

Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas

Facultad de Ingeniería Eléctrica

Departamento de Automática y Sistemas Computacionales



TRABAJO DE DIPLOMA

**Modelado de la Fermentación de Hidrolizados de
Bagazo de Caña de Azúcar por *S. Cerevisae* para la
Producción de Bioetanol en un Biorreactor Minifors.**

Autor: Víctor Yanes Guillén

Tutores: Dr.C. Boris Luis Martínez Jiménez

Ing. Luis R. Martínez Veitía

Santa Clara

2014

“Año 56 de la Revolución ”

Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
Facultad de Ingeniería Eléctrica
Departamento de Automática y Sistemas Computacionales



TRABAJO DE DIPLOMA

**Modelado de la Fermentación de Hidrolizados de
Bagazo de Caña de Azúcar por *S. Cerevisae* para la
Producción de Bioetanol en un Biorreactor Minifors.**

Autor: Víctor Yanes Guillén

Email: vyanes@uclv.edu.cu

Tutores: Dr.C. Boris Luis Martínez Jiménez

Dpto.de Automática, Facultad de Ing. Eléctrica, UCLV

Email: boris@uclv.edu.cu

Ing. Luis Martínez Veitía

Dpto.de Automática, Facultad de Ing. Eléctrica, UCLV

Email: Luism@uclv.edu.cu

Consultante: Dr.C. Leyanis Mesa Garriga

Dpto.de Microbiología, Facultad de Ing. Química, UCLV

Email: leyanimg@uclv.edu.cu

Santa Clara

2014

“Año 56 de la Revolución ”



Hago constar que el trabajo de diploma:

realizado en la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas (UCLV) como parte de la culminación de estudios de la especialidad de Ingeniería en Automática, resulta de titularidad exclusiva de la UCLV y el mismo puede ser utilizado por la Institución para los fines que estime conveniente, tanto de forma parcial como total, y que además no podrá ser presentado en eventos ni publicados sin autorización de la Universidad.

En los casos en que sea autorizado, la publicación total, parcial o la elaboración de cualquier obra que se derive de esta investigación, cuenta con la co-autoría del tutor y este trabajo resulta de referencia obligada. El incumplimiento de esta cláusula, puede llevar consigo el inicio de procesos de plagio. Todo lo anterior de acuerdo a la normativa de Derecho de Autor vigente en Cuba

Autor (Nombre y firma)

Los abajo firmantes certificamos que el presente trabajo ha sido realizado según acuerdo de la dirección de nuestro centro y el mismo cumple con los requisitos que debe tener un trabajo de esta envergadura referido a la temática señalada.

Autor (Nombre y firma)

Tutor (Nombre y firma)

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, ____ de _____ de 20____

PENSAMIENTO

***“El camino más largo comienza por el primer paso
y la satisfacción no se encuentra en llegar a la meta sino en lo que
aprendemos para poder llegar a ella”***

DEDICATORIA

A mi familia grande, a mi hijo, a los que no pudieron...

A quienes creyeron incondicionalmente en mí.

AGRADECIMIENTOS

*A todas las personas que se han cruzado en mi camino, por sus enseñanzas,
GRACIAS y que dios les multiplique lo que me deseen.*

*A los que han estado a mi lado en cada momento difícil, miles de
bendiciones y mi eterno agradecimiento.*

*A lo bello, a lo feo, a lo bueno, a lo malo, porque la diferencia solo está en los
ojos con que miramos.*

*Y por último a la maestra más sabia: a la vida, que nos permite trazar un
destino que irremediablemente nunca podemos volver atrás. Por todo,*

GRACIAS

RESUMEN

A menudo la dinámica y cinética de los procesos fermentativos son poco conocidas debido a las variaciones en el comportamiento de los microorganismos, a lo que se une la dificultad de lograr condiciones adecuadas que permitan alcanzar altos índices de eficiencia y calidad. Esto define la situación problemática de este trabajo constituida por la carencia de un modelo matemático que se adecue al sistema bajo estudio. Este modelo posee una notable importancia en la comprensión de las fermentaciones en lotes de bagazo de caña hidrolizado para la obtención de etanol.

En este trabajo se desarrolla un modelo matemático a partir de balances de energía y masa. Dicho modelo fue simulado lo que permitió realizar un análisis de los parámetros de salida del sistema y evidenció que el comportamiento de cada uno de ellos se ajusta al proceso discontinuo que se llevó a cabo.

El modelo desarrollado en MATLAB para la obtención del modelo simulado resultó ser de gran utilidad, y puede generalizarse hacia el estudio de otros procesos fermentativos en biorreactores. El estudio desarrollado deja el camino abierto a otras investigaciones como el control y la estimación de parámetros.

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. BIORREACTORES, FERMENTADORES POR EXCELENCIA	6
1.1. La fermentación como bioproceso.	6
1.1.1 Concepto de fermentación.	7
1.1.2 Tipos de fermentación.....	7
1.2. El biorreactor como reactor químico.....	8
1.2.1 Biorreactores químicos.	9
1.2.2 Principales parámetros físico-químicos a monitorear y controlar en un biorreactor.....	12
1.3. Proceso fermentativo del bagazo de caña.	16
1.4. Desafíos para la instrumentación y control en los biorreactores.	17
1.5. Consideraciones finales.	18
CAPÍTULO 2. MODELADO DEL PROCESO.....	20
2.1. Fabricante de biorreactores INFORS HT.....	21
2.1.1 El biorreactor MINIFORS INFORS. AG.CH.41-03.	21
2.2. Especificaciones técnicas de los biorreactores tipo MINIFORS CELL.	22
2.3. Fermentación de bagazo de caña hidrolizado.	23
2.4. Pérdida de control en las reacciones exotérmicas.	26
2.4.1 Consecuencias de una reacción fuera de control.	26

2.4.2 Factores a tener en cuenta.	27
2.5. La importancia de la temperatura en la fermentación.....	28
2.5.1 Problemas para el control de temperatura.	29
2.6. Modelado de sistemas.....	30
2.6.1 Modelo matemático del proceso.	31
2.6.2 Ecuaciones del modelo.....	32
2.6.3 Dependencia del factor de crecimiento (μ) de factores ambientales.....	38
2.7. Consideraciones finales.....	39
CAPÍTULO 3. SIMULACIÓN Y ANÁLISIS DEL MODELO	41
3.1. Procedimiento aplicado en la fase fermentativa del proceso.....	41
3.2. Modelo Simulink.	42
3.3. Datos del proceso.....	43
3.4. Simulaciones del modelo.....	45
3.5. Aplicación de una variante de control sobre el modelo.	47
3.6. Análisis económico.....	50
3.7. Consideraciones finales.....	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	59

INTRODUCCIÓN

Sobre el proceso de fermentación se han realizado una gran cantidad de estudios por la gran relevancia que tiene para la economía sus aplicaciones a nivel industrial. En la facultad de Química-Farmacia de nuestro centro (Universidad Central Marta Abreu de Las Villas-UCLV) lugar donde se forman los profesionales de nivel superior en esta rama de las ciencias se siguen llevando a cabo investigaciones a escala de laboratorio para el desarrollo en este campo. Para ello cuentan con un equipamiento moderno que se encuentra al más alto nivel tecnológico dentro del cual se encuentra un biorreactor perteneciente a la familia de reactores que produce la compañía INFORS HT, producido en el 2012, el INFORS AG.CH41-03 que les ha permitido profundizar en la obtención de alcoholes y biomasa como productos de interés de las fermentaciones que en este equipo se producen.

Muchas han sido las técnicas de control que se han aplicado a los procesos biotecnológicos, las cuales van desde el simple control *on/off*, pasando por las técnicas de control tradicional como el popular regulador proporcional integral derivativo (PID), hasta las técnicas de control avanzadas como el control inteligente y el control predictivo. La mayoría de estas técnicas requieren un modelo adecuado durante el proceso de síntesis del sistema de control y todas se emplean para un mismo fin: mantener un control adecuado de las principales variables del proceso.

Construir modelos para sistemas desconocidos es un objetivo importante de la Ingeniería de Control. Estos modelos se utilizan para simular el comportamiento real en los casos en que existe un conocimiento previo limitado de la estructura del

sistema, en algoritmos de control, entre otras. Además permite la actualización de las técnicas de automatización y control de procesos a un costo mínimo, mediante la implementación de estrategias avanzadas de control y la estimación de parámetros.

Por otro lado, el bagazo de caña de azúcar es un material lignocelulósico (MLC) de gran interés para la producción de etanol en Cuba sin afectar la producción de alimentos y de gran importancia en el mercado mundial de combustibles. Durante el proceso, ocurre la degradación de los azúcares y se forman subproductos inhibitorios de la fermentación alcohólica, es por ello que los microorganismos empleados en la fermentación de MLC deben producir etanol con un alto rendimiento y productividad, y hacer resistencia a los inhibidores presentes en estos compuestos.

Un organismo muy utilizado para la realización de este proceso es la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* debido a que es un microorganismo de fácil manipulación, recuperación y cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares y tiene una alta viabilidad celular. Esta levadura en fase aerobia se caracteriza por una mayor producción de biomasa y en la anaerobia, de alcohol.

Para la fermentación de bagazo de caña, el proceso consiste en cinco etapas fundamentales: pretratamiento, hidrólisis, prefermentación, fermentación y destilación. De estas etapas presenta una gran relevancia la prefermentación, donde se activa la levadura para que alcance su máximo reproductivo, y la fermentación, la más importante debido a que en ella se obtienen productos de marcado interés económico (biomasa y etanol). Aún conociéndose la importancia del proceso en general, estas dos etapas constituyen un área en que se han realizado pocas investigaciones en la UCLV y quienes las realizan cuentan con muy poca información.

Del análisis anterior resalta la necesidad de realizar estudios sobre la fermentación de bagazo de caña para la obtención de etanol, unido a la importancia de un

adecuado funcionamiento del proceso para lograr altos índices de calidad y rendimiento que permitan llevar el desarrollo del mismo a un nivel industrial, se establece como **situación problemática**: la carencia de un modelo matemático que describa el comportamiento de la dinámica y cinética del biorreactor INFORS AG.CH41-03 durante la fermentación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar.

Luego de realizada la revisión bibliográfica, teniendo en cuenta las posibles respuestas a la problemática, se plantea la siguiente **hipótesis** de investigación: *la obtención del modelo matemático que describa la dinámica y cinética del biorreactor INFORS AG.CH41-03 para el proceso de fermentación en lotes de bagazo de caña hidrolizado para la obtención de etanol permitirá, mediante la implementación de estrategias de control, la mejora continua en el funcionamiento de este equipo para su uso en fermentaciones a nivel de laboratorio y ayudará a elevar la eficiencia y rendimiento de estos procesos.*

Dentro de este contexto, se pretende con el trabajo de investigación, cumplir con los siguientes **objetivos**:

Objetivo general: Obtener el modelo matemático que describa la dinámica y cinética del biorreactor INFORS AG.CH41-03 para el proceso de fermentación en lotes de bagazo de caña hidrolizado para la obtención de bioetanol usando *S. Cerevisae* como organismo productor.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar los procesos fermentativos y el uso de los biorreactores en los mismos.
2. Realizar la descripción técnica del biorreactor INFORS.AG:CH.41-03.
3. Describir el proceso de fermentación en lotes de bagazo de caña hidrolizado para la obtención de etanol y los principales problemas para su adecuado funcionamiento.
4. Definir el modelo matemático del proceso bajo estudio.

5. Realizar simulaciones del modelo desarrollado mediante el uso de la herramienta de MATLAB.
6. Analizar los resultados obtenidos a partir de las simulaciones.

Organización del informe

Este trabajo de diploma incluye una introducción, tres capítulos, conclusiones, recomendaciones, referencias bibliográficas y anexos. Los tres capítulos se resumen como sigue:

CAPÍTULO 1. BIORREACTORES, FERMENTADORES POR EXCELENCIA.

En este capítulo se recogerán la definición y tipos de fermentación que existen, se caracterizarán los biorreactores describiendo sus principales clasificaciones, en las que se profundizará en el biorreactor en lotes (*batch*), se analizarán los principales parámetros a controlar y los desafíos que surgen para un adecuado control y una correcta automatización en estos reactores.

CAPÍTULO 2. MODELADO DEL PROCESO.

En este capítulo se caracterizará al biorreactor INFORS AG.CH41-03 y su fabricante INFORS HT. Además se realizará una descripción de la instrumentación de este equipo y se expondrán sus principales características (dadas por el fabricante). Se describirá el proceso de fermentación alcohólica de bagazo de caña y la importancia del control de temperatura, los problemas que surgen para un adecuado funcionamiento del mismo en estos biorreactores y las consecuencias que esto causa. También se adentrará en la modelación de sistemas y se presentarán las ecuaciones que describen los modelos correspondientes a estos procesos.

CAPÍTULO 3. SIMULACIÓN Y ANÁLISIS DEL MODELO.

En este capítulo se realizará la recogida de datos de un a partir de un proceso real desarrollado con anterioridad para la implementación de un modelo Simulink que

permita realizar la simulación de los diferentes parámetros del sistema. Obtenidas las simulaciones mediante el uso de la herramienta de MATLAB se analizará el comportamiento del sistema sin control y con una variante de control aplicada. Posteriormente se realizará el análisis económico de la investigación.

CAPÍTULO 1. BIORREACTORES, FERMENTADORES POR EXCELENCIA

El estudio de la fermentación ha sido una prioridad dentro del campo de los procesos biotecnológicos, debido a que los productos de los desechos resultantes son de interés industrial y tienen una gran variedad de usos para el hombre.

En la fermentación es necesario mantener ciertas condiciones ambientales propicias a los organismos que se cultivan, como pH, temperatura, concentración de oxígeno. Por excelencia, los dispositivos o sistemas empleados que permiten mantener un ambiente biológicamente activo para el desarrollo de estos procesos son los biorreactores o fermentadores, por lo cual la automatización y el adecuado control de estos equipos es un factor primordial para la obtención de altos índices de calidad y seguridad acordes al desarrollo industrial actual.

En este capítulo, luego de realizada la revisión bibliográfica correspondiente, se realizará una descripción detallada acerca de las características y tipos de fermentación, funcionamiento y tipos de biorreactores, así como el análisis de los parámetros más influyentes para el control y las dificultades que surgen para la correcta implementación del mismo.

1.1. La fermentación como bioproceso.

Los bioprocesos como la fermentación hacen uso de organismos vivos o partes de ellos (estructuras subcelulares, moléculas) para la producción de bienes y servicios. En esta definición se encuadran un conjunto de actividades que el hombre ha venido desarrollando por miles de años, como la producción de alimentos fermentados (pan, yogurt, vinos, cerveza, etc.) y se incorpora en la mayoría de los sectores productivos tradicionales, como el agropecuario,

alimenticio, químico, farmacéutico, minería, medio ambiente, energético, etc. (Anahí y Cuellas, 2007). Por lo tanto, no se considera un sector diferente, sino como una tecnología de amplio alcance que afectará muchos sectores de la economía.

