

DISEÑO DE LAS ETAPAS DE HIDRÓLISIS DE  
ALMIDÓN Y FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR  
BIOETANOL BASADO EN LA RESPUESTA DINÁMICA  
DEL SISTEMA



ANGEL DE JESÚS HERRERA ESCOBAR  
ROBERTO CARLOS MEERS DÍAZ

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
CARTAGENA DE INDIAS, D. T. Y C.

2013

DISEÑO DE LAS ETAPAS DE HIDRÓLISIS DE  
ALMIDÓN Y FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR  
BIOETANOL BASADO EN LA RESPUESTA DINÁMICA  
DEL SISTEMA

Grupo de Investigación en Ingeniería Química

ÁNGEL DE JESÚS HERRERA ESCOBAR  
ROBERTO CARLOS MEERS DÍAZ

Proyecto de Grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Químico

Directora

ISABEL CRISTINA PAZ ASTUDILLO, M. Sc, Ph. D.

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
CARTAGENA DE INDIAS, D. T. Y C.

2013

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

Cartagena 09 /04 /13

## **DEDICATORIA**

A Dios, por permitirnos la realización de esta investigación, guiarnos en los momentos más difíciles y darnos la sabiduría para resolver cada uno de los problemas presentados en el transcurso de ésta.

A nuestros padres y abuelos, que han sido el apoyo y motivación más grande que hemos tenido para el alcance de la meta que conlleva este trabajo final.

A nuestros futuros hijos que verán reflejados en sus vidas los frutos de cada uno de los esfuerzos que se han hecho para abrirnos paso en este campo profesional.

Ángel De Jesús Herrera Escobar

Roberto Carlos Meers Díaz

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, quien nos orientó y fortaleció para vencer las dificultades presentadas en la parte de diseño, así como en la falta de herramientas informáticas inesperadas; por darnos la perseverancia día a día; por derramar muchas bendiciones en nuestras vidas, y por la oportunidad de terminar en el momento justo para la entrega.

A la Universidad de Cartagena, por brindarnos la oportunidad de estudiar, ser un profesional, y llevar con orgullo el hecho de ser un egresado udeceista.

Le agradecemos a nuestra tutora Isabel Paz, por su paciencia, dedicación, por ser nuestra guía para la realización de esta investigación, y sobre todo, por brindarnos su amistad de forma incondicional.

A todos los docentes del programa de ingeniería química, quienes en el transcurrir de la carrera nos orientaron, nos brindaron sus conocimientos, exigieron, direccionaron y concientizaron con sus enseñanzas de tipo académico, personal y profesional, permitiéndonos el fortalecimiento en diferentes áreas de la ingeniería.

## CONTENIDO

pág.

### INTRODUCCIÓN

1. OBJETIVOS.....	1
1.1 OBJETIVO GENERAL .....	1
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	1
2. MARCO DE REFERENCIA.....	2
2.1 ANTECEDENTES.....	2
2.2 ESTADO DEL ARTE .....	4
2.3 MARCO TEÓRICO.....	05
2.3.1 Etapa de hidrólisis. ....	5
2.3.2 Etapa de fermentación .....	12
2.3.3. Modelamiento dinámico de reactores bioquímicos y enzimáticos .....	17
2.3.4. Bifurcaciones .....	20
2.3.5. Fenómenos de estabilidad en biorreactores .....	22
3. METODOLOGÍA .....	23
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	23
3.2. FUENTES DE INFORMACIÓN.....	23
3.2.1. Fuentes de información primaria. ....	23

3.2.2 Fuentes de información secundaria .....	23
3.3. VARIABLES .....	24
3.3.1. Operacionalización de las variables .....	24
3.4 PROCEDIMIENTO .....	27
3.4.1. Modelamiento de la etapa de hidrólisis enzimática para producir bioetanol.....	27
3.4.2. Análisis de la respuesta dinámica del arranque de los procesos y el alcance de los estados estables para diferentes parámetros de operación. ....	28
3.4.3. Selección de las condiciones de operación más adecuadas para alcanzar estados estables con alto rendimiento de producto de la etapa de hidrólisis. ....	29
3.4.4. Modelamiento de la etapa de fermentación para la producción de bioetanol.....	31
3.4.5. Análisis de la respuesta dinámica del arranque de los procesos y el alcance de los estados estables para diferentes parámetros de operación. ....	31
3.4.6. Selección de las condiciones de operación más adecuadas para alcanzar estados estables con alto rendimiento de producto de la etapa de fermentación. ....	32
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	34
4.1. MODELAMIENTO DE LA ETAPA DE HIDRÓLISIS .....	34
4.1.1. Selección del modelo cinético .....	34
4.1.2. Modelamiento del reactor continuo para la hidrólisis .....	35
4.2. SIMULACIÓN DINÁMICA DE LA ETAPA DE HIDRÓLISIS .....	37
4.2.1. Selección preliminar del rango de alimentación de sustrato .....	37
4.2.2. Construcción y análisis de diagramas dinámicos de la etapa de hidrólisis (arranque y estabilización) .....	39

4.2.3. Construcción y análisis de diagramas de fase de la etapa de hidrólisis (arranque y estabilización) .....	45
4.3. SELECCIÓN DE CONDICIONES DE OPERACIÓN .....	48
4.3.1. Efecto de cada parámetro a seleccionar.....	48
4.3.2. Detección de fenómenos atípicos para el rendimiento del sistema.....	48
4.3.3. Selección de la velocidad de dilución .....	52
4.3.4. Selección de la concentración de sustrato en la alimentación .....	54
4.4. MODELAMIENTO DE LA ETAPA DE FERMENTACIÓN EN UN CSTR .....	56
4.4.1. Selección del modelo cinético .....	56
4.4.2. Reajuste de parámetros dependientes de la temperatura .....	57
4.4.3. Modelamiento del reactor continuo de tanque agitado .....	60
4.5. SIMULACIÓN DINÁMICA DE LA ETAPA DE FERMENTACIÓN .....	61
4.5.1. Construcción y análisis de diagramas dinámicos de la etapa de fermentación (arranque y estabilización) .....	61
4.5.2. Construcción y análisis de diagramas de fase para la etapa de fermentación (arranque y estabilización) .....	66
4.6. SELECCIÓN DE CONDICIONES DE OPERACIÓN .....	72
4.6.1. Efecto de cada parámetro a seleccionar.....	72
4.6.2. Selección de la temperatura de operación .....	73
4.6.3. Selección de la concentración de alimentación de sustrato para la operación.....	75
4.6.4. Selección de la velocidad de dilución para la operación .....	77

4.7. DISEÑO OPERACIONAL .....	78
5. CONCLUSIONES .....	80
6. RECOMENDACIONES .....	82
REFERENCIAS .....	83
ANEXOS.....	88

## LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Parámetros reportados en función de la temperatura .....	14
Tabla 2. Clasificación de estados estacionarios para un sistema bidimensional .....	19
Tabla 3. Bifurcaciones de estado estacionario para sistemas de codimensión-1.....	21
Tabla 4. Parámetros de operación que afectan los sistemas bioquímicos.....	22
Tabla 5. Variables de la simulación del proceso de hidrólisis. ....	25
Tabla 6. Variables de la simulación del proceso de fermentación .....	26
Tabla 7. Tiempo de estabilización para la glucosa. ....	43
Tabla 8. Tiempo de estabilización para la isomaltosa. ....	43
Tabla 9. Concentraciones de arranque, utilizando alimentación continua de biomasa. ....	62
Tabla 10. Tiempos de estabilización con y sin alimentación fresca de biomasa.....	64
Tabla 11. Tiempos de estabilización del sustrato con y sin alimentación fresca de biomasa.....	64
Tabla 12. Tiempos de estabilización del producto con y sin alimentación fresca de biomasa.....	65
Tabla 13. Condiciones de operación para corridas dinámicas. ....	71
Tabla 14. Comparación de condiciones de operación de la etapa de fermentación. ....	77
Tabla 15. Parámetros de operación seleccionados para la etapa de hidrólisis. ....	79
Tabla 16. Parámetros de operación seleccionados para la etapa de fermentación. ....	79

## LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. Representación gráfica de la metodología utilizada para la hidrólisis.....	30
Figura 2. Representación gráfica de la metodología utilizada para la fermentación. ....	33
Figura 3. Representación gráfica de la etapa de hidrólisis.....	35
Figura 4. Análisis de la velocidad inicial neta de reacción para la producción de glucosa en función de la concentración de almidón licuado alimentado. ....	38
Figura 5. Diagramas dinámicos con concentración de alimentación de almidón licuado 600 g/L y velocidad de dilución de $1.9 \text{ h}^{-1}$ .....	41
Figura 6. Diagramas de fase para la etapa de hidrólisis con concentración de sustrato de alimentación de 600 g/L, velocidad de dilución de $1.9 \text{ h}^{-1}$ y diferentes condiciones de carga de sustrato y otras especies. ....	46
Figura 7. Diagramas de fase para la etapa de hidrólisis, con concentración de sustrato de alimentación de 900 g/L y velocidad de dilución de $0.3 \text{ h}^{-1}$ .....	47
Figura 8. Diagrama de bifurcación 3D del rendimiento de la glucosa en función de los parámetros independientes: Concentración de sustrato alimentado y Velocidad de dilución. Para un rango de 10 g/L a 7000 g/L.....	50
Figura 9. Panorámica en 2 dimensiones del diagrama de bifurcación 3D del Rendimiento de la glucosa en función de los parámetros independientes: Concentración de sustrato alimentado y Velocidad de dilución. Con un rango de alimentación de 60 g/L a 9000 g/L.....	51
Figura 10. Diagrama de bifurcación 3D para la región de operación sin presencia de fenómenos atípicos: Concentración de sustrato alimentado = [60-1000] g/L.....	53
Figura 11. Panorámica en 2 dimensiones del diagrama de bifurcación 3D para la región de operación sin presencia de fenómenos atípicos: Concentración de sustrato alimentado entre [80-1000] g/L.....	54

Figura 12. . Rendimiento de glucosa en función de la concentración de almidón alimentado con velocidad de dilución de $1.4 \text{ h}^{-1}$ . . . . .	55
Figura 13. Productividad de glucosa en función de la concentración másica de almidón alimentado $1.4 \text{ h}^{-1}$ . . . . .	55
Figura 14. Reajuste de la Velocidad específica de crecimiento máxima como parámetro cinético en función de la Temperatura. . . . .	57
Figura 15. Reajuste de la Concentración máxima de biomasa como parámetro cinético en función de la Temperatura.* . . . .	58
Figura 16. Reajuste de la Concentración máxima de Producto como parámetro cinético en función de la Temperatura. . . . .	58
Figura 17. Reajuste del Rendimiento de biomasa por sustrato consumido como parámetro cinético en función de la Temperatura. * . . . .	59
Figura 18. Reajuste del rendimiento de producto respecto a la biomasa como parámetro cinético en función de la Temperatura. . . . .	59
Figura 19. Representación gráfica de la etapa de fermentación. . . . .	60
Figura 20. Simulación dinámica para las concentraciones de biomasa, sustrato y producto con alimentación continua de biomasa ( $2.5 \text{ kg/m}^3$ ) y sustrato ( $80 \text{ kg/m}^3$ ), velocidad de dilución $0.2 \text{ h}^{-1}$ y temperatura de $34.6^\circ\text{C}$ . . . . .	63
Figura 21. Dinámica del arranque y estabilización del sistema con $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ , $T=34.6^\circ\text{C}$ , $C_{sf} = 105 \text{ kg/m}^3$ , $C_{xf}=2.5 \text{ kg/m}^3$ , $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ , $C_{s0}=140 \text{ kg/m}^3$ , $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$ y $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ . . . . .	67
Figura 22. Diagramas de fase para el sistema con $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ , $T=34.6^\circ\text{C}$ , $C_{sf}=105 \text{ kg/m}^3$ , $C_{xf} = 2.5 \text{ kg/m}^3$ , $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ , $C_{s0}=140 \text{ kg/m}^3$ , $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$ y $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ . . . . .	68
Figura 23. Diagramas de fase para el sistema con $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ , $T=34.6^\circ\text{C}$ , $C_{sf} = 105 \text{ kg/m}^3$ , $C_{xf} = 2.5 \text{ kg/m}^3$ , $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ , $C_{s0}=60,80,100,120$ y $140 \text{ kg/m}^3$ , $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$ y $C_{p0} = 0 \text{ kg/m}^3$ . . . . .	69
Figura 24. Diagramas de fase para el sistema con $D=0.13 \text{ h}^{-1}$ , $T=34.6^\circ\text{C}$ , $C_{sf}=135 \text{ kg/m}^3$ , $C_{xf}=4.5 \text{ kg/m}^3$ , $C_{pf}=0$ , $C_{s0}=60, 90$ y $120 \text{ kg/m}^3$ , $C_{x0}=2, 4, 8, 10$ y $12 \text{ kg/m}^3$ y $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ . . . . .	70

Figura 25. Diagramas de fase para el sistema con $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ , $T=34.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , $C_{sf}=80 \text{ kg/m}^3$ , $C_{xf} = 2.5 \text{ kg/m}^3$ , $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ , $C_{s0}=40, 80, 120, 160, 200 \text{ y } 240 \text{ kg/m}^3$ , $C_{x0}=3.2 \text{ kg/m}^3$ y $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ .....	71
Figura 26. Diagrama de bifurcación de Temperatura vs. Rendimiento, para diferentes Velocidades de dilución: $D=0.15 \text{ h}^{-1}$ (negro); $D=0.25 \text{ h}^{-1}$ (rojo); $D=0.35 \text{ h}^{-1}$ (azul). .....	73
Figura 27. Diagrama de bifurcación de Temperatura vs. Rendimiento, para diferentes concentraciones de Sustrato alimentado, $\text{kg/m}^3$ : $C_{sf}=200$ (negro), $C_{sf}=70$ (rojo), $C_{sf}=45$ (verde), $C_{sf}=30$ (azul). .....	74
Figura 28. Diagrama de bifurcación para sistema de producción de etanol con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . $C_{sf} = 80 \text{ kg/m}^3$ (negro), $C_{sf} = 120 \text{ kg/m}^3$ (azul), $C_{sf} = 160 \text{ kg/m}^3$ (verde), $C_{sf} = 200 \text{ kg/m}^3$ (rojo).....	75
Figura 29. Diagrama de bifurcación para sistema de producción de etanol con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . $C_{sf}=80 \text{ kg/m}^3$ (negro), $C_{sf}=120 \text{ kg/m}^3$ (azul), $C_{sf}=160 \text{ kg/m}^3$ (verde) $C_{sf}=200 \text{ kg/m}^3$ (rojo).....	76
Figura 30. Representación gráfica de las etapas de hidrólisis y fermentación.....	78

## LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A .....	89
ANEXO B .....	91
ANEXO C .....	93
ANEXO D .....	94
ANEXO E.....	95
ANEXO F.....	98
ANEXO G .....	99
ANEXO H.....	100

## RESUMEN

En este trabajo fueron diseñadas las etapas de hidrólisis y fermentación para producir bioetanol a partir de almidón de yuca amarga, basándose en la respuesta dinámica del sistema, con el fin de obtener un proceso continuo estable y con alto rendimiento de producto. En el estudio, se implementaron modelos cinéticos complejos de estructura matemática no lineal que permitieron verificar fenómenos de inestabilidad que propiciaron bajo rendimiento de producto.

Se simuló el arranque de cada etapa en un biorreactor de tanque agitado continuo (CSTBR) utilizando códigos programados en Matlab. Los resultados permitieron determinar el efecto de la velocidad de dilución, y la concentración de alimentación de sustrato sobre la estabilidad de ambas etapas, así como el efecto de la temperatura sobre la estabilidad del proceso de fermentación. Mediante el análisis de la información, se establecieron valores para los parámetros de operación estudiados y para las concentraciones de arranque, que permitieron alcanzar y mantener estados estables de alta productividad y rendimiento en cada uno de los procesos.

Se obtuvo un diseño integral al incluir un análisis coherente de la respuesta dinámica del sistema para cada una de las etapas. Este diseño aporta a la solución de problemas que se presentan actualmente en las plantas industriales de producción de alcohol carburante, relacionados a caídas de rendimiento inesperadas que se atribuyen a la inestabilidad del sistema.

Palabras claves: *Hidrólisis, fermentación, amiloglucosidasa, estabilidad, Saccharomyces cerevisiae.*

## ABSTRACT

The hydrolysis and fermentation stages for producing bioethanol from bitter yucca starch were designed based on the dynamic response of the system with the purpose of obtaining a stable process with high product yield. During the study, complex kinetic models with nonlinear mathematical structure were used with the purpose of verifying un-stability phenomena leading to low product yield.

The starting up of each stage in a continuous stirred tank bioreactor (CSTBR) was simulated by means of own codes programmed in Matlab. The results allowed determining the effect of the dilution rate, and feed substrate concentration on the stability of both stages. Likewise, the effect of temperature on the stability of the fermentation process was established too. From analysis of the information, values for the studied operation parameters and for the starting up concentrations, that allow reaching and maintaining stable steady states with high productivity and yield for each process, were defined.

An integral design was obtained through the analysis of dynamic response of the system for each process. The design obtained for the starch hydrolysis and glucose fermentation stages contributes to the solution of problems related to unexpected falls of the yield, attributed to system's stability, during the industrial fuel ethanol production.

Keywords: *Hydrolysis, fermentation, amyloglucosidase, stability, Saccharomyces cerevisiae.*

## INTRODUCCIÓN

Según el Programa de Uso Racional y Eficiente de Energía y Fuentes no Convencionales (PROURE), Colombia presentó, entre los años 1999 y 2008, un incremento anual promedio de 1,2% en la demanda energética. Con una proyección de 2,6%, del 2008 al 2020, el Estado debe garantizar la disponibilidad de recursos para suplir tal demanda (PROURE, 2010). En efecto, con la inminente disminución de recursos fósiles, el gobierno nacional ha impulsado un marco normativo de incentivos tributarios y financieros para fomentar la producción y el consumo de combustibles de origen biomásico a partir de la Ley 693 del 2005 (FedeBiocombustibles, 2012), con lo cual en Colombia la producción actual de etanol es de 1'275.000 L/día (FedeBiocombustibles, 2012) y se espera que llegue a 3'798.163 L/día para el 2020 (BIRD, 2008), mostrando una tendencia de aumento en la demanda de alcohol carburante para oxigenación de la gasolina.

En Colombia, la demanda de bioetanol como combustible ha sido satisfecha, en gran parte, por la caña de azúcar. Según la Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia (Asocaña, 2012), la caña procesada en Colombia presenta, para el 2009, 2010 y 2011, niveles de 23'588.646, 20.272.594 y 22'727.758 TM (equivalente a volumen de azúcar crudo) y una producción de alcohol carburante de 326, 291, y 336 millones de l/año, con una concentración de 98% de bioetanol. El uso extensivo de esta materia prima se debe al alto rendimiento que tiene para producción de bioetanol frente a otros cultivos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2012). Sin embargo, al tener en cuenta el inminente aumento esperado de la demanda de bioetanol, el uso de cultivos alimenticios tales como el de la caña de azúcar en Colombia implica un riesgo para la seguridad alimentaria; lo cual va en contra vía al desarrollo territorial sostenible propuesto por las políticas del Gobierno Nacional (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2006).

Un problema claro con la implementación de nuevas tecnologías es garantizar una producción acorde con la oferta de materias primas disponibles en la región. Es así como el Gobierno Nacional ha impulsado un plan de diversificación energética para la producción

de biocombustibles en todo el país (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2006). Una materia prima alternativa para la producción de bioetanol es la biomasa lignocelulósica proveniente de residuos con alto contenido de celulosa pero su tecnología es muy insipiente aún. Otra alternativa es la materia prima de origen amiláceo. De hecho, en Estados Unidos el alcohol se procesa a partir de maíz por su alto contenido de almidón (Copelo, 2007). Sin embargo, en Colombia es un alimento de primera generación y, por lo tanto, no es una opción viable, haciendo necesario buscar otra alternativa que no atenten contra la seguridad alimentaria.

Teniendo en cuenta que la producción de bioetanol se concentra en el interior del país, se presenta una oportunidad para el departamento de Bolívar, que no es gran productor de caña (Biblioteca Virtual del Banco de la República, 2005), de implementar nuevas plantas productoras de bioetanol a partir de otras materias primas con alta producción en la región; al mismo tiempo incentivando el mercado agrícola, tan azotado por conflictos armados, y favorecer el auge de la economía bolivareña, siendo uno de los departamentos donde se cultivan mayores cantidades de yuca amarga en el país (Secretarías de Agricultura Departamentales - UMATA, 2006-2007). Por ser un tubérculo que solo se utiliza para la alimentación de los cerdos, se convierte en un problema por las grandes cantidades que quedan fuera de esta forma de aprovechamiento, abriéndose así una puerta para otras aplicaciones. Además, ha sido la materia prima seleccionada para esta investigación por el alto contenido de almidón de este material, el fácil procesamiento del mismo y la adaptabilidad de su cultivo en terrenos áridos (Alarcón & Dufour, 1998).

Por otro lado, investigaciones previas referentes a los procesos de producción de etanol mediante fermentación, han desarrollado la hipótesis que en las actuales plantas instaladas productoras de bioetanol, incluso cuando las condiciones y parámetros físicos se mantienen constantes, se presentan caídas inesperadas en el rendimiento de las etapas que involucran el bioproceso, las cuales propician una consecuente reducción de su productividad, problemas de operación, paradas de planta, pérdidas de materia prima y pérdidas económicas. Estas investigaciones destacaron que esto se debe a la presencia de

fenómenos de inestabilidad típicos de sistemas altamente no lineales, los cuales no se han tenido en cuenta durante el diseño de los procesos fermentativos (Paz, 2010).

La implementación adecuada de tecnologías eficientes de producción de alcohol carburante en la región depende, directamente, de dar solución a los problemas de estabilidad en los procesos que existen actualmente y, por ende, se necesita realizar un diseño de las etapas de hidrólisis y fermentación que permitan alcanzar y mantener estados estables con alto rendimiento (Paz, 2010). Entonces, un análisis coherente del comportamiento dinámico de las cinéticas de hidrólisis del almidón y fermentación de los azúcares, proporcionará los parámetros pertinentes de diseño y las condiciones adecuadas de operación para estos bioprocesos con altas cantidades producidas (Paz & Cardona, 2009). Además, proveerá una base para la implementación adecuada de tales etapas en nuevos complejos de producción de bioetanol en la región.

Con el fin de contribuir al continuo mejoramiento de los procesos de producción de bioetanol en el país y de aportar un mayor entendimiento sobre el diseño integral de sus etapas, en este trabajo se desarrolló mediante simulación un análisis coherente de la respuesta dinámica del sistema en la hidrólisis y la fermentación, basado en cinéticas relativamente complejas que permiten verificar fenómenos de inestabilidad. Por consiguiente, al aplicar este análisis, se proporcionaron los parámetros y condiciones operacionales para el diseño integral de las etapas de hidrólisis del almidón y fermentación de los azúcares en el proceso de producción de bioetanol, teniendo en cuenta el comportamiento dinámico de las mismas, para realizar un control simultáneo de las operaciones, que garanticen el alcance y mantenimiento de estados estables de alto rendimiento (Paz & Cardona, 2009).

# **1. OBJETIVOS**

## **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Diseñar las etapas de hidrólisis y fermentación para producir bioetanol a partir de la yuca amarga, basado en el análisis de la respuesta dinámica del sistema.

## **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Modelar los procesos continuos de hidrólisis enzimática del almidón y la fermentación de los azúcares para producir bioetanol, a partir de balances de masa y expresiones cinéticas, con el fin de reproducir el comportamiento dinámico del sistema.
2. Analizar la respuesta dinámica del arranque de los procesos, para evaluar el efecto de diferentes parámetros de operación sobre el alcance de estados estables, mediante simulación dinámica.
3. Seleccionar las condiciones de operación más adecuadas que permitan alcanzar estados estables con alto rendimiento de producto en las etapas estudiadas, basado en el análisis del comportamiento del sistema.

## **2. MARCO DE REFERENCIA**

### **2.1 ANTECEDENTES**

El análisis dinámico de las etapas de hidrólisis de almidón y la fermentación de azúcares amerita un modelamiento pertinente basado en expresiones cinéticas que permitan describir el comportamiento del sistema, teniendo en cuenta factores que intervienen en el alcance de altos rendimientos de producto para cada una de las etapas.

En la literatura se encuentran múltiples modelos cinéticos que describen la hidrólisis del almidón. Uno de estos modelos describe la cinética de la hidrólisis de almidón soluble con glucoamilasa como una modificación de la ecuación de Michaelis- Menten que tiene en cuenta algunos factores que afectan la velocidad de reacción (inhibición por productos, desnaturalización de la enzima, cambios del pH y de la fuerza iónica, reversibilidad de la reacción, etc.). Pero este modelo presenta una desventaja respecto a las conversiones pues no es aplicable a conversiones mayores al 40%, lo que se convierte en una limitante para el estudio de cinéticas que estén relacionadas con conversiones superiores (González, et al., 1990).

En 1997, Zanin y Moraes plantearon un modelo cinético para la hidrólisis, en el cual usaron un modelo multisustrato para enzimas inmovilizadas teniendo en cuenta la formación de productos intermedios, la reversibilidad de algunas reacciones, la inhibición por sustrato, producto y la formación de isomaltosa. Obtuvieron los parámetros cinéticos mediante pruebas de velocidad inicial de sacarificación con enzima inmovilizada y para diferentes concentraciones de almidón licuado; siendo este modelo válido para reactores de lecho fijo y fluidizado, además, muestra que la inhibición por producto es 7 veces más alta en reactores de lecho fijo que en los de lecho fluidizado (Zanin & Moraes, 1997).

Modelos cinéticos para la fermentación de azúcares han sido ampliamente estudiados. En el año 2001, Atala y compañía, desarrollaron y validaron un modelo considerando los efectos de temperatura e inhibición de sustrato, producto y biomasa, en el cual los

parámetros cinéticos son descritos como función de la temperatura. Este modelo fue desarrollado a partir del estudio de las cinéticas de fermentación bajo condiciones de alto estrés para el microorganismo permitiendo determinar los efectos de inhibición; y se extiende al uso industrial pues también consideró un proceso continuo y utilizó como sustrato azúcar recuperada (Atala, et al., 2001).

Respecto al cultivo de la yuca, el Programa de Apoyo a la Modernización Tecnológica del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) ha estado aplicando desde la década pasada una política coherente con la política actual del gobierno (PND), junto con el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y el Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Yuca (CLAYUCA), liderando el trabajo en este área. Esta política agropecuaria de mediano y largo plazo busca impulsar el mejoramiento tecnológico, el crédito y el financiamiento, la comercialización y la formación de capital social en la producción agrícola, mediante la aplicación de estrategias que se apoyan en la capitalización y la organización de los productores (Ospina & Ceballos, 2002).

El Gobierno Nacional ha promovido el desarrollo de los biocombustibles mediante un marco legal comprendido por la Ley 693 de 2001, que describe el uso de alcoholes carburantes en Colombia. Luego, aparece la ley 939 de 2004 como estímulo de la producción y comercialización de biocombustibles para el uso de motores diesel. Aparece en el 2002 una contextualización de los biocombustibles en el mercado, con la Ley 788 del mismo año (Reforma Tributaria, Artículo 31), la cual exoneraba de pago de iva al alcohol carburante, y, en el artículo 88, se decretaba la exoneración de pago de sobretasa al uso de alcohol carburante (CONPES, 2008).

Mediante el Decreto 383 de 2007 se establecen estímulos a la implementación de zonas francas para proyectos agroindustriales en materia de biocombustibles, y, en la última reforma tributaria, estímulos a la inversión de hasta un 40 %.

La Resolución 447 de 2003, modificada por la resolución 1565 de 2004 en la cual establecen los requisitos técnicos y ambientales de los combustibles oxigenados.

Apareciendo la Resolución 18 0222 de 2006 de Ministerio de minas, por la cual se establece el precio del alcohol carburante.

## **2.2 ESTADO DEL ARTE**

Según el Programa de Uso Racional y Eficiente de Energía y Fuentes no Convencionales (PROURE) - en Colombia se presentó, entre el año 1999 y el 2008, un incremento anual promedio de 1,2 % en la demanda energética. Con una proyección esperada de incremento anual medio de 2,6 %, del 2008 al 2020, debe garantizarse, por parte del Estado, la disponibilidad de recursos para suplir tal demanda. Siendo un hecho la inminente disminución de recursos fósiles disponibles, el gobierno nacional ha impulsado un marco normativo y una política de incentivos tributarios y financieros para fomentar la producción y el consumo de combustibles de origen biomásico estableciendo el uso de mezclas estándar de combustibles fósiles y biocombustibles en el país. El porcentaje reglamentado para el etanol es de 10%  $\pm$  0.5% en volumen, a partir del 1° de enero de 2010 (PROURE, 2010).

Cumpliendo con lo dispuesto en la Ley 693 de 2001, el país empezó a implementar esta iniciativa para la creación de plantas de producción de alcohol carburante en la región suroccidental, donde el 28 de octubre de 2005, se inauguró la primera planta productora de alcohol carburante. En el 2006, se inaugura la primera planta de obtención de bioetanol a partir de yuca amarga en el departamento de Meta. Este complejo agroindustrial tomó el nombre de Cantaclaro y pretende, en el año 2012, doblar su producción actual (GPC, 2012).

