



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**Diseño de un fermentador cervecero continuo,
utilizando *Saccharomyces cerevisiae* en flóculos
inducidos por la presencia de Nanotubos de Carbono
Funcionalizados**

TESIS presentada por:

Guadalupe Selene Fraga Cruz

**a la División de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Ingeniería Química como
requisito parcial para obtener el Grado de:**

**MAESTRA EN CIENCIAS
EN
INGENIERÍA QUÍMICA**

**Director: Dr. Rafael Maya Yescas
Co-Asesora: Dra. Gladys Jiménez García**

Morelia, Michoacán, Agosto 2019.



Oficio número 097/2019.

Lic. Ulises Gutiérrez Vazquez
Jefe del Departamento de Titulación de la
U.M.S.N.H.
P r e s e n t e.-

Asunto: Impresión de Tesis.

Por este medio nos dirigimos a usted de la manera más atenta para notificarle que después de haberle dado seguimiento al desarrollo de la tesis: "DISEÑO DE UN FERMENTADOR CERVECERO CONTINUO UTILIZANDO SACCHAROMYCES CERVISIAE EN FLÓCULOS INDUCIDOS POR LA PRESENCIA DE NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS". Después de haber revisado el manuscrito que presentó la alumna **Guadalupe Selene Fraga Cruz con matrícula 1220828X**, concluimos que cumple con los requisitos académicos y con lo establecido en el Reglamento General de Estudios de Posgrado para el desarrollo de tesis.

Por lo anterior este Comité Tutorial da el aval para su impresión final.

Presidente o Asesor: Dr. Rafael Maya Yescas 04002040

Coasesor: Dra. Gladys Jiménez García 912999

Vocales:

Dr. Carlos Omar Castillo Araiza EXT19132

Dr. Fabricio Nápoles Rivera 12002518

Dr. Rafael Huirache Acuña 11000201

A t e n t a m e n t e.
Morelia, Michoacán a 13 de agosto de 2019

Dr. José María Ponce Ortega
Coordinador de la Maestría en Ciencias en
Ingeniería Química.



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Facultad de Ingeniería Química / Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Francisco J. Mújica S/N / Col. Felicitas del Río / C.P. 58030 / Morelia, Michoacán / Tel. y Fax: 443. 327 3584 Ext. 1211

<http://posgrado.fiq.umich.mx/>

Agradecimientos:

A Dios, a mi familia y amigos

Por ser la fuerza que me mantiene a flote y a todos los que han influido de alguna manera en mi forma de ver el mundo y de salir adelante porque sin ustedes no sería lo que soy ahora.

A La Facultad de Ingeniería Química de la U.M.S.N. H.

Por ser el pilar más importante de mi educación, por abrirme las puertas a este mundo de la ingeniería química y por brindarme todo lo bueno que hasta ahora me llevo.

A mi asesor, Dr. Rafael Maya Yescas y co-asesora Dra. Gladys Jiménez García

Agradezco todos los esfuerzos implicados en mí, por explicarme incansablemente, por el apoyo en este proceso, por abrirme las puertas de su casa y de su corazón, porque a pesar de tener tanto trabajo siempre se han dado el tiempo para atender mis necesidades y necesidades. Por brindarme una nueva familia llamada "The Reactive Community". Por las tardes de plática, las noches de música y las mañanas de café. Y sobretodo gracias por tratar de entenderme, aunque a veces ni yo misma lo hago.

A mis sinodales, Dr. Fabricio Nápoles Rivera, Dr. Carlos Omar Castillo Araiza y Dr. Rafael Huirache Acuña

Gracias, por el tiempo y esfuerzo que han dedicado en este proyecto y en mí, así como la amistad brindada en este tiempo, me quedo con cada una de sus observaciones y espero poder retribuir algo de lo mucho que me han dado.

Al Dr. Abhishek Dutta

Gracias, por permitirnos ampliar nuestros horizontes, al abrirnos las puertas de la KU Leuven y por toda la ayuda brindada en aquellas tierras lejanas, porque a pesar de estar lejos de casa, nunca nos hiciste sentirnos como extraños.

No me resta más que agradecer al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por el financiamiento de este proyecto científico y de vida que se traduce en esta tesis.

Dedicatoria:

¡Vaya! Hasta un niño de cuatro años podría entender esto. Por favor, que alguien llame a un niño de cuatro años.

Groucho Marx

Este trabajo está dedicado especialmente a:

Mi Mamá:

Porque a pesar de los fracasos, siempre hemos estado ahí para apoyarnos, porque eres parte esencial de mi vida, porque muy a tu manera no permites que me deje vencer y porque siempre estás ahí para mí, dispuesta a todo.

Mi Papá:

Porque gracias a ti, sé que puedo lograr lo que me proponga, aunque no estás hoy aquí, te siento cada día y sé que siempre estás orgulloso de mí.

Mi Familia

Por todos los consejos, por todo el apoyo y por la certeza de saber que si en algún momento siento temor puedo recurrir a ustedes.

Mario:

Por todo el amor que día con día me brindas, por ser el mejor amigo que puedo tener, por impulsarme siempre a ser mejor, como persona y como profesional.

Ponchis:

Sin duda el ser más maravilloso que he conocido, que me acompañó en todos los momentos tensos del desarrollo de este proyecto siempre infundiéndome tranquilidad y esperanza. Si el amor a primera vista existe, sin duda lo experimenté contigo.

RESUMEN

DISEÑO DE UN FERMENTADOR CERVECERO CONTINUO, UTILIZANDO *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EN FLÓCULOS INDUCIDOS POR LA PRESENCIA DE NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS

Guadalupe Selene Fraga Cruz, febrero 2018
Dirigida por: Dr. Rafael Maya Yescas
Co-asesorada por: Dra. Gladys Jiménez García

La cerveza es una bebida muy importante, por muchas razones: la historia que se desarrolla en torno a su proceso de elaboración, los diferentes tipos de cerveza que existen alrededor del mundo, así como sus beneficios sociales y de salud a la hora de consumirla.

Actualmente la elaboración de cerveza a gran escala se lleva a cabo en procesos por lotes, ya que la fermentación se da en tiempos específicos dependiendo del tipo de mosto; así la concentración de alcohol que se espera es baja debido al metabolismo de la levadura. Sin embargo, un proceso continuo, gracias a flóculos de levadura, podría aumentar la producción de etanol. Por otra parte, la operación continua comparada con la operación por lotes exhibe ahorro energético y mejora en las ganancias.

En el presente proyecto se propone el diseño de un reactor continuo con base en la generación de un modelo cinético que permita obtener los parámetros necesarios para su diseño, empleando levadura floculada mediante inducción por nanotubos de carbono funcionalizados. La levadura utilizada es *Saccharomyces cerevisiae*, cepa utilizada comúnmente para una obtener cerveza tipo Ale conocida también como cerveza de alta fermentación; ésta se caracteriza porque la temperatura a la que se lleva a cabo el proceso está en el intervalo 18 - 21°C, y porque la levadura al término de la fermentación tiende a flotar. El comportamiento cinético se describe con modelos no estructurados de crecimiento de biomasa durante la fermentación; utilizando datos experimentales obtenidos en un trabajo previo.

Palabras Clave: Cerveza, reactor continuo, modelos cinéticos, *Saccharomyces cerevisiae*, nanotubos de carbono funcionalizados

ABSTRACT

DESIGN OF A CONTINUOUS BREWING FERMENTER, USING SACCHAROMYCES CEREVISIAE IN FLOCULES INDUCED BY THE PRESENCE OF FUNCTIONALIZED CARBON NANOTUBES

Developed by: Ing. Guadalupe Selene Fraga Cruz

Supervisor by: Dr. Rafael Maya Yescas

Co-supervisor by: Dr. Gladys Jiménez García

Beer is a very important beverage, for many reasons: the story that develops around its brewing process, the different types of beer that exist around the world, as well as its social and health benefits when consumed.

Currently, large-scale brewing is carried out in batch processes, since fermentation takes place at specific times depending on the type of must; Thus the expected alcohol concentration is low due to yeast metabolism. However, a continuous process, thanks to yeast flocs, could increase ethanol production. On the other hand, the continuous operation compared to the batch operation exhibits energy savings and improved profits.

This project proposes the design of a continuous reactor based on the generation of a kinetic model that allows obtaining the necessary parameters for its design, using flocculated yeast by induction by functionalized carbon nanotubes. The yeast used is *Saccharomyces cerevisiae*, a strain commonly used to obtain an Ale beer, also known as high fermentation beer; this is characterized in that the temperature at which the process is carried out is in the range 18-21 °C, and because the yeast at the end of the fermentation tends to float. Kinetic behavior is described with unstructured models of biomass growth during fermentation; using experimental data obtained in a previous work.

Keywords: Beer, continuous reactor, kinetic models, *Saccharomyces cerevisiae*, functionalized carbon nanotubes

Contenido

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
Capítulo I. Introducción	1
I.1. Breve historia de la cerveza	1
I.2. Justificación	3
I.3. Planteamiento del Problema	3
I.4. Hipótesis	3
I.5. Objetivos	4
I.5.1. Objetivo General	4
I.5.2. Objetivos Particulares	4
Capítulo II. Marco Teórico	5
II.1. La fermentación alcohólica	5
II.2. Proceso de elaboración de cerveza	6
II.2.1. Proceso de elaboración por lotes	6
II.2.2. Proceso continuo de elaboración	8
II.2.3. Ventajas y desventajas de fermentación continua <i>versus</i> por lotes	10
II.2.4. Tipos de fermentadores	11
II.2.5. Inmovilización de levadura	12
II.3. Modelos de la fermentación cervecera	14
II.3.1. Modelos no estructurados	14
II.3.2. Modelos estructurados	24
II.3.3. Modelos segregados	24
II.3.4 Modelos cinéticos no estructurados (para operaciones en continuo)	26
II.4. Crecimiento celular y Biorreactores	28
Reactores CSTR con recirculación	31
Capítulo III. Metodología	35
Capítulo IV. Resultados y Discusión	36
IV.1. Ajuste de modelos cinéticos	39
IV.1.1 Modelo de Aiba	41
IV.1.2 Modelo de Andrew	42

IV.1.3 Modelo de Haldane	43
IV.1.4 Modelo de Luong	44
IV.1.5 Modelo de Moser	45
IV.2. Discriminación entre modelos cinéticos	47
IV.3. Tasa de Dilución	55
IV.4. Diseño del Reactor	55
Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones	57
Referencias Bibliográficas	59
Anexos	64
A.1. Glosario	64
A.2. Determinación de peso seco:	68
A.3. Datos experimentales obtenidos previamente	69
A.4. Resultados de simulación de los modelos Andrew y Andrew Levenspiel	70
A.5. Especificaciones estándar de un fermentador	76

Lista de Tablas y Figuras

Figuras:

Figura 2.1	Esquema de la Fermentación alcohólica	5
Figura 2.2	Proceso industrial de elaboración de cerveza	8
Figura 2.3	El proceso Coutts de elaboración de cerveza en proceso continuo	9
Figura 2.4	Reactor Labbat de tipo "Air-Lift"	12
Figura 2.5	Proceso de Producción de la compañía cervecera Kirin, Japón.	12
Figura 2.6	Aproximación de una cinética de fermentación por un producto de factores simples, en condiciones de temperatura y presión constantes	18
Figura 2.7	Esquema del proceso considerado en el modelo propuesto por del Toro y colaboradores	25
Figura 2.8	Resultados presentados por Andrés del Toro y otros	25
Figura 2.9	Etapas del crecimiento celular e incremento en la concentración de biomasa	28
Figura 2.10	Gráficas de las fases del crecimiento de células bacterianas	29
Figura 2.11	Diagrama de reactor CSTR con recirculación	33
Figura 3.1	Diagrama de flujo lógico del desarrollo del proyecto de investigación	35
Figura 4.1	Comparativo de resultados obtenidos experimentalmente (30°C), crecimiento de biomasa sin nanotubos de carbono (Testigo) vs crecimiento de biomasa con 14mg/L de nanotubos de carbono funcionalizados	37

Figura 4.2	Comparativo de resultados obtenidos experimentalmente (30°C), consumo de sustrato, sin nanotubos de carbono (testigo) vs consumo de sustrato con 14 mg/L de Nanotubos de carbono funcionalizados	38
Figura 4.3	Modelo de Aiba et al., Simulación realizada en Polymath 6.1	41
Figura 4.4	Modelo de Andrew (Okpokwasili & Nweke, 2005) simulación realizada en Polymath 6.1	42
Figura 4.5	Modelo de Haldane (Versyck, Claes, & Van-Impe, 1997) simulación realizada en Polymath 6.1	43
Figura 4.6	Modelo de Luong (1987) simulación realizada en Polymath 6.1	44
Figura 4.7	Modelo de Moser (1987) simulación realizada en Polymath 6.1	45
Figura 4.8	Curva de crecimiento de biomasa. Comparación de datos experimentales con datos generados por los modelos matemáticos	46
Figura 4.9	Curva de consumo de sustrato. Comparación de datos experimentales con datos generados por los modelos matemáticos	46
Figura 4.10	Curva de crecimiento de biomasa. Comparación de datos experimentales (Testigo) vs datos generados por el modelo de Andrew	47
Figura 4.11	Curva de consumo de sustrato. Comparación de datos experimentales (Testigo) vs datos generados por el modelo de Andrew	48
Figura 4.12	Modelo de Andrew-Levenspiel, simulación realizada en Polymath 6.1	49
Figura 4.13	Comparación de modelos para crecimiento de biomasa vs datos experimentales (Testigo y con 14mg/L NTC's)	49
Figura 4.14	Comparación de modelos para consumo de sustrato vs datos experimentales (testigo y con 14mg/L NTC's)	50
Figura 4.15	Diseño preliminar del biorreactor de tipo CSTR para fermentación continua usando levadura en flóculos inducidos por la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados	56

Tablas:

Tabla 2.1	Modelos cinéticos no estructurados utilizados para la evaluación de parámetros	27
Tabla 4.1	Datos experimentales obtenidos por Márquez	36
Tabla 4.2	Valores obtenidos de experimentación por lotes	39
Tabla 4.3	Modelos cinéticos no estructurados utilizados para la evaluación de parámetros con término de inhibición por producto	40
Tabla 4.4	Pendientes (μ_{max}) y rendimientos calculados para ambos modelos sugeridos.	51
Tabla 4.5	Sustrato remanente, Biomasa y producto producidos a T=5h	51
Tabla 4.6	Determinación de $-r_s$	51
Tabla 4.7	Volumen de Reactor determinado para cada uno de los modelos	52
Tabla 4.8	Derivadas de las expresiones matemáticas de los modelos cinéticos a analizar	53
Tabla 4.9	Determinación de matrices Jacobianas para analizar la convergencia del modelo cinético	54

Capítulo I. Introducción

La producción de cerveza en proceso continuo no se ha podido llevar a cabo de manera exitosa, ya que han existido algunos problemas como pérdida de levadura por arrastre y cambio de sabor al inmovilizar estas levaduras sobre sustratos orgánicos. Para buscar una alternativa que permita escalar el proceso actual, por lotes, a un proceso continuo, en este trabajo se busca modelar cinéticamente los fenómenos de crecimiento, consumo de sustrato, producción de bioetanol y algunos subproductos que pueden cambiar el sabor. En ese capítulo se describe brevemente la evolución de la cerveza como bebida, se justifica esta investigación, se puntualiza el problema a modelar y finalmente se presentan la hipótesis y los objetivos a desarrollar.

I.1. Breve historia de la cerveza

No se sabe cuándo ni quien inventó la cerveza, pero los primeros registros que se tienen de la fermentación para la elaboración de cerveza datan del año 6000 a.C., en Sumeria (Fonseca, 2007); en estos registros se habla de una bebida preparada a base de granos de cebada y agua. Con el paso del tiempo se descubrió que los granos molidos facilitaban la fermentación, por lo que mujeres niños y ancianos masticaban los granos y la saliva proporcionaba los microorganismos; esta bebida era conocida como "siraku" (Sáenz Paredes, 2012). Los babilonios heredaron los conocimientos del cultivo de la tierra y la elaboración de la cerveza de los sumerios, esta bebida era tan importante que el propio rey Hammurabi (1728-1686 a.C.) decretó, en su famoso código, normas de fabricación, así como castigos a quienes adulteraran la receta "original"; de acuerdo a esto, la cerveza se convirtió en el primer producto alimenticio regularizado.

Posteriormente este conocimiento fue transmitido a los egipcios, quienes atribuían el origen de la cerveza a Osiris (dios de la vegetación), por lo que su fabricación era considerada sagrada; los fabricantes eran exentos del servicio militar y tanto soldados como oficiales recibían la cerveza como parte de su paga (Sáenz Paredes, 2012). Los egipcios fueron los primeros en fabricarla en

grandes cantidades, perfeccionando su proceso a partir de panes de cebada, introdujeron los azúcares del dátil que permitían alargar el tiempo de conservación, y eran capaces de abastecer a diario a las tropas del faraón. Este tipo de cerveza conocida como *zythum* o *zythos* difería de la sumeria ya que era menos viscosa, y no se bebía en vasijas comunales sino en porciones individuales (Sáenz Paredes, 2012).

Los griegos aprendieron de los egipcios a elaborar cerveza, y a su vez pasaron este conocimiento a los romanos. Sin embargo, ni en la Antigua Grecia (1200-146 a.C.) ni en la Antigua Roma (753 a.C.-476 d.C.) se le dio importancia a la cerveza, ya que se consideraba una bebida "inferior". Esto sucedió ya que eran dos civilizaciones netamente vinícolas; incluso la mitología griega habla acerca de que el dios Baco inundó Mesopotamia al darse cuenta que allí se prefería la cerveza (Cerveza Artesana, 2014).

Los romanos la nombraron *cerevisia* (proveniente de la diosa romana de los cultivos Ceres), y producían dos tipos de cerveza: una dulce a la cual añadían miel o dátiles (*zythos*) y otra amarga que se elaboraba con ajeno (*cerevisia*); ambas con un costo por debajo de los precios de la carne y el vino. (Sáenz Paredes, 2012).

Durante la edad media, con la caída del imperio romano y la llegada de pueblos invasores, la iglesia católica veló por preservar las culturas, por lo que recetas gastronómicas incluida la de la cerveza fueron conservadas en grandes monasterios; los monjes fueron los responsables del perfeccionamiento de su proceso hasta lograr la receta que actualmente conocemos y que incluye entre sus ingredientes al lúpulo (Sáenz Paredes, 2012).

I.2. Justificación

La producción continua de cerveza se ha visto limitada debido a las pérdidas de levadura por el arrastre provocado por el flujo de salida del fermentador, y por el cambio de sabor al inmovilizar la levadura utilizando sustratos orgánicos. Cambiar el modo de producción de un sistema por lotes a un proceso continuo promueve el ahorro de energía por unidad másica de producto terminado, además de aumentar la producción para un mismo tamaño de planta, impactando directamente en la derrama económica obtenida por la venta del producto terminado. Por ello es importante continuar con el desarrollo de tecnologías que favorezcan de la producción de cerveza en procesos continuos.