1.1.1 Concepto de fermentación.

Un proceso de fermentación típico es esencialmente un proceso que se lleva a cabo en un recipiente llamado fermentador o en general, biorreactor, mediante el cual determinados sustratos que componen el medio de cultivo son transformados por acción microbiana en metabolitos y biomasa. El microorganismo va aumentando en su concentración en el transcurso del proceso al mismo tiempo que el medio se va modificando y se forman productos nuevos como consecuencia de las actividades catabólicas y anabólicas (Anahí y Cuellas, 2007). Los dos fenómenos, crecimiento y formación de producto, que tienen lugar durante el desarrollo del proceso pueden ser simultáneos o no.

Resumiendo, un proceso fermentativo consiste en unir un medio de cultivo que contiene nutrientes con un microorganismo dado en un ambiente óptimo (fermentador), donde se establecen condiciones experimentales adecuadas (pH, temperatura, agitación, etc.) para obtener finalmente el producto deseado (biomasa, metabolitos y enzimas) con el mayor rendimiento (Neway, 1989).

1.1.2 Tipos de fermentación.

Existe la fermentación natural, cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles, y la artificial, cuando el ser humano propicia condiciones y el contacto requerido. Además existen otras clasificaciones de fermentaciones al tener en cuenta otros parámetros.

Según el tipo de sustrato (Jeffries, 2005):

- Fermentación Láctica. En este tipo de fermentación el microorganismo oxida el nutrimento (sustancia a romper) hasta convertirlo en un compuesto llamado ácido láctico y ATP. Este proceso lo realizan muchas bacterias (llamadas

bacterias lácticas), hongos, algunos protozoos y muchos tejidos animales; en efecto, la fermentación láctica también se verifica en el tejido muscular cuando, a causa de una intensa actividad motora, no se produce una aportación adecuada de oxígeno que permita el desarrollo de la respiración aeróbica lo cual puede causar fatiga muscular.

- Fermentación Alcohólica Es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de oxígeno (O_2), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares como la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol, dióxido de carbono (CO_2), en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno, para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO_2 como desechos consecuencia de la fermentación.

- Fermentación acética. Es un tipo de fermentación aeróbica usada por las bacterias del género *Acetobacter*. Estas bacterias usan compuestos de alcohol para romper sus enlaces y obtener energía (ATP) el producto de desecho es el ácido acético. La formación de ácido acético (CH_3COOH) resulta de la oxidación de un alcohol por la bacteria del vinagre en presencia del oxígeno del aire. Estas bacterias, a diferencia de las levaduras productoras de alcohol, requieren un suministro generoso de oxígeno para su crecimiento y actividad.

1.2. El biorreactor como reactor químico.

Se define como reactor químico el equipo o recipiente donde se lleva a cabo una reacción química (operación unitaria en la cual una sustancia se transforma en otra por reordenación o redistribución de los átomos para formar nuevas moléculas (Singh y Kaur, 2004). En otros ambientes se denomina reactor a la

instalación en la que se realiza a escala industrial una reacción química, con seguridad y economía (Echeverry y otros, 2004).

Los reactores químicos por su versatilidad presentan una gran variedad de clasificaciones sobre la base de su utilidad o aplicación, dentro de estas los biorreactores adquieren una notable relevancia ya que enmarcan su campo de acción en los procesos biotecnológicos; donde los organismos vivos participan en las reacciones que ocurren dentro de los mismos.

1.2.1 Biorreactores químicos.

Los biorreactores químicos están diseñados para maximizar la conversión y selectividad de la reacción química de interés con el menor coste posible. Esta reacción química es catalizada por una enzima purificada o por el organismo que la contiene. Dicho equipo constituye una unidad procesadora constituida por un recipiente cerrado, el cual cuenta con líneas de entrada y salida para sustancias químicas, y está gobernado por un algoritmo de control (Lechuga, 2008). Estos reactores químicos tienen como funciones principales (López y Borzacconi, 2009):

- Asegurar el tipo de contacto o modo de fluir de los reactantes en el interior del tanque para conseguir una mezcla deseada con los materiales reactantes.
- Proporcionar el tiempo suficiente de contacto entre las sustancias con el catalizador para conseguir la extensión deseada de la reacción.
- Permitir condiciones de presión, temperatura y composición de modo que la reacción tenga lugar a un grado y velocidad deseada, atendiendo a los aspectos termodinámicos y cinéticos de la reacción.

Debido a que los biorreactores han sido principalmente desarrollados para la producción de biomasa no existe un equipo universal para todas las aplicaciones y, por tanto, han sido objeto de modificaciones en sus componentes en dependencia de los requerimientos de cada proceso. Es por ello que existe una amplia gama de clasificaciones para los mismos atendiendo sus principales características a partir de las bases ya creadas por el estudio de los reactores químicos.

1.2.1.1 Clasificación de los biorreactores.

✓ Según las tres condiciones de operación de un biorreactor son (Aznar y Cabanelas, 2009):

Biorreactores continuos: son todos aquellos que trabajan de forma continua, donde se introduce una alimentación y se extrae el producto a medida que este alcanza las características deseadas, en el sistema hay intercambio de materia, véase ANEXO I.

Biorreactores semi-continuos (*feed-batch*): no presentan flujo de salida. Es el reactor más común en la industria. En este el tanque se le adiciona sustrato continua o periódicamente y este se vacía cuando se llena o culmina la fermentación.

Biorreactores discontinuos (*batch*): son aquellos que trabajan por cargas, es decir se introduce una alimentación, y se espera un tiempo dado, que viene determinado por la cinética de la reacción, tras el cual se saca el producto. En el sistema no se intercambia materia con el exterior.

✓ Según el tipo de flujo interno:

Reactores ideales: suelen ser descritos con ecuaciones ideales sencillas y no consideran efectos físicos más complejos o perturbaciones pequeñas.

Reactores no ideales: consideran el patrón de flujo, la existencia de zonas muertas dentro del reactor donde el material no circula, consideran una dinámica de fluidos más compleja, suelen describirse conociendo la cinética de las reacciones, la RTD (distribución de edad del fluido) del flujo, el tipo de mezclado pudiendo ser este tardío o inmediato, y conociendo si el tipo de fluido es micro o macro fluido.

✓ Según las fases que albergan (Muñoz, 2011):

Reactores homogéneos: tienen una única fase, líquida o gas.

Reactores heterogéneos: tienen varias fases, gas-sólido, líquido-sólido, gas-líquido, gas-líquido-sólido. Los mecanismos de transferencia tanto de calor como

de energía son más complejos debido a que está presente más de un mecanismo, pudiendo ser de naturaleza conectiva o conductiva.

✓ Régimen de funcionamiento.

Régimen estacionario: las condiciones en cualquier punto no varían con el tiempo.

$$(c, x, T, P, \dots) \neq f(t)$$

Régimen no estacionario: las condiciones varían en función del tiempo.

$$(c, x, T, P, \dots) = f(t)$$

1.2.1.2 Biorreactor en lotes (*batch biorreactor*).

Los biorreactores de esta clase trabajan en estado no estacionario y el más sencillo sería un tanque agitado. Este reactor tiene la ventaja de que su costo de instrumentación es bajo, además de ser flexible en su uso (se le puede detener de modo fácil y rápido). Tiene la desventaja de tener un elevado costo en su funcionamiento y de mano de obra debido a la gran cantidad de tiempo que pasa parado debido a la carga, descarga y limpieza; además no siempre es posible implementar un sistema de control adecuado. Este reactor suele usarse en pequeñas producciones o pruebas piloto (López y Borzacconi, 2009).

Una fermentación discontinua (*batch*) puede ser considerada como un sistema cerrado. A lo largo de toda la fermentación no se añade nada, excepto oxígeno (en forma de aire), un agente antiespumante y ácidos o bases para controlar el pH. La composición del medio de cultivo, la concentración de la biomasa y la concentración de metabolitos cambia generalmente como resultado del metabolismo de las células observándose las cuatro fases típicas de crecimiento: fase de latencia, fase logarítmica, fase estacionaria y fase de muerte (véase figura 1.1).

En el proceso de reproducción y diferenciación celular se comienza con la inoculación del reactor con organismos vivos en un sustrato previamente preparado, que garantice un ambiente favorable para el desarrollo del proceso.

A partir de aquí comienza la fase de latencia o de adaptación de los microorganismos al medio. Luego comienza la fase de reproducción o logarítmica

donde se produce la multiplicación celular y finaliza con la fase de crecimiento, donde se desarrollan los nuevos embriones hasta alcanzar el tamaño necesario (Lee, 2006). Cuando finaliza esta última fase se considera que el proceso ha llegado a término.

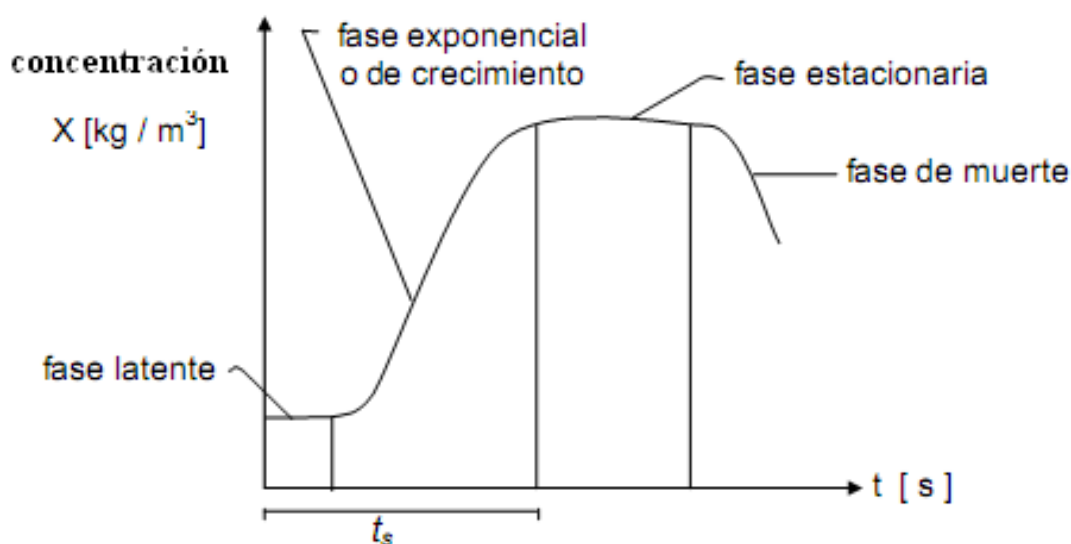


Figura 1.1. Fases de crecimiento celular.

1.2.2 Principales parámetros físico-químicos a monitorear y controlar en un biorreactor.

El objetivo básico de un biorreactor es garantizar óptimas condiciones de crecimiento para las células mediante una regulación precisa de los factores ambientales.

El diseño de los biorreactores ha sido desarrollado para el cultivo de microorganismos, por tanto, se hace necesario evaluar aspectos como la configuración interna y diferentes parámetros físico-químicos que influyen de manera decisiva en la producción y desarrollo de los cultivos sin obviar los factores de los cuales depende el proceso de fermentación.

Los biorreactores han sido equipados con varios sensores para la medición y el control de la temperatura, de la velocidad de agitación, la concentración de

oxígeno disuelto (O_2), el pH, el potencial redox y la concentración de dióxido de carbono (CO_2) que conforman un adecuado sistema de instrumentación.

El adecuado desempeño de un biorreactor químico está dado en primera instancia por la fiabilidad en la medición de las variables fundamentales que intervienen en un bioproceso, por ello es necesario implementar un sistema de instrumentación adecuado basado en sensores que permitan la obtención de datos de temperatura, velocidad del agitador, pH, proporción de aire-flujo entrante y oxígeno disuelto, y la concentración de forma exacta para un correcto desarrollo del proceso fermentativo. Esta instrumentación básica (termopares, flujómetros, peachímetros, tacómetros y analizadores de gases) puede complementarse con otros sensores capaces de determinar la presión, la concentración de CO_2 disuelta, la biomasa, análisis de gas, mando de espuma, alimentación de energía, torque, y el alimento de flujo líquido (Pérez Correa y Agosin, 2012).

Los procesos de cultivo de microorganismos tienen requisitos relativamente altos con respecto a la precisión y la sofisticación. Todo esto ocurre a pesar del hecho de que en casi todos los biorreactores se supervisan y regulan los mismos valores, por ello es necesario conocer la importancia y variantes que puedan ser aplicadas. Para lograr esto en los biorreactores, por lo general son monitoreados y controlados los siguientes parámetros y variables:

- Temperatura

La temperatura es un parámetro importante de la fermentación, ya que, en el cultivo de muchos microorganismos, la desviación de la temperatura por un par de grados puede disminuir dramáticamente el crecimiento y la productividad de la biosíntesis. La temperatura de cultivo se controla normalmente con una precisión no inferior a $\pm 0,5$ °C. Para las mediciones de temperatura, normalmente se utilizan sensores Pt100 de acero inoxidable. La temperatura en los biorreactores de laboratorio es controlada de las siguientes maneras:

-Un calentador está situado dentro del recipiente biorreactor, y la refrigeración es asegurada por tubos de pared delgada situados en la cubierta superior, que están conectados con una válvula electromagnética y con el agua de refrigeración.

-Calefacción y refrigeración mediante mediciones con un termostato y esta agua, con la ayuda de una bomba, circula a través de la chaqueta del biorreactor. Esta variante está implementada en el biorreactor MINIFORS.

La primera variante es menos complicada y asegura una solución más económica constructivamente. La segunda variante asegura una distribución más uniforme de calor en todo el volumen del biorreactor, que es esencial en el cultivo de microorganismos.

En el proceso de regulación de la temperatura, la principal razón de la inexactitud de regulación radica en elegir de forma incorrecta los parámetros del regulador PID. Esto se manifiesta como oscilaciones de temperatura. Para regular la temperatura con precisión, otro obstáculo frecuente consiste en una porción mínima del agua de refrigeración demasiado alta. En este sentido, se deben ajustar las válvulas de la tubería de suministro de agua de refrigeración. Otro factor de la exactitud de regulación es el área y la densidad de la superficie de transferencia de calor, ya que, cuanto mayor es la inercia, más difícil es alcanzar una mayor precisión.

- pH

El control de pH se basa en la comparación del "punto de ajuste" ajustado y los valores reales de pH (Li y otros, 2006). Para la medición de pH, se utilizan prácticamente sólo electrodos esterilizables (con más frecuencia, los electrodos "METTLER-TOLEDO"). El control de los valores de pH se garantiza con la ayuda de bombas peristálticas (tubos de silicona se utilizan comúnmente), que permiten correspondientemente dosificar el ácido y la base.

