

Perspectivas de las ecuaciones biocinéticas y balance de materia para un biorreactor de flujo radial de células hepáticas

Outlook of biokinetic and mass balance equations for a hepatic cell radial flow bioreactor

Héctor Adrián Ramírez Núñez¹✉, Juan Odin Ramírez Fernández¹, Jesús Abraham Castorena Peña¹, Jesús Emilio Camporredondo Saucedo¹, Omar Anaya Reza²

¹Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica Unidad Norte, Universidad Autónoma de Coahuila

²CONACYT – Unidad Regional Hidalgo, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo

RESUMEN

Los biorreactores son una de las soluciones que propone la ingeniería de tejidos para las principales enfermedades en México. Las matemáticas pueden determinar parámetros biocinéticos, que crean mecanismos para optimizar las condiciones de operación. Por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo diseñar un modelo matemático dinámico que describa el comportamiento de las células hepáticas, la producción del sustrato y proteínas en un biorreactor. Como resultado, se obtuvo que el modelo propuesto puede predecir a través del tiempo el comportamiento de las variables. Algunos de los parámetros biocinéticos encontrados son $Y_{XS} = 2.94$ g/g, $Y_{PS} = 5.46$ g/g, y $\mu_{\text{máx}} = 1.84$ 1/h. A su vez, se empleó un análisis paramétrico de sensibilidad para encontrar los parámetros que tuviesen el mayor efecto en las concentraciones de biomasa y producto. Los parámetros son Y_{XS} , α y β para la concentración de biomasa y $\mu_{\text{máx}}$, Y_{XS} , K_{PS} para la concentración de producto. Como parte del estudio, varias simulaciones se emplearon para determinar el comportamiento en distintas concentraciones iniciales de sustrato. Los resultados arrojaron que entre más grande sea la concentración inicial de sustrato, menor será el rendimiento dentro de los primeros ocho días. Después de ese tiempo, los rendimientos son similares para todas las concentraciones iniciales de sustrato.

PALABRAS CLAVE: biomasa; biomatemáticas; hepatocitos; producto; sustrato.

ABSTRACT

Bioreactors are one of the greatest solutions to the main diseases in Mexico in tissue engineering applications, they are used as a tool to propose different cell reproduction techniques as they provide different parameters. Biokinetic parameters are dictated by mathematics to provide operating conditions. This paper proposes a dynamic mathematical model design to determine the behavior of liver cells, protein and substrate production in a bioreactor. The proposed model returns as a result the prediction of performance of different variables over time. Relevant biokinetic parameters found are $Y_{XS} = 2.94$ g/g, $Y_{PS} = 5.46$ g/g, and $\mu_{\text{máx}} = 1.84$ 1/h. Additionally, a parametric sensitivity analysis was executed to detect parameters that retain effects on biomass and product concentrations. The parameters are Y_{XS} , α , and β for biomass, and $\mu_{\text{máx}}$, Y_{XS} , and K_{PS} for product concentrations. As an element of this study, diverse simulations were employed to determine performance at different initial substrate concentrations. The results establish that, the higher initial substrate concentration is, the lower the yield within the first eight days. Afterward yields are almost identical for all initial substrate concentrations.

KEYWORDS: biomass; biomathematics; hepatocytes; product; substrate.

Correspondencia:

DESTINATARIO: Héctor Adrián Ramírez Núñez
INSTITUCIÓN: Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica Unidad Norte
DIRECCIÓN: Barranquilla s/n, Guadalupe, 25750 Monclova, Coahuila, México
CORREO ELECTRÓNICO: adriannunez@uadec.edu.mx

Fecha de recepción: 21 de octubre de 2022. **Fecha de aceptación:** 23 de febrero de 2023. **Fecha de publicación:** 18 de abril de 2023.



