



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL  
INSTITUTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES**

**“PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL  
AGUA DE PRODUCTOS DE DESECHO DE LA INDUSTRIA DE BEBIDAS.”**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del título de:

**INGENIERO QUIMICO**

Presentado por

**ANA VALERIA RODRÍGUEZ VALAREZO**

Guayaquil – Ecuador

2012

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica del Litoral, principalmente al Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales, por haberme guiado durante estos años de manera intelectual y personal permitiéndome culminar de manera exitosa mis estudios, y haberme brindado todas las oportunidades para poder salir adelante.

Al M. Sc. Francisco Torres que pese a las limitaciones de tiempo que su profesión requiere, me supo apoyar de manera acertada durante todo este proceso de graduación.

Al Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, especialmente al Centro del Agua para América Latina y el Caribe, por financiar y facilitar todos los medios necesarios para la elaboración de la presente investigación.

Al Ph. D. Roberto Parra Saldivar, profesor investigador del Centro del Agua, por su apoyo y guía durante la realización del presente proyecto.

A los estudiantes del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey: Andrés López (Ingeniería Química), Alejandra Arévalo, Mercedes Vázquez, Eduardo Cepeda, Fabián Martínez (Ingeniería en Biotecnología) por su colaboración en la investigación.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por su incondicional apoyo,

A mi hermana, Ana María, por su infinita ayuda, compañía y comprensión en cada momento,

A mi hermano, por su paciencia,

A mis abuelos, tíos y primos por su confianza,

A los docentes de esta universidad, por saberme guiar de manera acertada,

A mis amigos por creer en mí,

Por sobre todo a Dios, por la vida y por la oportunidad de brillar.

**TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

---

Ph. D. David Matamoros

DIRECTOR DEL TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

M. Sc. Francisco Torres

DIRECTOR DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN

---

Ph. D. Luis Domínguez

VOCAL PRINCIPAL

## **DECLARACION EXPRESA**

La responsabilidad del contenido  
de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente;

Y el patrimonio intelectual de la misma a la

Escuela Superior Politécnica del Litoral.

---

Ana Valeria Rodríguez Valarezo

## **RESUMEN**

Las empresas que llevan a cabo un proceso productivo, producen una cantidad considerable de desechos de todo tipo, en el caso específico de la presente tesis, desechos líquidos. Los efluentes producidos que no reciben un tratamiento adecuado, generan una elevada contaminación a todas las fuentes de agua.

El propósito del presente proyecto de tesis es realizar un estudio para mejorar la calidad de aguas residuales, basado el análisis en los productos de desecho (mermas), producidas por industrias de bebidas y la obtención de biomasa producto de la descomposición de compuestos dentro de dichas aguas residuales empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Es indispensable que se evalúen procesos y se desarrollen procedimientos biotecnológicos que permitan mejorar la calidad del agua de desecho que generan diferentes tipos de empresas productivas, en el caso específico del presente tema de tesis, empresas de bebidas para garantizar de esta manera un uso sostenible del agua como recurso.

El uso de energías alternativas es otro hito fundamental para lograr el desarrollo sustentable en cualquier parte del mundo. El estudio y desarrollo de tecnología que funcione y permita obtener otros tipos de energía que no provenga de combustibles fósiles asegura un futuro provechoso.

La unión de estas dos partes fundamentales, mejorar la calidad del agua y obtener biomasa como fuente de energía, empleando técnicas físico químicas, manejo de bio-procesos y tratamientos avanzados de aguas, es lo que se espera alcanzar con el presente trabajo investigativo.

## **ABREVIATURAS**

PIB	Producto Interno Bruto
OD, DO	Oxígeno Disuelto
DBO <sub>5</sub>	Demanda Biológica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
COT, TOC	Carbono Orgánico Total
pH	Potencial de Hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto, Unidad de velocidad
HPLC	High-performance liquid chromatography
%p/v	Porcentaje peso a volumen
G	Concentración de glucosa
t	Tiempo
Lab.	Laboratorio

## SIMBOLOGÍA

$\text{km}^2$	Kilómetros cuadrados, Unidad de área
$\frac{\text{m}^3}{\text{seg}}$	Metros cúbicos por segundo, Unidad de flujo
PJ	Peta joule
$\text{CO}_2$	Dióxido de Carbono
$K_{La}$	Coefficiente de transferencia volumétrica de oxígeno
N	Transferencia de oxígeno por unidad de tiempo
$K_L$	Coefficiente de superficie líquida
A	Área
$C_s$	Concentración de saturación de oxígeno
$C_L$	Concentración de oxígeno en el líquido
V	Volumen
$\text{ft}^2$	Pie cuadrado, Unidad de área
a	Área interfacial por unidad de volumen

$N_f$	Número final de células
$N_0$	Número inicial de células
$n$	Número de generaciones o duplicaciones que han ocurrido en un periodo de tiempo
$k$	Constante de velocidad de crecimiento
seg	Segundos
$\mu_m$	Tasa máxima de crecimiento específico
$\mu_g$	Tasa de crecimiento
$K_s$	Constante de saturación
$S$	Concentración del sustrato
$X$	Concentración de biomasa
$Y$	Rendimiento
$\frac{mg}{L}$	Miligramos por litro, Unidad de concentración
$\frac{g}{L}$	Gramos por litro, Unidad de concentración
$^{\circ}C$	Grado Centígrado (Celcius), Unidad de temperatura

L	Litro, Unidad de volumen
g	Gramo, Unidad de masa
$\frac{L}{min}$	Litro por minuto, Unidad de flujo
ml	Mililitro, Unidad de volumen
$\mu m$	Micrómetro, micra, Unidad de longitud
cm	Centímetro, Unidad de longitud
mm	Milímetro, Unidad de longitud
$h^{-1}$	Horas a la menos 1
G	Concentración de glucosa
t	Tiempo
E	Concentración de etanol

## INDICE GENERAL

RESUMEN.....	VI
ABREVIATURAS.....	VIII
SIMBOLOGÍA.....	IX
INDICE GENERAL.....	XII
INDICE DE FIGURAS.....	XVII
INDICE DE TABLAS .....	XXIII
INTRODUCCION .....	XXIV
CAPITULO 1 INFORMACIÓN GENERAL.....	1
1.1. Antecedentes .....	2
1.2. Justificación.....	8
1.3. Planteamiento del Problema.....	10
CAPITULO 2 MARCO TEÓRICO .....	12
2.1. Industria de Bebidas .....	13
2.2. Aguas Residuales Industriales.....	14
2.2.1. Pre-Tratamiento.....	19
2.2.2. Tratamiento primario.....	21

2.2.3.	Tratamiento Secundario .....	21
2.2.4.	Tratamiento Terciario .....	22
2.3.	Fermentación Alcohólica .....	23
2.3.1.	Fermentación .....	23
2.3.2.	Biorreactor .....	25
2.3.2.1.	Coefficiente Volumétrico De Transferencia De Oxígeno .....	27
2.3.3.	Biomasa .....	32
2.3.3.1.	Crecimiento celular .....	33
2.3.4.	Inocular.....	38
2.3.5.	Medio de cultivo.....	38
2.3.6.	Levadura .....	39
2.3.7.	Reacción .....	41
2.4.	Metodología Taguchi .....	42
CAPITULO 3 OBJETIVOS.....		52
3.1.	Objetivo General .....	53
3.2.	Objetivos Específicos .....	53
CAPITULO 4 DISEÑO METODOLÓGICO .....		54

4.1.	Metodología Taguchi para el diseño de experimentos .....	56
4.1.1.	Diseño del Sistema .....	56
4.1.2.	Diseño de Parámetros .....	57
4.1.3.	Diseño de Tolerancias .....	62
4.2.	Materiales y Métodos .....	63
4.2.1.	Materiales empleados .....	63
4.2.2.	Condiciones iniciales .....	66
4.2.3.	Determinación de $K_{La}$ .....	68
4.2.4.	Preparación de inóculo .....	69
4.2.5.	Fermentación en reactores .....	70
4.2.6.	Preparación de muestras para análisis .....	71
4.2.7.	Análisis de muestras .....	73
CAPITULO 5 ANÁLISIS DE $K_{La}$ .....		77
CAPITULO 6 ANÁLISIS DE EXPERIMENTOS UTILIZANDO METODOLOGÍA TAGUCHI .....		83
6.1.	Análisis en base a Consumo de Glucosa .....	84
6.1.1.	Primer Experimento .....	85
6.1.2.	Segundo Experimento .....	88

6.1.3.	Tercer Experimento .....	91
6.1.4.	Cuarto Experimento .....	94
6.1.5.	Análisis mediante el Método Taguchi .....	97
6.2.	Análisis en base a Producción de Etanol .....	99
6.2.1.	Primer Experimento .....	99
6.2.2.	Segundo Experimento .....	103
6.2.4.	Cuarto Experimento .....	109
6.2.5.	Análisis mediante el Método Taguchi .....	112
6.3.	Análisis en base a la Producción de Biomasa .....	114
6.3.1.	Análisis de concentraciones .....	115
6.3.2.	Análisis de Crecimiento Celular.....	126
6.4.	Análisis del Carbono Orgánico Total .....	129
6.4.1.	Primer Experimento .....	130
6.4.2.	Segundo Experimento .....	134
6.4.3.	Tercer Experimento .....	138
6.4.4.	Cuarto Experimento .....	142
6.4.5.	Análisis mediante el Método Taguchi .....	146

6.5. Análisis de Factores Online.....	148
6.5.1. Primer Experimento .....	149
6.5.2. Segundo Experimento .....	151
6.5.3. Tercer Experimento.....	153
6.5.4. Cuarto Experimento .....	155
CONCLUSIONES .....	157
RECOMENDACIONES .....	161
BIBLIOGRAFÍA .....	164

## INDICE DE FIGURAS

Figura 4.2.1.1 Fotografía del Reactor utilizado .....	64
Figura 4.2.1.2 Fotografía del Microscopio utilizado.....	65
Figura 5.1 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 1.....	78
Figura 5.2 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 2.....	78
Figura 5.3 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 3.....	79
Figura 5.4 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 1.....	81
Figura 5.5 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 2.....	81
Figura 5.6 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 3.....	82
Figura 6.1.1.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.....	85
Figura 6.1.1.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.....	85
Figura 6.1.1.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.....	86
Figura 6.1.1.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.....	86
Figura 6.1.1.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo. Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 1 .....	87
Figura 6.1.2.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.....	88
Figura 6.1.2.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.....	88
Figura 6.1.2.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.....	89
Figura 6.1.2.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.....	89

Figura 6.1.2.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.....	90
Figura 6.1.3.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.....	91
Figura 6.1.3.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.....	91
Figura 6.1.3.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.....	92
Figura 6.1.3.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.....	92
Figura 6.1.3.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.....	93
Figura 6.1.4.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4.....	94
Figura 6.1.4.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.....	94
Figura 6.1.4.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.....	95
Figura 6.1.4.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.....	95
Figura 6.1.4.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 4.....	96
Figura 6.1.5.1 Gráfico de Rendimiento de Glucosa con respecto a diferentes factores y niveles.....	97
Figura 6.2.1.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.....	99
Figura 6.2.1.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.....	100
Figura 6.1.2.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.....	100
Figura 6.1.2.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.....	101

Figura 6.2.1.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 1 .....	102
Figura 6.2.2.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.....	103
Figura 6.2.2.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.....	103
Figura 6.2.2.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.....	104
Figura 6.2.2.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.....	104
Figura 6.2.2.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.....	105
Figura 6.2.3.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.....	106
Figura 6.2.3.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.....	106
Figura 6.2.3.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.....	107
Figura 6.2.3.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.....	107
Figura 6.2.3.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.....	108
Figura 6.2.4.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4.....	109
Figura 6.2.4.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.....	109
Figure 6.2.4.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.....	110
Figura 6.2.4.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.....	110
Figura 6.2.4.6 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 4.....	111

Figura 6.2.5.1 Gráfico de Rendimiento de Etanol con respecto a diferentes factores y niveles.....	112
Figura 6.3.1.1.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.....	115
Figura 6.3.1.1.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.....	115
Figura 6.3.1.1.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.....	116
Figura 6.3.1.1.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.....	116
Figura 6.3.1.2.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.....	117
Figura 6.3.1.2.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.....	117
Figura 6.3.1.2.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.....	118
Figura 6.3.1.2.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.....	118
Figura 6.3.1.3.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.....	119
Figura 6.3.1.3.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.....	119
Figura 6.3.1.3.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.....	120
Figura 6.3.1.3.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.....	120
Figura 6.3.1.4.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.....	121
Figura 6.3.1.4.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.....	121
Figura 6.3.1.4.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.....	122
Figura 6.3.1.4.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.....	122
Figura 6.3.1.5.1 Gráfico de Rendimiento de Biomasa con respecto a diferentes factores y niveles.....	123

Figura 6.4.1.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.....	130
Figura 6.4.1.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.....	131
Figura 6.4.1.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.....	131
Figura 6.4.1.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.....	132
Figura 6.4.1.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 1.....	133
Figura 6.4.2.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.....	134
Figura 6.4.2.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.....	135
Figura 6.4.2.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.....	135
Figura 6.4.2.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.....	136
Figura 6.4.2.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.....	137
Figura 6.4.3.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.....	138
Figura 6.4.3.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.....	138
Figura 6.4.3.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.....	139
Figura 6.4.3.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.....	139
Figura 6.4.3.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.....	141
Figura 6.4.4.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4. ....	142
Figura 6.4.4.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.....	142

Figura 6.4.4.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.....	143
Figura 6.4.4.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.....	143
Figura 6.4.4.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 4.....	145
Figura 6.4.5.1 Gráfico de Rendimiento de TOC con respecto a diferentes factores y niveles.....	146
Figura 6.5.1.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 1.....	149
Figura 6.5.1.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 1.....	150
Figura 6.5.2.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 2.....	151
Figura 6.5.2.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 2.....	152
Figura 6.5.3.1 Gráfica de pH vs. Tiempo, Experimento 3.....	153
Figura 6.5.3.2 Gráfica de DO vs. Tiempo, Experimento 3.....	154
Figura 6.5.4.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 4.....	155
Figura 6.5.4.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 4.....	156

**INDICE DE TABLAS**

Tabla I :Niveles de variación .....	60
Tabla II: Codificación de parámetros.....	61
Tabla III: Arreglo ortogonal.....	61
Tabla IV: Detalle de experimentos y variables.....	62
Tabla V:Valores de $K_{La}$ .....	82
Tabla VI: Valores obtenidos de $K_S$ y $\mu_m$ en el Experimento 1.....	127
Tabla VII: Valores obtenidos de $K_S$ y $\mu_m$ en el Experimento 2.....	128
Tabla VIII: Valores obtenidos de $K_S$ y $\mu_m$ en el Experimento 3.....	128
Tabla IX:Valores obtenidos de $K_S$ y $\mu_m$ en el Experimento 4.....	129

## INTRODUCCION

La industria tiene como objetivo transformar una materia prima en un producto, en el trayecto de este proceso productivo se generan subproductos y productos de desecho (residuos), todos estos residuos producidos, están sujetos a un control por parte de entidades gubernamentales por lo que deben ser debidamente tratados antes de su disposición final.

Los procesos productivos consumen en su mayoría mucha energía, los residuos generados se ven aumentados paralelamente con la huella de carbono que se produce al consumirla, que mayoritariamente es generada por derivados de petróleo; es por esto, que el desarrollo de procesos que permitan generar tipos alternativos de energía son fundamentales en la actualidad.

El presente trabajo se enfoca en desarrollar un sistema para el tratamiento de productos de desecho en la industria de bebidas (desechos líquidos), produciendo a su vez biomasa (bio-etanol) como fuente alternativa de energía. En este se mencionarán las condiciones adecuadas para garantizar una efectiva producción de biomasa.

El desarrollo de un modelo matemático es también parte de la presente investigación, en donde se incluyen los factores fundamentales para incrementar la producción de bio-etanol y reducir los componentes del producto de desecho.

Para la investigación se diseñó una serie de experimentos empleando la metodología Taguchi, siendo desarrollado a escala de laboratorio en un medio no estéril para acercarlo más a la realidad que podría encontrarse en una industria.

**CAPITULO 1**  
**INFORMACIÓN GENERAL**

## **1.1. Antecedentes**

México está localizado en el norte del continente americano, cuenta con una superficie de 1'959.247,98 km<sup>2</sup> localizándolo como el quinto país más grande del continente y en el puesto 14 en el mundo. Cuenta con una población de 112'336.538 habitantes siendo el tercer país más poblado de América y el onceavo en el mundo.

De acuerdo con el Foro Económico Mundial en su reporte global de competitividad, México se encuentra en un estado de transición entre eficiencia e innovación, se encuentra en el lugar 58 en competitividad en el año 2010. Su PIB es de 1039,1 millones de dólares (2010) ubicándolo en el puesto 14 en el mundo y segundo en Latinoamérica. Actualmente forma parte de la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico) ya que es considerado como una economía emergente, a su vez es miembro de G-20.

La producción industrial en el país se ha incrementado en un 3,89% y el total de industrias se ha incrementado en un 16,95% tomando como base el año 2003. La industria mexicana está compuesta por minería, electricidad, agua, suministro de gas, construcción y manufactura; a su vez, la industria

manufacturera abarca la industria alimentaria, bebidas y tabaco, insumos textiles, productos textiles, madera, papel, impresión, química, plástico y hule, metálica básica, fabricación de: productos de cuero y piel, derivados del petróleo y carbón, productos de base mineral o no metálicos, productos metálicos, maquinarias y equipos, equipos de computación, comunicación, medición, componentes y accesorios electrónicos, equipos de transporte, muebles y productos relacionados y otras industrias no contempladas en las mencionadas anteriormente.

El total de la industria manufacturera se ha incrementado en un 19,69%, desde el año 2003 al 2011, para el año 2009 se tienen contabilizados 6329 establecimientos que se encargan de este tipo de labor productiva.

La industria de bebidas abarca la elaboración de refrescos, cerveza, bebidas alcohólicas a base de uva, elaboración de ron y otras bebidas destiladas de la caña, bebidas destiladas del agave y otras bebidas destiladas. El presente proyecto se enfoca en los productos de desecho de la industria de bebidas no alcohólicas; en este caso, la elaboración de refrescos.

Según las encuestas realizadas por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía, en el 2009, de las 6329 industrias manufactureras contabilizadas, 146 pertenecen a la industria de bebidas y 87 se encargan específicamente de la elaboración de refrescos, es decir el 1,37% del total de la industria manufacturera los elabora, y el 59,58% de las bebidas producidas en México son refrescos.

La industria, al realizar sus labores productivas, genera todo tipo de desechos, sean estos sólidos, líquidos, o gaseosos; y a su vez, peligrosos o no peligrosos. El presente proyecto trata de enfocar su análisis en los desechos líquidos que genera la industria de bebidas.

En México, se extraen 79,8 billones de metros cúbicos de agua dulce anualmente, de los cuales el 9,273% se destinan al uso industrial. En el año 2007 la industria generaba aproximadamente  $188.7 \text{ m}^3/\text{s}$  de aguas residuales, de las cuales se trataban solamente  $29.9 \text{ m}^3/\text{s}$ ; es decir, solo el 15.8%.

Para el 2009, se contabilizaron 2186 plantas de tratamiento de aguas residuales industriales instaladas en todo el país, que operan al 68% de su capacidad. De

estas plantas el 33% realizan un tratamiento primario (731 plantas), el 55% realizan un tratamiento secundario (1193 plantas), el 4% realiza un tratamiento terciario (88 plantas) y el 8% restante (174 plantas) no especifican el tipo de tratamiento que realizan.

El consumo energético es otro factor clave en el proyecto, debido al tamaño y la diversidad de la industria mexicana; este, en el año 2010 fue de 4,940.04 PJ, siendo un 2,6% mayor al año anterior, el consumo de combustibles en el sector industrial fue de 1368,7PJ presentando un incremento del 4,7% con respecto al 2009 lo cual se refleja en el crecimiento industrial al que se ha sometido el país en los últimos años. El 73,89% de estos combustibles son hidrocarburos, el 13,69% electricidad, el 7,03% biomasa y el 0,2% energía solar.

Como se puede observar anteriormente, en la industria el uso de derivados del petróleo para producción en la industria es elevado, las energías alternativas representan una minoría, en el año 2010 se produjeron 10797,76 PJ a partir de recursos no renovables, mientras que 635,98PJ fueron producidos con energía renovable, de los cuales 348,28PJ fueron producidos a partir de biomasa

(bagazo de caña y leña) es decir el 54% de la energía renovable proviene de este recurso.

Es evidente que, los biocombustibles no están considerados como una fuente de energía, ni siquiera están contemplados en los balances energéticos realizados por las entidades gubernamentales.

Es importante recalcar que México es un productor de etanol, pero únicamente como bebida alcohólica, mas no como biocombustible; sin embargo, se deben puntualizar ciertas excepciones:

- En el municipio Salinas Victoria, del estado de Nuevo León, se cuenta con el primer relleno sanitario en América Latina que permite generar energía eléctrica a partir de la basura. Actualmente la energía producida sirve para alimentar el 52% del alumbrado público de Monterrey, el sistema de transporte Metro, edificios públicos y el sistema de drenaje.

- La empresa ENERGEX es la primera planta instalada en Latinoamérica que produce biodiesel, con una capacidad instalada de 1,5 millones de litros mensuales.

Debido a lo expresado anteriormente, es posible notar que existe un nivel significativo de producción en México, la industria consume una gran cantidad de recursos energéticos e hídricos, y a su vez produce una cantidad significativa de residuos.

México, al estar contemplado como una economía emergente, debe estar a la par con países en su misma, o mejor situación global, en cuanto a desarrollo sostenible. Es por esto, que el presente proyecto trata de ligar las tres partes fundamentales mencionadas en los antecedentes anteriores: energía, agua y medio ambiente; desarrollando un proceso que permita tratar los productos de desecho de una industria de bebidas, generar energía alternativa (biomasa) y mejorar la calidad de agua de descarga al final de la línea de producción.

## **1.2. Justificación**

El manejo adecuado de residuos en la industria es uno de los principales objetivos que debe cumplirse en cuanto a materia ambiental se trata; el almacenamiento, tratamiento y disposición final dentro de los estándares que solicita la legislación nacional, representa un costo operacional considerable dentro de los balances económicos de las empresas.

Por otra parte, el consumo energético que se requiere en toda labor productiva, genera una huella ambiental difícil de borrar, principalmente porque el 90.2% de la energía primaria producida en el país, se obtiene a partir de hidrocarburos. Las industrias alimenticias tienen, por efectos de esterilización, un consumo elevado de energía que se ve reflejado en un volumen mayor de dióxido de carbono emanado a la atmósfera.

Los productos de desecho de la industria de bebidas tienen, por defecto, un contenido considerable de glucosa en su composición, que al tratarse por métodos convencionales pueden generar costos adicionales a la empresa. Este tipo de desechos tienen que someterse a tratamientos primarios (remoción de sólidos) y a un tratamiento secundario (remoción de materia orgánica disuelta

empleando medios biológicos), a mayor concentración de materia orgánica, se requiere mayor tiempo y recursos para sintetizarla, es decir, un mayor costo.

Emplear los productos de desecho de una industria, que en un principio son eliminados, y usarlos como materia prima para la obtención de bio-etanol mediante fermentación alcohólica crea una serie de beneficios: reducción de costos en tratamiento de aguas residuales y producción de bio-combustibles (energías alternativas), que genera un ingreso de dinero a la industria ya sea por comercialización del mismo, o por su uso como combustible para generar energía; en ambos casos se contribuye a una reducción a la huella de carbono generada por la producción energética, empleando bio-combustibles en lugar de hidrocarburos.

El estudio y evaluación del proceso de fermentación es indispensable, la elaboración de un modelo matemático que permite predecir la producción de etanol con respecto al tiempo complementa positivamente al proyecto; el uso de metodologías para el diseño de experimentos variando diferentes parámetros que han sido revisados en la literatura, permite definir con eficacia cuales de estos son los que influyen en mayor medida en la obtención de bio-etanol.

### **1.3. Planteamiento del Problema**

Los procesos productivos por su naturaleza consumen recursos, los transforman y entregan como un resultado final un producto y residuos. Los recursos consumidos, no están compuestos únicamente por la materia prima con la que se elabora el producto final, sino todos los medios que se emplean para llegar a obtenerlo; es decir, se consume energía, agua, aire, etc. De esta misma manera se puede decir que los residuos producidos no son solamente los compuestos por la materia prima no transformada, sino también, los producidos en el proceso de elaboración, entre ellos están: gases de combustión, aguas residuales, desechos sólidos, etc.

La industria productora de refrescos, al tener su base alimenticia, requiere muchos recursos energéticos e hídricos para poder garantizar la alta calidad que requieren sus productos, esto implica en algunos casos elevados costos de producción. Es evidente que los residuos generados cumplen también un rol fundamental, ya que se deben disponer de manera adecuada de acuerdo a las normas y estándares establecidos por las entidades gubernamentales, representando un gasto adicional por el que deben preocuparse las empresas.

Estos residuos, que llamaremos productos de desecho, tienen generalmente un alto contenido de componentes orgánicos; pero, para la presente investigación se enfocará únicamente en la glucosa contenida en los mismos. Es por esto, que su procesamiento en plantas de tratamiento de aguas residuales puede verse en algunas ocasiones obstaculizado debido a esta característica.

En la actualidad, se realizan tratamientos primarios y secundarios para tratar dichos productos de desecho, que resulta efectivo, pero a su vez puede ser costoso.

El presente proyecto pretende, tomar estos productos de desecho, tratarlos y obtener etanol a partir de los mismos, obteniendo como resultado mejorar la calidad de estos residuos y obtener bio-etanol como fuente alternativa de energía, de esta manera se reducen significativamente los costos pertinentes al tratamiento de residuos y consumo de energía, puesto que puede usar el mismo bio-etanol como combustible generador. Además es necesario predecir la producción de bio-etanol con respecto al tiempo, para esto se elabora un modelo matemático en el que se incluyen los factores fundamentales que inciden de manera directa o indirecta en la obtención final del producto deseado.

**CAPITULO 2**  
**MARCO TEORICO**

## 2.1. Industria de Bebidas

La elaboración de bebida se produce a grandes rasgos siguiendo los siguientes pasos:

- **Tratamiento de Agua:** El agua de consumo para la elaboración de productos debe satisfacer altos estándares de calidad, para garantizar que el producto final tenga las debidas cualidades de olor y sabor.
- **Mezcla de ingredientes de composición:** edulcorantes naturales o artificiales, colorantes alimentarios e ingredientes especiales son añadidos a las mezcladoras que homogenizan la producción.
- **Carbonatación de productos (en caso de bebidas carbonatadas):** el producto se enfría y se mezcla con CO<sub>2</sub> líquido a determinada presión.
- **Envasado:** el producto final, es envasado en botellas plásticas o de vidrio de diferentes denominaciones o en latas de aluminio empleando máquinas automatizadas.

El tratamiento que se realiza a las aguas para la elaboración de bebidas, es para garantizar su salubridad y que su calidad no interfiera con el producto final de la empresa; sin embargo, por la actividad de la industria, se producen desechos líquidos que deben ser correctamente manejados.

## **2.2. Aguas Residuales Industriales**

Las aguas residuales industriales son aquellas que son usadas con diferentes propósitos en la industria, pueden ser aguas de transporte, de lavado, subproducto de reacciones químicas, subproducto de procesos físico-químicos, etc.

Estos desechos deben caracterizarse para poder escoger el tratamiento que sea más eficiente y económico para mantener los estándares establecidos por la legislación medioambiental. Generalmente, se realiza un análisis cuantitativo de los siguientes parámetros:

- Oxígeno disuelto (OD): es la medida relativa del oxígeno que se encuentra disuelta en un medio acuoso determinado. El oxígeno ingresa al agua mediante difusión del aire alrededor, en el caso de que exista un movimiento de aguas el valor es mayor, mientras que para aguas estancadas este valor disminuye.

El oxígeno disuelto es uno de los parámetros fundamentales que debe medirse en cuanto a calidad del agua, ya que está relacionado directamente con la DBO<sub>5</sub> y DQO. Generalmente este tipo de análisis se realiza *in situ* y de inmediato para disminuir el escape del gas de la solución.

La medición del oxígeno disuelto se realiza mediante el uso de un electrodo.

- Materia orgánica presente, expresada como DBO<sub>5</sub>, DQO o COT.

Demanda Biológica de Oxígeno: (DBO<sub>5</sub>) es la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos presentes en el agua en la oxidación bioquímica de la materia orgánica en un periodo de 5 días. Es la medida más empleada para caracterizar aguas residuales, y su valor depende del tipo de agua que se esté manejando.

Demanda Química de Oxígeno: (DQO) indica la cantidad de sustancias susceptibles a ser oxidadas por compuestos químicos (oxidantes fuertes) que se hallan disueltos en el agua, se toma generalmente como oxidante el ión dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ ) por sus propiedades químicas.

Carbono Orgánico Total: (COT) Es una medida del contenido de materia orgánica en el agua, generalmente se mide para pequeñas concentraciones, pero, está ganando campo por su rapidez y exactitud en medición.

- Contenido de aceites y grasas
- Sólidos en suspensión, disueltos y materia coloidal.

Sólidos en suspensión: son aquellas partículas cuyo tamaño es mayor a una micra, incluyen a su vez a los sólidos sedimentables que poseen un tamaño de partícula mayor a  $10^{-3}$  micras.

Sólidos disueltos: comprenden las partículas de tamaños entre  $10^{-3}$  y 1 micra, pueden ser removidos por filtración, sedimentación natural o forzada.

Materia Coloidal: son aquellas partículas cuyo tamaño está comprendido entre  $10^{-6}$  y  $10^{-3}$  milímetros, este tipo de partículas pueden ser removidas únicamente por coagulación o floculación, ya que no son sedimentables ni filtrables debido a su tamaño.

- Color, turbidez y olor.

Turbidez: es la falta de transparencia de un líquido debido a la presencia de sólidos en suspensión, a medida que se incremente la concentración de sólidos en suspensión, se disminuirá la transparencia y se incrementará la turbidez.

- pH, acidez, alcalinidad

Potencial de Hidrógeno: (pH) es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución, indica la concentración de iones hidronio en una solución, se define como el logaritmo negativo de base diez de la concentración de iones hidronio. A mayor concentración de iones hidronio, se obtiene un valor más cercano a uno, es decir que la sustancia es más ácida. Los valores del pH van

de 1 a 14, siendo 1 ácido y 14 alcalino, considerándose el 7 como un valor neutro.

Alcalinidad: es la medida del contenido de iones oxhidrilos, bicarbonatos y carbonatos, a una mayor concentración de estos iones se obtiene un valor más cercano a 14. Su efecto puede ser limitante en la actividad biológica.

- Contenido de metales pesados: Mercurio, Plomo, Cadmio, Arsénico, Selenio, Berilio, Aluminio. La presencia de estos metales indican una fuerte contaminación industrial, afectan de manera directa el metabolismo de los microorganismos contenidos en el agua residual y son de alto riesgo por su acción tóxica sobre los seres vivos. Es imprescindible realizar tratamientos adecuados para su eliminación.
- Otros contaminantes.

De acuerdo a las características que posea el agua residual, se debe proceder a realizar un tratamiento para ajustarla a las normas que exige la legislación mexicana. Generalmente se realizan los procedimientos descritos a continuación.

### 2.2.1. Pre-Tratamiento

El objetivo del pre-tratamiento es preparar el agua residual para que al entrar a la planta de tratamiento, ésta pueda funcionar de manera eficiente.

Se realizan las siguientes actividades previas:

- Desbaste: eliminar los sólidos de gran tamaño que pueden obstaculizar equipos en etapas posteriores, generalmente se emplean rejillas, tamices o filtros de distintas aperturas para retener estos contaminantes de mayor tamaño.
- Homogenización: su objetivo es uniformizar el flujo, los caudales de contaminantes y características como pH, temperatura, etc del efluente. Esto se logra empleando un sistema de agitación mecánica o agitación por aire en tanques de retención.
- Neutralización: Debido a la diversidad de procesos que se realizan en la industria, es indispensable regular el pH hasta la neutralización para lograr una mayor eficiencia en etapas posteriores del tratamiento.

Debe aplicarse de manera prioritaria antes de realizar un tratamiento biológico, ya que de esta manera se garantiza un ambiente adecuado para el crecimiento de los microorganismos.

La neutralización puede realizarse de manera directa, mediante la adición de ácidos o bases para neutralizar las descargas, o mezclando cargas de diferente pH hasta lograr la neutralización. Se lo realiza de manera indirecta pasando el agua residual por lechos de piedra caliza (cuando el agua residual es ácida) de este modo modificando el pH final de la corriente.

- Desarenadores: permiten separar las arenas y otros materiales sólidos presentes en los efluentes, de esta manera se garantiza que en las etapas posteriores los sólidos a eliminarse van a ser los que se encuentren disueltos en el agua. La precipitación se realiza por efecto de la gravedad, en la parte inferior del desarenador se recogen los lodos en donde se contienen todos los sólidos, mientras que por la parte superior se recupera un agua más clarificada.

### **2.2.2. Tratamiento primario**

Se realiza antes de cualquier tratamiento biológico, en este tratamiento se procura eliminar todos los sólidos que se encuentran suspendidos en el efluente empleando métodos de precipitación o sedimentación natural o forzada (empleando sustancias químicas como floculantes), que den como resultado final un líquido clarificado.

Floculación: Es un proceso químico que, mediante la adición de ciertas sustancias, se facilita la unión de partículas coloidales (tamaño menor a una micra), aumentando su peso para de esta manera hacer efectiva su sedimentación o decantación por efecto de la gravedad.

### **2.2.3. Tratamiento Secundario**

Es un tratamiento biológico, las bacterias y microorganismos presentes en los efluentes, se alimentan de la materia orgánica disuelta en el agua residual transformándola en sólidos suspendidos fáciles de eliminar. Se reduce la  $DBO_5$  y la DQO. Los microorganismos que generalmente

intervienen en los tratamientos biológicos son bacterias, hongos, algas, protozoos, rotíferos, nematodos, crustáceos, etc.