El ajuste del "punto de ajuste" depende de los valores $pH_{\min}$ y los valores $pH_{\max}$. Si el pH está entre estos valores, entonces no se produce ninguna influencia. Tal ajuste del "punto de ajuste" de pH se aplica para prevenir la sobredosis de la solución de valoración. Por otra parte, los "estrechos" límites de regulación de pH no son necesarios para el éxito del curso del proceso de cultivo.

Cabe mencionar que las mediciones de pH deberían ser precisas ($\pm 0,02$ unidades de pH), ya que la dinámica de los cambios en los valores de pH proporciona información valiosa sobre la cinética del proceso.

- pO_2 (presión parcial de oxígeno disuelto)

Uno de los aspectos más específicos de la monitorización de la fermentación es la medición y el control de pO_2 , el cual es característico sólo para este tipo de procesos. Hay diferentes principios de control de pO_2 :

-La variación de la mezcladora a N revoluciones, suponiendo que $pO_2 \sim N$.

Combinando el cambio de la velocidad de rotación N de la mezcladora y la cantidad de la entrada de aire comprimido Q. Se supone que la $pO_2 \sim N$. En primer lugar, N es generalmente regulada hasta que alcanza uno de los valores límites ($N_{\min.}$ o $N_{\max.}$), y su regulación se realiza mediante la variación de Q (caudal de aire). Si N y Q han alcanzado los valores límites, pero la pO_2 no está dentro de los límites necesarios, entonces no se produce el efecto regulador.

-Alimentar el sustrato o cualquier componente del mismo. Se supone que la pO_2 es proporcional a la intensidad de la alimentación. La alimentación se limita normalmente con bombas peristálticas controladas. De esta manera se combina a veces la regulación de la mezcladora a N revoluciones con el oxígeno o el suministro de aire Q.

En la regulación pO_2 se debe tener en cuenta lo siguiente:

La pO_2 se ajusta comúnmente en % de lo que se fija. El valor de pO_2 ajustado tiene un límite inferior y superior. La diferencia entre estos dos límites es por lo general del 10% al 20%.

Los parámetros más importantes en el control de pO_2 son los límites de control de la mezcladora a N revoluciones: $N_{\min}$ y $N_{\max}$. Esto significa que, cuando se controla la pO_2 , N variará solo dentro de este rango. Estos límites se determinan en relación con la eliminación de los diferentes fenómenos indeseables:

La elección $N_{\min}$ se determina:

- Para asegurar el nivel de mezcla turbulenta en la parte mínima.
- Para garantizar la dispersión de burbujas.
- Para impedir la sedimentación.

La elección $N_{\text{máx}}$ se determina:

- Para ajustar el régimen de formación de espuma intensiva.
- Para evitar daños irreversibles en las células.
- Para controlar la fluctuación en la superficie del líquido y la evaporación.

▪ Espuma

La aparición de la espuma es un fenómeno muy indeseable, ya que, en el curso de su surgimiento, existe el riesgo de perder una parte esencial de la fermentación. Durante la formación de espuma, no es posible llevar a cabo análisis de alta calidad y mediciones. Para la eliminación de espuma, dos métodos o sus combinaciones son de uso general:

- La adición medida de un antiespumante, basado en la información proporcionada por el sensor de espuma. Los impulsos dados son relativamente bajos, con pausas largas y un tiempo de medición limitado. Este control adicional es necesario para evitar la posible sobredosis, ya que, en este caso, los parámetros de intercambio de masa pueden disminuir dramáticamente.
- La medición mecánica de la espuma, para este propósito, una unidad superior con un tipo especial de disco o de otro tipo (de espuma mecánico) se instala en la cubierta superior del biorreactor. Si comienza una intensa formación de espuma, entonces la ruptura mecánica de la espuma no permitirá que se siga desarrollando la misma.

1.3. Proceso fermentativo del bagazo de caña.

El incremento del uso de etanol como aditivo a la gasolina para ser empleado como combustible hace necesario que se estudien fuentes alternativas para la producción de este biocombustible, evitando así alterar la producción de

alimentos. Actualmente el etanol se produce en su mayoría por fermentación de melazas, que pueden ser empleadas para la producción de azúcar. Una alternativa es emplear residuos agroindustriales como lo es el bagazo de caña. La transformación de esta materia prima hasta etanol es más compleja haciéndose necesario un tratamiento previo para someterlo procesos de biodegradación. La variante de bagazo hidrolizado agitado muestra los mejores indicadores bioquímicos, finalizando con una alta digestibilidad de la materia orgánica y una relación proteína verdadera-proteína bruta (PV/PB) elevada, lo que permite, unido a otros elementos, considerarlo una fuente potencial para la alimentación de rumiantes (Ravelo Ron y otros, 2002).

Para la utilización de la mezcla de bagazo se realiza el proceso de hidrólisis transformándolo hasta sus respectivos azúcares (glucosa, xilosa, arabinosa) para fermentarlos, encontrando que es posible retirar pequeñas cantidades de otros productos inhibidores en la mezcla como el ácido acético y el furfural, con lo que se espera que la cantidad de productos tóxicos para las células se vean reducidos, favoreciendo la fermentación. No obstante este material es más barato ya que es considerado un desecho y presenta la ventaja de no afectar la producción de alimentos.

1.4. Desafíos para la instrumentación y control en los biorreactores.

El desarrollo del control moderno en el campo de la biotecnología ha sido frenado por dos importantes barreras: primero, cada vez que los bioprocesos involucran organismos vivos, sus dinámicas son a menudo pobremente conocidas, fuertemente no lineales y no estacionarias. La reproducibilidad de los experimentos es incierta y los parámetros del modelo no permanecen constantes sobre largos períodos debido a las variaciones metabólicas y modificaciones fisiológicas (Pérez Correa y Agosin, 2012).

La otra dificultad esencial está dada por la ausencia en las mayorías de las aplicaciones de instrumentación barata y confiable capaz de proporcionar mediciones directas en tiempo real de las variables de estado requeridas para implementar métodos avanzados de monitoreo y control en biorreactores.

Lo anteriormente expuesto hace necesaria la aplicación de técnicas modernas de obtención de modelos de sistemas para, por un lado, cubrir la falta de sensores instrumentales en biorreactores mediante la estimación en línea de las variables de estado y los parámetros que no son medibles en tiempo real sobre la base de mediciones relacionadas, y por otro lado para el estudio de estos sistemas mediante simulación. La principal dificultad que surge por su grado de complejidad la constituye el desarrollar un modelo capaz de reflejar con suficiente precisión la dinámica del biorreactor (Pérez Correa y Agosin, 2012).

El control en línea de estos procesos con técnicas clásicas, generalmente se limita al control del valor deseado de varios parámetros del proceso como la temperatura, el grado de acidez y los flujos de algunas sustancias. El comportamiento global del proceso es controlado por operadores que aplican planes o protocolos sobre el manejo del proceso, los cuales establecen que hacer en ciertos instantes de tiempo. Estos protocolos generalmente se basan en la experiencia disponible sobre el proceso. Este método es, por tanto, altamente dependiente de la experiencia y de la posibilidad de contar con una gran cantidad de datos (Martínez Jimenez, 2008).

1.5. Consideraciones finales.

Analizadas las particularidades del proceso de fermentación, las características y funcionamiento de los biorreactores y la gran cantidad de variables a manipular y controlar (pH, velocidad de agitación, temperatura, etc.) se deriva que es una tarea desafiante el modelado y el control de estos procesos, debido a la gran cantidad de variaciones en las condiciones de desarrollo de estos.

Los biorreactores se han convertido en fermentadores por excelencia, estos también se han diversificado hasta alcanzar un extenso grupo que abarca disímiles clasificaciones. Es indispensable garantizar en estos equipos una serie de condiciones (temperatura, velocidad de agitación, la concentración de oxígeno disuelto, el pH, etc.) para lograr una fermentación exitosa, por ello es necesario instrumentar adecuadamente estos equipos con sensores de alta fiabilidad y robustez que permitan alcanzar una alta eficiencia y fiabilidad para la

implementación de estrategias de control que se adecuen a los distintos procesos que pueden realizarse.

El desarrollo de fermentaciones de estado semisólido como la obtención de alcohol a partir de bagazo de caña hidrolizado es una desafiante y novedosa tarea que precisa la obtención de modelos que describan el comportamiento de este sistema, para un control adecuado de los mismos.

CAPÍTULO 2. MODELADO DEL PROCESO

El primer paso en el análisis de un sistema dinámico, es elaborar su modelo. Hay que tener presente que el desarrollo de un modelo matemático del proceso es la parte más importante de todo el análisis. Los modelos, aunque pueden tomar distintas formas según el sistema particular de que se trate y las circunstancias, una representación matemática generalmente es la más adecuada en el campo de la ingeniería del control.

El uso de estos modelos está destinado principalmente al área de los sistemas de control, donde ha penetrado prácticamente en todas las áreas de la tecnología, ya que permite abordar y manejar sistemáticamente aspectos de optimización y logro de comportamientos deseados.

Para el desarrollo de modelos dinámicos exactos de los procesos industriales es necesario un completo entendimiento de las características del proceso real así como tener conocimientos de modelado para determinar los principales problemas que puedan surgir y parámetros que puedan ser estimados para la adición de funcionalidad al equipo.

En este capítulo se abordarán aspectos relacionados con el biorreactor INFORS. AG.CH.41-03; perteneciente a la familia de los MINIFORS incluyendo aspectos relacionados con la fermentación alcohólica del bagazo y el modelado matemático de este bioproceso.

2.1. Fabricante de biorreactores INFORS HT.

INFORS HT es la compañía que fabrica biorreactores del tipo MINIFORS, la misma se especializa en biorreactores y agitadores, equipamiento para la incubación de cultivos y software para el control de bioprocesos. Este fabricante proporciona un sofisticado sistema en el cual las distintas líneas de células o microorganismos pueden desarrollar todo su potencial reproductivo. Entre sus líneas de trabajo se destacan: la fermentación de microorganismos, el cultivo de células, la obtención de biocombustibles (biodiesel, bioetanol), el desarrollo de bioprocesos de forma paralela, el control en estos procesos y la categorización de biorreactores (INFORS-HT, 2014).

Los biorreactores producidos por esta compañía, véase ANEXO II, presentan las siguientes ventajas:

- Motores poderosos para proporcionar el mezclado adecuado y responder a la demanda para los niveles altos de oxígeno disuelto así como a los aumentos de densidad de cultivo.
- Mando de temperatura que puede cubrir el rendimiento de calor creciente así como el aumento de densidades de cultivo.
- Una variedad de estrategias por mantener los niveles de oxígenos disueltos necesarios para la densidad del cultivo y la disponibilidad del sustrato.
- Mando de alimentación de las bombas para permitir los cambios en los sustratos en las fases diferentes de la fermentación.
- La habilidad de agregar sensores externos para obtener la concentración del sustrato, el aumento de derivados tóxicos o la concentración de producto.

2.1.1 El biorreactor MINIFORS INFORS. AG.CH.41-03.

MINIFORS INFORS. AG.CH.41-03 (figura 2.1) es un biorreactor de gama baja que presenta un alto desempeño contra costo, siendo comparable con un incubador grande con la capacidad de lograr un cultivo mayor en menos espacio.



Figura 2.1 INFORS. AG.CH.41-03.

El sistema permite el trabajo con parámetros adicionales tales como el flujo de masa, la turbidez, análisis de gases de salida y la adición de bombas externas. Con esto se evidencia la habilidad de agregar sensores externos y la simpleza de su operación mediante un panel de control, además presenta una caja con todos los accesorios necesarios para llevar a cabo el proceso biotecnológico. El almacenamiento de parámetros con el software Iris hace posible el completo control de los cultivos y muestra la desviación de los parámetros durante el proceso (INFORS-HT, 2014).

2.2. Especificaciones técnicas de los biorreactores tipo MINIFORS CELL.

Los biorreactores MINIFORS cuentan con las siguientes características, véase ANEXO III:

- Vaso de 2.5 L de volumen total (ó 5 L).
- Administración de gases con O₂, aire y CO₂.

- 4 bombas peristálticas para el bombeo de ácido, base, alimento y antiespumante.
- Mando de temperatura por vía de bloque termal para calentar y refrescar.
- Mando de pO_2 y pH.
- Toma para obtención de muestras de forma segura.
- Software Iris para la adquisición de datos.
- Control de nivel de espuma.
- Voltaje de 230v.
- Amperaje de 2.5A.

2.3. Fermentación de bagazo de caña hidrolizado.

El bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es un material lignocelulósico (MLC) de gran interés para la producción de etanol en Cuba sin afectar la producción de alimentos y de gran importancia en el mercado mundial de combustibles.

Los MLC contienen carbohidratos en forma de celulosa y hemicelulosas, los que mediante procesos de hidrólisis generan monosacáridos como, glucosa, xilosa y otros. Posteriormente, los azúcares son convertidos en etanol por fermentación utilizando como microorganismo la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (Aguilar Valencia, 2011).

Para la realización de todo el proceso, se realiza un pretratamiento modificando la fibra para disminuir la resistencia química de los polisacáridos debido a su estructura cristalina, aumentando la porosidad y área de contacto de los materiales para facilitar la hidrólisis. Posteriormente la fibra del pretratamiento fue convertida a los monosacáridos correspondientes por hidrólisis enzimática de los polisacáridos. En la siguiente etapa los azúcares se fermentaron, resultando productos como el etanol, este puede ser separado y purificado para cumplir con las especificaciones de combustible.

Durante el pretratamiento para la hidrólisis enzimática, ocurre la degradación de los azúcares y se forman subproductos inhibitorios de la fermentación alcohólica, tales como ácidos alifáticos, aldehídos furánicos y compuestos fenólicos (Aguilar Valencia, 2011) es por ello que los microorganismos empleados en la fermentación de hidrolizados lignocelulósicos deben producir etanol con un alto rendimiento y productividad, y hacer resistencia a los inhibidores presentes en estos compuestos. Por ello fue escogida la levadura *S. Cerevisiae* (figura 2.2) para la realización de este proceso debido a que es un microorganismo de fácil manipulación y recuperación, no es exigente en cuanto a su cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares y tiene una alta viabilidad celular (Lee, 2013).