Por otra parte, estudios anteriores han demostrado que algunas plantas ya instaladas, que producen bioetanol a partir de jugo de caña y melaza, presentan problemas inesperados de inestabilidad del sistema durante la etapa de arranque y de operación que conllevan a paradas de producción y, por consiguiente, a pérdidas económicas significativas. Dicho estudio estableció que el problema de inestabilidad se debe a que durante el diseño de la

etapa de fermentación no se tiene en cuenta la respuesta dinámica del biosistema, y permitió resaltar la importancia de los estudios de estabilidad en tales sistemas de producción (Paz & Cardona, 2011).

La evaluación del comportamiento dinámico y la estabilidad de un sistema de fermentación continua busca mostrar que, mediante el análisis anterior, se pueden definir las regiones de interés operativo para la producción de etanol, teniendo en cuenta la caracterización de puntos fijo, puntos de bifurcación y planos de fase para los modelos de crecimiento microbiano de Haldane y Monod (Trejos, Fontalvo, & Gómez, 2009).

Es pertinente tener en cuenta que, actualmente, el diseño de la mayoría de las fermentaciones se lleva a cabo mediante pruebas de ensayo y error, en las que no se tienen en cuenta todos los fenómenos de estabilidad que caracterizan el sistema; conllevando esto a que el proceso no siempre opere dentro de una región estable y se obtengan desviaciones en las variables de salida. Como resultado del estudio se estableció una alternativa para el diseño de estos procesos, que tiene en cuenta el análisis de la estabilidad del sistema, lo cual permite la selección de los parámetros de operación con base en la respuesta dinámica del sistema (Paz, 2010).

## **2.3 MARCO TEÓRICO**

### **2.3.1 Etapa de hidrólisis.**

La hidrólisis consiste en la doble descomposición de la molécula de agua ( $H^+$  y  $OH^-$ ) con otro compuesto, en la cual sus átomos forman otra especie química. Por la naturaleza disolvente del agua, también puede efectuarse la hidrólisis mediante adición de un ácido o una enzima.

Reacción de hidrólisis:



Con el objetivo de producir azúcares fermentables (de menor peso molecular) por acción de microorganismos o digestión ácido, se somete a hidrólisis almidón. Esta reacción consiste en un desdoblamiento del almidón, propiciado, por exceso de agua o por una pequeña cantidad de enzima o ácido (AGRONET, 2006).

### **2.3.1.1 Tipos de hidrólisis.**

Existen reportados en la literatura dos tipos de hidrólisis según el catalizador que se utilice.

➤ **Hidrólisis ácida:** El almidón es tratado con un ácido que permite el rompimiento de las cadenas cortas de dextrina. La concentración del ácido, el pH, la temperatura y el tiempo de hidrólisis son los parámetros de los cuales depende el grado de degradación. Por consiguiente, las reducciones del peso molecular y de la viscosidad son inversamente proporcionales al poder de reducción que aumenta por acción del ácido.

Siendo el ácido nítrico y el ácido clorhídrico, los más utilizados en este tipo de hidrólisis, la clase de ácido es un factor determinante en el tiempo de sacarificación, al igual que la concentración, la temperatura, la presión y la relación másica con respecto al almidón. Generalmente, mientras se lleva a cabo la hidrólisis debe mantenerse un pH de 1.5, para lo cual deben agregarse las cantidades adecuadas de ácido que permitan mantenerlo en este valor (AGRONET, 2006).

➤ **Hidrólisis Enzimática:** Este proceso consiste en la utilización de enzimas como catalizadores para romper las moléculas de almidón, obteniéndose productos semejantes a los de la hidrólisis ácida. El tipo de enzima más utilizada en este proceso son las amilasas, siendo las más conocidas la  $\alpha$ -amilasa y la  $\beta$ -amilasa, las primeras desdoblan el almidón en glucosa y maltosa; se caracteriza por la facilidad de fragmentación de los almidones en dextrinas reductoras, que no dan color en el yodo, y la segunda, convierte la totalidad del almidón en glucosa (AGRONET, 2006).

Al utilizar amilasas, es preciso mantener un proceso de cocción que favorezca la dispersión y la aceleración del rompimiento de las cadenas de almidón. Las amilasas actúan sobre el almidón dependiendo del origen de este, puesto que la composición del mismo cambia

según su origen, es decir, el almidón consta de amilopectina y amilosa, con porcentajes de mezcla en un intervalo de 75 a 80 de amilopectina. Además, la amilosa se compone de unidades de glucosa enlazadas (tipo  $\alpha$ -1,4 glicosídico) en cadenas longitudinales que pueden contener aproximadamente de 70 a 100 unidades de glucosa. Todo esto depende del origen del almidón (AGRONET, 2006).

Existen dos fases dentro del proceso de Hidrólisis enzimática. Primero, la licuefacción y segundo, la sacarificación. La licuefacción se lleva a cabo en presencia de alfa-amilasa o beta-amilasa, mientras que la sacarificación, que es la conversión de almidón a glucosa, en presencia de glucoamilasa o pollulanasa (AGRONET, 2006).

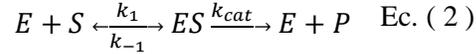
Mediante las diastasas de la malta o por las diastasas de los hongos se lleva a cabo la conversión del almidón a azúcares susceptibles de fermentación. Esta transformación se da a través de productos intermedios no fermentables. La cantidad de maltosa producida depende de la concentración en el mosto, la duración de la acción de las diastasas y de la temperatura (AGRONET, 2006).

Al comparar los dos tipos de hidrólisis se encuentra la gran ventaja de la hidrólisis enzimática sobre la ácida. Esto se debe, primordialmente, a que las enzimas son específicas para un tipo de enlace (selectividad), por lo cual, no es usual la aparición de productos de degradación; caso contrario sucede con la hidrólisis ácida, en la cual, el poco control y la selectividad pobre ocasionan la aparición de productos de degradación, inclusive tóxicos. Otra ventaja son los rangos moderados de condiciones como temperatura y pH en las que transcurre la hidrólisis enzimática (pH=4-8; T=40-60°C). Además, no se presentan sustancias extrañas añadidas como en el caso de la hidrólisis ácida para la neutralización (presencia de sales) (Guadix, et al., 2009).

### ***2.3.1.2 Cinética de la etapa de hidrólisis.***

El modelo más simple y básico, para el estudio de las cinéticas de reacción enzimática, supone la ocurrencia de una reacción reversible entre una enzima (E) y un sustrato (S) para dar como producto un complejo enzima-sustrato (ES); y luego, dar lugar a una reacción

irreversible donde se obtiene un producto P y la enzima (E), haciendo así que la enzima vuelva a su estado original (regeneración) (Orrego, Cetina, & Hernández, 2009).



Se asume que la velocidad de esta reacción es proporcional a la concentración del complejo enzima-sustrato (ES), así:

$$v = k_{cat}[ES] \quad \text{Ec. ( 3 )}$$

El parámetro de Michaelis-Menten, denominado también la constante de Michaelis  $K_m$ , relaciona la velocidad a la que se forma el complejo  $ES$  con las velocidades de liberación de producto  $P$ , de la enzima  $E$  y de sustrato  $S$ .

$$K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad \text{Ec. ( 4 )}$$

Con el fin de tener en cuenta la concentración total de enzima en el sistema (enzima-sustrato y enzima libre) y normalizar la expresión de la velocidad de reacción se deduce que:

$$[E]_{Total} = [E] + [ES] = [E] + \frac{[E][S]}{K_m} \quad \text{Ec. ( 5 )}$$

$$v = k_{cat}[E]_{Total} \frac{\frac{[E][S]}{K_m}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_m}} \quad \text{Ec. ( 6 )}$$

Al introducir el parámetro  $V_{max} = k_{cat}[E]_{Total}$ , que representa la máxima velocidad de reacción posible, queda la Ec. ( 7 ) conocida como la ecuación de Michaelis Menten.

$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad \text{Ec. ( 7 )}$$

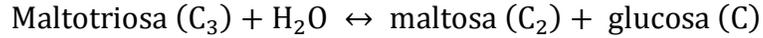
A este modelo se le han hecho varias modificaciones, con el fin de predecir el efecto inhibitorio del sustrato y producto sobre la enzima, por lo cual, este tipo de modelos con modificaciones son los más apropiados para analizar la respuesta dinámica del sistema. Tales modificaciones se han introducido con nuevos parámetros que permiten una

descripción más acertada del comportamiento evidenciado experimentalmente. Por ejemplo, González y compañía, realizaron un ajuste, que permitió una visualización más objetiva de cómo se lleva a cabo este proceso a nivel real, para conversiones menores a 40% (González, et al., 1990).

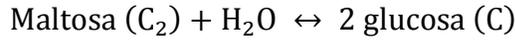
Otro de los modelos planteados en los últimos años fue desarrollado por Zanin y compañía. La estructura de este modelo muestra la complejidad de las cinéticas involucradas en la hidrólisis del almidón utilizando como enzima la amiloglucosidasa. Realizaron el modelamiento cinético de la etapa mediante la descripción de la ocurrencia de reacciones múltiples, teniendo en cuenta: la presencia de oligosacáridos susceptibles y resistentes en el almidón, la de productos intermedios que se dan en reacciones secundarias, y los efectos de la inhibición por producto y sustrato (Zanin & Moraes, 1997). El modelo se basa en las siguientes consideraciones y la nomenclatura respectiva está disponible en los ANEXOS A, B y C:

1. El sustrato tiene un grado de polimerización promedio  $n$  que está dado por los oligosacáridos que lo componen, productos de un pretratamiento del almidón con  $\alpha$ -amilasa (se asume que el grado de tales oligosacáridos es mayor que 3). Según reportes en la literatura, el grado de polimerización es 5, basado en la descripción de Reilly para la acción de la  $\alpha$ -amilasa ( $n = 5$ ).
2. Estos oligosacáridos son considerados como Oligosusceptibles  $C_4$  (aproximadamente el 77% de las moléculas), los cuales son más hidrolizables pues poseen enlaces  $\alpha$ -1,4; y Oligoresistentes  $C_6$ , que son menos hidrolizables, poseen enlaces  $\alpha$ -1,6 y constituyen el 23% de las moléculas.
3. La sacarificación se da mediante múltiples reacciones simultáneas que son divididas en tres tipos:
  - a. Reacciones de hidrólisis de los oligosacáridos con  $(n) > 3$  descritos anteriormente:  
Oligosusceptibles ( $C_4$ ) +  $(n - 3)H_2O \rightarrow$  maltotriosa ( $C_3$ ) +  $(n - 3)$ glucosa (C)  
Oligoresistentes ( $C_6$ ) +  $(n - 3)H_2O \rightarrow$  maltotriosa ( $C_3$ ) +  $(n - 3)$ glucosa (C)

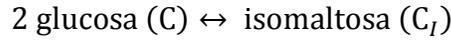
b. La hidrólisis de Maltotriosa ( $C_3$ ) es reversible:



c. La hidrólisis de Maltosa ( $C_2$ ) es reversible:



4. Puede ocurrir la reacción de condensación de Glucosa (C). Esta reacción es reversible:



5. Existe una inhibición de producto ( $K_i$ ), para el caso glucosa (C), en las reacciones en que interviene como producto, excepto la de condensación.

6. Existe una inhibición de sustrato ( $K_s$ ) por los oligosacáridos con  $n > 3$ , pero no para la maltotriosa y la maltosa.

7. Todos los sustratos ( $C_4, C_6, C_3, C_2$ ) compiten por el sitio activo de la amiloglucosidasa.

8. Durante la sacarificación, el agua está en exceso, por lo tanto, su concentración se asume constante.

9. A 45 °C, pH 4.5 y cantidad de enzima inmovilizada por volumen de reacción (E) de 749.85 g/L, la estabilidad de la amiloglucosidasa es alta, por lo tanto, se considera la desactivación térmica de la enzima despreciable (Zanin & Moraes, 1997).

La estructura del modelo cinético se basa en la interacción entre oligosusceptibles ( $C_4$ ), oligoresistentes ( $C_6$ ), maltotriosa ( $C_3$ ), maltosa ( $C_2$ ) e isomaltosa( $C_I$ ), mediante las siguientes velocidades de reacción [Ec. ( 8) - Ec. ( 15)] (Zanin & Moraes, 1997):

Velocidad de Hidrólisis de Oligosusceptibles,  $r_4$ :

$$r_4 = \frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2 K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6 K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} \quad \text{Ec. ( 8)}$$

Velocidad de Hidrólisis de Oligoresistente,  $r_6$ :

$$r_6 = \frac{V_{m6}EC_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2 K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} \quad \text{Ec. ( 9)}$$

Velocidad de Hidrolisis Maltotriosa  $r_3$ :

$$r_3 = \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2 C}{K_{eq3}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + G_3 + \frac{C_2 K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4 K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m3}}{K_{m6}} \right]} \quad \text{Ec. ( 10)}$$

En equilibrio:

$$K_{eq3} = (C_{2eq} C_{eq})/C_{3eq} \quad \text{Ec. ( 11)}$$

Velocidad de Hidrolisis Maltosa  $r_2$ :

$$r_2 = \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{K_{eq2}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3 K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m2}}{K_{m6}} \right]} \quad \text{Ec. ( 12)}$$

En equilibrio:

$$K_{eq2} = C_{eq}^2 / C_{2eq} \quad \text{Ec. ( 13)}$$

Velocidad de formación (reacción de condensación) de Isomaltosa,  $r_I$ :

$$r_I = V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{K_{eqI}} \right) \quad \text{Ec. ( 14)}$$

En equilibrio:

$$K_{eqI} = \frac{C_{Ieq}}{C_{eq}^2} \quad \text{Ec. ( 15)}$$

Teniendo en cuenta el efecto de reacciones múltiples se deducen los términos de velocidad neta de reacción,  $r$ , para cada componente, así (Zanin & Moraes, 1997):

Velocidad neta de Oligosusceptibles ( $C_4$ ),  $r_{4N}$ :

$$r_{4N} = -r_4 \quad \text{Ec. ( 16)}$$

Velocidad neta de Oligoresistentes ( $C_6$ ),  $r_{6N}$ :

$$r_{6N} = -r_6 \quad \text{Ec. ( 17)}$$

Velocidad neta de Maltotriosa ( $C_3$ ),  $r_{3N}$ :

$$r_{3N} = r_4 + r_6 - r_3 \quad \text{Ec. ( 18)}$$

Velocidad neta de Maltosa ( $C_2$ ),  $r_{2N}$ :

$$r_{2N} = r_3 - r_2 \quad \text{Ec. ( 19)}$$

Velocidad neta de Isomaltosa ( $C_I$ ),  $r_{IN}$ :

$$r_{IN} = r_I \quad \text{Ec. ( 20)}$$

Velocidad neta de Glucosa (C),  $r_{GN}$ :

$$r_{GN} = (n - 3)(r_4 + r_6) + r_3 + 2(r_2 - r_I) \quad \text{Ec. ( 21)}$$

### 2.3.2 Etapa de fermentación

La fermentación se lleva a cabo cuando una sustancia orgánica de origen vegetal libre de nitrógeno sufre un conjunto de reacciones químicas por medio de algún microorganismo (bacterias, bacilos, levaduras, mohos), donde por lo general, se produce un desprendimiento gaseoso y se da una producción de energía, que es adquirida por los microorganismos, la cual cuando se oxida el compuesto disminuye (AGRONET, 2006).

La fermentación de la glucosa y materiales azucarados mediante la acción de microorganismos tiene como objetivo la producción de etanol. Los microorganismos más utilizados para la producción de etanol a partir de glucosa son la levadura *Saccaromyces cerevisiae* y la bacteria *Zymomonas mobilis*.

#### 2.3.1.1 Cinética de la etapa de fermentación

Múltiples modelos matemáticos han sido propuestos, con el fin de reproducir mediante simulación el crecimiento microbiano que se da en los procesos fermentativos. Uno de los más sencillos y, por lo tanto, más utilizado, es el planteado por Monod; su simplicidad se deriva del número reducido de parámetros de ajuste en su expresión matemática, sin embargo, debe decirse que tal estructura posee un principio bioquímico (Fogler, 2008).

$$r_s = \frac{\mu_{max} C_s C_c}{K_s + C_s} \quad \text{Ec. ( 22)}$$

Donde,

$\mu_{max}$  = Velocidad de reacción específica de crecimiento máxima,  $s^{-1}$ .

$K_s$  = Constante de Monod,  $g/cm^3$ .

$C_s$  = Concentración de sustrato,  $g/cm^3$ .

$C_c$  = Concentración de célula,  $g/cm^3$ .

Otro modelo planteado en los últimos años en el cual se consideró el efecto de la temperatura sobre la cinética de la reacción es el de Andrade. Se llevaron a cabo experimentos en batch a temperaturas desde 30 hasta 38°C y el microorganismo utilizado fue *Saccharomyces cerevisiae*. El objetivo fue evaluar la dificultad en la actualización de los parámetros cinéticos cuando hay cambios en las condiciones de fermentación en el que la reestimación es una tarea que consume tiempo, además tuvo en cuenta el efecto de la inhibición por sustrato (Andrade, 2007).

La estructura del modelo cinético se basa en la interacción bioquímica entre las siguientes especies: biomasa (X), sustrato (S) y producto (P), y se describe mediante las siguientes velocidades de reacción (Atala, et al., 2001):

Velocidad para Crecimiento de Células:

$$r_x = \mu_{max} \left( \frac{C_S}{K_S + C_S} \right) e^{-K_i * C_S} \left( 1 - \frac{C_X}{X_{max}} \right)^m \left( 1 - \frac{C_P}{P_{max}} \right)^n C_X \quad \text{Ec. ( 23 )}$$

Velocidad para Producto:

$$r_p = Y_{px} r_x + m_p C_X \quad \text{Ec. ( 24 )}$$

Velocidad para Sustrato:

$$r_s = \frac{r_x}{Y_x} + m_x C_X \quad \text{Ec. ( 25 )}$$

Definidas las constantes como:

$$\rho: \text{Relación de masa celular seca por volumen de célula húmeda} = 390 \text{ kg/m}^3$$

$$Y: \text{Relación de concentración intracelular y extracelular} = 0.78$$

$$m_p = 0.1 \text{ kg/kg h}; \quad m_x = 0.2 \text{ kg/kg h}$$

$$K_S = 4.1 \text{ kg/m}^3; \quad m = 1; \quad n = 1.5$$

La nomenclatura y algunas especificaciones del modelo pueden encontrarse en los ANEXOS F y H.

Ahora bien, según este modelo cinético, las expresiones de las velocidades netas de reacción para cada componente interviniente (biomasa, sustrato y producto) se expresan (Andrade, 2007):

Velocidad neta de reacción de la biomasa (X),  $r_{nx}$ :

$$r_{nx} = r_x \quad \text{Ec. ( 26)}$$

Velocidad neta de reacción de sustrato (S),  $r_{sx}$ :

$$r_{ns} = -r_s \quad \text{Ec. ( 27)}$$

Velocidad neta de reacción de producto (P),  $r_{px}$ :

$$r_{np} = r_p \quad \text{Ec. ( 28)}$$

El modelo cinético propuesto por Andrade y compañía presenta expresiones que representan el efecto de la temperatura sobre algunos parámetros importantes del proceso fermentativo, válido para el intervalo de temperatura 30 a 38 °C (Andrade, 2007).

➤ **Parámetros dependientes de la temperatura**

$$\mu_{max} = A_m * \exp(B_m/T) + C_m \exp(D_m/T) \quad \text{Ec. ( 29)}$$

$$X_{max} = A_x * \exp(B_x/T) + C_x \exp(D_x/T) \quad \text{Ec. ( 30)}$$

$$P_{max} = A_p * \exp(B_p/T) + C_p \exp(D_p/T) \quad \text{Ec. ( 31)}$$

$$Y_x = A_{yx} * \exp(B_{yx}/T) + C_{yx} \exp(D_{yx}/T) \quad \text{Ec. ( 32)}$$

$$Y_{px} = A_{yp} * \exp(B_{yp}/T) + C_{yp} \exp(D_{yp}/T) \quad \text{Ec. ( 33)}$$

Para estos parámetros cinéticos en la Tabla 1 se reportan los valores de las constantes de ajuste (Andrade, 2007).

Tabla 1. Parámetros reportados en función de la temperatura

Parámetros	A	B	C	D
$\mu_{max}$	$-2.98 * 10^5$	-304.44	$2.82 * 10^5$	-302.18
$X_{max}$	$7.2 * 10^{-18}$	1284.4	10.24	48.58
$P_{max}$	$6.01 * 10^{-22}$	1588.05	106.33	-12.02
$Y_x$	$-4.1 * 10^{-78}$	5111.34	0.01	33.72
$Y_{px}$	$-2.98 * 10^{-17}$	1194.15	11.73	-5.6

Fuente: Andrade R. 2007. Estimation of temperature dependent parameters of a batch alcoholic fermentation process, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. pág 758.

### ***2.3.2.2 Estabilidad de sistemas continuos para la producción de etanol***

Empíricamente, se ha demostrado que en la operación de biorreactores de tanque agitado continuos, se exhiben fenómenos característicos de sistemas no lineales, como son la multiplicidad de estados estacionarios para un conjunto de parámetros determinados, oscilaciones de algunas variables del proceso y bifurcaciones. En la mayoría de los procesos estos fenómenos no lineales disminuyen la productividad del proceso (Paz, 2010).

Bajo la premisa de predecir el comportamiento de los sistemas microbianos en el tiempo se han propuesto varios tipos de modelos que describen el crecimiento celular. Pueden clasificarse tales modelos en: no estructurados, estructurados, no segregados y segregados. Ahora bien, al tener en cuenta los efectos de inhibición que afectan a los microorganismos por altas concentraciones de sustrato y producto, se han modificado las cinéticas de crecimiento; de tal forma que se han encontrado expresiones de tipo lineal, exponencial, parabólico e hiperbólico (Lenbury, et al., 1999). Sistemas microbianos en los procesos de fermentación para producción de alcohol mediante *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis* son sistemas específicos, a través de los cuales se ha llevado a cabo el análisis del comportamiento dinámico de los sistemas microbianos experimental y teóricamente.

Los parámetros de proceso que han sido mayor fuente de estudio son la velocidad de dilución, la concentración del sustrato en la alimentación, el pH y la temperatura. También, se ha estimado el comportamiento dinámico de sistemas con configuraciones de operación específicas como biorreactores con aireación, con alimentación lateral de biomasa y producto, con reciclaje de células, con consumo de sustratos sustituibles, con extracción con solvente y extracción con membranas del producto inhibitorio y de biorreactores biofilm en los que se consideran efectos difusivos (Paz, 2010).

*Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* son unos de los microorganismos más estudiados para producir etanol a escala industrial. Los cultivos de microorganismos en biorreactores continuos de tanque agitado, al ser convertidos de procesos de pequeña escala a procesos de gran escala, presentan cambios en su estabilidad, que dificultan el

control del proceso y afectan la productividad; estos comportamientos se deben a las características de los fenómenos no lineales presentes en el proceso (Paz, 2010).

La bacteria *Zymomonas mobilis* en cultivos continuos, muestra multiplicidad de estados estacionarios y oscilación de diferentes variables de proceso (concentraciones de sustrato, biomasa, productos, y viabilidad de las células, entre otras) para valores específicos de la concentración de sustrato en la alimentación y de la velocidad de dilución. Hay casos en que estos comportamientos causan que la concentración de biomasa y la viabilidad de las células decrezca más de un 50% o puede que el proceso tenga una productividad demasiado baja. Por ejemplo, en fermentaciones continuas alimentadas con elevadas concentraciones de sustrato (entre 134 y 295  $kg/m^3$ ) se observan grandes variaciones en las concentraciones de biomasa y producto debido al fenómeno oscilatorio. En el momento que este fenómeno es controlado, la productividad promedio del proceso llega a los 15.6  $kg/m^3h$ . Sin embargo, cuando el fenómeno no es regulado, se da una caída en la productividad del proceso a 4.6  $kg/m^3h$  (Paz, 2010).

En el caso específico de los cultivos de *Zymomonas mobilis*, análisis dinámicos han demostrado que el sistema presenta diferentes regiones de estabilidad con multiplicidad de estados estacionarios y/u oscilaciones; por ejemplo, en algunos casos, las oscilaciones presentan al final una bifurcación de período infinito, siendo estos los más sencillos; aunque, aumentando la complejidad, se encontraron casos en los cuales la rama periódica bifurca en caos totalmente desarrollado. Todo esto dentro de los rangos respectivos para velocidad de dilución y concentraciones de sustrato en la alimentación de  $[0 - 2,5]h^{-1}$  y  $[100 - 200]kg/m^3$ . Además, durante la oscilación se presenta una concentración promedio de etanol mayor a la que se obtiene en el estado estacionario alrededor del cual oscila; esto último solo para algunos casos (Garhyan & Elnashaie, 2004)

La multiplicidad de estados estacionarios y el comportamiento oscilatorio son fenómenos que también se presentan en cultivos continuos de *saccharomyces cerevisiae*. Cuando en la alimentación se tienen bajas concentraciones de sustrato, se mantiene un estado estacionario; mientras que en el caso contrario, al tener concentraciones altas de glucosa en

la alimentación, para un amplio rango de velocidades de dilución, aparecen múltiples estados estacionarios (Lei, Rotboll, & Jorgensen, 2001)

*Very High Gravity* (VHG) es una tecnología para la producción de etanol que consiste en utilizar medios que contienen más del 25% (p/v) de azúcar, con el fin de alcanzar concentraciones de etanol mayores al 15% (p/v). Es característico de esta tecnología que se presenten cuasi estados estacionarios, y oscilación de las variables de proceso (Bai, 2007).

Generalmente, los datos obtenidos de las fermentaciones a nivel de laboratorio no arrojan datos de múltiples estados estacionarios; esto se debe a las bajas concentraciones de glucosa en la alimentación, caso contrario a las altas concentraciones de sustrato que se tratan a escala industrial. Por lo tanto, la multiplicidad de estados estacionarios y oscilaciones tienen mayor importancia en procesos industriales a gran escala (Paz, 2010).

### 2.3.3. Modelamiento dinámico de reactores bioquímicos y enzimáticos

Los reactores pueden modelarse con un sistema de ecuaciones diferenciales, bajo la asunción de mezcla perfecta dentro del tanque, solo si ocurren variaciones con el tiempo. Entonces, se puede describir el comportamiento del sistema con un conjunto de ecuaciones diferenciales de primer orden, que se puede representar de la siguiente forma:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, t; p), \quad x \in R^n \quad p \in R^m \quad \text{Ec. ( 34 )}$$

donde:  $x$ : variable;  $p$ : parametros;  $t$ : tiempo

Dependiendo el grado de linealidad de la Ec. ( 34), se observarán diferentes comportamientos del sistema, como la multiplicidad de estados estacionarios, periodicidad, caos y bifurcaciones (Paz, 2010).

De la teoría, se tiene que el balance para un componente A en estado no estacionario en un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) se expresa de la siguiente forma (Fogler, 2008):

$$F_{Af} - F_A + r_A V = \frac{dN_A}{dt} \quad \text{Ec. ( 35)}$$

A partir de esto, se tiene el modelo matemático del CSTR, con algunas asunciones importantes, como:  $F_i = vC_i$  y  $N_i = VC_i$ , entonces,

$$v_f C_{Af} - vC_A + r_A V = \frac{d(C_A * V)}{dt} \quad \text{Ec. ( 36)}$$

$$\frac{1}{V} (v_f C_{Af} - vC_A) + r_A = \frac{1}{V} \frac{d(C_A * V)}{dt} \quad \text{Ec. ( 37)}$$

Con un flujo de alimentación,  $v_f$ , igual al de salida.

$$\frac{v}{V} (C_{Af} - C_A) + r_A = \frac{dC_A}{dt} \quad \text{Ec. ( 38)}$$

Por definición, se tiene que  $D = v/V$  ; por lo tanto, el balance para cualquier especie A en un CSTR en estado no estacionario, queda así:

$$\boxed{D (C_{Af} - C_A) + r_{AN} = \frac{dC_A}{dt}} \quad \text{Ec. ( 39)}$$

### 2.3.3.1. Estados estacionarios

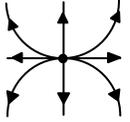
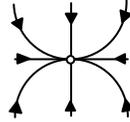
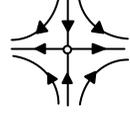
Los estados estacionarios se obtienen al igualar las derivadas del modelo que describe al sistema a cero; generalmente, un sistema presenta varios estados estacionarios porque está conformado por n ecuaciones no lineales para un grupo de parámetros p. El carácter de estado estacionario  $x_s$  se calcula mediante la linealización de las ecuaciones diferenciales en este estado y calculando los valores de  $\lambda$  en la matriz jacobiana resultante de la Ec. ( 34).

$$J_{(x_s)} = \left[ \frac{\partial f(x; p)}{\partial x} \right]_{x=x_s} \quad \text{Ec. (40)}$$

con  $J$ : matriz jacobiana ;  $x_s$ : estado estacionario de la variable  $x$ .

Para sistemas bidimensionales, la estabilidad de estados estacionarios está definida en base a la Tabla 2. Para sistemas de orden superior donde se tienen más de dos valores propios involucrados, la estabilidad está definida por criterios similares (Kuznetsov, 2004).