I. INTRODUCCIÓN

En la última década, las enfermedades hepáticas fueron la sexta causa de muerte en México. La gente mayor de 25 años de edad es más propensa a sufrirlas y está más expuesta a empeorar su situación hasta llegar a la muerte. Adultos mayores (más de 65 años de edad) suelen ser los más afectados y los hombres son más predispuestos a sufrir por estas enfermedades en comparación con las mujeres (73.03 % y 26.97 %, respectivamente) ^[1].

Las enfermedades hepáticas son una de las principales causas de muerte en adultos y los jóvenes también son afectados debido al consumo excesivo de alcohol. Frecuentemente, los trasplantes de hígado suelen ser la única opción para recuperarse. Sin embargo, en el último cuatrimestre de 2021 la lista de espera para dichos trasplantes fue de 238 pacientes en México. En 2021, 135 pacientes fueron tratados, de los cuales 124 recibieron con éxito el trasplante y continuaron vivos, mientras que 11 fallecieron.

Se ha demostrado que únicamente ciudades grandes tienen la infraestructura necesaria para tratar enfermedades agudas y trasplantes hepáticos (86 Ciudad de México, 23 Jalisco, 17 Nuevo León, 6 Sonora, 2 Estado de México y 1 Querétaro) mientras que las ciudades más pequeñas han sido dejadas a un lado ^[2]. Esto representa un reto que, a su vez, crea una carga en el sistema nacional de salud pública que, a pesar de que en la mayoría de los casos es gratuita, estas situaciones se vuelven decisivas para saber si un paciente recibe un tratamiento o no debido a las largas listas de espera y a la situación económica, forzando a las personas a buscar sistemas de salud privados de forma nacional e internacional cuando el recurso está disponible para las familias.

Los biorreactores, que han surgido como una aplicación innovadora en la ingeniería de tejidos para garantizar terapias alternativas y una correcta manipulación de distintas estructuras biológicas (células, cultivos celulares y descelularización), se conforman por un sistema de condiciones controladas para el desarrollo de reacciones biológicas a través de organismos vivos y de sustancias bioquímicamente activas (biomiméticas) y trabajan de la mano con monocultivos y cocultivos celulares. Estos dispositivos han demostrado ser una opción viable para la reproducción celular con diversos cultivos celulares en distintos andamios. La evolución de los biorreactores en el área es reciente y basa sus principios de distintas

áreas del saber (biotecnología), con el fin de asegurar la creación de aplicaciones adaptadas a tejidos del ser humano. Sin embargo, los biorreactores producen datos empíricos que son difícilmente reproducidos y estandarizados, retrasando avances en terapias auxiliares.

A pesar de que los biorreactores producen datos empíricos, las ecuaciones biocinéticas y de balance de materia brindan los instrumentos necesarios para convertir los datos empíricos en algo específico: parámetros biocinéticos. Los modelos biocinéticos pueden ser parametrizados con medidas biocinéticas *in vitro* para permitir la extrapolación *in vitro-in vivo* para la predicción de parámetros del cuerpo ^[3]. Sumado a esto, los datos biocinéticos juegan un rol importante en el proceso de obtener estimaciones potencialmente de humanos, que permiten su propia comparación para evaluar la exposición al riesgo ^[4]. Este trabajo formula la creación de un modelo matemático dinámico en un biorreactor de flujo radial continuo.

El modelo matemático dinámico da a conocer el número de células, parámetros biocinéticos, comportamiento celular, predicciones futuras e información relacionada a cuán cerca está del balance de materia. Esto mejoraría sustancialmente las interacciones internas en el sistema a través de las ecuaciones biocinéticas y su balance de materia, demostrando un impacto en la optimización y diseño de pruebas para el desarrollo de la industria farmacéutica. Estos modelos permitirán crear conciencia sobre la relación entre las condiciones operativas de un biorreactor y las funciones específicas de las células del hígado ^[5].