El tratamiento secundario puede realizarse en presencia o ausencia de oxígeno, con un corto o largo tiempo de reacción. Estas variantes pueden emplearse dependiendo de la cantidad de materia orgánica presente y del tipo de microorganismos con los que se cuenta para realizar la degradación.

#### **2.2.4. Tratamiento Terciario**

Se realiza como un complemento al tratamiento primario y secundario, su objetivo es eliminar la carga orgánica que pudo no eliminarse en el tratamiento secundario, eliminar la presencia de nutrientes como fósforo y nitrógeno y mejorar la calidad del efluente final que se descarga.

En esta etapa se realizan procesos físico-químicos como micro filtración para la eliminación de sólidos de tamaño microscópico que pudieron quedar de etapas previas, adsorción con carbón activado para eliminar

materia orgánica que no sintetizada en el tratamiento biológico, desinfección empleando ozono (en algunos casos complementado con luz ultra violeta) o hipoclorito de sodio para eliminar microorganismos patógenos.

Se realizan procesos de ósmosis inversa, en donde el producto final obtenido es de alta calidad, el empleo de resinas de intercambio iónico para eliminar iones libres en el agua y electrodiálisis para remover sales disueltas.

## **2.3. Fermentación Alcohólica**

### **2.3.1. Fermentación**

Es la degradación u oxidación incompleta, que se realiza por acción enzimática, de los hidratos de carbono presentes en una sustancia obteniendo como producto un compuesto orgánico. Puede describirse como la acción que realiza la levadura en la glucosa contenida en una sustancia.

El proceso de fermentación es catabólico; es decir, que las moléculas complejas de glucosa se transforman con ayuda de microorganismos y enzimas en sustancias más sencillas, este proceso es completamente anaeróbico en la mayoría de los casos, es decir, sin la presencia de oxígeno; pero, pueden producirse fermentaciones en presencia de oxígeno denominándose fermentaciones aeróbicas. Las reacciones bioquímicas están relacionadas con la generación de energía por el catabolismo de los compuestos orgánicos contenidos en la solución.

La fermentación se lleva a cabo en un recipiente denominado fermentador o biorreactor en donde determinados microorganismos se alimentan de sustratos que componen el medio de cultivo, para producir biomasa.

Los procesos de fermentación más conocidos son aquellos para la elaboración de bebidas alcohólicas como cervezas o vinos, pan, proteínas, penicilina, ácido glutámico, insulina, acetona, butanol, etc.

### 2.3.2. Biorreactor

Recipiente en el que se lleva a cabo una reacción química en la que intervienen organismos biológicos, se puede decir también que en este recipiente se mantiene un ambiente biológicamente activo puesto que se producen una serie de reacciones enzimáticas en presencia o ausencia de oxígeno.

En este recipiente, materiales “crudos” son convertidos biológicamente en un producto, usando microorganismos, plantas, células animales o humanas o enzimas individuales. Un biorreactor permite mantener las condiciones ideales de temperatura, pH, nutrientes, vitaminas, oxígeno para que el proceso se desarrolle de manera satisfactoria.

Generalmente los reactores o biorreactores pueden operar en las siguientes condiciones:

- Discontinuos: (Batch o por lotes) se caracterizan por que su cultivo se realiza en un medio estéril, con organismos que deben ser cultivados

durante un periodo determinado de tiempo. Este tipo de reactores se emplean cuando se manejan bajos volúmenes de producción, debido a que es más económico manipularlos de esta manera.

- Continuos: Son aquellos que poseen una corriente fija de entrada y de salida, cuyo volumen fija un cierto tiempo de residencia que permite que la reacción se ejecute. El medio puede o no puede ser estéril, y el microorganismo puede estar contenido dentro del reactor y mantenerse acumulado o puede agregarse desde el exterior.
- Semi-continuo: es la mezcla entre un reactor por lotes y un reactor continuo. Se pueden emplear muchas variaciones de este tipo de reactores, puede mantenerse un flujo continuo hasta agotar su biomasa y detener el flujo, convirtiéndolo en este punto en un reactor por lotes.

Debido a la naturaleza oxidante de las reacciones que se producen en los reactores, a escala industrial, estos se construyen mayoritariamente de acero inoxidable, lo que influye en un alto costo; sin embargo, cuando se

trabaja a escalas de laboratorio, se pueden optar por fermentadores o biorreactores de vidrio, con instrumentos de agitación de acero inoxidable que brindan los mismos resultados.

### **2.3.2.1. Coeficiente Volumétrico De Transferencia De Oxígeno**

En todo proceso en donde se realiza una inyección de oxígeno dentro de un sistema, es necesario evaluar con cuanta eficiencia se transfiere este gas al fluido. Al realizar el diseño y operación de una fermentación aeróbica, este es el parámetro de mayor importancia. Esta propiedad, que es una característica de los reactores, se denomina coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, representado por las siglas  $K_La$ , se define como la capacidad de absorción de oxígeno de un biorreactor agitado mecánicamente.

El proceso de transferencia de oxígeno de un medio gaseoso a uno líquido procede de la siguiente manera:

- Saturación de la superficie del líquido que divide las dos fases, gaseosa y líquida. Esta tasa de transferencia es muy elevada debido a que la resistencia del gas es despreciable. Es por esto que esta etapa no es la que controla el proceso de transferencia.
- Transporte de las moléculas de oxígeno a través de la interfaz líquida por difusión molecular; es decir, se produce un “mezclado” de las moléculas a causa del movimiento que existe alrededor de ellas.

En el caso que existan bajas velocidades de mezclado, el proceso es controlado en estas condiciones; sin embargo, al incrementarse los niveles de turbulencia, la interfaz se destruye, y el proceso se ve controlado por la velocidad en que la interfaz se renueva.

- El oxígeno es transferido a todo el volumen del líquido por convección o difusión.

En resumen, al evaluar la transferencia de oxígeno en un reactor en donde se esté realizando un proceso de fermentación, se están calculando las diversas resistencias desde el paso del oxígeno como burbuja de aire en la superficie del fluido hasta su difusión con el resto de moléculas.

El coeficiente de transferencia de oxígeno depende de muchos factores, como la velocidad de agitación ya que modifica el tamaño de las burbujas dentro de la solución, así como también incrementa la turbulencia dentro del reactor, esto influye también sobre la reacción, ya que se producen esfuerzos de corte en la reacción que producen efectos contraproducentes.

La temperatura es otro factor fundamental, ya que este de este depende directamente la solubilidad del oxígeno en las soluciones acuosas, a mayor temperatura disminuye la solubilidad. La geometría del reactor es además otro factor importante con el que se ven modificados los valores de  $K_L a$ .

Para la determinación del  $K_{La}$ , se emplea un sensor que permite medir el oxígeno disuelto en la solución que se está trabajando. La ecuación básica de transferencia de oxígeno es:

$$N = K_L A (C_s - C_L) \quad (2.3.2.1.1)$$

Donde:

N: Transferencia de oxígeno por unidad de tiempo  $\left[\frac{lbO_2}{día}\right]$

$K_L$ : Coeficiente de superficie líquida  $\left[\frac{lbO_2}{día \times ft^2 \times [concentración]}\right]$

A: Área interfacial de transferencia  $[ft^2]$

$C_s$ : Concentración de saturación de oxígeno  $\left[\frac{mg}{l}\right]$

$C_L$ : Concentración de oxígeno en el líquido  $\left[\frac{mg}{l}\right]$

La ecuación (2.3.2.1.1) al ser dividida por el volumen (V), puede ser reescrita de la siguiente manera:

$$\frac{N}{V} = \frac{dC_L}{dt}$$

$$K_L \frac{A}{V} (C_S - C_L) = K_L a (C_S - C_L) \quad (2.3.2.1.2)$$

Donde:

$$a = \frac{A}{V} \text{ \u00c1rea interfacial por unidad de volumen } \left[ \frac{ft^2}{ft^3} \right]$$

$K_L a$ : Coeficiente total de transferencia de ox\u00edgeno

$$\left[ \frac{lbO_2}{\text{d\u00eda} \times ft^3 \times [\text{concentraci\u00f3n}]} \right]$$

Debido a que el t\u00e9rmino  $K_L a$  se calcula sin separar los factores  $K_L$  y  $a$ , la f\u00f3rmula empleada para los c\u00e1lculos en reactores es:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a (C_S - C_L) \quad (2.3.2.1.3)$$

El valor  $C_s$  permanece constante, se lo denomina tambi\u00e9n concentraci\u00f3n cr\u00edtica, ya que es el nivel de ox\u00edgeno al que el proceso ya no puede funcionar con normalidad.

La determinación del  $K_{La}$  de un reactor, se lleva a cabo mediante técnicas experimentales en reactores *batch*. Se utilizará la técnica de eliminación de gas que será mencionada posteriormente.

### **2.3.3. Biomasa**

De acuerdo al contexto de la presente tesis, se toma la definición de biomasa como el material biológico (o materia orgánica) originado de un proceso espontáneo o provocado que puede dar como resultado una fuente de energía. La biomasa está compuesta en su mayoría por carbono y oxígeno debido a que está derivada de distintas fuentes.

La materia orgánica o biomasa que se encuentre en una solución líquida con nutrientes esenciales, temperatura y pH adecuados genera un crecimiento celular, como resultado se puede obtener que la biomasa crece con respecto al tiempo, es por esto necesario cuantificarla.

Existen diferentes técnicas para la cuantificación de la biomasa, se emplea en el caso de esta investigación la más simple, que es el conteo celular. Esto permite determinar un perfil de crecimiento con respecto al tiempo y relacionar la producción de biomasa con otras variables fundamentales que pueden incluirse en la experimentación.

#### **2.3.3.1. Crecimiento celular**

El crecimiento se define como el aumento del número de células de una población, o el aumento de la masa celular. Para cuantificar de manera adecuada el crecimiento se agrega otro parámetro, que es la velocidad de crecimiento, que relaciona estos dos factores, el aumento de número de células con dependencia del tiempo.

Durante el ciclo de división celular, todos los componentes de la célula se duplican, que se generan en un tiempo (g) denominado *tiempo de generación*. Este tiempo varía dependiendo del organismo con el que se esté trabajando. Ya que las células se duplican, y estas a su vez pueden duplicarse, el crecimiento se

puede ver modelado por una progresión geométrica de base 2. Se puede expresar de la siguiente manera:

$$N_f = N_0 2^n \quad (2.3.3.1.1)$$

Donde:

$N_f$ = número final de células.

$N_0$ = número inicial de células.

$n$ = número de generaciones o duplicaciones que han ocurrido durante un periodo de tiempo.

Si se conoce el número de células inicial y final es posible calcular  $n$ , el tiempo ( $t$ ) es el tiempo en el que una población se duplica, este valor se puede obtener a partir de la gráfica del número de células por mililitro versus el tiempo. Al conocer estos dos parámetros, es posible determinar el tiempo de generación ( $g$ ).

$$n = 3.3(\log N - \log N_0) \quad (2.3.3.1.2)$$

$$g = \frac{t}{n} \quad (2.3.3.1.3)$$

El tiempo de generación ( $g$ ) puede obtenerse también de manera gráfica, como la pendiente de la representación semilogarítmica del número de células por mililitro versus tiempo.

Existe otro índice que permiten caracterizar el crecimiento celular, se trata de la *constante de velocidad de crecimiento* ( $k$ ) indica el número de generaciones que se producen en una unidad de tiempo, las unidades de la constante están expresadas en  $[\text{seg}^{-1}]$ .

$$k = \frac{\ln 2}{g} \quad (2.3.3.1.4)$$

Al conocer estos valores, es posible optimizar las condiciones de cultivo de un microorganismo y probar la incidencia de ciertos factores en el mismo.

### **2.3.3.2. Ecuación de crecimiento de Monod**

Existe una ecuación que permite predecir el crecimiento microbiano, esta ecuación parte de aplicar la ecuación de

Michaelis Menten para reacciones enzimáticas a sistemas celulares, esta ecuación semi empírica es la ecuación de Monod.

$$\mu_g = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (2.3.7.1.1)$$

Donde:

$\mu_m$  = Tasa máxima de crecimiento específico [ $t^{-1}$ ]

$K_s$  = Constante de saturación [ $\frac{mg}{L}$ ]

$S$  = Concentración del sustrato [ $\frac{mg}{L}$ ]

La tasa máxima de crecimiento específico ( $\mu_m$ ) representa la velocidad máxima con la que crece un organismo, y la constante de saturación ( $K_s$ ) que es representa la concentración del sustrato a la que se alcanza una tasa de crecimiento igual a la mitad de la máxima.

El sustrato en el caso de una fermentación corresponde al “alimento celular” es decir la glucosa.

De manera diferencial se obtiene:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_S + S} X \quad (2.3.7.1.2)$$

Donde:

X = Concentración de Biomasa (g/L)

Se debe tener en consideración el rendimiento de la biomasa, esto se calcula en base al cambio en la concentración de biomasa y la concentración de sustrato dentro de un reactor.

$$Y = \frac{X - X_0}{S_0 - S}$$

Donde:

Y= Rendimiento

Los parámetros  $\mu_m$  y  $K_s$  permiten escalar los reactores y los sistemas a dimensiones mayores, he aquí su importancia.

#### **2.3.4. Inocular**

Se puede definir como la acción de introducir una sustancia que va a crecer o se va a reproducir dentro de otro organismo. La sustancia insertada dentro del organismo se denomina *inoculo*.

#### **2.3.5. Medio de cultivo**

Es una solución que tiene una composición tal de nutrientes a determinadas condiciones de pH y temperatura, que permite un adecuado crecimiento de microorganismos. Puede ser sólido, semi-sólido y líquido, y tener uno o varios componentes químicos en su composición que pueden aumentar su complejidad. Debe considerarse también dentro del contenido del medio, los requerimientos nutricionales del microorganismo que se desea reproducir, para garantizar un crecimiento óptimo.

Los macronutrientes que se encuentran generalmente en la naturaleza y en los medios de cultivo, con los cuales los microorganismos pueden realizar

sus actividades metabólicas son carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, magnesio, sodio, calcio, hierro, etc. Estos elementos se encuentran principalmente en la glucosa, agua, aminoácidos, cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro férrico, cloruro de potasio, fosfato de sodio, etc. y son los principales componentes de los medios de cultivo.

Un medio de cultivo es el elemento clave para el buen desarrollo y crecimiento de un microorganismo, de la misma manera, se deben considerar los aspectos que externos al medio, es decir la temperatura, grado de humedad, presencia de oxígeno, luz ambiental o artificial, grado de esterilidad, etc.

### **2.3.6. Levadura**

Las levaduras son microorganismos unicelulares eucariotas clasificados como hongos, que en la mayoría de los casos se reproducen de manera asexual, generalmente tienen forma ovoidea. Estos organismos tienen

además la característica, por ser eucariotas, de formar poblaciones estables, lo que los hace más manejables.

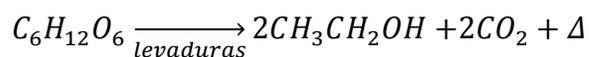
Las levaduras en general son las responsables de los procesos de fermentación; es decir, la descomposición de hidratos de carbono a elementos más simples como alcoholes u otro tipo de sustancias.

Existen muchas familias y especies de levaduras, siendo la más común la *Saccharomyces*, y la más usada *Saccharomyces cerevisiae*, mejor conocida como levadura de cerveza, esta levadura tiene un tamaño aproximado de 5 a 10  $\mu\text{m}$ . Se emplea principalmente en panificación y fermentación de malta para obtención de cerveza, el hongo se alimenta principalmente de hidratos de carbono, sintetizándolos para producir etanol y dióxido de carbono como subproducto. La principal característica que posee esta levadura es su versatilidad para uso industrial ya que puede usarse a gran escala, es de rápido crecimiento y no requiere emplear nutrientes especiales ni costosos para la elaboración del medio de cultivo.

Además, la levadura es un organismo anaerobio facultativo, es decir que puede realizar una fermentación en presencia o ausencia de oxígeno.

### 2.3.7. Reacción

La reacción química mediante la cual se consume la glucosa contenida en una solución para producir etanol empleando levaduras es la siguiente:



En la fermentación alcohólica, el producto clave que se desea obtener es el alcohol etílico o etanol, al separarlo, el subproducto obtenido se denomina vinaza. Las vinazas son ricas en materia orgánica y nutrientes tales como nitrógeno, fósforo, potasio y azufre. La composición de las vinazas depende de la materia prima a partir de la cual se origina el etanol.

Las vinazas generalmente se producen en una proporción de 13:1 con respecto al etanol; es decir, por cada litro de etanol que se obtiene, se producen 13 litros de vinazas.

En esta reacción se produce una oxidación o degradación de la glucosa a un compuesto menos complejo, el etanol. Al ser la reacción de este tipo, se desprende energía, siendo exotérmica.

#### **2.4. Metodología Taguchi**

La técnica para definir e involucrar todas las condiciones y factores posibles que intervienen en un proceso se denomina Diseño de Experimentos, también conocido como Diseño Factorial, en este tipo de arreglos se procura optimizar el producto final a obtener de tal manera que se alcance un rendimiento máximo. Generalmente en el diseño de experimentos se realiza una combinación de todos los factores que intervienen, dando como resultado un número y orden determinado de experimentos.

A partir de la segunda guerra mundial, el Dr. Taguchi diseñó una metodología que permite optimizar el proceso de experimentación en la ingeniería, enfocándose principalmente al control de calidad; el proceso muestra su resultado al disminuir la desviación estándar como indicador. En resumen, el

método procura diseñar productos que no tengan variabilidad o sean estables en los procesos de fabricación.

La metodología se divide en tres etapas fundamentales:

- Diseño del sistema: Se encarga de la selección y diseño de un producto que satisfaga ciertas necesidades, este debe ser funcional y estable con respecto a las variaciones que pueden producirse a lo largo del tiempo con respecto al proceso productivo. Esta etapa incluye también el diseño de un método de pruebas que permita determinar la calidad del producto final.
- Diseño de parámetros: Se encarga de la identificación de las variables clave que intervienen en el proceso y afectan a la calidad del producto. Estos parámetros actúan en diferentes “niveles” que no son más que valores específicos a los que la variable realiza un cambio significativo en el producto final.
- Diseño de tolerancias: Consiste en la determinación de los factores que contribuyen a disminuir la variación del producto y en determinar los

niveles de tolerancia del producto final; esto significa que, se variarán los niveles de tolerancia únicamente de las variables que hacen que el producto final cambie su nivel de calidad.

El diseño de experimentos generalmente realiza una combinación entre todos los factores y niveles escogidos para el proceso, siendo realizado de una manera factorial; sin embargo, empleando la metodología Taguchi, se realizan arreglos ortogonales que permiten disminuir notablemente el número de pruebas que se realizan.

Los arreglos ortogonales provienen de cuadrados latinos que permiten ordenar de una manera específica los factores y niveles que intervienen en el sistema. Los factores se denominan A, B, C, D, etc. dependiendo del número de variables que intervienen, estos factores se disponen en columnas, mientras que los niveles son ordenados en filas empleando números para reconocerlos, el arreglo adecuado para el número escogido de factores y niveles se encuentra en la bibliografía.

A cada uno de los factores con sus niveles se los distingue empleando el nivel como un subíndice de la letra que representa el factor; es decir:  $A_1, A_2, \dots, A_n,$   
 $B_1, B_2, \dots, B_n, C_1, C_2,$  etc.

#### **2.4.1. Análisis de Resultados**

Al igual que en cualquier tipo de experimentación, se debe realizar un análisis de resultados para determinar la eficiencia con la que se obtiene el producto final y la calidad del mismo. En el caso específico de la metodología Taguchi, se espera establecer las condiciones óptimas en la que funciona el proceso, saber qué tanto contribuyen los factores individuales en la calidad del producto y determinar la respuesta de cada una de las condiciones que se plantean.

El análisis se realiza en base a cada uno de los factores, dependiendo del número de niveles con los que se cuente en el diseño experimental. Este análisis requiere muy poca manipulación matemática.

En la obtención del producto final, es indispensable cuantificarlo mediante técnicas analíticas que permitan medir concentración, peso, volumen,

longitud, o lo que se desea obtener al final. Se debe considerar qué es más conveniente para el proceso, estas consideraciones son:

- Más grande es mejor, en caso que la variable cuantificada requiera un valor elevado para demostrar una mejor eficiencia.
- Más pequeño es mejor, en caso que la variable cuantificada requiera variables pequeños para demostrar una mejor eficiencia.
- Nominal es mejor, en caso que la variable cuantificada deba mantenerse constante para demostrar una mejor eficiencia.

#### **2.4.1.1. Rendimiento Medio**

El rendimiento medio representa el promedio que toma el valor cuantificado del producto en un nivel determinado del experimento, este análisis debe realizarse en base a cada uno de los factores que intervienen; y, en el caso que se desee, puede analizarse varios indicadores del producto final.

### 2.4.1.2. ANOVA

ANOVA proviene de las palabras inglesas “*Analysis of Variance*” que quiere decir Análisis de Varianza. Los resultados obtenidos por repetitividad o por replica son analizados empleando esta técnica estadística que permite comprobar un contraste de hipótesis.

Este contraste dice que las medias aritméticas asociadas a los distintos niveles de un factor (Anova simple) o a los distintos factores (Anova doble) que intervienen en un proceso o en un experimento.

Para realizar el análisis de Anova simple es necesario conocer ciertos conceptos fundamentales:

- Media aritmética: Es la suma de los n valores que representan una variable dividida entre este valor n; es decir, es el promedio de un grupo de valores.

$$\bar{x} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n} \quad (2.3.8.2.1)$$

Donde:

$\bar{x}$  = Media aritmética

$a_i$  = Valor muestral

n = Número total de datos

- Varianza: La varianza de los factores está determinada por la suma de los cuadrados de las diferencias entre los valores de una variable y la media aritmética de la misma, dividida entre el número total de datos, las unidades con las que se expresa son e. Esta es una medida de dispersión que permite identificar qué tan alejados están unos valores de otros.

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{x})^2}{n} \quad (2.3.8.2.2)$$

Donde:

$\sigma^2$  = Varianza

- Desviación estándar: La desviación estándar es una medida de dispersión que permite determinar la distancia con la que se alejan los valores de una variable con respecto a la media aritmética. Esta medida se determina obteniendo la raíz cuadrada de la varianza y se expresa en las mismas unidades de la variable de estudio.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i - x)^2}{n}} \quad (2.3.8.2.3)$$

Donde:

$\sigma$  = Desviación estándar

- Grados de libertad: Es el número de categorías o eventos independientes en una prueba. Se calcula en el caso de analizar una variable por vez como el número total de casos “n” menos uno.

Una tabla ANOVA consta de tres columnas y tres filas. La primera columna indica los grados de libertad, la segunda la suma de los cuadrados (desviación estándar de los valores) y la tercera es el

valor F que es la relación entre la desviación estándar del factor (primera fila) y la desviación estándar del error (segunda fila).

El valor F en una tabla ANOVA permite identificar qué tanto se parecen las medias que se están comparando. Si las medias que se comparan tienen un valor cercano a 1, quiere decir que estas son parecidas; caso contrario, el valor de F se irá incrementando, mientras mayor sea la diferencia entre las medias, mayor será el valor F a obtener.

El valor F se ajusta, en distribuciones normales, al modelo de probabilidad de Fisher que relaciona los grados de libertad que están comparándose en el numerador y el denominador con cierto nivel de significancia. Los valores teóricos del coeficiente F están contenidos en la literatura y deben ser comparados con los valores calculados. Si el valor de F calculado es menor al valor F teórico, la hipótesis nula se rechaza que representa que los experimentos tienen una variabilidad significativa entre sí, caso contrario no se

rechaza, de tal manera que los experimentos no presentan gran variabilidad entre ellos.

## **CAPITULO 3.**

### **OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo General**

Diseñar un sistema para mejorar la calidad de efluentes generados por la industria de bebidas y obtener, a partir de esto generar biomasa como fuente alternativa de energía.

### **3.2. Objetivos Específicos**

- Determinar el coeficiente de transferencia de oxígeno ( $kla$ ) en los biorreactores, como indicativo de productividad del sistema de fermentación.
- Formular un modelo matemático que permita predecir la producción de bio-etanol con respecto al tiempo y la relación que mantiene con condiciones específicas.
- Estructurar un sistema de alta eficiencia de obtención de bio-etanol, especificando las condiciones óptimas de trabajo.

**CAPITULO 4.**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

El desarrollo del trabajo investigativo consta de tres etapas fundamentales.

- Estado del arte
- Experimentación
- Análisis de resultados

El estado del arte está detallado en el capítulo 2 de la presente tesis, bajo el título de Marco Teórico, en el se describen las principales teorías que se necesitaron para la investigación.

El análisis de resultados será revisado en el capítulo 6 en donde se detallan los resultados obtenidos y mediante el uso de técnicas estadísticas se emitirán criterios sobre la influencia de ciertas variables sobre la obtención final de etanol.

El presente capítulo se encarga de describir la metodología de experimentación, es decir: las herramientas para el diseño de experimentos, escoger los parámetros a analizar, los instrumentos en los que se llevarán a cabo los experimentos, instrumentos y técnicas de recolección de datos y finalmente instrumentos para procesamiento de datos.

## 4.1. Metodología Taguchi para el diseño de experimentos

Los tres pilares fundamentales para el diseño de experimentos empleando la metodología Taguchi son:

Diseño del sistema

Diseño de parámetros

Diseño de tolerancias

### 4.1.1. Diseño del Sistema

La obtención de biomasa a partir de productos de desecho de la industria de bebidas. Se emplea la levadura *Saccharomyces cerevisiae* por ser de fácil manejo, gran disponibilidad, bajo costo y mayor resistencia.

El crecimiento del inóculo se realiza en una incubadora con control de agitación y temperatura, esta permite que la mezcla permanezca homogénea durante el periodo de incubación.

El cultivo se realiza en tres reactores Applikon con una capacidad de tres litros, dispuestos con agitación mecánica, controladores automáticos de temperatura y sensores de oxígeno disuelto y pH. Poseen un software de recolección de datos que permite tomar medidas con un periodo de variación de un minuto.

#### 4.1.2. Diseño de Parámetros

De acuerdo a lo investigado en la literatura se definen los siguientes parámetros fundamentales.

- **pH:** El pH de una solución puede garantizar el crecimiento adecuado de un microorganismo, y una producción efectiva del producto que se desea obtener. La mayoría de microorganismos pueden sobrevivir en un rango muy estrecho de pH, en el caso de la presente investigación, el más adecuado depende del tipo de levadura que se va a cultivar, debido a que se emplea *Saccharomyces cerevisiae* se debe usar una solución con un pH entre 4.5 y 5.

Debe tomarse en cuenta además, que por efecto del metabolismo celular, el pH puede variar durante el proceso, es por esto que es imprescindible monitorearlo de manera permanente.

- **Temperatura:** La temperatura es fundamental para el crecimiento adecuado de las levaduras y para una fermentación adecuada, La literatura en general menciona para *Saccharomyces cerevisiae* produzca eficientemente etanol, la temperatura debe mantenerse por debajo de los 37°C, pero que el rango óptimo en que se opera está entre los 30 y 35 °C. Se debe considerar además que a una mayor temperatura, existe una disminución en la solubilidad del oxígeno en el medio de cultivo.
- **Velocidad de agitación:** Es indispensable que el contenido de los reactores permanezca de manera homogénea, para esto es necesario proveerlo de un agitador mecánico que funcione a diferentes velocidades. Es importante que esta velocidad no sea demasiado elevada para evitar que el oxígeno disuelto en la solución se escape. El rango adecuado está entre 100 y 300 rpm de acuerdo a la bibliografía.

- **Aeración:** Se provee de una corriente de oxígeno a todos los sistemas, el proceso de fermentación es un proceso anaerobio, pero la presencia de oxígeno en el mismo permite tener un mejor mezclado en el reactor. Esta corriente se mantiene constante en todas las condiciones de los experimentos, la presencia de oxígeno permite verificar los cambios en la cantidad de oxígeno disuelto en el medio, estos cambios permiten caracterizar los reactores.
- **Volumen:** El volumen de los reactores es de tres litros, se escogió realizar el proceso de fermentación con un volumen fijo de dos litros, esto para garantizar que exista espacio suficiente para la agitación, entrada y salida de gases y para evitar la presurización del reactor. Se debe recordar que la reacción produce  $\text{CO}_2$  como subproducto, lo que puede aumentar la presión dentro del tanque. Esta variable permanece constante en el experimento, de esta manera se garantiza que los volúmenes de glucosa con los que se inicia son los mismos.

- **Biomasa inicial:** En cada experimento, es necesario “sembrar” una cantidad determinada de biomasa. Esta variable será constante en todos los casos, para de este modo analizar el crecimiento de la misma con respecto a las diferentes variables que se analizan en el experimento. La biomasa inicial será cuantificada como el número de células que se estarán añadiendo al volumen del reactor.

$2.5 \times 10^8$  células/Reactor

Para el diseño del experimento, se emplean dos niveles en cada uno de los factores que se variarán.

Tabla I. Niveles de variación.

<b>Factor</b>	<b>Nivel 1</b>	<b>Nivel 2</b>
pH	4,5	5
Temperatura	28	34
Velocidad de agitación (rpm)	100	300

Empleando la metodología Taguchi, se tienen 3 factores con dos niveles de significancia, a cada uno de los niveles se los codifica con el número 1

o 2, mientras que a los factores se los codifica con las letras A, B y C de tal manera que la tabla anterior quede codificada de la siguiente manera:

Tabla II: Codificación de parámetros.

<b>Factor</b>	<b>Nivel 1</b>	<b>Nivel 2</b>
A	1	2
B	1	2
C	1	2

Realizando el arreglo ortogonal  $L_4$  que corresponde, se deben realizar los siguientes experimentos:

Tabla III: Arreglo ortogonal.

<b>Experimentos</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

Al final, los experimentos a realizar con las variables que deben modificarse quedarían establecidos de la siguiente manera:

Tabla IV: Detalle de experimentos y variables.

<b>Experimentos</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Velocidad de agitación (rpm)</b>
1	4.5	28	100
2	4.5	34	300
3	5	28	300
4	5	34	100

#### **4.1.3. Diseño de Tolerancias**

Las tolerancias serán tomadas en base a los instrumentos de medición empleados para medir cada una de las variables o factores que se establecieron en la sección anterior. La temperatura es controlada automáticamente por un termopar que viene incluido en el reactor, de la misma manera el medidor de pH y el motor agitador vienen dentro del reactor, por lo que sus tolerancias y errores están indicados en las especificaciones de diseño.

## 4.2. Materiales y Métodos

### 4.2.1. Materiales empleados

- Reactores

Se emplearon tres biorreactores con las siguientes características:

- Reactor Applikon modelo Z61101C006.
- Volumen real 3.21 litros.
- Motor Lipseal modelo Z81315R003
- Tapa de acero inoxidable con orificios para sensor de oxígeno disuelto (1), pH-metro y auxiliares (5), sensor de nivel (2), muestreadores (2), ingreso de aire y otros (6), deflectores (3).
- Sistema de muestreo modelo Z81207SS02
- Tubo de ingreso de aire modelo Z81318L003
- Adaptadores para sensor modelo Z100001810 y Z100001910
- Termopar modelo Z81323TP03
- Sensor de pH modelo Z001023551
- Sensor de oxígeno disuelto modelo Z010023520
- Sensor de temperatura modelo Z034150010

- Software de adquisición de datos



Figura 4.2.1.1 Fotografía del Reactor utilizado.

Fuente: Lab. De Calidad del Agua, Centro del Agua para América Latina y el Caribe –  
Tecnológico de Monterrey

- Microscopio Leica DM750
  - Cámara Leica DFC425C

Es una cámara de 5 Mega pixeles que permite conectar el microscopio a un ordenador para la adquisición rápida de imágenes.



Figura 4.2.1.2 Fotografía del Microscopio utilizado.

Fuente: Lab. De Calidad del Agua, Centro del Agua para América Latina y el Caribe –  
Tecnológico de Monterrey

- Estufa Shel Lab.
- Incubadora Shel Lab Serie SI con agitación y control automático de temperatura.
- Autoclave Yamato modelo SQ500.
- Campana de flujo laminar Labconco.
- Compresor de aire.
- Balanza analítica Ohaus con sensibilidad 0.0001gr.
- Balón de nitrógeno comprimido
- Medidor de Carbono Orgánico Total: O.I Analytical Aurora Modelo 1030.

- Auto-muestreador: O.I Analytical Aurora modelo 1088
- Cromatógrafo de gases: Hewlett Packard Modelo 5890
  - Columna Hewlett Packard Innowax para detección de etanol.  
Longitud 30m, diámetro interno 0.53m.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC): Shimadzu con detector RID 6A
  - Columna Luna NH<sub>2</sub> Amino para detección de azúcares.  
Longitud 250mm, diámetro 4.6mm.
- Material de vidrio variado.
- Filtros Life Sciences GHP Acrodisc 13mm Syringe Filter 0.45μm membrane.
  - Jeringa de vidrio.
- Computador equipado con software de manejo de datos, Microsoft Office, Matlab 2010, Statistica 7, polymath 5.1.

#### **4.2.2. Condiciones iniciales**

En los cuatro experimentos que deben realizarse, y en uno adicional que es la determinación del  $K_{La}$  de los reactores, se conservan ciertas condiciones iniciales, las cuales garantizan que se parte de un mismo

punto inicial para poder cuantificar el crecimiento de biomasa y eficiencia al obtener bio-etanol con diferentes condiciones.

El volumen inicial de la solución con la que se va a trabajar es de dos litros, la solución muestra es proporcionada por los directivos del Centro del Agua. A este volumen se le agregan 40 gramos por cada litro de solución de Bayfolan, es decir 80 gramos de Bayfolan al total del líquido con el que se va a trabajar.