Tabla 2. Clasificación de estados estacionarios para un sistema bidimensional

Valores propios	Signo de la parte real	Clasificación	Descripción	Retrato de fase
Ambos son reales, $\lambda_1, \lambda_2 \in \mathfrak{R}$	Ambos negativos $\lambda_1 < 0$ y $\lambda_2 < 0$	Nodo estable	Las trayectorias se dirigen hacia el punto de equilibrio.	
	Ambos positivos $\lambda_1 > 0$ y $\lambda_2 > 0$	Nodo inestable	Las trayectorias se dirigen hacia fuera del punto de equilibrio.	
	Signos opuestos $\lambda_1, \lambda_2 \in \mathfrak{R}$ $\lambda_1 < 0$ y $\lambda_2 < 0$	Silla	Siempre es inestable.	
Complejos conjugados con parte real diferente de cero $\lambda_{1,2} = \alpha \mp j\beta$	Ambos negativos $\alpha < 0$	Foco: Las trayectorias cercanas al punto de equilibrio parecen una espiral	Foco estable Las trayectorias van hacia el punto de equilibrio.	
	Ambos positivos $\alpha > 0$	Foco inestable	Foco inestable Las trayectorias van hacia fuera del punto de equilibrio.	

$\alpha$ : Parte real del valor propio;  $\beta$ : Parte imaginaria del valor propio

Fuente: Paz Astudillo, I. C (2010), *Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado Aplicados a Procesos de Fermentación*, Universidad Nacional sede Manizales, pag. 35

Fuera de los casos presentados en la Tabla 2 se encuentra otro caso:  $\alpha = 0$  en los complejos conjugados cuando son estos los valores propios, es decir, la parte real de los complejos conjugados es cero; por lo tanto, queda,  $\lambda_{1,2} = \pm j\beta$ . En estos casos se presenta un estado periódico del sistema, también llamado “ciclo límite”, para el cual, los multiplicadores de Floquet determinan el carácter. Ahora bien, estos ciclos pueden clasificarse en nodos, focos o sillars, según la naturaleza y magnitud de los multiplicadores antes mencionados (Pavlo, 1999).

Para estos ciclos, al incrementarse el tiempo: se presenta un ciclo estable, si todas las trayectorias que comienzan cerca del ciclo límite tienden a él, o se presenta uno inestable cuando todas las trayectorias que comienzan cerca del ciclo divergen fuera de este (Paz, 2010).

#### 2.3.4. Bifurcaciones

Las bifurcaciones son los cambios de cualidades presentadas por un sistema y se caracteriza matemáticamente por la variación en los valores propios en consecuencia de la variación de un parámetro del sistema, un ejemplo es el cambio de un estado estacionario desde un punto de equilibrio a una oscilación. Un punto de bifurcación es cuando la primera derivada de una ecuación diferencial es igual a cero.

$$f(x, p) = 0 = \frac{\partial f}{\partial x} = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} = \dots = \frac{\partial^{k-1} f}{\partial x^{k-1}} = 0 \quad \text{Ec. ( 41 )}$$

$$\frac{\partial^k f}{\partial x^k} = 0 \quad \text{Ec. ( 42 )}$$

En la Tabla 3 se encuentran algunas bifurcaciones en estado estacionario elemental de cuando varía un parámetro en el sistema (Paz, 2010).

Tabla 3. Bifurcaciones de estado estacionario para sistemas de codimensión-1.

Comportamiento valores propios	Bifurcación	Descripción	Diagrama de bifurcación
Un valor propio real cruza el eje imaginario.	Silla – nodo ( <i>limit point</i> )	Dos estados estacionarios difiriendo en el signo de uno de sus valores propios colisiona y desaparece.	
	Transcrítica	Dos estados estacionarios difiriendo en el signo de uno de sus valores propios colisionan y cambian su carácter.	
Un par de valores propios conjugados cruza el eje imaginario. (En sistemas de orden superior, el carácter del resto de los valores propios de los estados estacionarios no cambia).	Hopf supercrítica	En un sistema de dos dimensiones, un foco estable se convierte en un foco inestable y nace un ciclo límite estable a su alrededor.	
	Hopf subcrítica	En un sistema de dos dimensiones, un foco inestable se convierte en un foco estable y nace un ciclo límite inestable a su alrededor.	
Un punto fijo cambia su estabilidad y nacen dos nuevos puntos fijos.	Pitchfork supercrítica	Una única solución real (y estable) cambia a tres soluciones reales, dos de las soluciones son estables y una es inestable.	
	Pitchfork supercrítica	Una única solución real inestable cambia a dos soluciones inestables y una estable.	

Fuente: Paz Astudillo, I. C (2010), *Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado Aplicados a Procesos de Fermentación*, Universidad Nacional sede Manizales, pag. 38.

## 2.3.5. Fenómenos de estabilidad en biorreactores

### 2.3.5.1. Estabilidad en sistemas continuos

Los parámetros que determinan el estado de un reactor bioquímico son los físicos, químicos, bioquímicos y biológico, los cuales están descritos en la Tabla 4 los cuales afectan directamente la actividad celular. Los sistemas bioquímicos pueden tener variaciones en su estabilidad dependiendo al medio que se exponen, debido a que son afectados directamente por este. Por lo tanto, los sistemas que presentan procesos bioquímicos presentan comportamientos atípicos en las variables de salida (Paz, 2010).

Tabla 4. Parámetros de operación que afectan los sistemas bioquímicos.

	<b>Parámetros</b>	<b>Función</b>
<b>Físicos</b>	Volumen del caldo, potencia de agitación, velocidad de transferencia de calor, velocidad de alimentación del líquido, velocidad de dilución, etc.	Describen el funcionamiento mecánico del equipo.
<b>Químicos</b>	Concentraciones de sustrato, productos, dióxido de carbono, oxígeno, y nutrientes, conductividad, pH, etc.	Definen el ambiente químico dentro del reactor.
<b>Bioquímicos</b>	Contenido de aminoácidos, ATP/ADP, carbohidratos, enzimas, NAD/NADH, ácidos nucleicos, proteínas, vitaminas, etc.	Indican el estado metabólico de la célula durante su crecimiento.
<b>Biológicos</b>	Distribución de edad y tamaño, grado de agregación, contaminación, y degeneración, tiempo de duplicación, inestabilidad genética, morfología, mutaciones, cantidad de células viables, etc.	Caracterizan el reactor en términos del comportamiento de la población celular.

*Fuente: Paz Astudillo, I. C (2010), Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado Aplicados a Procesos de Fermentación, Universidad Nacional sede Manizales, pag. 11.*

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

A continuación se describe la metodología que permitió el cumplimiento de los objetivos del presente trabajo. Esta investigación es cuantitativa de tipo descriptiva debido a que mediante el análisis de las etapas diseñadas permitió determinar algunas características como la estabilidad, regiones de alto rendimiento y productividad. El método de estudio utilizado es el de modelación pues se hace uso de modelos científicos pertinentes para reproducir el fenómeno.

#### **3.2. FUENTES DE INFORMACIÓN**

##### **3.2.1. Fuentes de información primaria.**

Los datos obtenidos mediante la simulación dinámica de las etapas de hidrólisis y fermentación componen la información primaria de esta investigación. En las corridas de simulación se obtuvieron gráficas y tablas de datos con los valores de las concentraciones de salida de los productos con respecto al tiempo, para cada una de las etapas, y, al mismo tiempo, para diferentes rangos de operación de las mismas, según las condiciones de alimentación, velocidad de dilución y temperatura.

##### **3.2.2 Fuentes de información secundaria.**

Las fases de esta investigación estuvieron asistidas por la búsqueda bibliográfica permanente en revistas indexadas, bases de datos, libros y fuentes secundarias como organizaciones, dependencias del gobierno, instituciones, entre otras.

### **3.3. VARIABLES**

En este trabajo se analizó el efecto de parámetros de operación sobre el comportamiento dinámico del proceso en las etapas de hidrólisis y fermentación para la producción de alcohol carburante.

#### **3.3.1. Operacionalización de las variables**

Para cada una de las etapas a diseñar se describen las variables dependientes, independientes e intervinientes en la fase de simulación, como lo muestran las Tablas 5 y 6.

Tabla 5. Variables de la simulación del proceso de hidrólisis.

<b>Tipo de Variables</b>	<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Unidades</b>
<b>Dependientes</b>	Concentración de salida de glucosa	Cantidad de glucosa por litro de solución	mol/L
	Concentración de salida de Maltotriosa	Cantidad de Maltotriosa por litro de solución	mol/L
	Concentración de salida de Maltosa	Cantidad de Maltosa por litro de solución	mol/L
	Concentración de salida de Isomaltosa	Cantidad de Isomaltosa por litro de solución	mol/L
	Productividad	Velocidad con que se genera el producto	kg/m <sup>3</sup> h
	Rendimiento	Relación de cantidad de glucosa producida por cantidad de almidón consumido	kg/kg
<b>Independientes</b>	Concentración de oligosacáridos susceptibles en la alimentación	Cantidad de oligosacáridos susceptibles por litro de solución	mol/L
	Concentración de oligosacáridos resistentes en la alimentación	Cantidad de oligosacáridos resistentes por litro de solución	mol/L
	Velocidad de dilución	Relación entre el caudal de alimentación y el volumen de reacción	1/h
<b>Constantes</b>	Temperatura	Contenido de la energía interna de las moléculas	°C
	pH	Grado de acidez o alcalinidad de solución	Adimensional
	Masa de enzima inmovilizada	Cantidad de enzima inmovilizada por volumen de líquido intersticial	$g_{IE}/L$

Fuente: Elaborada en esta investigación.

Tabla 6. Variables de la simulación del proceso de fermentación

<b>Tipo de Variables</b>	<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Unidades</b>
<b>Dependientes</b>	Concentración de salida de Etanol	Cantidad de Etanol por litro de solución	mol/L
	Concentración de salida de Biomasa	Cantidad de Biomasa por litro de solución	g/L
	Concentración de salida de Glucosa	Cantidad de Glucosa por litro de solución	mol/L
	Productividad	Velocidad con que se genera el producto	kg/m <sup>3</sup> h
	Rendimiento	Relación de cantidad de glucosa producida por cantidad de almidón consumido	kg/kg
<b>Independientes</b>	Concentración de glucosa en la alimentación	Cantidad de glucosa por litro de solución en la línea de alimentación	mol/L
	Concentración de glucosa de carga	Cantidad de glucosa por litro de solución en la carga inicial al reactor	mol/L
	Temperatura	Contenido de la energía interna de las moléculas	°C
	Velocidad de dilución	Relación entre el caudal de alimentación y el volumen de reacción	1/h
	Concentración de biomasa en la carga	Cantidad de biomasa por litro de solución en la carga inicial	g/L
<b>Constantes</b>	pH	Grado de acidez o alcalinidad de solución	Adimensional

Fuente: Elaborada en esta investigación.

### **3.4 PROCEDIMIENTO**

El procedimiento llevado a cabo en este trabajo se basó en la búsqueda de información, interpretación, modelamiento y simulación de las etapas de hidrólisis enzimática y fermentación en el proceso de producción de bioetanol a partir de almidón. El procedimiento general de esta metodología es descrito a continuación para cada una de las etapas.

#### **3.4.1. Modelamiento de la etapa de hidrólisis enzimática para producir bioetanol.**

- Se realizó la revisión bibliográfica de modelos cinéticos que describieran la velocidad a la que evoluciona el sistema reaccionante de la hidrólisis del almidón de yuca. Luego, se seleccionó un modelo cinético que permitiera simular el comportamiento de la etapa teniendo en cuenta fenómenos que son importantes en el escalamiento del proceso. El criterio de selección se basó en que tal modelo cinético precisara características propias de la hidrólisis enzimática como la existencia de efectos inhibitorios de sustrato y producto, y un mecanismo de reacción que representara la complejidad de esta etapa, aspectos que se consideran pertinentes para el estudio dinámico del sistema.
- Seleccionado el modelo cinético apropiado, se plantearon los balances de masa de cada componente para un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) en estado no estacionario, utilizando las expresiones cinéticas reportadas en tal modelo. Las especies intervinientes en esta etapa fueron: el almidón como alimento y los azúcares como productos. A partir de estos balances, se obtuvo un sistema de ecuaciones diferenciales (modelo matemático de la etapa) que permitió establecer cuáles eran las variables independientes (variables de operación y arranque), las variables dependientes y las constantes del modelo matemático (Fogler, 2008).

### 3.4.2. Análisis de la respuesta dinámica del arranque de los procesos y el alcance de los estados estables para diferentes parámetros de operación.

- Se construyó el perfil de velocidad neta inicial de la glucosa en función de la concentración de almidón licuado alimentado, mediante códigos programados en Matlab, basado en la cinética del modelo seleccionado, con el fin de establecer un rango preliminar de concentraciones de sustrato alimentado que garantizara altas velocidades iniciales de producción de glucosa en las corridas de simulación dinámica (Liu, 2013).
- Posteriormente, se elaboró un algoritmo mediante códigos programados en Matlab para la resolución de las ecuaciones diferenciales del modelo matemático de la etapa de hidrólisis; este modelo permitió obtener, en cada corrida de simulación dinámica, los valores de las concentraciones de cada una de las especies en el arranque y la estabilización del sistema, establecidas las condiciones de operación y arranque. La simulación permitió la construcción de dos tipos de diagramas para el análisis dinámico del sistema:

*Diagramas dinámicos:* Estos diagramas se trazaron a partir de las concentraciones de cada una de las especies en función del tiempo, para verificar la reversibilidad e irreversibilidad mostradas en el mecanismo de reacción en el sistema, y analizar el efecto de la variación de diferentes condiciones utilizadas en el arranque sobre la estabilización del sistema (Loaiza, 2006).

*Diagramas de fase:* Estos diagramas se construyeron relacionando las concentraciones de salida de dos especies, para un mismo tiempo, durante el arranque hasta la estabilización del sistema, en una sola gráfica. En otras palabras, muestran la evolución simultánea de la concentración de salida de dos especies químicas. Debe tenerse en cuenta que estos diagramas se construyeron para condiciones de operación constantes, y variaciones en las condiciones de arranque. Este tipo de diagramas permitieron establecer las características de las trayectorias que se presentan desde el arranque hasta el alcance de la estabilidad en el sistema,

de esta forma, facilitaron la corroboración de estados estables y las condiciones iniciales para alcanzarlos (Loaiza, 2006).

### **3.4.3. Selección de las condiciones de operación más adecuadas para alcanzar estados estables con alto rendimiento de producto de la etapa de hidrólisis.**

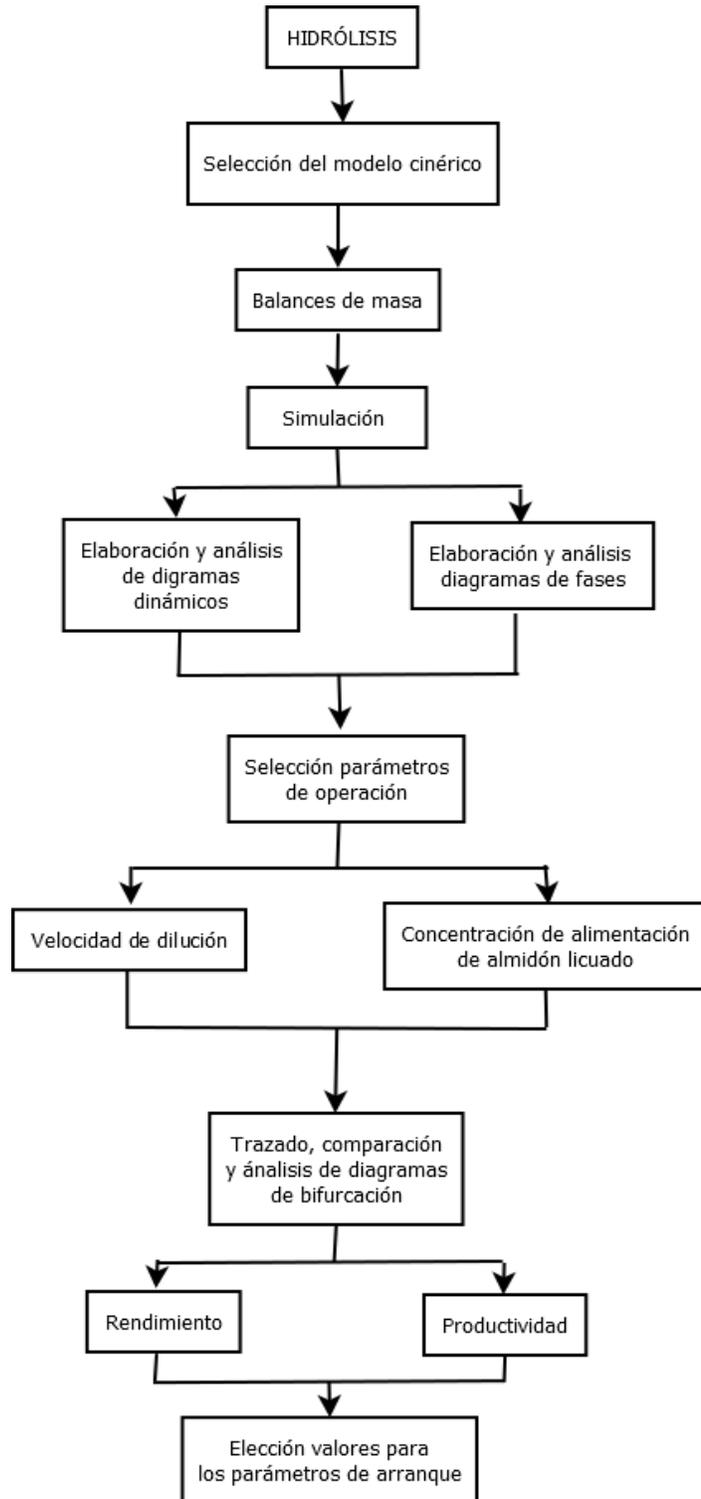
- Se analizó el efecto de cada uno de los parámetros de operación sobre el sistema para determinar la metodología a llevar a cabo en el diseño operacional de la etapa. A partir de esta información se desarrollaron diagramas de bifurcación que muestran el efecto de las variables independientes sobre el rendimiento y la productividad de las etapas.

*Diagramas de bifurcación:* Es la representación gráfica de los estados estables e inestables del sistema para un parámetro de operación, manteniendo los otros constantes; es decir, son líneas compuestas por todos los puntos representativos del equilibrio (estados estables e inestables) para cada valor del parámetro de bifurcación. Este tipo de diagramas pueden ser trazados como diagramas de 2 dimensiones (estado estacionario de una variable dependiente vs. un parámetro de operación) y de 3 dimensiones (estado estacionario de una variable dependiente vs. dos parámetros de bifurcación (Gustafson, 2006).

- Con base en esto, se seleccionaron las condiciones más adecuadas para alcanzar estados estables de operación con alto rendimiento de producto en la etapa de hidrólisis.

A continuación se muestra una representación gráfica (Figura 1) de la metodología utilizada para el cumplimiento de cada uno de los objetivos en el diseño de la etapa de hidrólisis:

Figura 1. Representación gráfica de la metodología utilizada para la hidrólisis.



Fuente: Elaborada en esta investigación.

#### **3.4.4. Modelamiento de la etapa de fermentación para la producción de bioetanol.**

- Se realizó la revisión bibliográfica de modelos cinéticos que describieran la velocidad a la que evoluciona el sistema reaccionante de la fermentación de la glucosa. Luego, se seleccionó un modelo cinético que permitiera simular el comportamiento de la etapa teniendo en cuenta fenómenos que son importantes en el escalamiento del proceso (inhibición por sustrato). El criterio de selección se basó en que tal modelo cinético fuera complejo, permitiera el diseño operacional variando diferentes parámetros, además mostrara los efectos de la temperatura sobre en la cinética (Lenbury, Neamvong, Amornsamankul, & Puttapiban, 1999).
- Mediante la simulación se verificaron los perfiles de ajuste de los parámetros cinéticos dependientes de la temperatura con base en el artículo seleccionado. Luego, se realizó un reajuste de aquellos parámetros que presentaron desviación con los puntos experimentales reportados por el autor (Andrade, 2007).
- Seleccionado el modelo cinético apropiado, se plantearon los balances de masa de cada componente para un CSTR en estado no estacionario, utilizando las expresiones cinéticas reportadas en tal modelo. Las especies intervinientes en esta etapa fueron: la glucosa como alimento y el bioetanol como productos. A partir de estos balances, se obtuvo un sistema de ecuaciones diferenciales (modelo matemático de la etapa) que permitió establecer cuáles eran las variables independientes (variables de operación y arranque), las variables dependientes y las constantes del modelo matemático (Fogler, 2008).

#### **3.4.5. Análisis de la respuesta dinámica del arranque de los procesos y el alcance de los estados estables para diferentes parámetros de operación.**

- Se elaboró un algoritmo mediante códigos programados en Matlab para la resolución de las ecuaciones diferenciales del modelo matemático de la etapa de fermentación; este modelo permitió obtener, en cada corrida de simulación dinámica, los valores de las concentraciones de cada una de las especies en el arranque y la estabilización del sistema, establecidas las condiciones de operación y

arranque (Trejos, Fontalvo, & Gómez, 2009). La simulación permitió la construcción de dos tipos de diagramas para el análisis dinámico del sistema:

**Diagramas dinámicos:** Los diagramas dinámicos se trazaron a partir de las concentraciones de cada una de las especies en función del tiempo para analizar el efecto de la variación de diferentes condiciones utilizadas en el arranque en relación a la alimentación sobre la estabilización del sistema (Loaiza, 2006).

**Diagramas de fase:** Se utilizó la misma metodología que para la hidrólisis (Loaiza, 2006).

#### **3.4.6. Selección de las condiciones de operación más adecuadas para alcanzar estados estables con alto rendimiento de producto de la etapa de fermentación.**

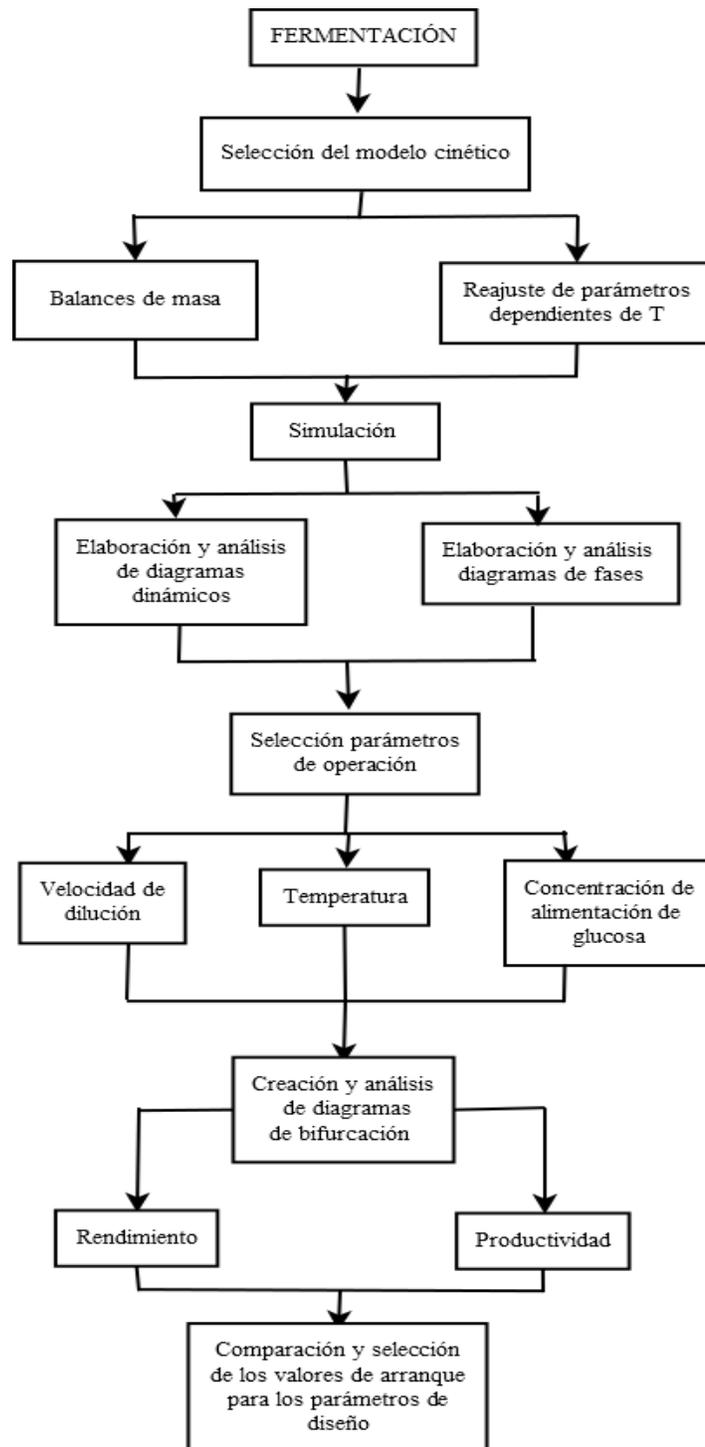
- Se analizó el efecto de cada uno de los parámetros de operación sobre el sistema para determinar la metodología a llevar a cabo en el diseño operacional de la etapa. A partir de esta información se desarrollaron diagramas de bifurcación que muestran el efecto de las variables independientes sobre el rendimiento y la productividad de las etapas (Paz, 2010).

**Diagramas de bifurcación:** Se utilizó la misma metodología que para hidrólisis (Gustafson, 2006).

- Con base en esto, se seleccionaron las condiciones más adecuadas para alcanzar estados estables de operación con alto rendimiento de producto en la etapa de hidrólisis.

A continuación, se muestra una representación gráfica (Figura 2) de la metodología utilizada, para el cumplimiento de cada uno de los objetivos en el diseño de la etapa de fermentación:

Figura 2. Representación gráfica de la metodología utilizada para la fermentación.



Fuente: Elaborada en esta investigación.

## **4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

### **4.1. MODELAMIENTO DE LA ETAPA DE HIDRÓLISIS**

La hidrólisis es una unidad significativa en el proceso de producción de bioetanol a partir del almidón de yuca amarga. Se consideró importante el apropiado diseño de esta etapa basado en la cinética de reacción de las especies involucradas, teniendo en cuenta la adecuada selección de los parámetros de operación con alto rendimiento y productividad, debido a que, como ocurre en algunos bioprocesos de estructuras no lineales, es posible que la hidrólisis presente multiplicidad de estados estables y rangos de operación con mayor rendimiento (Banga, et al., 2005).

#### **4.1.1. Selección del modelo cinético**

Para la hidrólisis del almidón licuado de yuca, con glucosa como producto de interés, se determinó que el modelo propuesto por Zanin y compañía es adecuado para realizar el análisis dinámico y el diseño de esta etapa en un CSTR, debido a que las cinéticas planteadas en el modelo presentan una estructura matemática no lineal con un alto grado de complejidad que podía generar fenómenos de inestabilidad en algunas regiones de operación de los parámetros (Banga, et al., 2005). Además, se observó que esta estructura considera en el proceso de sacarificación algunos efectos como la ocurrencia de reacciones múltiples (en serie y paralelo), la reversibilidad de algunas de estas, la distribución del almidón licuado en oligosacáridos susceptibles y resistentes a la hidrólisis, la aparición de productos intermedios según el mecanismo de reacción planteado por el autor, y los fenómenos de inhibición por producto y sustrato; efectos que lo hicieron un modelo cinético realista para su utilización en esta investigación (Zanin & Moraes, 1997).

Las anteriores consideraciones hacen que el modelo cinético sea más acertado a los ajustes tradicionales utilizados para el diseño de dicha etapa, por lo tanto, permite obtener resultados más precisos durante su simulación. En consecuencia, las especies intervinientes

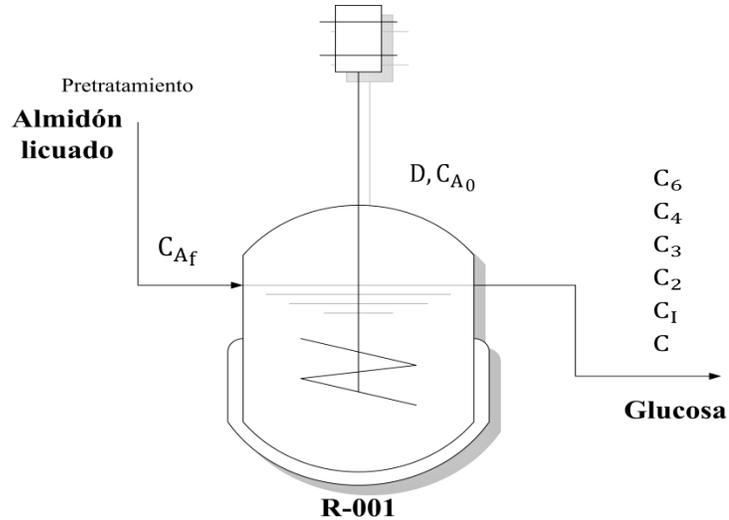
en la cinética de la etapa fueron: los oligosacáridos resistentes, oligosacáridos susceptibles, maltotriosa, maltosa, isomaltosa y glucosa.

Este modelo cinético, sus asunciones y constantes son detalladas en la sección 2.3.1.2 y en los ANEXOS A y B; la cinética que describe está dada por las Ec. (8), (9), (10), (12) y (14), las cuales muestran las velocidades específicas de reacción de las especies.

#### 4.1.2. Modelamiento del reactor continuo para la hidrólisis

En la Figura 3 se presenta el sistema de estudio en la etapa de hidrólisis como un reactor de tanque agitado con alimentación constante de almidón licuado, carga inicial de sustrato y una corriente de salida de producto.