I.3. Planteamiento del Problema

El crecimiento en la industria cervecera actual promueve la generación de tecnologías que permitan el escalamiento de los procesos por lotes a procesos continuos, en este contexto, este proyecto propone el diseño de un fermentador continuo que permita la utilización de levadura floculada por la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados que no alteran la producción de bioetanol ni cambian el sabor con respecto del proceso que utiliza levadura sin flocular. Para ello es de suma importancia el modelado cinético de los fenómenos de crecimiento, consumo de sustrato y producción de bioetanol.

I.4. Hipótesis

Si se conocen las cinéticas de crecimiento, producción de biomasa y bioetanol, en la fermentación por levadura floculada por influencia de nanotubos de carbono, entonces se puede diseñar un fermentador continuo que maximice la productividad de cerveza, conservando las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de la bebida.

I.5. Objetivos

I.5.1. Objetivo General

Diseñar un fermentador continuo cervecero que utilice levadura *Saccharomyces cerevisiae* floculada por adhesión de nanotubos de carbono funcionalizados en base a cinéticas no estructuradas de crecimiento, consumo de sustrato y producción de etanol, a partir de modelos matemáticos previamente obtenidos de literatura.

I.5.2. Objetivos Particulares

1. Recopilar de literatura datos experimentales de fermentación utilizando levadura libre y floculada por adhesión de nanotubos de carbono funcionalizados.
2. Estimar parámetros cinéticos de modelos no estructurados, a fin de ajustar las curvas de crecimiento, consumo de sustrato, y producción de etanol y subproductos de la fermentación.
3. Elegir alguno (s) de los modelos ajustados, mediante análisis de precisión, robustez y sensibilidad, para poder llevar el proceso por lotes a un proceso continuo.
4. Diseñar un fermentador continuo para levadura floculada por adhesión de nanotubos de carbono funcionalizados

Capítulo II. Marco Teórico

II.1. La fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es uno de los procesos industriales más importantes, debido a los productos generados; En este proceso se convierten azúcares, principalmente glucosa, en etanol y dióxido de carbono; las levaduras más ampliamente utilizadas en producción de etanol pertenecen al género *Saccharomyces* (Bisson, 1999). El nivel de tolerancia alcohólica es una de las características de la cepa de levadura utilizada, generalmente la concentración de alcohol no debe exceder del 10% al 12% (Müller, 1964). *Saccharomyces cerevisiae* actualmente es la levadura preferida para la producción de bioetanol, gracias a su alta tasa de fermentación de glucosa, su bajo requerimiento de nutrientes, su tolerancia a pH bajo, su tolerancia al etanol y a otros inhibidores (Jarboe, 2010) (Wallace-Salinas & Gorwa-Grauslund, 2013). Esta fermentación es un proceso que se efectúa en ausencia de oxígeno molecular, su primer paso es la glucólisis, que tiene lugar de la misma forma que en la respiración aeróbica, para posteriormente llevarse a cabo la descarboxilación del ácido pirúvico, formándose acetaldehído, que servirá en lugar del oxígeno gaseoso del aire, como aceptor de hidrógeno; así se forma el alcohol etílico o bioetanol (Figura 2.1).

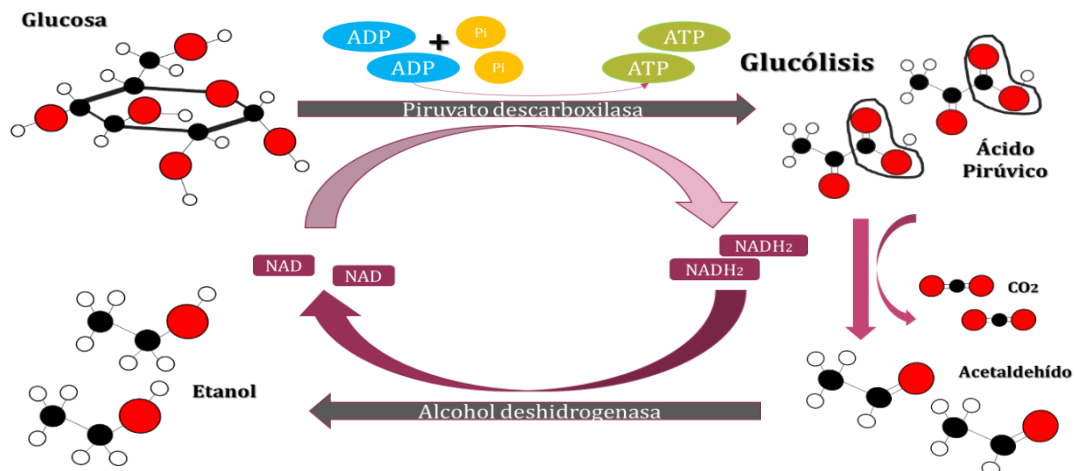


Figura 2.1. Esquema de la fermentación alcohólica (Müller, 1964).

Como materia prima se utilizan jugos que contienen glucosa y fructuosa (mosto), preferentemente. Por esta razón es que se utiliza malta en lugar del grano de cebada, ya que durante la germinación se produce gran cantidad de la enzima diastasa, que promueve que gran parte del almidón se convierta en azúcares fermentables.

Durante la fermentación alcohólica se deben cuidar dos factores: el primero es que, si la concentración inicial de azúcar es "alta", o si existe deficiencia de nitrógeno y oxígeno, puede ser que la fermentación sea incompleta; el segundo es que al obtener altas concentraciones de etanol se provoca inhibición de la actividad celular de la levadura (Malherbe & Toit, 2007).

II.2. Proceso de elaboración de cerveza

La elaboración de cerveza se lleva a cabo mediante la fermentación alcohólica de malta, utilizando principalmente a la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La fermentación alcohólica es una de las más importantes, industrialmente hablando, debido a los productos primarios de este proceso; como materia prima se utilizan jugos que contienen glucosa y fructuosa, preferentemente. Por esta razón es que se utiliza malta (cebada germinada y desecada) en lugar del grano de cebada, ya que durante la germinación se produce gran cantidad de la enzima diastasa, que promueve que gran parte del almidón se convierta en azúcares fermentables.

II.2.1. Proceso de elaboración por lotes

La fabricación de cerveza a nivel industrial es, en su mayoría, un proceso por lotes. Se compone por una serie de recipientes con agitación donde se realiza la fermentación, y un recipiente sin agitación que permite que la levadura se separe. A grandes rasgos la elaboración industrial de cerveza, por lotes, sigue los siguientes pasos (Figura 2.2):

1. Posterior a la selección de los granos de cebada, éstos se germinan con humedad; hasta que el grano presenta un pequeño brote verde.

-
2. Una vez ocurrido esto, el germinado se lleva a un secador y tostador para convertirlo en malta. Este paso es de suma importancia, ya que durante el malteado se desarrollan enzimas que facilitan la conversión del almidón presente en los granos a azúcares fermentables. El tiempo de tostado depende del tipo de cerveza que se esté llevando a cabo.
 3. La malta se muele (macerado) para permitir que azúcares y almidón interactúen de mejor forma con el agua caliente, que se le agrega para formar la mezcla conocida como mosto, la cual será el medio dónde se llevará a cabo la fermentación; por último, se filtra para poder cocinarlo.
 4. Después del cocimiento se incorpora el lúpulo, importante ya que aporta el punto de amargor a la cerveza y actúa como conservador natural.
 5. Se prepara la fermentación, añadiendo levadura al mosto frío (Cerveceros de España, 2001), fermentando a la temperatura que sea requerida por el tipo de cepa de levadura añadido.
 6. Al término de la primera fermentación se obtiene la mayor cantidad de alcohol, y algunos otros compuestos minoritarios pero muy importantes por dar sabores característicos de la cerveza; según algunas recetas se puede seguir con doble o hasta triple fermentación.
 7. Maduración, es el tiempo requerido por el tipo de cerveza, que se mantiene a temperatura baja en cubas, para posteriormente filtrar y envasar. Es posible producir en una misma línea varios tipos de cerveza y su diferenciación estará basada en el tiempo de maduración para cada uno.

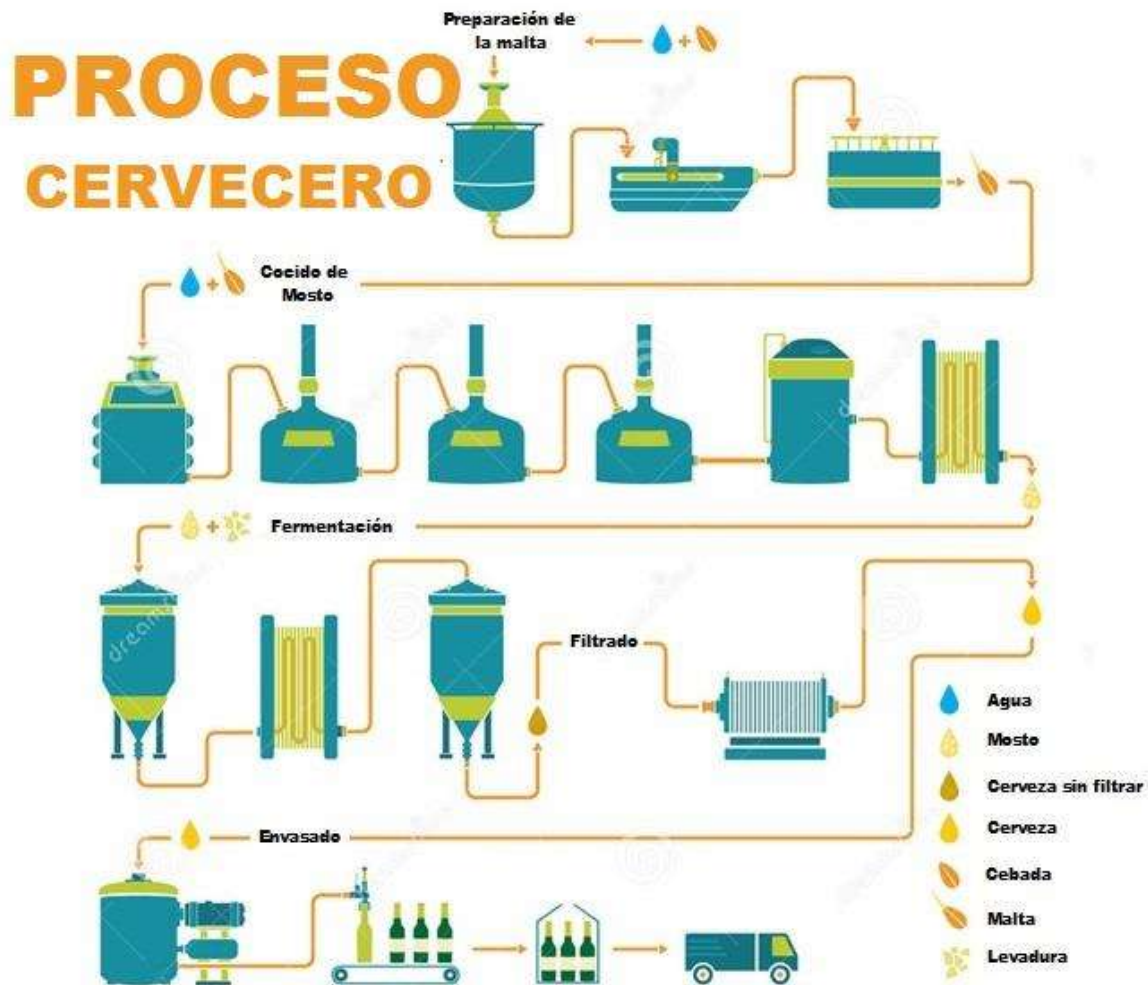


Figura 2.2. Proceso industrial de elaboración de cerveza (Marroquín, 2014).

II.2.2. Proceso continuo de elaboración

Aunque es poco común, también es posible llevar a cabo la elaboración de cerveza de forma continua. El proceso continuo requiere de una cepa de levadura que sea capaz de flocular y de asentarse rápidamente en el medio de fermentación. A grandes rasgos la elaboración industrial de cerveza, por lotes, sigue los siguientes pasos (Figura 2.3):

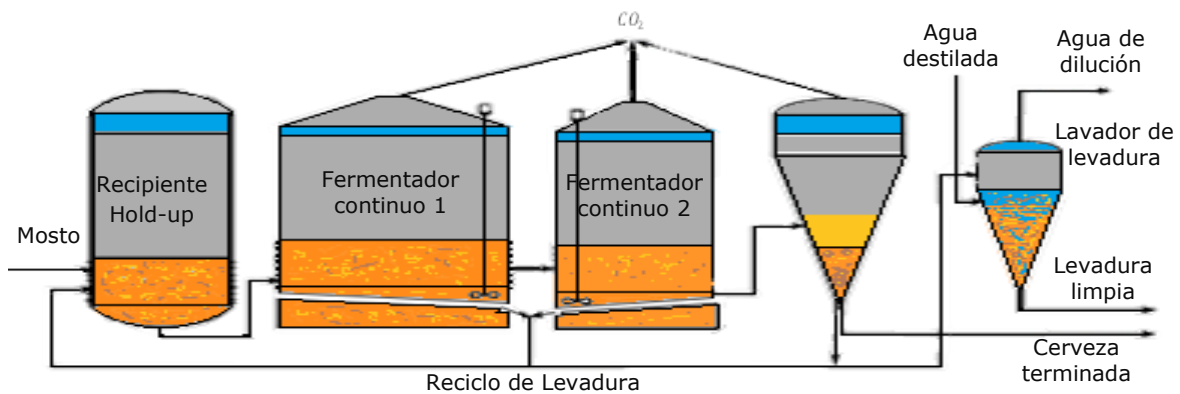


Figura 2.3. El proceso Coutts de elaboración de cerveza en proceso continuo (Stratton, Campbell, & Banks, 1994).

1. Recipiente de Retención (Hold up vessel): Aquí el mosto que entra se oxigena para estimular el crecimiento de la levadura que entra a flujo constante. La introducción de la levadura en el mosto puede ser estresante para el microorganismo debido a los altos niveles de nutrientes, por lo que se acostumbra mezclar el mosto con cerveza parcialmente fermentada, con el fin de reducir la concentración de nutrientes, y permitir un comienzo más rápido de la fermentación. El reciclado de cerveza parcialmente fermentada reduce el pH en el recipiente de retención (de 5.0 a 4.3, aprox.) y aumenta la concentración de etanol. Este aumento crea un ambiente desfavorable para cualquier microorganismo ajeno a la fermentación alcohólica. A la mezcla cerveza/mosto se le da tiempo de residencia de aproximadamente 4 h en este recipiente (Campbell, 2007).
2. Fermentador continuo 1: Recipiente principal de fermentación, usando aproximadamente el 60% de su volumen. En este recipiente la cerveza es parcialmente fermentada y es de éste de donde se recicla algo de producto al recipiente de retención. Mantiene tiempo de residencia de 30 h, aproximadamente, dependiendo de las demandas de producción.
3. Fermentador continuo 2.- Es el recipiente utilizado para el ajuste fino de la cerveza terminada, garantizando la concentración de etanol deseada; el tiempo de residencia aproximado es de 12 h.

-
4. Separador de levadura: En este recipiente con forma de cono se separa la mayor parte de la levadura por gravedad, la cual se canaliza desde el fondo hacia al recipiente de retención, y es mezclada con el mosto entrante a proceso. La levadura sobrante se lava, para recuperar la mayor cantidad de cerveza posible.
 5. Maduración de producto: Este paso es importante para eliminar aquellos subproductos de la fermentación que generan malos sabores al producto terminado, permite que la cerveza sea clarificada con mayor facilidad para su posterior filtrado y envasado (Campbell, 2007).

II.2.3. Ventajas y desventajas de fermentación continua *versus* por lotes

Las cervecerías alrededor del mundo continuamente buscan formas de reducir los gastos de capital, mano de obra, servicios públicos, efluentes entre otros costos operativos, al tiempo que aseguran que la calidad de la cerveza se mantenga (Pratt, Bryce, & Stewart, 2003)

Durante el proceso tradicional de la elaboración de cerveza la fermentación primaria y la maduración son las etapas que consumen la mayor cantidad del tiempo requerido del proceso (5-7 y 7-30 días respectivamente) (Brányik, Vicente, & Dostálek, 2005)

Al llevar a cabo la fermentación continua se puede observar un ahorro potencial de tiempo, evitando periodos de inducción inicial y de muerte de la levadura, una calidad más uniforme del producto, menos supervisión del proceso así como la reducción del tamaño del equipo (ya que se mantiene una velocidad de fermentación constante), construcciones, costo de mano de obra, tiempo de inactividad (derivado del llenado, limpieza, stand-by), costos de limpieza, enfriamiento necesario (sin picos en la formación de calor) y pérdidas de producto (Virkejärvi, Vainikka, Virtanen, & Home, 2002)

El efecto global es que siempre trabaja una alta concentración de levadura en su etapa más productiva, comparada con el proceso por lotes. La desventaja principal de este proceso recae en la limpieza de los equipos, ya que, en un proceso continuo, los equipos tienen el potencial de funcionar durante un año o más y en este lapso, no es posible realizar limpieza (Campbell, 2007).

II.2.4. Tipos de fermentadores

Durante la fermentación cervecera por lotes, las levaduras regulan su metabolismo con respecto a las necesidades internas cambiantes, y las ajustan al entorno externo que cambia gradualmente; por ejemplo, el oxígeno disuelto y la disminución de líquido del sustrato. Tal control se ejerce a nivel de la expresión génica, mediada por la composición del metabolito intracelular y la dinámica de la membrana, dando como resultado la absorción secuencial de nutrientes tales como azúcares fermentables y aminoácidos del mosto y alteraciones en las actividades de diferentes vías metabólicas (Jones & Pierce, 1964). Por otro lado, las células inmovilizadas en estado estable en un sistema continuo no están expuestas a alteraciones significativas en el entorno de reacción (Masschelein & Andries, 1995).

En contraste, en la población microbiana en los sistemas continuos carece de fases de crecimiento estables lo que implica un constante cambio en comparación con el sistema por lotes (Brányik, Vicente, & Dostálek, 2005). Para lograr un sistema continuo, es posible imitarlo con una serie de reactores de tipo RFP (flujo pistón) o RCTA (tanque agitado) (Inoue, 1995). Por lo tanto, como se explicó anteriormente los sistemas completos involucran dos o más recipientes de fermentación donde se logra el equilibrio correcto de compuestos de sabor en la cerveza al controlar temperatura, oxígeno disuelto y otros niveles de sustrato en los reactores. Para la implementación de un proceso de fermentación cervecera de tipo continuo, es común encontrar reactores verticales tipo "air-lift" (Figura 2.4), o de lecho empacado (RLE) (Figura 2.5), o de lecho fluidizado (RLF) o de tipo loop.