El Bayfolan, es un fertilizante de uso agrícola, debido a su composición tiene un 24% (en peso) de nitrógeno y otros minerales, lo que aporta nutrientes que necesitan las levaduras para realizar sus actividades metabólicas. El nitrógeno en forma de amonio, influye de manera directa para el aumento de la producción de etanol a partir de fermentaciones alcohólicas. Al ser una éste una sal de amonio, tiene también la capacidad de modificar el pH de la solución siendo conveniente y económico por ambos aspectos.

El pH de las soluciones en caso de que deba ser modificado, va a realizarse con una solución 0.01N de hidróxido de sodio, cuidando de que

el volumen de hidróxido a agregar no sea demasiado, caso contrario puede utilizarse una solución 0.1N.

#### **4.2.3. Determinación de $K_{L,a}$**

La determinación del  $K_{L,a}$ , o coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, permite caracterizar la eficiencia con la que se realiza la transferencia de masa en un fluido empleando un reactor por lotes. Se emplea la técnica de eliminación de gas.

##### **4.2.3.1. Condiciones**

Se realiza un solo ensayo, bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura: 28°C
- pH 4.5
- Volumen 2L (provisto con 80g. de Bayfolan)
- Velocidad de agitación 100rpm
- Flujo de aire y de nitrógeno 1L/min
- Condición crítica de oxígeno 0%

#### **4.2.3.2. Procedimiento**

- Llenar el reactor con la muestra preparada con 80g. de Bayfolan.
- Preparar el reactor, asignar las condiciones iniciales de temperatura, velocidad de agitación y suministro de aire.
- Poner a funcionar el reactor durante un periodo de 8 horas antes de proceder a calibrar el medidor de oxígeno disuelto al 100% y el medidor de pH.
- Detener el suministro de aire y empezar a inyectar nitrógeno, esto debe realizarse hasta que se alcance la condición crítica deseada.
- Una vez alcanzada la condición crítica, detener el ingreso de nitrógeno y suministrar nuevamente aire.

#### **4.2.4. Preparación de inóculo**

- Medir 100ml. de agua bidestilada en un matraz aforado.
- Pesar 2g de glucosa en la balanza analítica.

- Colocar el agua y la glucosa en un matraz de 250ml y disolver empleando agitador magnético hasta la desaparición de todos los sólidos.
- Colocar una esponja en la boca del matraz y cubrir con papel aluminio, autoclavar a 121°C, dejar enfriar.
- Pesar 0.5g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la balanza analítica y colocar en el matraz. Tener cuidado de abrir el matraz únicamente en la campana de flujo laminar para evitar la contaminación por agentes externos.
- Incubar durante 24 horas a las condiciones que requiere el experimento.

#### **4.2.5. Fermentación en reactores**

- Preparar 2 litros de medio de cultivo con las condiciones de pH que el experimento indique, si se debe modificar debe agregarse una solución 0.01N de hidróxido de sodio, cuidando de que el volumen de hidróxido a agregar no sea demasiado, caso contrario puede utilizarse una solución 0.1N.

- Conectar el reactor y configurar las condiciones que requiere cada uno de los experimentos.
- Se debe crear en el software de obtención de datos un archivo característico para cada una de las corridas en cada uno de los reactores.
- Luego de transcurridas ocho horas de adquisición de datos, se procede a calibrar al 100% el medidor de oxígeno disuelto y a su vez el medidor de pH.
- En este momento se inocula una cantidad establecida en cada uno de los reactores y se procede desde este momento a tomar muestras periódicas aproximadamente cada 6 horas durante 72 horas.
- Luego de transcurridas 72 horas de fermentación, detener el sistema, autoclavar y lavar.

#### **4.2.6. Preparación de muestras para análisis**

##### **4.2.6.1. Cromatógrafo de gases**

- Tomar 1ml de muestra empleando la jeringa de vidrio.
- Filtrar empleando filtro de 0.45 $\mu$ m

- Almacenar en punta de plástico.
- Realizar dilución 1:10 con agua HPLC
- Almacenar en vial para análisis y nombrar adecuadamente.
- Almacenar muestra no diluida en vial para análisis y nombrar adecuadamente.

#### **4.2.6.2. Cromatógrafo líquido de alta eficiencia**

- Tomar 1ml de muestra empleando la jeringa de vidrio.
- Filtrar empleando filtro de 0.45 $\mu$ m
- Almacenar en punta de plástico.
- Realizar dilución 1:10 con agua HPLC
- Almacenar en vial para análisis y nombrar adecuadamente.
- Almacenar muestra no diluida en vial para análisis y nombrar adecuadamente.

#### **4.2.6.3. Medidor de Carbono Orgánico Total**

- Realizar una dilución 1:100 para cada una de las muestras empleando agua HPLC.

- Almacenar la muestra diluida en un vial para análisis y nombrar adecuadamente.

#### **4.2.7. Análisis de muestras**

##### **4.2.7.1. Cromatógrafo de gases**

- Colocar la columna para detectar etanol de 30m x 0.53cm de diámetro en el equipo.
- Realizar una curva estándar para la detección de etanol.
- Colocar los viales conteniendo la curva estándar y las muestras de manera ordenada en los contenedores.
- Programar el software controlador del equipo para la lectura de las muestras y mostrar el resultado del análisis.
- Exportar los datos, estos vienen expresados en mg/l.

#### **4.2.7.2. Cromatógrafo líquido de alta eficiencia**

- Realizar una mezcla 80:20 de acetonitrilo : agua siendo esta la fase móvil en el análisis, esta mezcla debe ser previamente desgasificada.
- Colocar la columna de amino de 250 mm x 46 mm para medir glucosa.
- Realizar una curva estándar de glucosa.
- Colocar los viales que contienen la curva estándar y las muestras de manera ordenada en el automuestreador.
- Programar el software controlador del equipo para la lectura de las muestras, se debe considerar que la fase móvil va a fluir a 2ml/min.
- Exportar los resultados, éstos están expresados en %p/v

#### **4.2.7.3. Medidor de Carbono Orgánico Total**

- Realizar una curva estándar para medir el carbono orgánico total.

- Colocar los viales con los estándares y las muestras en el automuestreador del equipo, deben colocarse de manera alternada viales con muestras “blanco”.
- Programar el software para la medición del carbono orgánico total.
- Exportar los datos, estos vienen expresados en partes por millón.

#### **4.2.7.4. Conteo de células**

- Homogeneizar la muestra tomada del reactor agitándola.
- Tomar una pequeña cantidad con una micropipeta y colocarla en la cámara de Neubauer.
- Tapar la cámara con un cubreobjetos teniendo cuidado de no formar burbujas de aire dentro de la misma.
- Realizar el conteo empleando el microscopio y un contador manual.

- En caso que la concentración de células sea muy elevado, realizar una pequeña dilución para que el conteo sea más exacto.

**CAPITULO 5.**  
**ANÁLISIS DE  $K_La$**

Al realizar el procedimiento para obtener el  $K_{L,a}$ , al tomar la medida de la concentración del oxígeno en cada uno de los reactores se presentan los siguientes gráficos correspondientes a cada uno de los reactores empleados en los experimentos.

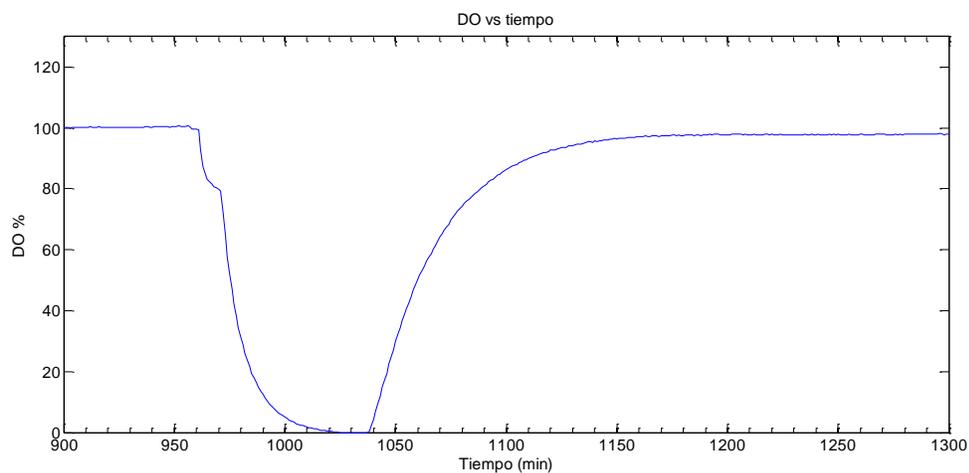


Figura 5.1 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 1.

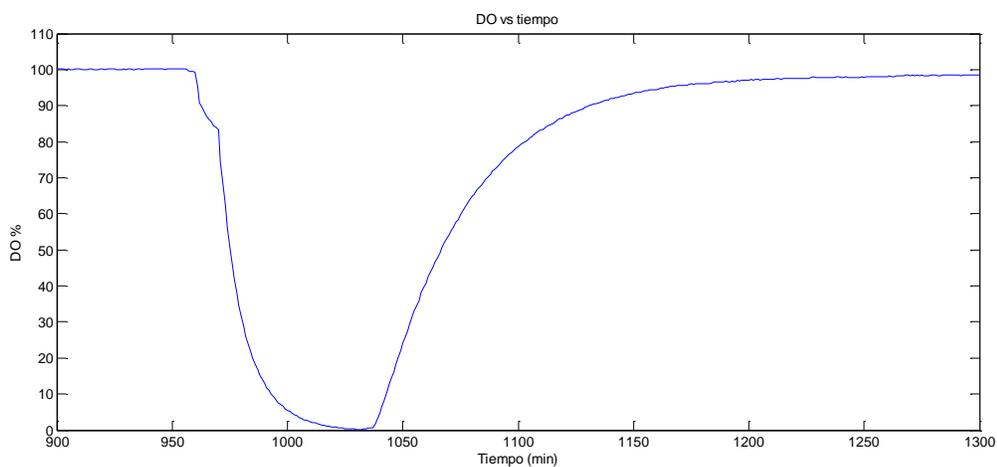


Figura 5.2 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 2.

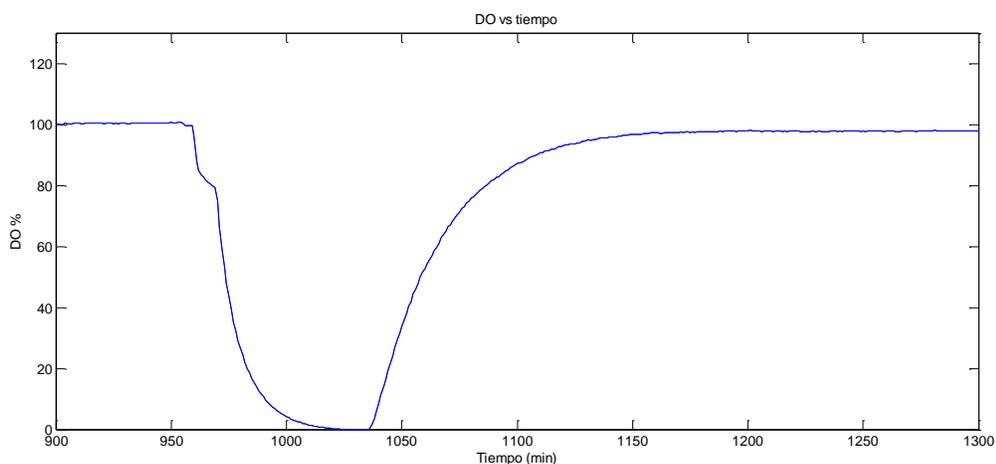


Figura 5.3 Gráfica de Oxígeno Disuelto vs Tiempo en el Reactor 3.

Las gráficas, como es posible notar, presentan al principio una fase descendente, que indica simplemente la supresión de oxígeno y el ingreso de un gas inerte al sistema, que en caso de esta investigación, fue nitrógeno. Desde el punto crítico, que es el punto donde se llega más cerca del eje horizontal, hasta que se alcance un punto de saturación constante.

El cálculo se realizó empleando la ecuación No. 2.3.2.1.3 descrita en el Capítulo 2 de la presente tesis, en donde se emplean como concentración de oxígeno en el líquido ( $C_L$ ) el valor medido a condiciones normales del experimento, éste al manejarse constantemente en un medio aireado presenta una saturación del 100%, por lo tanto se usará este valor en el análisis matemático; mientras que, los valores que se toman de concentración de

saturación de oxígeno ( $C_s$ ) son los valores que son medidos en los diferentes intervalos de tiempo en la curva ascendente de cada uno de los experimentos realizados.

El análisis matemático de la ecuación para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, tomando en cuenta el valor constante que se presenta de igual manera en los tres reactores analizados, es el siguiente:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a (C_S - C_L)$$

$$\int_{C_{L_0}}^{C_L} \frac{dC_L}{C_S - C_L} = K_L a \int_{t_0}^t dt$$

$$C_{L_0} = 0 \quad ; \quad t_0 = 0$$

$$\ln \left( 1 - \frac{C_L}{C_S} \right) = -K_L a \times t$$

La forma de la ecuación que se obtiene en el análisis previo, al representar la gráfica semilogarítmica correspondiente entre la concentración de saturación de oxígeno y el tiempo, se expresa como una línea recta en donde el valor que se procura obtener,  $K_L a$ , es la pendiente de dicha recta.

Se evaluarán los valores obtenidos desde el tiempo 0 hasta alcanzar un punto máximo de saturación de oxígeno en los reactores. Estos valores están adjuntos como un anexo a la

presente investigación. El análisis matemático será realizado empleando el software Matlab como procesador de datos.

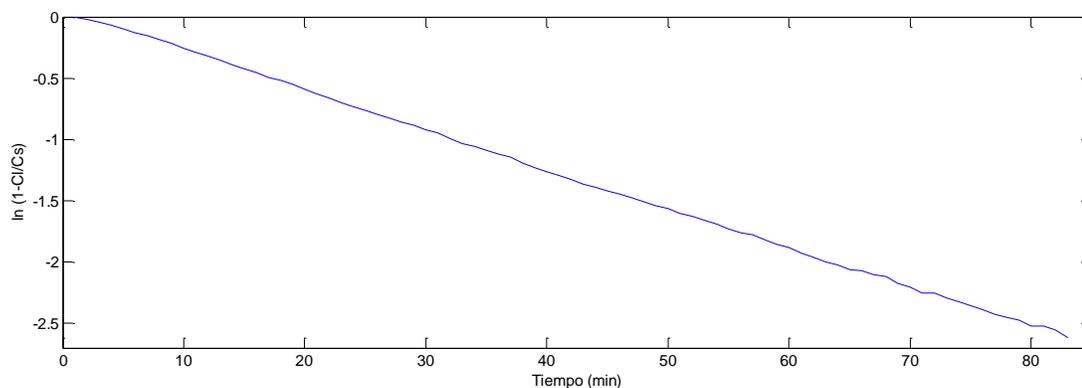


Figura 5.4 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 1.

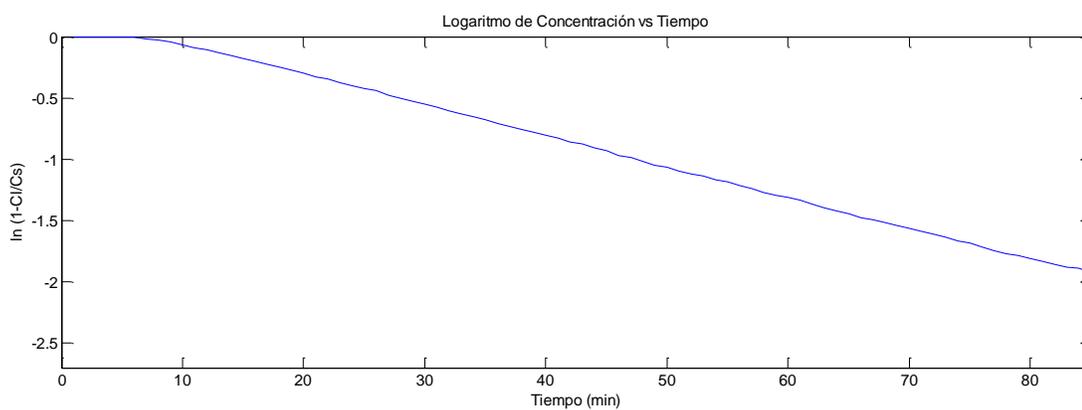


Figura 5.5 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 2.

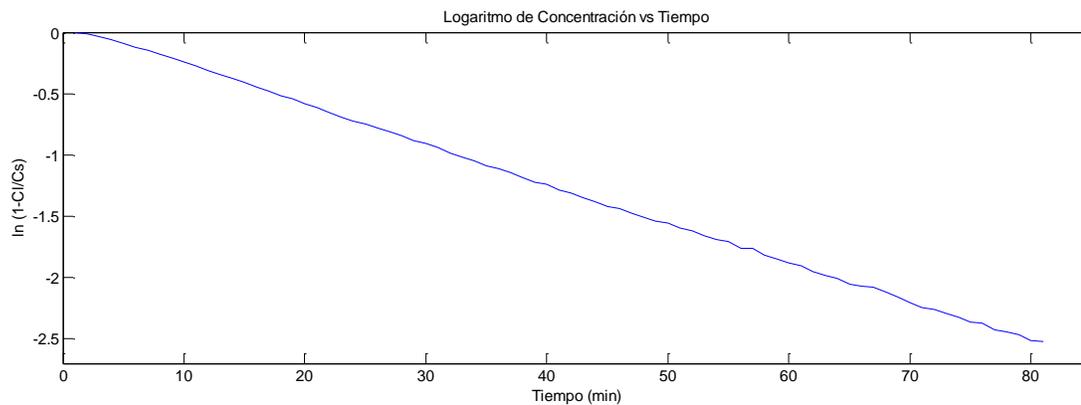


Figura 5.6 Gráfica de Logaritmo de Concentraciones vs. Tiempo en el Reactor 3.

Los valores obtenidos son presentados en la siguiente tabla:

Tabla V: Valores de  $K_L a$ .

Reactor	$K_L a$ ( $h^{-1}$ )
R1	1.932
R2	1.476
R3	1.938

## **CAPITULO 6.**

### **ANÁLISIS DE EXPERIMENTOS EMPLEANDO METODOLOGÍA TAGUCHI**

Los resultados en cada uno de los puntos a analizar serán presentados siguiendo un orden metodológico. En primer lugar se presentan los resultados por experimento y por reactor, luego se presenta un sumario con los aspectos fundamentales y resultados obtenidos mediante la herramienta de análisis a usar.

### **6.1. Análisis en base a Consumo de Glucosa**

El objetivo en la investigación es reducir la concentración final de glucosa en los efluentes. Se muestran en primer lugar gráficos que permitan observar el decrecimiento en la concentración de glucosa a lo largo del tiempo, una compilación de los mismos y una regresión lineal que permite encontrar una ecuación que se ajuste al problema.

### 6.1.1. Primer Experimento

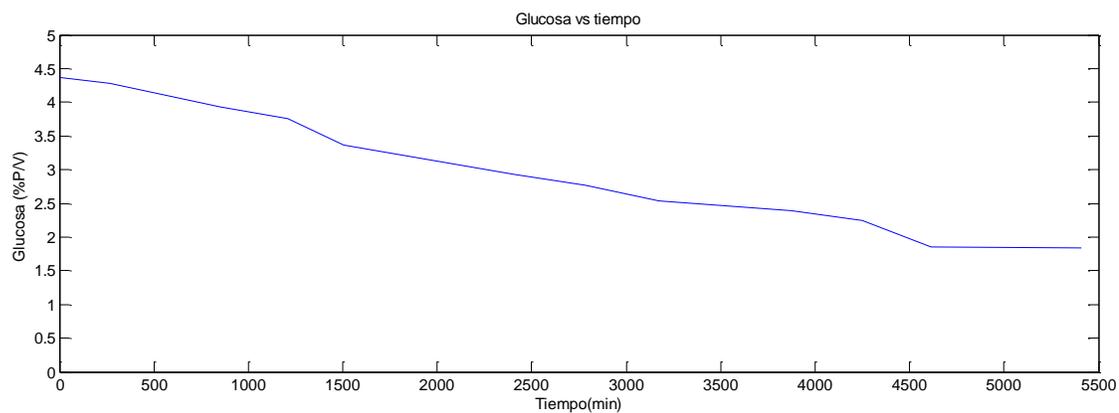


Figura 6.1.1.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo para el Reactor 1, Experimento 1.

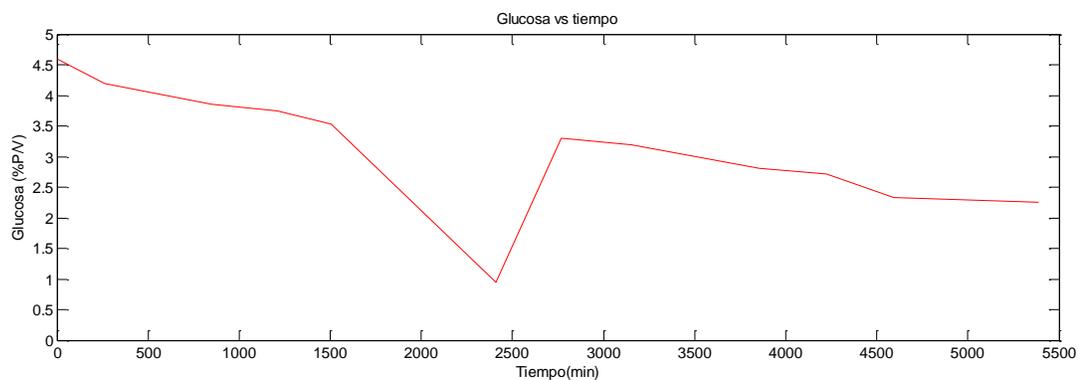


Figura 6.1.1.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.

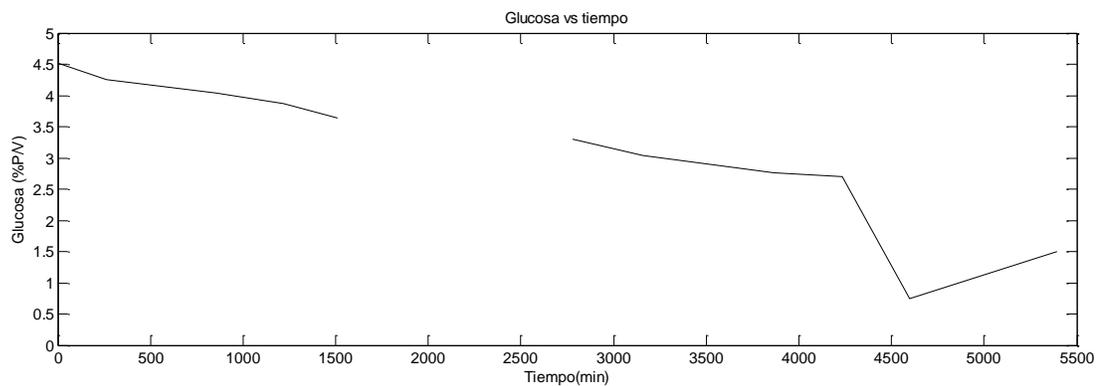


Figura 6.1.1.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.

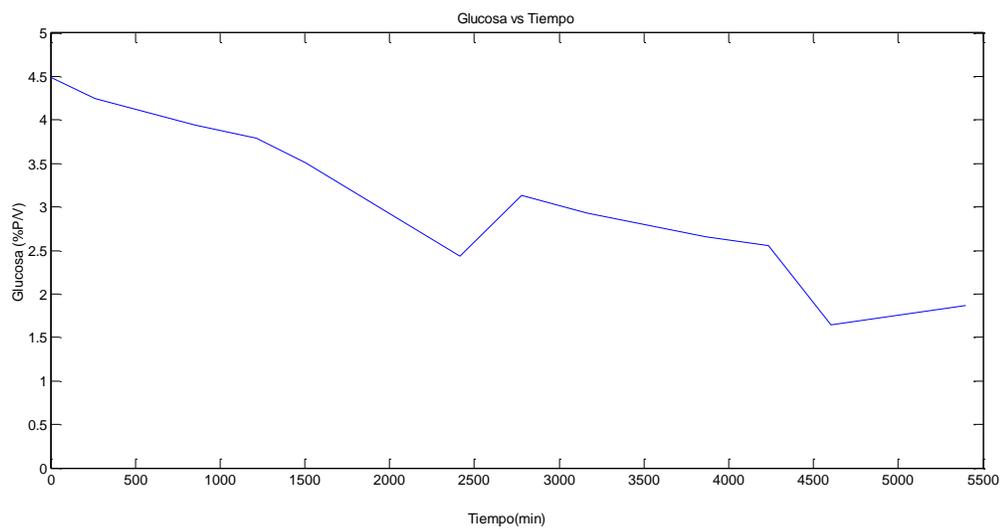


Figura 6.1.1.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.

Al obtener una ecuación que se ajuste a la recta, se obtiene la siguiente ecuación de primer orden:

$$G = -0.0005t + 4.3278$$

Donde:

G= Concentración de glucosa

t= tiempo en minutos

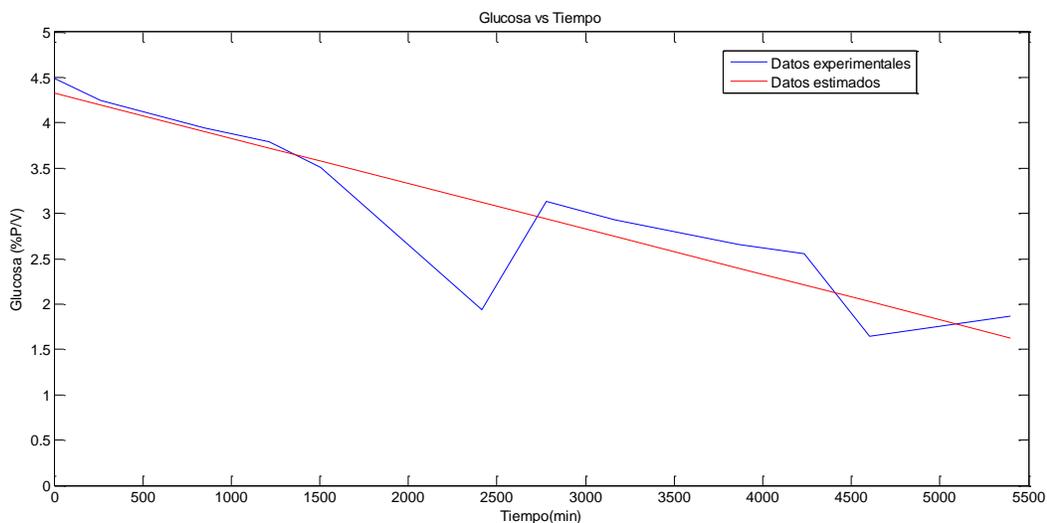


Figura 6.1.1.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo. Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 1.

En la regresión realizada para este análisis, se presenta un error típico de 0.4335, mientras que el valor de  $R^2$  es 0.8134 lo que indica que la curva no se ajusta bien a los resultados. Esto se debe principalmente a picos que se presentan en las lecturas de los datos, se consideran como errores experimentales.

En este experimento el consumo de glucosa tiene un 58,4% de eficiencia, presentando en la fase inicial una velocidad de consumo baja.

### 6.1.2. Segundo Experimento

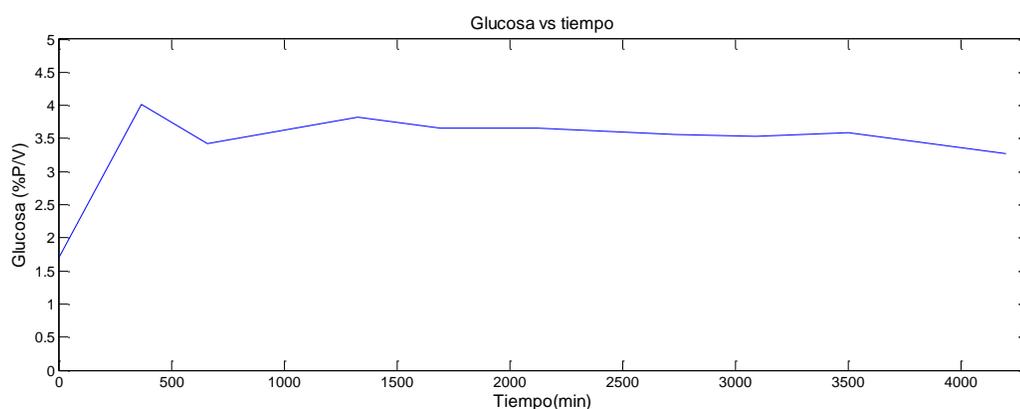


Figura 6.1.2.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2

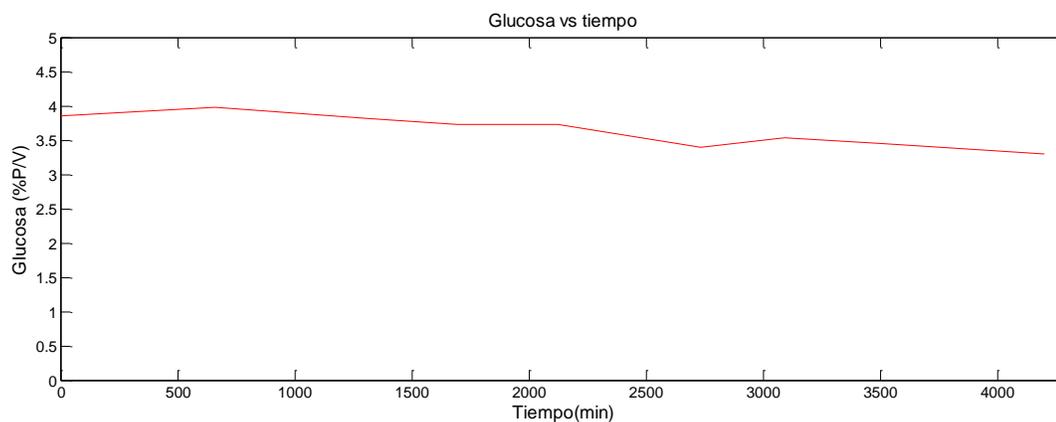


Figura 6.1.2.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.

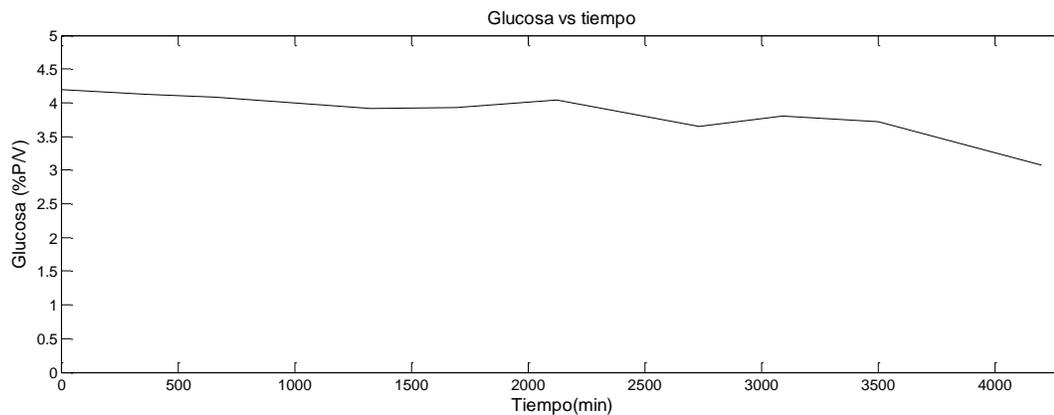


Figura 6.1.2.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.

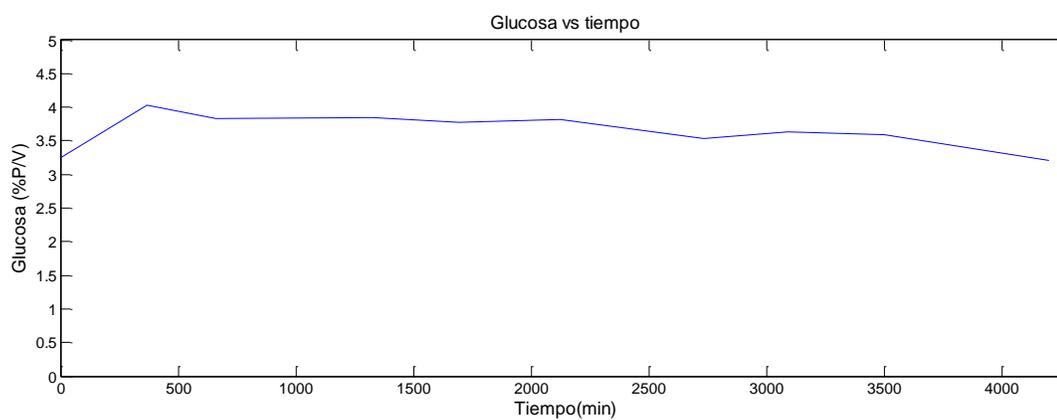


Figura 6.1.2.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.

Al obtener una ecuación que se ajuste a la recta, se obtiene la siguiente ecuación de primer orden

$$G = -0.0001t + 3.8009$$

Donde:

G= Concentración de glucosa

t= tiempo en minutos

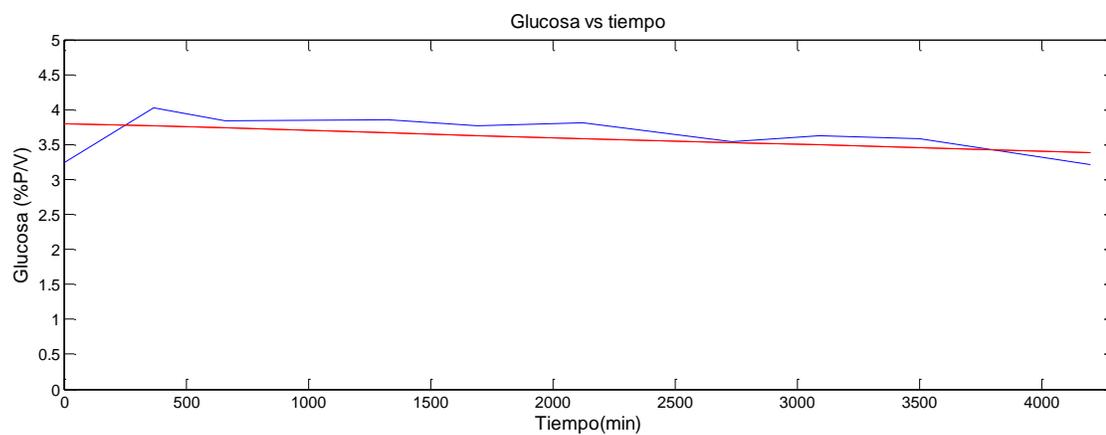


Figura 6.1.2.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.