Cuando se trata de diseñar nuevos biorreactores o sistemas biológicos, algunos de los mayores obstáculos son tiempo, costo, proceso de diseño y falta de infraestructura, lo cual crea una barrera en los investigadores, forzándolos a evitar estos enfoques, pues tienen que elegir entre estudiar cualquier tipo de células en un laboratorio especializado (sistemas biológicos) por cuenta propia o tomar un trabajo previamente realizado con características deseadas. Cuando se escoge la segunda opción se trabaja con un diseño aprobado, se ahorra tiempo, dinero y se vuelve en una opción sólida cuando no se tienen dichos laboratorios cerca, lo cual crea alternativas para el desarrollo de sistemas biológicos. Las ecuaciones biocinéticas y de balance de materia toman todos los datos empíricos y crean un modelo matemático dinámico para que no exista la necesidad de recrear físicamente

el biorreactor del autor. Cuando se juntan todos los datos, se obtienen parámetros específicos a través de estos modelos y se generan datos necesarios para la caracterización y parametrización. Esto resulta ampliamente útil para la proliferación celular y el estudio de las células.

Por tanto, el objetivo del trabajo es conseguir una simulación a través del diseño de un modelo matemático dinámico para el estudio del crecimiento de las células hepáticas, su producción y consumo de sustrato basado en la proliferación celular, producción de proteínas y el medio de cultivo de un biorreactor de flujo radial continuo, lo cual es posible debido a la relación e implementación de las ecuaciones biocinéticas y su balance de materia. La simulación de un sistema biológico permite encontrar los ajustes necesarios de los parámetros biocinéticos para obtener la validación del modelo con respecto a los datos experimentales. Cabe resaltar que al momento de hacer esa investigación no existía otro modelo dinámico donde se simulara la proliferación de células hepáticas bajo este tipo de biorreactores.

II. METODOLOGÍA

BIORREACTOR

El biorreactor se encarga de crear un sistema biomimético adecuado para el cultivo celular de los hepatocitos y, por tanto, para esta investigación se seleccionó un biorreactor de flujo radial continuo que cuenta con resultados precisos y deseados para la simulación del modelo matemático dinámico y el cual ya ha sido publicado [6]. En el presente estudio no se creó un biorreactor nuevo, sino que los datos empíricos de [6] fueron convertidos en un modelo matemático dinámico con la intención de asegurar los datos de la biomasa, el sustrato y el balance de producto con la finalidad de que se establezca una asociación dinámica, transformando resultados empíricos en ecuaciones biocinéticas y de balance de materia.

El biorreactor de flujo radial está compuesto por una cámara cilíndrica que fue llenada con un medio de cultivo al 80 % de su capacidad y cuyas células fueron sembradas en los andamios. El biorreactor se colocó dentro de una incubadora estándar (5% CO₂, 37 °C) [6].

El andamio con hepatocitos fue colocado dentro del biorreactor con un flujo constante de medio de cultivo a 7 mL/min. La confluencia celular se midió al tomar

una muestra del medio de cultivo (8 mL). Al voltearse el andamio, la cámara de cristal se posicionó horizontalmente para sostener la esponja y el soporte central. El medio de cultivo específico fue utilizado para las células hepáticas y endoteliales en una proporción 50 % - 50 % durante los primeros 15 días, abastecido con 10 % de suero fetal bovino para los primeros 8 días del cultivo. La densidad celular, la producción de albúmina y la secreción total de proteínas fueron evaluadas después de 21 días del cultivo [6].

DESARROLLO DEL MODELO

Con el fin de conseguir modelos matemáticos, se necesitan distintas suposiciones para su desarrollo:

- a) El contenido del biorreactor está uniformemente bien mezclado.
- b) Los tipos y procesos de secuencia son considerados conocidos y constantes.
- c) La agitación es constante.
- d) Los parámetros biocinéticos son constantes en el dominio del tiempo.
- e) La temperatura y la composición son propiedades fisicoquímicas independientes.
- f) En cuanto a la presión parcial de oxígeno, se considera la presión atmosférica y está uniformemente bien mezclada.
- g) Las capas de HepG2 ubicadas en el fondo del contenedor son tratadas como condiciones de frontera debido a su grosor, el cual es mucho menor que la longitud de la escala del biorreactor.