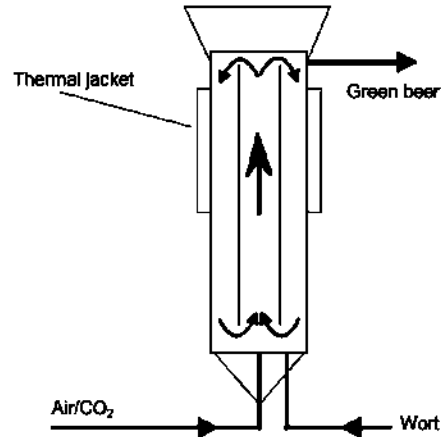


Figura 2.4. Reactor Labbat de tipo "Air Lift" (Mensour, Margaritis, Briens, Pilkington, & Russel, 1995).

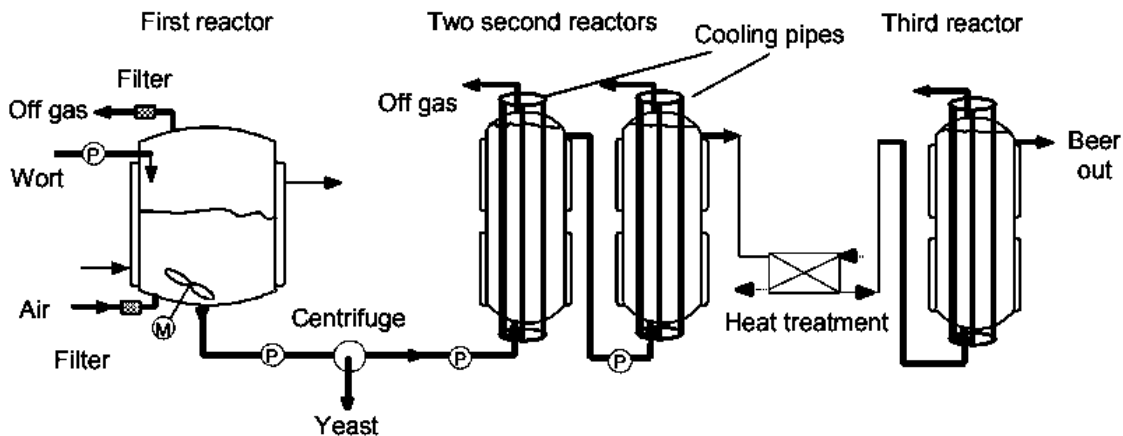


Figura 2.5 Proceso de producción de la compañía cervecera Kirin, Japón. Utilizando 3 biorreactores para fermentación rápida de cerveza tipo lager y un tercer biorreactor de lecho empacado con levadura inmovilizada para maduración. (Yamauchi & Kashihara, 1995).

II.2.5. Inmovilización de levadura

La producción continua de etanol por fermentación ha sido muy estudiada para reducir costos de producción (Diniz Santos, y otros, 2015), sin embargo, no es el único proceso para el cual es necesario la utilización de células inmovilizadas, existen numerosos procesos biotecnológicos que requieren del conocimiento de estas técnicas para facilitar la manipulación de las células

(Mamvura, Iyuke, Sibanda & Yah, 2012). La inmovilización celular se encuentra comúnmente dividida en 4 categorías, las cuales son:

- (1) Fijación o adsorción sobre soportes sólidos
- (2) Atrapamiento dentro de una matriz porosa
- (3) Agregación natural por floculación
- (4) Entrecruzamiento artificial inducido por agentes y/o contención celular detrás de barrera.

Históricamente se han utilizado levaduras inmovilizadas en diversos materiales como perlas de κ -carragenina, alginatos, kitosano, poliacrilamidas y materiales poliméricos usados en forma de gel, soportados alrededor de la célula (Willaert & Baron, 1996). Por otro lado, la floculación es de las técnicas preferidas a la hora de pensar en una inmovilización debido a la simplicidad que requiere y el bajo costo que representa dándole cierta ventaja contra la utilización de materiales de soporte como las otras técnicas de las que se habló anteriormente (Mamvura, Iyuke, Sibanda, & Yah, 2012).

La inmovilización de células de levadura en varios tipos de soporte puede proporcionar una alta densidad de células en el reactor, lo que provoca tiempos de residencia cortos al combinarla con valores elevados de flujo.

A fin de minimizar la pérdida de levadura y evitar que existan cambios en el sabor debido a los materiales utilizados como soportes, se sintetizaron biocatalizadores por adhesión utilizando diversos soportes:

- Brányik (2004) logró retención de células de levadura en bagazo de cerveza; sin embargo, este método no es óptimo para fermentaciones, ya que la levadura se incrustó en los huecos del soporte, formándose una unión levadura-soporte poco estable.
- Yu (2007) utilizó como soporte bagazo de sorgo, pero al igual que en el caso anterior, su adhesión se realizó en los huecos del soporte, dando como resultado que la unión fuese poco estable.
- Otros estudios han utilizado partes de frutos como soporte, tales como pedazos de manzana (Kourkutas, 2004) y cascaras de naranja (Plessas, 2007). En estos soportes no se logra inmovilizar la cantidad de levadura

deseada, y exhiben la desventaja de que al ser productos perecederos su reutilización está limitada, y pueden dar sabor a la cerveza.

- En un trabajo reciente se utilizaron nanotubos de carbono funcionalizados como inductores de floculación de la levadura por adhesión; estos flóculos fueron utilizados en fermentación cervecera continua, y no alteraron el sabor del producto terminado (Marquez, 2015).

A pesar de ser posible la utilización de matrices de soporte para las levaduras, también se pueden utilizar cepas de levadura floculantes, el uso de procesos continuos que las incorporan comenzó en la década de 1980 (Viegas & Andrietta, 2002). Los rendimientos alcanzados en este tipo de procesos suelen ser altos, ya que es posible operar con alta concentración de células al interior del reactor (Andrietta, Seckelberg, & Andrietta, 2008).

II.3. Modelos de la fermentación cervecera

El crecimiento microbiano es un proceso que presenta ciertas dificultades al momento de realizar su modelado, dadas las múltiples interacciones que se presentan entre el medio y las células, además de la gran cantidad de reacciones bioquímicas que se llevan a cabo derivadas de esta actividad celular (Astudillo, 2010). A lo largo del tiempo se han llegado a realizar diversos modelos conceptuales y matemáticos con el fin de describir estos procesos biológicos, logrando clasificar a los modelos de acuerdo con la estructura de las células o a la distribución de la población celular. La clasificación general incluye:

- a) Modelos no-estructurados
- b) Modelos estructurados y
- c) Modelos segregados

II.3.1. Modelos no estructurados

Los modelos no-estructurados son los más simples al momento de describir el crecimiento microbiano, ya que se asume que las células son un compuesto en solución que interactúa con el ambiente, sin tomar en cuenta la estructura

interna celular ni la diversidad de la población. La masa celular se describe por una sola variable, que corresponde a la concentración de biomasa total (Astudillo, 2010).

Existen diversos tipos de modelos matemáticos que permiten simular la dinámica de la fermentación de cerveza; con ellos es posible predecir algunas variables durante el proceso de fermentación, tales como concentración de etanol, sustratos y ésteres por citar algunas (Hepworth et al., 2003). Para generar un buen modelo es necesario tomar en consideración parámetros importantes de la fermentación, por ejemplo azúcares, biomasa, etanol y subproductos. También existen modelos más complejos que incluyen evaluación tanto de aroma como de sabor y permiten distinguir entre tipos de cervezas. Estos modelos proveen bastante información y buenas bases para la optimización de los procesos fermentativos (Ramírez & Maciejowski, 2007).

De acuerdo con los modelos siguientes, es posible implementar un modelo dinámico basado en la producción industrial para predecir el comportamiento de las variables que influyen en el proceso de producción de cerveza artesanal (Garduño-García et al., 2014).

Modelo de Trelea y col. (2001)

Este modelo propone tres modelos dinámicos de fermentación de cerveza a escala laboratorio: uno basado en el conocimiento biológico de la fermentación, un modelo empírico basado en curvas experimentales, y un modelo de caja negra que se basa en una red neural artificial. Estos modelos toman en cuenta la temperatura, la presión en la parte superior del fermentador, y la concentración inicial de la levadura; y permiten predecir la densidad del mosto, la concentración de azúcar residual y la concentración de etanol a partir de la cantidad de dióxido de carbono liberado.

Los modelos dinámicos considerados en esta investigación son de la forma (Eq. 2.1):

$$\frac{dC(t)}{dt} = f(C(t), T(t), P(t), X_0) \quad (2.1)$$

Y para el caso de tiempo continuo (Eq. 2.2):

$$C(t + \tau) = g(C(t), T(t), P(t), X_0) \quad (2.2)$$

Aquí, f y g son funciones no lineales, t el tiempo, τ el intervalo de muestreo, C la cantidad generada de CO_2 , T temperatura, P la presión superior y X_0 la concentración inicial de levadura.

Se presentan las relaciones entre el consumo de azúcares fermentables (Eq. 2.4), producción de etanol (Eq. 2.5), disminución de la densidad y CO_2 - generado durante la fermentación alcohólica (Pandiella, García, Diaz, & Daoud, 1995).

$$S(t) = S_0 - Y_{S/C} C_p(t) \quad (2.4)$$

$$E(t) = Y_{E/C} C_p(t) \quad (2.5)$$

Aquí:

C_p representa la producción de CO_2 .

S representa la concentración de azúcares fermentables.

S_0 indica la concentración inicial de azúcar.

E concentración de etanol.

$Y_{S/C}$ & $Y_{E/C}$ coeficientes de rendimiento constante.

En la cervecería la concentración de los azúcares fermentables (S) es expresada en términos de la densidad del mosto (D); se ha observado que existe una correlación lineal entre la producción de CO_2 y la disminución de la densidad (Eq. 2.6).

$$D(t) = D_0 - Y_{D/C} C_p(t) \quad (2.6)$$

Aquí:

D_0 densidad inicial del mosto

$Y_{D/C}$ coeficiente de rendimiento

Finalmente la cantidad de CO₂ generado por litro de mosto y la concentración final de etanol son proporcionales a la concentración inicial de azúcares fermentables.

I. Modelo de conocimiento biológico

Este tipo de modelos consisten en un grupo de ecuaciones matemáticas que describen los procesos ocurridos durante la fermentación del mosto (principales rutas metabólicas, limitación y/o inhibición del crecimiento, etc.). Una de las principales ventajas que presenta este modelo es explicar los fenómenos biológicos, sin embargo su estructura es sumamente compleja y difícil de verificar y validar. Este modelo (Eq. 2.7) describe a través de la cantidad de CO₂ producido el crecimiento de la levadura y el efecto de la inhibición del etanol.

$$\frac{dC_p(t)}{dt} = v_{max} \frac{S(t)}{K_s + S(t)} \frac{1}{1 + K_I E^2(t)} (C_p(t) + C_0 X_0), \quad C_p(0) = 0 \quad (2.7)$$

Aquí:

v_{max} tasa máxima de producción de CO₂

K_s (Constante de Monod) Representa el efecto de saturación del sustrato.

K_I Constante de Inhibición por etanol

$v_{max} C_0 X_0$ representa la tasa de producción inicial de CO₂ y X_0 la concentración inicial de levadura.

II. Modelo empírico:

Está basado en la observación de las gráficas de producción de CO₂ y la similitud que presentan en 3 fases características (Fig. 2.6). El área bajo la curva representa la cantidad total de CO₂ producido. Es proporcional a la cantidad inicial de azúcares fermentables en el mosto y no depende de las condiciones de operación (presión, temperatura, concentración de levadura). Éste modelo empírico está representado en la ecuación 2.8.

$$\frac{dC_p(t)}{dt} = k_1[1 - (1 - k_2X_0)e^{-k_3C_p(t)}]e^{-k_4C_p(t)}[1 - e^{-k_5(C_p(t)-C_f)}]e^{k_6T_n(t)}e^{k_7P_n(t)}e^{k_8X_{0,n}} \quad (2.8)$$
$$C_p(0) = 0$$

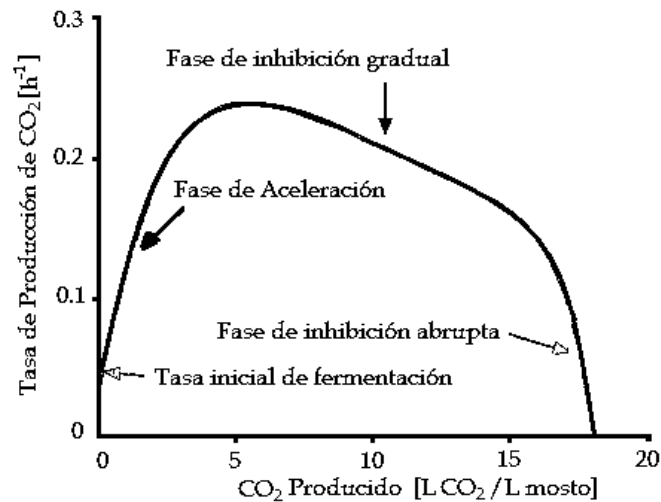


Figura 2.6 Aproximación de una cinética de fermentación por un producto de factores simples, en condiciones de temperatura y presión constantes. La velocidad de fermentación inicial depende de la concentración inicial de levadura. La fase de aceleración se debe al crecimiento de la levadura. La fase de inhibición gradual se debe a la acumulación de etanol. La fase de inhibición abrupta refleja la limitación del sustrato.

III. Modelo de caja negra (red neural):

La capacidad de las redes neuronales para aproximar cualquier función multivariante "razonable" se puede usar para construir modelos dinámicos no lineales de tiempo discreto (Narendra & Parthasarathy, 1990) (Acuna, Latrille, Beal, & Corrieu, 1998).

Modelo de Xiao y col. (2004)

Estos autores construyeron una serie de perfiles de temperatura durante un periodo determinado de tiempo, para seleccionar el perfil adecuado que permita maximizar la producción de etanol y reducir al mínimo la concentración de subproductos que favorecen deterioro del producto.

Modelo de Engasser y col. (1981)

Este modelo toma en cuenta el metabolismo de la levadura, e incluye una cinética relativamente simple sobre la asimilación de varios tipos de azúcares. Este modelo fue modificado posteriormente por Gee y Ramírez (1988), incluyendo efectos de la temperatura y suponiendo la existencia de tres tipos de azúcar en el mosto: glucosa, maltosa y maltotriosa.

Modelo de Gee y Ramírez (1994)

Unos años más tarde Gee y Ramírez (1994) desarrollaron un nuevo modelo de fermentación cervecera que puede subdividirse en un modelo de crecimiento, un modelo de aminoácidos y un modelo de sabor-aroma; los resultados presentados sugieren buena capacidad de describir con precisión la dinámica de la fermentación de cerveza por lotes.

Modelo de crecimiento:

Se consideran 3 azúcares básicos para el consumo de glucosa (Eq. 2.8), maltosa (Eq. 2.9) y maltotriosa (Eq. 2.10):

$$\text{Glucosa} \quad \frac{dG}{dt} = -\mu_1 X \quad (2.8)$$

$$\text{Maltosa} \quad \frac{dM}{dt} = -\mu_2 X \quad (2.9)$$

$$\text{Maltotriosa} \quad \frac{dN}{dt} = -\mu_3 X \quad (2.10)$$

Las tasas de crecimiento específicas se dan a continuación permitiendo percibir que la glucosa inhibe el crecimiento de la maltosa (Eq. 2.12) y a su vez maltosa y glucosa inhiben el crecimiento de la maltotriosa (Eq. 2.13).

$$\mu_1 = \frac{\mu_G G}{K_G + G} \quad (2.11)$$

$$\mu_2 = \frac{\mu_M M}{K_M + M} \frac{K'}{K'_G + G} \quad (2.12)$$

$$\mu_3 = \frac{\mu_N N}{K_N + N} \frac{K'_G}{K'_G + G} \frac{K'_M}{K'_M + M} \quad (2.13)$$

La dependencia de estas tasas específicas de crecimiento de la temperatura se muestran en las ecuaciones 2.14, 2.15 y 2.16.

$$\mu_i = \mu_{i0} \exp\left[-\frac{E_{\mu i}}{RT}\right], \quad i = G, M, N \quad (2.14)$$

$$K_i = K_{i0} \exp\left[-\frac{E_{K i}}{RT}\right], \quad i = G, M, N \quad (2.15)$$

$$K'_i = K'_{i0} \exp\left[-\frac{E'_{\mu i}}{RT}\right], \quad i = G, M, \quad (2.16)$$

La tasa de producción de biomasa (Eq. 2.17) incluye un termino de inhibición en la concentración de biomasa.

$$\frac{dx}{dt} = \mu_X x \quad (2.17)$$

Aquí:

$$\mu_X = (Y_{XG}\mu_1 + Y_{XM}\mu_2 + Y_{XN}\mu_3) \frac{K_X}{K_X + (X - X_0)^2} \quad (2.18)$$

La producción de etanol se supone que es proporcional a la cantidad de azúcar consumida (Eq. 2.19).

$$E = E_0 + Y_{EG}(G_0 - G) + Y_{EM}(M_0 - M) + Y_{EN}(N_0 - N) \quad (2.19)$$

La temperatura (T) del lote está dada por un balance de energía (Eq.2.20) que incluye los efectos del calor de reacción y la capacidad de enfriamiento que se controla en el proceso.

$$\frac{dT}{dt} = \frac{1}{\rho c_p} \left(\Delta H_{FG} \frac{dG}{dt} + \Delta H_{FM} \frac{dM}{dt} + \Delta H_{FN} \frac{dN}{dt} - u(T - T_c) \right) \quad (2.20)$$

Aquí u es la variable de control de la tasa de enfriamiento, y T_c es la temperatura del refrigerante.

Modelo de Cramer y col. (2002)

Existe un modelo mecanicista para la fermentación del vino, que permite predecir las curvas de utilización de azúcar, y se basa datos experimentales de fermentaciones de vino con varias concentraciones iniciales tanto de nitrógeno como de azúcar en el mosto (Cramer, Vlassides, & Block, 2002). En este modelo se analiza el crecimiento celular de la levadura limitado por nitrógeno, la asimilación de azúcares, y la producción de etanol. El modelo predice la transición de la fermentación normal a una fermentación lenta o estancada a medida que disminuyen los niveles iniciales de nitrógeno e indica que las fermentaciones con altos niveles iniciales de azúcar, pueden completarse cuando se complementan con nitrógeno en forma amoniacal.

Los datos experimentales mostraron que existe un aumento proporcional en la concentración máxima de células cuando el nitrógeno inicial aumenta a aproximadamente 140 mg/ml (para el mosto utilizado en esa investigación). Posterior a ello, el nitrógeno ya no es un nutriente limitante en el mosto, es decir, la concentración máxima de células ya no tiene aumento al incrementarse la concentración de nitrógeno. Esto significa que la baja concentración de nitrógeno conduce a un número menor de células en el cultivo.