En la regresión lineal realizada para este análisis, se presenta un error típico de 0.2555, mientras que el valor de  $R^2$  es 0.1672 lo que indica que la curva no se ajusta a los resultados. En este caso debe realizarse una regresión no lineal. De acuerdo con los valores iniciales y finales en este experimento la glucosa se consume con una eficiencia del 23.37%.

### 6.1.3. Tercer Experimento

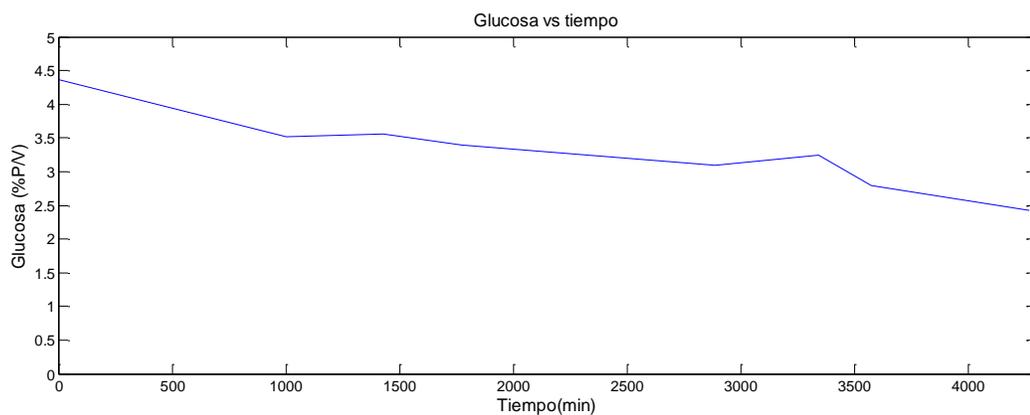


Figura 6.1.3.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.

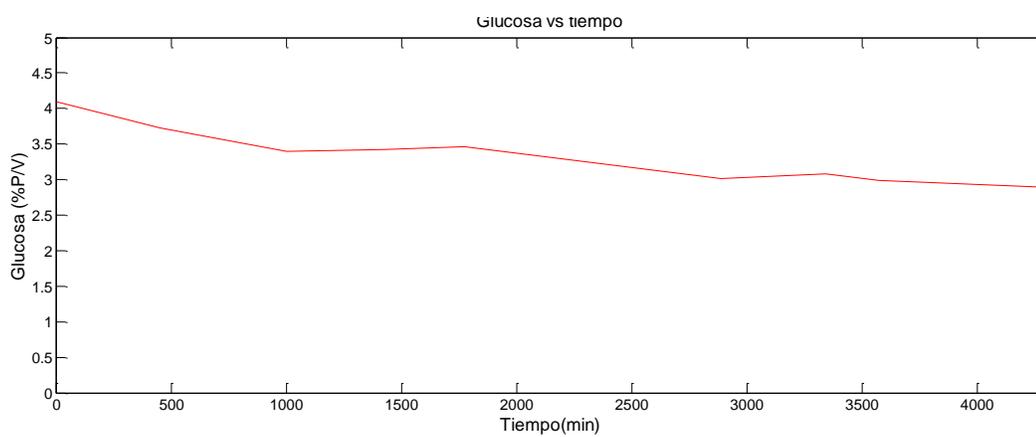


Figura 6.1.3.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.

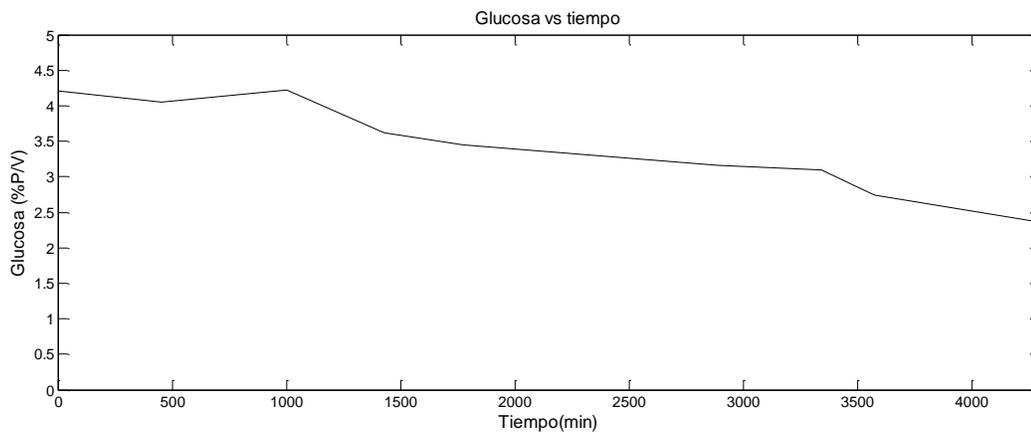


Figura 6.1.3.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.

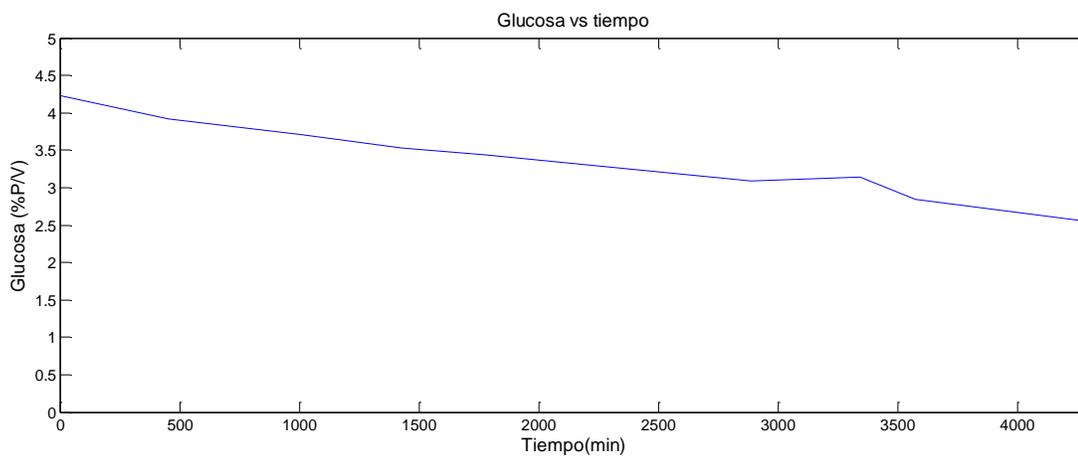


Figura 6.1.3.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.

Al obtener una ecuación que se ajuste a la recta, se obtiene la siguiente ecuación de primer orden

$$G = -0.00035t + 4.1139$$

Donde:

G= Concentración de glucosa

t= tiempo en minutos

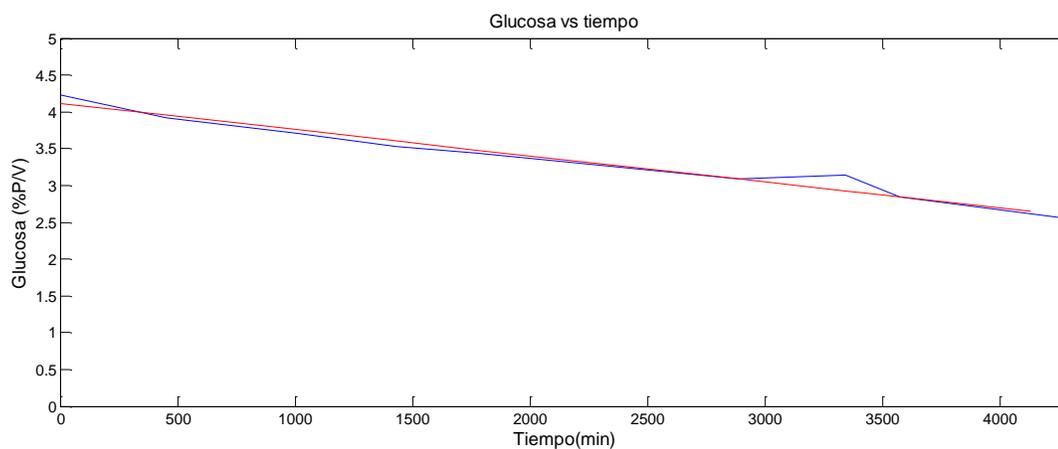


Figura 6.1.3.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.

En la regresión lineal realizada para este análisis, se presenta un error típico de 0.1080, mientras que el valor de  $R^2$  es 0.9633 lo que indica que la ecuación se ajusta de una manera muy cercana a la curva. En esta prueba realizada, la glucosa se consume en un 39,29%.

### 6.1.4. Cuarto Experimento

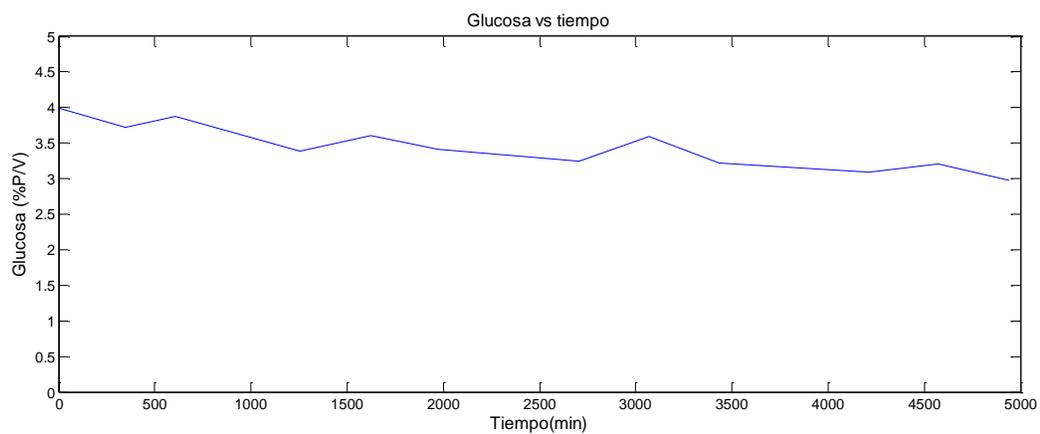


Figura 6.1.4.1 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4.

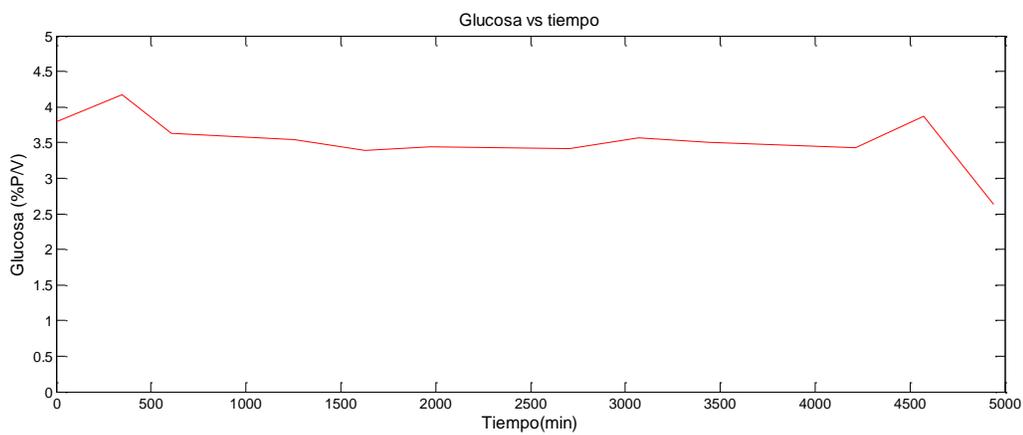


Figura 6.1.4.2 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.

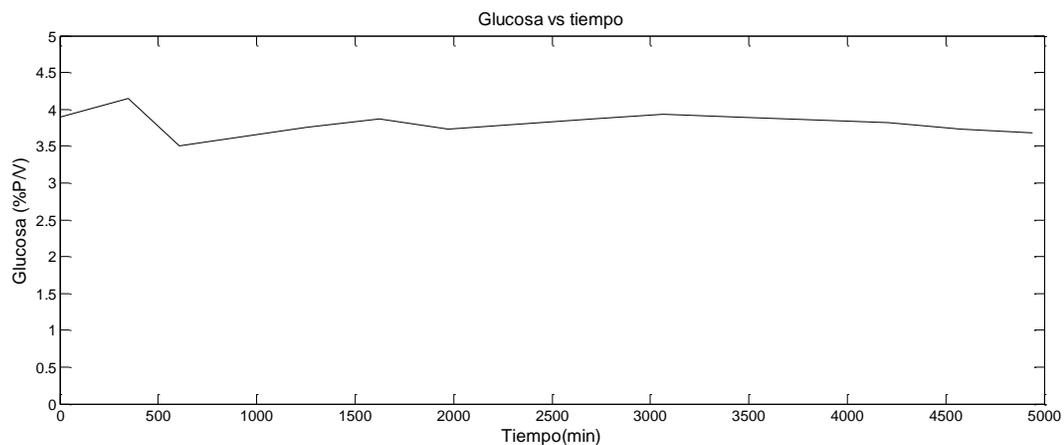


Figura 6.1.4.3 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.

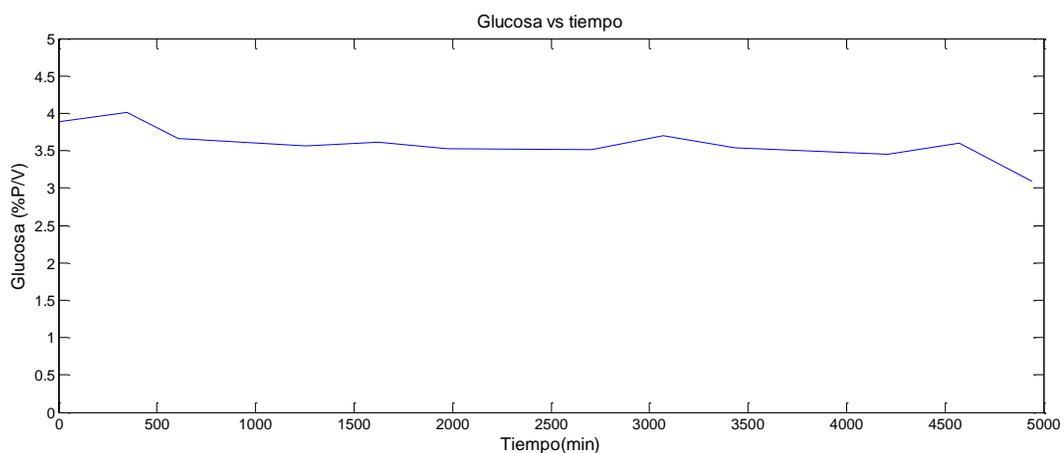


Figura 6.1.4.4 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.

Al obtener una ecuación que se ajuste a la recta, se obtiene la siguiente ecuación de primer orden

$$G = -0.0001t + 3.84164$$

Donde:

G= Concentración de glucosa

t= tiempo en minutos

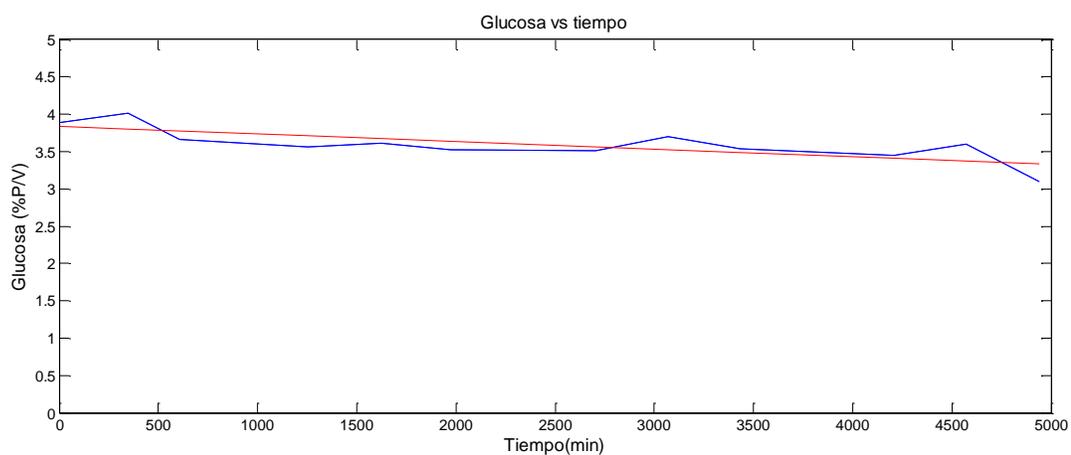


Figura 6.1.3.5 Gráfico de Glucosa vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados,

#### Experimento 4.

En la regresión lineal realizada para este análisis, se presenta un error típico de 0.1566, mientras que el valor de  $R^2$  es 0.5273 lo que indica que la ecuación no se ajusta de una manera adecuada a la curva. La eficiencia en el consumo de glucosa calculado es de 25.43%.

### 6.1.5. Análisis mediante el Método Taguchi

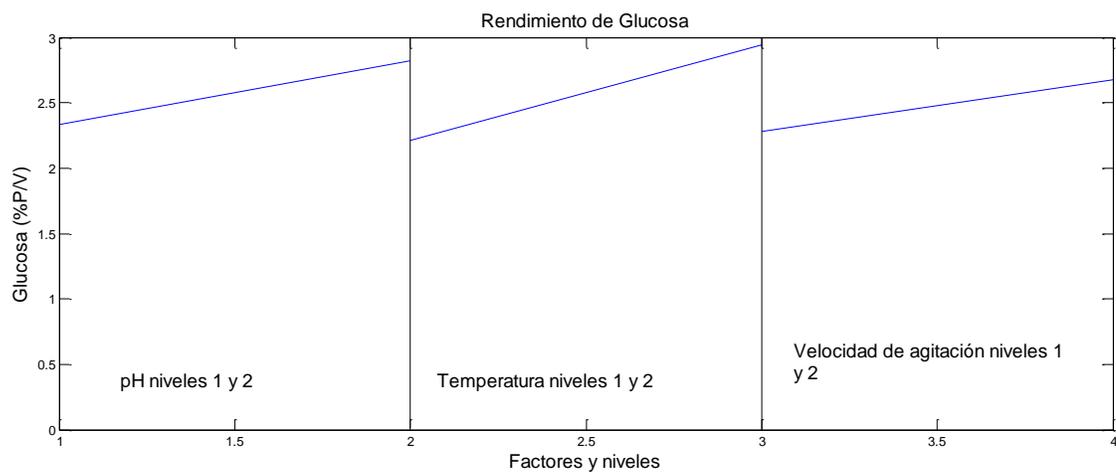


Figura 6.1.5.1 Gráfico de Rendimiento de Glucosa con respecto a diferentes factores y niveles.

El consumo de glucosa en el experimento, debe alcanzar el menor valor de concentración posible, debido a esto se pretende obtener “Más pequeño mejor” según la metodología Taguchi. La figura 6.1.5.1 muestra la tendencia que presenta la glucosa con respecto al manejo de los diferentes factores que intervienen en el experimento. Las líneas se muestran de manera creciente, con una pendiente positiva, pero para lograr el objetivo planteado, que es reducir al máximo la concentración de glucosa en la solución, debe analizarse de manera contraria.

En base a todos los factores, la concentración de glucosa se presenta de manera creciente, con una tendencia muy clara hacia los niveles más altos de todos los factores que intervienen en el experimento. Si bien es cierto, la pendiente de las rectas no es la misma, siendo aquella que representa el rendimiento con respecto a la velocidad de agitación notablemente menor que las otras dos presentes; esto indica claramente que este factor no es predominante para el consumo de glucosa, pero si la temperatura y el pH.

Es claramente evidente que se deben escoger los niveles más bajos de las variables escogidas para lograr una reducción mucho más notable de la concentración de glucosa en la etapa final del proceso.

De acuerdo al análisis de varianzas ANOVA, con un nivel de significancia del 5%, se concluye que no se rechaza la hipótesis nula que establece la igualdad de medias, es decir que no hay diferencias significativas entre los experimentos.

## 6.2. Análisis en base a Producción de Etanol

Es evidente, que al procurar reducir al máximo la concentración de glucosa al final de un proceso, se espera incrementar en la medida de lo posible la concentración de etanol al final del mismo. Es por esto que se realiza un análisis a lo largo del tiempo de producción que permita determinar la eficiencia y el comportamiento con el que se produce alcohol a las condiciones previamente indicadas.

### 6.2.1. Primer Experimento

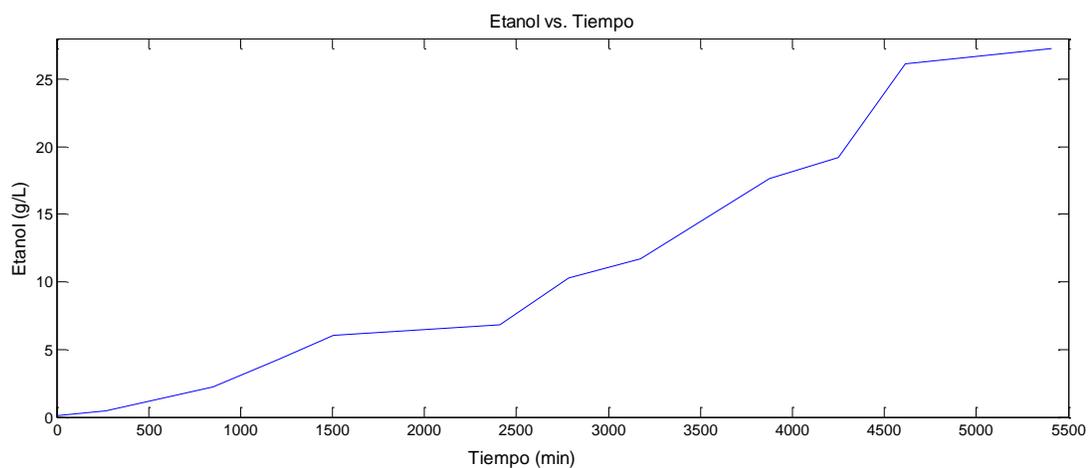


Figura 6.2.1.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.

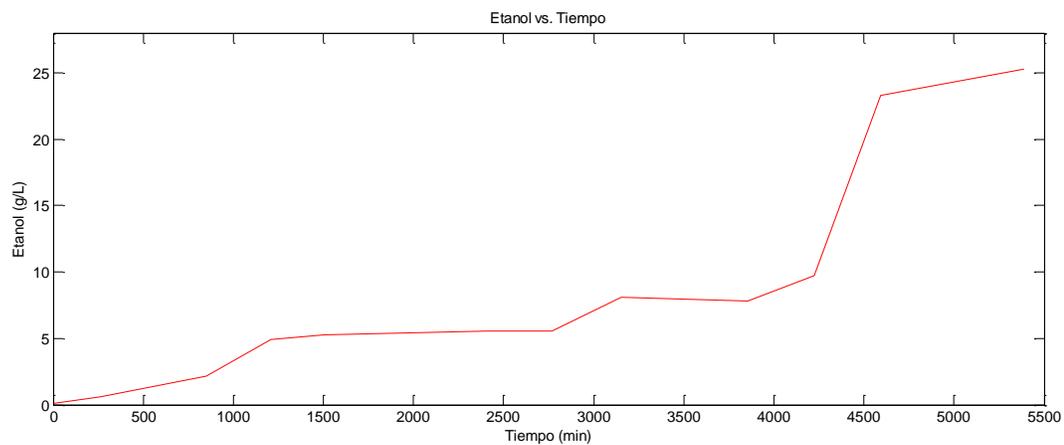


Figura 6.2.1.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.

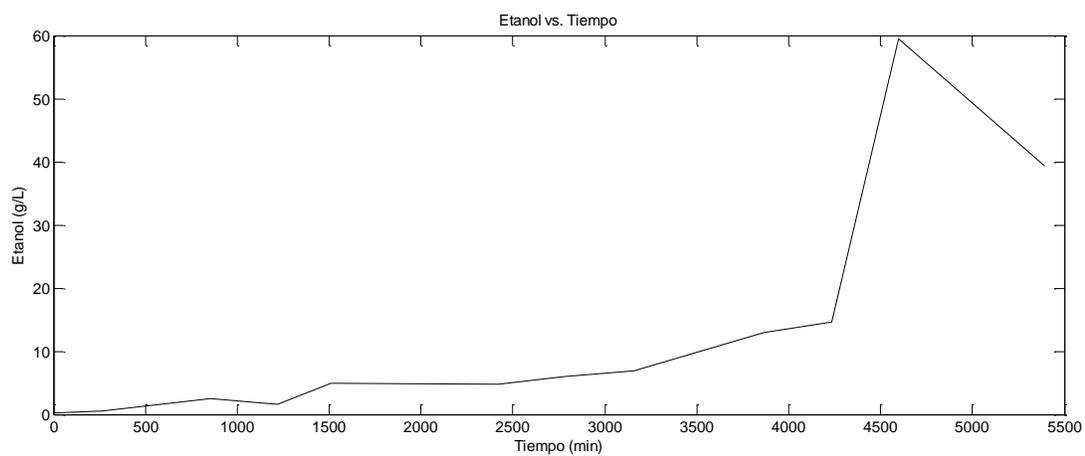


Figura 6.1.2.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.

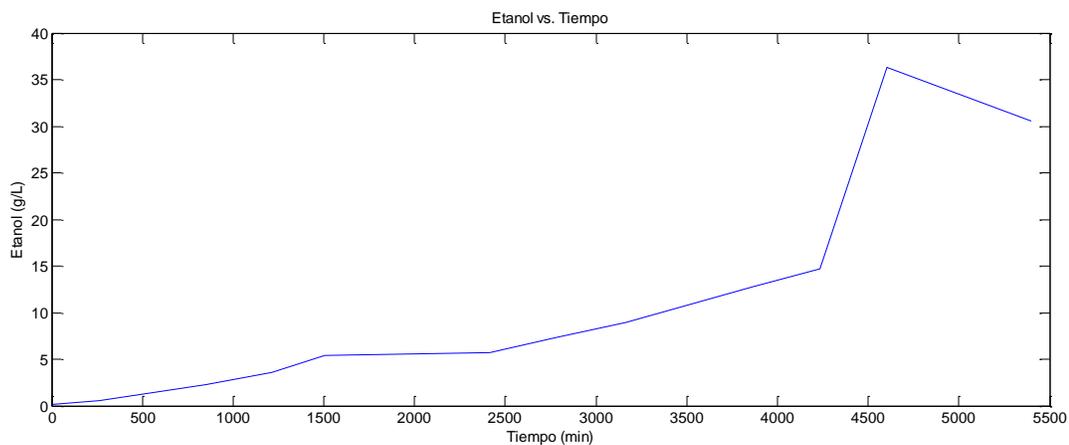


Figura 6.1.2.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.

La producción de etanol tiene una tendencia exponencial creciente, por lo tanto es necesario encontrar una ecuación que permita modelar este fenómeno. La ecuación encontrada es:

$$E = -519.323 + e^{6.245682+0.000643t}$$

Donde:

E= Concentración de etanol en g/L

t= tiempo en horas

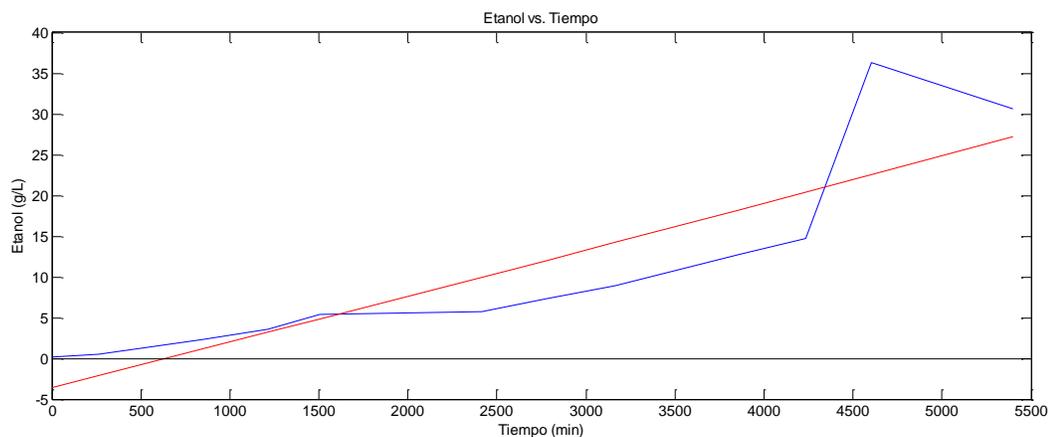


Figura 6.2.1.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 1.

Si bien es cierto, la ecuación se define de manera exponencial pero, no explica completamente el fenómeno. La concentración de etanol en el inicio debe ser nula de manera teórica. Se presenta un valor de  $R^2$  de 0.7594 lo que indica que la ecuación no se ajusta de manera adecuada a la curva, pero está relativamente cerca de lo que se posee de manera experimental.

De manera general se puede decir que el etanol se produce de una manera adecuada, otorgando una concentración final aproximada de 30g/L.

## 6.2.2. Segundo Experimento

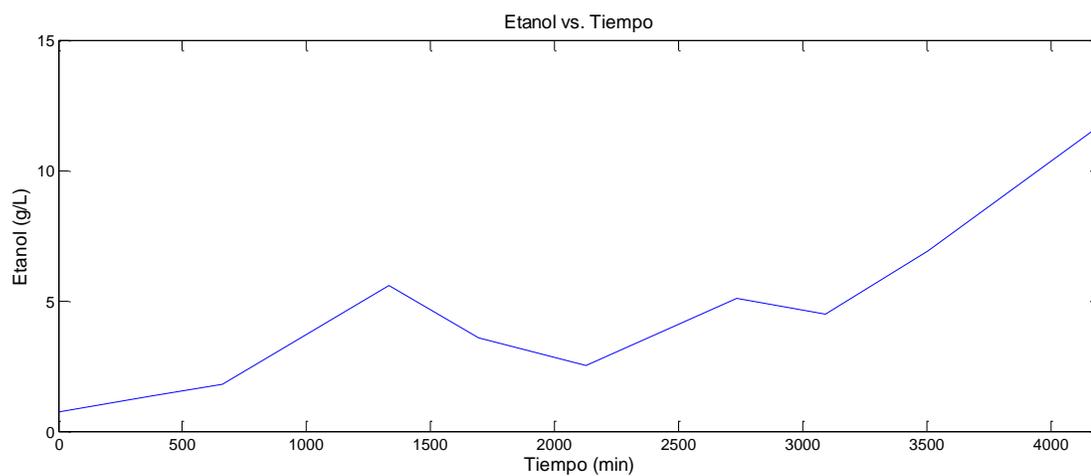


Figura 6.2.2.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.

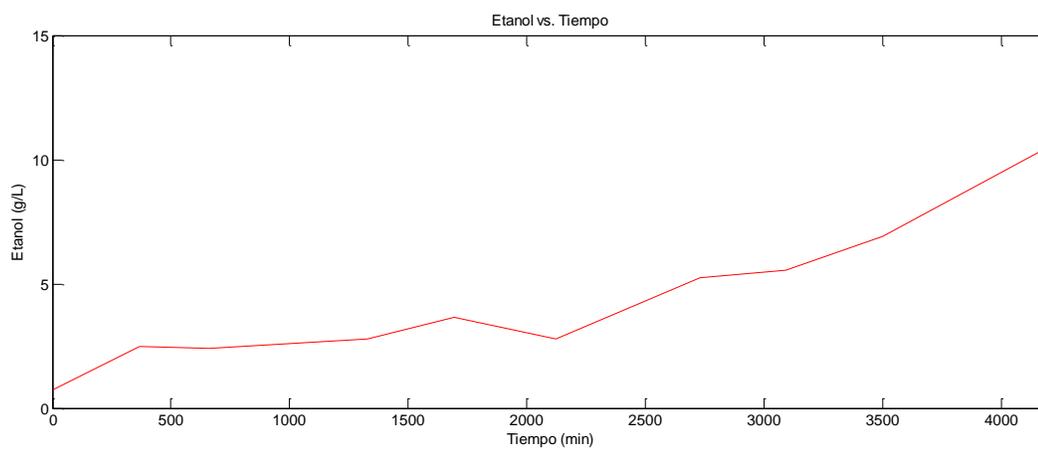


Figura 6.2.2.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.

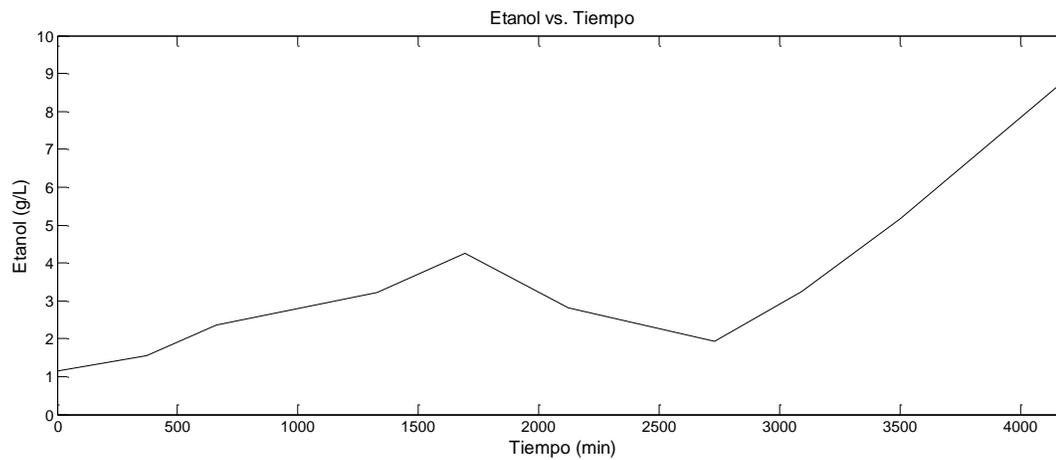


Figura 6.2.2.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.

