, «Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview,» *Biotechnology Advances*, vol. 27, nº 2, 2009.
- [7] P. M. DORAN, *Bioprocess Engineering Principles (Second edition)*,, Amsterdam: Academic Press: Elsevier, 2013.
- [8] L. A. H. P. e. al., «Dynamic investigation and modeling of the nitrogen co-metabolism in *Methylococcus capsulatus* (Bath),» *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 116, nº 11, pp. 2884-28895, 2019.

- [9] A. F. Khadem, *Methanotrophy under extreme conditions: Biochemistry and physiology of Methylophilum thermophilum SolV*, Tesis de doctorado, Radboud University Nijmegen, 2012.
- [10] P. K. Wardhani, *Mathematical and Experimental Study of Anaerobic Digestion Process and Biogas Generation from Fruit and Vegetable Waste*, Okayama University, Okayama, Japan: Ph.D. dissertation, Graduate School of Environmental and Life Science, 2017.
- [11] D. S. a. R. K. Sani, «Methane Oxidation via Chemical and Biological Methods: Challenges and Solutions,» *Methane*, vol. 2, pp. 279-303, 2023.
- [12] X. Z. e. al., «Methanotroph biotransformation for nutrient recovery: a review of current strategies and future opportunities,» *Biofuel Research Journal*, vol. 11, nº 2, pp. 2065-2081, 2024.
- [13] O. A. G. a. J. C. M. M. G. Kalyuzhnaya, «The Methane-Oxidizing Bacteria (Methanotrophs),» de *axonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes*, T. J. McGenity, Ed. Cham,, Switzerland: Springer, 2019, pp. 1-34.
- [14] «The Good Food Institute, "Deep dive: Fermentation upstream bioprocess design," The Good Food Institute,» [En línea]. Available: <https://gfi.org/science/the-science-of-fermentation/deep-dive-fermentation-upstream-bioprocess-design/>.
- [15] N. J. Salazar-López, «Single-Cell Protein Production as a Strategy to Reincorporate Food Waste and Agro By-Products Back into the Processing Chain,» *Bioengineering*, vol. 9, nº 12, 2022.
- [16] R. Dickson y S. S. Mansouri, «Sustainable production of fermentation-based novel proteins,» *Computers & Chemical Engineering*, 2025.

6. ANEXO 1: CÓDIGO PYTHON CST

```
import numpy as np
from scipy.integrate import solve_ivp
import matplotlib.pyplot as plt

#-----
# 1. PARÁMETROS DE ENTRADA
#-----

# Parámetros cinéticos
mu_max = 0.3 # Tasa máxima de crecimiento específico (1/h)
K_S_CH4 = 0.01 # Constante de semisaturación para el metano (g/L)
K_O2 = 0.002 # Constante de semisaturación para el oxígeno (g/L)
Y_XS_CH4 = 0.6 # Coeficiente de rendimiento de biomasa a partir de metano (g
biomasa / g metano)
Y_XO2 = 0.4 # Coeficiente de rendimiento de biomasa a partir de oxígeno (g
biomasa / g oxígeno)
m_S_CH4 = 0.01 # Coeficiente de mantenimiento para el metano (g metano / (g
biomasa * h))
m_O2 = 0.02 # Coeficiente de mantenimiento para el oxígeno (g oxígeno / (g
biomasa * h))
k_d = 0.007 # Tasa específica de decaimiento celular (1/h)

# Parámetros de transferencia de masa
kLa_CH4 = 200 # Coeficiente volumétrico de transferencia de masa para el metano
(1/h)
kLa_O2 = 371 # Coeficiente volumétrico de transferencia de masa para el oxígeno
(1/h)

# Concentraciones de saturación de los gases en el líquido (dependen de la presión
parcial y la temperatura, Ley de Henry)
```

$C_{star_CH4} = 0.014$ # Concentración de saturación de metano en el líquido (g/L)