Las ecuaciones biocinéticas [7] utilizadas en el presente estudio son las siguientes:

Ecuaciones constitutivas:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} \quad (1)$$

$$r_P = (\alpha\mu + \beta) \left(\frac{C_S}{C_S + K_{PS}} \right) \quad (2)$$

Ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left(\frac{1}{Y_{XS}} \right) + \mu + C_X - \left(\frac{1}{Y_{PS}} \right) r_P + C_X - m_S C_X + \frac{F}{V} + (C_{SF} - C_S) \quad (3)$$

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu + C_X - \left[\left(\frac{F}{V} \right) + C_X \right] \quad (4)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = r_p C_X - \left[\left(\frac{F}{V} \right) C_P \right] \quad (5)$$

$$F = V \quad (6)$$

Las ecuaciones mostradas representan la diferencia mínima dada a los parámetros iniciales para su aproximación al balance de materia principal y cuyas variables están definidas en la [Tabla 1](#). Se obtuvieron a través de la producción de albúmina y proteínas en un periodo de 21 días, datos recopilados y establecidos por el biorreactor [6]. Se recomienda utilizar datos empíricos y parámetros racionales basados en ecuaciones biológicas que, precisamente, dan información sobre el estudio de las variables que se muestran en la [Tabla 2](#). El de Monod fue el primer modelo empírico con relación al crecimiento cinético microbiano [8].

En cuanto a las condiciones iniciales y operativas, en la [Tabla 2](#) se enlistan las utilizadas para el estudio de las variables dinámicas tomadas en consideración y en la [Tabla 3](#) las seleccionadas para el estudio del biorreactor.

TABLA 1
VARIABLES DE ECUACIONES BIOCINÉTICAS

PARÁMETRO	NOMENCLATURA
C_S	Concentración de sustrato
C_X	Concentración de biomasa
C_P	Concentración de producto
F	Flujo de alimentación
V	Volumen del medio de cultivo
r_p	Tasa de formación del producto
μ	Tasa de crecimiento específico
$\mu_{\text{máx}}$	Tasa máxima de crecimiento específico
K_S	Constante de afinidad de la fuente del sustrato de carbono
α	Coefficiente asociado al crecimiento para la síntesis de producto
β	Coefficiente asociado al decrecimiento para la síntesis de producto
K_{PS}	Constante de afinidad del producto
Y_{XS}	Rendimiento biomasa/sustrato
Y_{PS}	Rendimiento producto/sustrato
m_S	Consumo específico de sustrato para conservación
C_{SF}	Concentración de alimentación de sustrato

TABLA 2
CONDICIONES INICIALES Y OPERATIVAS PARA UN BIORREACTOR DE FLUJO RADIAL CONTINUO

PARÁMETRO	NOMENCLATURA
C_S	Concentración de sustrato
C_X	Concentración de biomasa
C_P	Concentración de producto
F	Flujo de alimentación
V	Volumen del medio de cultivo
r_p	Tasa de formación del producto

TABLA 3
CONDICIONES INICIALES Y OPERATIVAS PARA UN BIORREACTOR DE FLUJO RADIAL CONTINUO

PARÁMETRO	VALOR	UNIDAD	NOMENCLATURA
C_{S0}	2	g/L	Concentración inicial de sustrato
C_{X0}	5	g/L	Concentración inicial de biomasa
C_{P0}	0.001	g/L	Concentración inicial de producto
C_{SF}	1.15	g/L	Concentración de alimentación de sustrato
ρ	1.013	bar	Presión
t_1	3.2	h	Tiempo del primer flujo
t_2	12.4	h	Tiempo del segundo flujo
F_1	0.022	L · h	Primer flujo de alimentación
F_2	0.175	L · h	Segundo flujo de alimentación
V	0.25	L	Volumen máximo del biorreactor