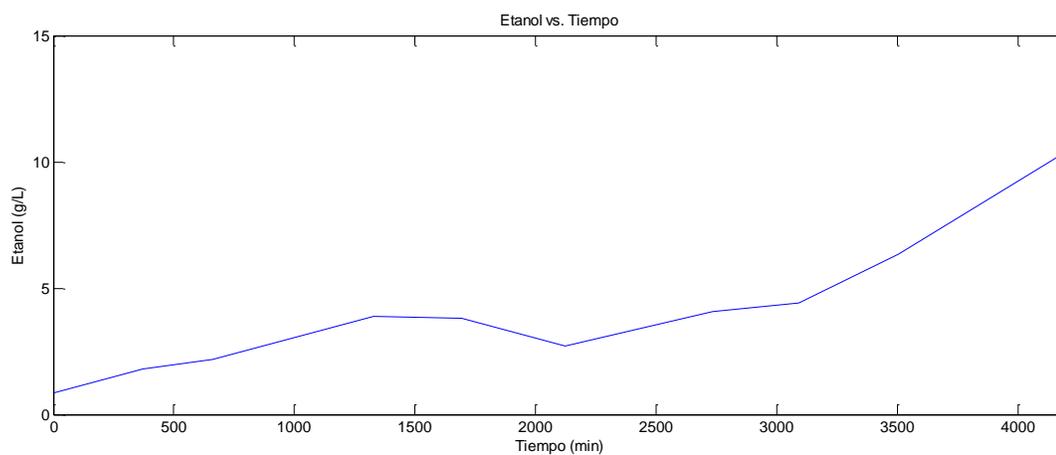


Figura 6.2.2.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.

En este caso la producción de etanol tiene también una tendencia creciente y exponencial, por lo que se estima una ecuación que se puede ajustar a la curva.

$$E = -200.839 + e^{5.305964+0.0005t}$$

Donde:

E= Concentración de etanol en g/L

t= tiempo en horas

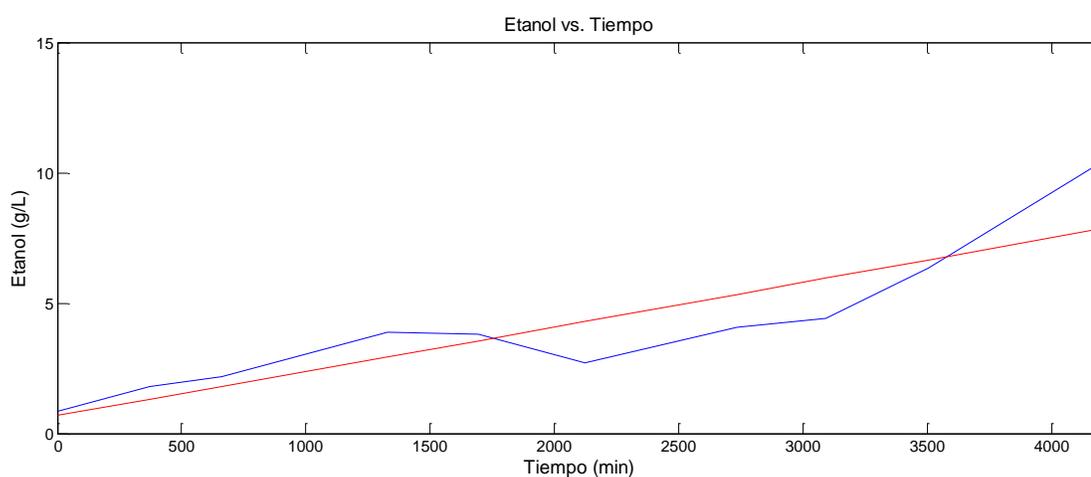


Figura 6.2.2.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.

El crecimiento en la formación de etanol tiene una tendencia creciente exponencial; sin embargo, la ecuación obtenida no se ajusta de manera adecuada a la curva, siendo el valor de  $R^2$  0.7855. Es evidente que el fenómeno de formación no se explica de manera adecuada con ésta fórmula.

La producción de etanol en este caso no es muy eficiente ya que al final se obtienen aproximadamente 10g/L de concentración de esta sustancia.

### 6.2.3. Tercer Experimento

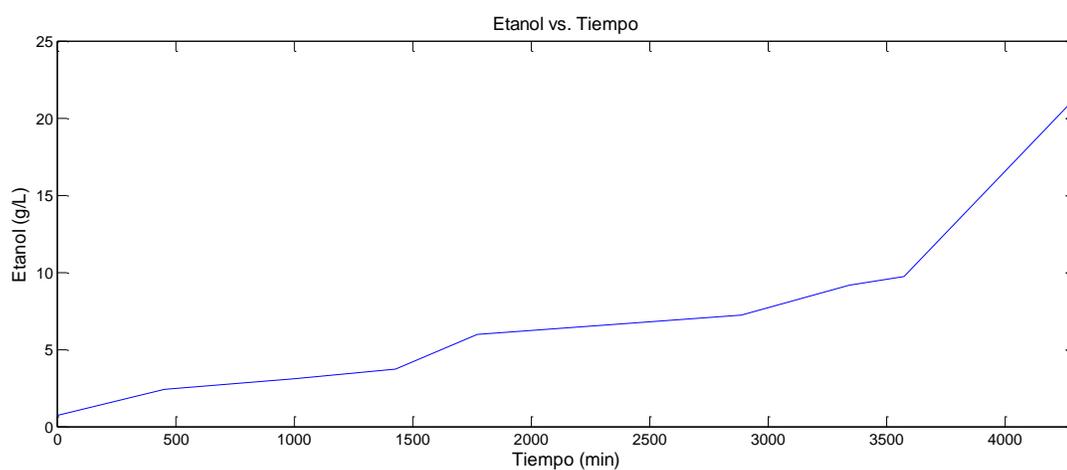


Figura 6.2.3.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.

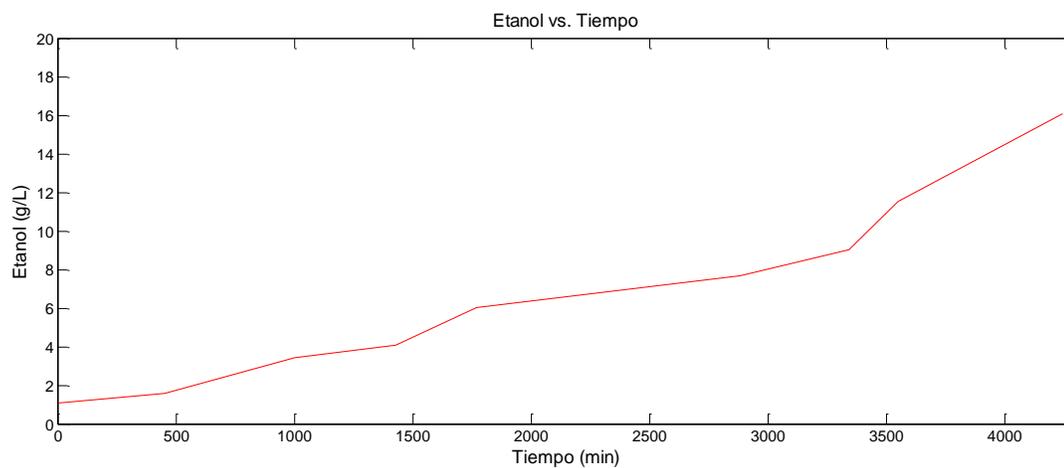


Figura 6.2.3.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.

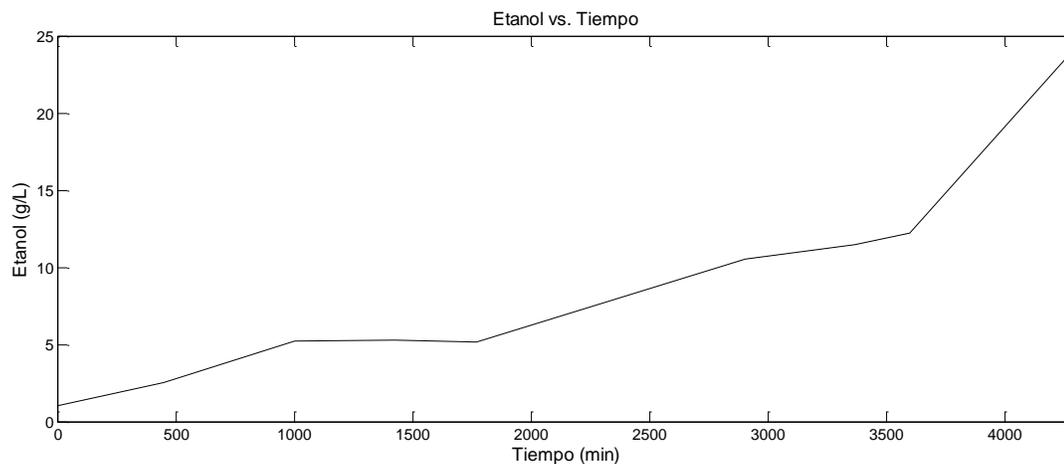


Figura 6.2.3.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.

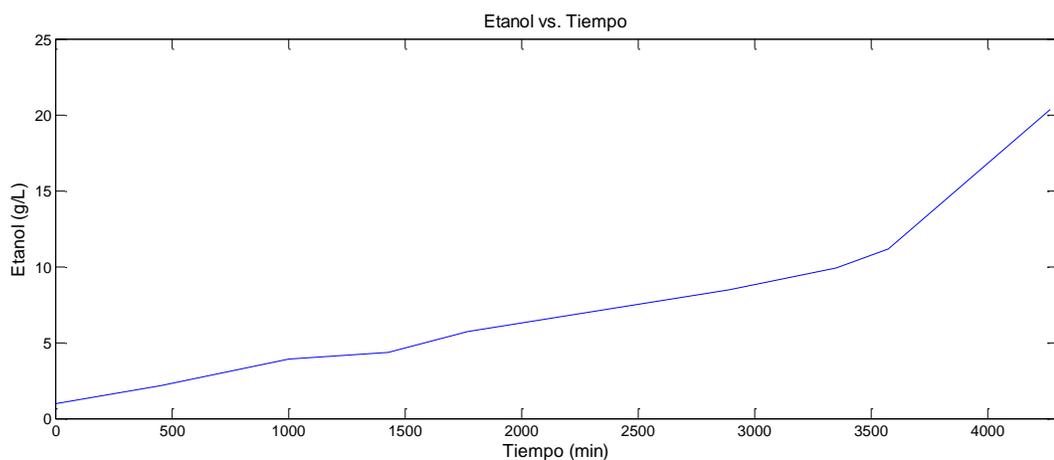


Figura 6.2.3.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.

La producción de etanol tiene al igual que los casos anteriores una tendencia creciente y exponencial, por lo que se estima una ecuación que se puede ajustar a la curva.

$$E = -244.891 + e^{5.499976+0.000881t}$$

Donde:

E= Concentración de etanol en g/L

t= Tiempo en horas

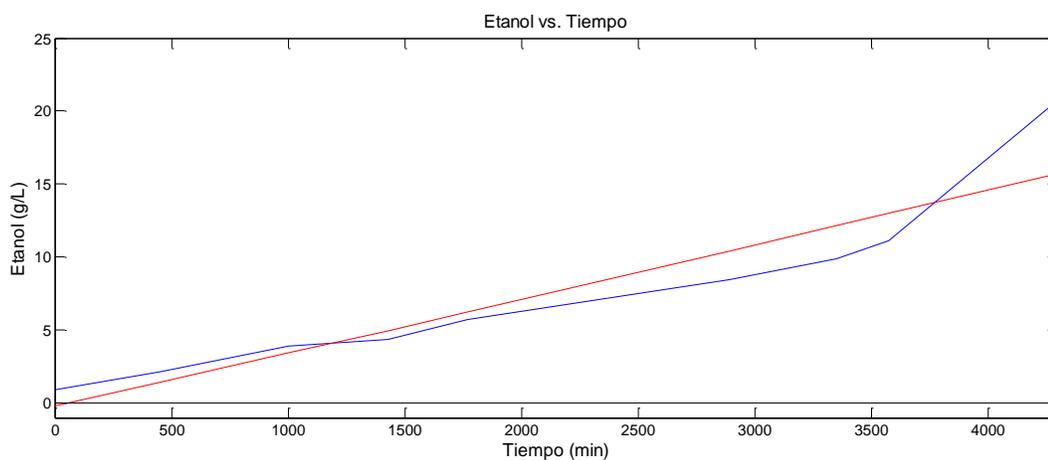


Figura 6.2.3.5 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.

En este caso, al igual que los citados anteriormente, el modelo obtenido no se ajusta perfectamente a la curva, a pesar que se trabaja con una ecuación exponencial; sin embargo, se obtiene un valor de  $R^2$  de 0.8682 que permite justificar que el modelo se acerca a la realidad.

Además, en este caso específico se obtiene al final una concentración aproximada de 20g/L de etanol.

#### 6.2.4. Cuarto Experimento

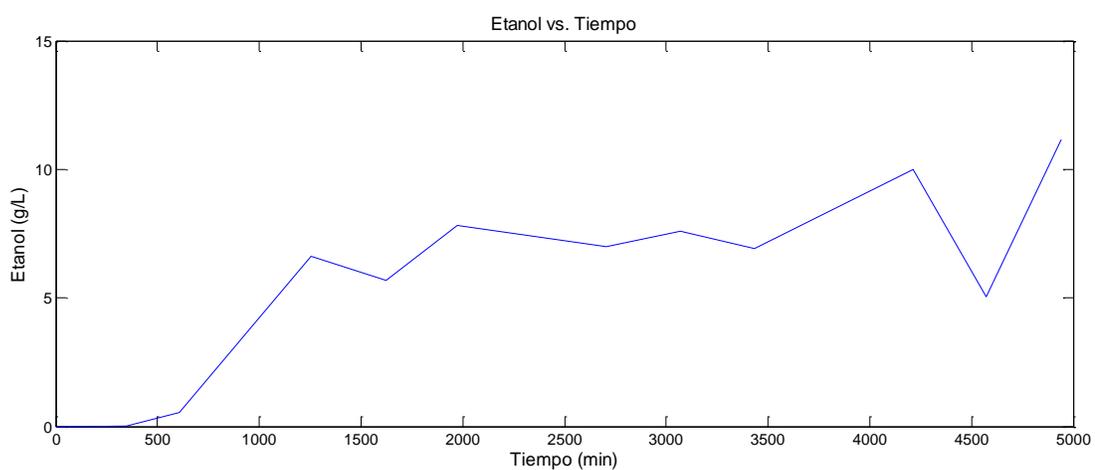


Figura 6.2.4.1 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4.

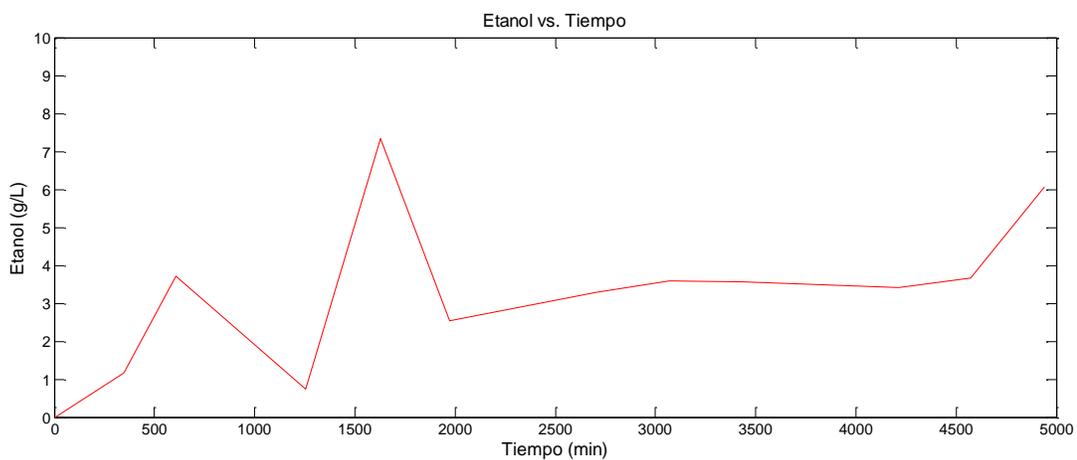


Figura 6.2.4.2 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.

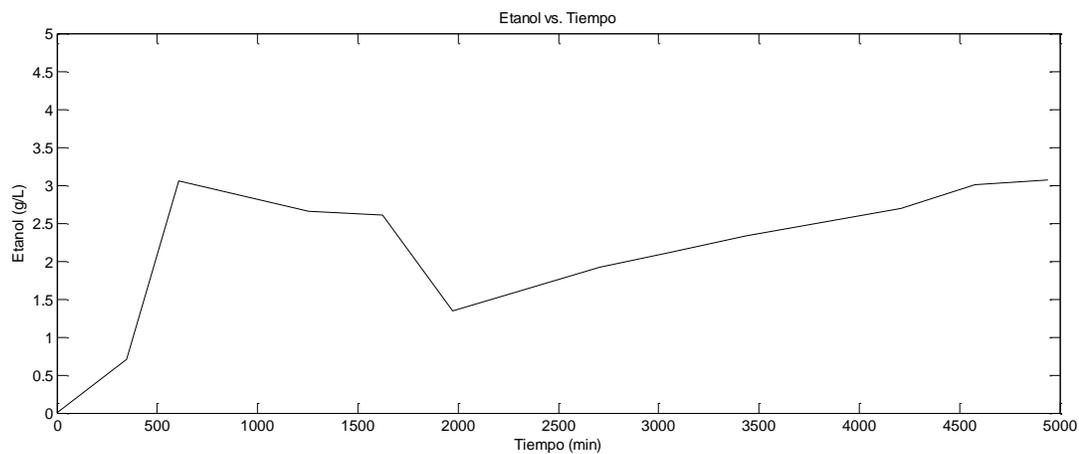


Figure 6.2.4.3 Gráfico de Etanol vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.

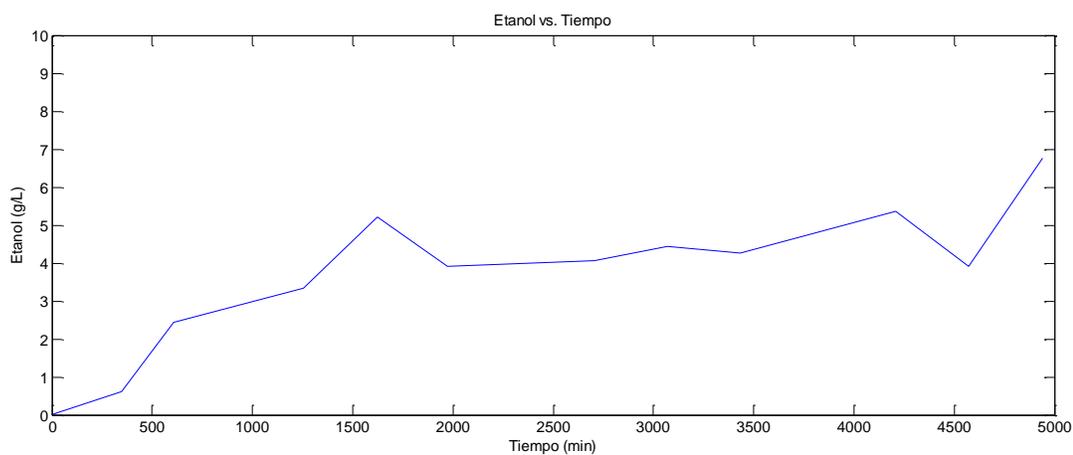


Figura 6.2.4.4 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.

Debido a la tendencia creciente de la curva, y al tratarse del mismo sistema y organismo a tratar, se realiza una aproximación exponencial en la que se obtiene como resultado la siguiente ecuación:

$$E = -107.829 + e^{4.694341+0.000496t}$$

Donde:

E= Concentración de etanol en g/L

t= Tiempo en horas

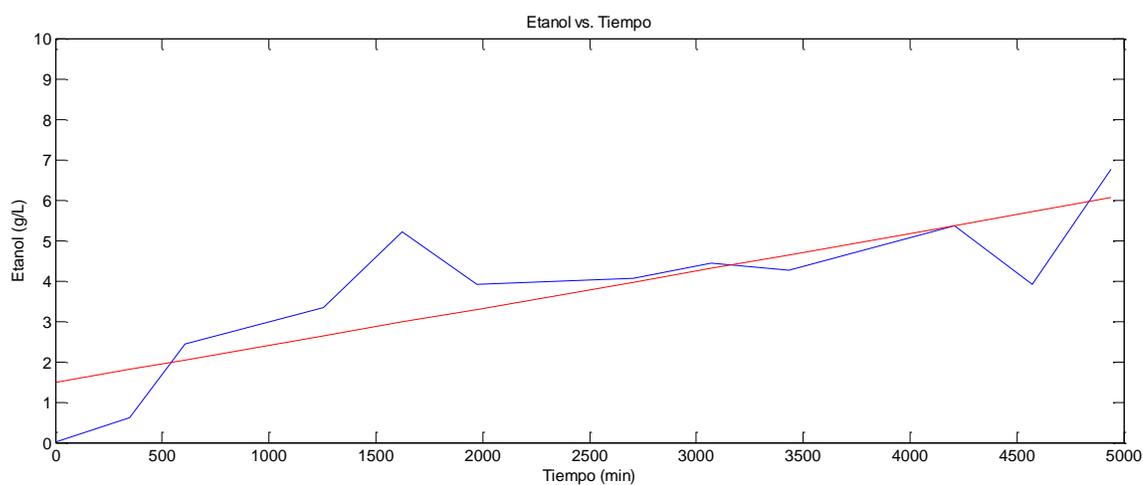


Figura 6.2.4.6 Gráfico de Etanol vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 4.

La ecuación planteada, al igual que las anteriores, no posee un ajuste perfecto a la curva ya que se presenta un valor de  $R^2$  de 0.6697. Se presenta un crecimiento bajo e intermitente de etanol, ya que al final se obtiene una concentración aproximada de 6g/L que es muy baja.

### 6.2.5. Análisis mediante el Método Taguchi

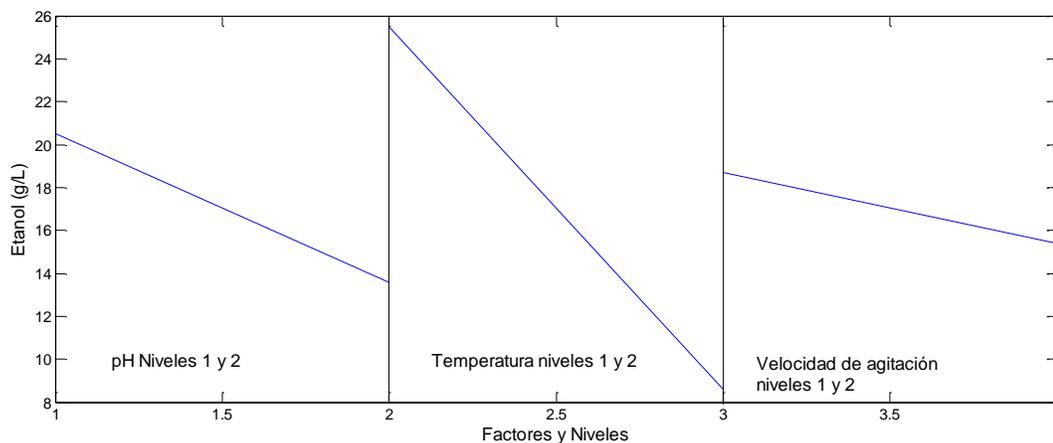


Figura 6.2.5.1 Gráfico de Rendimiento de Etanol con respecto a diferentes factores y niveles.

En el caso de la producción de etanol, se aspira obtener “Más grande mejor”, quiere decir que mientras mayor sea la concentración de etanol al final de un proceso, esto será lo más adecuado. Es evidente la importancia que se obtenga un rendimiento positivo, pero para lograrlo es necesario obtener una pendiente positiva en cada una de las rectas.

En el caso específico del factor pH, en el nivel más bajo se obtiene una concentración mayor.

La temperatura en este caso presenta una diferencia abismal entre los niveles que se trabajan ya que la pendiente de la recta es grande en comparación a las otras dos rectas que se están trabajando. Según la literatura, los efectos combinados de una alta temperatura y una creciente concentración de etanol, logran que las condiciones óptimas y máximas de temperatura contribuyan significativamente a que el crecimiento celular se vea disminuido, estos dos factores hacen que las membranas celulares se desnaturalicen y se inhiba el crecimiento celular.

Con respecto a la velocidad de agitación se obtienen los mismos resultados anteriores; esto es, que los niveles más bajos permiten que se produzca una cantidad mayor de etanol al final del proceso. Es importante mencionar que de acuerdo a la volatilidad del etanol, una velocidad de agitación es perjudicial ya que se motiva a la evaporación del mismo, de la misma manera que si se combinan estos dos factores (temperatura y velocidad de agitación) desde el punto de vista físico, se va a contribuir a la pérdida de este compuesto al incrementar ambos niveles de funcionamiento.

Una vez realizado el análisis estadístico de la varianza, con un nivel de significancia del 5%, es posible determinar que se rechaza la hipótesis nula

de igualdad de medias, que indica diferencias significativas en los experimentos. En este caso fundamental se deben analizar más factores que permitan determinar cuál de los tratamientos recibidos fue el más adecuado; es decir, el que permite que se obtenga una concentración de etanol mayor al final del experimento.

### **6.3. Análisis en base a la Producción de Biomasa**

En el análisis de biomasa existen dos análisis fundamentales a realizar. El primer análisis en base al cambio que realice la concentración de la misma en las diferentes condiciones que se han planteado en el experimento, de tal manera que pueda obtenerse al final un arreglo que permita optimizar la misma; cabe recalcar que en el primer análisis a realizar no se va a incluir una curva que se ajuste a la recta ya que esto corresponde a la parte posterior del mismo. El segundo análisis a realizar es en base a la ecuación de crecimiento microbiano descrita en el capítulo 2, la ecuación de Monod, esta ecuación posee dos coeficientes fundamentales para el proceso que permiten escalar de manera industrial el proceso.

### 6.3.1. Análisis de concentraciones

#### 6.3.1.1. Primer Experimento

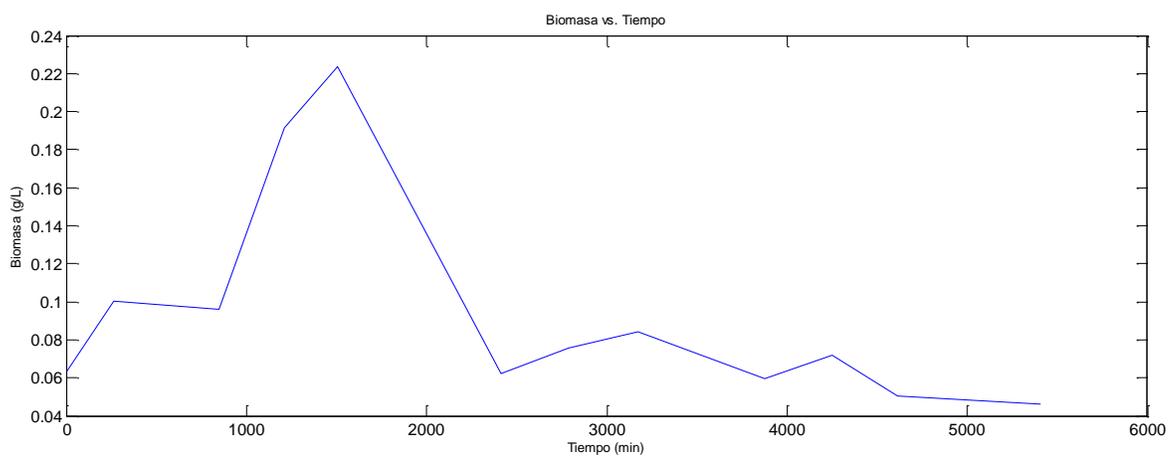


Figura 6.3.1.1.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.

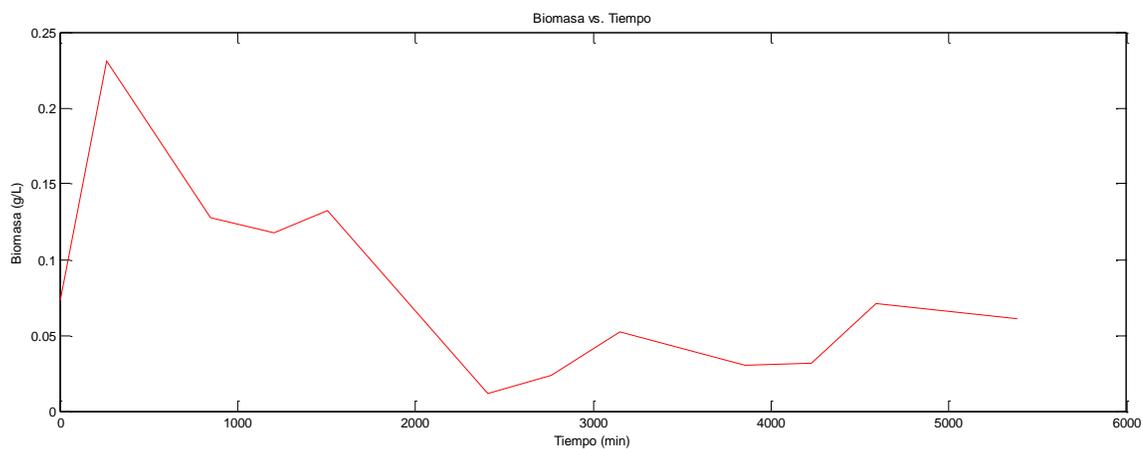


Figura 6.3.1.1.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.

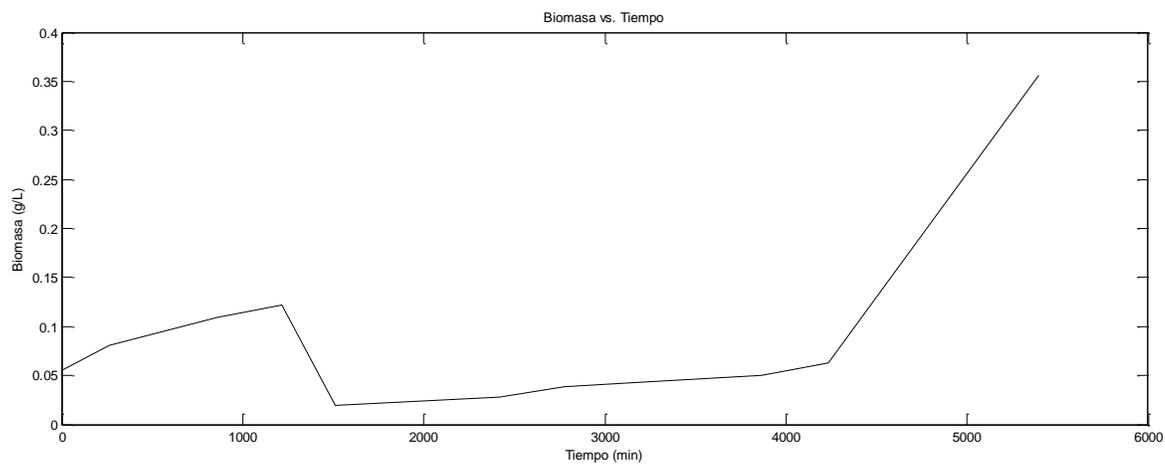


Figura 6.3.1.1.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.

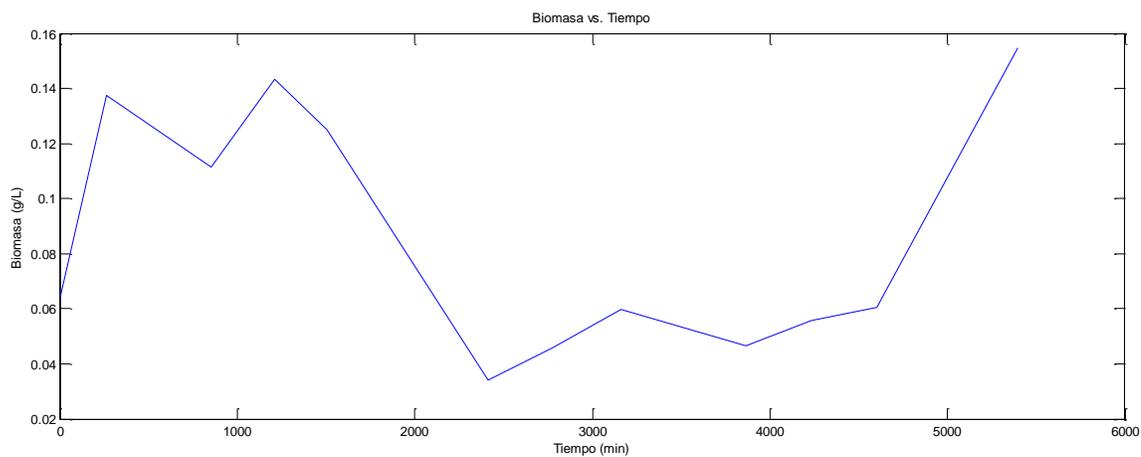


Figura 6.3.1.1.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.

En el caso del primero experimento, la biomasa se incrementó en un 140% aproximadamente desde el valor inicial que se establece.