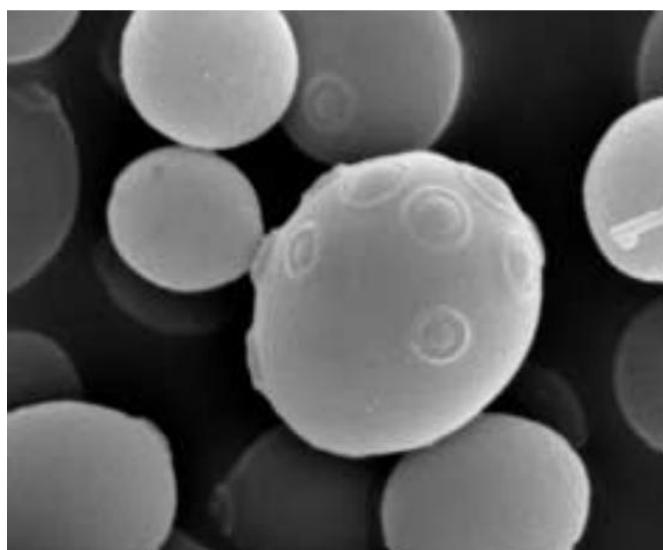


Figura 2.2 Vista macroscópica de *Saccharomyces Cerevisiae*.

Esta levadura en fase aerobia se caracteriza por una mayor producción de biomasa y en la anaerobia, de alcohol; por lo cual, en este caso, el proceso se realiza en un medio carente de oxígeno para la obtención del producto deseado, dígame que la reacción que tiene lugar durante el desarrollo de la fermentación es exotérmica lo cual es un factor que conlleva un análisis detallado (Fajardo Castillo, 2007). Algunas condiciones generales de desarrollo de *S. Cerevisiae* son:

-pH de 4.0 a 6.0 donde valores por debajo del máximo incrementan el crecimiento y por encima lo inhiben.

-la temperatura debe ser establecida sobre los 28° C a 35° C rango en el cual alcanza un mayor desarrollo esta especie.

En resumen el proceso consiste en cinco etapas fundamentales (Albernas Carvajal, 2013): pretratamiento, hidrólisis enzimática, prefermentación, fermentación y destilación (figura 2.3).

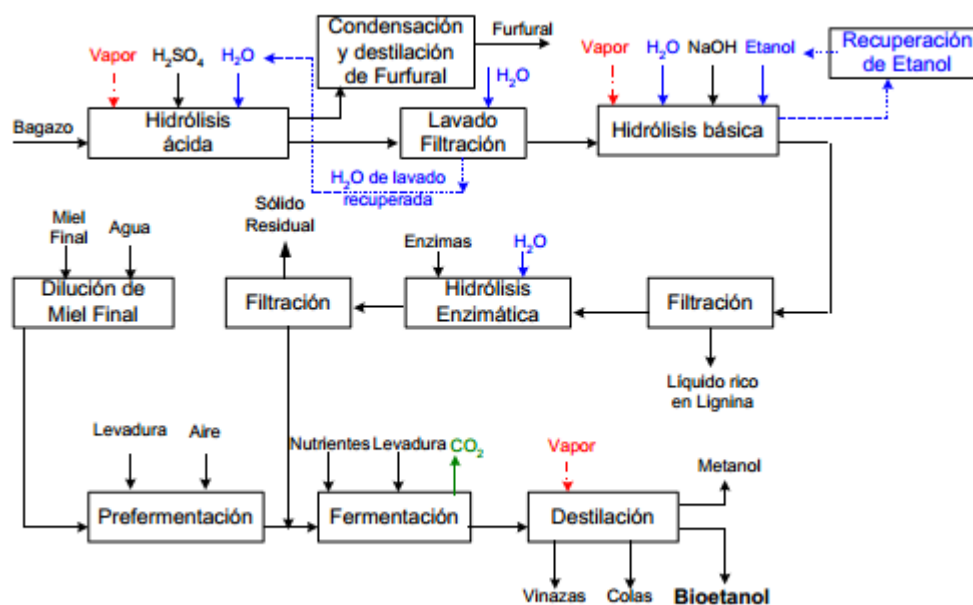


Figura 2.3 Esquema del proceso.

De estas etapas presenta una gran relevancia la prefermentación (etapa previa de la fermentación) donde se activa la levadura a la temperatura en la que alcanza su máximo alcance reproductivo y la más importante la fermentación debido a que en ella se obtienen los productos finales: la biomasa y el etanol. Estos productos son de un marcado interés económico por lo que en estas fases la planificación y correcto funcionamiento del proceso son vitales. Aún conociéndose su importancia esta es un área en que se han realizado pocas investigaciones y quienes las realizan cuentan con muy poca información y control sobre el manejo del proceso en sí. Por ello este trabajo se enmarca en el desarrollo de estas dos etapas,

permitiendo encaminar futuros estudios sobre el tema basados en los modelos que se describen.

2.4. Pérdida de control en las reacciones exotérmicas.

Una reacción exotérmica es aquella que transcurre generando calor, y este desprendimiento de calor puede ocasionar una catástrofe si se descontrola completamente.

Si en un sistema la generación de calor es superior a la velocidad a que este lo elimina, la temperatura empezará a aumentar considerablemente. Debido a este aumento de la temperatura la velocidad de la reacción se acelera conduciendo a un posible descontrol térmico. Esta pérdida de control ocurre porque la velocidad de autocalentamiento de una reacción y la energía térmica producida aumenta exponencialmente con la temperatura mientras que la disipación de calor aumenta solo como una función lineal de la temperatura (Luyben, 1996).

2.4.1 Consecuencias de una reacción fuera de control.

Pese a que el origen de la pérdida de control en estos procesos puede ser de origen muy diverso, en la mayoría de los casos su resultado después de iniciarse es parecido y las consecuencias de la pérdida del control dependen principalmente de la energía térmica de la masa de reacción, en el momento del descontrol, más que de la causa que la ha provocado. La energía liberada repentinamente puede causar la muerte de los microorganismos presentes en el proceso, la pérdida de instrumentación, materiales de laboratorio y recursos lo cual causa daños económicos, además puede dejar totalmente disfuncional el equipo y causar enfermedades o daños físicos al personal que atiende el proceso por la liberación de sustancias tóxicas.

Las consecuencias de una reacción fuera de control pueden ser diferentes, desde la simple formación de espuma que inunda el interior del reactor e impide la toma de mediciones exactas, hasta un aumento sustancial de la temperatura, al cual le sigue una elevación de la presión generada por los procesos de descomposición o ebullición, o por la presión de vapor de los líquidos en el biorreactor, si esta

presión no es aliviada, el reactor puede sufrir sobrepresión y en el peor de los casos, colapsar. Cabe aclarar que todo proceso químico exotérmico mal dominado por desconocimiento de la energía producida o por insuficiente evacuación de la energía calorífica emitida puede derivar en un régimen de explosión térmica incontrolable (Fortuny Sendros, 2004).

2.4.2 Factores a tener en cuenta.

Si se desea valorar la probabilidad de encontrarnos con un caso de pérdida de control hay que tener en cuenta los siguientes factores:

- La temperatura inicial.
- El potencial energético del sistema.
- La cinética de la reacción que determina la velocidad de liberación del potencial energético del sistema. Es necesario conocer la liberación de calor en función de la temperatura y la conversión.
- La capacidad de eliminación de calor del sistema, bien sea por intercambio de calor con el exterior o por ebullición de la mezcla reaccionante.

Un aumento de la temperatura puede acelerar una reacción de tipo exotérmica o puede causar la descomposición térmica de esta. Por ello se tiene que definir la temperatura mínima a la cual empezará un descontrol exotérmico bajo las condiciones de la planta y el margen de seguridad entre esta temperatura y la temperatura de operación normal. Por otro lado una disminución de la temperatura puede provocar la acumulación de material no reaccionado. Para evitar esta acumulación de material también deberá definirse la temperatura mínima y/o máxima a las cuales ocurre la reacción deseada. Analizadas las particularidades del proceso y teniéndose en cuenta los problemas fundamentales que causan afectaciones en el mismo, se define como variable a controlar la temperatura dentro del reactor debido a su influencia en el comportamiento del sistema (Shinsky, 1996).

2.5. La importancia de la temperatura en la fermentación.

Al iniciar una fermentación es necesario activar el catalizador a utilizar, por lo general estos se encuentran inactivos en sus cepas de origen. La manera más común de realizarlo es elevar la temperatura, calentando la mezcla a un punto y tiempo determinado. Entonces, el primer paso es activar la *S. Cerevisiae* (levadura) durante un período de tiempo determinado. Una vez concluido el tiempo de activación se debe regular la temperatura al valor en que se desarrollará el proceso de fermentación de manera más eficiente.

Durante la etapa de crecimiento de la levadura, se debe mantener esta temperatura al mismo valor. Cuando la levadura termina de consumir todos los nutrientes (azúcares), deja de producir y entonces se procede a una siguiente etapa, la cual desactiva la levadura para que no afecte al producto deseado; esto se logra aumentando la temperatura por encima del valor que tolera la levadura por un período de tiempo no muy prolongado (Montoya Guzmán y Bermudez Segura, 2003).

Por lo anterior se vislumbra que el proceso será manipulado teniendo como objetivo de control el seguimiento de trayectoria de la temperatura en las cuatro etapas del proceso de fermentación (figura 2.4), las cuales son desde este punto de vista:

1. Fase inicial: En esta etapa se activa la levadura mediante la elevación de la temperatura hasta la temperatura predefinida de reacción.
2. Fase de reacción o exponencial: Para esta etapa se mantendrá la temperatura a la cual la levadura consume de mejor manera los nutrientes para aumentar la formación del producto.
3. Muerte de la levadura: Una vez que la levadura ha concluido con su ciclo de producción, se procede a separarla de la sustancia calentando la mezcla a temperaturas que no sean soportables para ella, causando su muerte.
4. Enfriamiento: La última etapa consiste en enfriar la mezcla una vez que se le dio muerte a la bacteria.

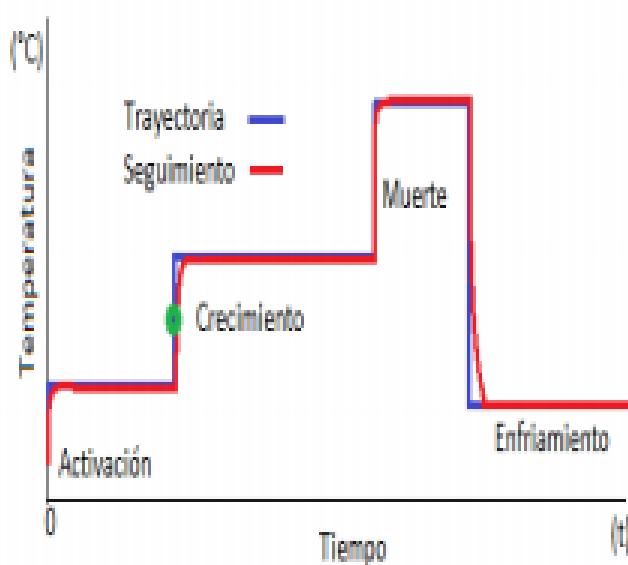


Figura 2.4 Trayectoria de temperatura durante las etapas de la fermentación.

2.5.1 Problemas para el control de temperatura.

Al iniciarse la fase 2 existe un incremento de temperatura debido a la naturaleza exotérmica de la reacción, siendo crítico mantener al reactor dentro de los límites de operación de seguridad para evitar una reacción fuera de control. Durante la transición de la fase 2 a la 3, el reactor puede pasar rápidamente de generar calor a consumirlo. Esto ocurre sin un evento iniciador apreciable, debido a que la reacción puede finalizar en cualquier momento, dependiendo del tipo de reactivo utilizado, el catalizador, la concentración y la temperatura de reacción. Durante un corto tiempo, la temperatura del reactor puede caer de manera significativa. En la transición de la fase 3 a la 4, se produce un cambio importante en la temperatura de referencia.

Como se menciona anteriormente, el control en línea con técnicas clásicas de algunas variables como la temperatura, generalmente se limita al control del valor deseado (Martínez Jimenez, 2008). Para solucionar este caso en particular, el sistema de control debe reaccionar rápidamente frente a cambios de temperaturas de operación o consignas entre las diferentes fases, así como evitar al máximo las

perturbaciones producidas por la reacción exotérmica. En (Fortuny Sendros, 2004) se plantea que un controlador PID difícilmente puede controlar correctamente la temperatura en la transición de la etapa 2 a la 3 si ha estado sintonizado para controlar el proceso en las fases 1 y 2. En la práctica, muchos biorreactores *batch* son operados de forma manual por operadores bien entrenados durante las transiciones críticas.

2.6. Modelado de sistemas.

Disponer de un modelo preciso del sistema es fundamental para el desarrollo científico y tecnológico moderno. Sin embargo, los modelos no siempre tienen que ser matemáticos.

El concepto es más amplio y pueden ser físicos o de otro tipo. Sin embargo, para la gran mayoría de los problemas físicos e ingenieriles los modelos matemáticos, y sobre todo los basados en ecuaciones diferenciales, son muy frecuentes.

Para los modelos matemáticos se siguen los siguientes procedimientos generales (García y otros, 2011):

1. Se divide el sistema en subsistemas cuyas propiedades físicas son bien conocidas. Esto significa básicamente que conocemos las leyes de la naturaleza que rigen los fenómenos que actúan sobre ese sistema, después, todos los subsistemas son unidos y se obtiene el modelo definitivo. Por ejemplo, cuando tenemos el accionamiento eléctrico de un motor eléctrico regulado, separamos al sistema integral en sus componentes: el motor con su carga, el sistema de regulación del accionamiento en sus partes y el sistema de medición. A este procedimiento se le conoce como modelado (o modelo de caja-blanca).
2. El modelo matemático es obtenido mediante experimentación. Se registran simultáneamente los datos de entrada y salida y se analizan apropiadamente para que resulte un modelo. El procedimiento para determinar un modelo matemático de un sistema dinámico desconocido

(sistema objetivo) a partir de datos medidos de entrada-salida, es generalmente referido como identificación (o modelado de caja negra).

3. Entre ambos límites se encuentran los modelos de caja gris en los que se utiliza cierto conocimiento previo del proceso y el resto del conocimiento se extrae de los datos de entrada-salida del mismo.

Los propósitos del modelado y la identificación de sistemas son múltiples: predecir el comportamiento del sistema, explicar las interacciones y relaciones entre entradas y salidas del sistema, diseñar un controlador basado en el modelo del sistema, etc. En la actualidad, la gran mayoría de los procedimientos de análisis y diseño de sistemas de control se basan en la existencia de un modelo para el proceso. Además, en los últimos años ha tomado gran auge la simulación de sistemas en computadora, para lo que se necesita un modelo del proceso a simular (González Castellanos, 2011).

Un modelo satisfactorio debe cumplir dos requerimientos contradictorios: debe ser lo suficientemente detallado como para representar al sistema real con exactitud y a su vez, lo suficientemente sencillo como para permitir un análisis matemático práctico.

2.6.1 Modelo matemático del proceso.

El modelado de este sistema está dirigido especialmente al balance de energía y masa, este último en función de la reacción. Para realizar un buen modelado es necesario especificar las variables de entrada, salida, y los parámetros; las variables de entrada normalmente deben ser especificadas antes que el problema pueda ser resuelto. Las variables de salida son a menudo variables de estado medibles, particularmente para propósitos de control. Los parámetros son típicamente un valor físico o químico que debe ser especificado o conocido para resolver el problema matemáticamente (Flores Hernández y otros, 2013).