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VALIDACIÓN DEL MODELO

La estimación de los parámetros del modelo biocinético mencionado en las ecuaciones (1)-(6) se resuelve utilizando el método de los mínimos cuadrados, ya que este optimiza una función objetivo para que la diferencia sea minimizada entre los valores del modelo propuesto para este estudio y el comportamiento correspondiente a los datos experimentales. Este método es incluido en el software Berkeley Madonna, el cual fue utilizado en el presente estudio. Los valores de los parámetros optimizados se encuentran en la [Tabla 4](#).

A su vez, se empleó un análisis paramétrico de sensibilidad en el que se considera el modelo matemático para determinar los parámetros que tienen un mayor efecto en C_S y C_P . El análisis de sensibilidad fue obtenido al incrementar cada parámetro del modelo con un porcentaje dado, dejando todos los demás parámetros constantes y cuantificando el cambio en las salidas del modelo.

TABLA 4
PARAMÉTROS DEL MODELO

PARÁMETRO	VALOR	UNIDAD	NOMENCLATURA
Y_{XS}	2.94	g/g	Rendimiento biomasa/sustrato
Y_{PS}	5.46	g/g	Rendimiento producto/sustrato
μ_{\max}	1.84	1/h	Tasa máxima de crecimiento específico
K_S	9.50	g/L	Constante de afinidad de la fuente del sustrato de carbono
K_{PS}	53.89	g/L	Constante de afinidad del producto
m_S	1.29×10^{-7}	g/L	Consumo específico de sustrato para conservación
α	0.27	g/g	Coefficiente asociado al crecimiento para la síntesis de producto
β	0.17	g/gh	Coefficiente asociado al decrecimiento para la síntesis de producto

Un análisis de sensibilidad se emplea por diversas razones, entre ellas la necesidad de determinar cuáles parámetros requieren una mayor investigación experimental con el objetivo de mejorar la comprensión del proceso, cuáles parámetros son insignificantes y cuáles pueden ser eliminados del modelo, cuáles están altamente correlacionados con la salida y, una vez que el modelo esté en un proceso de producción, qué consecuencia resultaría en el cambio de un parámetro de entrada establecido [9]. En la Figura 1 se muestra la respuesta del efecto que cada de los parámetros tienen en C_S y en C_P cuando se varía en un 15 % todos los parámetros mencionados en la Tabla 4.

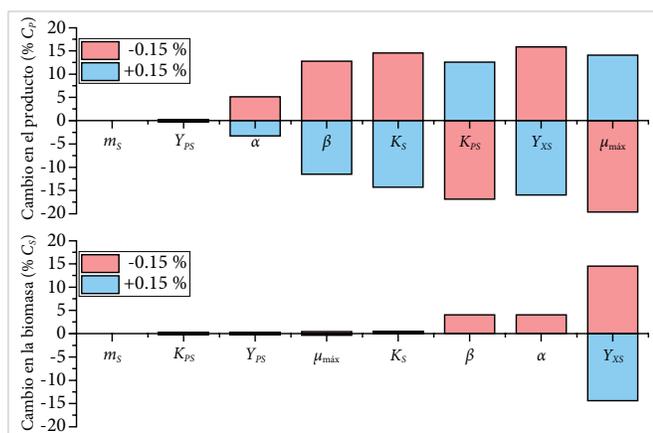


Figura 1. Análisis paramétrico de sensibilidad.