$C_{star_O2} = 0.008$ # Concentración de saturación de oxígeno en el líquido (g/L)

Parámetros de operación del reactor (para un CSTR - Reactor Continuo de Tanque Agitado)

$D = 0.075$ # Tasa de dilución (Flujo / Volumen) (1/h)

Concentraciones de entrada en la alimentación líquida

$S_{in_CH4} = 0$ # Metano en la alimentación líquida (g/L) - se asume que el metano entra principalmente por transferencia gas-líquido

$O2_{in} = 0$ # Oxígeno en la alimentación líquida (g/L) - se asume que el oxígeno entra principalmente por transferencia gas-líquido

$X_{in} = 0$ # Biomasa en la alimentación (g/L) - usualmente cero para el inicio o si no hay recirculación

#-----

2. Modelo del bioreactor

#-----

def bioreactor_model(t, y):

"""

Define el sistema de EDOs para el biorreactor.

t: tiempo actual (utilizado por el solver)

y: vector de variables de estado [X, S_CH4, O2]

X: Concentración de biomasa (g/L)

S_CH4: Concentración de metano disuelto (g/L)

O2: Concentración de oxígeno disuelto (g/L)

Retorna: un array con las derivadas [dX/dt, dS_CH4/dt, dO2/dt]

"""

X, S_CH4, O2 = y # Desempaquetar variables de estado

Asegurar que las concentraciones no sean negativas (físicamente imposible)

$S_{CH4} = \max(0, S_{CH4})$

$O2 = \max(0, O2)$

$X = \max(0, X)$

Cinética de crecimiento microbiano (Modelo de Monod doble)

Se considera que el crecimiento puede estar limitado por metano y/o oxígeno.

$\mu_{term_S_CH4} = S_{CH4} / (K_{S_CH4} + S_{CH4})$ if $K_{S_CH4} > 0$ else 1.0 # Evitar división por cero si K_{S_CH4} es 0

$\mu_{term_O2} = O2 / (K_{O2} + O2)$ if $K_{O2} > 0$ else 1.0 # Evitar división por cero si K_{O2} es 0

$\mu = \mu_{max} * \mu_{term_S_CH4} * \mu_{term_O2}$

Tasas volumétricas de reacción

Tasa neta de crecimiento de biomasa (crecimiento - decaimiento)

$r_X = \mu * X - k_d * X$

Tasa de consumo de metano por la biomasa (para crecimiento y mantenimiento)

El término $(1/Y_{XS_CH4})$ es el consumo para crecimiento.

El término m_{S_CH4} es el consumo para mantenimiento.

$r_{S_CH4_bio} = 0$

if $Y_{XS_CH4} > 0$: # Evitar división por cero

$r_{S_CH4_bio} = - (1/Y_{XS_CH4}) * \mu * X - m_{S_CH4} * X$

else:

$r_{S_CH4_bio} = - m_{S_CH4} * X$ # Solo mantenimiento si no hay rendimiento definido

Tasa de consumo de oxígeno por la biomasa (para crecimiento y mantenimiento)

$r_{O2_bio} = 0$

if $Y_{XO2} > 0$: # Evitar división por cero

$r_{O2_bio} = - (1/Y_{XO2}) * \mu * X - m_{O2} * X$

else:

$r_{O2_bio} = -m_{O2} * X$ # Solo mantenimiento

Tasas de transferencia de masa gas-líquido

La fuerza impulsora es la diferencia entre la concentración de saturación y la actual en el líquido.

$r_{S_CH4_transfer} = kLa_{CH4} * (C_{star_CH4} - S_{CH4})$

$r_{O2_transfer} = kLa_{O2} * (C_{star_O2} - O2)$

Balances de masa para cada componente en un CSTR

$d(\text{Concentración})/dt = \text{Flujo_entrada} - \text{Flujo_salida} + \text{Tasa_reacción} + \text{Tasa_transferencia_masa}$

Para CSTR: $\text{Flujo_entrada} - \text{Flujo_salida} = D * (C_{entrada} - C)$

Balance de Biomasa (X)

$dX_dt = D * (X_{in} - X) + r_X$

Balance de Metano Disuelto (S_{CH4})

Incluye entrada/salida por flujo líquido, consumo biológico y transferencia desde la fase gas.