Primero se derivó una expresión para la concentración de células viables, X_v (Eq. 2.21):

$$\frac{dX_v}{dt} = \mu X_v - k_d X_v \quad (2.21)$$

Aquí μ está dada como una relación de Monod con respecto a la concentración total de nitrógeno, como se describe en la ecuación 2.22:

$$\mu = \frac{\mu_{max} N}{K_N + N} \quad (2.22)$$

k_d representa la constante de inhibición (Eq. 2.23) de la levadura y está linealmente relacionada con la concentración de etanol, E, para cualquier tiempo dado durante la fermentación.

$$k_d = k'_d E \quad (2.23)$$

Como se mencionó anteriormente en este modelo se propone al nitrógeno como reactivo limitante de forma tal que la concentración total de nitrógeno es utilizada proporcionalmente al crecimiento celular como es posible observar en la ecuación 2.24:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{\mu X_v}{Y_{X/N}} \quad (2.24)$$

Aquí, $Y_{X/N}$ es el coeficiente de rendimiento de biomasa en nitrógeno.

Como el consumo de azúcar (Eq. 2.26) y la producción de etanol (Eq. 2.25) comienzan justo antes del cese en el crecimiento celular exponencial, la producción de etanol en este modelo es considerada como una bioconversión estequiométrica no asociada al crecimiento (Luedeking & Piret, 1959), del azúcar a etanol:

$$\frac{dE}{dt} = \beta X_v \quad (2.25)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\beta X_v}{Y_{E/S}} \quad (2.26)$$

Aquí, $Y_{E/S}$ es el coeficiente estequiométrico que describe la formación de etanol a partir de azúcar y β está dada en función de la concentración de azúcar, S (Eq. 2.27).

$$\beta = \frac{\beta_{max}S}{K_S + S} \quad (2.27)$$

Esta forma de tasa específica de producción de etanol o tasa de utilización de azúcar es consistente con observaciones previas de que el transporte de azúcar en *Saccharomyces cerevisiae* se realiza por difusión facilitada y puede describirse por este tipo de relación.

II.3.2. Modelos estructurados

En los modelos estructurados, se considera la estructura de la biomasa, y esto se describe con más de una variable (Lei, Rotboll, & Jorgensen, 2001). Este tipo de modelos se clasifican en modelos simples o mecanísticos (Astudillo, 2010).

- a) Modelos estructurados simples: incorporan cualitativamente algunos mecanismos básicos del comportamiento celular. En este tipo de modelos, los componentes de la biomasa se juntan en algunas variables clave que son representativas del comportamiento celular.
- b) Modelos estructurados mecanísticos: son un tipo de modelo más complejo, por lo general se utilizan para estudiar por separado procesos específicos de las células. Se formulan a nivel molecular, y permiten analizar cuantitativamente interacciones entre diferentes componentes del sistema.

II.3.3. Modelos segregados

Los modelos segregados tienen en cuenta que la población celular es heterogénea. Las células individuales en la población se describen por solo una variable (masa celular o edad celular). Estos modelos se aplican a sistemas microbianos en los cuales se observa que la diferenciación de las células juega un papel importante en el desempeño global del cultivo y que las cinéticas de crecimiento y la productividad del cultivo son afectadas por más de un tipo de célula (Astudillo, 2010). Estos sistemas se caracterizan por formular una propiedad importante de las células, por ejemplo, la edad celular.

Un modelo cinético que considera que la biomasa está constituida por tres tipos diferentes de células, las cuales se identifican como lag (X_{lag}), activas (X_{act}) y muertas (X_{dea}) (Andrés-Toro, y otros, 1998). Éstas se inoculan para la formación del mosto, las cuales durante el proceso presentan el comportamiento que se muestra en la Figura 2.7. El modelo cinético propone tomar en cuenta 5 respuestas: crecimiento de biomasa (X), consumo de sustrato (C_s), producción de etanol (C_e), producción de diacetil (C_{dy}) y etil acetato (C_{ea}). Los resultados obtenidos en comparación con sus experimentos exhiben ajustes muy buenos (Figura 2.8).

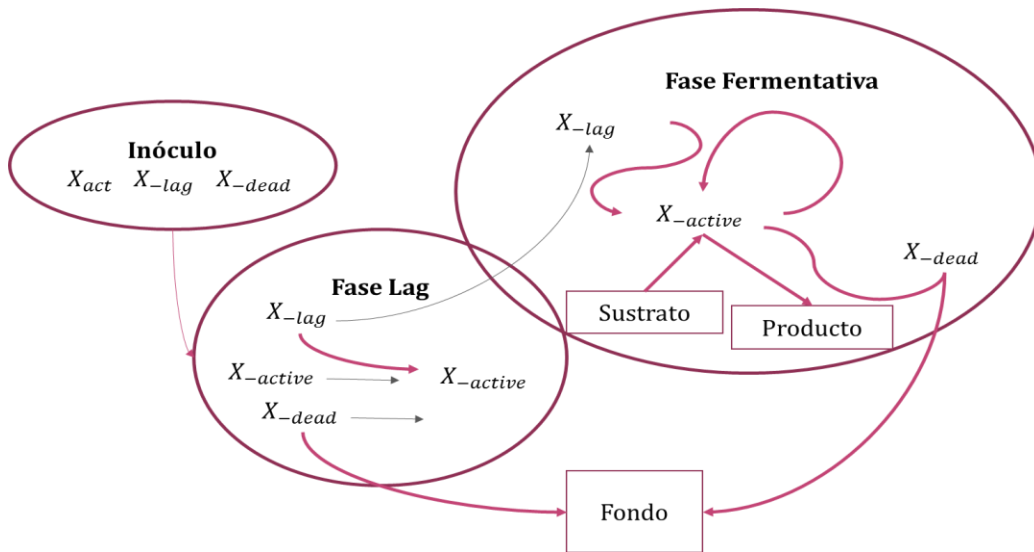


Figura 2.7. Esquema del proceso considerado en el modelo propuesto por del Toro y colaboradores.

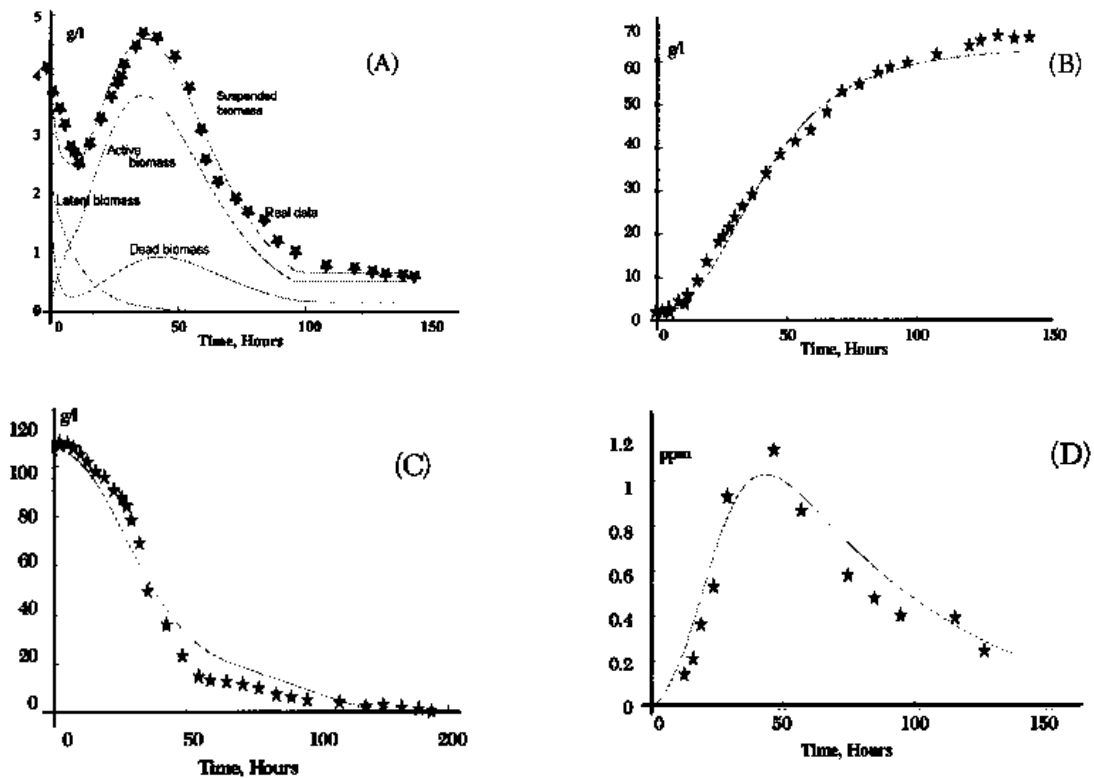


Figura 2.8. Resultados presentados por Andrés del Toro y otros (1998).
 A) crecimiento de biomasa y evolución de los 3 tipos de células a lo largo del proceso de fermentación. B) producción de etanol. C) consumo de azúcar total. D) Producción de diacetil. Las estrellas muestran puntos experimentales y las líneas continuas la predicción del modelo.

II.3.4 Modelos cinéticos no estructurados (para operaciones en continuo)

Las simulaciones numéricas se utilizan para la corroboración de los análisis teóricos y sirven para establecer las condiciones requeridas para pasar de un proceso discontinuo (Por lotes) a un proceso continuo de manera equivalente (Velázquez-Sánchez et al., 2018).

La expresión más utilizada al momento de modelar sistemas biológicos es la ecuación de monod, que reporta buenos resultados para numerosas situaciones en estado estable. Sin embargo, ésta expresión no se ajusta a los datos de todos los procesos fermentativos (Nielsen, Nikolajsen, & Villadsen, 2004). Por esta razón, varios autores han modificado la ecuación para mejorar su ajuste a los diferentes casos particulares. La ecuación de Monod no aproxima bien cuando ocurre inhibición por sustrato y/o producto. Dada esta situación es que se han formulado diversos modelos que incorporan cinéticas con la parte de inhibición (Astudillo, 2010)

El problema más importante en el diseño y análisis de reactores bioquímicos es el conocimiento adecuado de la cinética de la velocidad de reacción (Froment, 2011). El conocimiento de las velocidades de reacción permite diseñar, optimizar, controlar y operar satisfactoriamente estos procesos.

A lo largo del tiempo se han considerado varias metodologías para la identificación de modelos cinéticos, desde los enfoques clásicos (Levenspiel, 1972) hasta las técnicas de optimización más complejas que permiten llevar a cabo la determinación de un conjunto de parámetros que se ajusten a los conjuntos de datos experimentales que se tengan (Froment, 2011).

Una práctica común en ingeniería bioquímica para la determinación de un modelo cinético de un sistema de reacción específico es obtener datos de concentración de series de tiempo de experimentos discontinuos (Por lotes), éstos datos se ajustan utilizando alguna clase de modelos no estructurados como los que se mencionarán más adelante (Bailey & Ollis, 1986).

Una vez ajustados los parámetros, se selecciona el modelo con el mejor rendimiento en base a medidas experimentales. Para la discriminación del modelo cinético generalmente se considera que los criterios estadísticos y probabilísticos aceptan o descartan algunos modelos (Hosten & Froment, 1976).

En este trabajo se considerará que la tasa de crecimiento de biomasa utilizando modelos cinéticos no estructurados desarrollados por Aiba (1982), Andrew (Okpokwasili & Nweke, 2005), Haldane (Versyck, Claes, & Van-Impe, 1997) Luong (1987) y Moser (1981); descritos en la (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Modelos cinéticos no estructurados utilizados para la evaluación de parámetros (Velázquez-Sánchez, H.I.; Maya-Yescas, R.; Aguilar-López, R., 2018).

Modelo	Ecuación
Aiba	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)(1 + \frac{S}{k_i})} \quad (2.28)$
Andrew	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} (1 - \frac{S}{Sm})^n \quad (2.29)$
Haldane	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \quad (2.30)$
Luong	$\mu = \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} \quad (2.31)$
Moser	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{\frac{-S}{k_i}} \quad (2.32)$

Aunado a ello, se incluirá el modelo con "inhibición mixta" (Eq. 2.33), propuesto por Andrew y Levenspiel (Ribas, Hurtado, Domenech, & Sabadí, 2007):

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{is}}} (1 - \frac{P}{P_{max}})^n \quad (2.33)$$

II.4. Crecimiento celular y Biorreactores

En la biosíntesis, las células, también llamadas *biomasa*, consumen nutrientes para crecer, así como para producir más células y productos importantes. Internamente la célula usa sus nutrientes para producir energía y más células, sin embargo, este proceso se lleva a cabo en etapas. Las etapas del crecimiento celular se esquematizan en las siguientes figuras (Figura 2.9 y Figura 2.10).

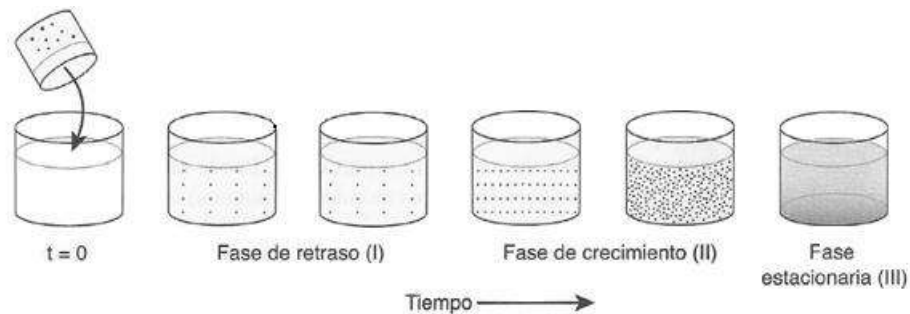


Figura 2.9. Etapas del crecimiento celular e Incremento en la concentración de biomasa.

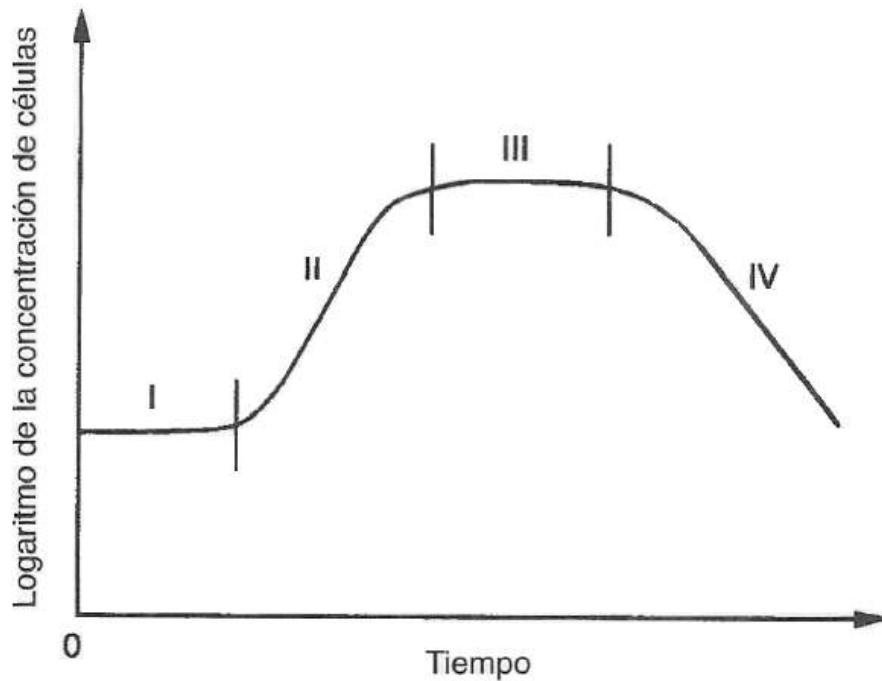


Figura 2.10. Gráfica de las fases del crecimiento de células bacterianas

- Fase I

También conocida como fase de retraso, existe muy poco aumento en la concentración celular. Esto es debido al ajuste que presentan las células recién sembradas, a su nuevo entorno, sintetizando enzimas y preparándose para comenzar a reproducirse. La duración de la fase de retraso depende del medio de crecimiento, del cual haya sido tomado el inóculo en relación con el medio de reacción en el que se coloque. Si el inóculo es similar al medio del reactor intermitente, la fase de retraso será prácticamente inexistente. Si no es de esta manera, o las células se encuentran en fase estacionaria o de muerte, éstas tendrían que reajustar su trayectoria metabólica para poder consumir los nutrientes de su nuevo entorno.

- Fase II

Fase de crecimiento exponencial, esta etapa recibe este nombre debido a que la tasa de crecimiento es proporcional a la concentración de las células. En esta fase, las células se dividen al máximo de velocidad porque se efectúan todas las vías enzimáticas para metabolizar el sustrato (como resultado de la fase de retraso) y las células pueden emplear los nutrimentos de manera más eficiente.

- Fase III

Es la fase estacionaria, durante la cual las células alcanzan un mínimo de espacio biológico, en el que la falta de uno o más nutrientes limitan el crecimiento celular. Durante la fase estacionaria, la velocidad neta de crecimiento es cero como resultado del agotamiento de nutrientes y metabolitos esenciales. En esta fase se produce la mayoría de los productos más importantes de fermentación. El crecimiento celular también se hace más lento por acumulación de ácidos orgánicos y materiales tóxicos generados durante la fase de crecimiento.

- Fase IV

Es la fase final o fase de muerte; en ella ocurre la reducción de la concentración de células vivas. Dicha reducción es resultado de los subproductos tóxicos, sus condiciones ambientales hostiles, el agotamiento del suministro de nutrientes o todos de ellos.

Principales características de los procesos microbianos (Walas, Couper, Penney, & Fair, 2012):

- a) Medio de reacción acuoso
- b) Se generan productos en baja concentración raramente más del 5-10% para productos
- c) Los microorganismos requieren de una temperatura que oscila en el intervalo de 10-60°C
- d) Con excepción del proceso de etanol para consumo humano, la escala de los procesos comerciales es modesta.
- e) Es común la utilización de control por computadora para poder abarcar todas las condiciones a regular

Fermentación industrial se le considera a cualquier proceso donde se utilizan microorganismos que generan como resultado productos útiles. Estos microorganismos pueden ser, mohos, levaduras, algas y bacterias (Walas, Couper, Penney, & Fair, 2012). En muchos aspectos, el procesamiento bioquímico es muy similar al procesamiento químico ordinario, por lo tanto un biorreactor es en general un reactor que brinda soporte y sostén a la vida celular y cultivo de tejidos (Fogler, 2008). Todas las actividades de los

microorganismos en un biorreactor, que finalmente conducen a un aumento de la biomasa o a la formación de un producto deseado, están relacionadas con su ambiente (como se menciona anteriormente), mediante la transferencia de masa hacia y/o desde el microorganismo y por la disipación del calor (Merchuk & Asenjo, 1994).

El fermentador de tanque agitado es el tipo más importante de biorreactor para procesos industriales de producción (Merchuk & Asenjo, 1994) y para el manejo de microorganismos (Walas, Couper, Penney, & Fair, 2012). Los tamaños estándar de tales unidades varían de 50 a 1000L de capacidad.

Algunas ventajas y desventajas del uso de un reactor de tipo tanque agitado (CSTR, por sus siglas en inglés) son las siguientes:

Ventajas

- Es relativamente barata su construcción.
- Presenta facilidad de control de la temperatura en cada etapa, ya que cada una opera en un estado estacionario; la superficie de transferencia de calor puede ser provista fácilmente.
- Es relativamente fácil de limpiar y mantener.
- Es posible obtener un rendimiento casi predecible de acuerdo con el comportamiento del modelo, manteniendo una agitación eficiente y una viscosidad adecuada.