El sistema bajo estudio se representa en función de sus variables de entrada y salida como se muestra en el siguiente esquema (figura 2.5):

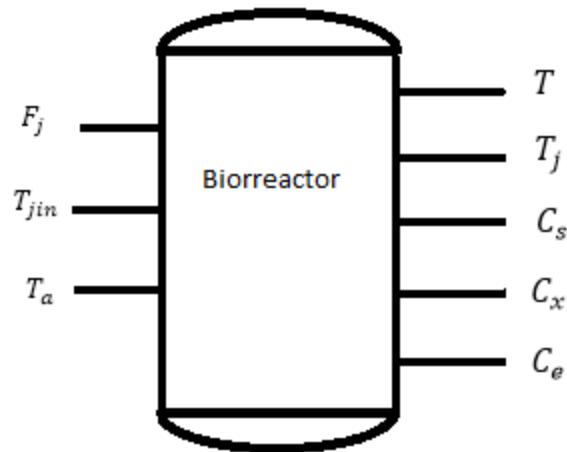


Figura 2.5 Esquema de entradas y salidas del sistema.

Parámetros representados:

- Variables de entrada:

F_j - Flujo de entrada del refrigerante a la chaqueta.

T_{jin} - Temperatura de entrada del refrigerante a la chaqueta.

T_a -Temperatura ambiente.

- Variables de salida:

T -Temperatura en el interior del biorreactor.

T_j - Temperatura en la chaqueta.

C_s - Concentración de sustrato.

C_x -Concentración de biomasa.

C_e -Concentración de etanol (producto de interés).

2.6.2 Ecuaciones del modelo.

Para construir el modelo del proceso se supone lo siguiente:

1. Se realiza un análisis del proceso desde un nivel macroscópico y no estructurado. El fluido en fase líquida dentro del fermentador no es discreto

- en ningún momento y el estado fisiológico de la población de microorganismos se representa por su velocidad específica de crecimiento.
2. Se considera un sistema homogéneo. No hay diferenciación entre los sólidos (la levadura) y el líquido, tomándolos como si estuvieran en una misma fase (líquida)
 3. La masa del gas-vapor en el interior del fermentador es muy pequeña comparada con la del líquido y el equilibrio térmico es inmediato por lo que no se considera su dinámica.
 4. Existe un mezclado perfecto.
 5. Las densidades y capacidades caloríficas de productos y reaccionantes son constantes durante todo el proceso.
 6. Todas las reacciones son elementales e irreversibles. En ellas los reaccionantes se transforman de forma proporcional completamente en productos a una velocidad constante ya que cada microorganismo se comporta como un microorganismo promedio.
 7. Los volúmenes de ácido, base y antiespumante que se añaden para la regulación de los parámetros de los lazos de control son despreciables en comparación con el volumen total de la fermentación.

Para el desarrollo de un modelo que describa al sistema el balance de energía es esencial, puesto que describe la dinámica del mismo. El balance general de energía se formula de la siguiente forma:

$$\left[\begin{array}{c} \text{Razón de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de calor} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{calor} \\ \text{que} \\ \text{entra} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{calor} \\ \text{que} \\ \text{sale} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{calor} \\ \text{evolucionado} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{calor} \\ \text{transferido} \end{array} \right] \quad (2.1)$$

$$\frac{dQ}{dt} = Q_e - Q_s + \frac{dQ_g}{dt} - Q_{transf} \quad (2.2)$$

La expresión, aplicada al proceso queda de la siguiente forma:

$$\frac{dT}{dt} = \left[\frac{1}{V * \rho_m * Cp_m} \right] * \left[Q_e - Q_s + \frac{dQ_g}{dt} - Q_{transf} - \rho_m Cp_m (T - T_{ref}) \frac{dV}{dt} \right] \quad (2.3)$$

Teniéndose en cuenta el modo de operación discontinuo del biorreactor donde:

$$F_e = F_s = 0 \quad (2.4)$$

Resulta que:

$$Q_e = Q_s = 0 \quad (2.5)$$

$$\frac{dV}{dt} = 0 \quad (2.6)$$

Por tanto:

$$\frac{dT}{dt} = \left[\frac{1}{V * \rho_m * C_{p_m}} \right] * \left[\frac{dQ_g}{dt} - Q_{transf} \right], \quad (2.7)$$

donde:

$$Q_g = V * C_s * \Delta H_r \quad (2.8)$$

$$Q_{transf} = U * A * (T - T_j) + \frac{k_{cd} A_d}{L} (T - T_a) \quad (2.9)$$

De la ecuación 2.7 aplicada al ambiente de trabajo del proceso se obtiene la ecuación 2.10 que representa la temperatura en el núcleo del reactor (T). Nótese en el caso de la ecuación (2.9) se adiciona un término relacionado con un disipador que posee el biorreactor MINIFORS INFORS. AG.CH.41-03 unido a la chaqueta.

La ecuación 2.11 representa la temperatura en la chaqueta (T_j) y se desarrolla a partir de la aplicación del balance de energía en la misma (Stephanopoulos, 1984).

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{UA}{V\rho c_p} (T - T_j) + \frac{(-\Delta H)}{V\rho c_p} \frac{dC_{s_{cons}}}{dt} - \frac{k_{cd} A_d}{V\rho c_p L} (T - T_a) \quad (2.10)$$

$$\frac{dT_j}{dt} = \frac{F_j}{V_j} (T_{jin} - T_j) + \frac{UA}{(V_j \rho_j c_{pj})} (T - T_j) \quad (2.11)$$

Hay múltiples factores que intervienen en la dinámica del sistema que describe el modelo: U que es el coeficiente de transferencia de calor, A es el área de transferencia de calor, V es el volumen dentro del reactor, ρ es la densidad de la mezcla en el interior del biorreactor, c_p el calor específico, ΔH es la entalpía que es absorbida por la chaqueta, C_s es la concentración de sustrato, C_p es la concentración de producto, k_o es el factor exponencial y (E_a/RT) es la coalición entre moléculas, donde E_a es la energía de activación, R la constante de los gases y T la temperatura. El subíndice j es empleado para distinguir que los parámetros son propios de la chaqueta.

Para el disipador se utiliza k_{cd} que es la constante térmica de la aleación de aluminio, L que es el grosor y A_d , el área.

También se emplea la cinética para describir el proceso de fermentación. En la etapa de fermentación alcohólica, como su nombre lo indica, es donde se convierten los azúcares fermentables en etanol, para dicha etapa los balances de masas están descritos en función de la velocidad de reacción para el consumo de sustrato y la formación de productos para lo cual se hace uso de ecuaciones diferenciales (Fabelo, 1998).

Son considerados en estos modelos la velocidad de crecimiento del microorganismo utilizado y el sustrato que va a definir su reproducción y las limitaciones de la misma.

En el caso de un biorreactor, donde se desarrolla una fermentación, se define según la formación de los productos y el consumo del sustrato basados en la tasa de conversión de uno en otro. Considerando un típico bioproceso, realizado discontinuamente, un análisis de la cinética del proceso estaría definido por (García y otros, 2011):

Balance para componente sustrato:

$$\left[\begin{array}{c} \text{razón} \\ \text{de cambio} \\ \text{de sustrato} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{sutrato} \\ \text{que entra} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{sutrato} \\ \text{que sale} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{sutrato} \\ \text{consumido} \\ \text{para crecer} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{sutrato} \\ \text{consumido} \\ \text{producto} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{sutrato} \\ \text{consumido} \\ \text{mantener} \end{array} \right] \quad (2.12)$$

Lo que se traduce en:

$$\frac{dSV}{dt} = F_e S_e - F_s S_s - V \left(\frac{\mu X}{Y_x} + \frac{r_p}{Y_p} + K_m X \right) \quad (2.13)$$

Recordando el modo de operación (2.4) y considerando que el consumo de sustrato solo es proporcional al crecimiento, la ecuación final queda de la siguiente forma (Albernas Carvajal, 2013; Fabelo, 1998):

$$\frac{dS}{dt} = -r_s = -\frac{\mu X}{Y_{XS}} \quad (2.14)$$

Balance para componente biomasa:

$$\left[\begin{array}{c} \text{Razon de} \\ \text{cambio de} \\ \text{biomasa} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{biomasa} \\ \text{que} \\ \text{entra} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{biomasa} \\ \text{que} \\ \text{sale} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{biomasa} \\ \text{que} \\ \text{crece} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{biomasa} \\ \text{que se} \\ \text{descompone} \end{array} \right] \quad (2.15)$$

Aplicando 2.12 al sistema se obtiene:

$$\frac{dXV}{dt} = F_e X_e - F_s X_s + V(\mu - v)X \quad (2.16)$$

Sustituyendo 2.4 en 2.16 se obtiene la expresión:

$$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu X - vX \quad (2.17)$$

Balance para componente producto:

$$\left[\begin{array}{c} \text{razón de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de producto} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{producto} \\ \text{que entra} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{producto} \\ \text{que sale} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{formación} \\ \text{de producto} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{degradación} \\ \text{de producto} \end{array} \right] \quad (2.18)$$

Lo que se traduce como:

$$\frac{dPV}{dt} = F_e P_e + F_s P_s + V(rp - k)P \quad (2.19)$$

En general, se considera que existe una producción neta de etanol debido al crecimiento del microorganismo y otra producto del mantenimiento, por lo que se utiliza la ecuación de Luedeking-Piret para describir este fenómeno (Ribas-García y otros, 2011).

$$r_p = Y_{px}\mu X + m_p X \quad (2.20)$$

Sustituyendo se obtiene:

$$\frac{dPV}{dt} = F_e P_e + F_s P_s + V(Y_{px}\mu X + m_p X - kP) \quad (2.21)$$

Recordando nuevamente que el modo de operación del biorreactor es en lotes y considerando que no hay degradación del producto ni consumo para el mantenimiento (Albernas Carvajal, 2013; Fabelo, 1998), finalmente resulta:

$$\frac{dP}{dt} = r_p = Y_{px}\mu X \quad (2.22)$$

donde:

X - es la concentración de biomasa en (Kg/m^3)

S - es la concentración de sustrato (Kg/m^3)

P - es la concentración de etanol (Kg/m^3)

μ - es la velocidad específica de crecimiento (h^{-1}),

v - representa la velocidad específica de muerte de los microorganismos (h^{-1}),

Y_{ps} - es el coeficiente de rendimiento de etanol (*mol de etanol/mol de glucosa*)

Y_{xs} - es el rendimiento de biomasa (*mol de biomasa/mol de glucosa*), se considera una constante para la operación de fermentación alcohólica.

Y_{px} : Rendimiento de producto por biomasa generada (*kg producto/kg biomasa*).

K_m - Constante de mantenimiento de la célula (*kg sustrato/kg biomasa h*).

m_p - Velocidad específica de formación de producto debida al mantenimiento (h^{-1})

k - constante de degradación del producto (h^{-1})

r_s : Velocidad de consumo de sustrato ($Kg/m^3 h$).

r_x : Velocidad de formación de biomasa ($Kg/m^3 h$).

r_p : Velocidad de formación de producto (Kg/m^3h)

Los subíndices s , x , p , representan las variables de estado del proceso y son ampliamente usados en la literatura bioquímica.

2.6.3 Dependencia del factor de crecimiento (μ) de factores ambientales.

Para el caso de formación de biomasa existe una estrecha relación de dependencia del factor de crecimiento específico de la levadura con variables ambientales.

Para describir la cinética de crecimiento de *Saccharomyces Cerevisiae* se utiliza la ecuación de crecimiento de tipo Monod. En el modelado se tiene en cuenta la dependencia del factor de crecimiento de condiciones ambientales tales como acidez, temperatura, humedad, presión, oxígeno disuelto. (Ribas-García y otros, 2011).

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \frac{s}{K_s + s} \quad (2.23)$$

donde K_s es la constante de afinidad para el sustrato según Monod, también conocida como constante de saturación del sustrato.

En varios estudios se aborda la dependencia del parámetro $\mu_{m\acute{a}x}$ del pH y la temperatura, al ser estas las dos variables más influyentes.

$$\mu_{m\acute{a}x} = \begin{cases} \mu_{opt} f(pH) g(T) & \text{si } T_{m\acute{i}n} \leq T \leq T_{m\acute{a}x} \text{ y } pH_{m\acute{i}n} \leq pH \leq pH_{m\acute{a}x} \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (2.24)$$

Al no ser un parámetro de interés en este trabajo el efecto del pH sobre el crecimiento celular de la levadura, se realiza un enfoque sobre la temperatura. Esta dependencia está determinada por los valores máximos y mínimos en los que puede desarrollarse este proceso y por el valor de crecimiento celular óptimo para la reproducción de estos microorganismos.

Para el caso de estudio de este trabajo se establece una aproximación de $\mu_{m\acute{a}x}$ en dependencia de la temperatura. Esta aproximación estaría definida por la ley de Arrhenius (de Fera Silva, 2003):

$$\mu_{m\acute{a}x} = K_a e^{-(E_a/RT)} \quad (2.25)$$

Al realizar la sustitución de 2.25 en 2.23 se obtiene que el factor de crecimiento depende de la temperatura de la siguiente forma:

$$\mu = K_a e^{-(E_a/RT)} \frac{S}{K_s + S} \quad (2.26)$$

Esta relación puede ser aplicada a los modelos que se han descrito en este capítulo, permitiendo analizar la influencia de la temperatura en la formación de los productos y el consumo de sustrato como se analizará posteriormente.

2.7. Consideraciones finales.

Analizada la modelación de equipos como los biorreactores se observa que esta resulta ser una tarea de amplio alcance, pues se basa desde un punto empírico de trabajo en las ecuaciones que responden al balance de energía en relación con la velocidad de las reacciones que ocurren en el proceso. Estas ecuaciones desprenden modelos que en toda ocasión serán dependientes de las condiciones que permiten la realización del proceso fermentativo, entre estas un parámetro de suma relevancia es la temperatura cuyo valor debe establecerse adecuadamente para evitar la posible muerte de los microorganismos y lograr la máxima eficiencia en la producción, concluyéndose que debe ser considerada como variable de control.

En la fermentación del bagazo de caña para la obtención de etanol es necesaria la obtención de modelos que se ajusten al equipo que se utiliza, en este caso el biorreactor MINIFORS. Esto se debe a la complejidad de comportamiento de las propiedades de la mezcla y sus variaciones durante el cultivo. Esta es una mezcla de tipo semisólido cuyas características no son totalmente definidas por un valor sino que varían en un rango lógico en el cual, el bagazo, es considerado aceptable para el desarrollo de estos procesos, y dependen de un organismo vivo para su desarrollo el cual no responde de manera similar en todos los ambientes.