$dS_{CH4_dt} = D * (S_{in_CH4} - S_{CH4}) + r_{S_CH4_bio} + r_{S_CH4_transfer}$

Balance de Oxígeno Disuelto ($O2$)

Incluye entrada/salida por flujo líquido, consumo biológico y transferencia desde la fase gas.

$dO2_dt = D * (O2_{in} - O2) + r_{O2_bio} + r_{O2_transfer}$

return [dX_dt, dS_CH4_dt, dO2_dt]

#-----

3. Condiciones iniciales y tiempo de simulación

```
#-----

X0 = 1    # Concentración inicial de biomasa (g/L)
SO_CH4 = 0.000001 # Concentración inicial de metano disuelto (g/L) - pequeña
cantidad para iniciar
OO_2 = 0.000001    # Concentración inicial de oxígeno disuelto (g/L) - pequeña
cantidad para iniciar
initial_conditions = [X0, SO_CH4, OO_2]

# Definición del intervalo de tiempo para la simulación
t_start = 0    # Tiempo inicial (h)
t_end = 200    # Tiempo final (h)
t_span = (t_start, t_end) # Tupla para solve_ivp

# Puntos de tiempo donde se desea obtener la solución (para graficar)
t_eval = np.linspace(t_span[0], t_span[1], 50)

#-----

# 4. Resolver el modelo del bioreactor

#-----

# Se utiliza solve_ivp de SciPy, que es un solver robusto para problemas de valor
inicial.

# method='RK45' es un método Runge-Kutta explícito de orden 5(4).
# dense_output=True permite obtener una solución continua (interpolada).
sol = solve_ivp(bioreactor_model, t_span, initial_conditions,
                t_eval=t_eval, method='RK45', dense_output=True)

# La solución 'sol' es un objeto que contiene:
# sol.t: array de los puntos de tiempo
# sol.y: array con las soluciones para cada variable de estado en los puntos de tiempo.
```

```
# sol.y[0] es X(t), sol.y[1] es S_CH4(t), sol.y[2] es O2(t)

#-----
# 5. Visualizar los resultados
#-----

plt.style.use('seaborn-v0_8-darkgrid') # Estilo de gráfico
fig, axs = plt.subplots(3, 1, figsize=(12, 10), sharex=True) # Crear 3 subplots
compartiendo el eje x

# Gráfico para la Biomasa (X)
axs[0].plot(sol.t, sol.y[0], label='Biomasa (X)', color='green')
axs[0].set_ylabel('Concentración de Biomasa\n(g/L)')
axs[0].legend(loc='upper right')
axs[0].set_title('Simulación del Biorreactor de Proteína Unicelular (SCP) a partir de
Metano')

# Gráfico para el Metano Disuelto (S_CH4)
axs[1].plot(sol.t, sol.y[1], label='Metano Disuelto (S_CH4)', color='red')
axs[1].set_ylabel('Concentración de Metano\n(g/L)')
axs[1].legend(loc='upper right')

# Gráfico para el Oxígeno Disuelto (O2)
axs[2].plot(sol.t, sol.y[2], label='Oxígeno Disuelto (O2)', color='blue')
axs[2].set_xlabel('Tiempo (h)')
axs[2].set_ylabel('Concentración de Oxígeno\n(g/L)')
axs[2].legend(loc='upper right')

# Ajustar el layout para evitar superposiciones y mostrar la gráfica
plt.tight_layout(rect=[0, 0, 1, 0.96]) # Ajustar para el título principal
plt.show()
```