Figura 3. Representación gráfica de la etapa de hidrólisis.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Teniendo en cuenta la Ec. (39) para los balances de masa de cada especie, el modelo matemático planteado para el CSTR de la hidrólisis (Ver ANEXO C, ANEXO D y ANEXO E) se expone a continuación:

$$D(C_{4f} - C_4) - \frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2 K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6 K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} = \frac{dC_4}{dt} \quad \text{Ec. (43)}$$

$$D(C_{6f} - C_6) - \frac{V_{m6}EC_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} = \frac{dC_6}{dt} \quad \text{Ec. ( 44)}$$

$$D(C_{3f} - C_3) + \frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} + \frac{V_{m6}EC_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} - \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2C}{K_{eq3}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m3}}{K_{m6}} \right]} = \frac{dC_3}{dt} \quad \text{Ec. ( 45)}$$

$$D(C_{2f} - C_2) + \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2C}{\frac{C_{2eq}C_{eq}}{C_{3eq}}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m3}}{K_{m6}} \right]} - \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{C_{eq}^2 / C_{2eq}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m2}}{K_{m6}} \right]} = \frac{dC_2}{dt} \quad \text{Ec. ( 46)}$$

$$D(C_{I_f} - C_I) + V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{\frac{C_{Ieq}}{C_{eq}^2}} \right) = \frac{dC_I}{dt} \quad \text{Ec. ( 47)}$$

$$\begin{aligned}
& D(C_f - C) + (n - 3) \left( \frac{\frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} + \frac{V_{m6}EG_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_{s1}} \right]} \right) + \\
& \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2C}{C_{2eq}C_{eq}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m3}}{K_{m6}} \right]} + \\
& 2 \left( \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{C_{eq}^2} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{CK_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m2}}{K_{m6}} \right]} - V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{C_{eq}^2} \right) \right) = \frac{dC}{dt}
\end{aligned}
\tag{48}$$

Se determinaron para este modelo matemático los parámetros de operación: velocidad de dilución ( $D$ ) y concentración de almidón licuado en la alimentación ( $C_{af}$ ) (Banga, et al., 2005).

## 4.2. SIMULACIÓN DINÁMICA DE LA ETAPA DE HIDRÓLISIS

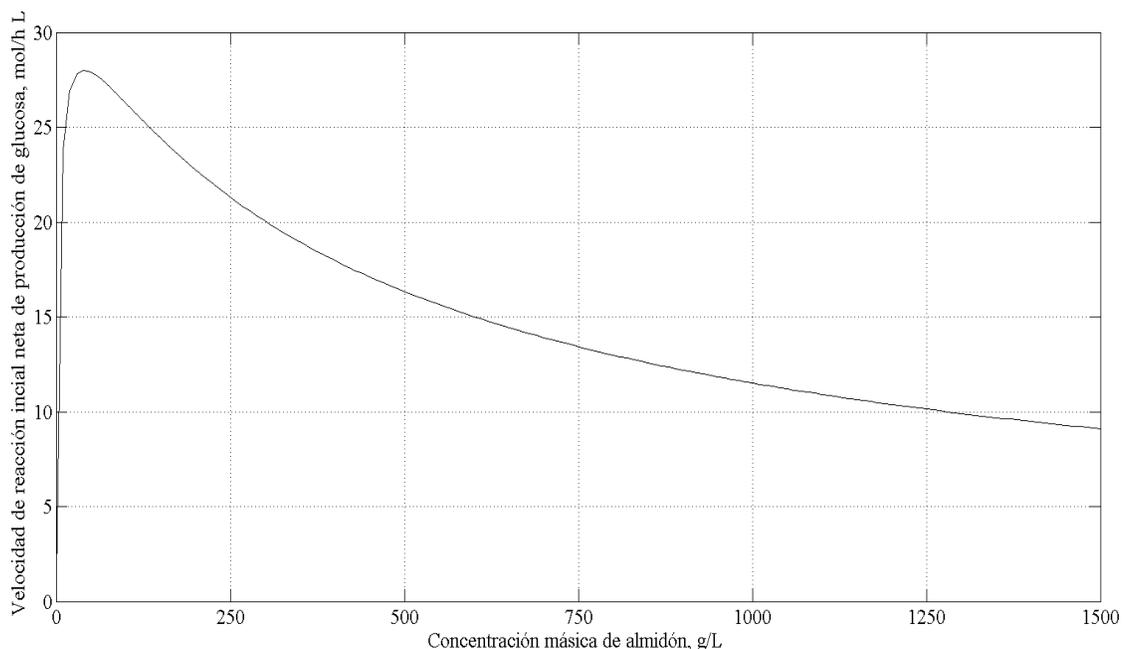
Después de realizar las corridas de simulación para diferentes condiciones de operación y arranque, se identificaron comportamientos similares de la respuesta dinámica del sistema en los rangos de operación evaluados. La similitud de estos comportamientos es descrita con algunas de las condiciones a través de su representación gráfica. Además, se presenta un análisis del efecto de las condiciones de arranque sobre los tiempos de estabilización.

### 4.2.1. Selección preliminar del rango de alimentación de sustrato

El perfil para la selección preliminar del rango de alimentación de sustrato se llevó a cabo mediante simulación en Matlab, y se trazó la gráfica de la velocidad de reacción inicial neta de la producción de glucosa ( $r_{gn}$ ) en función de la concentración de alimentación de sustrato (Figura 4), esta última evaluándose en un rango de 0 a 1500 g/L. Es importante

esta selección preliminar para tener una idea de los valores de concentración de alimentación de almidón licuado, que permiten obtener altas velocidades de reacción.

Figura 4. Análisis de la velocidad inicial neta de reacción para la producción de glucosa en función de la concentración de almidón licuado alimentado.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

En la Figura 4 se observó la inhibición por sustrato después de concentraciones mayores a 40.5 g/L, siendo 28 mol/hL la velocidad inicial neta máxima para la producción de glucosa; por lo tanto, se tiene que la tasa de sacarificación es menor para las concentraciones usadas a nivel industrial (300 g/L, en PFR) como es reportado también por otros autores (Zanin & Moraes, 1997). Por lo anterior, no se opera con la velocidad inicial neta de reacción máxima para la producción de glucosa y se seleccionó un rango preliminar que comprende concentraciones de sustrato alimentado entre 80 y 1000 g/L, debido a que las concentraciones con velocidades altas de producción de glucosa son muy pequeñas y no son usuales a nivel industrial, siendo las cantidades de producto obtenido muy bajas.

#### **4.2.2. Construcción y análisis de diagramas dinámicos de la etapa de hidrólisis (arranque y estabilización)**

El trazado de los diagramas dinámicos se realizó con el fin de analizar el comportamiento de las especies y su concentración en función del tiempo en el arranque del reactor, para diferentes condiciones (Concentración de sustrato alimentado,  $C_{af}$ ; Velocidad de dilución,  $D$ ). En la presente sección se muestra un ejemplo representativo del comportamiento dinámico de la etapa de hidrólisis donde se utilizó una velocidad de dilución de  $1.9 \text{ h}^{-1}$  y una concentración de almidón licuado alimentado de  $600 \text{ g/L}$ ; este ejemplo permite comparar la respuesta dinámica que presenta el sistema para valores de concentración de arranque iguales a los de alimentación, con la respuesta del sistema para concentraciones iniciales distintas a las de la alimentación.

La Figura 5 representa la respuesta dinámica del sistema descrito en el ejemplo representativo antes mencionado, con tres perfiles para cada especie, que corresponden a concentraciones de arranque: igual (línea color negro), menor (línea color rojo) y mayor (línea color azul) a la de la alimentación. En la figura se puede observar un comportamiento similar de la respuesta dinámica de cada una de las especies para diferentes condiciones de operación dentro del rango determinado.

Como característica común principal de las corridas dinámicas se observó que, sin importar la carga inicial de sustrato que se tuviera en el reactor, al operar con alimentación constante de almidón licuado cada especie presentaba perfiles dinámicos que tendían a un respectivo mismo estado estable. Esto es lo que se muestra en cada una de las gráficas de la Figura 5, donde, por ejemplo, la gráfica f muestra cómo la concentración de glucosa se estabiliza en el valor de  $2.9 \text{ mol/L}$  para sus tres perfiles dinámicos, es decir, las diferentes condiciones de carga inicial no modificaron el estado estable alcanzado por el sistema. Este comportamiento es característico de regiones de operación, en sistemas dinámicos, donde no se presenta multiplicidad de estados estables (Trejos, Fontalvo, & Gómez, 2009).

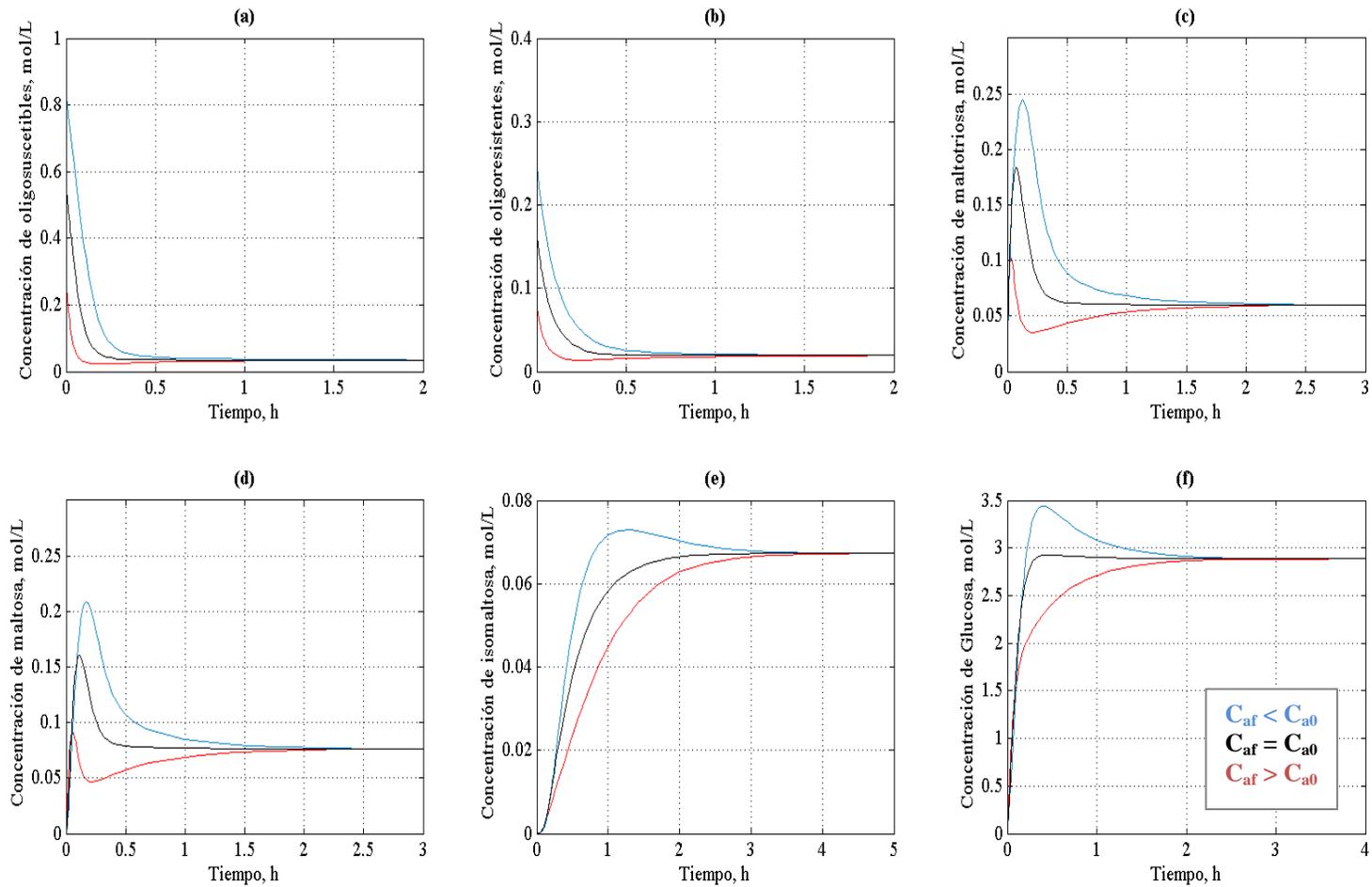
Otra característica común observada en las corridas dinámicas fue que al evaluar el sistema con concentraciones de arranque iguales a las de alimentación, todos los componentes alcanzaron el estado estable en menor tiempo que al utilizar cargas de arranque distintas a la alimentación; este comportamiento puede observarse en las gráficas de la Figura 5.

En esta figura las gráficas a y b mostraron cómo la concentración de oligosusceptibles (trazas de amilasa) y oligoresistentes (trazas de amilopectina) presentaron, en los primeros instantes del arranque, una tendencia negativa bastante pronunciada para los perfiles que las componen (diferentes concentraciones de carga inicial en el reactor); este comportamiento debe atribuirse al término de generación de los respectivos balances de masa para tales especies ya que es el término que considera el consumo del sustrato (oligosusceptibles y oligoresistentes) en el reactor y, por lo tanto, modifica estas concentraciones a lo largo del tiempo.

Teniendo en cuenta que, con concentraciones de carga inicial iguales a las de alimentación, la concentración de sustrato también presenta una tendencia negativa, se concluyó que la tendencia negativa presente en los tres perfiles de estas dos especies implica una velocidad de reacción de consumo. Este comportamiento es coherente con el esperado, puesto que en el mecanismo de reacción reportado en el modelo cinético seleccionado, el autor determina que para los oligosacáridos susceptibles y los resistentes, existen dos reacciones irreversibles en paralelo que consumen el sustrato para producir glucosa y maltotriosa (Zanin & Moraes, 1997).

En las gráficas a y b de la Figura 5, también pudo observarse que las velocidades de consumo del sustrato son muy rápidas en el arranque del sistema, ya que en los primeros instantes se alcanzaron concentraciones muy bajas de oligosacáridos susceptibles y resistentes. La alta rapidez con que se consume el sustrato en los primeros instantes, ocasionó que los oligosacáridos susceptibles y resistentes, llegaran a una concentración de equilibrio químico dependiente de la cantidad de sustrato cargado inicialmente en el reactor; para luego alcanzar las concentración del equilibrio dinámico del sistema, que

Figura 5. Diagramas dinámicos con concentración de alimentación de almidón licuado 600 g/L y velocidad de dilución de 1.9 h<sup>-1</sup>.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

dependerá de la concentración de alimentación. Lo que permitió verificar el fenómeno de inhibición por sustrato reportado en el modelo cinético de Zanin y compañía (Zanin & Moraes, 1997).

Para la maltotriosa y la maltosa en la cinética de hidrólisis del almidón licuado, los autores del modelo cinético determinaron que estas especies son productos intermedios; la maltotriosa se obtiene a partir del almidón y se consume para producir maltosa, esta última se consume para producir glucosa (Zanin & Moraes, 1997). Según lo reportado en la literatura, en este tipo de reacciones consecutivas las especies intermedias se caracterizan por mostrar una concentración máxima en su perfil dinámico, bien sea, para reactores batch o CSTR (Walas, 1999). Este es el comportamiento que se observó en los perfiles de maltotriosa y maltosa, graficas c y d, respectivamente, el cuales se mostró en la Figura 5.

En los perfiles de las gráficas c y d, mostrados en la Figura 5, también se observó que los perfiles de las concentraciones iniciales distintas a las de alimentación (línea azul y roja) tuvieron tiempos de estabilización mayores en comparación con el perfil de concentración inicial igual al de alimentación (línea negra). Se concluyó que los tiempos de estabilización del sustrato y las concentraciones de cada uno de los perfiles en el arranque de esa misma especie (explicados anteriormente), son los responsable del retardo en el alcance de los estados estables de la maltotriosa y la maltosa.

En la gráfica f de la Figura 5 se mostró como varió la concentración de glucosa con respecto al tiempo en la fase de arranque partiendo de las tres condiciones iniciales de carga. La condición de mayor carga inicial (línea azul) mostró un máximo; este alto valor de concentración de glucosa se atribuyó a que la gran cantidad de sustrato cargado inicialmente en el reactor se consumió y, de esta forma, se afectó a todas las reacciones del mecanismo cinético que, tienen como producto la glucosa (Zanin & Moraes, 1997). La caída que se presenta entre el máximo y la estabilización se debe a una reacción reversible alterna (reacción de condensación) que se da entre una pequeña parte de la glucosa y la isomaltosa; siendo esta reacción de condensación reportada por el autor del modelo cinético seleccionado.

La respuesta dinámica obtenida para la glucosa es muy similar a la reportada por Morales, quien realizó la simulación para la etapa de hidrólisis en modo continuo basado en el mecanismo de reacción propuesto por Zanin y Moraes (Morales, Álvarez, & Sánchez, 2008).

En la siguiente Tabla 7 se muestran los tiempos de estabilización para la glucosa según las diferentes condiciones de carga inicial de sustrato:

Tabla 7. Tiempo de estabilización para la glucosa.

<b>Glucosa</b>	<b>t (h)</b>
Igual alimentación y arranque	1.82
Mayor arranque en relación a la alimentación	3.07
Menor arranque en relación a la alimentación	3.82

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se concluyó que siendo la glucosa el compuesto de interés en esta etapa es preferible utilizar la condición de igual alimentación y arranque, debido a que con ésta se obtuvo un menor tiempo de estabilización para el alcance del estado estable.

En los perfiles de isomaltosa que se mostraron en la gráfica e de la Figura 5, se observó que los tiempos de estabilización de esta especie (Tabla 8) eran los más altos con respecto al de las otras especies, lo cual fue coherente con el mecanismo de reacción propuesto por Zanin quien reportó la formación de isomaltosa a partir de la glucosa en la última (reacción de condensación) de una cadena de reacciones múltiples consecutivas (Zanin & Moraes, 1997).

Tabla 8. Tiempo de estabilización para la isomaltosa.

<b>Isomaltosa</b>	<b>t (h)</b>
Igual alimentación y arranque	2.4
Mayor arranque en relación a la alimentación	3.6
Menor arranque en relación a la alimentación	4.5

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Aunque los tiempos de estabilización de la isomaltosa son altos las concentraciones de esta especie son muy bajas (menores a 0.07 mol/L), por lo tanto, la relevancia del tiempo en el que se alcanzó el estado estable del sistema dependió del equilibrio dinámico de la glucosa.

Una de las observaciones más importantes de la dinámica de las simulaciones fue el alto grado de las velocidades de reacción del sustrato, tanto en los sistemas con concentración de arranque igual a la de alimentación como en las de distinta concentración, puesto que el sustrato fue consumido en un corto tiempo en el arranque de operación de la etapa, incluso a concentraciones altas de sustrato alimentado, como se aprecia en la Figura 5, donde la concentración de sustrato de arranque (carga inicial en el reactor) es baja.

Es importante resaltar que el análisis de la respuesta dinámica del sistema en el rango de operación determinado, permitió verificar que la concentración de cada una de las especies describía un comportamiento coherente con el mecanismo de reacción propuesto por Zanin y Moraes para la sacarificación del almidón licuado.

Por otra parte, al comparar la dinámica representativa que mostraron los sistemas con concentración de arranque distinta a la de la alimentación (Sistema D), tanto mayor como menor, con los sistemas de concentración de arranque igual a la de la alimentación (Sistema I), se evidenció que los tiempos de estabilización de los sistemas D son mayores que los de sistemas I.

Se concluyó que la dinámica del arranque y estabilización del sistema se verá afectado, no sólo por las concentraciones de las especies alimentadas, sino también por las concentraciones de carga que se establezcan en esta fase de arranque. Para el arranque y la estabilización del sistema, se debe operar con la concentración de alimentación igual a la concentración de la carga inicial, permitiendo alcanzar concentraciones de glucosa altas (próximas al estado estable) en menor tiempo.

### 4.2.3. Construcción y análisis de diagramas de fase de la etapa de hidrólisis (arranque y estabilización)

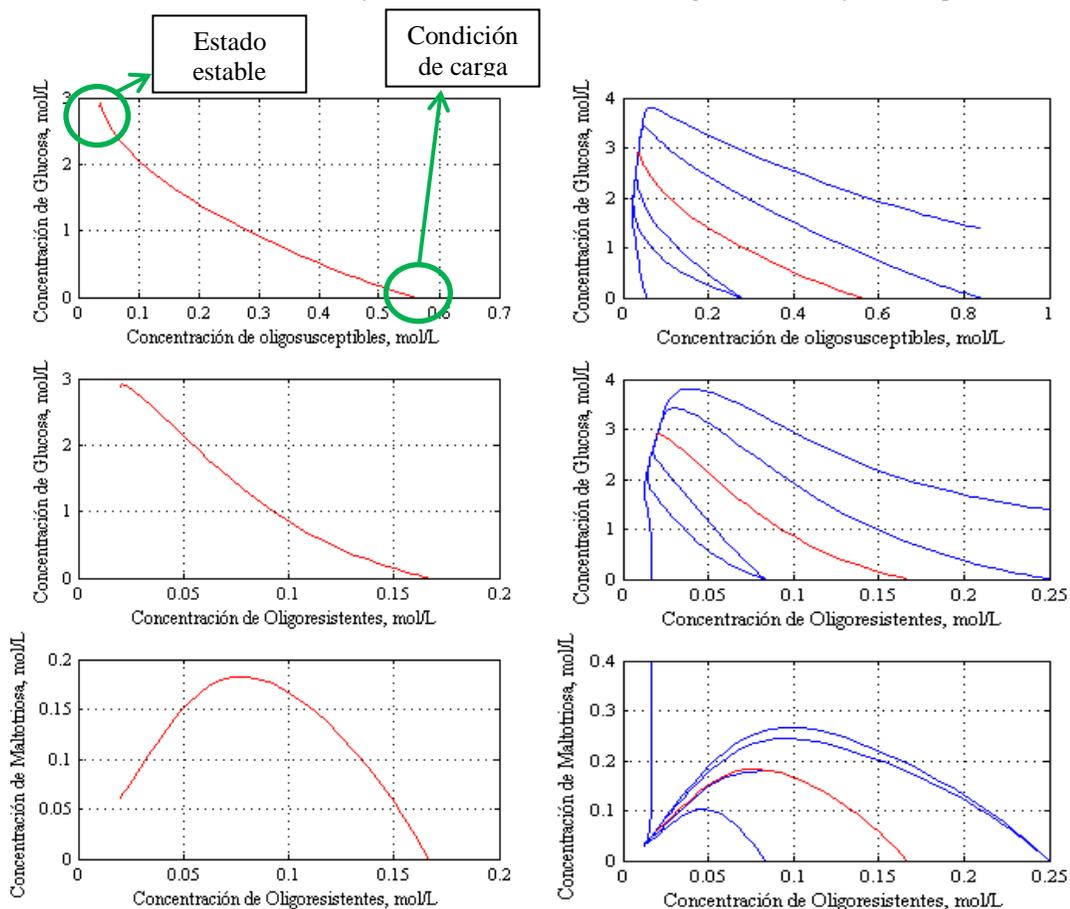
Los diagramas de fase constituyen una herramienta muy útil en la caracterización de las rutas del proceso pues relacionan las concentraciones de dos especies en un solo diagrama, facilitando comprobar estados estacionarios y/o estables y las condiciones iniciales para alcanzarlos (Loaiza, 2006). Para evidenciar el tipo de comportamiento de todas las simulaciones realizadas, en las Figuras 6 y 7 se presentan dos diagramas de fase para condiciones de operación y carga diferente.

La Figura 6 está compuesta por seis diagramas de fase: las gráficas del lado izquierdo relacionan las concentraciones de la glucosa con la de los oligosacáridos susceptibles y la de los resistentes, y la concentración de un producto intermedio (la maltotriosa) con la concentración de los oligoresistentes, teniendo en cuenta que estas tres gráficas fueron resultado de la evaluación a una velocidad de dilución de  $1.9 \text{ h}^{-1}$ , y concentraciones de sustrato alimentado y de carga iguales,  $600 \text{ g/L}$ . A la derecha se encuentran los diagramas de fase para condiciones de carga de sustrato y otras especies, distintas (líneas azules) a la concentración de alimentación de sustrato  $C_{a_f} = 600 \text{ g/L}$ .

Bajo las mismas condiciones de operación ( $D = 1.9 \text{ h}^{-1}$ ,  $C_{a_f} = 600 \text{ g/L}$ ) se evalúa la dinámica del proceso para diferentes concentraciones de carga de sustrato, maltotriosa, isomaltosa y glucosa (columna derecha en la Figura 6). Esto mostró que todas las rutas, aunque diferentes, llevan al mismo punto en la gráfica; con lo cual puede establecerse como un nodo estable del proceso (Gustafson, 2006).

Estos diagramas se usan, comúnmente, al describir o caracterizar la dinámica del sistema; es decir, las trayectorias dinámicas del proceso, y sirven para corroborar la existencia de nodos estables y regiones de estabilidad para condiciones de operación constantes (Liu, 2013). Es el caso del diagrama de fase representado en la Figura 7, donde la línea roja representa la ruta para la cual las condiciones de alimentación son iguales a las de arranque (carga inicial del reactor) y las líneas azules representan las rutas que parten de condiciones de arranque distintas a las de la alimentación.

Figura 6. Diagramas de fase para la etapa de hidrólisis con concentración de sustrato de alimentación de 600 g/L, velocidad de dilución de  $1.9 \text{ h}^{-1}$  y diferentes condiciones de carga de sustrato y otras especies.\*

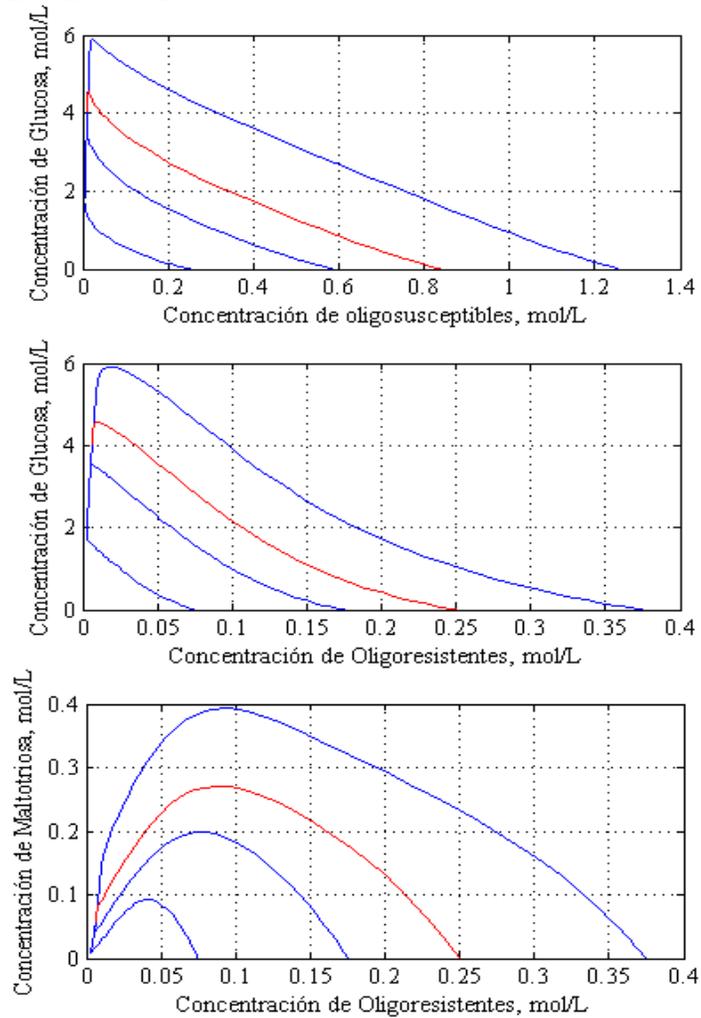


Fuente: Elaborada en la presente investigación.

En este caso, también se encontró un nodo estable que es el punto común para todas las rutas. Es importante resaltar que, para estas condiciones de operación, sin importar si la concentración inicial cargada de sustrato, de productos intermedios (como la maltotriosa, o, incluso de glucosa), es alta o baja, el estado estacionario alcanzado fue siempre es el mismo, siendo diferente para los tiempos requeridos en el alcance de tal estado estable.

\* Diagramas en la izquierda de la figura con concentración de carga de 600g/L, en la derecha para diferentes condiciones de carga de sustrato y otras especies.

Figura 7. Diagramas de fase para la etapa de hidrólisis, con concentración de sustrato de alimentación de 900 g/L y velocidad de dilución de  $0.3 \text{ h}^{-1}$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

En conclusión, la simulación dinámica permitió el análisis de la estabilidad del sistema, mostrando que para diferentes condiciones de arranque siempre se consigue llegar al mismo estado estable, aunque dependiendo de los valores tomados para el arranque encontraremos rutas diferentes que pueden tardar menos o en su defecto un poco más en llegar a estabilizarse (Paz, 2010). Las rutas con concentraciones de arranque iguales a concentraciones de alimentación se acercan en menor tiempo al estado estacionario, en otras palabras se estabilizan más rápido.

### **4.3. SELECCIÓN DE CONDICIONES DE OPERACIÓN**

#### **4.3.1. Efecto de cada parámetro a seleccionar**

Con base en el modelo cinético seleccionado, se determinó que los parámetros a tener en cuenta sobre el diseño operacional de la etapa de hidrólisis fueran la velocidad de dilución y la concentración de alimentación del almidón. El efecto de cada uno de estos parámetros es importante para la dinámica de proceso, desde el arranque hasta el alcance de los estados estacionarios, por lo tanto, deben tenerse en cuenta para el diseño integral de esta etapa.

La velocidad de dilución es el parámetro mediante el cual se relaciona el caudal de alimentación y el volumen de reacción. Por lo tanto, en un proceso productivo, a gran escala, no es recomendable manejar velocidades de dilución pequeñas porque implican altos tiempos de residencia, lo cual encarece y hace poco viable la producción. La selección adecuada de la velocidad de dilución permite, en sistemas en los que se presentan multiplicidad de estados, encontrar los rangos en los que se encuentra el estado estable de mayor rendimiento para el arranque y operación de la etapa (Paz, 2010).