De acuerdo con este análisis, los parámetros que tienen un mayor efecto en la salida en C_S son Y_{XS} , α y β , ya que

ellos pueden lograr un cambio en la concentración en un 14.5 %, 4.0 % y 3.9 %, respectivamente, mientras que los parámetros que más destacan en C_P son μ_{\max} , Y_{XS} y K_{PS} , logrando un efecto del 19.6 %, 15.8 % y 16.8 %, respectivamente. Vale la pena mencionar que únicamente m_S , Y_{PS} y α son parámetros que no muestran algún cambio considerable en el efecto de C_P , un efecto que no está presente en C_S ya que el resto de los parámetros en C_P muestran un cambio en el efecto, significativamente.

ANÁLISIS DINÁMICO DE UN BIORREACTOR

En los resultados mostrados en la Figura 2 es posible apreciar la similitud del comportamiento dinámico con respecto a los datos experimentales, donde las concentraciones del comportamiento dinámico (sustrato, producto y biomasa) son comparadas en un flujo continuo utilizando las siguientes condiciones iniciales: $C_{S,0} = 2$ g/L, $C_{x,0} = 5$ g/L y $C_{P,0} = 0$ g/L, junto a los parámetros mostrados en la Tabla 4.

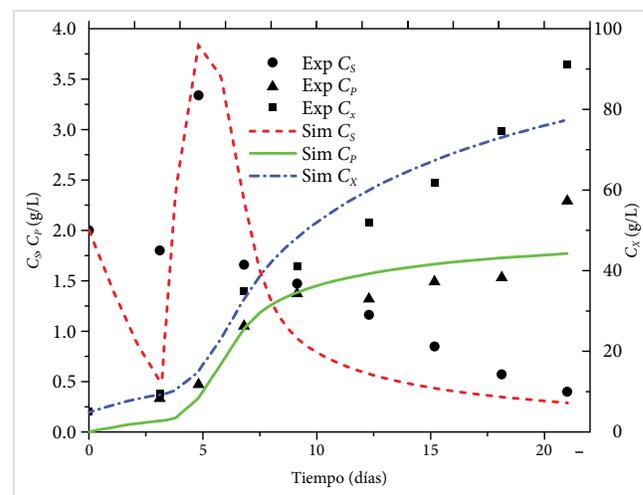


Figura 2. Validación del modelo para la proliferación de células hepáticas y su respuesta dinámica.

La prueba de la simulación concluyó en el día 21 cuando las concentraciones máximas de las células y sus productos son alcanzadas, logrando una concentración de 91 g/L y 1.76 g/L, respectivamente. A pesar de que la prueba fue simulada por varios días, la respuesta dinámica aún mostró perturbaciones para el estudio de las tres variables. El error porcentual absoluto medio (MAPE) para C_X , C_S y C_P fue de 10.6679 %, 41.1139 % y 20.7302 %, respectivamente. Se requiere de un mayor periodo de estudio para identificar el comienzo del estado estacionario debido a que se trabajó con un biorreactor de flujo radial continuo. La variable que mostró una mayor

perturbación es C_S , ya que al comienzo de la prueba no hubo concentraciones celulares requeridas para que el comportamiento se comience a desnivelar. En este caso, es recomendable decrementar el flujo de entrada de C_S o $C_{S,0}$ para obtener un comportamiento más estable. El sustrato es una condición inicial y no está influenciado por otras entradas durante el periodo de la prueba. Según lo previsto, un punto de decremento sería notable para C_S , ya que las células se alimentan con el sustrato a pesar de estar en un estado estacionario. No obstante, una ecuación dinámica de producto refleja el comportamiento entre la concentración de la biomasa y la tasa de formación de producto (elaborado por las células) para que estén directamente relacionados. El biorreactor de flujo radial es alimentando a través de sus entradas internas por el medio de cultivo y de oxigenación, mientras que el producto es generado por las células.