Desventajas

La desventaja más obvia es, en principio la que se deriva del hecho de que la corriente de salida mantiene la misma concentración que la del contenido del reactor. Lo que implica que todas las reacciones tienen lugar a la concentración más baja, entre la entrada y la salida. En cinéticas "normales", donde la velocidad de reacción ($-r_a$) disminuye a medida que disminuye la concentración inicial de A (C_A), significa que es necesario un mayor volumen de reactor para obtener una conversión deseada.

Reactores CSTR con recirculación

La adición de un separador de células y una corriente de reciclo que contiene células concentradas a un CSTR, se puede usar para aumentar la biomasa y el

rendimiento del producto en unidad de volumen del reactor por unidad de tiempo. Este arreglo se puede entender de acuerdo con la figura 2.11; donde: F_0 y F_r son los flujos volumétricos de alimentación y reciclo respectivamente, x_0 , x_1 y x como las concentraciones de biomasa del reactor, la corriente de reciclo y la corriente de producto, respectivamente. Estas concentraciones a menudo difieren, (debido a un separador, como un depósito de sedimentación, por ejemplo), en el punto donde se divide la corriente de efluente del reactor. Como sugieren las ecuaciones 2.34 y 2.35.

$$a = \frac{F_r}{F_0} \quad (2.34)$$

$$b = \frac{x_0}{x_1}, \quad (2.35)$$

La ecuación 2.36 describe la conservación de biomasa en estado estable para el sistema con reciclo.

$$F_r x_0 + \mu x_1 V_R - (F_0 + F_r) x_1 = 0 \quad (2.36)$$

De manera que la tasa de dilución general $D = \frac{F_0}{V_R}$, se convierte en la ecuación 2.37:

$$D = \frac{\mu}{1 - a(b - 1)} \quad (2.37)$$

Ya que los microorganismos en la corriente de reciclo generalmente se encuentran más concentrados que en el efluente del reactor ($b > 1$), se puede observar que, gracias a la corriente de recirculación, la tasa de dilución es mayor que la tasa de crecimiento específica del organismo. Por tanto, cuando se tienen organismos que crecen al mismo ritmo el uso de una corriente de reciclo, permite procesar más material de alimentación por unidad de tiempo y volumen del reactor que en el caso de no recircular. Esta característica del reciclo, se usa con gran ventaja en los procesos de tratamiento de residuos biológicos (Bailey & Ollis, 1986).

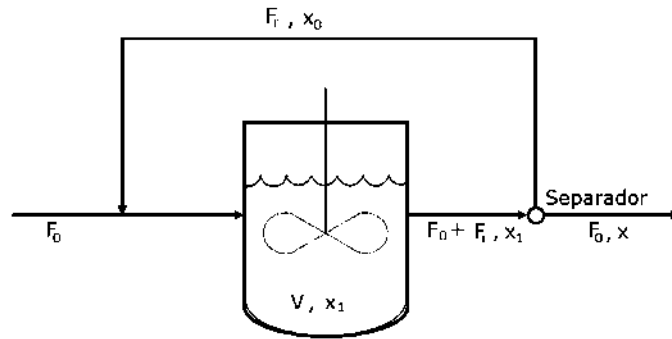


Figura 2.11. Diagrama de reactor CSTR con recirculación

Capítulo III. Metodología

La metodología que se llevó a cabo en esta investigación (Figura 3.1) Logró el desarrollo de un modelo cinético a partir de los resultados obtenidos previamente en el equipo de trabajo; mediante la utilización de diversos modelos ya existentes, que permitieron generar los parámetros necesarios para la determinación de las cinéticas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y producción de etanol.

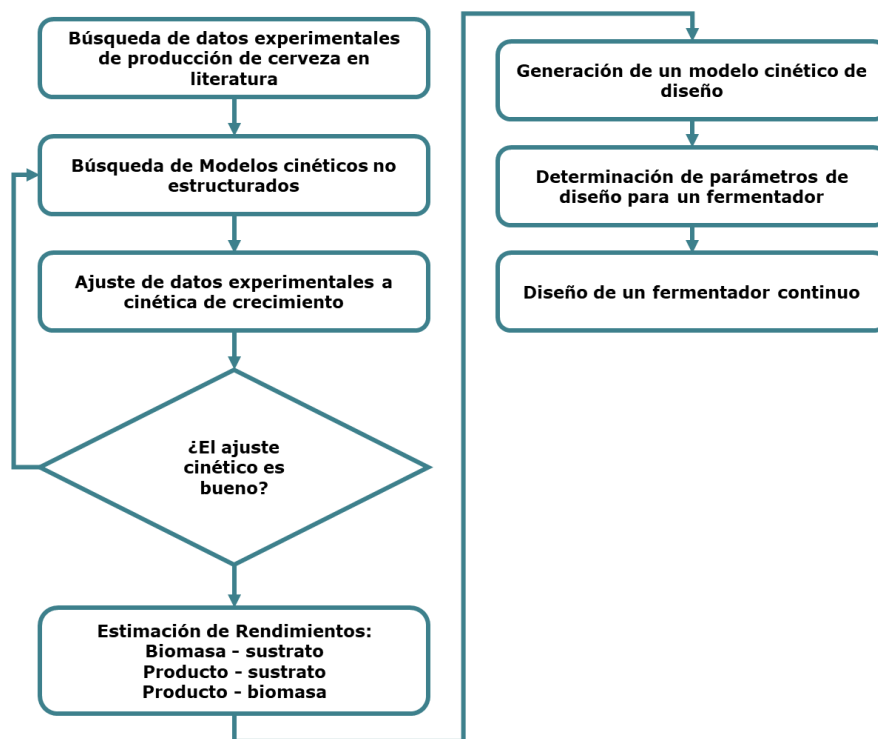


Figura 3.1. Diagrama de Flujo Lógico del Desarrollo del Proyecto de Investigación.

Capítulo IV. Resultados y Discusión

De acuerdo con los resultados experimentales obtenidos por Márquez (2015) (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Datos experimentales obtenidos por Márquez (2015). PRODUCCIÓN DE ETANOL POR *Saccharomyces cerevisiae* EN FLOCULACIÓN INDUCIDA POR ADHESIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS

Temperatura [° C]	Concentración de Nanotubos de Carbono	Azúcar inicial S_0 [g/L]	Azúcar Consumida [g/L]	Biomasa Producida [g/L]	Etanol producido [%V/V]
25° C	10 mg/L	197.46	186.66	3.8	4.96
	18 mg/L	229.55	220.92	3.2	5.46
	Testigo	192.04	181.68	4.8	9.58
30° C	14 mg/L	196.59	181.24	4.1	6.63
	Testigo	198.76	190.13	5.2	6.05
35° C	10	195.51	180.81	3.4	2.27
	18	196.56	114.25	2.8	2.98
	Testigo	227.59	209.86	5	2.40

Se tomaron los datos correspondientes a una temperatura de 30° C, debido a que presenta una producción de biomasa y etanol muy parecida a la presentada en la fermentación sin nanotubos de carbono funcionalizados, también es una condición importante debido a las condiciones de trabajo de la cepa utilizada (*Saccharomyces cerevisiae* tipo Ale, Safale US-05), que indica una temperatura de fermentación de 12-25° C, que como puede observarse en la Tabla 4.1 para la fermentación sin Ntc's a 25° C es la corrida en la que mejores resultados son obtenidos, sin embargo para este proyecto, lo importante es como se lleva a cabo la fermentación en presencia de nanotubos de carbono funcionalizados.

También se toma en consideración la tolerancia de la cepa a la concentración de etanol, la cual es de hasta 8.6 %V/V (Suárez-Machín, Garrido-Carralero, & Guevara-Rodríguez, 2016). Superando esta concentración se presenta una combinación de inhibición del crecimiento y disminución de la viabilidad de las células, por lo que no es muy recomendable terminar la fermentación con un grado alcohólico muy elevado (Riegel & Kent, 2003).

Se presentan las siguientes gráficas para crecimiento de biomasa (Figura 4.1) y consumo de sustrato (Figura 4.2).

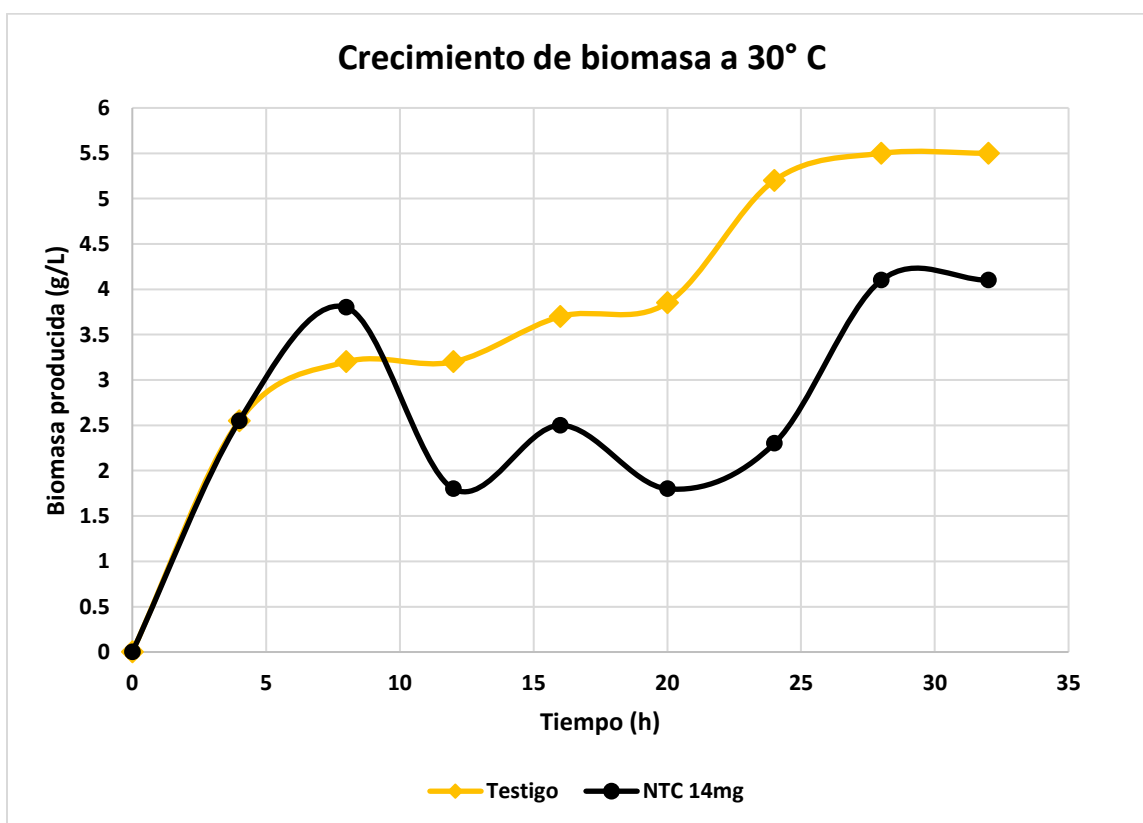


Figura 4.1. Comparativo de resultados obtenidos experimentalmente (30°C), crecimiento de biomasa sin nanotubos de carbono (testigo) vs crecimiento de biomasa con 14 mg/L de Nanotubos de carbono funcionalizados.

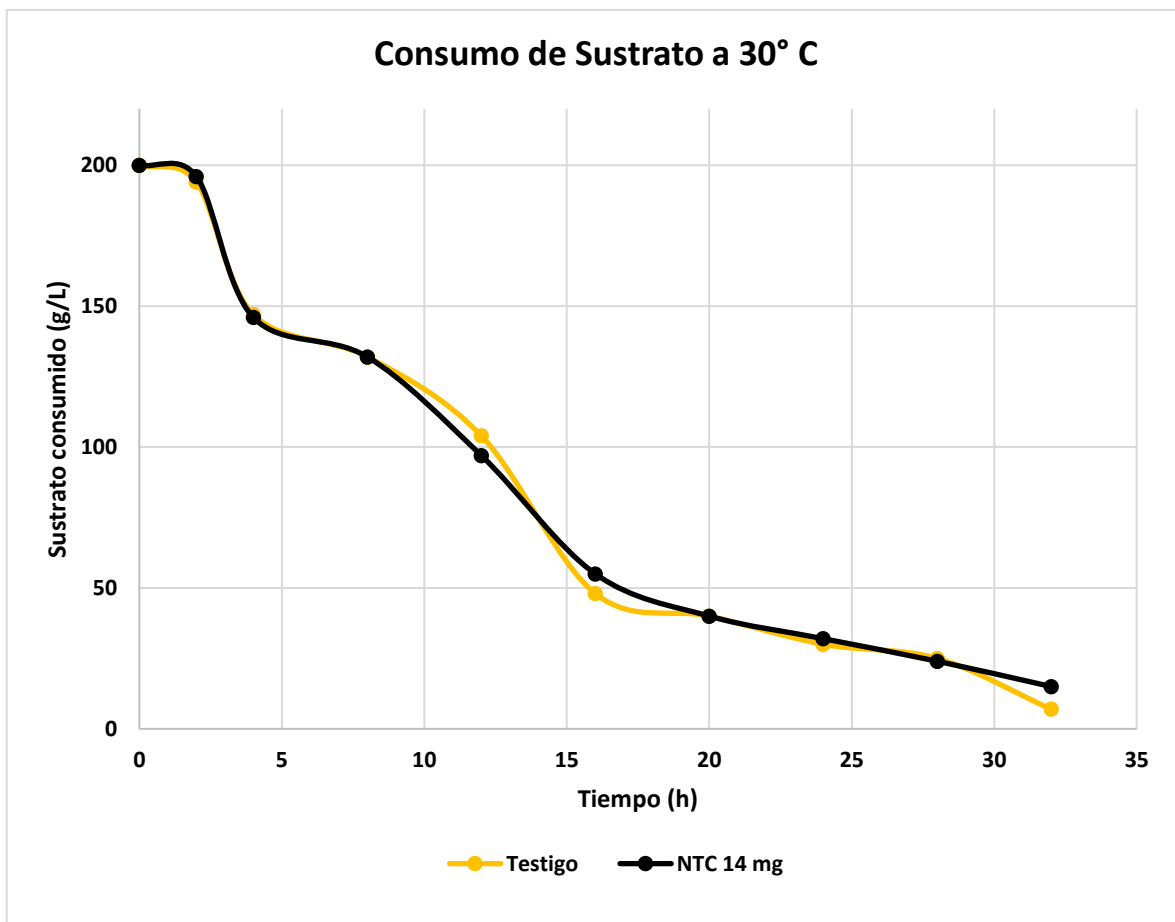


Figura 4.2. Comparativo de resultados obtenidos experimentalmente, consumo de sustrato, sin nanotubos de carbono (testigo) vs consumo de sustrato con 14 mg/L de Nanotubos de carbono funcionalizados.

En la Figura 4.1, claramente se observa una disminución considerable en la producción de biomasa, sin embargo, al momento de observar la tabla 4.2 para consumo de sustrato se observa que no hay mucha variación, aunado a ello, se supo por pruebas organolépticas que el sabor de la cerveza fermentada sin nanotubos y la que contiene nanotubos en su fermentación, no difieren en la percepción que se tiene de ellas. Se supuso entonces que, la medición de la biomasa producida a lo largo del proceso presentó ciertos errores, ya que solo fue medida la concentración presente en el sobrenadante, sin tomar en consideración la biomasa que se encontraba floculada y sedimentada.

IV.1. Ajuste de modelos cinéticos

Entre los datos experimentales previamente obtenidos (Tabla 4.2) se eligió el siguiente conjunto de valores que se desean ajustar a los modelos cinéticos previamente propuestos en la Tabla 2.1.

Tabla 4.2 Valores obtenidos de experimentación por lotes.

Temperatura ° C	Concentración de Nanotubos de Carbono funcionalizados	Azúcar inicial S₀ (g/L)	Azúcar remanente S_r (g/L)	Biomasa producida X₀ (g/L)
30	0 mg/L	198.76	8.63	5.20
	14 mg/L	196.59	15.35	4.1

El modelo de Aiba et al. (1982) (Eq. 4.2), y los parámetros que ajustan mejor a los datos experimentales se muestran en la (Figura 4.3), así como los modelos de Andrew (Okpokwasili & Nweke, 2005) (Eq. 4.3, Figura 4.4), Haldane (Versyck, Claes, & Van-Impe, 1997) (Eq. 4.4, Figura 4.5), Luong (1987) (Eq. 4.5, Figura 4.6) y Moser (1987) (Eq. 4.6, Figura 4.7). A estos modelos se les añadió el término de inhibición por producto descrito por la ecuación 4.1.

$$\left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n \quad (4.1)$$

Este término permite que el modelado tenga un mayor apego a la realidad. De manera que los modelos cinéticos no estructurados modificados se presentan en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Modelos cinéticos no estructurados utilizados para la evaluación de parámetros (Velázquez-Sánchez, H.I.; Maya-Yescas, R.; Aguilar-López, R., 2018) con término de inhibición por producto.

Modelo	Ecuación
Aiba	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)(1 + \frac{S}{k_i})} (1 - \frac{P}{P_m})^n \quad (4.2)$
Andrew	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} (1 - \frac{P}{P_m})^n \quad (4.3)$
Haldane	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} (1 - \frac{P}{P_m})^n \quad (4.4)$
Luong	$\mu = \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} (1 - \frac{P}{P_m})^n \quad (4.5)$
Moser	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{\frac{-S}{k_i}} (1 - \frac{P}{P_m})^n \quad (4.6)$

De acuerdo con las tasas de producción de biomasa, de consumo de sustrato y generación de producto descritas en las ecuaciones 2.17, 4.7 y 4.8 respectivamente, se hizo la sustitución de μ para cada uno de los modelos.

$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu x \quad (2.17)$$

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}} \right) \mu x \quad (4.7)$$

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}} \right) \mu x \quad (4.8)$$

Se sustituye el valor de μ para cada uno de los modelos presentados en la Tabla 4.3, en las ecuaciones 2.17, 4.7 y 4.8 para describir las tasas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto respectivamente.

Posteriormente con estas tasas de crecimiento, consumo y producción, se realizaron las simulaciones pertinentes a cada uno de los modelos (Figuras. 4.3 - 4.7) para realizar una comparación de los datos generados por el simulador (Polymath 6.1) contra los datos experimentales obtenidos.