### 6.3.1.2. Segundo Experimento

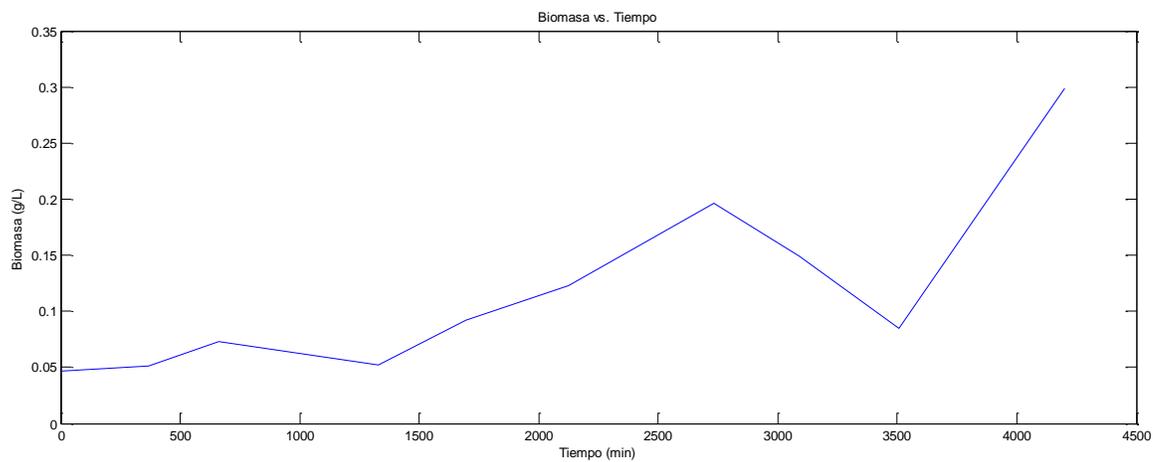


Figura 6.3.1.2.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.

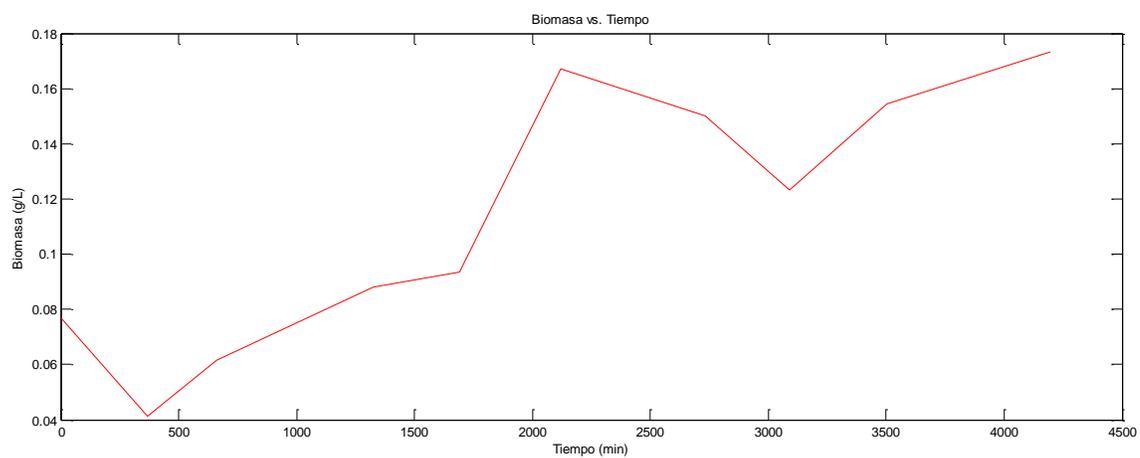


Figura 6.3.1.2.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.

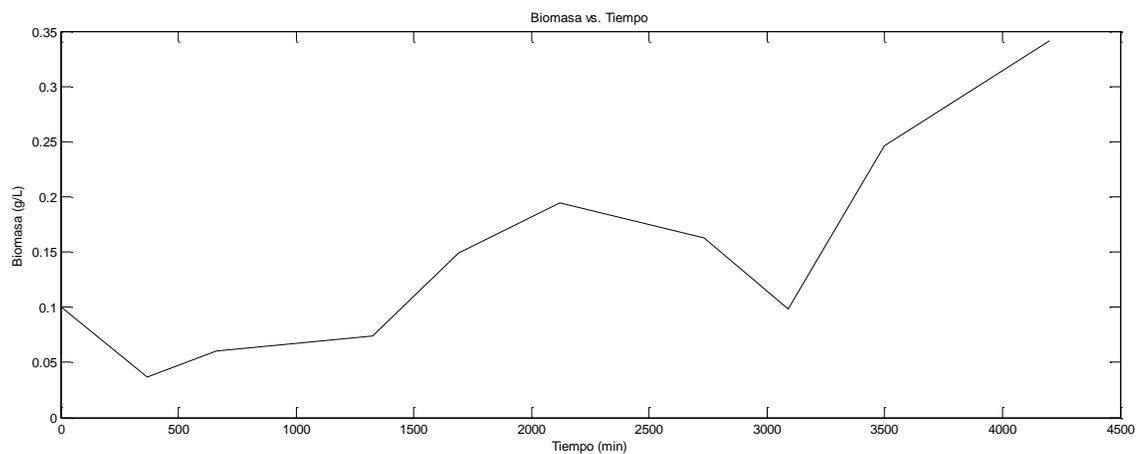


Figura 6.3.1.2.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.

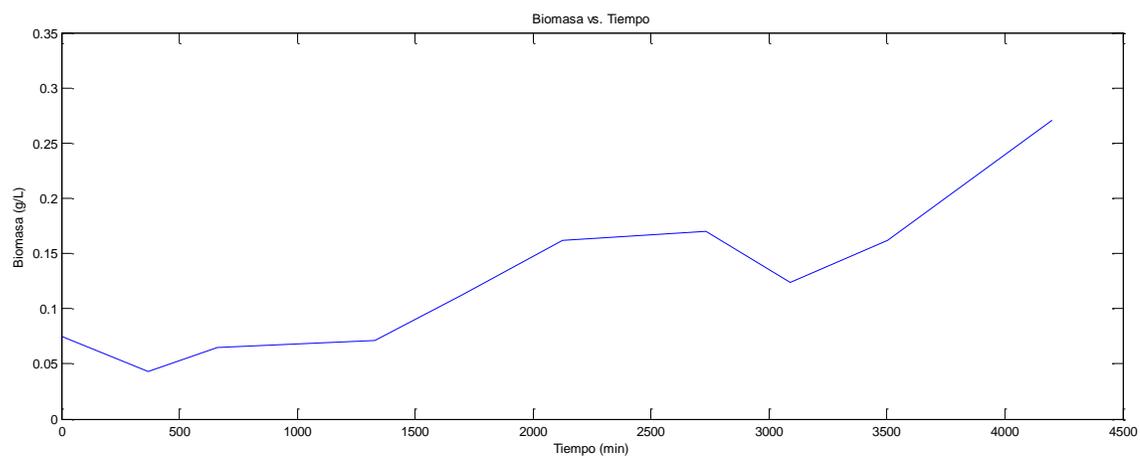


Figura 6.3.1.2.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.

El crecimiento de la biomasa es evidente en este experimento, se ve reflejado al haber incrementado un 260%.

### 6.3.1.3. Tercer Experimento

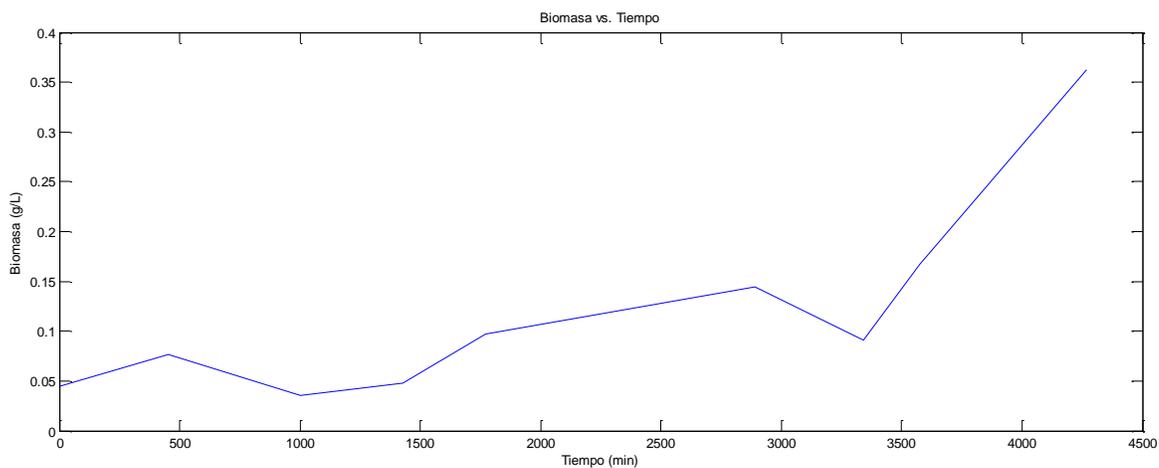


Figura 6.3.1.3.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.

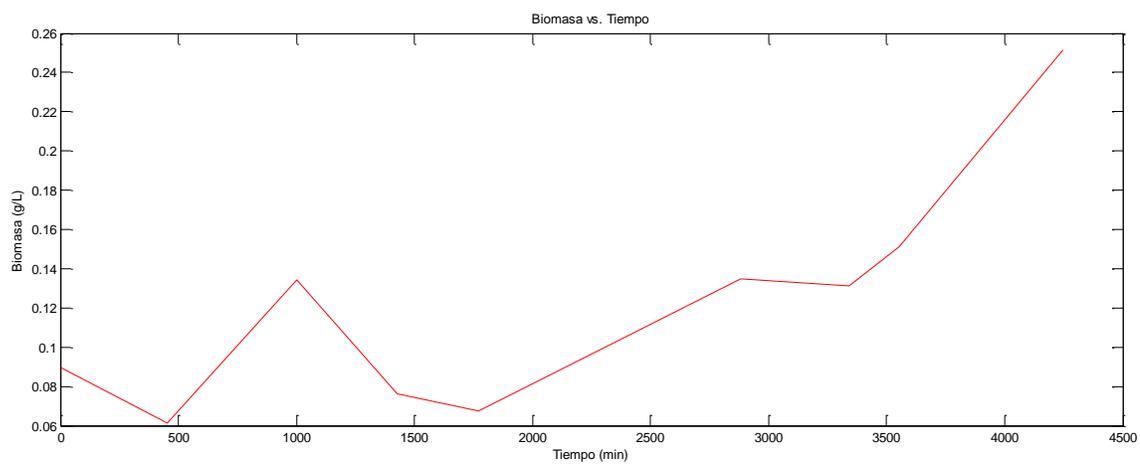


Figura 6.3.1.3.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.

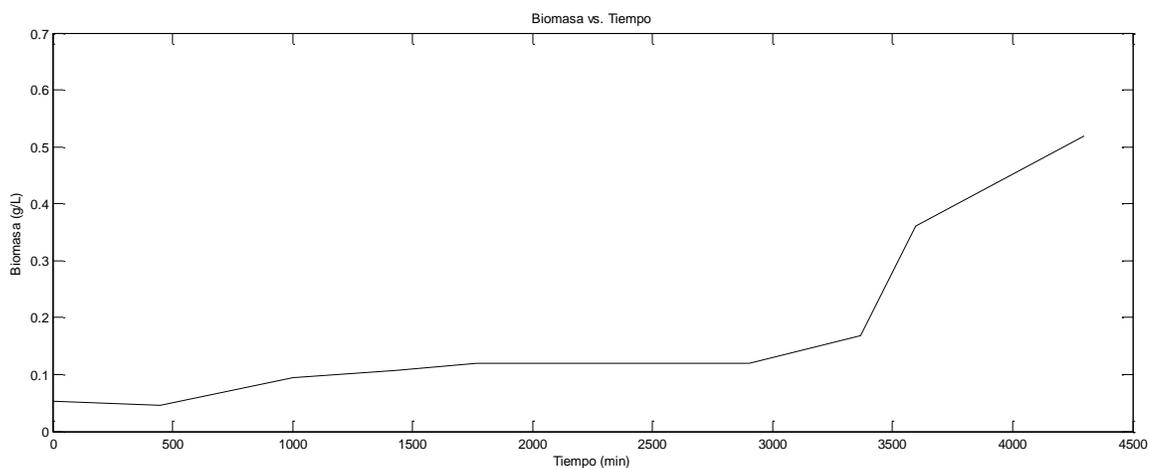


Figura 6.3.1.3.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.

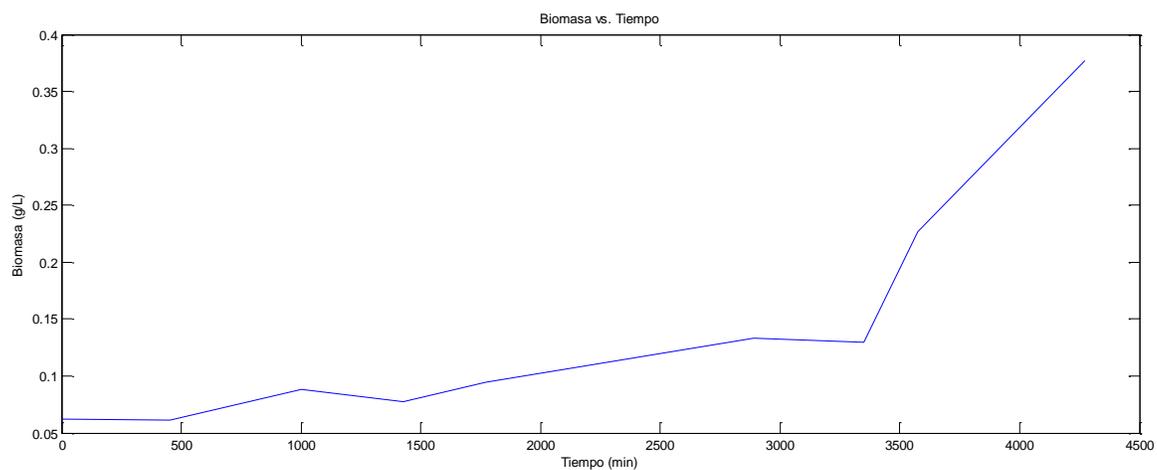


Figura 6.3.1.3.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.

El incremento de biomasa es evidente de manera gráfica, en el presente experimento presentó un incremento aproximado del 500%.

### 6.3.1.4. Cuarto Experimento

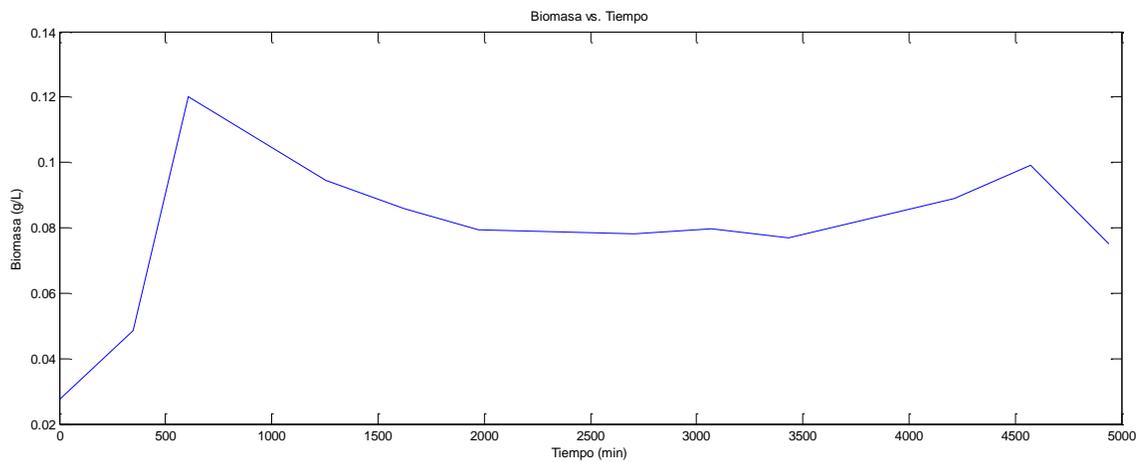


Figura 6.3.1.4.1 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.

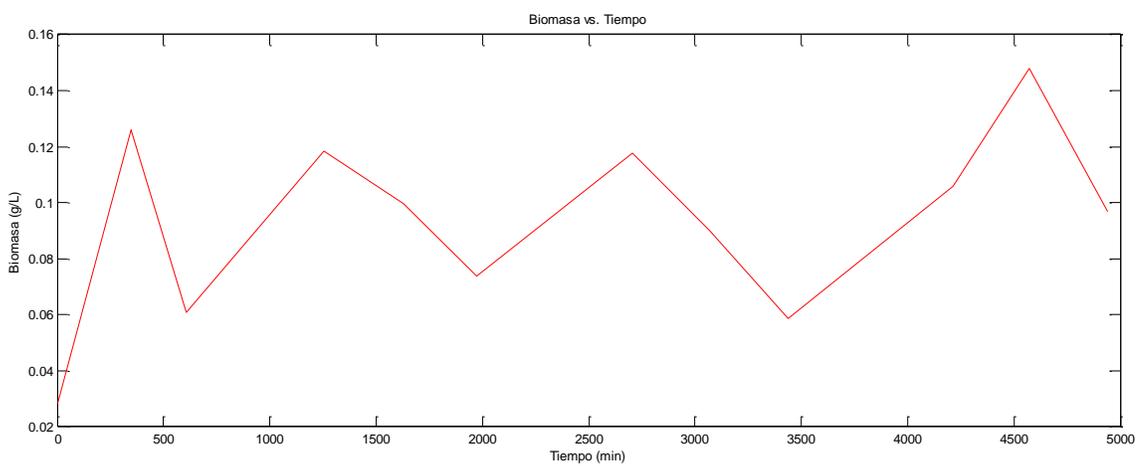


Figura 6.3.1.4.2 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.

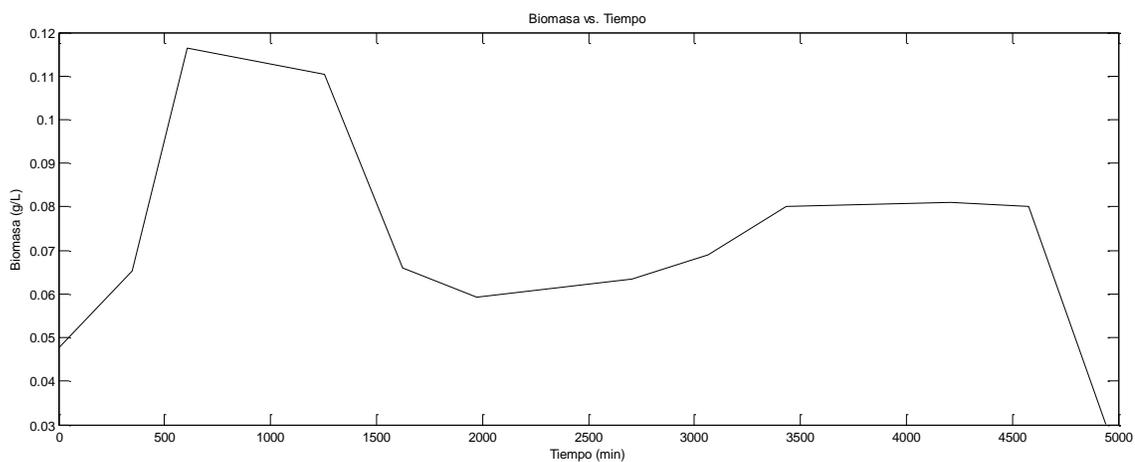


Figura 6.3.1.4.3 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.

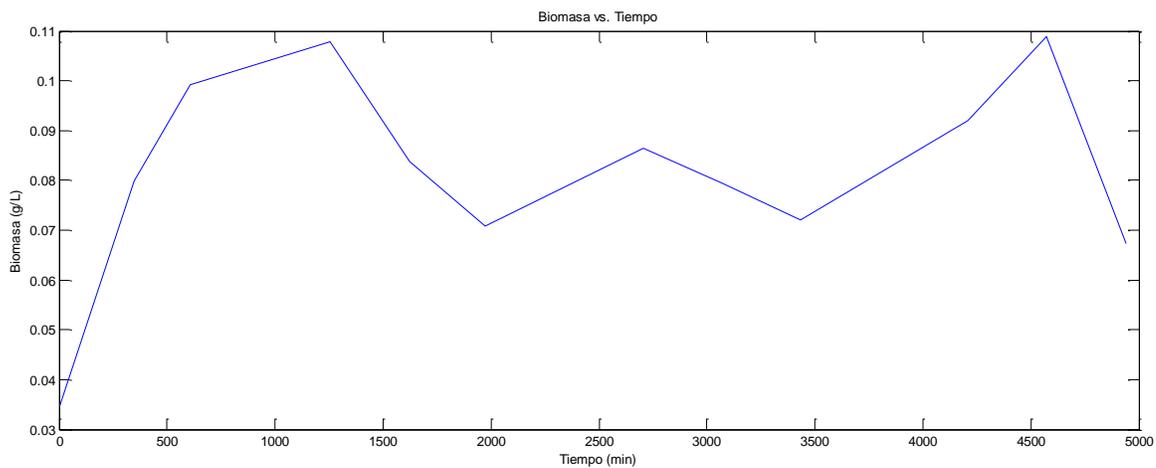


Figura 6.3.1.4.4 Gráfico de Biomasa vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.

En este experimento, el crecimiento de biomasa pasó por varias etapas de crecimiento y decrecimiento, al final tuvo un aumento del 94% del

valor original que es representativo pero no en la magnitud que lo han sido en los otros experimentos.

### 6.3.1.5. Análisis mediante el Método Taguchi

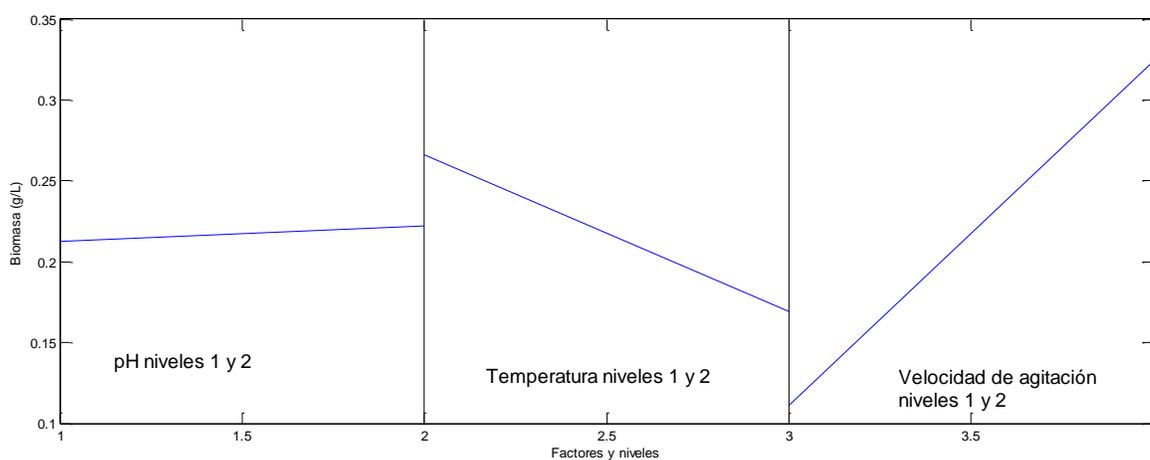


Figura 6.3.1.5.1 Gráfico de Rendimiento de Biomasa con respecto a diferentes factores y niveles.

El estudio y manejo de biomasa tiene resultados relativos a lo que se desea buscar, el objetivo de la presente tesis es mejorar la calidad de las aguas de desecho y obtener etanol como fuente alternativa de energía; sin embargo, un agua de desecho con mejor calidad tiene un bajo contenido de biomasa, mientras que un tratamiento que posea una baja

concentración de biomasa va a dar como resultado una baja producción de etanol como producto final.

Es importante aclarar que es lo que se busca, que es obtener etanol, para obtenerlo y extraerlo es imprescindible realizar una extracción mediante un medio físico (Destilación), por lo que el subproducto de esta separación, denominado vinaza tiene que ser nuevamente tratado para su disposición final, las vinazas si bien es cierto, poseen un alto contenido de nutrientes y sirven como fertilizantes naturales para los suelos; por lo tanto, en el caso específico de la presente tesis, se procura incrementar la concentración final de etanol, de tal manera que se busca tener una concentración más elevada de biomasa al final ya que estos dos factores van de la mano.

Empleando la nomenclatura de la metodología Taguchi, se desea obtener “Más grande es mejor”.

El pH es un factor que en este caso específico no afecta de manera elevada al proceso, la pendiente de la recta de rendimientos no es muy elevada, por lo que la transición entre uno u otro nivel no es abrupta;

sin embargo, debe considerarse que un nivel más alto permite que la biomasa se reproduzca más rápido, lo que es beneficioso para el sistema en general.

La temperatura es un factor crítico en este aspecto, el cambio en uno de los niveles produce un cambio abismal en los resultados. Es imprescindible que se considere el nivel más bajo de temperatura seleccionado para garantizar un correcto desarrollo de los microorganismos.

La velocidad de agitación representa un factor aún más crítico en base a la producción de biomasa, es necesario que se opte por el nivel más alto de la misma para garantizar de ese modo el rendimiento adecuado del proceso, la literatura sin embargo indica que a velocidades altas de agitación se producen esfuerzos cortantes en las paredes celulares que limitan el crecimiento de la misma.

Con respecto al análisis estadístico de la varianza, se concluye que no se rechazan la hipótesis nula de igualdad de medias, es decir que no hay

diferencias significativas entre los experimentos. El análisis se realizó con un nivel de significancia del 5%.

### **6.3.2. Análisis de Crecimiento Celular**

El crecimiento celular, o el crecimiento de biomasa es modelado mediante la ecuación de Monod estudiada en el Capítulo 2 de la presente investigación.

En este análisis se procura obtener los parámetros de tasa máxima de crecimiento específico, y la constante de saturación. Estos valores pueden ser difícilmente comparados con la bibliografía ya que se carece de valores comparativos que representen el mismo sistema que se está analizando.

Debe considerarse que hay casos en los que la ANOVA rechaza la igualdad de medias por lo que los experimentos tienen diferencias significantes entre ellos, por lo que los datos serán analizados independientemente. Todos los cálculos son realizados con un nivel de significancia del 95%.

### 6.3.2.1. Primer experimento

Tabla VI: Valores obtenidos de  $K_S$  y  $\mu_m$  en el Experimento 1.

Reactor	$K_S$ (días <sup>-1</sup> )	$\mu_m$
1	-7.2484	2.34
2	-750906	807568
3	-1067662.4	763409

En el primer experimento se evidencian dos aspectos, que a pesar de que existe la igualdad de medias y en el cálculo realizado mediante un software, los resultados no muestran congruencia entre sí. Además el valor obtenido para  $K_S$  en el primer reactor así como los parámetros calculados en el segundo y tercero tampoco son válidos ya que el valor p es menor que el nivel de significancia escogido.

Los resultados en los dos reactores no presentan convergencia.

### 6.3.2.2. Segundo Experimento

Tabla VII: Valores obtenidos de  $K_S$  y  $\mu_m$  en el Experimento 2.

Reactor	$K_S$ (días <sup>-1</sup> )	$\mu_m$
1	-4.11121	0.20978
2	-4.0293	0.14325
3	-4.20988	0.12811

En este experimento se evidencia lo mismo que en el anterior, los resultados obtenidos en el segundo y tercer reactor son descartados por no cumplir con el nivel de significancia, y la constante de saturación del primero reactor tampoco puede ser aceptada.

### 6.3.2.3. Tercer Experimento

Tabla VIII: Valores obtenidos de  $K_S$  y  $\mu_m$  en el Experimento 3.

Reactor	$K_S$ (días <sup>-1</sup> )	$\mu_m$
1	-3.86349	0.24479
2	-3.72725	0.18687
3	-4.16345	0.25796

En este caso particular, ninguno de los datos puede ser aceptado ya su valor p está por debajo del nivel de confianza establecido.

#### 6.3.2.4. Cuarto Experimento

Tabla IX: Valores obtenidos de  $K_S$  y  $\mu_m$  en el Experimento 4.

Reactor	$K_S$ (días <sup>-1</sup> )	$\mu_m$
1	-3.97119	0.24699
2	-5.35406	0.73317
3	-5.54197	0.65164

Los resultados obtenidos se presentan de manera contraria a los anteriores, ya que los dos últimos valores de  $\mu_m$  son aceptados, mientras que en todos los valores de  $K_S$  no son aceptados ya que presentan un signo negativo.

#### 6.4. Análisis del Carbono Orgánico Total

El Carbono Orgánico Total es una medida directa de la concentración de componentes orgánicos presentes en una muestra. Este tipo de pruebas

reemplazan los análisis de DBO ya que están directamente relacionados con la actividad biológica que sucede en una solución.

La medida del TOC, va directamente de la mano con la concentración de Biomasa, ya que esta es el componente orgánico mayoritario que va a estar presente en el sistema.

#### 6.4.1. Primer Experimento

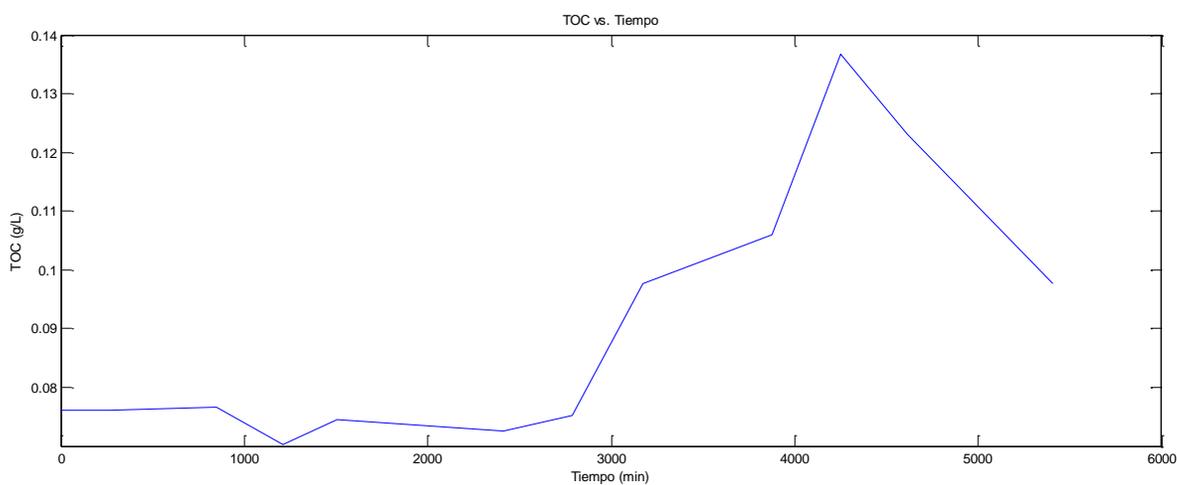


Figura 6.4.1.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 1.

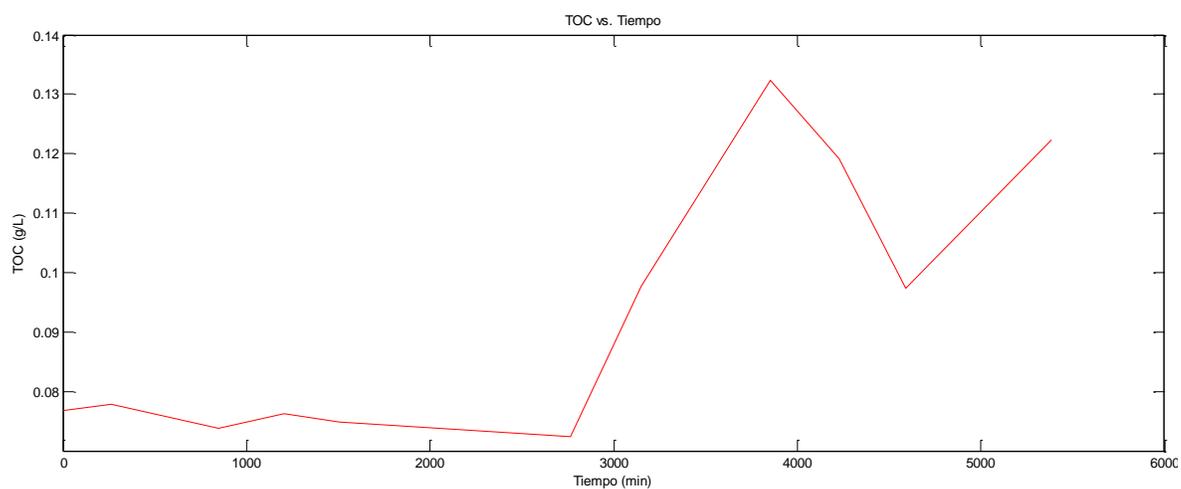


Figura 6.4.1.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 1.

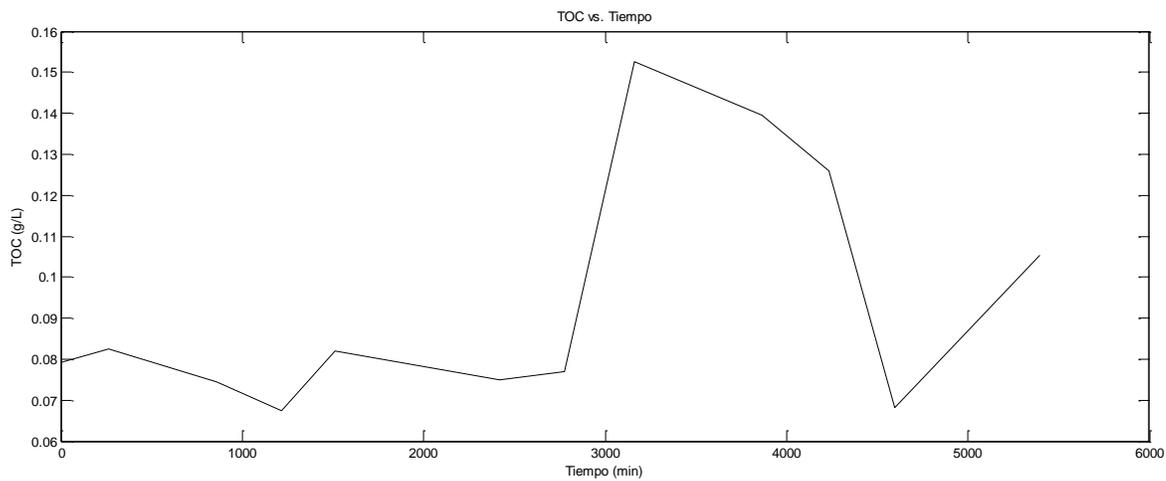


Figura 6.4.1.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 1.