El modelo matemático representa el estudio del comportamiento de las variables dentro de un biorreactor de flujo radial continuo y ahora, con el modelo validado, diferentes simulaciones se llevan a cabo al variar el flujo, condiciones iniciales, concentraciones de alimentación, y se obtienen diversos resultados que pueden no necesariamente ser logrados al momento de ser probados en un biorreactor. Como parte de la investigación, se toman distintas pruebas en diferentes simulaciones al modificar $C_{S,0}$, donde se desea reportar resultados expresados en términos del rendimiento de la biomasa por cantidad de sustrato. La respuesta dinámica de la concentración inicial del sustrato y criterios técnicos son mostrados en la [Figura 3](#).

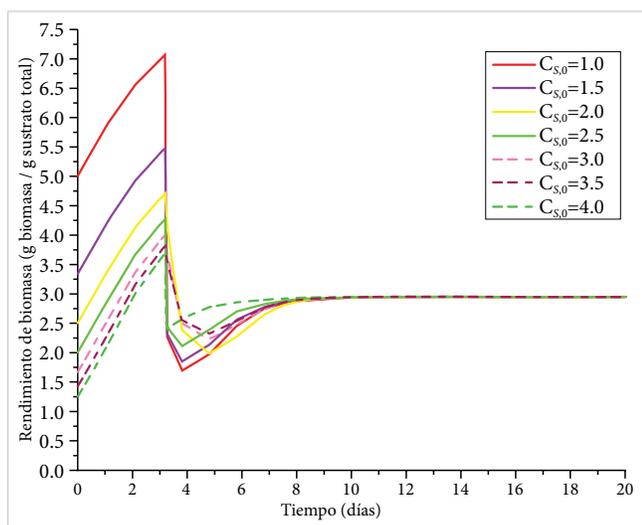


Figura 3. Rendimiento del comportamiento (Y_{XS}) con respecto a la variación del sustrato.

La respuesta dinámica se simula en distintas concentraciones iniciales de sustrato (1-4 g/L) para descifrar el desempeño de su comportamiento con respecto al tiempo. Los primeros días se muestra que entre mayor sea la cantidad de la concentración de sustrato mayor será el rendimiento logrado. Sin embargo, las variaciones de los resultados comienzan a ser muy similares a partir del día 8. De este modo se muestra que, bajo este rango de valores, la cantidad de la concentración de sustrato inicial realmente no impacta sustancialmente, únicamente si el periodo de estudio se lleva por más de 8 días. El mayor rendimiento encontrado bajo este periodo es presentado con $C_{S,0} = 1.0$ g/L. Por otro lado, el menor rendimiento ocurre cuando se emplea $C_{S,0} = 4.0$ g/L. Se mostraron resultados diferentes a lo que se esperaba, ya que entre mayor sea la concentración menor sería el rendimiento. Estos resultados indican que, en concentraciones más elevadas, la perturbación para alcanzar un rendimiento estable es mínimo.

IV. CONCLUSIONES

En esta investigación se obtuvieron resultados con base en un biorreactor de flujo radial continuo que se implementa para estudiar diferentes variables tales como la concentración celular, de producto y de sustrato a lo largo del tiempo. Estos resultados demostraron que al utilizar un modelo matemático, estas variables pueden ser mayormente predichas y estudiadas en profundidad con herramientas de simulación. Por tal motivo se empleó un análisis paramétrico de sensibilidad y se concluye que los parámetros que representan una mayor relevancia para C_X son Y_{XS} , α y β , mientras que, por otro lado, los parámetros que tienen el mayor efecto en C_P son $\mu_{\text{máx}}$, Y_{XS} y K_{PS} . Estos resultados pueden ayudar a reducir el mismo modelo matemático para futuras propuestas de control y monitoreo.

Como parte de este estudio, se emplearon diferentes simulaciones en las que se encontró que el rendimiento no presenta variaciones después del día 8 en la variedad de concentraciones de sustratos. Por consiguiente, las simulaciones y los modelados pueden ser empleados para procesos y síntesis de optimización, monitoreo y control de los procesos tendientes a mantener el nivel de producción y calidad del producto, así como para detectar de fallas, entre otros.