La obtención de modelos que representen la dinámica y cinética de la fermentación que permitan el ajuste de parámetros como la temperatura, que no responde de manera adecuada a las diferencias de comportamiento entre las distintas etapas de desarrollo del proceso y las transiciones entre las mismas, es de suma importancia para la realización de futuras investigaciones para la estimación de parámetros cinéticos como el crecimiento específico del microorganismo que se utiliza.

CAPÍTULO 3. SIMULACIÓN Y ANÁLISIS DEL MODELO

Para obtener un modelo que se ajuste al proceso la toma de datos de procesos experimentales que se referencian en la literatura, es un factor que debe realizarse cuidadosamente. Es en este punto, cuando un profundo estudio del método de realización del proceso se vuelve de suma importancia. Luego, se hace necesario el análisis de los modelos obtenidos a partir de simulaciones. Ha de comprobarse que los resultados que se obtienen de los mismos concuerdan con los referidos en la literatura y ha de observarse el comportamiento que reflejan estos del sistema que se estudia así como sus aplicaciones para futuras investigaciones.

Por ello en este capítulo se realiza la recogida de datos, basada en investigaciones precedentes realizadas del proceso de fermentación alcohólica del bagazo de caña en un biorreactor trabajando en régimen discontinuo. El uso de estos en el modelo simulado del sistema permite obtener el seguimiento de los parámetros fundamentales de los modelos desarrollados en el capítulo anterior. Se comprueba que al modelo se le puede implementar una variante de control: *on/off*, y se demuestra que el trabajo desarrollado muestra un balance económico favorable.

3.1. Procedimiento aplicado en la fase fermentativa del proceso.

Las fases de prefermentación y fermentación se analizan como una en todo proceso fermentativo, puesto que en ellas es donde ocurre la conversión del sustrato en etanol. En esta etapa se añaden la levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*), nutrientes (urea y fosfatos) (Albernas Carvajal, 2013) obteniéndose el bioetanol.

La fermentación presenta grandes inconvenientes dados sus largos tiempos de duración, esto provoca que el proceso tenga largos tiempos de espera y un mayor tiempo total del proceso. Es válido resaltar la gran ventaja que reporta la reducción de tiempos de operación. También es importante señalar que en la etapa de fermentación a pesar de que su duración en los procesos alcohólicos oscila en más de 20 horas, (Mesa, 2010) demostró experimentalmente para el caso del bagazo que en las primeras 18 horas de fermentación la levadura *S.Cerevisiae* consume casi toda la glucosa, por lo que los niveles de etanol formados después de ese tiempo no son apreciables, y ese es el tiempo que se toma generalmente para el estudio de la etapa.

El experimento se realiza en el biorreactor MINIFORS con 1,7 L de volumen de mezcla, partiendo con una temperatura inicial 22°C y midiendo la misma a intervalos de 5 min hasta alcanzar la temperatura de trabajo de 30°C a 45°C. Transcurrido el tiempo requerido se toman a intervalos de 5 min el tiempo de enfriamiento del reactor, hasta alcanzar una temperatura ambiente que permita la descarga del mismo. Para el proceso en cuestión, el hidrolizado de bagazo presenta una concentración entre 16 y 58 g/L.

3.2. Modelo Simulink.

El montaje del modelo en Simulink (figura 3.1) se realizó con las ecuaciones no lineales desarrolladas en el epígrafe 2.6., este modelado incluye las ecuaciones que se derivan del balance de energía del reactor y la chaqueta y las que describen cinéticamente al proceso, el disipador fue incluido debido a la naturaleza exotérmica de la reacción. El modo de operación discontinuo que presenta el equipo se tuvo en cuenta por lo cual no existe un flujo de entrada lo cual determina que la concentración y temperatura de entrada sean nulas. La simulación del modelo permite obtener la respuesta del sistema en lazo abierto y el comportamiento de las salidas en función de las entradas.

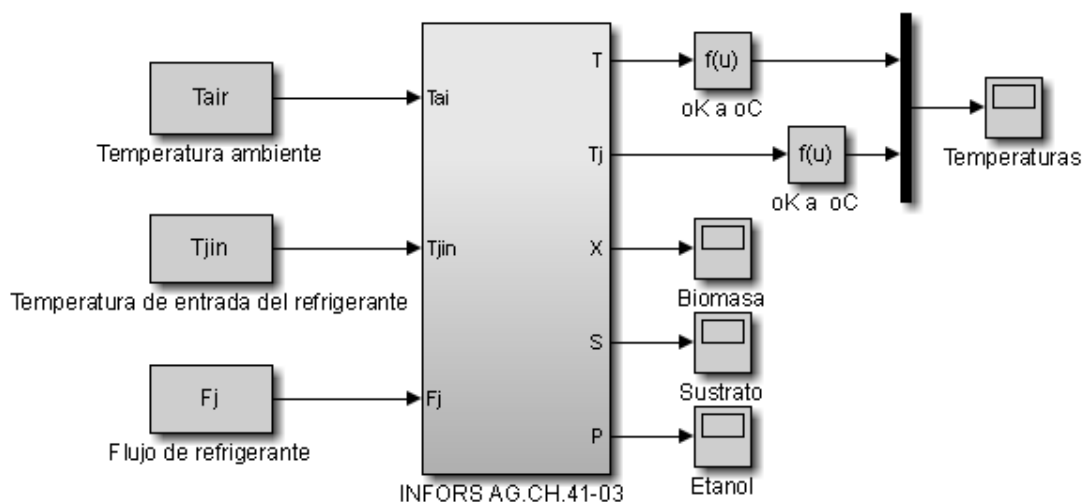


Figura 3.1 Modelo Simulink del sistema.

3.3. Datos del proceso.

En la siguiente tabla (Tabla 3.1) se muestran los datos usados para el estudio del proceso de la fermentación del bagazo de caña hidrolizado tomados de (Albernas Carvajal, 2013).

Tabla 3.1. Datos utilizados para la simulación del proceso

Datos del proceso experimental.			
Parámetro	Nomenclatura	Valor	Unidad de medida
Flujo de entrada	F	0; es <i>batch</i>	l/h
Coeficiente de transferencia de calor	U	534.29	J/hm^2k
Área de transferencia	A	0.0417	m^2
Volumen del reactor	V	1.7	L
Densidad del bagazo hidrolizado	ρ	1017.95	g/l
Calor específico	C_p	5	$J/kgmolK$
Entalpía de reacción	ΔH	557.33	kJ/kg
Factor pre-exponencial de Arrhenius	k_o	28319.1	-

Datos del proceso experimental (cont)			
Energía de activación	E_a	55000	J/mol
Constante de los gases	R	8.314	J/molK
Volumen de la chaqueta	V_j	0.4	L
Densidad del agua	ρ_j	1000	g/l
Calor específico del agua	C_{pj}	4.18	J/kgmolK
Temperatura del agua que entra a la chaqueta	T_{jino}	22+ 273.15	$^{\circ}K$
Temperatura del aire (disipador)	T_a	23 + 273.15	$^{\circ}K$
Flujo de entrada a la chaqueta	F_j	2	l/h
Concentración inicial de sustrato	C_{s0}	25	g/L
Temperatura inicial del reactor	T_0	22+ 273.15	$^{\circ}K$
Temperatura inicial de la chaqueta	T_{j0}	21.5 + 273.15	$^{\circ}K$
Concentración inicial de biomasa	x_o	4	g/L
Concentración inicial de producto	p_o	15.83	g/L
Factor de crecimiento específico	$\mu_{m\acute{a}x}$	0.251	h-1
Rendimiento de biomasa	Y_{xs}	5.8	Mol biomasa/mol glucosa
Rendimiento de etanol	Y_{ps}	2	Mol etanol/mol glucosa
Constante de afinidad para el sustrato	K_s	25	mg L-1
Constante térmica del aluminio	k_{cd}	166	J/(mKh)
Área del disipador	A_d	0.0298	m^2
Grosor del disipador	L	0.065	m

3.4. Simulaciones del modelo.

Las simulaciones que se muestran fueron obtenidas de los modelos que se desarrollaron en este trabajo, estas coinciden con las observaciones realizadas en la literatura como (Mesa, 2010) y (Fabelo, 1998), recuérdese que en todos los casos es relevante la dependencia de cada parámetro de la temperatura.

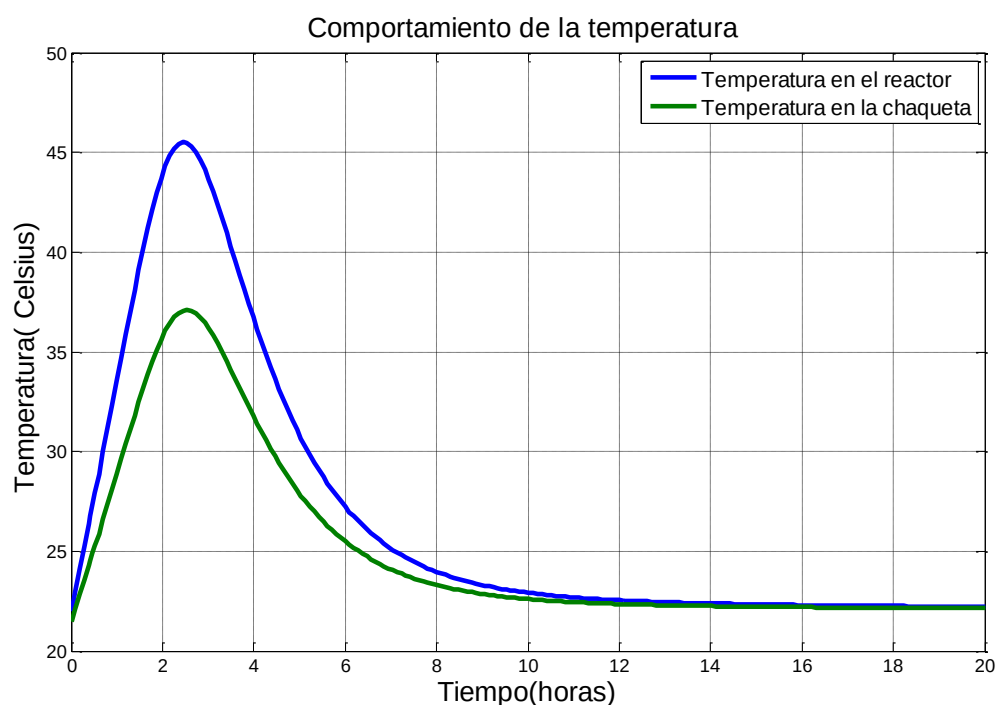


Figura 3.2. Dinámica de las temperaturas.

Estas pruebas se realizaron en lazo abierto (figura 3.2), donde la temperatura del reactor, T alcanza un valor de 45.5°C y T_j alcanza una temperatura de 36.5°C debido a la absorción del calor generado por el biorreactor. El tiempo en el que la temperatura comienza a disminuir coincide con el tiempo en el que sustrato es consumido casi totalmente por lo que se convierte en una limitante del crecimiento y la reproducción celular, por tanto los microorganismos comienzan a morir y cesa la generación de calor volviendo la mezcla a establecerse a temperatura ambiente, en el punto en que se completa la fase de muerte. Nótese que se corrobora la naturaleza exotérmica de la reacción.

El consumo de sustrato resulta un parámetro de interés debido a su influencia en la generación de calor del sistema. La siguiente simulación refleja el comportamiento de la concentración del sustrato en el tiempo (figura 3.3).

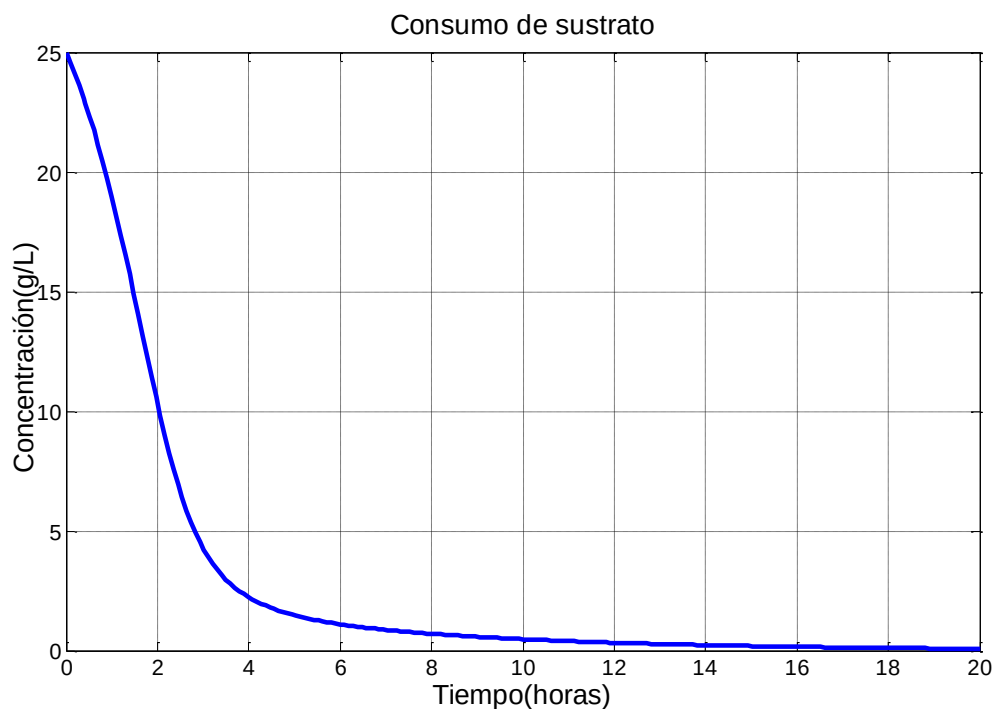


Figura 3.3 Consumo de sustrato.

El perfil de concentración demuestra que la reacción se lleva a cabo mediante un consumo donde la concentración inicial de sustrato en el proceso es convertida a cero con el transcurso del tiempo, lo cual es propio de los sistemas discontinuos, traduciéndose en la total conversión del sustrato en productos (de Feria Silva, 2003). Debido a que no hay alimentación de sustrato, este no se establece en el valor del mismo y los microorganismos lo consumen en su totalidad. En la práctica el proceso es detenido antes de que esto suceda debido a que el sustrato se convierte en un limitante del crecimiento celular resultando en una pérdida de eficiencia en el proceso. Nótese que la duración del proceso es de aproximadamente 20 horas lo cual es propio de la fermentación de bagazo.