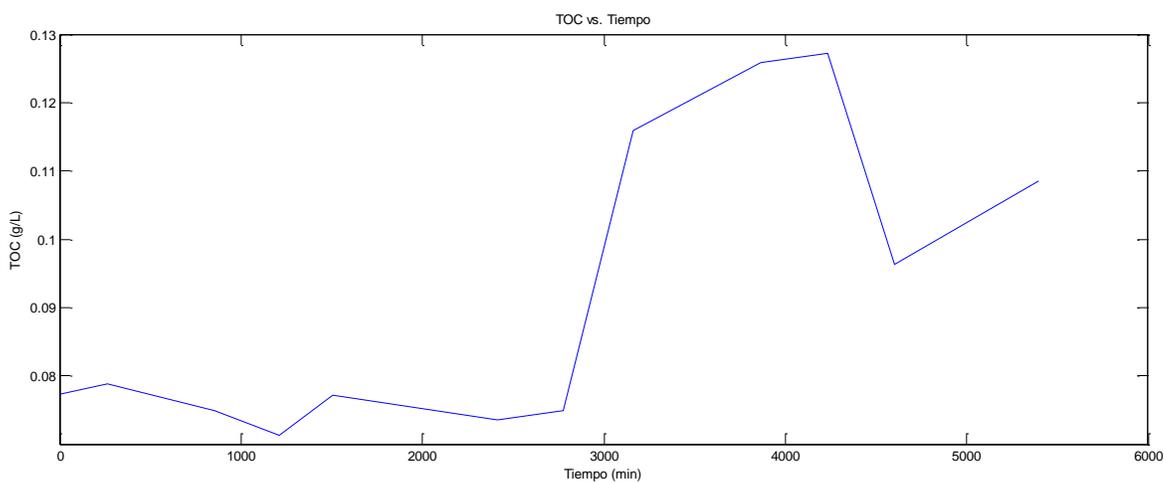


Figura 6.4.1.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 1.

El modelo de crecimiento de la gráfica no corresponde a una forma específica, por lo que se obtuvo mediante una estimación no lineal, realizando una regresión lineal por tramos empleando el software STATISTICA 7 para tal propósito.

El primero tramo es del tiempo 0 hasta los 3161 y el segundo tramo va desde este punto hasta el final. Cabe recalcar que los cálculos se realizaron con el tiempo en horas.

La forma de la ecuación es:

$$TOC = \beta_0 + \beta_1 t$$

• Primer tramo:

$$\beta_0 = 0.77017$$

$$\beta_1 = -0.000075$$

• Segundo tramo

$$\beta_0 = 0.144706$$

$$\beta_1 = -0.000422$$

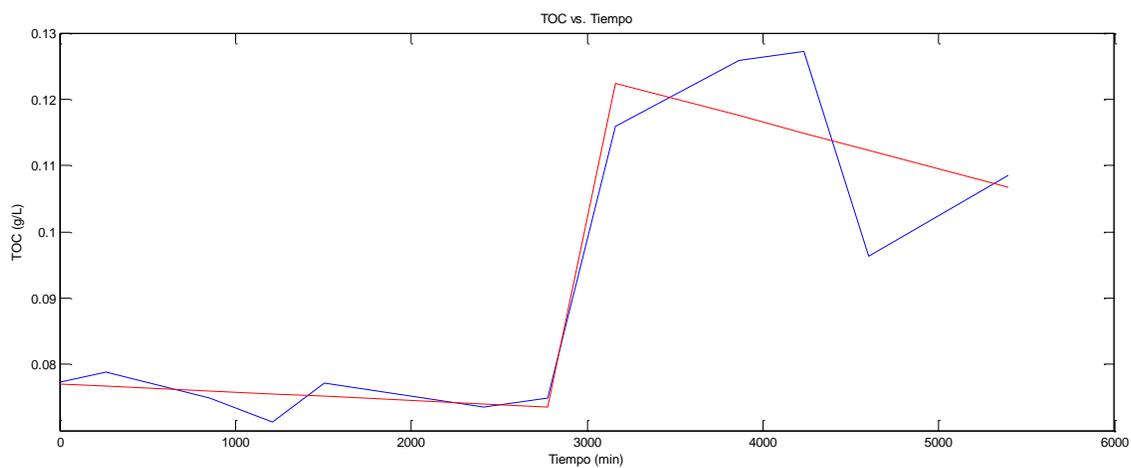


Figura 6.4.1.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados,

### Experimento 1

Las rectas definidas presentan un ajuste  $R^2$  de 0.8933 lo que significa un ajuste parcialmente adecuado a la recta, en un caso más específico se debe

escoger un mayor número de puntos de quiebre hasta definir más ecuaciones.

La concentración del TOC presenta un crecimiento del 40% desde su etapa inicial.

#### 6.4.2. Segundo Experimento

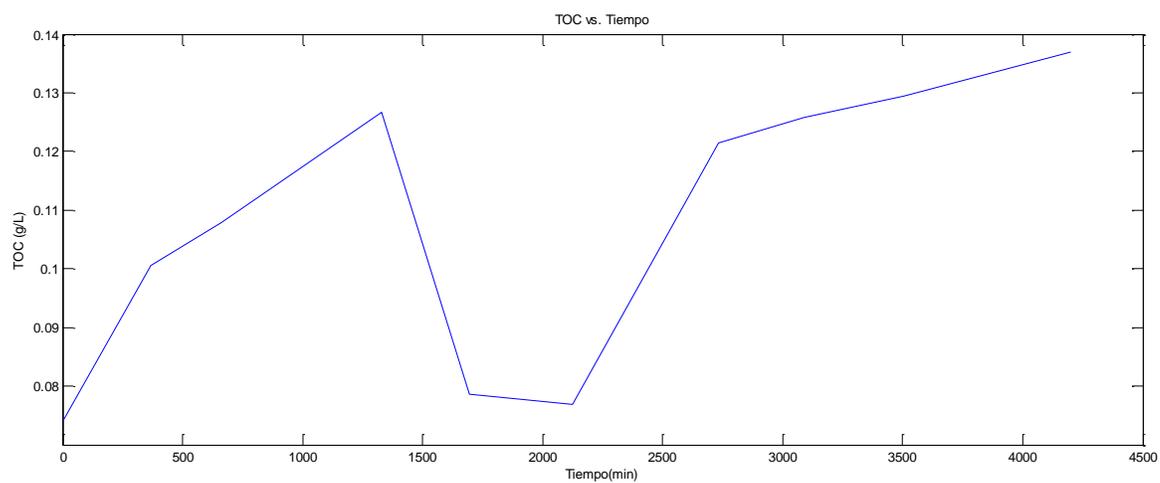


Figura 6.4.2.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 2.

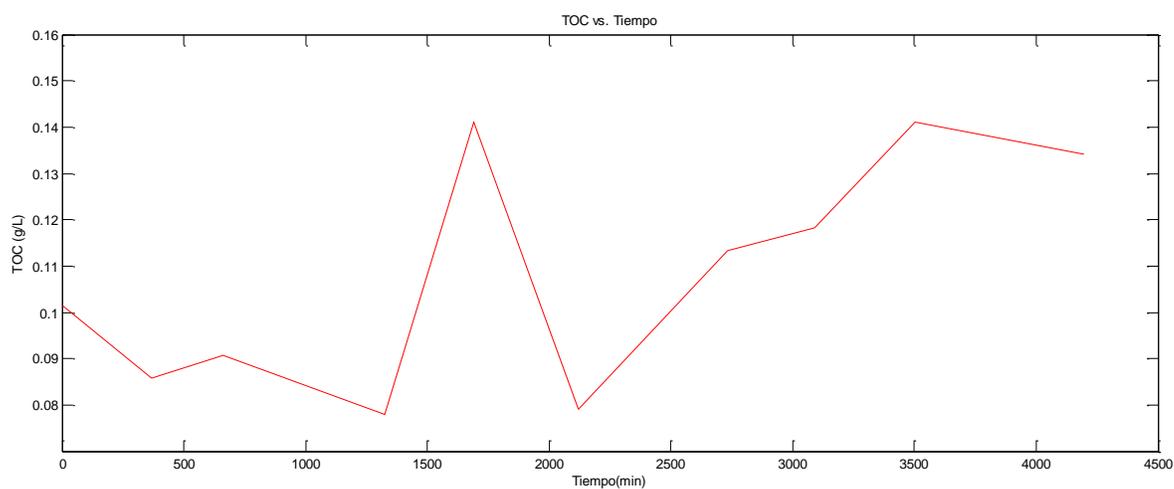


Figura 6.4.2.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 2.

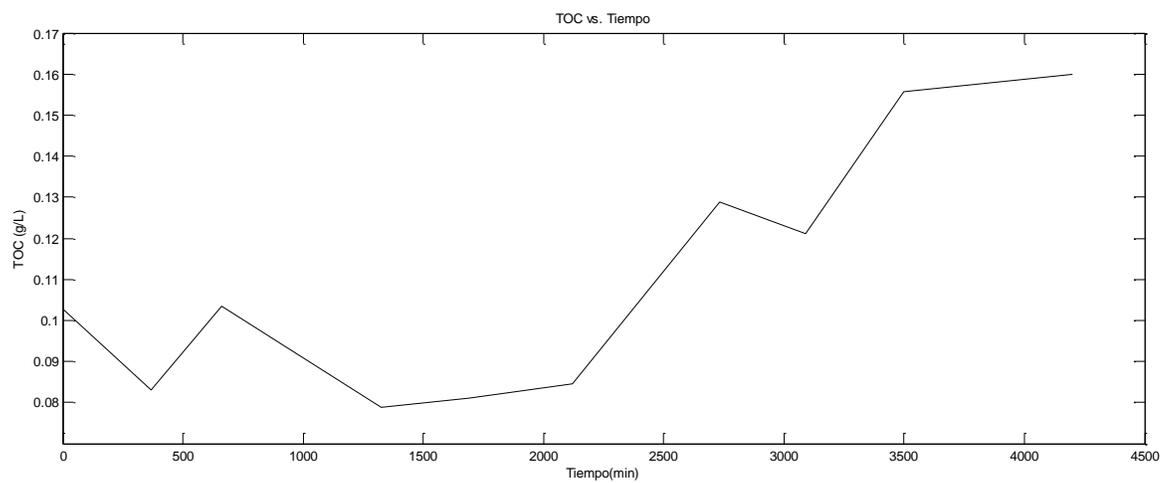


Figura 6.4.2.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 2.

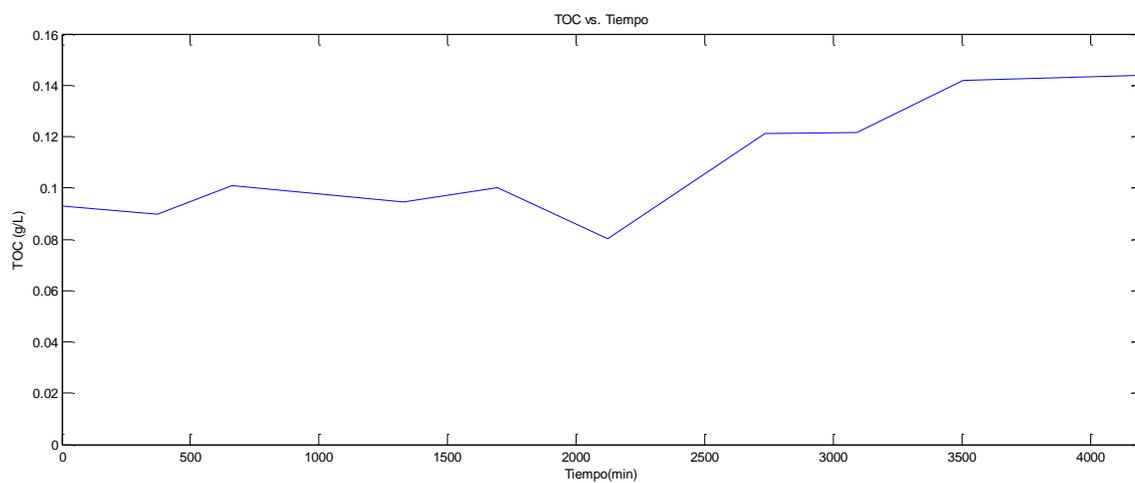


Figura 6.4.2.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 2.

El modelo de crecimiento del TOC se realiza mediante una regresión no lineal por partes, el tiempo se encuentra expresado en minutos, y el punto de quiebre es en el tiempo 2131 minutos.

$$TOC = \beta_0 + \beta_1 t$$

- Primer tramo:

$$\beta_0 = 0.0958772518787583$$

$$\beta_1 = -0.00000277768661618066$$

- Segundo tramo

$$\beta_0 = 0.0730789738413419$$

$$\beta_1 = 0.0000174778720642607$$

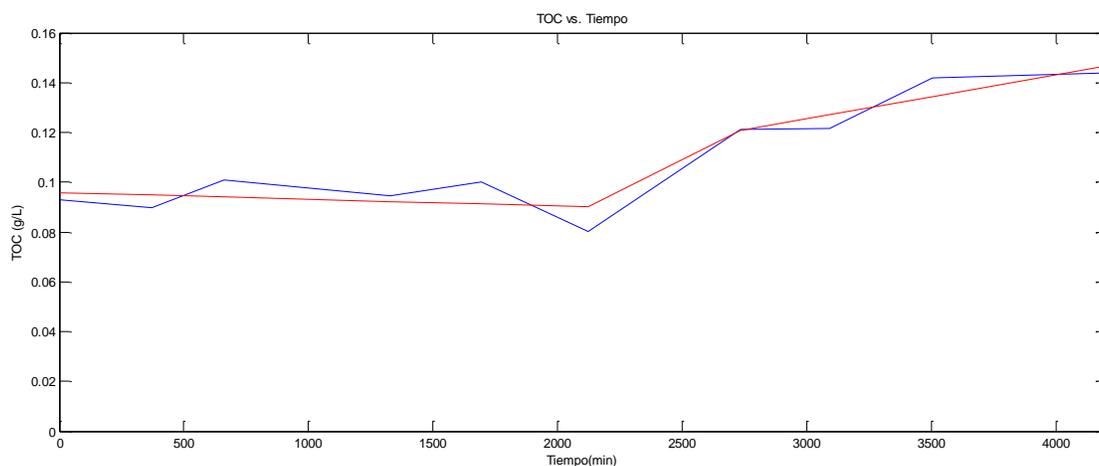


Figura 6.4.2.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 2.

Las ecuaciones definidas presentan un ajuste con valor  $R^2$  0.9185, no se ajusta completamente a la curva pero tiene un acercamiento significativo a la realidad. Desde el inicio hasta el final del proceso el TOC tuvo un crecimiento aproximado del 55%.

### 6.4.3. Tercer Experimento

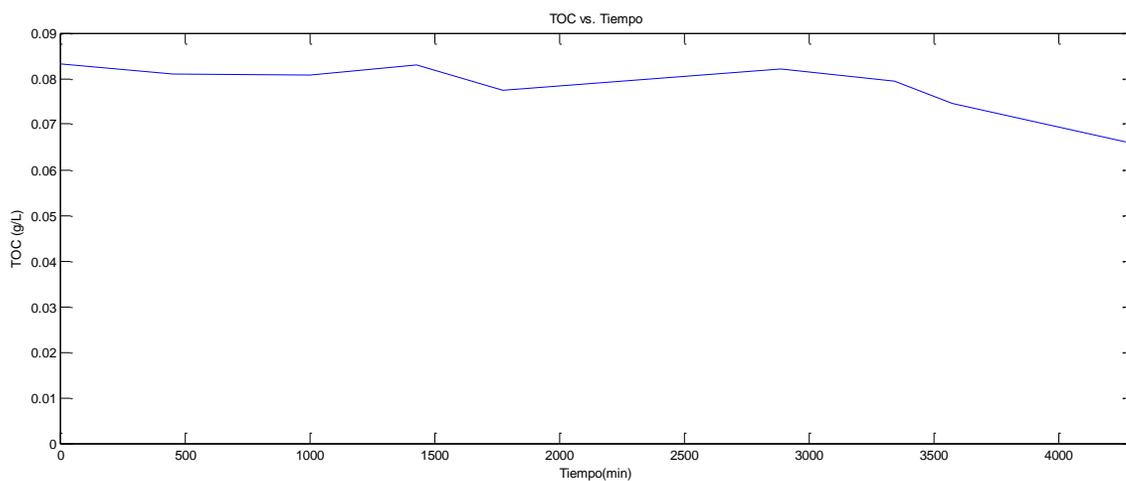


Figura 6.4.3.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 3.

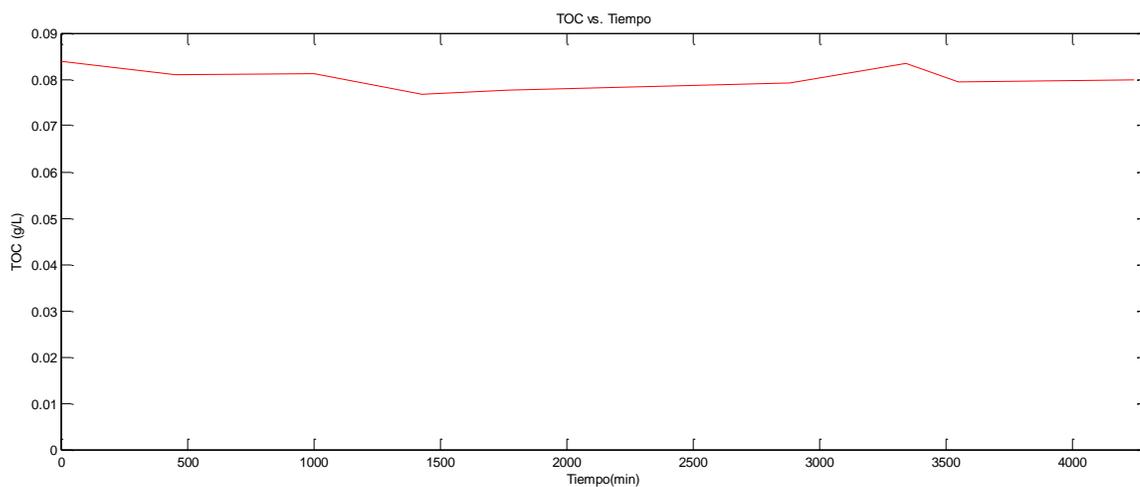


Figura 6.4.3.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 3.

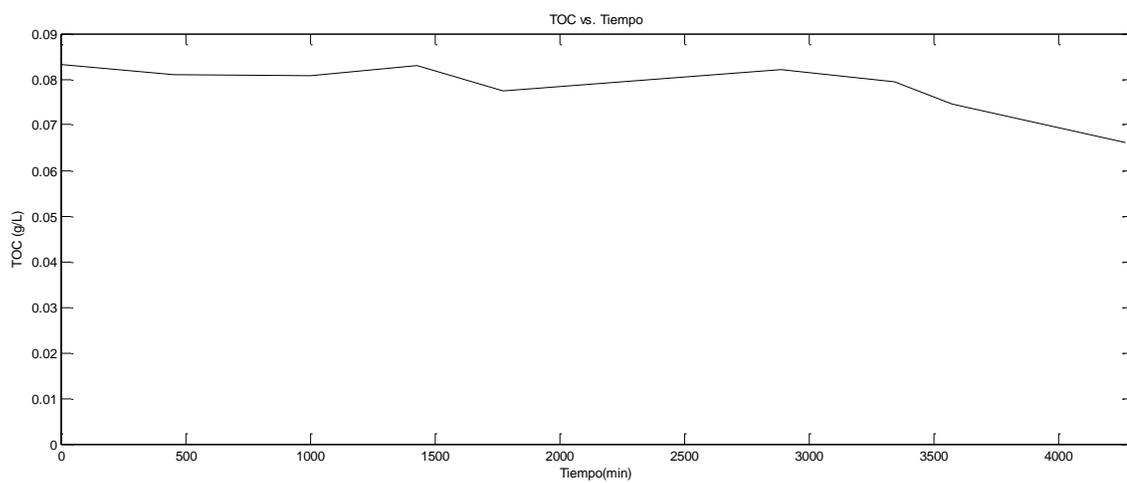


Figura 6.4.3.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 3.

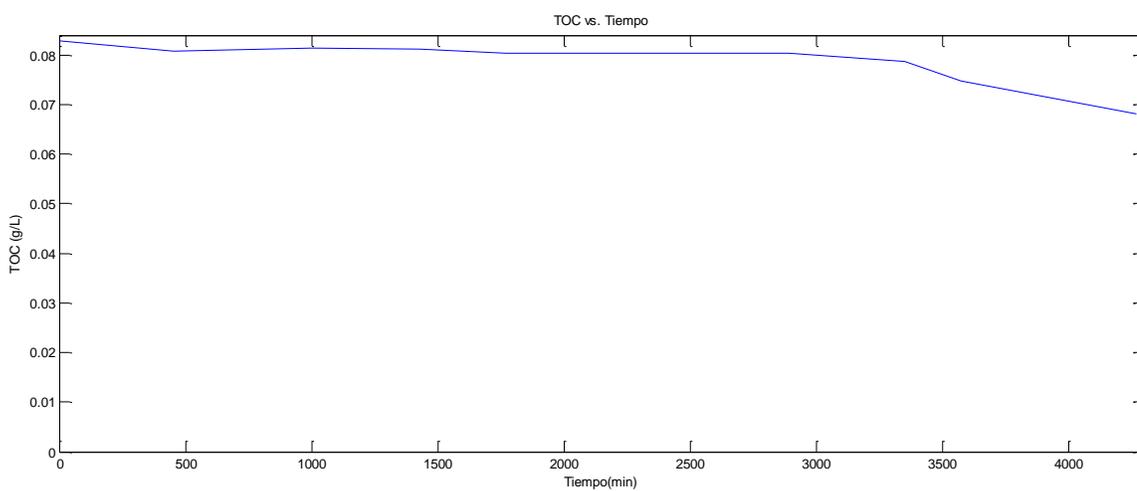


Figura 6.4.3.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 3.

Al realizar una regresión no lineal por partes, tomando el primer tramo desde el tiempo 0 a 2891 minutos, mientras que el segundo tramo está desde este punto al final del proceso.

$$TOC = \beta_0 + \beta_1 t$$

- Primer tramo:

$$\beta_0 = 0.0819706626055067$$

$$\beta_1 = -0.000000658075256447769$$

- Segundo tramo

$$\beta_0 = 0.11454266212544$$

$$\beta_1 = -0.0000108907238090251$$

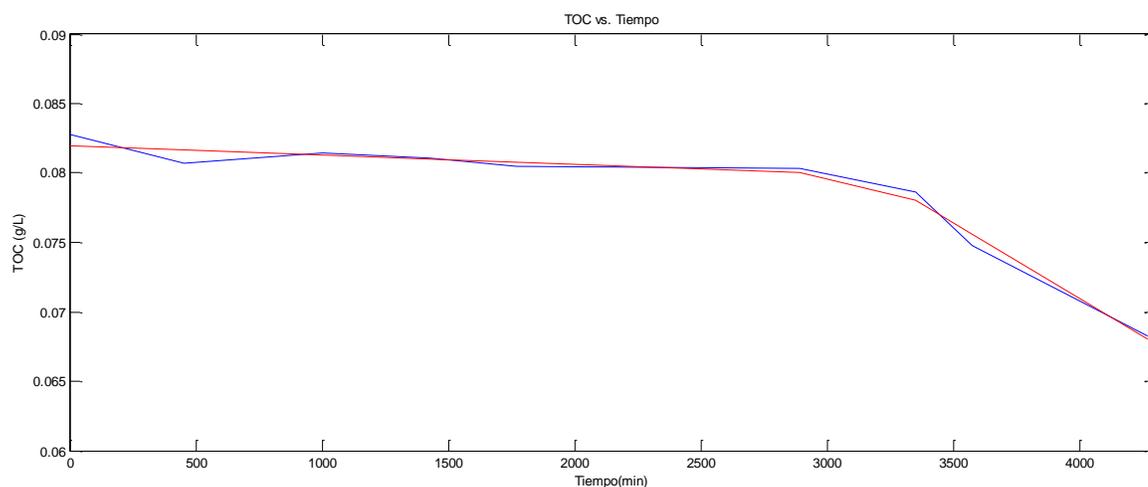


Figura 6.4.3.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 3.

La ecuación determinada se acerca de manera correcta a la curva determinada por el TOC, ya que se posee un valor de  $R^2$  de 0.9823. El TOC en este caso particular decrece aproximadamente en un 17% por lo que debe analizarse posteriormente este resultado en combinación con otros análisis realizados.

#### 6.4.4. Cuarto Experimento

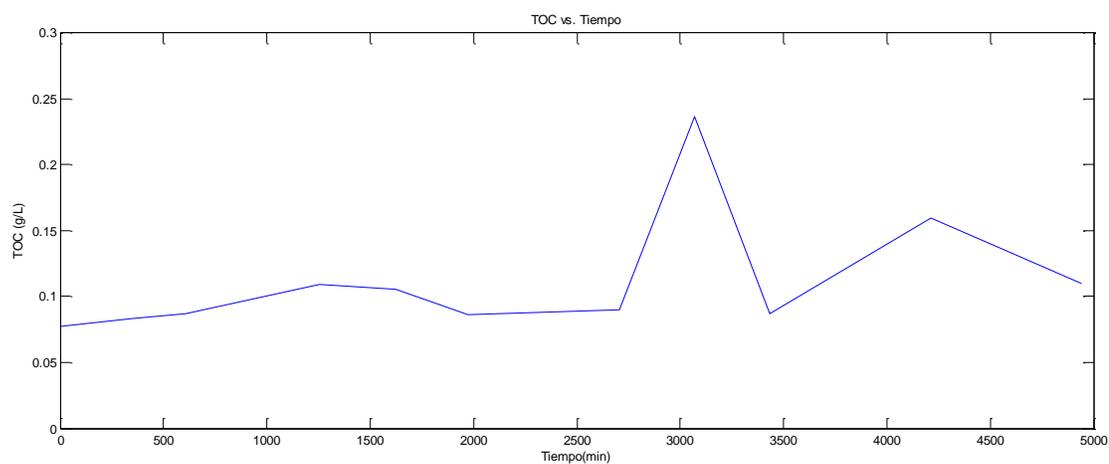


Figura 6.4.4.1 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 1, Experimento 4.

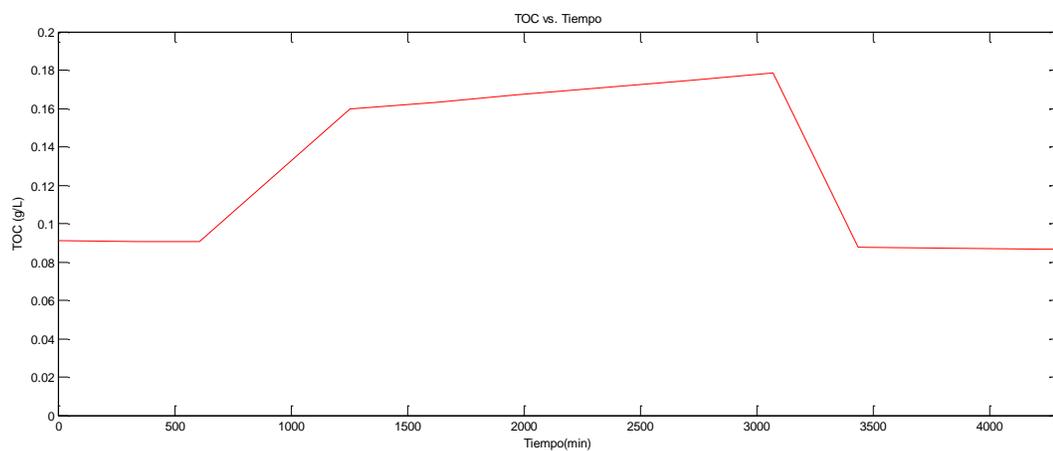


Figura 6.4.4.2 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 2, Experimento 4.

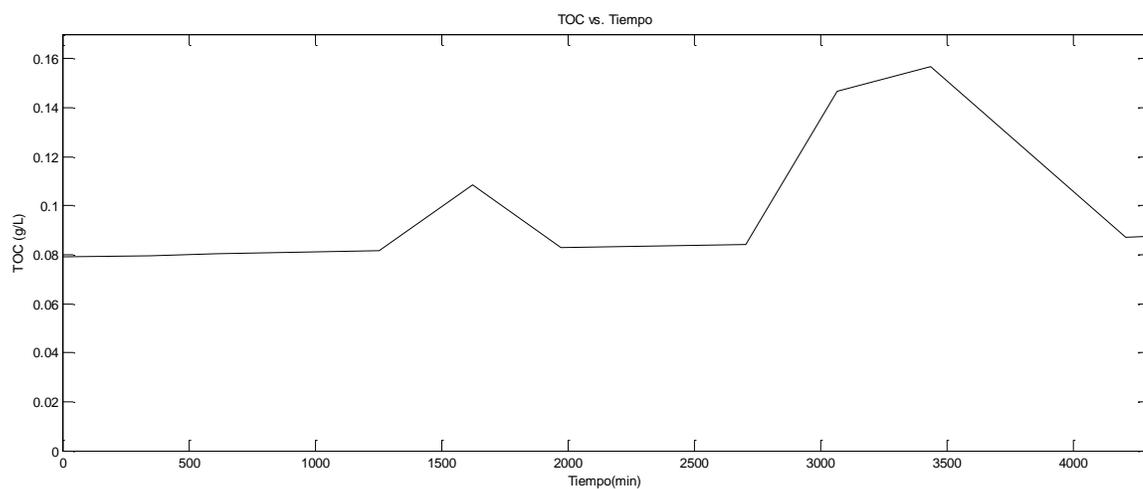


Figura 6.4.4.3 Gráfico de TOC vs. Tiempo en el Reactor 3, Experimento 4.

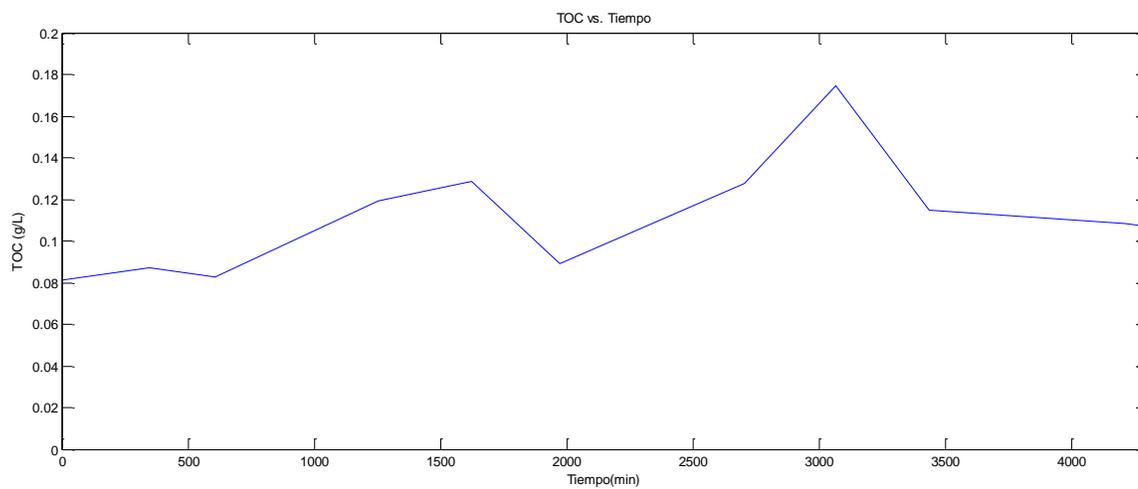


Figura 6.4.4.4 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Promedio, Experimento 4.

Al realizar una regresión no lineal por tramos, tomando en cuenta que el punto de quiebre es aquel que se encuentre más arriba del 0.109248 g/L de concentración en el TOC, se obtienen los siguientes parámetros, el tiempo se expresa en minutos:

$$TOC = \beta_0 + \beta_1 t$$

- Primer tramo:

$$\beta_0 = 0.0823679413764791$$

$$\beta_1 = 0.00000417422979517906$$

- Segundo tramo

$$\beta_0 = 0.114853149454096$$

$$\beta_1 = 0.00000749580207876112$$

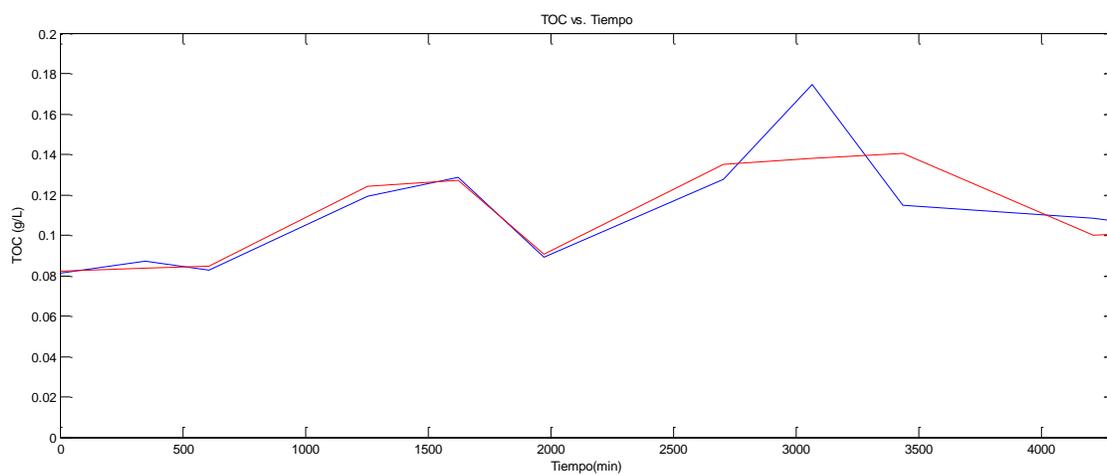


Figura 6.4.4.5 Gráfico de TOC vs. Tiempo, Datos experimentales y Datos estimados, Experimento 4.