La concentración de alimentación de almidón licuado, como se vio en la sección de simulación dinámica, es la responsable de darle una velocidad inicial de sacarificación alta a la etapa. A su vez, este parámetro propicia la aparición del efecto de inhibición por sustrato en el arranque del proceso al manejarse concentraciones elevadas, por lo cual es trascendente seleccionar el rango adecuado basándose en la cinética de reacción y, de esta forma, obtener mayor rendimiento debido a que se está impidiendo la desactivación temprana de la enzima (Zanin & Moraes, 1997).

#### **4.3.2. Detección de fenómenos atípicos para el rendimiento del sistema**

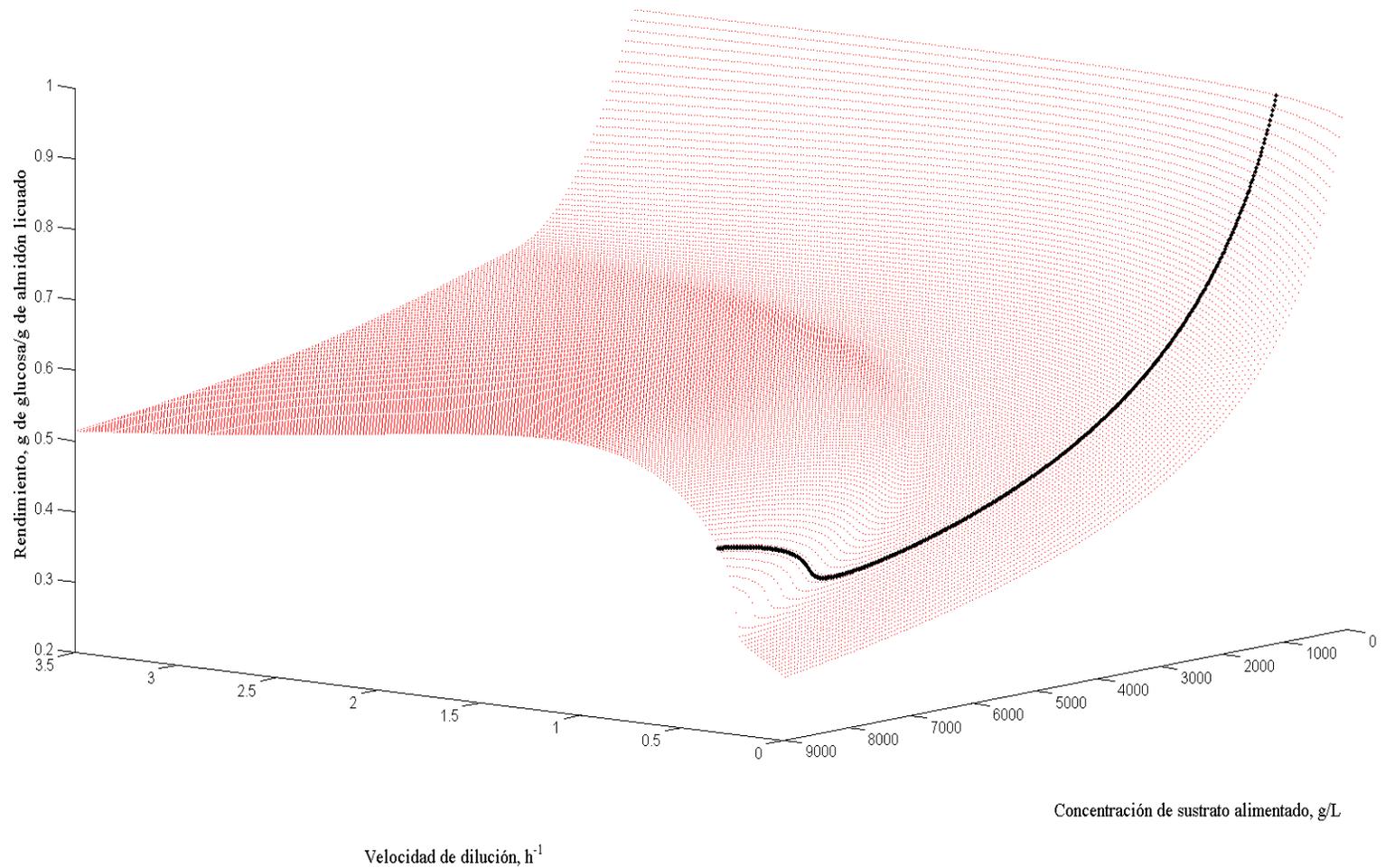
En el análisis matemático de la hidrólisis se encontró una particularidad para algunas regiones de rangos de operación. Se construyó un diagrama de bifurcación en 3 dimensiones (Figura 8) relacionando las variables independientes velocidad de dilución y concentración de almidón alimentado, con el rendimiento de la glucosa (Ver ANEXO G).

Se encontró que para las velocidades de dilución alrededor de  $0.325 h^{-1}$  (representada por la línea azul) el rendimiento refleja una tendencia inesperada, distinta a la que la teoría determina (Campbell & Farrell, 2004). Normalmente, para una velocidad de dilución constante, el rendimiento debe disminuir a medida que aumenta la concentración de almidón alimentado, sin embargo, en este caso, el rendimiento, después de cierta cantidad de almidón (6400 g/L), empieza a aumentar junto con la concentración de sustrato alimentado.

La Figura 9 enfatiza el fenómeno atípico descrito para la velocidad de dilución constante  $D = 0.325 h^{-1}$ . El comportamiento uniforme de esta curva cambia para concentraciones de sustrato alimentado mayores a 6400 g/L. A partir de este valor se observa un tipo de curva típico de sistemas con características de multiplicidad de estados estables y de bifurcación. Con base a lo anterior, se afirma que en 6400 g/L, existe un punto de bifurcación donde se obtuvo una rama de estados estables, la cual corresponde a la que se observa en la gráfica; y otra rama, probablemente de estados inestable, que es imposible ver con la metodología empleada. Lo anterior permitió establecer que a concentraciones de sustrato mayores a 6400 g/L se presentan fenómenos de multiplicidad de estados estacionarios, lo cual confirmó el efecto inhibitorio del almidón sobre la enzima. Para lograr una visualización de tales fenómenos se requiere de un análisis más exhaustivo y profundo. Sin embargo, este tipo de análisis queda por fuera del alcance de esta investigación.

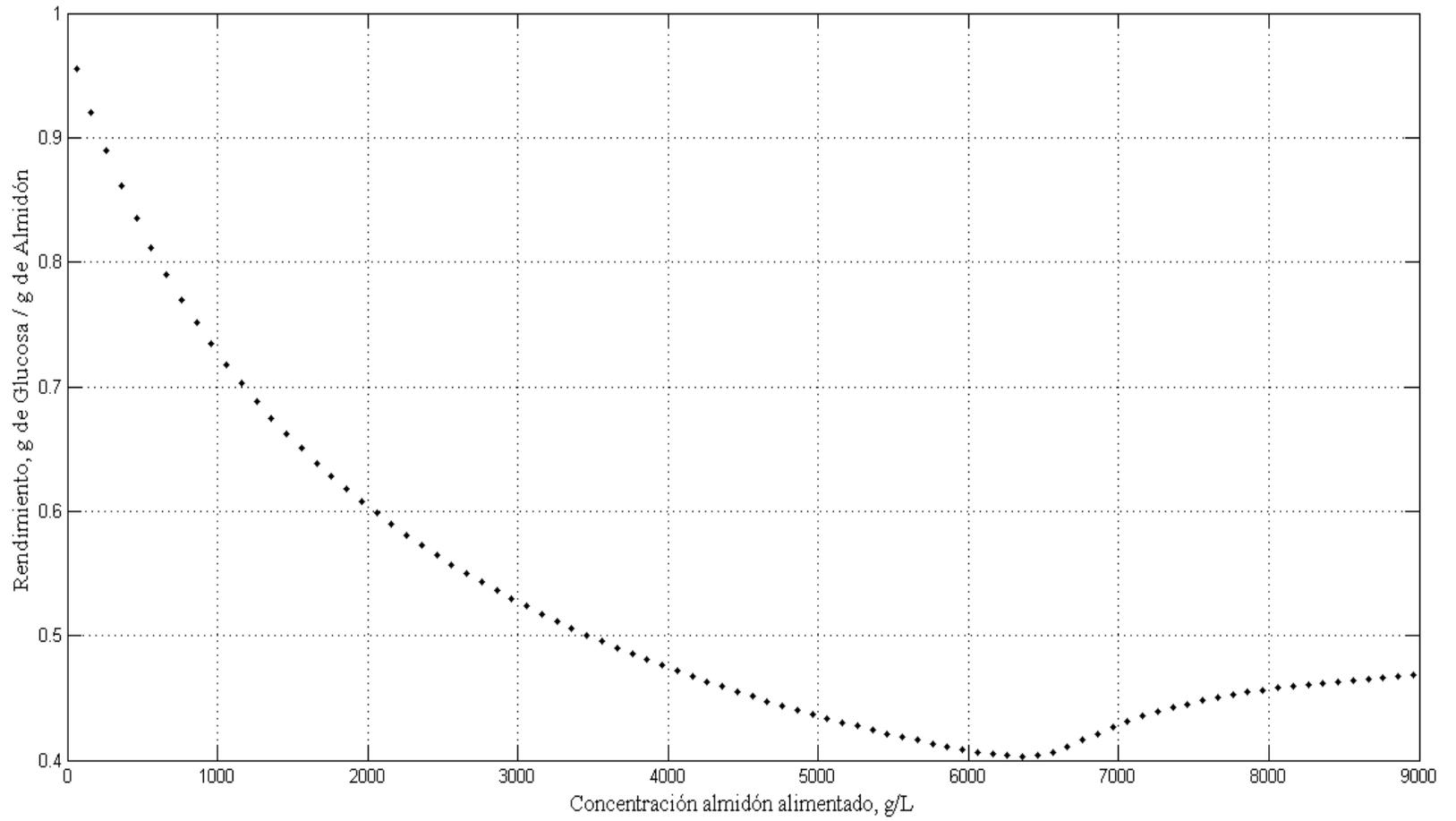
Finalmente, también es importante tener en cuenta una concentración de almidón en la alimentación de 6400 g/L es muy elevada, y no se usa en la industria. Por lo tanto, se corrobora que en los rangos de operación para la concentración de sustrato alimentado comúnmente usados en la industria es 400 g/L (Zanin & Moraes, 1997) y no presenta multiplicidad de estados estables. Por lo tanto, se establece para la concentración de sustrato alimentado como rango de operación preliminar en el que no se presentan estos fenómenos atípicos:  $C_{af} = [80 - 1000] g/L$ .

Figura 8. Diagrama de bifurcación 3D del rendimiento de la glucosa en función de los parámetros independientes: Concentración de sustrato alimentado y Velocidad de dilución. Para un rango de 10 g/L a 7000 g/L.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 9. Panorámica en 2 dimensiones del diagrama de bifurcación 3D del Rendimiento de la glucosa en función de los parámetros independientes: Concentración de sustrato alimentado y Velocidad de dilución. Con un rango de alimentación de 60 g/L a 9000 g/L.



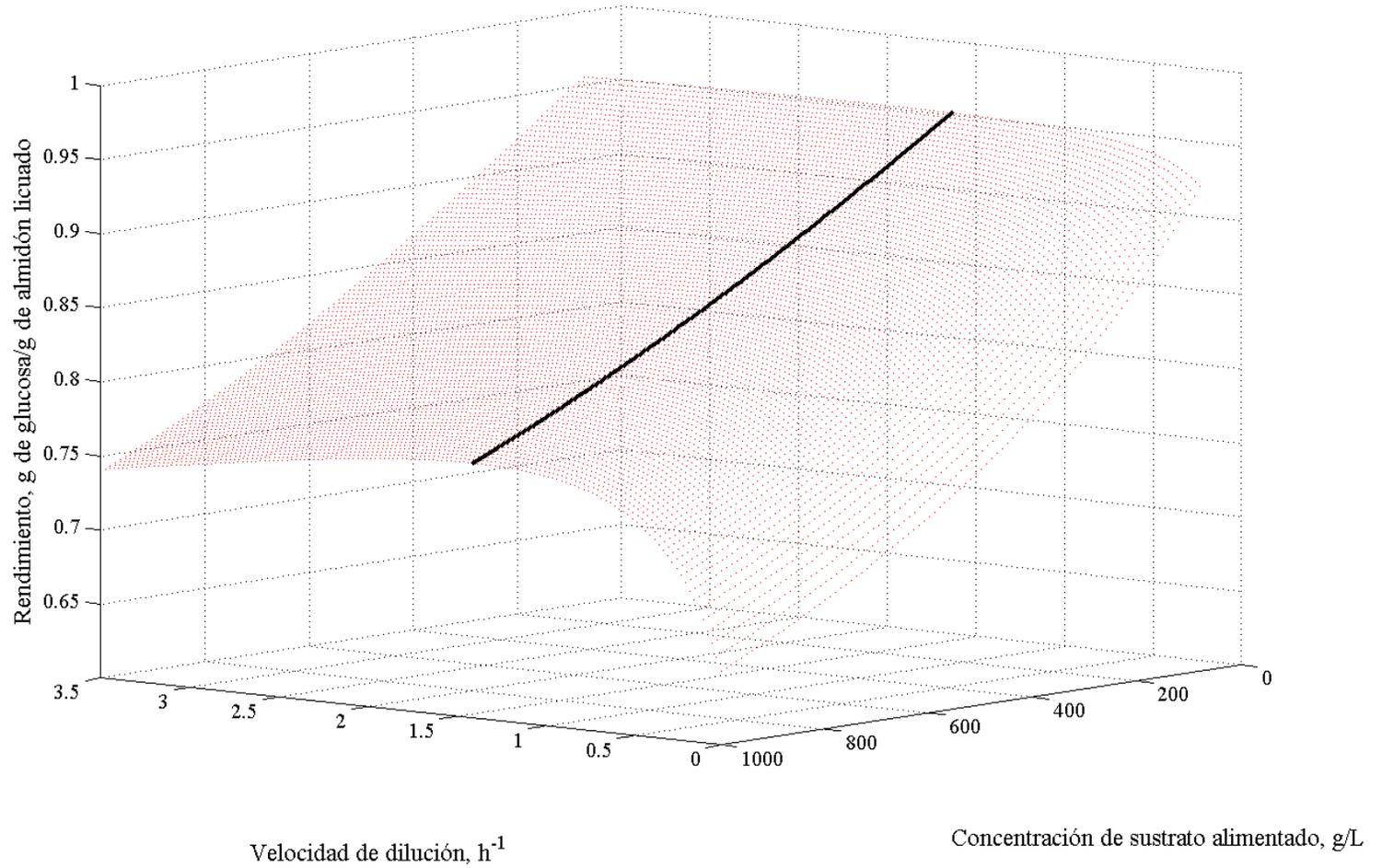
Fuente: Elaborada en la presente investigación.

### 4.3.3. Selección de la velocidad de dilución

Para la selección de la velocidad de dilución se utilizó un rango base de operación para la concentración de almidón alimentado desde 80 a 1000  $g/L$ . Se construyó un diagrama de rendimiento en función de la velocidad de dilución y la concentración de sustrato alimentado, para una región (rangos de operación) en la que ya se determinó que no hay presencia de fenómenos de multiplicidad de estados estables o comportamientos atípicos (Figura 10). En este diagrama se observó que sin importar cuál sea la concentración de almidón licuado en la alimentación (dentro del rango) siempre se halla el máximo rendimiento para una misma velocidad de dilución de  $1.4 h^{-1}$  (línea negra). Lo anterior puede corroborarse en la Figura 11, donde se presenta una perspectiva bidimensional del diagrama tridimensional construido.

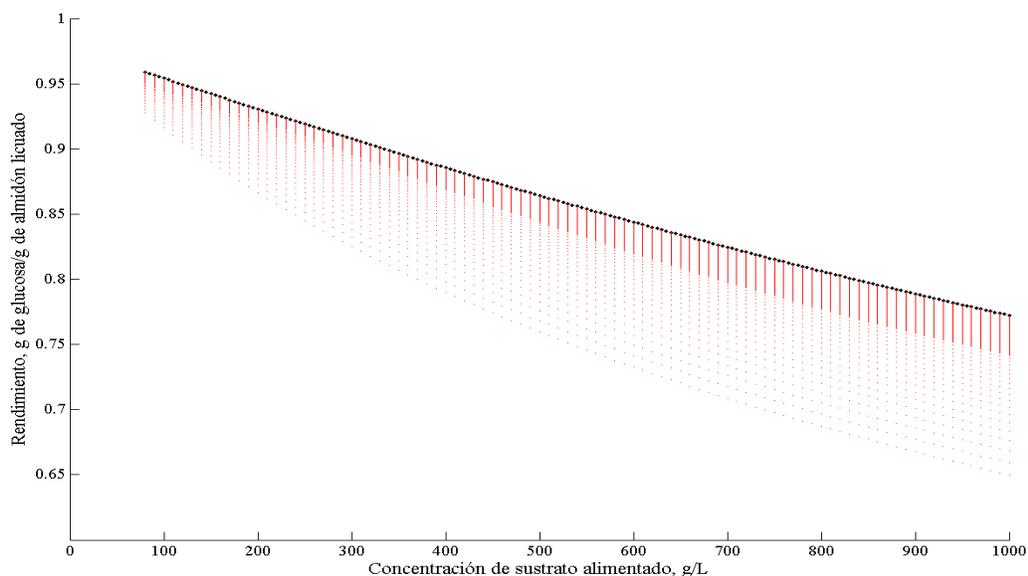
Figura 10. Diagrama de bifurcación 3D para la región de operación sin presencia de fenómenos atípicos: Concentración de sustrato alimentado = [60-1000] g/L.

53



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 11. Panorámica en 2 dimensiones del diagrama de bifurcación 3D para la región de operación sin presencia de fenómenos atípicos: Concentración de sustrato alimentado entre [80-1000] g/L.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

#### 4.3.4. Selección de la concentración de sustrato en la alimentación

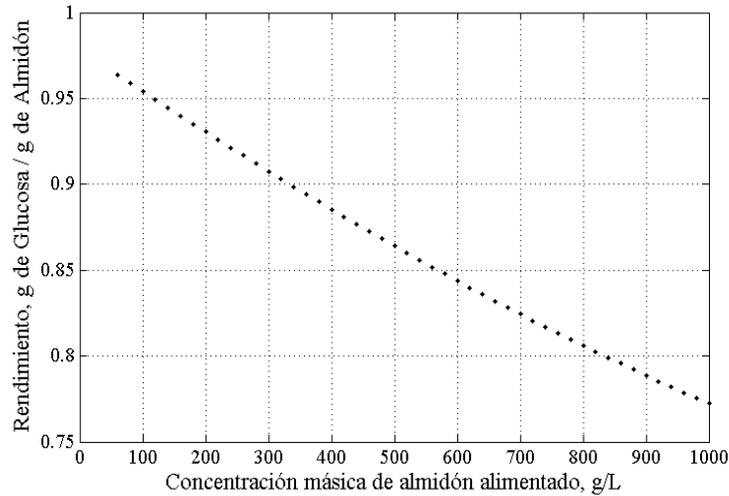
Para la adecuada selección de la concentración de alimentación de almidón licuado se tuvo en cuenta la relación entre el rendimiento de glucosa y la productividad, siendo esta última de gran interés a nivel industrial puesto que mientras mayor sea, se obtendrán mayores ganancias económicas.

En la Figura 12 se representó el diagrama de bifurcación del rendimiento en relación a la concentración de alimentación de almidón licuado y luego en la Figura 13 se representó el diagrama de bifurcación de la productividad en función de la concentración de la alimentación de almidón licuado, ambas con una velocidad de dilución de  $1.4 \text{ h}^{-1}$ . Estos diagramas se trazaron a partir de las expresiones para el cálculo del rendimiento y la productividad (Ver ANEXO G).

A partir de las Figuras 12 y 13 se seleccionó una concentración de alimentación de almidón licuado de 500 g/L debido a que con ésta se obtiene un rendimiento de 0.867 g de glucosa/g de almidón con una productividad de 657 g/h L. A concentraciones mayores de alimentación la relación de incremento de la productividad con la concentración tiende a disminuir, y también disminuye aún más el rendimiento. Además, a concentraciones

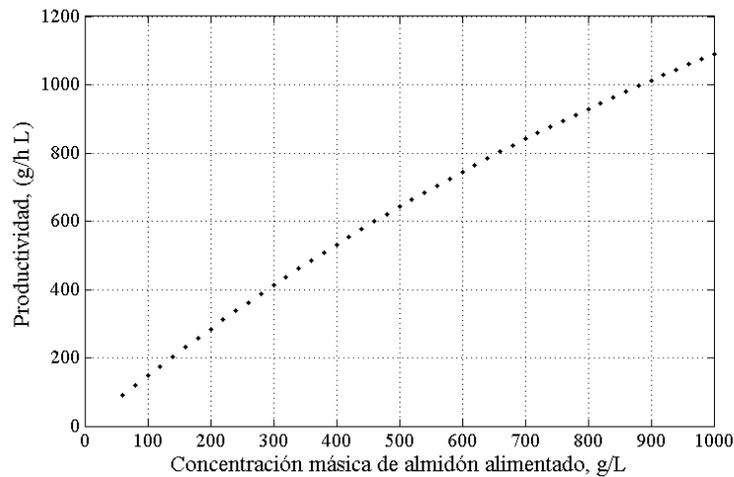
mayores de alimentación aumentarían los costos de la posterior separación de la corriente de salida por la disminución del rendimiento.

Figura 12. . Rendimiento de glucosa en función de la concentración de almidón alimentado con velocidad de dilución de  $1.4 \text{ h}^{-1}$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 13. Productividad de glucosa en función de la concentración másica de almidón alimentado  $1.4 \text{ h}^{-1}$



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Luego de haber realizado una revisión bibliográfica exhaustiva, se concluyó que éste fue el primer estudio sobre el análisis dinámico de la etapa de hidrólisis enzimática en procesos continuos con producción de glucosa a escala industrial. Por lo tanto, se constituyó como un estudio exploratorio de las condiciones de arranque y operación de la etapa, y se realizó una comparación con un estudio anterior, en el cual la sacarificación hizo parte de un

sistema de producción intermitente en escala de laboratorio que, si bien no es continuo, simuló la operación de una planta industrial para la obtención de etanol a partir de yuca (Camili, 2010). El rendimiento reportado por Camili fue de 0.9044 g de glucosa/g de almidón licuado, valor que está por encima del alcanzado por el sistema con las condiciones propuestas en la presente investigación (0.867 g de glucosa/g de almidón licuado). Este fenómeno se atribuyó a la diferencia en los tiempos de residencia del volumen reaccionante en el tanque, que según la teoría es menor en los CSTRs; caso contrario al de la productividad, la cual es mayor en los procesos continuos (Fogler, 2008).

#### **4.4. MODELAMIENTO DE LA ETAPA DE FERMENTACIÓN EN UN CSTR**

Como unidad fundamental en el proceso de producción de etanol carburante a partir de almidón de yuca, se determinó que el diseño adecuado para la etapa de fermentación es muy importante en la optimización del proceso general, ya que implica la transformación bioquímica de la glucosa, proveniente de la hidrólisis, en etanol, que es el producto de interés. En consecuencia, la descripción de tal etapa debe ser muy realista, es decir, los principios y supuestos teóricos deben estar acordes a la experimentación y sus resultados, tanto a nivel de laboratorio como industrial.

##### **4.4.1. Selección del modelo cinético**

El criterio de selección se basó en que el modelo describe fenómenos característicos de la etapa (inhibición de sustrato) pertinentes en el estudio dinámico del sistema. Además su estructura no lineal, relativamente compleja, tiene en cuenta el efecto de la temperatura de operación en la producción continua de etanol a escala industrial debido al efecto que tiene esta sobre los parámetros cinéticos.

Con el fin de reproducir el comportamiento de la etapa de fermentación para producir grandes cantidades de etanol carburante, a partir de glucosa por la acción del microorganismo *Saccharomyces cerevisiae* en un proceso continuo, se determinó apropiado utilizar el modelo propuesto por Andrade y compañía, que este tiene en cuenta el efecto de

inhibición por sustrato y producto, los cuales son importantes en la producción continua a escala industrial (Andrade, 2007).

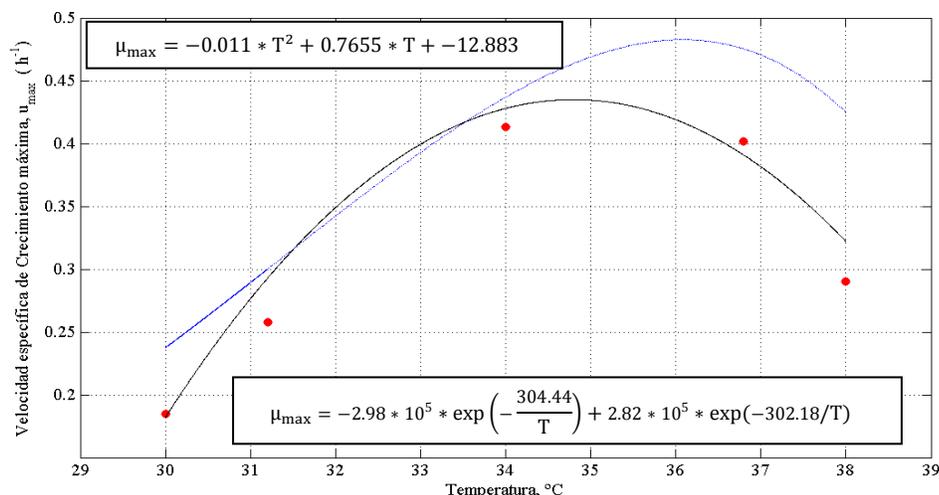
Este modelo cinético fue detallado en el marco teórico de este trabajo; la cinética que describe está dada por las ecuaciones Ec. (23), (24) y (25), las cuales muestran las velocidades específicas de reacción de cada una de las especies (Ver ANEXO F).

#### 4.4.2. Reajuste de parámetros dependientes de la temperatura

Con el fin de verificar el ajuste del modelo con los datos experimentales reportados en el mismo artículo, el conjunto de ecuaciones y comparado con las curvas expuestas por Andrade. Como resultado se encontró que algunos parámetros dependientes de la temperatura no se ajustaron a los puntos experimentales (Andrade, 2007).

Por consiguiente, en este trabajo se llevó a cabo un reajuste de aquellos parámetros que mostraron desviaciones importantes respecto a los datos experimentales reportados por el autor,  $\mu_{max}$  y  $Y_x$ . En las Figuras 14, 15, 16, 17 y 18 se muestran los puntos experimentales reportados por el artículo, la reproducción de la ecuación planteada por el autor y la reproducción de la expresión matemática propuesta en este trabajo.

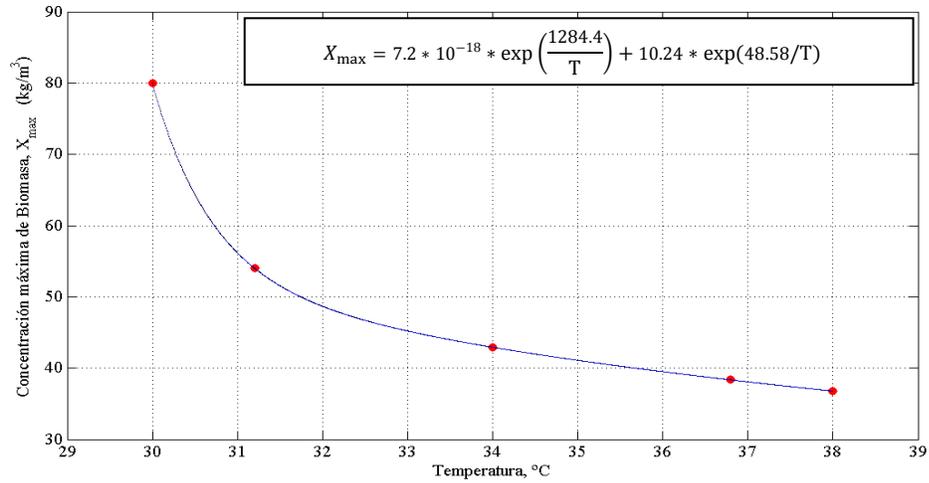
Figura 14. Reajuste de la Velocidad específica de crecimiento máxima como parámetro cinético en función de la Temperatura.\*



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

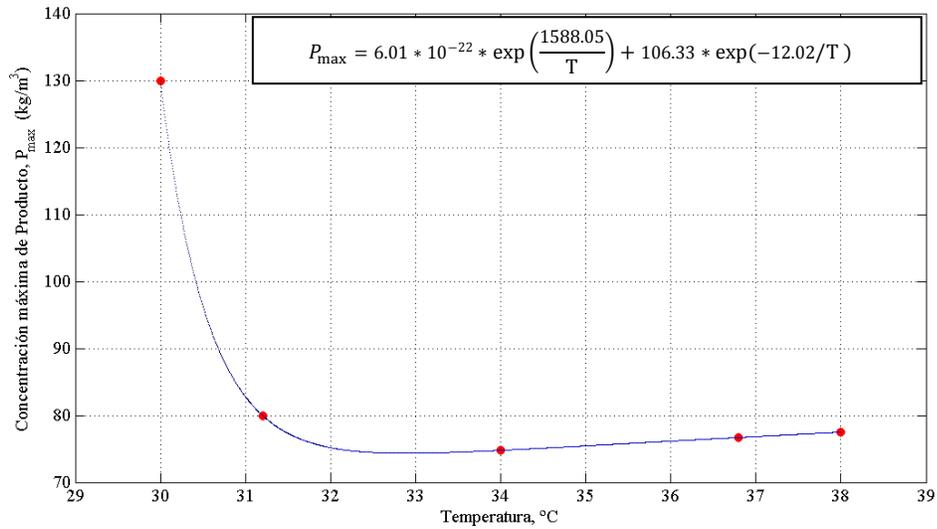
\* Datos experimentales (Puntos rojos); ecuación reportada en el modelo de Andrade (línea azul); ecuación propuesta (línea negra).