Un proceso discontinuo se caracteriza por la total conversión del sustrato. Por ello, es necesario analizar el comportamiento que describe la formación de los

productos, el cual, se observa en la siguiente simulación:

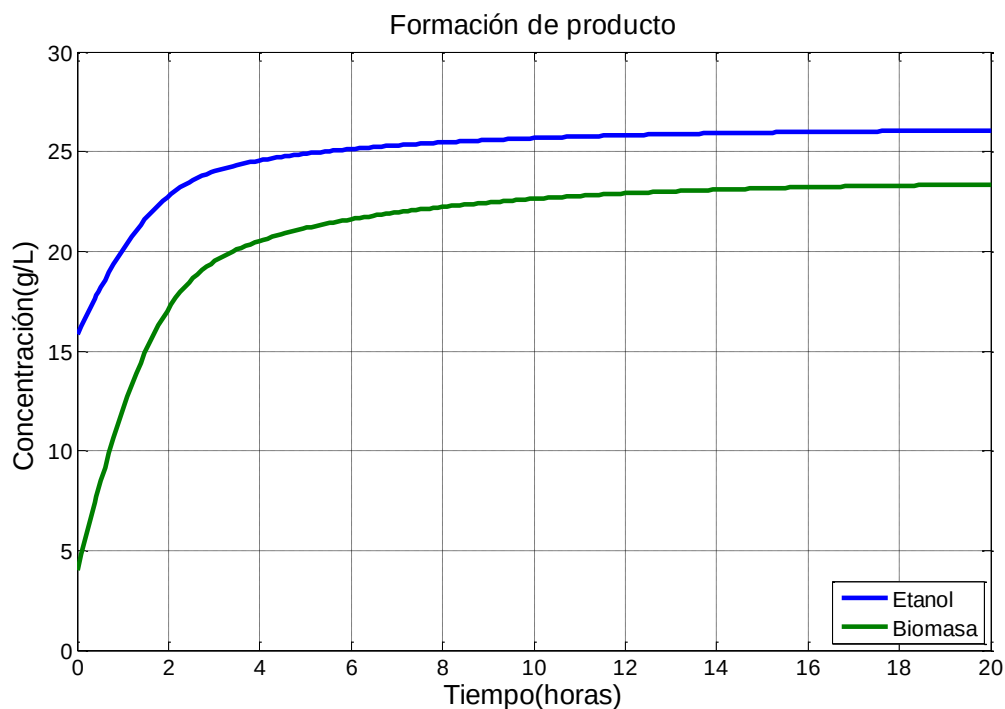


Figura 3.4 Formación de productos.

Como se aprecia en la figura 3.4 la formación de productos es inversamente proporcional al consumo del sustrato, la concentración de cada uno de ellos se establece en un valor máximo debido a que el sustrato fue totalmente consumido y los microorganismos murieron en su totalidad. Nótese que la concentración de etanol que se obtiene es mayor que la concentración de biomasa, lo cual, es propio de la fermentación anaerobia de bagazo por *Saccharomyces Cerevisiae* en un proceso sin manipulación.

3.5. Aplicación de una variante de control sobre el modelo.

Para la aplicación de control sobre el modelo obtenido se selecciona, en este caso, una variante de control *on/off* para manipular el flujo de refrigerante (agua) para mantener la temperatura en el reactor en los valores deseados (figura 3.5). Esta variante se selecciona por ser una de las más sencillas y no ser un objetivo en este trabajo la implementación de un control óptimo sobre el sistema. Este procedimiento serviría para simular el control manual que se realiza en muchos

biorreactores en lotes por operadores experimentados y, por otro lado, valorar si la implementación de estrategias de control podría elevar la eficiencia y rendimiento de estos procesos.

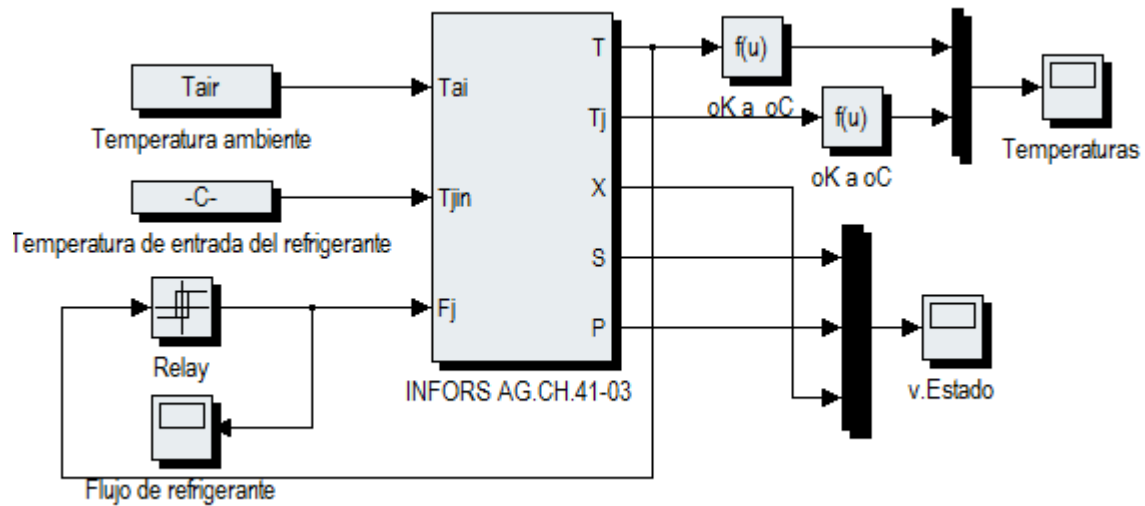


Figura 3.5 Modelo Simulink con control.

Para analizar el comportamiento del sistema controlado, se realiza nuevamente la simulación del mismo con el regulador incluido y se analizan los resultados obtenidos.

Obsérvese que el valor pico de temperatura disminuye permitiendo a los microorganismos operar en un rango más adecuado para su reproducción (figura 3.6).

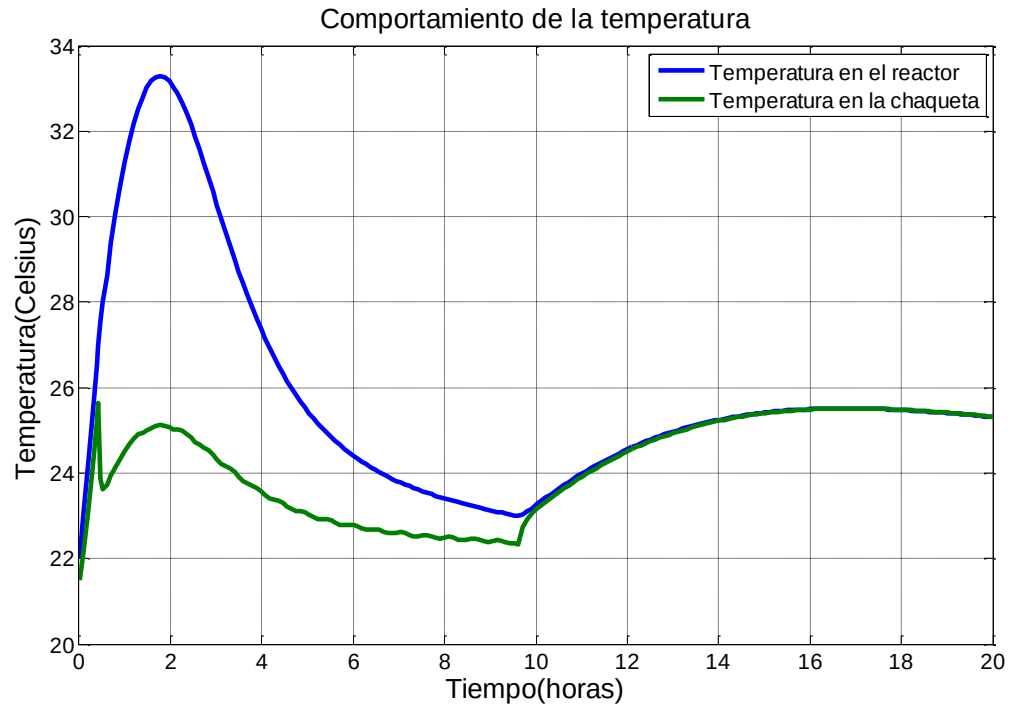


Figura 3.6 Comportamiento de la temperatura controlada.

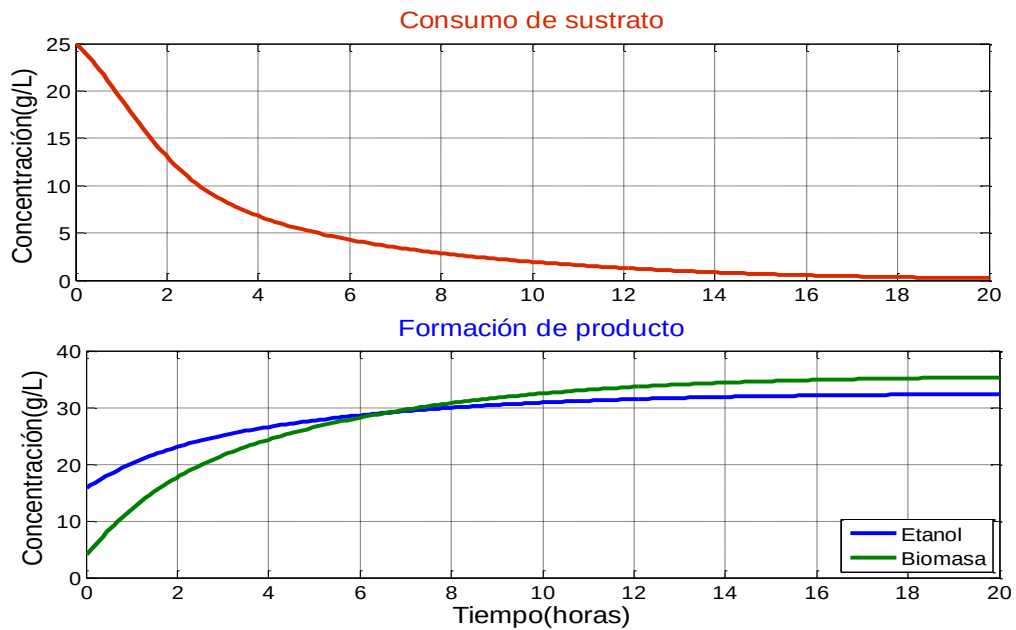


Figura 3.7 Comportamiento del sistema controlado.

En la figura 3.7 se observa como el consumo de sustrato es más suave en la fase inicial del proceso manteniendo una mayor estabilidad, lo que resulta en un

aumento del rendimiento en la formación de los productos ya que la muerte de los organismos no ocurre tan rápidamente por lo cual el sistema mantiene una mayor producción durante este período. Obsérvese que se alcanza una mayor concentración de etanol (32 g/L) en el sistema controlado que en el sistema sin controlar (26 g/L) y como resultado curioso los índices de producción de biomasa se incrementaron considerablemente lo que se traduce en un mayor aprovechamiento de la materia prima. Este producto también presenta un marcado interés económico.

3.6. Análisis económico.

Un aspecto fundamental en la realización del proyecto es el análisis económico, este abarca tanto los gastos que generó el desarrollo, como los beneficios que traerían para la entidad que disponga de la investigación realizada hasta el momento.

Los resultados de este trabajo de diploma contribuyen a posibilitar otras investigaciones en el área de las investigaciones sobre la fermentación en lotes por *S. Cerevisiae* de bagazo de caña hidrolizado, por tanto es un trabajo enmarcado en investigaciones básicas, que contribuye al desarrollo de un modelo y herramientas computacionales a emplear en otras tareas científicas. Por lo anterior, el costo de este proyecto de diploma es gasto no reintegrable. Todos los gastos del proyecto están calculados en moneda nacional. O sea, no requirió inversión en divisas de ningún tipo.

Los gastos del proyecto fueron básicamente:

*Tabla 3.1 Mano de obra directa.**

Investigadores	Cantidad	Horas	Valor
Profesor investigador	2	60	\$ 2400.00
Alumno investigador	1	250	\$ 2500.00
TOTAL	3	310	\$ 4900.00

*No hay salario empleado en este proyecto. Esto es solo cálculo de estimado de costos por la mano de obra empleada en el desarrollo del proyecto.

- Gasto estimado de mano de obra: *horas/ valor*
310/ \$ 4900.00

Tabla 3.2 Otros gastos directos.

Otros gastos directos	Costo
Peligrosidad	No
Transferencia tecnológica	No
Impuestos sociales	No

- No hubo gastos en mano de obra indirecta

Tabla 3.3 Otros costos directos

Otros costos directos	Costo
Transportación	No
Alimentación*	No
Equipamiento	No fue necesario invertir en equipos
Equipos de protección individual	No se aplica

*Financiado anteriormente

Materiales e inversiones:

- No hubo gastos e inversiones.
- La licencia del MATLAB no se compró para este proyecto.
- No se gastó en otros materiales (impresoras, memorias flash, etc.)

Costos indirectos (se calculan sobre la base de los costos directos):

- La administración del proyecto fue realizada en lo fundamental por el propio alumno investigador. Total: Cero
- Tarifas bancarias: No

Lo anterior demuestra que el principal gasto de este proyecto está en la mano de obra de los investigadores.

✓ Impacto económico:

El presente trabajo permite aumentar la productividad de los procesos biotecnológicos como la fermentación de bagazo de caña. Los investigadores haciendo uso de los resultados de este proyecto podrán desarrollar futuras investigaciones en el área de la optimización de la automática y control de estos equipos lo que permitirá elevar el rendimiento en estos equipos.

Nuevos horizontes de la investigación científica se abren con los resultados alcanzados. Estos constituyen valiosas herramientas para los centros de investigación, el impacto es directo en todas las ramas del conocimiento y la investigación científica, sea en investigaciones básicas o en aplicadas sobre todo en las relacionadas con la biotecnología, puesto que este trabajo mediante la implementación de una simple variante de control sobre el modelo desarrollado se muestra una mejora en el rendimiento del sistema respondiendo a la necesidad de elevar los índices de producción de etanol como producto de interés, dada su aplicación en la esfera de los biocombustibles. La importancia económica que adquiere en este campo del desarrollo es relevante si se tiene en cuenta que el costo de producción de bioetanol a partir de bagazo de caña es de US\$1,09 por galón, siendo competitivo con un precio del barril de petróleo de US\$35, lo cual se debe a que el bagazo es una materia prima, que se obtiene de los desechos de otros procesos industriales.

Recuérdese que la investigación desarrollada es de carácter básica. Es decir, los resultados de este trabajo de diploma no generan beneficios económicos de forma directa. Por tanto la aplicación de estas tecnologías aplicadas a nivel industrial reporta como ventajas económicas indirectas para todos los países que la implementen:

- el desarrollo de un nuevo campo económico de amplio mercado.
- el un aumento en la productividad y rentabilidad de un sector agrícola hoy deprimido.

- la creación de nuevos puestos de trabajo y nuevos ingresos, generando elementos estructurales de cohesión social, que propiciará el desarrollo económico.
- la reducción de los índices de pobreza en toda una región.