IV.1.1 Modelo de Aiba

Tasa de Crecimiento de Biomasa

$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)(1 + \frac{S}{k_i})} (1 - \frac{P}{P_m})^n x \quad (4.9)$$

Tasa de Consumo de Sustrato

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)(1 + \frac{S}{k_i})} (1 - \frac{P}{P_m})^n x \quad (4.10)$$

Tasa de Generación de Producto

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)(1 + \frac{S}{k_i})} (1 - \frac{P}{P_m})^n x \quad (4.11)$$

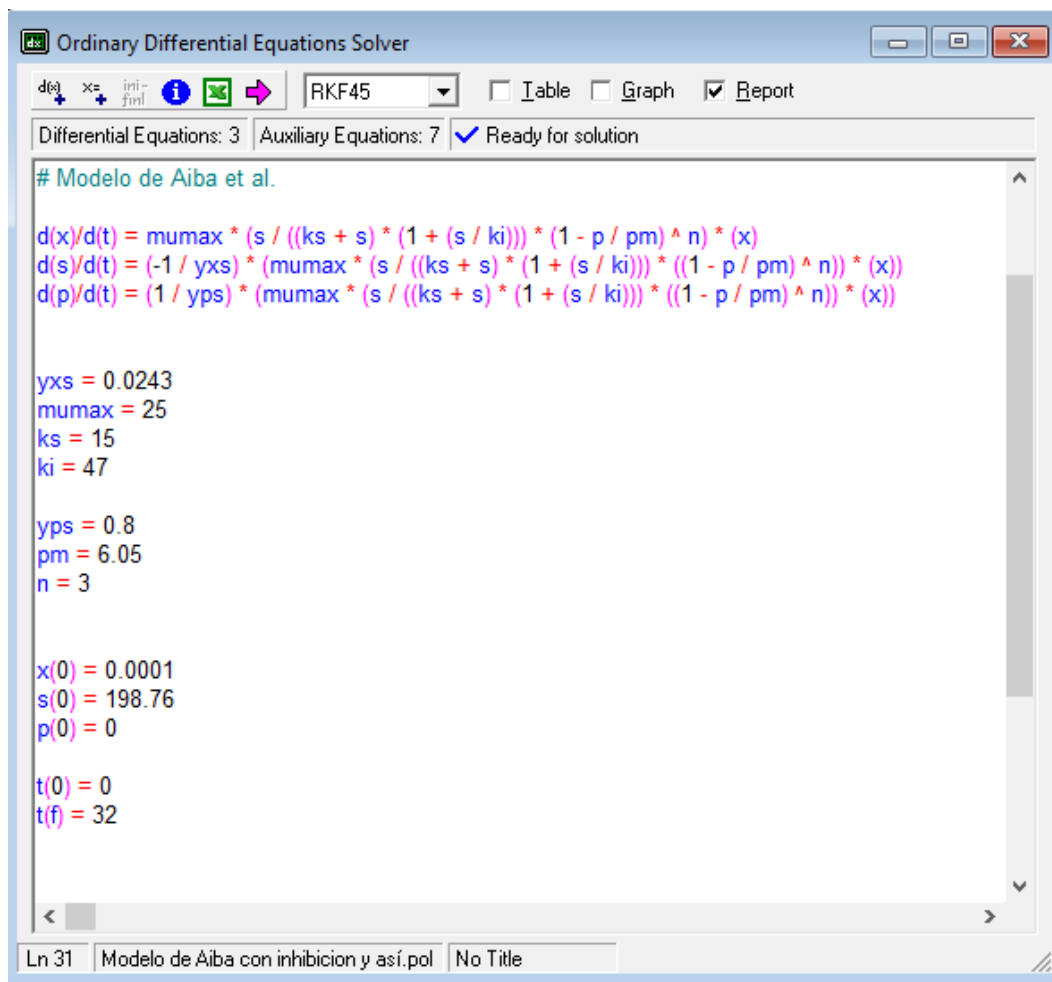


Figura 4.3 Modelo de Aiba et al., simulación realizada de acuerdo con las

ecuaciones 4.9 – 4.11 (Polymath 6.1).

IV.1.2 Modelo de Andrew

Tasa de Crecimiento de Biomasa

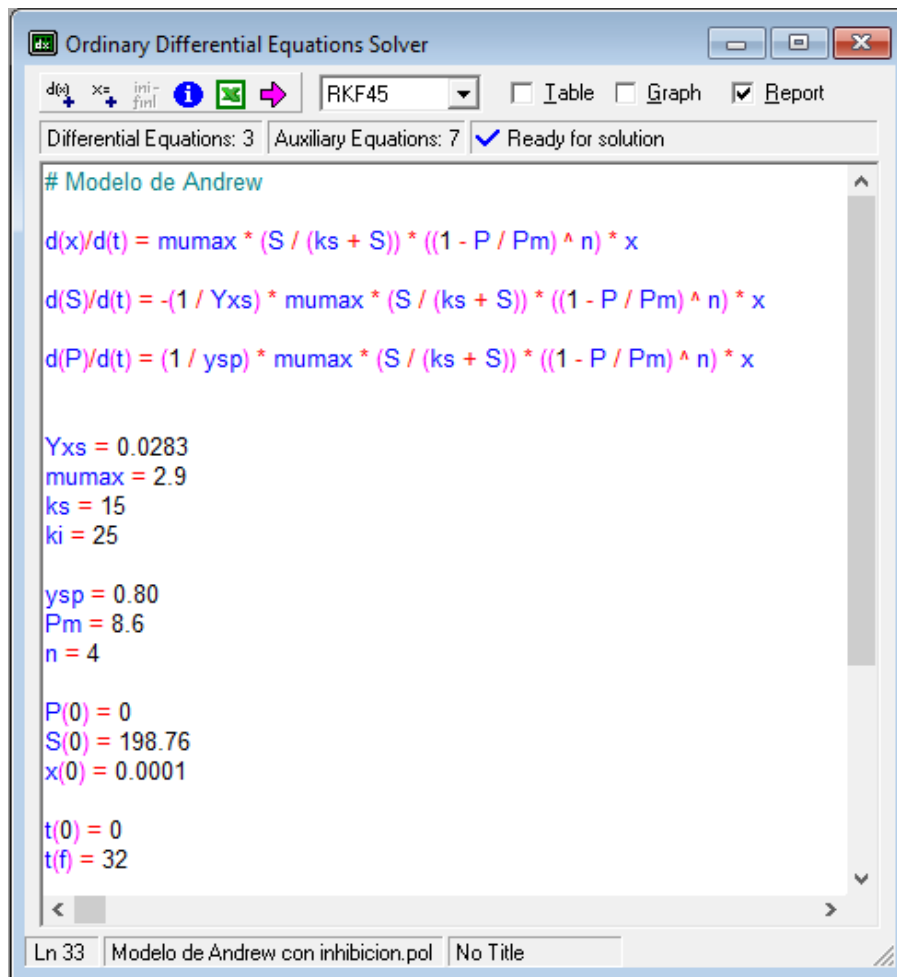
$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.12)$$

Tasa de Consumo de Sustrato

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.13)$$

Tasa de Generación de Producto

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.14)$$



```
Ordinary Differential Equations Solver
dEq  +=  x=  ini-  i  x=  finl  RKF45  I table  Graph  Report
Differential Equations: 3  Auxiliary Equations: 7  Ready for solution
# Modelo de Andrew
d(x)/d(t) = mumax * (S / (ks + S)) * ((1 - P / Pm) ^ n) * x
d(S)/d(t) = -(1 / Yxs) * mumax * (S / (ks + S)) * ((1 - P / Pm) ^ n) * x
d(P)/d(t) = (1 / ysp) * mumax * (S / (ks + S)) * ((1 - P / Pm) ^ n) * x

Yxs = 0.0283
mumax = 2.9
ks = 15
ki = 25

ysp = 0.80
Pm = 8.6
n = 4

P(0) = 0
S(0) = 198.76
x(0) = 0.0001

t(0) = 0
t(f) = 32

Ln 33  Modelo de Andrew con inhibicion.pol  No Title
```

Figura 4.4 Modelo de Andrew (Okpokwasili & Nweke, 2005) simulación realizada de acuerdo con las ecuaciones 4.12 – 4.14 (Polymath 6.1).

IV.1.3 Modelo de Haldane

Tasa de Crecimiento de Biomasa

$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.15)$$

Tasa de Consumo de Sustrato

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.16)$$

Tasa de Generación de Producto

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.17)$$

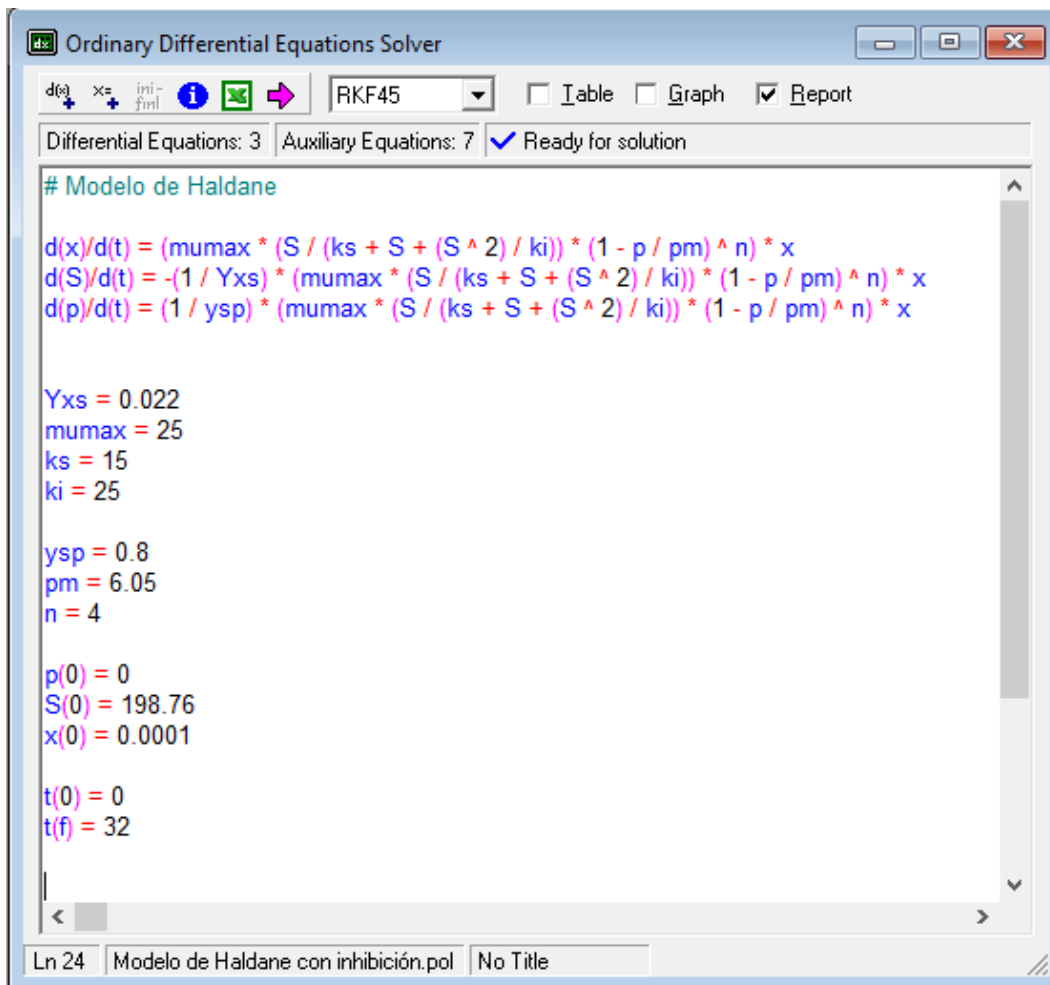


Figura 4.5 Modelo de Haldane (Versyck, Claes, & Van-Impe, 1997)

simulación realizada utilizando las ecs. 4.15 – 4.17 (Polymath 6.1).

IV.1.4 Modelo de Luong

Tasa de Crecimiento de Biomasa

$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.18)$$

Tasa de Consumo de Sustrato

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.19)$$

Tasa de Generación de Producto

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \mu_{max} \frac{S^n}{k_s + S^n} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.20)$$

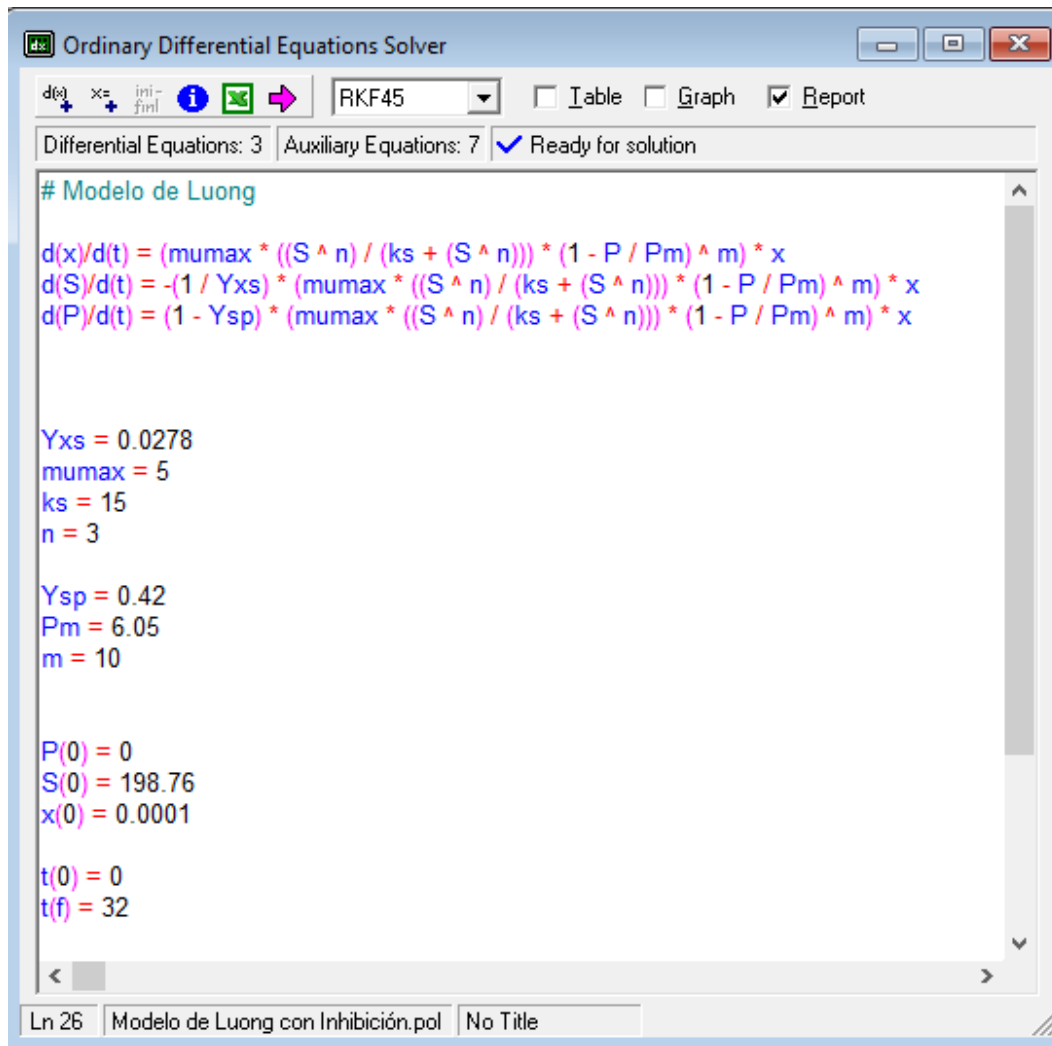


Figura 4.6 Modelo de Luong (1987) simulación realizada utilizando las

ecuaciones 4.18 – 4.19 (Polymath 6.1).

IV.1.5 Modelo de Moser

Tasa de Crecimiento de Biomasa

$$\frac{d(x)}{d(t)} = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{\frac{-S}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.20)$$

Tasa de Consumo de Sustrato

$$\frac{d(S)}{d(t)} = \left(-\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{\frac{-S}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.21)$$

Tasa de Generación de Producto

$$\frac{d(P)}{d(t)} = \left(\frac{1}{Y_{P/S}}\right) \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{\frac{-S}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n x \quad (4.22)$$

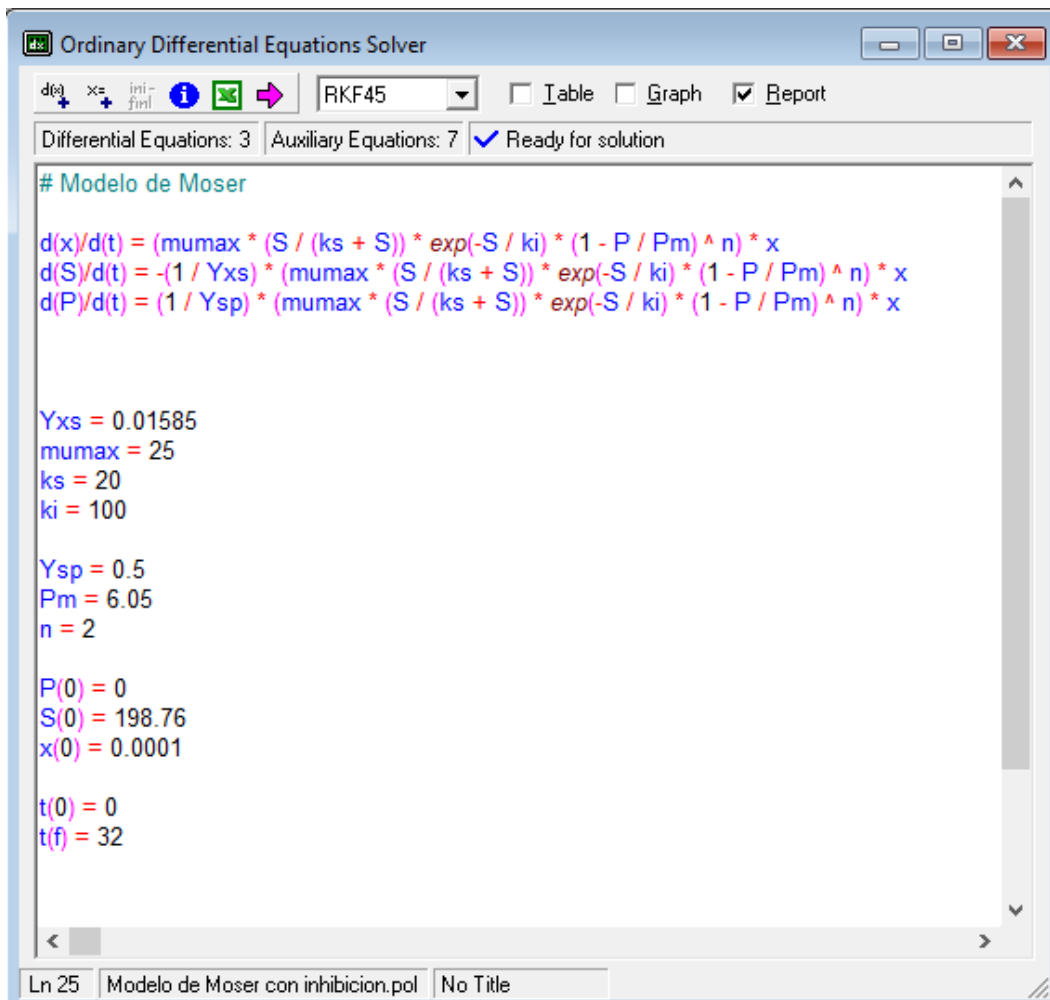


Figura 4.7 Modelo de Moser (1987) simulación realizada de acuerdo con las ecuaciones 4.20 – 4.22 (Polymath6.1).