Figura 15. Reajuste de la Concentración máxima de biomasa como parámetro cinético en función de la Temperatura.\*



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

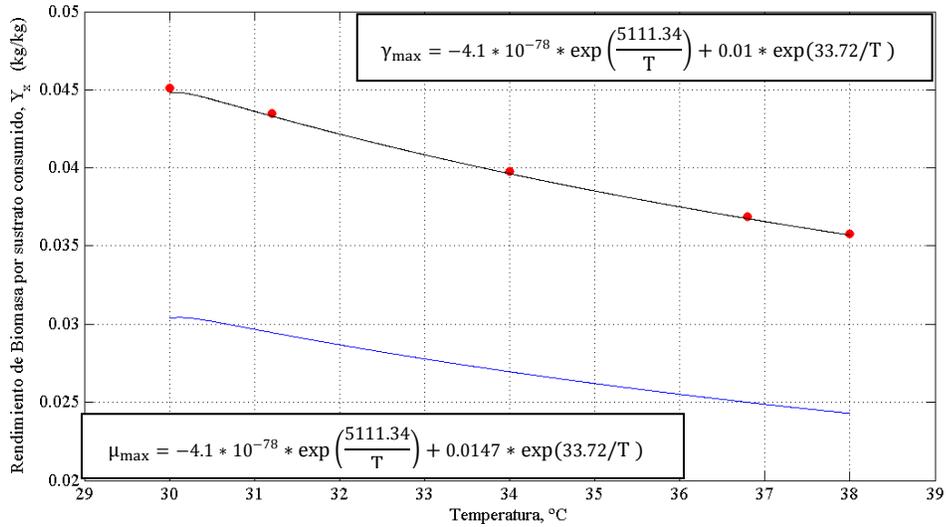
Figura 16. Reajuste de la Concentración máxima de Producto como parámetro cinético en función de la Temperatura.\*



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

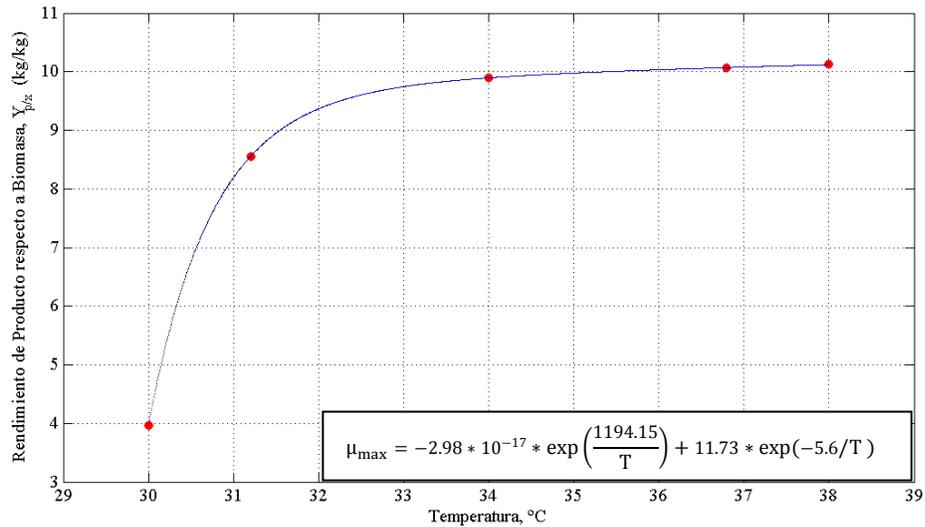
\* Datos experimentales (Puntos rojos); ecuación reportada en el modelo de Andrade (línea azul); ecuación propuesta (línea negra).

Figura 17. Reajuste del Rendimiento de biomasa por sustrato consumido como parámetro cinético en función de la Temperatura.\*



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 18. Reajuste del rendimiento de producto respecto a la biomasa como parámetro cinético en función de la Temperatura.\*



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

\* Datos experimentales (Puntos rojos); ecuación reportada en el modelo de Andrade (línea azul); ecuación propuesta (línea negra).

Así, los parámetros reajustados,  $\mu_{max}$  y  $Y_x$ , están dados por las expresiones:

$$\mu_{max} = A_m^* T^2 + B_m^* T + C_m^* \quad \text{Ec. (49)}$$

$$Y_x = A_{yx}^* \exp(B_{yx}^*/T) + C_{yx}^* \exp(D_{yx}^*/T) \quad \text{Ec. (50)}$$

A continuación se presentan los valores que se obtuvieron después de haberse realizado el ajuste de los parámetros ( $\mu_{max}$  y  $Y_x$ ):

$$A_m^* = -0.011$$

$$B_m^* = 0.7655$$

$$C_m^* = -12.883$$

$$A_{yx}^* = -4.1 * 10^{-78}$$

$$B_{yx}^* = 5111.34$$

$$C_{yx}^* = 0.0147$$

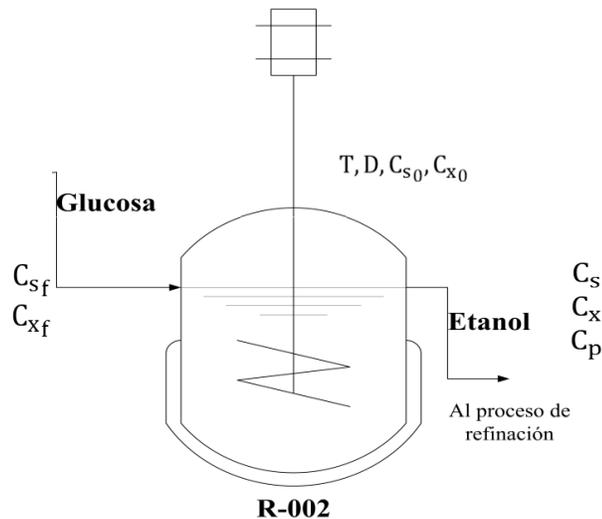
$$D_{yx}^* = 33.72$$

Téngase en cuenta que estas ecuaciones y valores de reajuste del modelo cinético fueron los utilizados para el modelamiento y la simulación de la etapa de fermentación.

#### 4.4.3. Modelamiento del reactor continuo de tanque agitado

En la Figura 19 se presenta el sistema de estudio en la etapa de fermentación como un reactor con alimentación y carga inicial de glucosa, temperatura constante y una corriente de salida de producto (etanol).

Figura 19. Representación gráfica de la etapa de fermentación.



Fuente: Elaborada en la presente investigación

Con el objetivo de reproducir el proceso continuo de producción de etanol a partir de glucosa, se desarrolló el modelo matemático para un reactor continuo de tanque agitado (CSTR) haciendo uso de las cinéticas planteadas en la sección anterior. Teniendo en cuenta la Ec. (39) para los balances de masa de cada especie (Ver ANEXO H), el modelo matemático planteado para el CSTR de la fermentación se expone a continuación:

$$D(C_{Xf} - C_X) + \left[ \mu_{max} \left( \frac{C_S}{K_S + C_S} \right) e^{-K_i C_S} \left( 1 - \frac{C_X}{X_{max}} \right)^m \left( 1 - \frac{C_P}{P_{max}} \right)^n C_X \right] = \frac{dC_X}{dt} \quad \text{Ec. ( 51)}$$

$$D(C_{Sf} - C_S) - \left( \frac{r_x}{Y_x} + m_x C_X \right) = \frac{dC_S}{dt} \quad \text{Ec. ( 52)}$$

$$D(C_{pf} - C_p) + Y_{px} r_x + m_p C_X = \frac{dC_p}{dt} \quad \text{Ec. ( 53)}$$

#### 4.5. SIMULACIÓN DINÁMICA DE LA ETAPA DE FERMENTACIÓN

A continuación, se presenta un análisis de la respuesta dinámica del sistema donde se pueden apreciar algunos comportamientos de las concentraciones de biomasa, sustrato y producto a lo largo del tiempo, con distintas condiciones de operación y arranque. Los resultados de las corridas aquí detallados y analizados son un conjunto representativo del comportamiento dinámico de las corridas realizadas para la descripción y caracterización de la simulación dinámica en un amplio rango de valores de operación y condiciones de arranque.

##### 4.5.1. Construcción y análisis de diagramas dinámicos de la etapa de fermentación (arranque y estabilización)

Para el trazado de los diagramas dinámicos se siguió la misma metodología utilizada para hidrólisis. En la Figura 20 se presentó un ejemplo representativo del comportamiento dinámico con alimentación continua de biomasa y sustrato, con el fin de explorar la regiones de operación con células alimentadas de forma continua, como se propone en el libro *Conservation equations and modelling of chemical and biochemical process* (Elnashaie, 2003). Este ejemplo nos permitió comparar la respuesta dinámica de la etapa

de fermentación cuando se utiliza una concentración de alimentación igual al arranque (negros), con la de concentración de alimentación menor a la de arranque (azules) y la de concentración de alimentación mayor a la de arranque (rojos) (Trejos, Fontalvo, & Gómez, 2009). Para las condiciones de operación velocidad de dilución de  $0.2 \text{ h}^{-1}$  y temperatura de  $34.6^\circ\text{C}$ , se simuló con una alimentación de sustrato,  $C_{sf}$ ,  $80 \text{ kg/m}^3$ , y una alimentación de bioamsa celular,  $C_{xf}$ , de  $2.5 \text{ kg/m}^3$ , a continuación se muestran las condiciones para el arranque:

Tabla 9. Concentraciones de arranque, utilizando alimentación continua de biomasa.

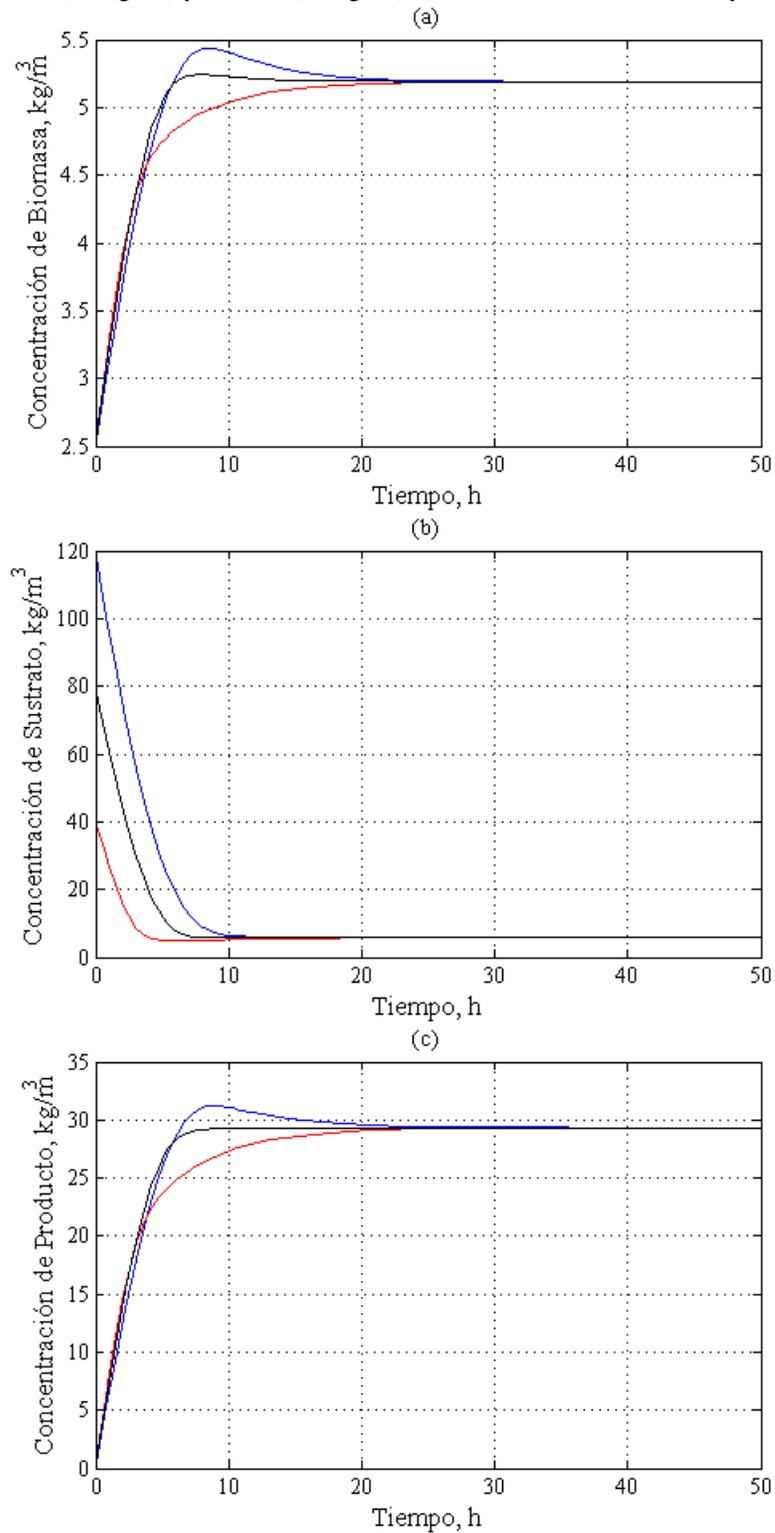
<b>PAREJAS DE CONDICIONES</b>	<b><math>C_{s0} \text{ (kg/m}^3\text{)}</math></b>	<b><math>C_{x0} \text{ (kg/m}^3\text{)}</math></b>
Concentración de alimentación mayor a la de arranque	120	2.5
Concentración de alimentación igual a la de arranque	80	2.5
Concentración de alimentación menor a la de arranque	40	2.5

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Para todas las corridas realizadas se encontró un factor común donde todas las respuestas dinámicas sin importar la variación de condiciones utilizadas llegaron a un mismo nodo estable, por lo tanto, se concluyó que para el rango de arranque y operación evaluado sólo hay un estado estable.

En la gráfica (a) de la Figura 20 se mostró un comportamiento ascendente de los perfiles de la biomasa debido a que la células comienzan a reproducirse hasta que alcanzan a un punto máximo y luego se llega a la estabilidad donde en ese punto se encuentra un equilibrio entre la velocidad de crecimiento de las células, la muerte de algunas de células y la alimentación continua de estas, siendo de gran importancia este último parámetro para lograr el alcance del estado estable en menor tiempo en comparación a cuando se opera el biorreactor sin alimentación fresca de biomasa, lo cual se encuentra evidenciado en la Tabla 10. Además se mostró un máximo que luego descendió hasta el estado estable cuando las condiciones de arranque fueron mayores a las de alimentación, lo cual se debió al fenómeno de inhibición por sustrato descrito por Andrade en su modelo cinético (Andrade, 2007).

Figura 20. Simulación dinámica para las concentraciones de biomasa, sustrato y producto con alimentación continua de biomasa ( $2.5 \text{ kg/m}^3$ ) y sustrato ( $80 \text{ kg/m}^3$ ), velocidad de dilución  $0.2 \text{ h}^{-1}$  y temperatura de  $34.6^\circ\text{C}$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Tabla 10. Tiempos de estabilización con y sin alimentación fresca de biomasa.

PAREJAS DE CONDICIONES PARA LA BIOMASA	Tiempo de estabilización (h)	
	sin $C_{xf}$	con $C_{xf}$
Concentración de alimentación mayor a la de arranque	45	19.9
Concentración de alimentación igual a la de arranque	36	13.2
Concentración de alimentación menor a la de arranque	47	22.8

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se concluyó que el tiempo de estabilización para la biomasa es menor cuando se utiliza alimentación fresca de células con condiciones iguales en el arranque y operación, esto era lo esperado con base al fenómeno de inhibición por sustrato descrito por Andrade en su modelo cinético (Andrade, 2007).

Los perfiles de sustrato (b) en la Figura 20, presentan un comportamiento descendente debido a la reacción de producción de bioetanol y la utilización de una pequeña fracción del sustrato para llevar a cabo el crecimiento de las células hasta alcanzar un punto donde se encuentra el estado estable, obteniéndose en la corriente de salida pequeñas trazas de glucosa que no reaccionó, lo cual era el comportamiento esperado debido a que el sustrato es el reactivo a transformar en bioetanol en esta etapa (Andrade, 2007). A continuación en la Tabla 11 se muestran los tiempos de estabilización para diferentes parejas de condiciones para el sustrato:

Tabla 11. Tiempos de estabilización del sustrato con y sin alimentación fresca de biomasa.

PAREJAS DE CONDICIONES PARA EL SUSTRATO	Tiempo de estabilización (h)	
	sin $C_{xf}$	con $C_{xf}$
Concentración de alimentación mayor a la de arranque	45	10.5
Concentración de alimentación igual a la de arranque	36	7.3
Concentración de alimentación menor a la de arranque	47	9.7

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se concluyó a partir de los datos reportados en la Tabla 11 que el sustrato, al igual que la biomasa, muestra menores tiempos de estabilización cuando se alimenta continuamente células y se utiliza una concentración de arranque igual a la de alimentación.

En la gráfica (c) de la Figura 20 el producto mostró un comportamiento ascendente hasta llegar a un estado estable, esto fue resultado del proceso de reacción y estabilización entre la biomasa y sustrato. Además para el par de condiciones donde la concentración de arranque fue mayor a la de alimentación se observó un máximo y luego descendió a un estado estable debido a la inhibición por sustrato reportado en el modelo cinético de seleccionado de la literatura (Andrade, 2007).

A continuación se muestra la Tabla 12 en la cual se reportan los tiempos de estabilización para el producto:

Tabla 12. Tiempos de estabilización del producto con y sin alimentación fresca de biomasa.

PAREJAS DE CONDICIONES PARA EL PRODUCTO	Tiempo de estabilización (h)	
	sin $C_{xf}$	con $C_{xf}$
Concentración de alimentación mayor a la de arranque	45	23.1
Concentración de alimentación igual a la de arranque	36	8.8
Concentración de alimentación menor a la de arranque	47	19.8

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se observó que en la región de operación explorada, el sistema siempre alcanzó un solo estado estable para cada parámetro de operación evaluado, incluso con diferentes condiciones de arranque (carga inicial); según Trejos, este comportamiento se da en regiones que no presentan multiplicidad de estados estables, lo que se corroboró para la región estudiada, mediante diagramas de fase (Trejos, Fontalvo, & Gómez, 2009).

Se concluyó que se obtienen menores tiempos de estabilización para la biomasa, sustrato y producto cuando se utiliza condiciones de arranque iguales a las de alimentación, obteniéndose mayores concentraciones de producto al operar con alimentación continua de células.

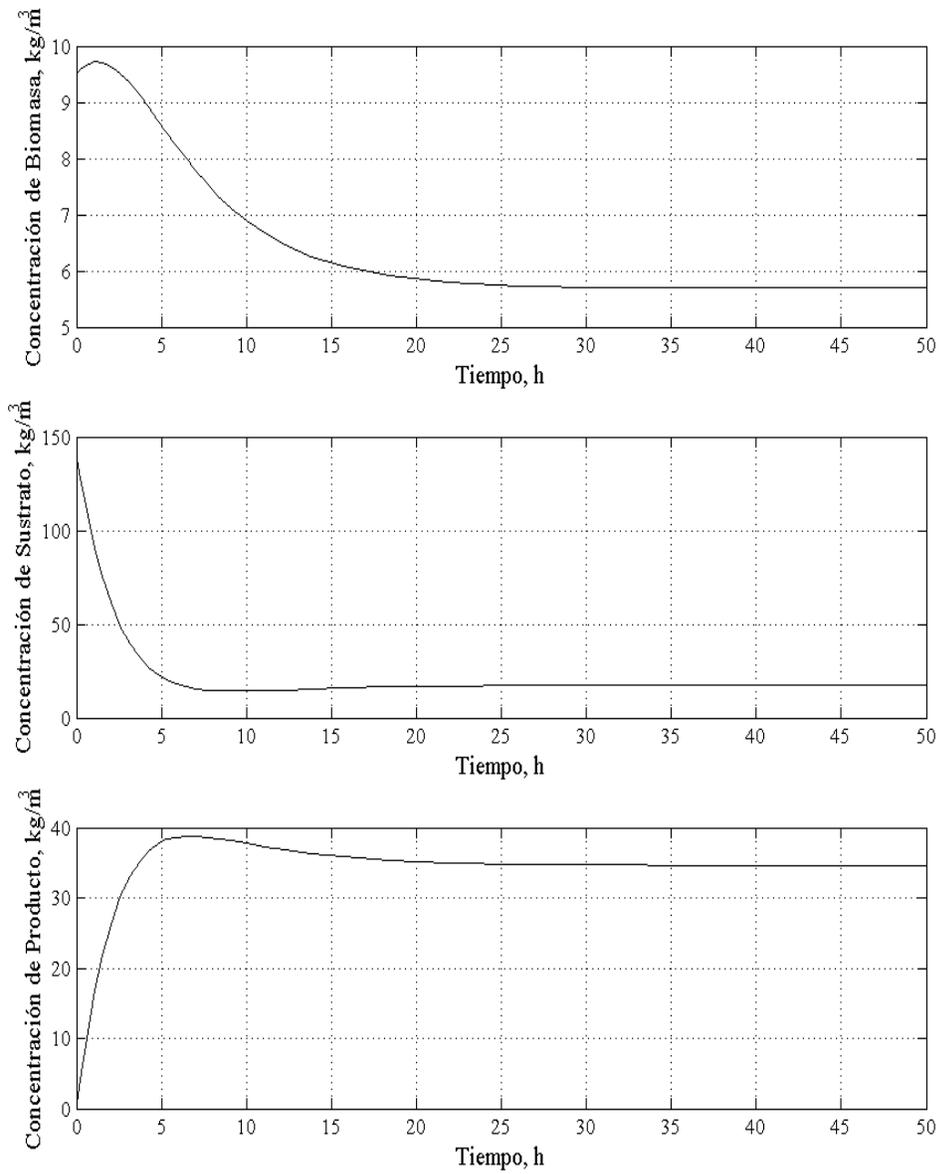
#### **4.5.2. Construcción y análisis de diagramas de fase para la etapa de fermentación (arranque y estabilización)**

Con el fin de visualizar si existían cambios en la estabilización del sistema a causa de la influencia de las condiciones de arranque sobre la dinámica del proceso, e identificar el tipo de estados estables que se alcanzaban, se construyeron diagramas de fase basados en la respuesta dinámica del sistema.

La simulación dinámica del arranque y estabilización del sistema con  $D = 0.2 \text{ h}^{-1}$ ,  $T = 34.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $C_{s_f} = 105 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x_f} = 2.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{p_f} = 0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{s_0} = 140 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x_0} = 9.5 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p_0} = 0 \text{ kg/m}^3$  permitió obtener los diagramas dinámicos (Figura 21) y de fase (Figura 22) para cada una de las especies: biomasa, sustrato y producto.

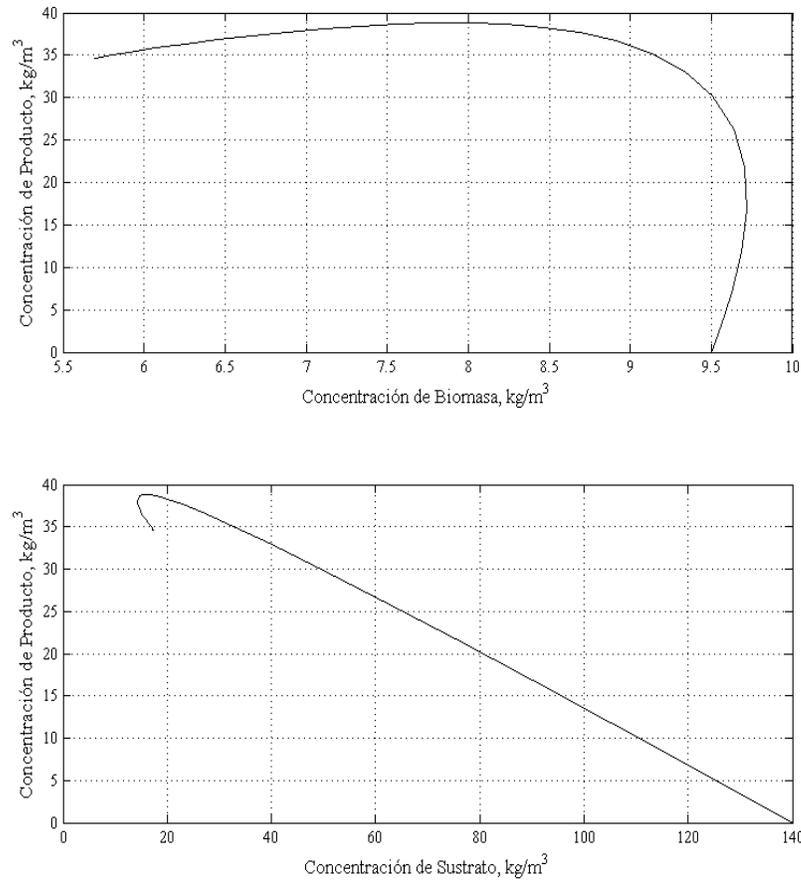
Teniendo en cuenta que los diagramas de fase relacionan los datos de concentración para un par de especies, ya sea biomasa/producto o sustrato/producto, se verificó el alcance de un solo estado estable, es decir, un punto al cual todas las rutas tendían para las condiciones de arranque y operación indicadas en las Figuras 21 y 22. Se apreció cómo en pocas horas la concentración de biomasa aumentó desde 9.5 hasta  $9.75 \text{ kg/m}^3$ , punto en el que la concentración de etanol producido fue  $19 \text{ kg/m}^3$  y se presentó la máxima producción de célula en el arranque; luego, esta concentración de célula disminuyó de forma vertiginosa mientras el producto siguió aumentando para promediar un valor de  $35.6 \text{ kg/m}^3$  y alcanzar el estado estable para estas condiciones. Al mismo tiempo, se dilucidó la relación de producción etanol/sustrato mediante el segundo diagrama de fase en la Figura 22, donde el sustrato disminuyó casi que de forma inversamente proporcional a la concentración de producto. Esto se debe a la alta concentración de sustrato que se alimenta y se carga, además de la alta concentración inicial de biomasa para el arranque. Es así como los perfiles dinámicos se solaparon en parejas para relacionar los comportamientos de las concentraciones en una gráfica - diagramas de fase (Figura 22).

Figura 21. Dinámica del arranque y estabilización del sistema con  $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ ,  $T=34.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf} = 105 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf}=2.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{s0}=140 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

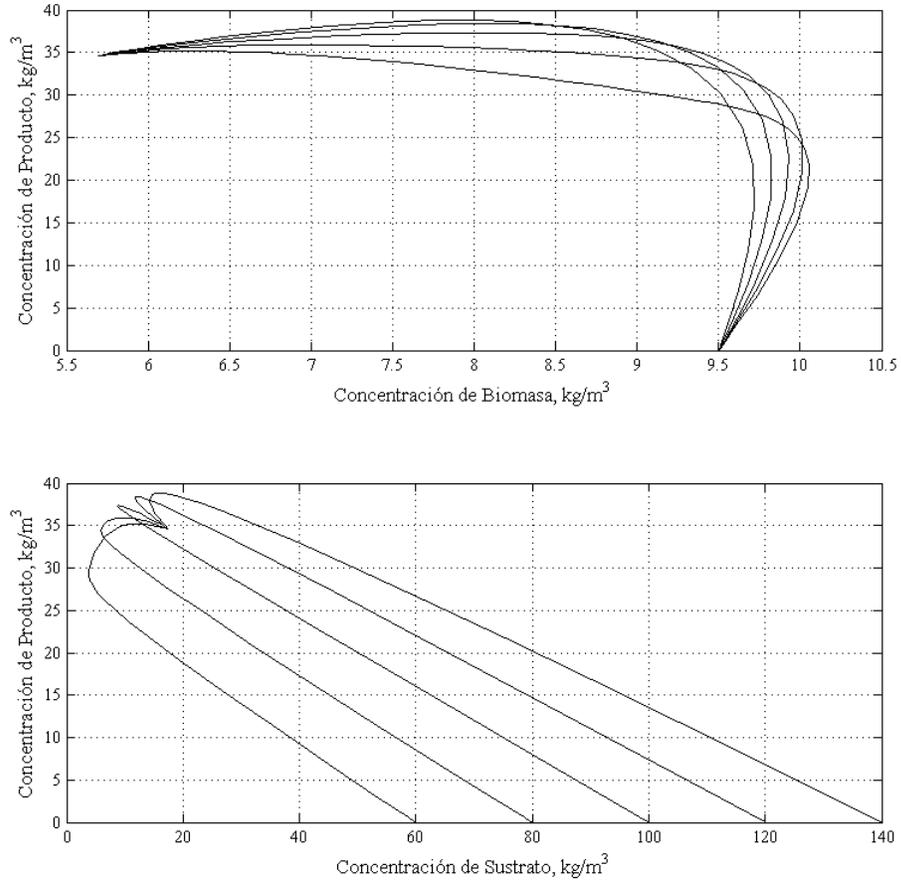
Figura 22. Diagramas de fase para el sistema con  $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ ,  $T=34.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf}=105 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf}=2.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{s0}=140 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

La Figura 23 muestra los diagramas de fase para el sistema operando con  $D = 0.2 \text{ h}^{-1}$ ,  $T = 34.6^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf} = 105 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf} = 2.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf} = 0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0} = 9.5 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0} = 0 \text{ kg/m}^3$ , evaluados para diferentes concentraciones de carga inicial  $C_{s0} = 60, 80, 100, 120$  y  $140 \text{ kg/m}^3$ . Se observó en esta figura que todas las trayectorias se mueven hacia un punto común; esto permitió comprobar que para diferentes condiciones de arranque aunque las trayectorias eran diferentes, su punto de convergencia era el mismo, describiendo el comportamiento de un nodo estable (Liu, 2013).