3.7. Consideraciones finales.

El estudio realizado sobre el proceso de fermentación de bagazo de caña hidrolizado ha puesto de manifiesto la importancia de una correcta regulación de la temperatura. Por ello se obtuvo un modelo dinámico donde intervienen tanto el análisis de la conservación y transformación de masa y de energía obteniéndose así el modelo del reactor INFORS.AG:CH41-03 para procesos de fermentación en lotes de bagazo de caña hidrolizado. Dicho modelo se analizó sobre el interés de controlar los distintos parámetros que en ellos intervienen por varias vías. La simulación del modelo a lazo abierto en Simulink describe el comportamiento general del sistema y permite evidenciar la posibilidad de aplicar estrategias de control sobre el mismo. Para ello se aplica un control *on/off* que permite la regulación de la temperatura, y por tanto la regulación en buena medida de la concentración de sustrato así como la velocidad de consumo del mismo, de la reacción y de formación de productos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

El presente trabajo sirve de precedente a futuras investigaciones en el campo de los bioprocesos, así como en el modelado de reactores lo cual demostró ser una tarea compleja en la cual se debe seguir profundizando. En el desarrollo del mismo haciéndose uso de las herramientas y metodología para el modelado y control, se alcanzaron los siguientes resultados:

1. Se obtuvo un modelo matemático relativamente sencillo que permite simular el funcionamiento del biorreactor *batch*, perfectamente mezclado, operando en cultivo anaerobio y para una utilización a escala de laboratorio en la obtención de alcohol por fermentación.
2. Los perfiles de concentración y temperatura obtenidos demuestran que la reacción requiere de un control, para esto se plantea que la variable a controlar es la temperatura.
3. La metodología utilizada constituye una guía útil para el trabajo de modelado, control y optimización de procesos fermentativos.
4. Se implementó una versión de herramienta del Software MATLAB destinado al modelado y simulación de procesos de fermentación, y ajustada a un modo de operación discontinuo y en pequeña escala que puede ser aplicada a procesos similares.
5. El modelo construido de la fermentación alcohólica describe la influencia de distintos factores sobre el comportamiento del proceso y predice el cambio del mismo.

6. EL programa pudiera ser utilizado para predecir los valores de biomasa alcanzados al final del proceso fermentativo, lo que representa una ventaja para las fermentaciones en estado semisólido, y para encontrar en futuras investigaciones una vía para la estimación del factor específico de crecimiento, debido a la dificultad para determinar directamente el valor de estos parámetros, los cuales se obtienen por métodos indirectos.
7. Se demostró la viabilidad de la implementación de un control de temperatura que permita elevar los índices de rendimiento y eficiencia para la producción de biomasa y bioetanol.

Recomendaciones:

1. Realizar un estudio experimental que permita la validación del modelo que se obtuvo mediante simulaciones.
2. Realizar estudios con otros microorganismos en la fermentación, con los cuales se puedan fermentar el bagazo de caña para un posterior ajuste del modelo que permita un mayor entendimiento del funcionamiento del equipo, con el cual se pueda analizar el rendimiento de su utilización, para la producción de etanol y su flexibilidad.
3. Estudiar la implementación de opciones viables para el control de sistemas altamente no lineales y con dinámica poco predecible como es el caso de estudio del presente trabajo, como control de tipo inteligente, la lógica difusa y las redes neuronales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

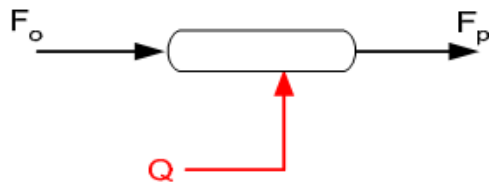
1. Aguilar Valencia, D. M. (2011). *Producción de etanol a partir de bagazo de caña panelera mediante un sistema híbrido de fermentación y pervaporación*. Universidad Nacional de Colombia, Manizales.
2. Albernas Carvajal, Y. (2013). *Procedimiento para la síntesis y el diseño óptimo de plantas discontinuas de obtención de bioetanol empleando bagazo de caña de azúcar*. Tesis en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara.
3. Anahí, M. y Cuellas, V. (2007). *Teoría de Biorreactores*. Universidad Nacional de Quilmes Quilmes.
4. Aznar, A. y Cabanelas, J. C. (2009). *Ingeniería de Reacciones*. Universidad Carlos III Madrid.
5. de Faria Silva, M. (2003). Efecto de los principales parámetros físico-químicos sobre el proceso de embriogénesis somática a escala de biorreactores. *Bioteología Vegetal*, 3(4), 6.
6. Echeverry, N., Quintero, O., Ramírez, M. y Álvarez, H. (2004). *Control de un biorreactor para fermentación alcohólica en continuo*. XI Congreso Latinoamericano de Control Automatico CLCA'04, Cuba.
7. Fabelo, J. A. (1998). *Estudio de la Etapa de Fermentación Alcohólica Utilizando Diferentes Sustratos*. Tesis en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara.
8. Fajardo Castillo, E. E. (2007). *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae**. Universidad Javeriana, Bogotá.
9. Flores Hernández, A. A., Flores Montiel, M., Reyes Reyes, J. y Astorga Zaragoza, C. M. (2013). *Diseño y modelado de un bioreactor tipo batch y continuo para aplicaciones de control automático*. Congreso Nacional de Control Automático Ensenada, Baja California, México.

10. Fortuny Sendros, C. (2004). *Modelación y Control de Temperatura de un Reactor "Batch" para un Proceso Químico Exotermico*. Universidad Rovira I Virgili.
11. García, M. R., Vargas, R. H., Carralero, N. G., López, F. D. y otros. (2011). Metodología para la modelación matemática de procesos. Caso de estudio, fermentación alcohólica ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 45(1), 12.
12. González Castellanos, R. A. (2011). Desarrollo del modelo para la fermentación anaerobia en cultivo discontinuo incrementado con alimentación variable. *Tecnología Química*, Vol. XIX.
13. INFORS-HT. (2014). Biorreactores y Agitadores orbitales.
14. Jeffries, T. W. (2005). Ethanol fermentation on the move. *Nat Biothec*, 23.
15. Lechuga. (2008). ABC para Comprender Reactores Químicos con Multireaccion.
16. Lee, Y. K. (2006). *Microbial Biotechnology: Principles And Applications*.
17. Lee, Y. K. (2013). *Microbial Biotechnology, Principles And Applications* (3 ed.). World Scientific. Singapur
18. Li, Y., Ang, K. H. y Chong, G. (2006). PID control system analysis and design. *IEEE Control Systems Magazine* 26, 9.
19. López, I. y Borzacconi, L. (2009). Notas del curso de introducción al diseño de reactores. Facultad de Ingeniería
20. Luyben, W. L. (1996). *Process Modelling, Simulation and Control for Chemical Engineers* (2nd Ed. Vol. I). McGraw-Hill Publishing Company. New York.
21. Martínez Jimenez, B. L. (2008). *Identificación borrosa de sistemas no lineales mediante algoritmo de agrupamiento incremental con aplicación a un proceso fermentativo de bioetanol*. Tesis en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara.
22. Mesa, L. (2010). *Estrategia Investigativa para la Tecnología de Obtención de Etanol y Coproductos del Bagazo de la Caña de Azúcar*. Tesis en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara.
23. Montoya Guzmán, D. A. y Bermudez Segura, M. Y. (2003). *Modelamiento de la transferencia de oxígeno para el cultivo de microorganismos en un biorreactor de columna de burbujeo*. Universidad Nacional de Colombia, Manizales
24. Muñoz, J. (2011). *Control integrado de los reactores de membrana para la eliminación de nutrientes en aguas residuales*. Universidad de Gerona Gerona.

25. Neway, J. O. (1989). *Fermentation Process Development of Industrial Organisms*.
26. Pérez Correa, R. y Agosin, E. (2012). Instrumentation and control of bioprocesses *Biotechnology*, II, 7.
27. Ravelo Ron, D., Bermúdez Savón, R. C., Valiño Cabrera, E. y Pérez Pardo, J. L. (2002). Fermentación del bagazo de caña de azúcar en un biorreactor a escala de laboratorio. *Tecnología Química*, XXII, 9.
28. Ribas-García, M., Hurtado-Vargas, R., Garrido-Carralero, N., Domenech-López, F. y otros. (2011). Metodología para la modelación matemática de procesos. Caso de estudio, fermentación alcohólica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 45(1, enero-abril), 37-47.
29. Shinskey, F. G. (1996). *Process Control Systems* (Vol. I). MC GRAW-HILL BOOK COMPANY. New York.
30. Singh, L. y Kaur, M. (2004). *Chemistry, Science and Technology for Tenth Class* (4 ed., Vol. II). S. Chand & Company Ltd
31. Stephanopoulos, G. (1984). *Chemical process control. An introduction to theory and practice* Prentice-Hall.

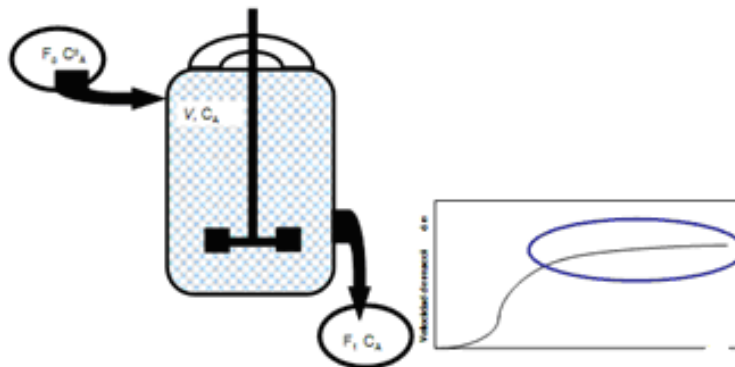
ANEXOS

ANEXO I. Esquemas de Biorreactores.



Reactor continuo tipo tanque agitado (CSTR):
(Continuously Stirred Tank Reactor)

Estos reactores trabajan en estado estacionario, los valores de las variables no varían con el tiempo.



ANEXO II. Biorreactores de INFORS.

MULTIFORS 2 CELL



LABFORS 5 CELL



MULTIFORS 2



LABFORS 5

ANEXO III. Especificaciones técnicas de los biorreactores tipo MINIFORS CELL.**-Ph**

Mettler 405-dpas-sc0987-k8s/225 combination pH.

Toledo pH 12.0.....130°C

405-DPAS es un electrodo de pH pre-presurizado vea tabla III-1.

Tabla III-1. Especificaciones Técnicas, 405-DPAS-SC-K8S.

Especificaciones Técnicas, 405-DPAS-SC-K8S	
Número de diafragmas	1
Rango de pH	0...12
Resistencia a la presión (bar)	sobrepresión de hasta 2.5 bar
Resistencia a la presión (psi)	sobrepresión de hasta 36 psi
Sistema de referencia	sistema Argenthal
Trampa de iones de plata	sí
Esterilizable	sí
Rango de temperaturas	0...100 °C (32...212 °F)
Apto para autoclave	sí
Diafragma	cerámico
ISM	no
Descripción breve	electrodo de pH de mantenimiento mínimo

Características y ventajas:

-Mínimo mantenimiento:

El electrodo 405-DPAS está llenado con un electrólito de gel de referencia pre-presurizado a 2,5 bar (36 psi). La sobrepresión interna garantiza una salida gradual del electrólito, limpiando eficazmente el diafragma y evitando la entrada de medio de proceso.

- Electrodo de larga vida útil:

El electrodo se halla provisto además de un colector patentado de iones de plata para evitar la suciedad del diafragma en medios con contenido sulfuroso y prolongando la vida útil del electrodo.

-Salida de aire

Flujómetro1 vöegtlin 50-500ccm 1.21bar a 20 °C

Typ: v100-80 BE EB130397/1 art27638

Características: Construcción corta, tres tallas de instrumentos.

Conexiones: lateral o axial

Escala milimétrica, resistente al alto uso, con lectura directa y específica.

Válvula precisa, ajustable, prácticamente libre de histéresis.

Especificaciones Técnicas	
Presión máx.	20 bar
Temperatura máx.	100 °C

O-Salida O₂

Flujómetro2 vöegtlin 16-166ccm 1.21bar a 20 °C

Typ: v100-80 BE EB135510 art28406

-Temperatura

Pt100

-pO₂

Hamilton

Oxyferm 225 Pn 237110

El OXYFERM es un sensor electroquímico de oxígeno adecuado para aplicaciones como industrias farmacéuticas y químicas. Al usar electrólito OXYLYTE USD, es posible la introducción al revés, vea la tabla III-2.

Campos de aplicación:

Industria química, industria farmacéutica y biotecnología

Método de medición: La medición de la corriente eléctrica es afectada por la presión parcial de oxígeno

Tabla III-2. Especificaciones Técnicas del Oxyferm 225 Pn 237110.

Especificaciones Técnicas del Oxyferm 225 Pn 237110	
Rango	10 ppb ... 40 ppm de oxígeno disuelto
Corriente en el aire a 25 °C	40 ... 80 nA
Corriente residual en nitrógeno	< 0.1% (relativo a la corriente en el aire)
Tiempo de respuesta t98%	Máx. 60 s at 25 °C, de aire a nitrógeno
Consumo de oxígeno	Ca. 20 ng/h en el aire a 25 °C
Flujo requerido	≥ 0.03 m/s
Deriva a un cuarto la temperatura bajo las constantes condiciones	< 1% a la semana
Máx. CO ₂ presión parcial	0.01 bar
Sensor de temperatura	NTC 22 kOhm
Respuesta de temperatura	3.1%/K
Temperatura de almacenamiento	-10 ... 60 °C
Temperatura de trabajo	0 ... 130 °C
Rango de presión	0 ... 4 bar

Especificaciones Técnicas del Oxyferm 225 Pn 237110	
Compensación de la presión	No requerido
Sistema de electrodo	Combinación de plata y platino
Membrana	OPTIFLOW FDA
Diámetro del eje	12 mm
Montaje	PG 13.5 de hilo
Conector eléctrico	Standard 4 pole T 82/D4
Materiales impermeables	Acero inoxidable 1.4435, silicona, FKM (Viton®)
Calidad de la superficie de acero	< 0.4 µm
Electrolito	OXYLYTE, alcalino
Voltaje de polarización	-670 ± 50 mV
Tiempo de estabilización	< 2 horas

-Bombas peristálticas

SCHOTT 250 watt Rep Checa

GI45 máx. 180 °C

-Entrada y salida de agua acondicionada 0.5 a 1.5bar

-Entrada de CO₂ máx. 0.5 bar

-Entrada de aire 1.5 a 2.5 bar

-Entrada de O₂ máx. 0.45 bar

Ventajas del software Iris 6.0:

-Logueo/adquisición de datos

-Control basado en tiempo o evento

-Lazos de control individuales

-Muestra de gráficos de todos los datos del proceso

-Reportes comprensivos.