Con base en las simulaciones y con los parámetros anteriormente ajustados, se realizó un gráfico comparativo que permite observar el ajuste de los datos experimentales con los 5 modelos matemáticos (Figuras 4.8 y 4.9).

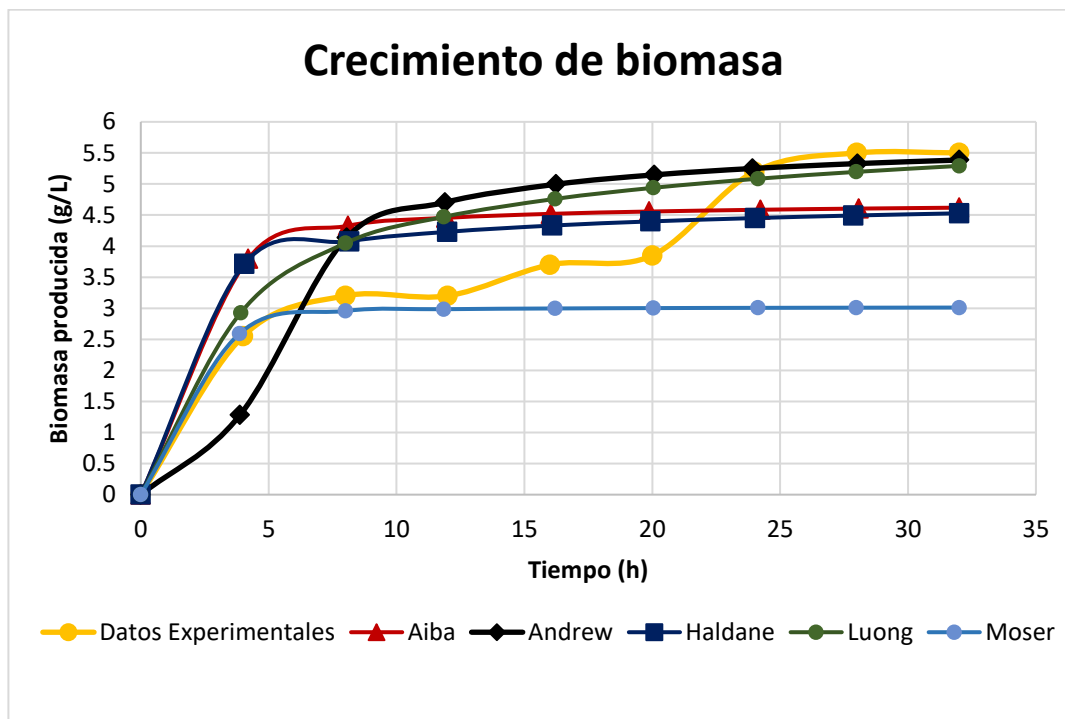


Figura 4.8 Curva de crecimiento de Biomasa. Comparación de datos experimentales con datos generados por los modelos matemáticos.

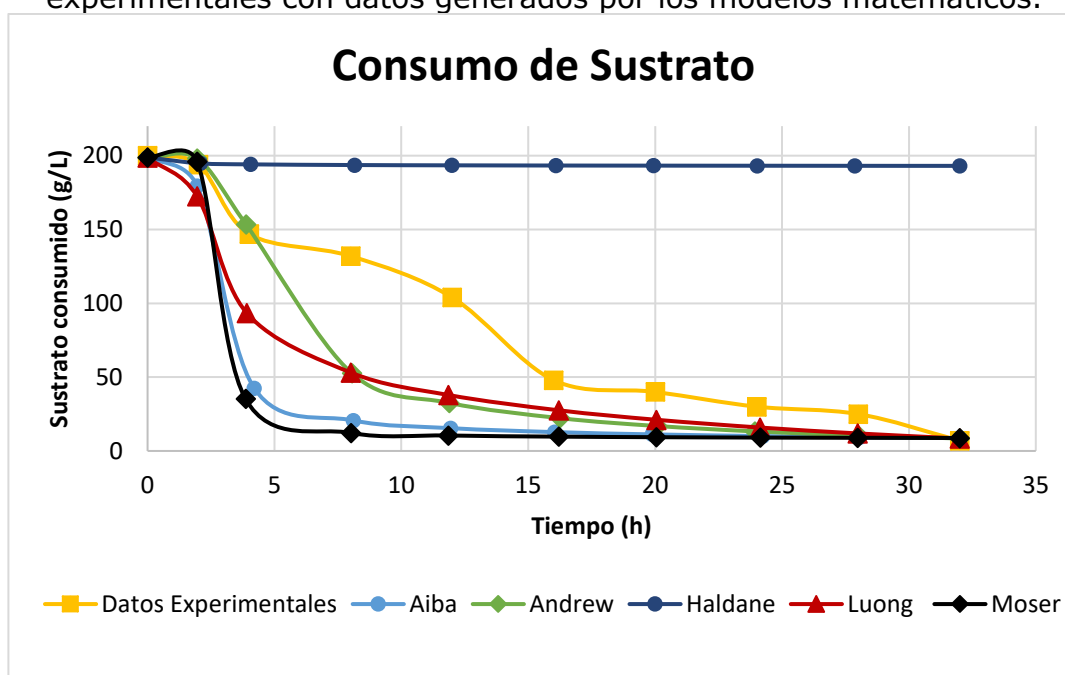


Figura 4.9 Curva de consumo de sustrato. Comparación de datos

experimentales con datos generados por los modelos matemáticos.

IV.2. Discriminación entre modelos cinéticos

La tasa de dilución es uno de los parámetros fundamentales a la hora de generar el diseño para el desarrollo de un reactor continuo, ya que regula el crecimiento de los microorganismos a lo largo del tiempo; por ello es sumamente importante elegir el modelo que más se adecue a los datos experimentales. Para el caso de crecimiento de biomasa y consumo de sustrato ninguno de los modelos anteriormente observados se ajusta por completo a los datos existentes, sin embargo, el modelo de Andrew podría ser el que mejor se aproxima a la curva de crecimiento (tipo Monod) (Figura 4.10), así como a la de consumo de sustrato (Figura 4.11), y toma en consideración la inhibición por producto.

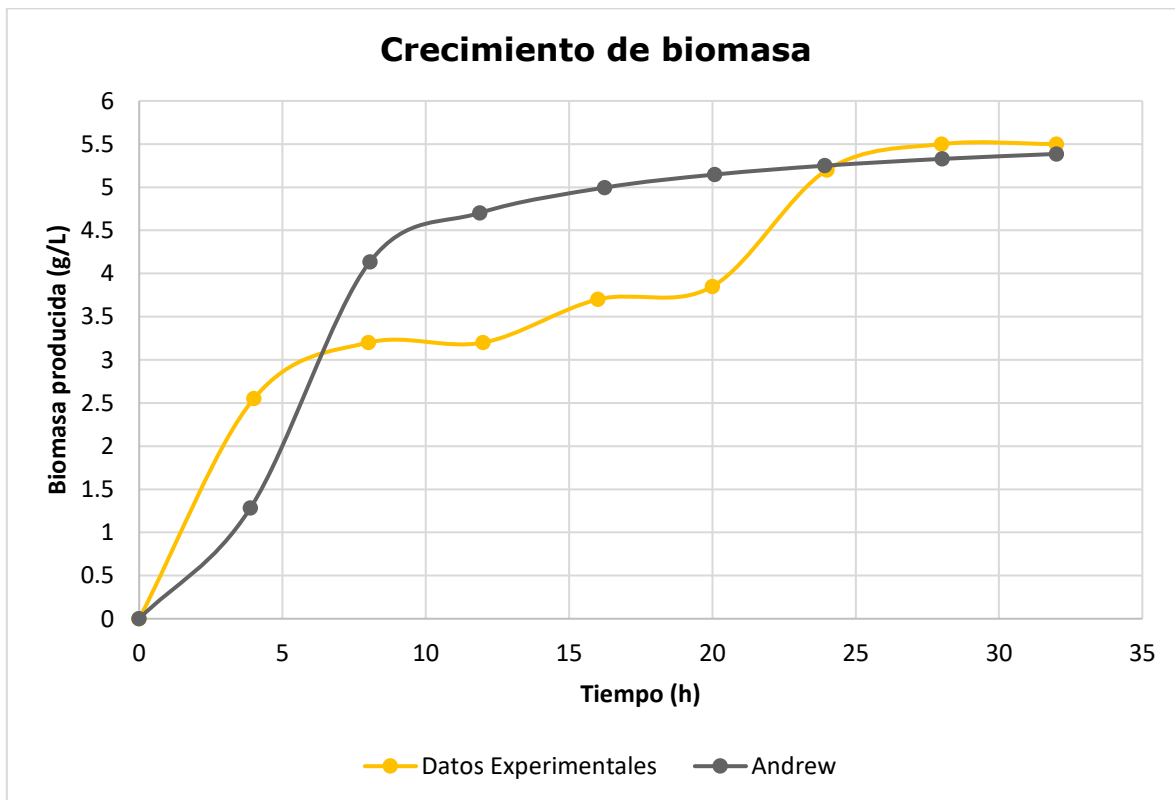


Figura 4.10 Curva de crecimiento de Biomasa. Comparación de datos experimentales (Testigo) vs datos generados por el modelo de Andrew.

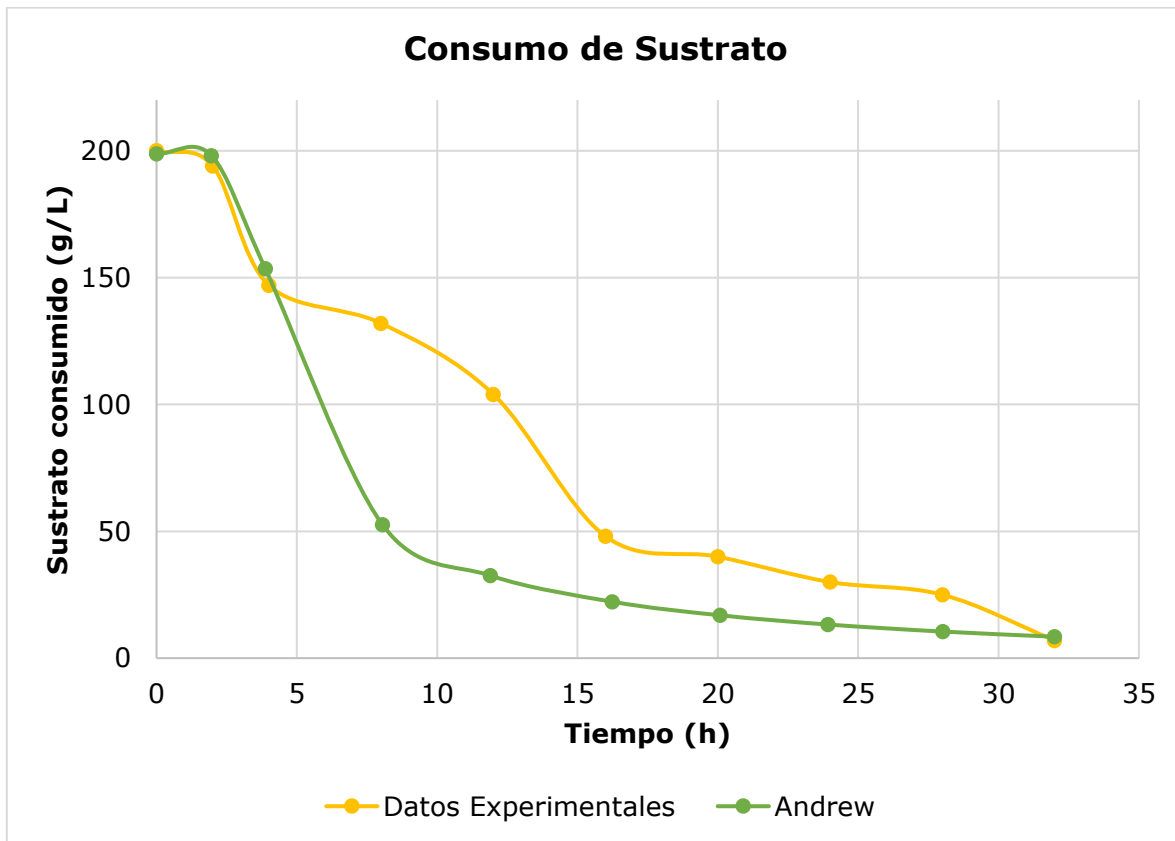


Figura 4.11 Curva de consumo de sustrato. Comparación de datos experimentales con datos generados por el modelo de Andrew.

Posteriormente, se hizo la simulación (Fig. 4.12) del modelo Andrew-Levenspiel (Ribas, Hurtado, Domenech, & Sabadí, 2007)(Eq. 2.33) y se determinó que presenta un mejor ajuste, incluso con respecto al modelo de Andrew por sí solo, tanto para la producción de biomasa (Fig. 4.13) como para el consumo de sustrato (Fig.4.14).

```

Ordinary Differential Equations Solver
d/dt x= int- RKF45 Table Graph Report
Differential Equations: 3 Auxiliary Equations: 7 Ready for solution

#Modelo de inhibición mixta Andrews+Levenspiel

#Ecuación cinética para crecimiento de biomasa con inhibición por producto
d(X)/d(t) = mumax * (S / (ks + S + ((S^2)/kis))) * ((1 - P / Pm) ^ n) * X

#Ecuación cinética para consumo de sustrato con inhibición por producto
d(S)/d(t) = -(1 / Yxs) * mumax * (S / (ks + S + ((S^2)/kis))) * ((1 - P / Pm) ^ n) * X

#Ecuación para producción de producto con inhibición por el mismo
d(P)/d(t) = (1 / Ysp) * mumax * (S / (ks + S + ((S^2)/kis))) * ((1 - P / Pm) ^ n) * X

Yxs = 0.024 # Factor de rendimiento Biomasa/Sustrato [gramos de células]/[gramos de sustrato]
Ysp = 0.586 # Factor de rendimiento Sustrato/Producto [gramos de sustrato]/[gramos de producto]
mumax = 25 #Tasa específica máxima de crecimiento [hora]^-1
ks = 40 # Constante de Saturacion por sustrato [g/L]
kis=20 #Constante de Inhibición por Sustrato [g/L]

Pm = 8.6 #Concentración máxima de etanol que puede resistir la cepa [%V/V]
n = 4

#Condiciones iniciales
P(0) = 0 #Concentración inicial de etanol [g/L]
S(0) = 196.59 #Azúcar inicial [g/L]
X(0) = 0.0001 #Concentración de biomasa inicial [g/L]

#Tiempo expresado en horas
t(0) = 0
t(f) = 32

Ln 32 Andrews-Levenspiel.pol No Title

```

Figura 4.12 Modelo de Andrew-Levenspiel, simulación realizada en Polymath 6.1

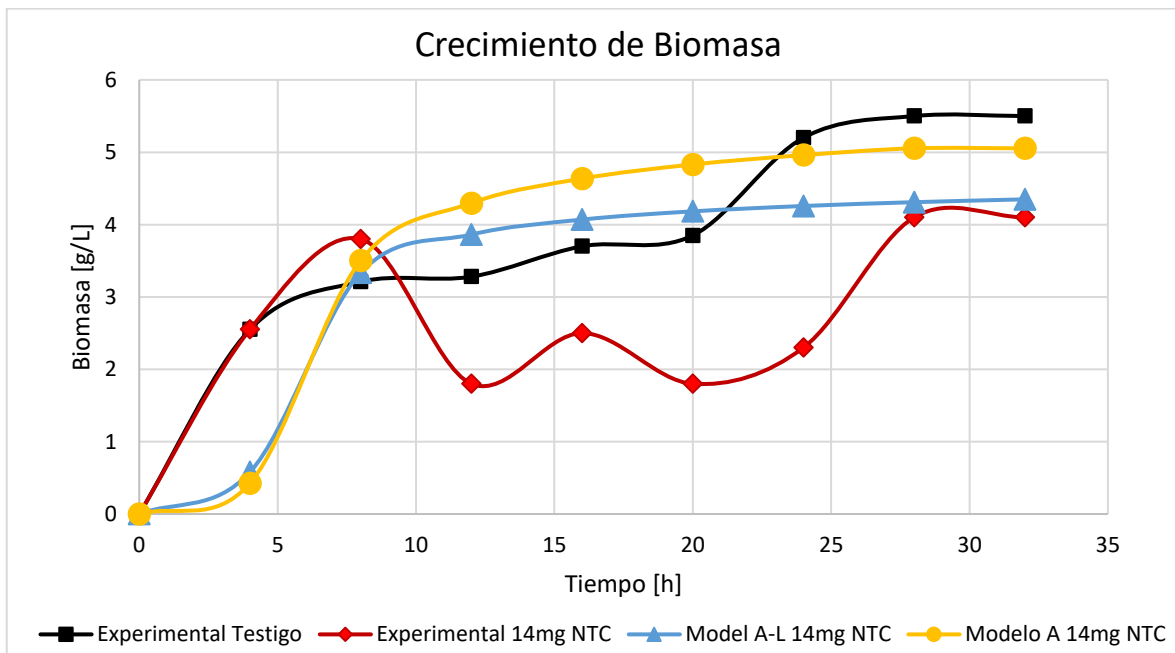


Figura 4.13. Comparación de modelos para crecimiento de biomasa vs datos experimentales (testigo y con 14mg/L NTC's)

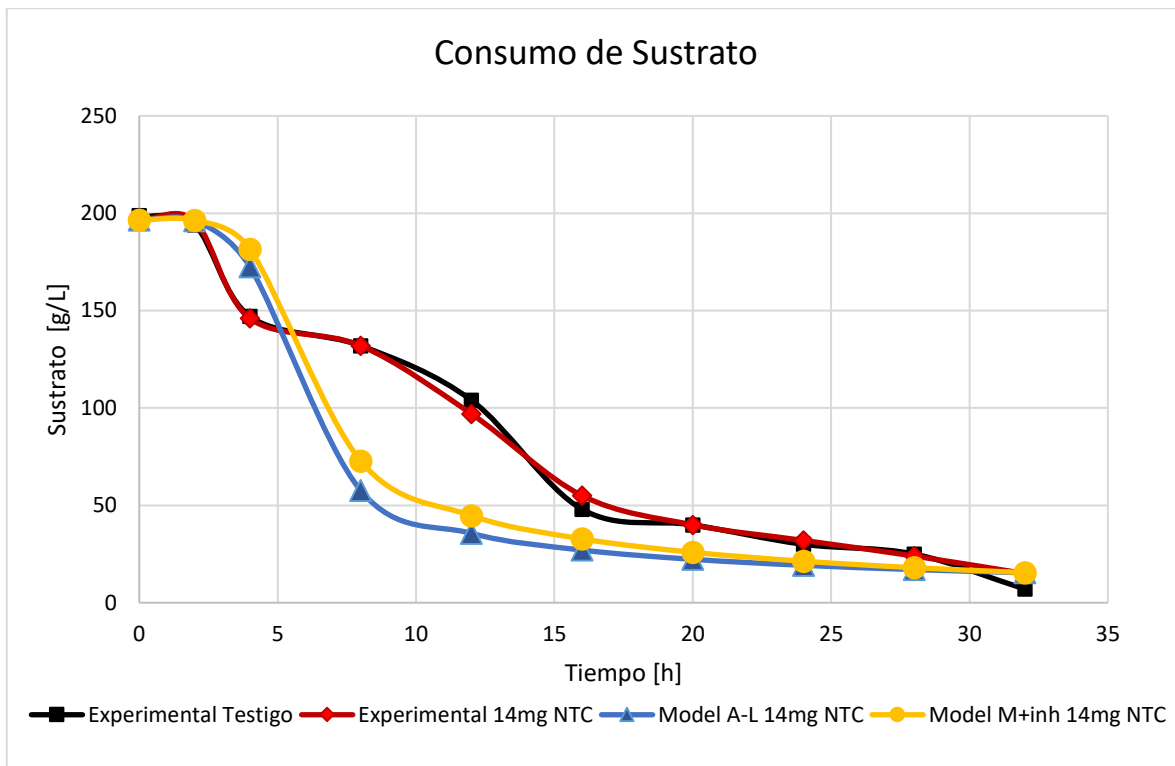


Figura 4.14 Comparación de modelos para consumo de sustrato vs datos experimentales (testigo y con 14mg/L NTC's)

Ambos modelos se comportan similarmente, sin embargo, el modelo de Andrew-Levenspiel es el que mejor se adapta a la curva de crecimiento de biomasa y consumo de sustrato, cuando la fermentación se lleva a cabo con una concentración de 14mg/L de nanotubos de carbono funcionalizados. Desgraciadamente, en la experimentación anterior no se presentaron datos estadísticos para poder determinar el intervalo permitido que no presente mayor error.