El ajuste de la ecuación a la recta es de un valor  $R^2$  0.7099, no se ajusta de manera adecuada a la curva. En este caso particular, la concentración del TOC se incrementa en un 17% aproximadamente.

### 6.4.5. Análisis mediante el Método Taguchi

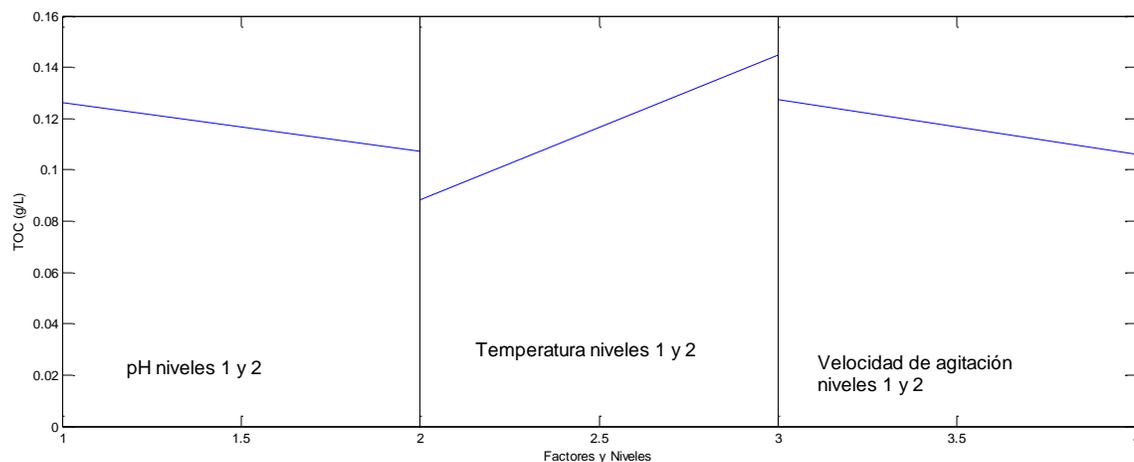


Figura 6.4.5.1 Gráfico de Rendimiento de TOC con respecto a diferentes factores y niveles.

Debido a que la medición de TOC es un valor referencial a la Biomasa, se pretende obtener lo mismo que se expresó en el análisis de Biomasa, incrementar una concentración de este valor para que se facilite la producción de etanol, por lo tanto se busca obtener “Más grande es mejor”.

De acuerdo a los niveles de pH, se deben optar por los niveles más bajos para lograr una concentración mayor, de la misma manera con la velocidad de agitación.

La temperatura afecta de manera contraria a los otros dos factores mencionados, Mientras mayor sea el nivel, mayor será la concentración de TOC obtenida al final del experimento.

Cabe recalcar que la transición entre un periodo y otro no es grande, puesto que las pendientes de las rectas obtenidas no son muy pronunciadas; sin embargo, se debe tomar en cuenta estos resultados para la toma final de decisiones.

Es complicado comparar la variabilidad del Carbono Orgánico Total con respecto a la bibliografía ya que no se encuentran artículos al respecto. Debe tomarse en cuenta además que este factor indica la presencia de contenido orgánico en una solución, por consiguiente depende directamente de él o los organismos que se hayan cultivado.

De acuerdo al análisis de varianza, se rechaza la hipótesis nula de igualdad de varianzas, por lo que los experimentos tienen gran variabilidad entre sí.

### **6.5. Análisis de Factores Online**

En el proceso de fermentación realizado, y en el diseño experimental se manejaron tres factores, el pH, la temperatura y la velocidad de agitación, estos dos últimos manteniéndose constantes durante todo el proceso. Fueron también realizadas mediciones de la concentración de Oxígeno Disuelto durante todo el proceso minuto a minuto, por lo que es importante analizar la variabilidad de los factores a lo largo del tiempo y su influencia en el producto obtenido.

### 6.5.1. Primer Experimento

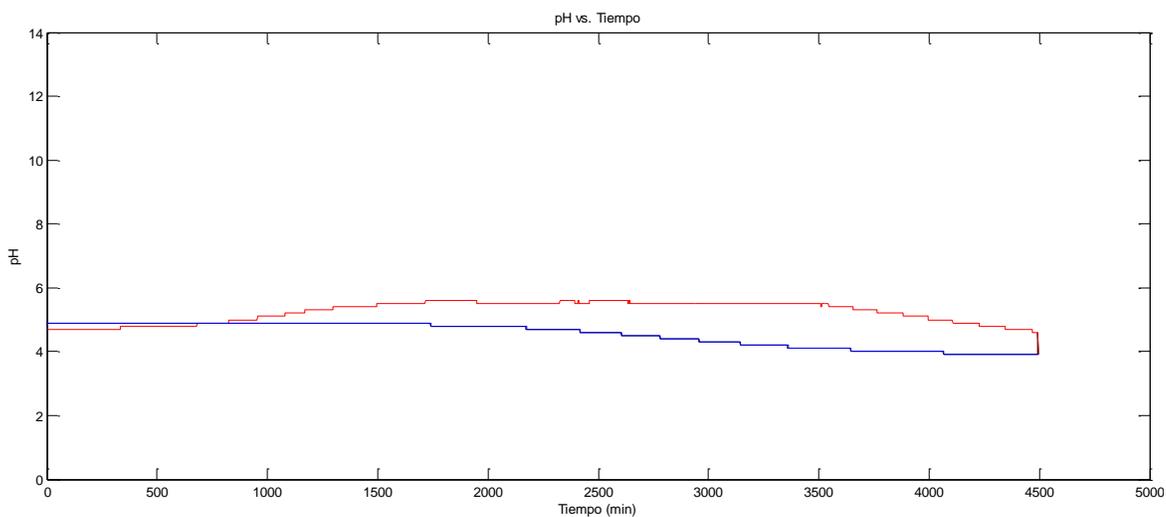


Figura 6.5.1.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 1.

El pH presenta un ligero cambio en su valor, hay crecimiento y decrecimiento pero el valor final se ve afectado de sobremanera ya que se reduce al final en un 18%. En este punto es donde se obtiene una más alta concentración de etanol y biomasa, mientras que se reduce al máximo la glucosa.

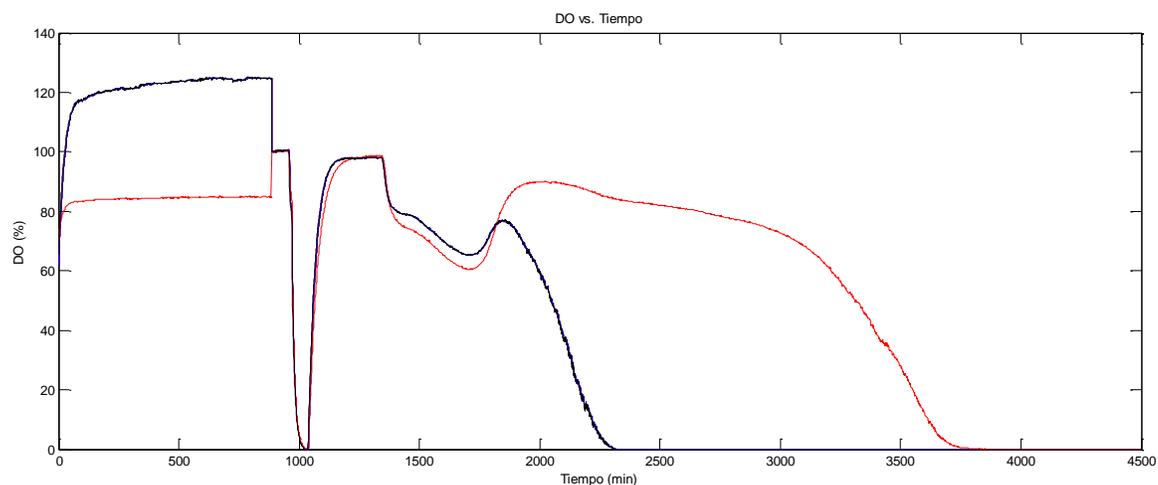


Figura 6.5.1.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 1.

El primer descenso de concentración de oxígeno disuelto se produce por el ensayo realizado para la obtención de  $K_{L,a}$ , por lo tanto se analiza desde el segundo cambio en la gráfica. Se produce un descenso en la concentración de oxígeno y a su vez se presenta un primer salto en la concentración de etanol mientras que los demás análisis decrecen paulatinamente. Al final la concentración de oxígeno es registrada en cero, en los tres casos.

## 6.5.2. Segundo Experimento

En el segundo experimento se poseen las condiciones de pH 4.5, Temperatura 34°C y velocidad de agitación 300rpm.

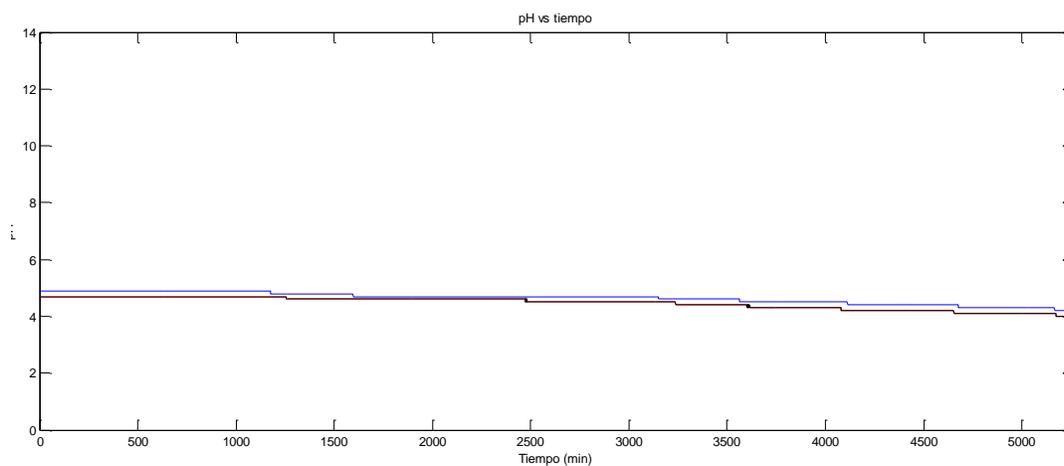


Figura 6.5.2.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 2.

El pH en el experimento presentó un decrecimiento del 14% aproximadamente. Debe tomarse en cuenta que la concentración aproximada del etanol al final del proceso fue aproximadamente de 10g/L.

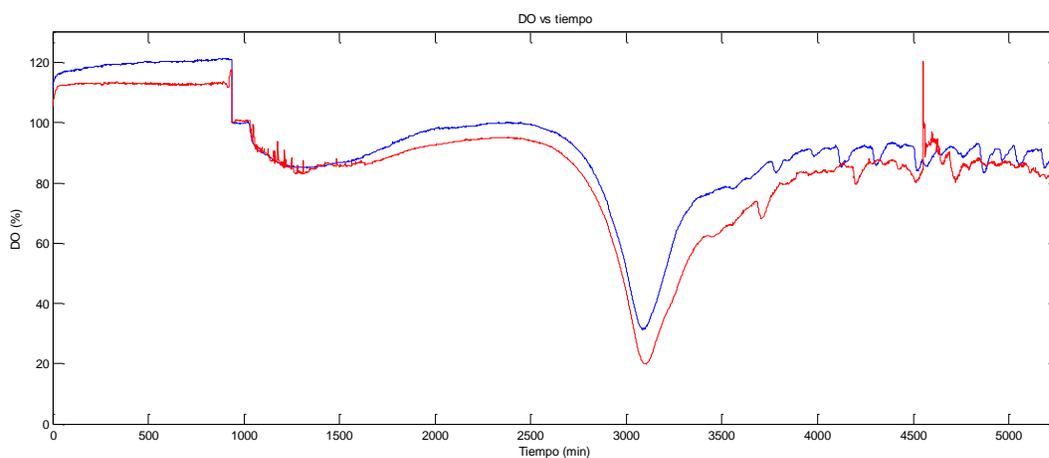


Figura 6.5.2.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 2.

El gráfico de concentración de oxígeno disuelto vs. Tiempo tiene una forma muy característica, presenta un punto mínimo con una concentración de oxígeno de 30% aproximadamente. En el mismo tiempo en que sucede el decrecimiento de la concentración de oxígeno, se visualiza un salto en la producción de etanol, ya que se pasa de una concentración de 2.7 a 4.1 g/L aproximadamente y un incremento en la concentración de carbono orgánico total como factores remarcables.

El cambio en la concentración de etanol predice del mismo modo, aunque no se ve reflejado de manera abrupta en los resultados, un consumo más

elevado en este punto de glucosa y una mayor multiplicación de la biomasa. En estas condiciones este punto puede ser crítico para la producción de etanol.

### 6.5.3. Tercer Experimento

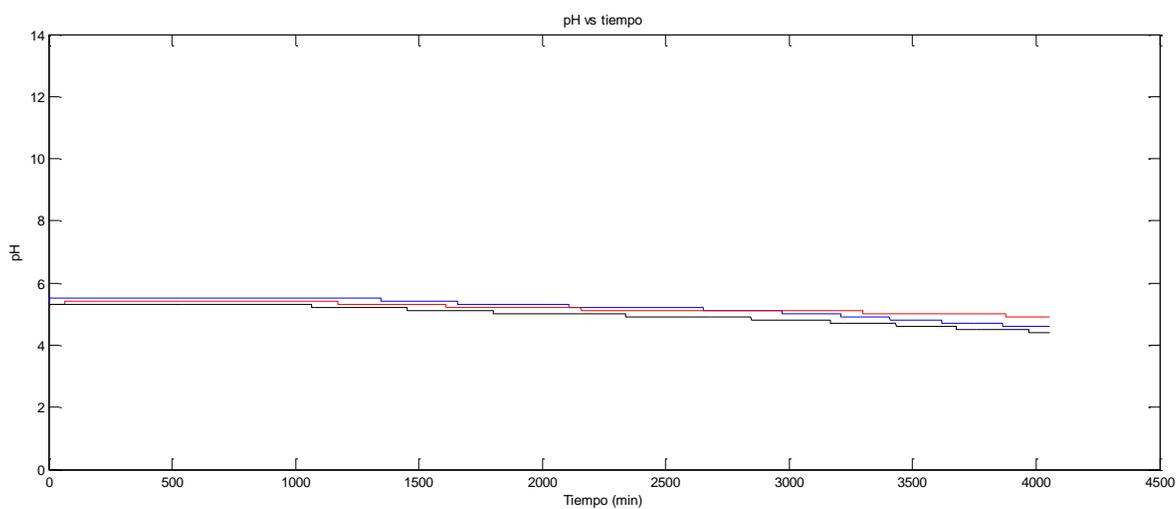


Figura 6.5.3.1 Gráfica de pH vs. Tiempo, Experimento 3.

El pH en los reactores se comporta de manera similar, se produce una reducción del 14.8% en el pH, en este experimento al final se obtiene una concentración aproximada de 20.3g/L de etanol, lo que puede influir en la disminución de este valor de pH.

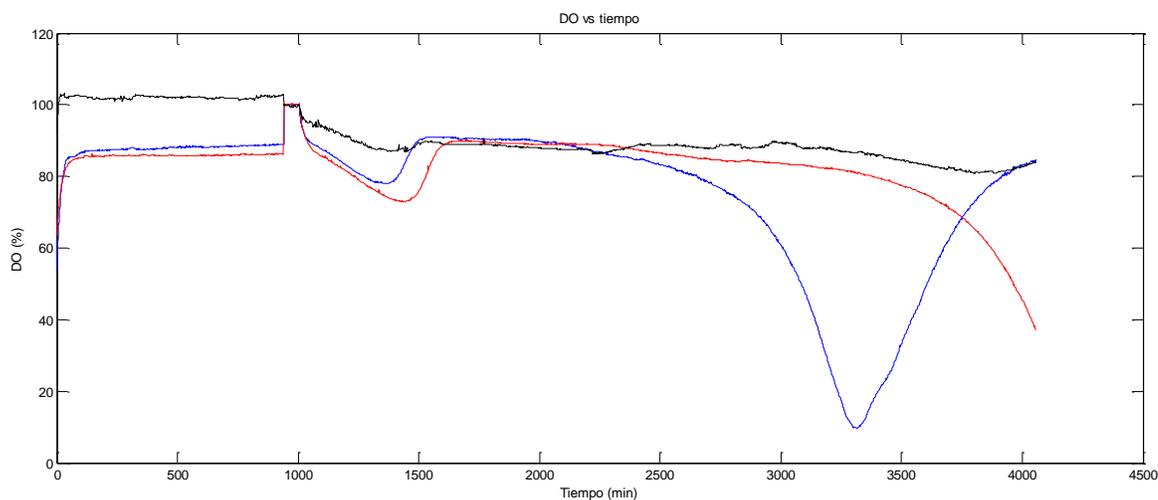


Figura 6.5.3.2 Gráfica de DO vs. Tiempo, Experimento 3.

La gráfica de Oxígeno disuelto tienen una forma muy particular, desde que empieza el tratamiento se puede evidenciar un decaimiento en la concentración del oxígeno disuelto, en este punto en el tiempo se evidencia un aumento en la concentración de etanol ya que pasa de una concentración de 0.9 g/L a una de 2.1 g/L en un periodo de incubación aproximado de 6 horas. Luego de una estabilización del proceso es posible observar la disminución progresiva de la concentración en las soluciones; sin embargo, en un caso particular del primer reactor a analizar, existe un pico en el que se evidencia un aumento inesperado de la concentración de biomasa, que

viene seguido de una disminución de la misma. Con respecto a las otras variables a analizar no se encuentran cambios significativos.

#### 6.5.4. Cuarto Experimento

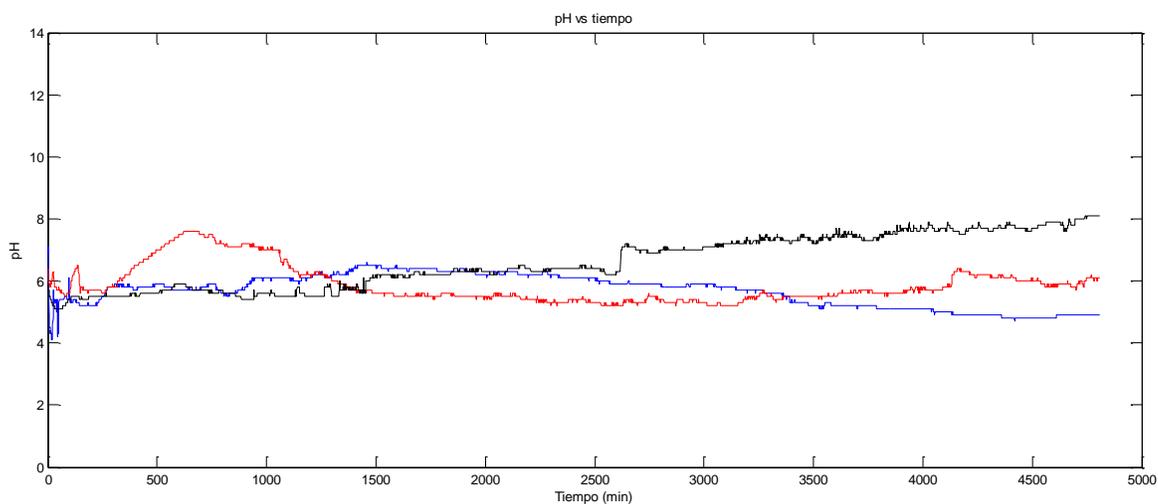


Figura 6.5.4.1 Gráfico de pH vs. Tiempo en el Experimento 4.

Este caso particular presenta dos características claramente visibles, las mediciones son intermitentes, es decir que presentan gran variabilidad, y se muestra un aumento en el pH en dos de los ensayos. Este experimento presenta la menor concentración de etanol al final y una baja concentración

de biomasa por lo que el incremento del pH pudo ser un factor inhibidor de dicho crecimiento.

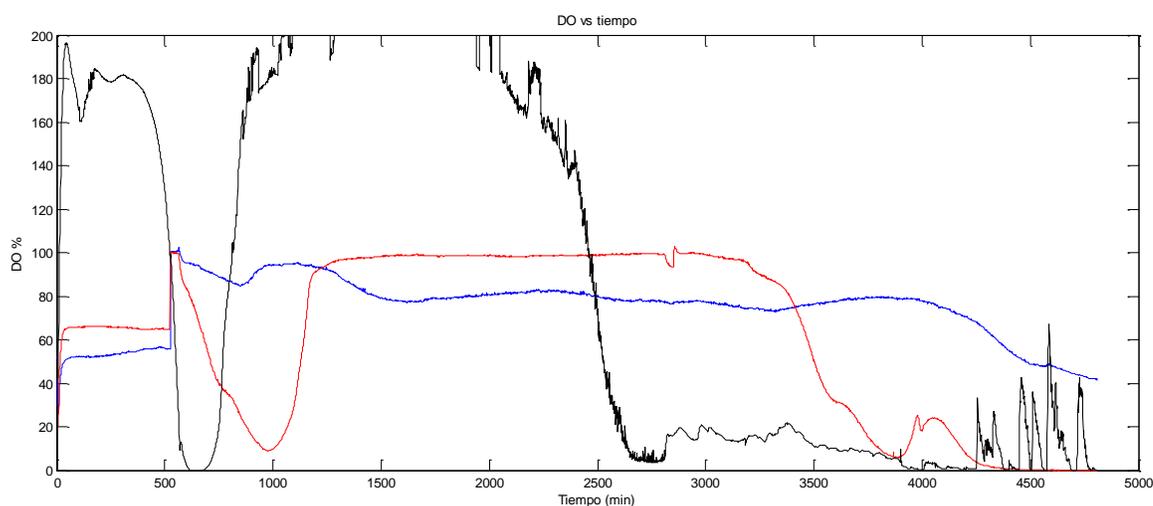


Figura 6.5.4.2 Gráfico de DO vs. Tiempo en el Experimento 4.

La medición de oxígeno disuelto en el reactor 3 (Color negro) presenta variaciones grandes, puede darse por una falla en el instrumento de medición, sin embargo, las otras dos mediciones poseen similitudes. En la mayor parte del experimento los valores se mantienen constantes, pero en dos puntos se produce una reducción. En la primera reducción se evidencia una reducción en la concentración de biomasa y un incremento en la concentración de etanol, mientras que al final se produce el último salto de concentración de etanol y un decrecimiento de biomasa.

## **CONCLUSIONES**

1. Uno de los grandes retos de la industria en la actualidad es funcionar de manera sostenible, esto se ve reflejado en la presente investigación en emplear los residuos de manera adecuada para aprovechar su valor comercial. Es evidente que en la industria de bebidas, los productos de desecho poseen desechos orgánicos, específicamente azúcares, que pueden ser empleados como materia prima para la obtención de un producto. Gracias a la investigación realizada fue posible demostrar que estos desechos efectivamente pueden ser empleados para obtener biomasa como fuente alternativa de energía y que de manera más o menos eficiente se puede llegar a este cometido.
2. Para realizar un tratamiento adecuado y una fermentación exitosa es imprescindible en primer lugar escoger una cepa de levadura que se adapte a los fines propuestos. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* cumple con las características requeridas ya que tiene gran versatilidad para usos industriales, y es además de fácil y libre acceso a un bajo costo. Además se debe proveer al sistema a tratar con una fuente nitrogenada que brinde el contenido nutricional para que las levaduras puedan realizar sus funciones metabólicas. La fuente nitrogenada escogida es el fertilizante agrícola Bayfolan en polvo, que además de servir como suplemento nutricional, permite regular el pH hacia valores más elevados lo que facilita el desarrollo celular y la producción de etanol.

3. De acuerdo a los análisis realizados, es posible determinar que se obtendrá de manera óptima, según los factores planteados, etanol siendo este el único alcohol analizado, en las condiciones de pH 4.5, 28°C de temperatura y 100 revoluciones por minuto de velocidad de agitación. En esta condición óptima en donde se obtiene la mayor eficiencia en el consumo de glucosa y producción de etanol, se obtienen los siguientes modelos matemáticos:

Para el consumo de glucosa:

$$G = -0.0005t + 4.3278$$

Donde:

G= Concentración de glucosa

t= tiempo en minutos

Este modelo presenta un valor de  $R^2$  de 0.8134 lo que indica un ajuste no muy adecuado a los resultados presentados. Puede ser replicado únicamente en el mismo medio bajo las mismas condiciones de trabajo.

Para la producción de etanol:

$$E = -519.323 + e^{6.245682+0.000643t}$$

Donde:

E= Concentración de etanol en g/L

t= tiempo en horas

El modelo en base a la producción de etanol presenta un valor  $R^2$  de 0.7594, por lo que su ajuste es menor que el modelo en base al consumo de glucosa. Puede ser replicado, de la misma manera que el modelo anterior, empleando el mismo medio bajo las mismas condiciones de trabajo.

El análisis de los resultados fue realizado en base a la necesidad de obtener una concentración más elevada de etanol, por lo que si se desea encontrar un arreglo de condiciones que permita optimizar alguno de los factores restantes analizados, o los modelos matemáticos para predecir los resultados están contenidos de manera detallada en el Capítulo 6 de la presente investigación.

4. Existen ciertos factores fundamentales en el estudio de biorreactores, ya que una investigación de este tipo puede ser empleada para un escalado industrial. Uno de los análisis que permite caracterizar y escalar reactores es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, con un valor promedio de  $1.782 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ .

## **RECOMENDACIONES**

1. El proceso investigativo fue llevado de manera exitosa; sin embargo, es posible notar que hay variables que pueden ser modificadas. Las fermentaciones se llevaron a cabo en un medio aireado, pudiendo estas desarrollarse en un sistema completamente anaerobio, si bien es cierto, la cantidad de biomasa colocada al inicio no es abundante, por lo que se procura oxigenar el sistema para facilitar la reproducción de los organismos, transformándose en una fermentación facultativa; sin embargo, las actividades metabólicas de las levaduras requieren oxígeno para sintetizar los lípidos contenidos en los sustratos que son esenciales para el metabolismo celular. Por definición la fermentación es un proceso anaeróbico, pero al mantenerlo de este modo es importante notar que el desarrollo o multiplicación de los organismos a cargo de dicho fenómeno se va a ver limitado.

La presencia de oxígeno para facilitar el crecimiento de la biomasa debe darse únicamente en las primeras horas de fermentación, de tal modo que se produzca toda la energía para los procesos metabólicos y se mantenga almacenada en las células. Solo en la ausencia completa de oxígeno se puede dar la transformación adecuada al etanol.

Es por esto que es importante, si se desea realizar un escalado industrial, diseñar otra serie de experimentos que permitan determinar el tiempo adecuado de inyección de oxígeno para potenciar la producción de etanol al final del proceso fermentativo. La inyección de oxígeno sin medida tiene recurrencia en los costos operativos del proceso, tomando en cuenta que se planea obtener energías alternativas y un uso sostenible de las mismas, más no incrementar el consumo.

2. En la investigación se logró determinar la factibilidad de producir etanol a partir de efluentes, pero se debe tomar en cuenta que para mejorar la calidad del agua de los mismos se deben realizar estudios posteriores de las vinazas producidas al separar el alcohol obtenido. Estas vinazas son de gran contenido nutricional y pueden ser empleadas como fertilizantes agrícolas. De este modo, se puede cerrar un ciclo reduciendo al mínimo los residuos producidos por una industria.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México en cifras, Extraído el 26 de marzo del 2012 de <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>, 2010.
2. Schwab K, The Global Competitiveness Report 2011-2012, Geneva: World Economic Forum, 2010, p.527.
3. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Producción industrial países seleccionados, Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://www.inegi.org.mx/sistemas/bie/cuadrosestadisticos/GeneraCuadro.aspx?s=est&nc=573&esq=BIEPUB&c=25241>, 2011.
4. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Total de actividad industrial. Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER157051>, 2011.
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Total de industrias manufactureras. Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER157062>, 2011.
6. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Número de establecimientos, Total industria manufacturera Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER133977>, 2011.

7. Banco Mundial, Datos Estadísticos de México 2009, Extraído el 28 de marzo del 2012 de <http://datos.bancomundial.org/pais/mexico>, 2009
8. López M, Lucero J, Suárez L., Reporte de Recursos Hídricos México 2010, Monterrey – México. Centro del Agua para América Latina y el Caribe, 2010.
9. Secretaría De Medio Ambiente y Recursos Naturales, Plantas de tratamiento de agua residual industrial , Extraído el 28 de marzo del 2012 de [http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi\\_apps/WFServlet?IBIF\\_ex=D3\\_AGUA07\\_12&IBIC\\_user=dgeia\\_mce&IBIC\\_pass=dgeia\\_mce](http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_AGUA07_12&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce), 2009.
10. Secretaría De Medio Ambiente y Recursos Naturales, Plantas de tratamiento de agua residual industrial: Plantas en operación según tipo de tratamiento , Extraído el 28 de marzo del 2012 de [http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi\\_apps/WFServlet?IBIF\\_ex=D3\\_AGUA07\\_13&IBIC\\_user=dgeia\\_mce&IBIC\\_pass=dgeia\\_mce](http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_AGUA07_13&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce), 2009.
11. Alcocer S, Balance Nacional de Energía 2010, México DF, Secretaría Nacional del Energía, 2010, p.130.
12. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, Beneficios: Caso relleno sanitario de Monterrey. Extraído el 27 de marzo del 2012 de

<http://www.bioenergeticos.gob.mx/index.php/beneficios-el-caso-de-monterrey.html>,  
2010.

13. Alcocer S, Balance Nacional de Energía 2010, México DF, Secretaría Nacional del Energía, 2010, p.130.
14. Rigola M, Tratamiento de aguas industriales: Aguas de proceso y residuales, Ed. Marcombo, 1989.
15. Tchobanoglous G, Burton F, Stensel D, Wastewater engineering, treatment and reuse, Ed. McGraw Hill, 2003.
16. Ramirez C, Tratamiento de aguas residuales industriales, Universidad Autónoma Metropolitana, 1992, p. 29-154.
17. Ramalho R, Introduction to Wastewater Treatment Processes, Academic Press, 1977.
18. Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, versión online [www.rae.es](http://www.rae.es)
19. Schügerl K, Bioreaction Engineering, Reactions involving microorganisms and cells, Fundamentals, Thermodynamics, Formal Kinetics, Idealized Reactor, Types and Operation Models Volume 1, John Wiley & Sons ltd, 1990, p. 4-138.
20. Breisha G, Production of 16% ethanol from 35% sucrose, Elsevier, Science Direct, 2008.

21. Quintero et al, Proyectos de Investigación sobre el uso y manejo de vinazas, Extraído el 20 de marzo del 2012 de <http://www.cengicana.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>.
22. Banat et al, Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: Part I Yeast in general, World Journal of Microbiology & Biotechnology. 14, 1998, p.809-817.
23. Schügerl K, Bioreaction Engineering, Characteristic Features of Reactors Volume 2, John Wiley & Sons, 1990, p.1-251.
24. Najafpour G, Biochemical Engineering and Biotechnology, Elsevier, 2007, p.2-289.
25. Roy, R, A Primer on the Taguchi method, Society of Manufacturing Engineers 1990, p. 8-154.
26. Albers et al, Influence on the nitrogen source on *Saccharomyces Cerevisiae* anaerobic growth and product formation, Journal of Applied and Environmental Microbiology, 1996.
27. Solomons G, Materials and Methods in fermentations, Academic Press, 1969, p.163.

28. Nevoigt , Process in Metabolic Engineering of *Saccharomyces Cerevisiae*, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2008, p. 379 – 412.
29. Sedlak M, Ho N, Production of Ethanol from Cellulosic Biomass Hydrolysates Using Genetically Engineered *Saccharomyces Cerevisiae* Yeast Capable of Cofermenting Glucose and Xylose, Human Press, 2004.
30. Prakasham et al, The Taguchi Metodology as a statistical tool for biotechnological applications: A critical appraisal, Biotechnology Journal, 2008, p 510 – 523.
31. Videla J, Lie B, Using Modelica / Matlab for parameter estimation in a bioethanol fermentation model, The Modelica Asociation, 2008.
32. Morimura S, Ya Ling Z, Kida K, Ethanol Production by Repeated Batch Fermentation at High Temperature in a Molasses Medium Containing a High Concentration of Total Sugar by a Thermotolerant Flocculating Yeast with Improved Salt-Tolerance, Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, p 271 – 274.
33. Gaden E, Fermentation Process Kinetics, Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 2000.
34. Vázquez H, Dacosta O, Fermentación alcohólica, Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas, Ingeniería Investigación y Tecnología 2007, p. 249 – 259.

35. Sánchez et al, Influence of temperature on the fermentation of D-Xylose by *Pachysolen tannophilus* to produce ethanol and xylitol, *Process Biochemistry*, 2003, p. 673 – 679.
36. Bui S, Verykios X, Mutharasan R, *In Situ Removal of Ethanol from Fermentation Broths 1. Selective Adsorption Characteristics*, 1995.
37. Ccopa et al, *Evaluation of optimization techniques for parameter estimation: Application to ethanol fermentation considering the effect of temperature*, Elsevier, 2006, p. 1682 – 1687.