La necesidad imperante de crear alternativas para el estudio del comportamiento de la proliferación de cé-

lulas hepáticas, como es el caso de los biorreactores; la generación de una antesala para aplicaciones médicas con el fin de resolver las enfermedades de los pacientes y el gran impacto que genera no tener infraestructuras especializadas, han sido objeto de estudio en la presente investigación. Las ecuaciones dinámicas biocinéticas son útiles para el propósito de este enfoque y es prometedor para distintos proyectos de la ingeniería biomédica, ya que podría impactar a la hora de analizar distintos trabajos justo en el comienzo, en la etapa del diseño, dado que cualquier parámetro puede ser una entrada y, en consecuencia, brindar eventos futuros precisos y conocidos.

REFERENCIAS

- [1] INEGI, *Características de las defunciones registradas en México durante 2020* (comunicado de prensa Núm. 592/21). México: 2021. [En línea]. Disponible en: <https://codigof.mx/wp-content/uploads/2021/12/DefuncionesRegistradas2020definit.pdf>. [Accesado: may. 20, 2022].
- [2] CENATRA, “Reporte anual 2021 receptores, donación y trasplantes en México”. Estadísticas sobre donación y trasplantes. <https://www.gob.mx/cenatra/documentos/estadisticas-50060> (accesado: mayo, 20, 2022).
- [3] S. P. F. Tan, E. C. Y. Chan y J. C. Y. Chan, “Predicting human tissue exposures to xenobiotics using a bottom-up physiologically-based biokinetic model”, *ALTEX*, vol. 38, no. 2, pp. 253-268, 2021, doi: 10.14573/altex.2007151.
- [4] A. Punt et al., “New approach methodologies (NAMs) for human-relevant biokinetics predictions: Meeting the paradigm shift in toxicology towards an animal-free chemical risk assessment”, *ALTEX*, vol. 37, no. 4, pp. 607-622, 2020, doi: 10.14573/altex.2003242.
- [5] M. N. Hsu, G.-D. S. Tan, M. Tania, E. Birgersson y H. L. Leo, “Computational fluid model incorporating liver metabolic activities in perfusion bioreactor”, *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 111, no. 5, pp. 885-895, 2014, doi: 10.1002/bit.25157.
- [6] O. Ramírez-Fernández, E. Zúñiga-Aguilar, L. E. Gómez-Quiroz, M. C. Gutiérrez-Ruiz y R. Godínez, “Organic-polymeric radial flow bioreactor for liver models”, *Rev. Mex. de Ing. Biomédica*, vol. 37, no. 3, pp. 165-179, 2016, doi: 10.17488/RMIB.37.3.1.
- [7] O. Anaya-Reza y T. Lopez-Arenas, “Comprehensive assessment of the l-lysine production process from fermentation of sugarcane molasses”, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 40, no. 7, pp. 1033-1048, 2017, doi: 10.1007/s00449-017-1766-2.
- [8] F. A. Ogghyanous, H. Etemadi y R. Yegani, “Foaming control and determination of biokinetic coefficients in membrane bioreactor system under various organic loading rate and sludge retention time”, *Biochem. Eng. J.*, vol. 157, 2020, doi: 10.1016/j.bej.2020.107491.
- [9] T. Lopez-Arenas, M. González-Contreras, O. Anaya-Reza y M. Sales-Cruz, “Analysis of the fermentation strategy and its impact on the economics of the production process of PHB”, *Comput. Chem. Eng.*, vol. 107, pp. 140-150, 2017, doi: 10.1016/j.compchemeng.2017.03.009.

RECONOCIMIENTOS

El autor principal agradece a la Universidad Autónoma de Coahuila, a la Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica Unidad Norte de la Universidad Autónoma de Coahuila, a la Asociación Civil Promotora de Turismo de Monclova y a sus asesores por su colaboración en el presente trabajo.