Figura 23. Diagramas de fase para el sistema con  $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ ,  $T=34.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf}=105 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf}=2.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf}=0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{s0}=60,80,100,120 \text{ y } 140 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0}=9.5 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

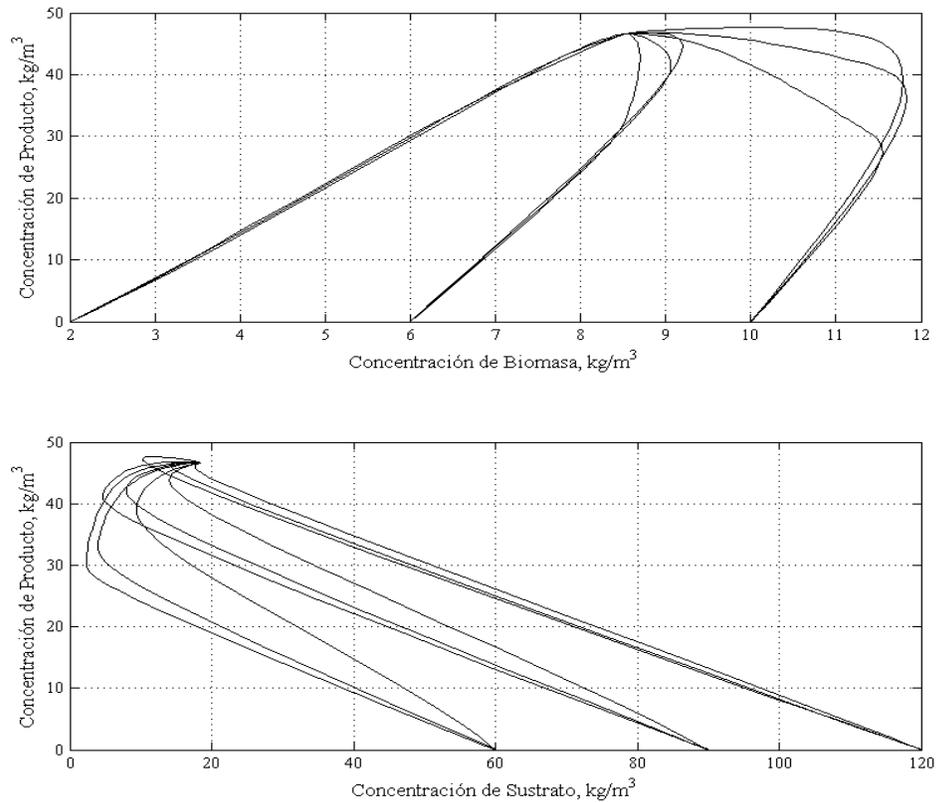
También se comprobó que al variar las condiciones de operación, cada combinación de condiciones tiene un solo estado estable, para distintas condiciones de arranque del proceso; por ejemplo, la Figura 24 constituyó un conjunto de trayectorias del proceso simulado para concentraciones de operación constantes:  $D = 0.13 \text{ h}^{-1}$ ,  $T = 34.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf} = 135 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf} = 4.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf} = 0 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0} = 2, 4, 8, 10 \text{ y } 12 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0} = 0 \text{ kg/m}^3$ , y, a la vez, se modificó para cada corrida la concentración de sustrato en la alimentación, así:  $C_{s0} = 60, 90 \text{ y } 120 \text{ kg/m}^3$ . En esta figura las condiciones de operación mostraron un estado estacionario al que todas las trayectorias del proceso convergían para estabilizar el sistema:

*Concentración de biomasa = 8.5363 kg/m<sup>3</sup>*

*Concentración de sustrato = 19.2541 kg/m<sup>3</sup>*

*Concentración de etanol = 46.7198 kg/m<sup>3</sup>*

Figura 24. Diagramas de fase para el sistema con  $D=0.13 \text{ h}^{-1}$ ,  $T=34.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $C_{sf}=135 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{xf}=4.5 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{pf}=0$ ,  $C_{s0}=60, 90 \text{ y } 120 \text{ kg/m}^3$ ,  $C_{x0}=2, 4, 8, 10 \text{ y } 12 \text{ kg/m}^3$  y  $C_{p0}=0 \text{ kg/m}^3$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

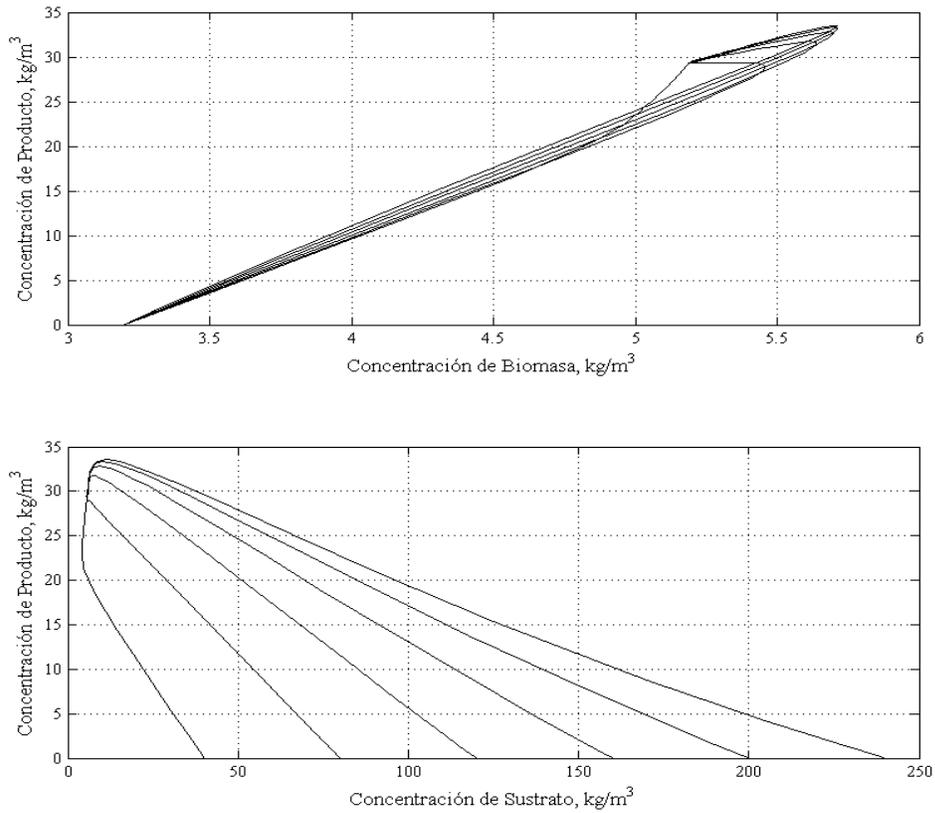
No obstante, al comparar estas concentraciones de salida en estado estacionario con las obtenidas al evaluar el arranque y estabilización del sistema con condiciones de operación y arranque distintas (Tabla 13), se corroboró que los puntos de estabilización (definidos como nodos estables) tenían coordenadas distintas, es decir, cada conjunto de condiciones de operación alcanzó un único estado estacionario y estable. Según Liu, este comportamiento es característico de regiones de operación que no presentan multiplicidad de estados estables, por tanto, esta región evaluada tiene la misma naturaleza (Liu, 2013).

Tabla 13. Condiciones de operación para corridas dinámicas.

	$D$ ( $h^{-1}$ )	$T$ ( $^{\circ}C$ )	$C_{xf}$ ( $kg/m^3$ )	$C_{sf}$ ( $kg/m^3$ )	$C_{pf}$ ( $kg/m^3$ )
Figura 24	0.13	34.6	4.5	135	0
Figura 25	0.2	34.6	80	2.5	0

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 25. Diagramas de fase para el sistema con  $D=0.2 h^{-1}$ ,  $T=34.6 ^{\circ}C$ ,  $C_s=80 kg/m^3$ ,  $C_{xf}=2.5 kg/m^3$ ,  $C_{pf}=0 kg/m^3$ ,  $C_{s0}=40, 80, 120, 160, 200$  y  $240 kg/m^3$ ,  $C_{x0}=3.2 kg/m^3$  y  $C_{p0}=0 kg/m^3$ .



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

## **4.6. SELECCIÓN DE CONDICIONES DE OPERACIÓN**

### **4.6.1. Efecto de cada parámetro a seleccionar**

Después del análisis dinámico del sistema se determinaron los siguientes parámetros de operación para la etapa de fermentación:

- **Temperatura**
- **Velocidad de Dilución**
- **Concentración de Sustrato alimentado**

La temperatura afecta directamente a las células debido a que bajo ciertas condiciones el cultivo presenta mayor rendimiento, por lo cual se consume mayor cantidad de sustrato con una alta tasa de crecimiento, generando mayores cantidades de producto. A temperaturas muy altas el microorganismo se estresa y se aumenta la inhibición por producto, haciendo que la etapa no opere adecuadamente, por tanto, es importante la debida selección de esta variable de operación, teniendo en cuenta el rango en el que se puede simular para su elección obteniéndose altos rendimientos, alta productividad en la operación de arranque y en la fase de estabilización del proceso.

La velocidad de dilución permite ver varias regiones de estabilidad, es decir, en diferentes rangos se pueden alcanzar a ver multiplicidad de estados estables, es importante realizar el análisis de los diferentes estados estables para evaluar en cual se debe operar obteniendo alto rendimiento. Operando a valores bajos de  $D$  se obtiene mayor cantidad de producto en comparación con valores más altos, por tanto en el momento de seleccionar la  $D$  de operación hay que tener en cuenta que se obtenga un buen rendimiento con el valor seleccionado y una buena productividad, para  $D$  altas se disminuyó el rendimiento pero se aumentó la productividad. Por lo anterior, se busca un equilibrio entre estos evitando, tiempos de residencia demasiado elevados que se traducen en pérdidas económicas.

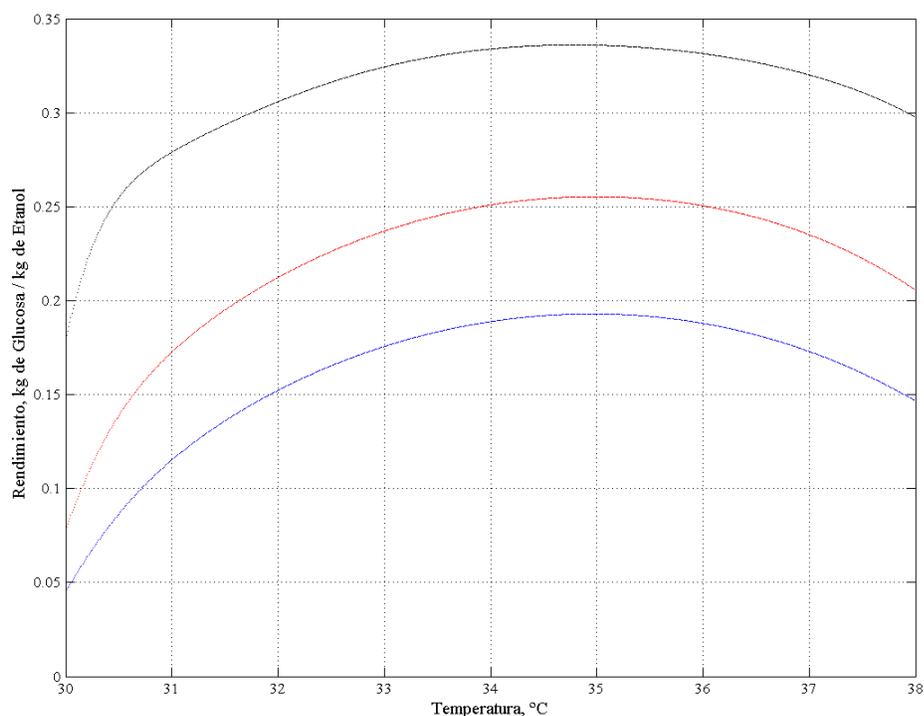
Teóricamente, para concentraciones de alimentación bajas se obtiene un buen rendimiento y que una alta velocidad de dilución llevará a altas productividades. Cuando se opera con altas concentraciones de sustrato alimentado, en el sistema tienden a aparecer multiplicidad

de estados estables causantes de caídas de rendimiento al operar la etapa, por lo tanto no se deben utilizar concentraciones demasiado altas.

#### 4.6.2. Selección de la temperatura de operación

Para determinar un rango adecuado de operación de la temperatura se construyeron diagramas de bifurcación de la temperatura con respecto al rendimiento alcanzado en estado estacionario, evaluando para diferentes concentraciones de sustrato alimentado y distintas velocidades de dilución.

Figura 26. Diagrama de bifurcación de Temperatura vs. Rendimiento, para diferentes Velocidades de dilución:  $D=0.15 \text{ h}^{-1}$  (negro);  $D=0.25 \text{ h}^{-1}$  (rojo);  $D=0.35 \text{ h}^{-1}$  (azul).

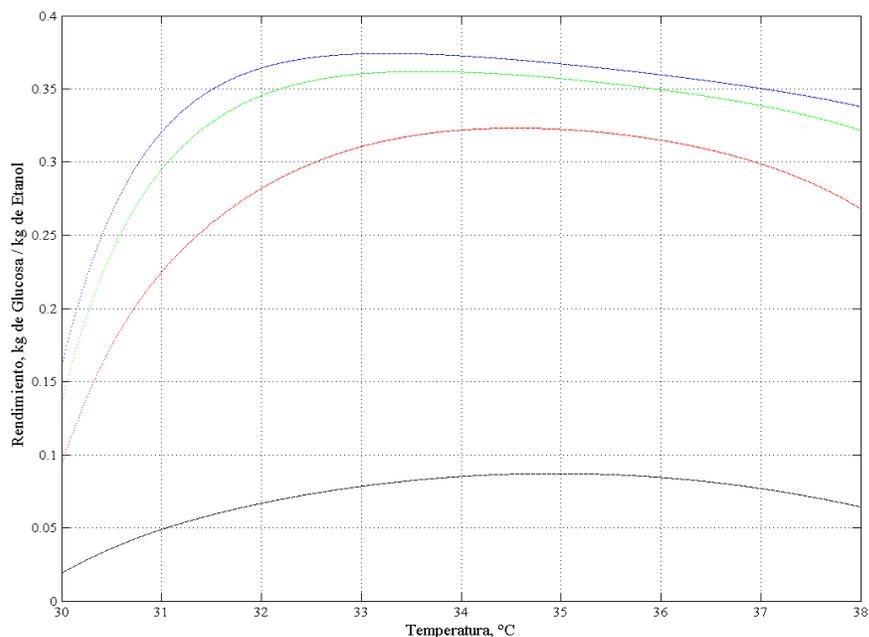


Fuente: Elaborada en la presente investigación.

De la Figura 26, se concluyó que la temperatura adecuada para operar la etapa es, aproximadamente,  $34.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , puesto que cada una de las curvas (una por cada velocidad de dilución) presentó, a esta temperatura, el máximo rendimiento, lo cual se traduce en un mayor beneficio producto/sustrato. Por otra parte, al evaluar el efecto de la temperatura sobre el rendimiento para diferentes concentraciones de alimentación de sustrato en la Figura 27, se corroboró que es en el rango de temperatura de  $34.3$  a  $35.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$  que debe

mantenerse el proceso de fermentación, pues aunque a concentraciones de alimentación de sustrato muy bajas (línea azul) la temperatura que presentó los rendimientos máximos fue menor (aproximadamente, 33°C), la diferencia entre este rendimiento y el alcanzado por la temperatura propuesta (34 °C) fue muy pequeña. Además, concentraciones muy bajas de sustrato alimentado no son usuales en la industria y, por lo tanto, sólo debería considerarse importante este efecto en procesos fermentativos a mayor escala.

Figura 27. Diagrama de bifurcación de Temperatura vs. Rendimiento, para diferentes concentraciones de Sustrato alimentado, kg/m<sup>3</sup>: Csf=200 (negro), Csf=70 (rojo), Csf=45 (verde), Csf=30 (azul).



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

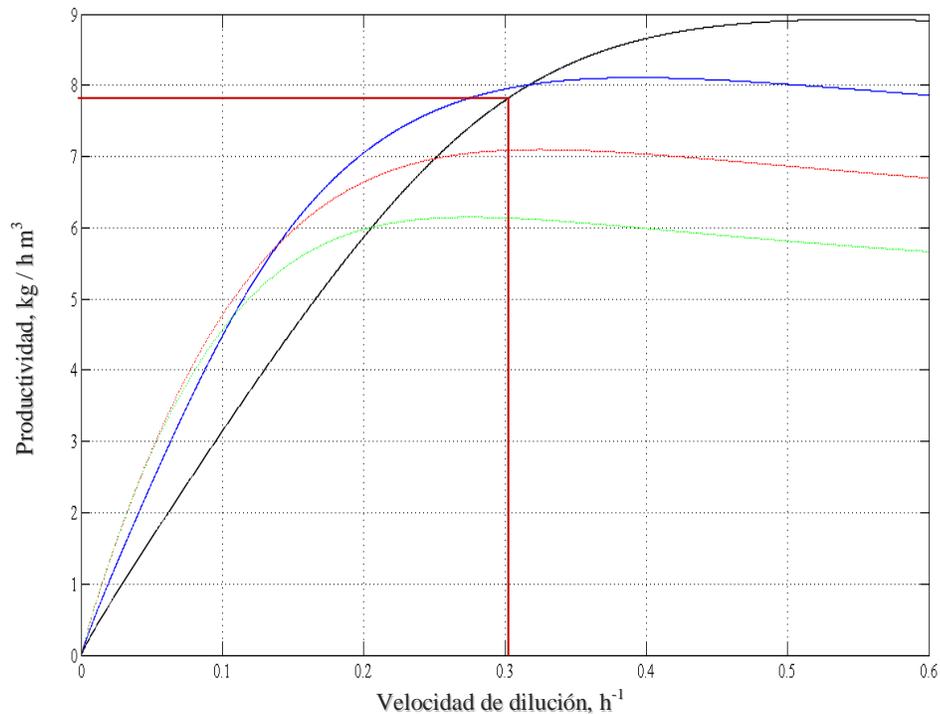
En la literatura la velocidad óptima de formación de producto alimentado en la fermentación se obtiene cuando se opera con una temperatura entre 29 – 35 °C y lo cual permite evitar tener pérdidas por evaporación de etanol en el proceso (AGRONET, 2006). Por lo tanto, el valor de la temperatura seleccionado estuvo dentro del rango que permite una mejor operación de la etapa, el cual es un rango adecuado para que la *S. Cerevisiae* lleve a cabo la fermentación de la glucosa sin que se vea influenciada por estrés térmico (Paz, 2010).

### 4.6.3. Selección de la concentración de alimentación de sustrato para la operación

Para la selección del rango de operación se trazaron los diagramas de bifurcación para el rendimiento y la productividad alcanzados en diferentes estados estacionarios, ambos en función de la velocidad de dilución evaluándolos para concentraciones distintas de sustrato alimentado. Para la construcción de la Figura 28 se tomaron los valores de los estacionarios finales de la productividad en función de cada velocidad de dilución, con el fin de crear un diagrama de productividad que tuvo como parámetro de bifurcación la velocidad de dilución, y representó una alimentación diferente con cada línea.

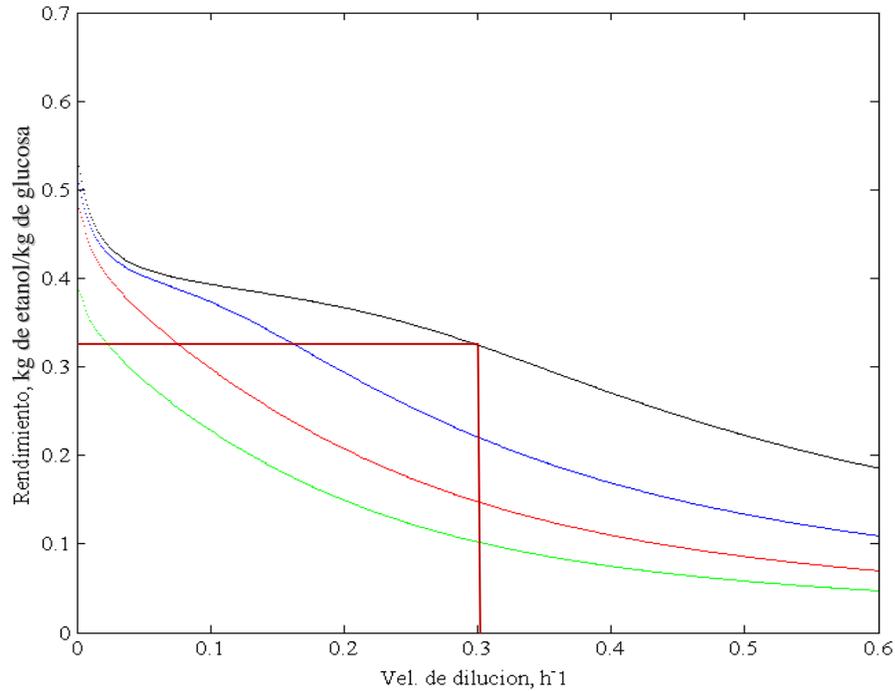
En la Figura 29 se ubicaron los valores finales del rendimiento para cada velocidad de dilución, para crear un diagrama de bifurcación de rendimiento utilizando como parámetro la velocidad de dilución y representando con cada línea una alimentación de sustrato diferente.

Figura 28. Diagrama de bifurcación para sistema de producción de etanol con *Saccharomyces cerevisiae*.  $C_{sf} = 80 \text{ kg/m}^3$  (negro),  $C_{sf} = 120 \text{ kg/m}^3$  (azul),  $C_{sf} = 160 \text{ kg/m}^3$  (verde),  $C_{sf} = 200 \text{ kg/m}^3$  (rojo).



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Figura 29. Diagrama de bifurcación para sistema de producción de etanol con *Saccharomyces cerevisiae*.  $C_{sf}=80 \text{ kg/m}^3$  (negro),  $C_{sf}=120 \text{ kg/m}^3$  (azul),  $C_{sf}=160 \text{ kg/m}^3$  (verde)  $C_{sf}=200 \text{ kg/m}^3$  (rojo).



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se observa en la Figura 29 (velocidad de dilución vs rendimiento) el alcance de altos rendimientos con una  $C_{sf}$  de  $80 \text{ kg/m}^3$ , esta concentración también consigue alta productividad, por lo tanto, está en un punto de equilibrio entre el rendimiento y la productividad; aunque a bajas velocidades de dilución, se alcanzó mejor productividad con  $C_{sf} = 120 \text{ kg/m}^3$  pero con una diferencia de rendimiento bastante marcada ( $0.07 \text{ kg}$  de etanol /  $\text{kg}$  de glucosa). Por otro lado, se observó que al operar con  $C_{sf}$  de  $80 \text{ kg/m}^3$ , bajo altas velocidades de dilución, el sistema alcanzó mayor rendimiento que con las otras concentraciones de sustrato alimentado en el rango evaluado. Por lo tanto, se determinó que éste valor ( $80 \text{ kg/m}^3$ ) debe ser la concentración de glucosa con la que debe alimentarse la etapa de fermentación, ya que esta concentración presentó, velocidades de dilución altas, y productividad mayor que las otras concentraciones de alimentación.

Se observó cómo todas las concentraciones presentaron un perfil de rendimiento con valores por debajo de  $0.51 \text{ kg}$  de etanol/ $\text{kg}$  de glucosa. Este valor máximo se relacionó con el rendimiento teórico GL (Gay Lussac), el cual se basa en la conversión estequiométrica

de una hexosa (glucosa) en etanol y gas carbónico; este valor es de 0.51 kg de etanol/kg de glucosa, cuantificado como un rendimiento ideal ya que en el proceso de fermentación la levadura utiliza la glucosa para producir otros metabolitos (Vázquez & Dacosta, 2007).

#### 4.6.4. Selección de la velocidad de dilución para la operación

En las Figuras 28 y 29, la velocidad de dilución que se seleccionó para la operación de la etapa de fermentación fue de  $0.3 \text{ h}^{-1}$  aunque su  $D_{max}$  sea de  $0.5480 \text{ h}^{-1}$ , debido a que para esta última el rendimiento disminuyó 0.11 kg de etanol / kg de glucosa, lo cual se debe a la inversa proporcionalidad entre el rendimiento y la productividad. El valor seleccionado permitió obtener un mayor equilibrio entre el rendimiento y la productividad, con valores de 0.33 kg de etanol/kg de glucosa y  $7.8 \text{ kg/h m}^3$ , respectivamente.

Además, se observó que con el valor seleccionado se obtuvo un buen rendimiento con respecto a la temperatura seleccionada, y una alta productividad según la  $C_{sf}$ . También, al no haberse encontrado multiplicidad de estados estables a través del rastreo dinámico y los diagramas de fase, permitió trabajar con este valor sin posibles caídas de rendimiento que ocasiona usualmente este fenómeno.

Por otro lado, en la Tabla 14 se presentan los resultados del diseño de la etapa de fermentación basado en un estudio de estabilidad del reactor planteado por Paz en el año 2010, respecto a las condiciones de operación seleccionadas en la presente investigación.

Tabla 14. Comparación de condiciones de operación de la etapa de fermentación.

	<b>Concentración de alimentación, <math>\text{kg/m}^3</math></b>	<b>Velocidad de dilución, <math>\text{h}^{-1}</math></b>	<b>Rendimiento, g de et./ g de gluc.</b>	<b>Productividad, <math>\text{kg/h m}^3</math></b>
Herrera, et al.	80	0.3	0.33	7.8
Paz	80	0.25	0.37	7.8

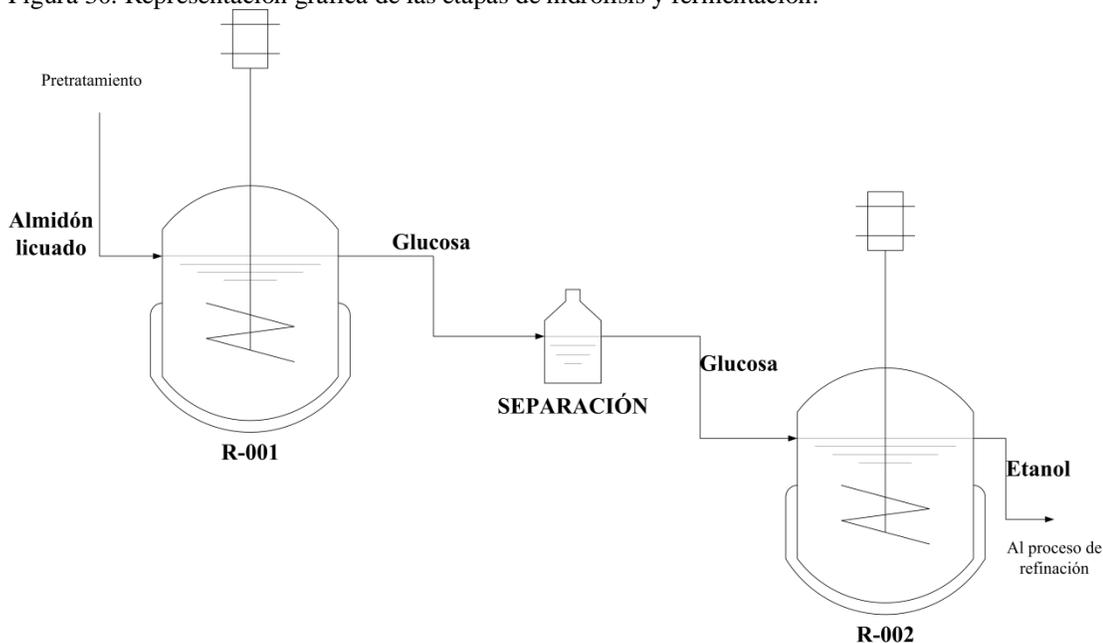
Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Se observó que la velocidad de dilución seleccionada en la presente investigación es mayor a la seleccionada por Paz, con lo cual se concluyó que el menor tiempo de residencia del volumen de reacción en el tanque redujo el rendimiento (0.33) de la etapa en comparación con lo reportado por Paz (0.37), aunque se garantizó una alta productividad ( $7.8 \text{ kg/h m}^3$ ), variable importante para la rentabilidad de los procesos industriales (Paz, 2010).

## 4.7. DISEÑO OPERACIONAL

A continuación se muestra el diagrama representativo para la producción de etanol a partir de almidón de yuca licuado con base a las etapas diseñadas en la investigación:

Figura 30. Representación gráfica de las etapas de hidrólisis y fermentación.



Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Con el fin de, contribuir al continuo mejoramiento de los procesos de producción de bioetanol en el país, y de aportar un mayor entendimiento sobre el diseño integral de sus etapas, en este trabajo, se desarrolló mediante simulación, un análisis coherente de la respuesta dinámica del sistema en la hidrólisis y la fermentación. Al aplicar este análisis, se proporcionaron los parámetros y condiciones operacionales para el diseño integral de las etapas de hidrólisis del almidón y fermentación de los azúcares en el proceso de producción de bioetanol, garantizando el alcance y mantenimiento de estados estables de alto rendimiento y productividad.

En las siguientes tablas se presenta un resumen de las condiciones de operación, resaltadas con negrita las condiciones seleccionadas en esta investigación:

Tabla 15. Parámetros de operación seleccionados para la etapa de hidrólisis.

<b>Hidrólisis (R-001)</b>	
amiloglucosidasa	
pH	4.5
Temperatura	45 °C
<b>Velocidad de dilución</b>	<b>1.4 h<sup>-1</sup></b>
<b>Concentración de sustrato en la alimentación</b>	<b>500 g/L</b>
<b>Productividad</b>	<b>657 g/ h L</b>
<b>Rendimiento</b>	<b>0.867 <math>\frac{g \text{ de glucosa}}{g \text{ de almidón}}</math></b>

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Tabla 16. Parámetros de operación seleccionados para la etapa de fermentación.

<b>Fermentación (R-002)</b>	
S. Cerevisiae	
pH	4.5
<b>Temperatura</b>	<b>34.6 °C</b>
<b>Velocidad de dilución</b>	<b>0.3 h<sup>-1</sup></b>
<b>Concentración de alimentación</b>	<b>80 kg/m<sup>3</sup></b>
<b>Productividad</b>	<b>7.8 kg/ h m<sup>3</sup></b>
<b>Rendimiento</b>	<b>0.33 <math>\frac{kg \text{ etanol}}{kg \text{ de glucosa}}</math></b>

Fuente: Elaborada en la presente investigación.

Para ambas etapas se determinaron las condiciones de operación que garantizan el alcance y mantenimiento de estados estables con alto rendimiento y productividad, minimizando los tiempos de estabilización de estos sistemas desde el arranque, al disponer de concentraciones de carga inicial iguales a las concentraciones de alimentación.

## 5. CONCLUSIONES

Se comprobó que el modelo cinético propuesto por Zanin y Moraes es acertado para la simulación y el diseño de la etapa de hidrólisis en un CSTR, pues describe el proceso de sacarificación mediante una compleja estructura de reacciones múltiples, soportada en expresiones cinéticas no lineales con un alto grado de complejidad que tienen en cuenta la resistencia del almidón licuado a ser hidrolizado, efectos de inhibición de sustrato y la aparición de productos intermedios; efectos que lo hicieron un modelo cinético realista para el diseño de la etapa a nivel industrial.

Se determinó que la etapa de hidrólisis modelada en CSTR a partir de las cinéticas propuestas por Zanin y compañía, posee una región de operación sin fenómenos de multiplicidad de estados estables, comprendida por los rangos de 80-1000 g/L para la concentración de sustrato en la alimentación y  $0.04-3.5 \text{ h}^{-1}$  para la velocidad de dilución.

La simulación dinámica de la etapa de hidrólisis permitió concluir que los tiempos de estabilización del sistema se pueden reducir mediante el arranque con condiciones de carga inicial de sustrato iguales a las de alimentación, ya que las concentraciones de carga distintas a la alimentación modifican la dinámica del arranque, tomando un tiempo extra en llegar a su concentración de equilibrio químico, y luego alcanzar la concentración del equilibrio dinámico del sistema (nodo estable).

Se determinó que la velocidad de dilución de  $1.4 \text{ h}^{-1}$  es la adecuada para el arranque y operación de la etapa de hidrólisis pues alcanza el mayor rendimiento para cualquier concentración de almidón alimentado entre 80 y 1000 g/L. La concentración de alimentación de sustrato seleccionada es 500 g/L debido a que con ésta se obtiene un equilibrio entre el alto rendimiento y la alta productividad del proceso, respectivamente, 0.867 g de glucosa/g de almidón y 657 g/h L.

Para la simulación y el diseño de la etapa de fermentación de la glucosa se estableció que es apropiado utilizar el modelo planteado por Andrade debido a que su estructura,

relativamente compleja, está basada en estructuras matemáticas no lineales y tiene en cuenta el efecto de la temperatura de operación en la producción continua de etanol a escala industrial.

Para el fermentador continuo modelado a partir de la cinética de Andrade, se determinó que en el rango de operación explorado (40 a 200 kg/m<sup>3</sup>) de glucosa, el sistema no mostró multiplicidad de estados estables, puesto que para cada concentración de alimentación se alcanzó un mismo nodo estable al evaluar el sistema con diferentes condiciones de arranque (carga inicial).

En la etapa de fermentación, la alimentación fresca de biomasa minimiza los tiempos de estabilización del sistema y permite obtener mayores concentraciones de producto que al operar sin alimentación de células. Además, se estableció que la concentración de carga inicial de la glucosa en el reactor debe ser igual a la concentración de sustrato en la alimentación, con el fin de alcanzar el estado estable del sistema rápidamente.

Para la etapa de fermentación se determinó que las condiciones de operación adecuadas en el arranque y operación son: la temperatura, la concentración de sustrato alimentado y la velocidad de dilución, con valores de 34.6 °C, 80 kg/m<sup>3</sup> y 0.3 h<sup>-1</sup>, respectivamente; Al operar bajo estas condiciones se garantizó el alcance y mantenimiento de un estado estable con un rendimiento de 0.33 kg glucosa / kg etanol y productividad de 7.8 kg/h m<sup>3</sup>.

## **6. RECOMENDACIONES**

Utilizar herramientas que permitan realizar un análisis más profundo de la estabilidad del sistema, con el fin de verificar que no existen otras regiones estables con mayor rendimiento y productividad.

Complementar el diseño del proceso de producción de etanol a partir de yuca amarga mediante el diseño de las etapas de pre-tratamiento del almidón, separación de la corriente de entrada al proceso de fermentación y la posterior refinación del etanol en la corriente de salida de esta última etapa, con miras al montaje de plantas de producción en el Departamento de Bolívar.

Probar modelos cinéticos distintos a los utilizados, que cumplan con el criterio de complejidad (no linealidad), evaluando diferentes condiciones a las analizadas en esta investigación.

Realizar una aplicación experimental en una planta que esté operando actualmente para verificar las condiciones de arranque y operación que se obtuvieron en este trabajo.

Realizar un estudio experimental con el fin de determinar un modelo cinético complejo que relacione los efectos importantes para el diseño de cada una de las etapas.

## REFERENCIAS

- AGRONET. (2006). Yuca en producción de etanol. En [www.cadenahortofruticola.org](http://www.cadenahortofruticola.org), *Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario* (pág. 14). [http://www.agronet.gov.co/www/docs\\_si2/2006718143257\\_Yuca%20en%20prduccion%20de%20etanol.pdf](http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/2006718143257_Yuca%20en%20prduccion%20de%20etanol.pdf).
- Alarcón, F., & Dufour, D. (1998). *Almidón agrio de yuca en Colombia*. Cali: CIAT.
- Andrade, R. E. (2007). Estimation of temperature dependent parameters of a batch alcoholic fermentation process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 753-763.
- Asocaña. (3 de Febrero de 2012). *Balance azucarero colombiano - Asocaña 2000 -2011*. Obtenido de [www.asocana.org](http://www.asocana.org): <http://www.asocana.org/documentos/622012-562C3AA5-2D2D2D,B9B9B9.xls>
- Atala, D. I., Costa, A. C., Maciel, R., & Maugeri, F. (2001). Kinetics of ethanol fermentation with high biomass concentration considering the effect of temperature. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 353-365.
- Bai, F. (2007). *Process oscillations in continuous ethanol fermentation with Saccharomyces cerevisiae*. University of Waterloo, Waterloo.
- Banga, J., Balsa-Canto, E., Moles, C., & Alonso, A. (2005). Dynamic optimization of bioprocesses: Efficient and robust numerical strategies. *Journal of Biotechnology*, 407-419.
- Biblioteca Virtual del Banco de la República. (13 de Julio de 2005). *Agricultura*. Obtenido de Biblioteca Luis Angel Arango: <http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/ayudadetareas/geografia/geo93.htm>
- BIRD. (2008). *Potencial de Biocombustibles en Antioquia*. Antioquia: Banco de Iniciativas Regionales para el Desarrollo de Antioquia.

Camili, E. A. (2010). *Parâmetros operacionais do processo de produção de etanol a partir de polpa de mandioca. Tesis Doctoral*. Universidade Estadual Paulista Julio De Mesquita Filho, Sao Paulo, Botucatu.

Campbell, M. K., & Farrell, S. O. (2004). *Bioquímica*. México: Cengage Learning Editores.

CONPES, C. n. (2008). *Departamento nacional de planeación*. Obtenido de <http://www.dnp.gov.co/CONPES.aspx>

Copelo, J. (Noviembre de 2007). *La industria del etanol*. Obtenido de <http://www.agro.uba.ar>: [http://www.agro.uba.ar/apuntes/no\\_6/etanol.htm](http://www.agro.uba.ar/apuntes/no_6/etanol.htm)

Elnashaie, P. G. (2003). *Conservation equations and modeling of chemical and biochemical process*. New York: Marcel - Dekker, Inc.

FedeBiocombustibles. (2012). *Cifras informativas del sector de biocombustibles*. Federación nacional de Biocombustibles de Colombia.

FedeBiocombustibles. (24 de Febrero de 2012). <http://www.fedebiocombustibles.com>. Obtenido de <http://www.fedebiocombustibles.com/v2/main-pagina-id-5.htm>

Fogler, H. S. (2008). Elementos de ingeniería de las reacciones químicas. En H. S. Fogler, *Elementos de ingeniería de las reacciones químicas* (págs. 216-216). Massachusetts: Pearson Education.

Garhyan, P., & Elnashaie, S. (2004). Static/Dynamic Bifurcation and Chaotic Behavior of an Ethanol Fermentor. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 1260-1273.

González, P., Camacho, F., Jurado, E., & Sánchez, R. (1990). Cinética de la hidrólisis de almidón soluble con glucoamilasa. *Anales de química*, 86(7), 728-732.

GPC. (2012). *Complejo Agroindustrial Cantacclaro*. Obtenido de [www.gpc.com.co](http://www.gpc.com.co): [http://www.gpc.com.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=44&Itemid=48](http://www.gpc.com.co/index.php?option=com_content&view=article&id=44&Itemid=48)

Guadix, A., Guadix, E., Paez, M. P., & González, P. y. (10 de 12 de 2009). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. (M. D. Ruiz-López, Ed.) *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 79-89.

Gustafson, G. (22 de Junio de 2006). *Grant Gustafson's Home Page*. Recuperado el 9 de Agosto de 2012, de UUMath - Home - University of Utah: [www.math.utah.edu/~gustafso/2250phaseline.pdf](http://www.math.utah.edu/~gustafso/2250phaseline.pdf)

Kuznetsov, Y. (2004). *Elements of applied bifurcation theory*. N. Y.: Springer Verlag.

Lee, C.-G., Kim, C., & Rhee, S. (1992). A kinetic model and simulation of starch saccharification and simultaneous ethanol fermentation by amyloglucosidase and *Zymomonas mobilis*. *Bioprocess Engineering*, 335-341.

Lei, F., Rotboll, M., & Jorgensen, S. (2001). A biochemically structured model for *Sacchromyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 205-221.

Lenbury, Y., Neamvong, A., Amornsamankul, S., & Puttapiban, P. (1999). Modelling effects of high product and substrate inhibition on oscillatory behavior in continuous bioreactors. *Biosystems* 49, 191-203.

Liu, S. (2013). *Bioprocess Engineering*. Amsterdam, Netherlands.

Loaiza, M. (17 de Mayo de 2006). *Diseño y simulación de un criptosistema caótico para comunicaciones seguras*. Cholula, Puebla, Mexico.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (septiembre de 2006). *Estrategia de desarrollo de biocombustibles: implicaciones para el sector agropecuario*. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (29 de febrero de 2012). *Biocombustibles*. Obtenido de [www.minagricultura.gov.co](http://www.minagricultura.gov.co): <http://www.minagricultura.gov.co/02componentes/05biocombustible.aspx>

- Morales, S., Álvarez, H., & Sánchez, C. (2008). Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch. *Food and bioproducts processing*, 25-30.
- Orrego, C. E., Cetina, D. M., & Hernández, Ó. D. (2009). Producción enzimática de biodiesel. En C. A. Cardona A., *Avances investigativos en la producción de biocombustibles* (págs. 27-28). Manizalez: Arcano.
- Ospina, B., & Ceballos, H. (2002). *La Yuca en el tercer milenio*. Cali: CIAT.
- Pavlo, S. (1999). Computing operating diagrams of bioreactors. *Journal of Biotechnology*, 7-16.
- Paz, I. C. (2010). *Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado Aplicados a Procesos de Fermentación. Tesis Doctoral*. Universidad Nacional sede Manizales, Manizales.
- Paz, I. C., & Cardona, C. A. (2009). Estabilidad de biorreactores para producción de etanol. En C. A. Cardona A., *Avances investigativos en la producción de biocombustibles*. Manizales: Arcano.
- Paz, I. C., & Cardona, C. A. (10 de Enero de 2011). Importance of stability study of continuous systems for ethanol production. *Journal of Biotechnology*, págs. 43–55.
- PROURE, P. d. (2010). *Ministerio de minas y energía*. Obtenido de [http://www.minminas.gov.co/minminas/energia.jsp?cargaHome=3&id\\_categoria=213](http://www.minminas.gov.co/minminas/energia.jsp?cargaHome=3&id_categoria=213)
- Secretarías de Agricultura Departamentales - UMATA. (2006-2007). *Evaluaciones Agropecuarias municipales*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Trejos, V. M., Fontalvo, J., & Gómez, M. A. (Junio de 2009). Descripción matemática y análisis de estabilidad de procesos fermentativos. *DYNA*, 76(158), 111-121.
- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII*, 249-259.

Walas, S. (1999). *Reaction Kinetics for Chemical Engineers*. Kansas-city: Mc Graw-Hill.

Wittrup, D. (2007). *MIT OpenCourseWare*. Recuperado el 03 de 02 de 2013, de [http://ocw.mit.edu/courses/chemical-engineering/10-37-chemical-and-biological-reaction-engineering-spring-2007/lecture-notes/lec09\\_03072007\\_w.pdf](http://ocw.mit.edu/courses/chemical-engineering/10-37-chemical-and-biological-reaction-engineering-spring-2007/lecture-notes/lec09_03072007_w.pdf)

Zanin, G. M., & Moraes, F. F. (1997). Modeling Fixed and Fluidized Reactors for Cassava Starch Saccharification with Immobilized Enzyme. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 527-540.

# **ANEXOS**

## ANEXO A

### EXPRESIONES MATEMATICAS PARA LAS VELOCIDADES DE REACCIÓN POR COMPONENTE EN LA ETAPA DE HIDRÓLISIS.

Velocidad de Hidrólisis de Oligosusceptibles,  $r_4$ :

$$r_4 = \frac{V_{m4} E G_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{G}{K_i} \right) + G_4 + \frac{G_2 K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{G_3 K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{G_6 K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{G_4^2}{K_s} \right]}$$

Velocidad de Hidrólisis de Oligoresistente,  $r_6$ :

$$r_6 = \frac{V_{m6} E G_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{G}{K_i} \right) + G_6 + \frac{G_2 K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{G_3 K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{G_4 K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{G_6^2}{K_s} \right]}$$

Velocidad de Hidrolisis Maltotriosa  $r_3$ :

$$r_3 = \frac{V_{m3} E \left( G_3 - \frac{G_2 G}{K_{eq3}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{G}{K_i} \right) + G_3 + \frac{G_2 K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{G_4 K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{G_6 K_{m3}}{K_{m6}} \right]}$$

En equilibrio:  $K_{eq3} = (G_{2eq} G_{eq}) / G_{3eq} = \left( \frac{mol}{L} \right)$

Velocidad de Hidrolisis Maltosa  $r_2$ :

$$r_2 = \frac{V_{m2} E \left( G_2 - \frac{G^2}{K_{eq2}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{G}{K_i} \right) + G_2 + \frac{G_3 K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{G_4 K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{G_6 K_{m2}}{K_{m6}} \right]}$$

En equilibrio:  $K_{eq2} = G_{eq}^2 / G_{2eq}$

Velocidad de formación (reacción de condensación) de Isomaltosa,  $r_I$ :

$$r_I = V_{IM} E \left( G^2 - \frac{G_I}{K_{eqI}} \right)$$

En equilibrio:

$$K_{eq} = \frac{G_{Ieq}}{G_{eq}^2}$$

Fuente: Zanin, G. M., & Moraes, F. F. (1997). Modeling Fixed and Fluidized Reactors for Cassava Starch Saccharification with Immobilized Enzyme. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 527-540.

## ANEXO B

### CONSTANTES DEL MODELO CINÉTICO DE HIDRÓLISIS

$$T = 45^{\circ}\text{C};$$

$$\text{pH} = 4.5$$

$$n = 5$$

$$\varepsilon = 0.556$$

$$\rho_p = 0.939 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} = 939 \frac{\text{g}}{\text{L}}$$

$$E = \frac{M_e}{V_L} = \frac{M_e}{V_T \varepsilon} = \frac{\rho_p (1 - \varepsilon)}{\varepsilon} = \frac{\text{g}_{\text{IE}}}{\text{L}}$$

$$V_{m4} = 0.01587 \frac{\text{moles}}{\text{h g}_{\text{IE}}}$$

$$V_{m2} = 0.09814 \frac{\text{moles}}{\text{h g}_{\text{IE}}}$$

$$V_{m6} = 0.07940 \frac{\text{moles}}{\text{h g}_{\text{IE}}}$$

$$V_{m3} = 0.01963 \frac{\text{moles}}{\text{h g}_{\text{IE}}}$$

$$V_{\text{IM}} = 0.00001378 \frac{\text{L}^2}{\text{mol h g}_{\text{IE}}}$$

$$K_{m4} = 0,004916 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{m3} = 0,004916 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{m6} = 0,004916 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{m2} = 0,003 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_s = 0,2395 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_i = 0,03 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{eq2} = 200 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{eq1} = 0,0544 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$K_{eq3} = 8 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Fuente: Zanin, G. M., & Moraes, F. F. (1997). Modeling Fixed and Fluidized Reactors for Cassava Starch Saccharification with Immobilized Enzyme. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 527-540.

## ANEXO C

### NOMENCLATURA ETAPA DE HIDRÓLISIS

T: Temperatura.

pH: Potencial de hidrógeno.

n: Grado de polimerización.

$\epsilon$ : Porosidad del lecho.

$\rho_p$ : Densidad de la partícula.

E: Masa de catalizador por líquido intersticial.

f: es la relación del peso molecular de la anhidroglucosa entre el peso molecular de la glucosa.

C: Concentración molar de glucosa.

$C_2$ : Concentración molar de la maltosa.

$C_3$ : Concentración molar de la maltotriosa.

$C_4$ : Concentración molar de los oligosacáridos susceptibles.

$C_6$ : Concentración molar de los oligosacáridos resistentes.

$C_I$ : Concentración molar de la isomaltosa.

$C_{eq}$ ,  $C_{eq2}$ ,  $C_{eq3}$ ,  $C_{eqI}$ : Concentración molar de equilibrio para la glucosa, maltosa, maltotriosa e isomaltosa.

$K_{m2}$ ,  $K_{m3}$ ,  $K_{m4}$ ,  $K_{m6}$ : Constantes de Michaelis-Menten para la maltosa, maltotriosa, oligosacáridos susceptibles y resistentes, respectivamente.

$K_s$ : Constante de inhibición por sustrato.

$K_i$ : Constante de inhibición aparente para glucosa.

$K_{eq2}, K_{eq3}, K_{eqI}$ : Constantes de equilibrio para la maltosa, maltotriosa e isomaltosa, respectivamente.

$M_c$ : Masa de enzima inmovilizada.

$r_2, r_3, r_4, r_6, r_I$ : Velocidad de reacción para la maltosa, maltotriosa, oligo-susceptibles, oligo-resistentes e isomaltosa.

$V$ : Velocidad inicial de producción de glucosa.

$V_L$ : Volumen líquido intersticial.

$V_{m2}, V_{m3}, V_{m4}, V_{m6}$ : Constantes de velocidad máxima asociada con la velocidad de reacción de maltosa, maltotriosa, oligosacáridos susceptibles y resistentes, respectivamente.

$V_{IM}$ : Constantes de velocidad de segundo grado para la isomaltosa.

Fuente: Zanin, G. M., & Moraes, F. F. (1997). Modeling Fixed and Fluidized Reactors for Cassava Starch Saccharification with Immobilized Enzyme. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 527-540.

## ANEXO D

### CÁLCULO DEL PESO MOLECULAR DEL ALMIDÓN LICUADO

A partir de  $n = 5$ , se tiene:

$$MW_{\text{almidón licuado}} = 180n - 18(n - 1) = 828 \text{ g/mol (Lee, Kim, \& Rhee, 1992)}$$

Fuente: Lee, C.; Kim, C.; Rhee, S. A kinetic model and simulation of starch saccharification and simultaneous ethanol fermentation by amyloglucosidase and *Zymomonas mobilis*. *Bioprocess Engineering*. 335-341.

## ANEXO E

### BALANCES DE MOLES POR COMPONENTES PARA LA ETAPA DE HIDRÓLISIS

Se plantean los balances de masa por componente de la siguiente manera:

- Balance de Oligosusceptibles ( $C_4$ ):

$$D(C_{4f} - C_4) + r_{4N} = \frac{dC_4}{dt} \quad \text{Ec. ( 54)}$$

$$D(C_{4f} - C_4) - r_4 = \frac{dC_4}{dt} \quad \text{Ec. ( 55)}$$

$D(C_{4f} - C_4) - \frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2 K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6 K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} = \frac{dC_4}{dt}$	
---	--

- Balance de Oligoresistentes ( $C_6$ ):

$$D(C_{6f} - C_6) + r_{6N} = \frac{dC_6}{dt} \quad \text{Ec. ( 56)}$$

$$D(C_{6f} - C_6) - r_6 = \frac{dC_6}{dt} \quad \text{Ec. ( 57)}$$

$D(C_{6f} - C_6) - \frac{V_{m6}EC_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2 K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} = \frac{dGC_6}{dt}$	Ec. ( 58)
--	-----------

- Balance de Maltotriosa ( $C_3$ ):

$$D(C_{3f} - C_3) + r_{3N} = \frac{dC_3}{dt} \quad \text{Ec. ( 59)}$$

$$D(C_{3f} - C_3) + r_4 + r_6 - r_3 = \frac{dC_3}{dt} \quad \text{Ec. ( 60)}$$

$$\begin{aligned}
& D(C_{3f} - C_3) + \frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2 K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6 K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} + \\
& \frac{V_{m6}EC_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2 K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3 K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} - \\
& \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2 C}{K_{eq3}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2 K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4 K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m3}}{K_{m6}} \right]} = \frac{dC_3}{dt}
\end{aligned} \quad \text{Ec. ( 61)}$$

Balance de Maltosa ( $C_2$ ):

$$D(C_{2f} - C_2) + r_{2N} = \frac{dC_2}{dt} \quad \text{Ec. ( 62)}$$

$$D(C_{2f} - C_2) + r_3 - r_2 = \frac{dC_2}{dt} \quad \text{Ec. ( 63)}$$

$$\begin{aligned}
& D(C_{2f} - C_2) + \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2 C}{K_{eq3}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2 K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4 K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m3}}{K_{m6}} \right]} \\
& - \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{K_{eq2}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3 K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m2}}{K_{m6}} \right]} = \frac{dC_2}{dt}
\end{aligned} \quad \text{Ec. ( 64)}$$

$$\begin{aligned}
& D(C_{2f} - C_2) + \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2 C}{\frac{C_{2eq} C_{eq}}{C_{3eq}}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2 K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4 K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m3}}{K_{m6}} \right]} \\
& - \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{C_{eq}^2 / C_{2eq}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3 K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{C_4 K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6 K_{m2}}{K_{m6}} \right]} = \frac{dC_2}{dt}
\end{aligned} \quad \text{Ec. ( 65)}$$

- Balance de Isomaltosa ( $C_I$ ):

$$D(C_{I_f} - C_I) + r_{IN} = \frac{dC_I}{dt} \quad \text{Ec. ( 66)}$$

$$D(C_{I_f} - C_I) + r_I = \frac{dC_I}{dt} \quad \text{Ec. ( 67)}$$

$$D(C_{I_f} - C_I) + V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{K_{eqI}} \right) = \frac{dC_I}{dt} \quad \text{Ec. ( 68)}$$

$$\boxed{D(C_{I_f} - C_I) + V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{\frac{C_{I_{eq}}}{C_{eq}^2}} \right) = \frac{dC_I}{dt}} \quad \text{Ec. ( 69)}$$

- Balance de Glucosa (C):

$$D(C_f - C) + r_{GN} = \frac{dC}{dt} \quad \text{Ec. ( 70)}$$

$$D(C_f - C) + (n - 3)(r_4 + r_6) + r_3 + 2(r_2 - r_1) = \frac{dC}{dt} \quad \text{Ec. ( 71)}$$

$$\boxed{D(C_f - C) + (n - 3) \left( \frac{\frac{V_{m4}EC_4}{\left[ K_{m4} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_4 + \frac{C_2K_{m4}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m4}}{K_{m3}} + \frac{C_6K_{m4}}{K_{m6}} + \frac{C_4^2}{K_s} \right]} + \frac{V_{m6}EG_6}{\left[ K_{m6} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_6 + \frac{C_2K_{m6}}{K_{m2}} + \frac{C_3K_{m6}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m6}}{K_{m4}} + \frac{C_6^2}{K_s} \right]} \right) + \frac{V_{m3}E \left( C_3 - \frac{C_2C}{C_{2eq}C_{eq}} \right)}{\left[ K_{m3} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_3 + \frac{C_2K_{m3}}{K_{m2}} + \frac{C_4K_{m3}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m3}}{K_{m6}} \right]} + 2 \left( \frac{V_{m2}E \left( C_2 - \frac{C^2}{\frac{C_{eq}}{C_{eq}^2}} \right)}{\left[ K_{m2} \left( 1 + \frac{C}{K_i} \right) + C_2 + \frac{C_3K_{m2}}{K_{m3}} + \frac{C_4K_{m2}}{K_{m4}} + \frac{C_6K_{m2}}{K_{m6}} \right]} - V_{IM}E \left( C^2 - \frac{C_I}{\frac{C_{I_{eq}}}{C_{eq}^2}} \right) \right) = \frac{dC}{dt}} \quad \text{Ec. ( 72)}$$

Fuente: Elaborado en la presente investigación.

## ANEXO F

### EXPRESIONES MATEMATICAS PARA LAS VELOCIDADES DE REACCIÓN POR COMPONENTE EN LA ETAPA DE FERMENTACIÓN.

Velocidad para Crecimiento de Células:

$$r_X = \mu_{\max} \left( \frac{C_S}{K_S + C_S} \right) e^{-K_I \cdot C_S} \left( 1 - \frac{C_X}{X_{\max}} \right)^m \left( 1 - \frac{C_P}{P_{\max}} \right)^n C_X$$

Velocidad para Producto:

$$r_P = Y_{pX} r_X + m_p C_X$$

Velocidad para Sustrato:

$$r_S = \frac{r_X}{Y_X} + m_X C_X$$

Fuente: Andrade, R. E. (2007). Estimation of temperature dependent parameters of a batch alcoholic fermentation process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 753-763.

## ANEXO G

### FÓRMULAS PARA EL CÁLCULO DE LA PRODUCTIVIDAD Y EL RENDIMIENTO

- *Productividad* ( $P_p$ )

$$P_p = C_p * D$$

Donde,  $C_p$ : Concentración de producto de interés

D: Velocidad de dilución.

#### HIDRÓLISIS

- *Rendimiento*

$$Y_{\text{glucosa}} = f * \frac{C_{\text{glucosa}} - C_{\text{glucosa}_0}}{C_{\text{Almidón}_0} - C_{\text{Almidón}}}$$

Donde, f: es la relación del peso molecular de la anhidroglucosa entre el peso molecular de la glucosa.

#### FERMENTACIÓN

- *Rendimiento*

$$Y_{\text{etanol}} = \frac{C_{\text{etanol}}(\textit{producido})}{C_{\text{glucosa}}(\textit{alimentado})}$$

Fuente: Fogler, H. Scott. Elementos de ingeniería de las reacciones químicas. Pearson Education. 2008. Massachusetts.

## ANEXO H

### NOMENCLATURA DE LA ETAPA DE FERMENTACIÓN

D: Velocidad de dilución.

$K_i$ : Coeficiente de inhibición por sustrato.

$K_s$ : Parámetro de inhibición por sustrato.

m: Parámetro que se utiliza para describir la inhibición celular.

$m_p$ : Producción de etanol asociada con el crecimiento.

$m_x$ : Parámetro de mantenimiento.

n: Parámetro para describir la inhibición por producto.

$C_p$ : Concentración de producto.

$P_{max}$ : Concentración de producto cuando la célula cesa de crecer.

$r_p, r_s, r_x$ : Velocidad de reacción de producto, sustrato y biomasa.

$C_s$ : Concentración de sustrato.

T: Temperatura dentro del fermentador.

$C_x$ : Concentración de biomasa.

$X_{max}$ : Concentración de biomasa cuando la célula cesa de crecer.

$Y_{px}$ : Rendimiento de producto basado en el crecimiento celular.

$Y_x$ : Rendimiento que limita la célula.

$\mu_{max}$ : Velocidad de crecimiento máximo específico.

Fuente: Andrade, R. E. (2007). Estimation of temperature dependent parameters of a batch alcoholic fermentation process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 753-763..