Para tener una mayor certeza del modelo escogido se calcularon las pendientes de las curvas para ambos modelos, así como los rendimientos ($Y_{x/s}$, $Y_{p/s}$ y $Y_{x/p}$), que se presentan en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Pendientes (μ_{max}) y rendimientos calculados para ambos modelos sugeridos.

Modelo	μ_{max}	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	$Y_{x/p}$
Andrew	1.145	0.0283	0.0354	0.8000
Andrew-Levenspiel	1.150	0.0240	0.0410	0.5860

Para ambos modelos las pendientes máximas (μ_{max}) se presentan a las 5 horas, esto indica que el máximo crecimiento celular se presenta en este punto, por lo cual se tomarán los datos reportados en T=5h (Tabla 4.5)

Tabla 4.5. Sustrato remanente, Biomasa y producto producidos a T=5h.

Modelo	Biomasa (x) [g/L]	Sustrato (S) [g/L]	Producto (P) [g/L]
Andrew	1.5882	140.47	1.9852
Andrew-Levenspiel	1.5737	131.02	2.6854

Se determinó la velocidad de consumo de sustrato (r_s) para ambos modelos (Tabla 4.6), evaluados en el punto de μ_{max} de acuerdo con la ecuación 4.24:

$$-r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \quad (4.24)$$

Tabla.4.6 Determinación de $-r_s$

Modelo	cálculo	$-r_s$ [$\frac{g_{sustrato}}{L \cdot h}$]
Andrew	$-r_s = \frac{1}{0.0283 \frac{g_{biomasa}}{g_{sustrato}}} (1.5882 \frac{g_{biomasa}}{L \cdot h})$	56.123
Andrew-Levenspiel	$-r_s = \frac{1}{0.0240 \frac{g_{biomasa}}{g_{sustrato}}} (1.5737 \frac{g_{biomasa}}{L \cdot h})$	65.60162

De acuerdo con los valores de $-r_s$ obtenidos se determinó el volumen del reactor, utilizando la ecuación de diseño del reactor CSTR (Eq. 4.25), ya que es el que típicamente se emplea cuando hay reacciones en fase líquida (Fogler, 2008).

$$\frac{V}{F} = \frac{(\Delta\chi_S)(S_0)}{-r_S} \quad (4.25)$$

Para la determinación de $\Delta\chi_S$ se utilizó la ecuación 4.26.

$$\Delta\chi_S = \frac{S_0 - S_{(t=5h)}}{S_0} \quad (4.26)$$

Para un flujo de 1000 [L/h] se obtuvieron los siguientes tamaños de reactor (Tabla 4.7):

Tabla 4.7. Volumen de Reactor determinado para cada uno de los modelos.

Modelo	Volumen de reactor	
Andrew	520 [L]	0.520 [m ³]
Andrew - Levenspiel	588 [L]	0.588 [m ³]

Ambos modelos tienden a comportarse de manera similar, en cuanto a la predicción del comportamiento de los microorganismos, sin embargo, el modelo de Andrew-Levenspiel, presenta inhibición por sustrato que el modelo de Andrew no muestra, esto convierte al modelo Andrew-Levenspiel, en un modelo más robusto, un poco más cercano a la realidad. Al determinar el volumen del reactor, se puede apreciar una diferencia del 11.6% entre la utilización de un modelo y otro.

A fin de garantizar el uso del mejor modelo, se realizó el análisis de las trayectorias dinámicas de estado (Velázquez-Sánchez, H.I.; Maya-Yescas, R.; Aguilar-López, R., 2018) para los modelos de Andrew, Andrew – Levenspiel y Moser.

Tabla 4.8 Derivadas de las expresiones matemáticas de los modelos cinéticos a analizar.

Modelo	Expresión Matemática	Derivada
Andrew	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(k_s + S)} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n$	$\mu' = \mu_{max} \left[n \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^{n-1} \left(\frac{1}{\frac{P_m Y_{S/P}}{P}}\right) \left(\frac{S}{K_s + S}\right) \right] + \left[\left(\frac{K_s}{(K_s + S)^2}\right) \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n \right]$
Andrew - Levenspiel	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{is}}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n$	$\mu' = \mu_{max} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n \left[\frac{K_{is}(K_s + S) - S^2}{K_{is}(K_s + S) + S^2} \right] + \left[\frac{Sn \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^{n-1} K_{is}}{(P_m Y_{S/P}) (K_{is}(K_s + S) + S^2)} \right]$
Moser	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S} e^{-\frac{S}{k_i}} \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n$	$\mu' = \mu_{max} \left[\frac{n \left[K_s S^n \left(1 - \frac{P}{P_m}\right)^n \right] \left[(K_s + S)(P_m) (Y_{S/P}) \right] + [S^2 (e^{-S/k_i}) (1 - \frac{P}{P_m})^{n-1} (K_s + S)^n]^2}{S(K_s + S)^2 (K_s + S)(P_m Y_{S/P})} \right]$

Considerando el coeficiente de rendimiento de biomasa con respecto del sustrato ($Y_{x/s}$) constante, se tiene el siguiente modelo (Eq. 4.27) para biomasa (f_1) y sustrato (f_2).

$$\Phi(x, S) = \begin{cases} f_1 = \frac{dx}{dt} = \mu x \\ f_2 = \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu x}{Y_{x/s}} \end{cases} \quad (4.27)$$

Se calculó la matriz jacobiana (Eqs. 4.28 y 4.29) para cada uno de los modelos:

$$J(\Phi(x, S)) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x} = \mu & \frac{\partial f_1}{\partial S} = \frac{df_1}{d\mu} \frac{d\mu}{dS} = x \frac{d\mu}{dS} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x} = -\frac{\mu}{Y_{x/s}} & \frac{\partial f_2}{\partial S} = \frac{df_2}{d(\mu/Y_{x/s})} \frac{d(\mu/Y_{x/s})}{dS} = -x \frac{d(\mu/Y_{x/s})}{dS} \end{bmatrix} \quad (4.28)$$

$$J(\Phi(x, S)) = \begin{bmatrix} \mu & x \frac{d\mu}{dS} \\ -\frac{\mu}{Y_{x/s}} & -x \frac{d\mu}{Y_{x/s} dS} \end{bmatrix} \quad (4.29)$$

Y se determinó que para los modelos de Andrew y Moser, la matriz generada es "negativa semi-definida" y en el caso del modelo de Andrew-Levenspiel es una matriz "negativa definida" (Tabla 4.9), lo que significa que el modelo tiende a converger a un atractor y ese atractor es el comportamiento real (Velázquez-Sánchez, H.I.; Maya-Yescas, R.; Aguilar-López, R., 2018). Por tanto, los modelos de Andrew y Moser, pueden no presentar la convergencia adecuada al realizar el escalamiento al proceso continuo; y se toma la predicción del volumen del modelo Andrew-Levenspiel como la más precisa para el escalamiento.

Tabla 4.9 Determinación de matrices Jacobianas para analizar la convergencia del modelo cinético.

Modelo	Matriz Jacobiana	Valor del Determinante	Tipo de Matriz
Andrew	$\begin{bmatrix} -1.6354 & 0.1244 \\ -10.1626 & -9.7046 \end{bmatrix}$	17.1351	Negativa semi-definida
Andrew-Levenspiel	$\begin{bmatrix} -1.671 & -0.2318 \\ -1.2084 & 7.9600 \end{bmatrix}$	-13.5813	Negativa definida
Moser	$\begin{bmatrix} -0.6814 & 0.0012 \\ -18.8680 & -1.0590 \end{bmatrix}$	0.7446	Negativa semi-definida

IV.3. Tasa de Dilución

La tasa de dilución (D) es el inverso del tiempo de Residencia (Eq. 4.30). Caracteriza el tiempo de mantenimiento, también conocido como tasa de procesamiento del CSTR (Bailey & Ollis, 1986). Este parámetro es igual al número de volúmenes de líquido del tanque que pasan a través del recipiente por unidad de tiempo.

$$D = \frac{F}{V_R} \quad (4.30)$$

La tasa de dilución determinada para el modelo de Andrew-Levenspiel se muestra en la ecuación 4.31:

$$D = 1.7 \frac{1}{h} \quad (4.31)$$

Este parámetro es de suma importancia al momento de diseñar un biorreactor de tipo continuo, ya que será el que nos permita manipular la operación y permitir que la fermentación se lleve a cabo "siempre" en el punto de máximo crecimiento, optimizando de esa manera el proceso.

IV.4. Diseño del Reactor

Para el diseño del reactor (Figura 4.15), se tomaron en consideraciones algunas reglas Heurísticas (Anexo 6). Así mismo para la selección del agitador.

Para la determinación de las dimensiones del tanque (Figura 4.15) se usó la Regla Heurística #2 (Eq. 4.32) presentada en el Anexo 6.

$$\frac{L}{D} = 2 \quad (4.32)$$

Donde:

L= Altura del tanque

D= Diámetro del Tanque

El nivel del líquido fermentable deberá ser de la misma longitud del diámetro del tanque.

Se optó por un agitador de tipo Turbina, para evitar la formación de altas cantidades de espuma.

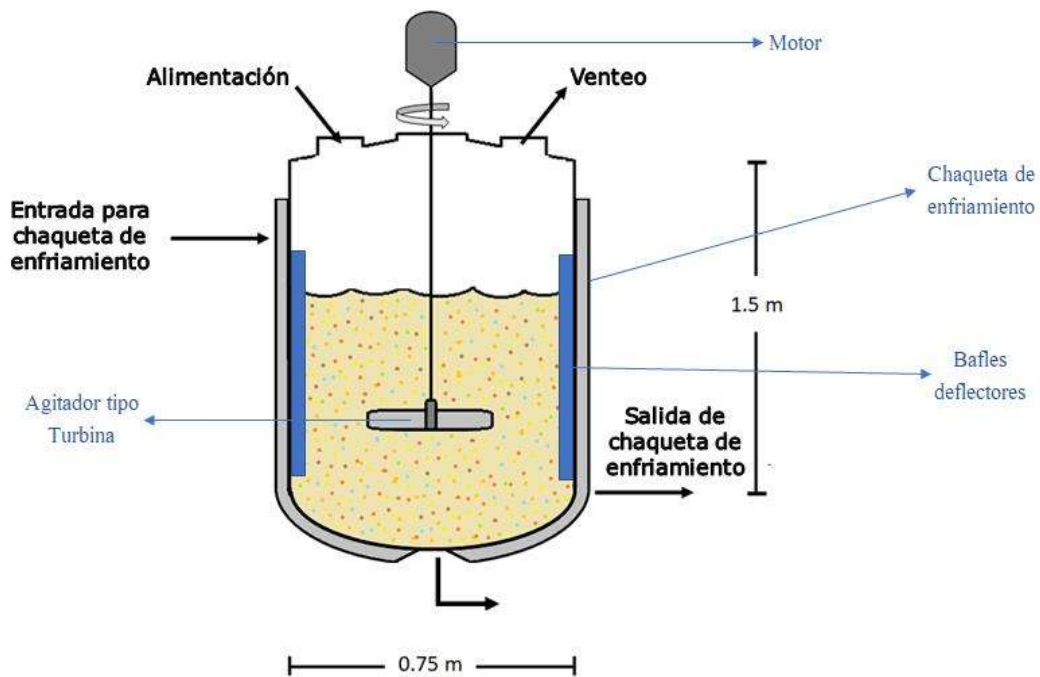


Figura 4.15. Diseño preliminar del biorreactor de tipo CSTR para fermentación continua usando levadura en flóculos inducidos por la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados.

El nivel de fermentación se estableció a una altura correspondiente con el diámetro del fermentador, 0.75m.

Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones

Se recopilaron datos importantes sobre la inmovilización de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y se analizaron los resultados experimentales obtenidos de Marquez (2015). Se determinó que al realizar las mediciones de crecimiento de biomasa éstas no tomaron en consideración la biomasa floculada, sólo el sobrenadante, por lo que en los gráficos de crecimiento de biomasa se presenta una gran discrepancia con respecto al testigo. Sin embargo al observar la gráfica de consumo de sustrato usando levadura floculada en nanotubos de carbono, ésta es muy similar a la curva de consumo de sustrato del testigo. Lo que podría indicar que la presencia de nanotubos de carbono no influye de manera significativa en el consumo de sustrato y por tanto, al no existir un problema con el consumo, se infiere que el crecimiento de biomasa es similar al del testigo.

Se realizaron diversas simulaciones en el programa Polymath 6.1 para la determinación de los parámetros cinéticos correspondientes a cada uno de los modelos cinéticos propuestos (tabla 2.1) y se realizó la comparación de éstos, con las curvas de crecimiento, consumo y producción de etanol de los datos experimentales correspondientes a la fermentación sin nanotubos de carbono funcionalizados y con una concentración de 14 mg/L de nanotubos a 30°C. Los parámetros cinéticos requeridos para la simulación de los modelos Andrew y Andrew-Levenspiel, se determinaron y se muestran en la Tabla 4.4.

Se eligió el modelo de Andrew-Levenspiel ya que presenta inhibición mixta, por parte del sustrato y del producto. Esto es de suma importancia ya que este tipo de inhibición es común en el comportamiento de levaduras. Para discriminar entre los modelos que exhibieron mejores ajustes a los datos experimentales, se realizó el análisis de trayectorias dinámicas para cada modelo, determinando que el modelo de Andrew-Levenspiel genera la aproximación más precisa al escalar este proceso a sistema continuo.

Con este modelo se determinó el tamaño de reactor ($0.588 \approx m^3$) y se propuso el diseño del biorreactor de tipo CSTR isotérmico.

Finalmente, se llevó a cabo el diseño estructural de un fermentador cervecero de tipo continuo que permite llevar a cabo la fermentación del mosto de cerveza en presencia de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en flóculos inducidos por la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados. Gracias al análisis de diversos modelos matemáticos, siendo el modelo de Andrew-Levenspiel el elegido para llevar a cabo la determinación de las dimensiones del fermentador.

Referencias Bibliográficas

- Acuna, G., Latrille, E., Beal, C., & Corrieu, G. (1998). Static and dynamic neural network models for estimating biomass concentration during thermophilic lactic acid bacteria por lotes cultures. *J. Fermentat Bioeng.* 85, 615-622.
- Aiba, S. (1982). Growth kinetics of photosynthetic microorganisms. Microbial reactions. *Advances in Biochemical Engineering* , 85-156.
- Andrés-Toro, B., Girón-Sierra, J., López-Orozco, J., Fernández-Conde, C., Peinado, J., & García-Ochoa, F. (1998). A kinetic model for beer production under industrial operational conditions. *Mathematics and computers in simulation*, 65-74.
- Andrietta, S., Seckelberg, C., & Andrietta, M. (2008). Study of flocculent yeast performance in tower reactors for bioethanol production in a continuous fermentation process with no cell recycling. *Bioresour. Technol.* , 3002-3008.
- Astudillo, I. C. (2010). *Diseño Integral de Biorreactores Continuos de Tanque Agitado aplicados a procesos de fermentación*. Manizales, Colombia.
- Bailey, J. E., & Ollis, D. F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. New York : McGraw-Hill.
- Bisson, L. (1999). Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 107-119.
- Brányik, e. a. (2004). Physicochemical surface properties of brewing yeast influencing their immobilization into spent grains in a continuous reactor. *Biotechnology Bioengineering*, 84-93.
- Brányik, T., Vicente, A., & Dostálek, P. &. (2005). Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 653-663.
- Brányik, T., Vicente, A., & Dostálek, P. &. (2005). Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. *Biotechnology and Bioengineering*(21), 653-663.
- Campbell, S. L. (2007). The continuous brewing of beer. *Virtual Pro*.
- Cerveceros de España. (2001). *Libro blanco de la cerveza*. Madrid: Cerveceros de España.
- Cerveza Artesana. (Septiembre de 2014). *Cerveza Artesana*. Obtenido de <http://www.cervezartesana.es/blog/post/la-cerveza-en-las-antiguas>

civilizaciones-de-babilonia-grecia-y-roma.html:
<http://www.cervezartesana.es/blog/post/la-cerveza-en-las-antiguas-civilizaciones-de-babilonia-grecia-y-roma.html>

- Cramer, A., Vlassides, S., & Block, D. (2002). Kinetic Model for Nitrogen-Limited Wine Fermentations. *Biotechnology and Bioengineering*, 49-60.
- Diniz Santos, L., del Bianco Sousa, M., Zanella Guidini, C., de Resende, M. M., Luiz Cardoso, V., & Júlio Ribeiro, E. J. (2015). Continuous ethanol fermentation in tower reactors with cell recycling using flocculent *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, 1.
- Dunbar, J., Campbell, S., Banks, D., & Warren, D. (1988). Metabolic Aspects of a Commercial Continuous Fermentation Systems. *Proceedings of the 20th Convention of The Institute of Brewing*, 151-158.
- Engasser, J., Marc, I., Moll, M., & Duteurtr, B. (1981). Kinetic Modelling of Beer Fermentation. *EBC Congress*, 579-586.
- Fogler, H. S. (2008). *Elementos de ingeniería de las reacciones químicas*. México: Pearson Educación .
- Fonseca, V. (2007). Breve historia de la cerveza. *Virtual Pro*, 1.
- Froment, G., Bishoff, K., & De-Wilde, J. (2011). *Chemical Reactor Analysis and Design*. Singapore: John Wiley & Sons.
- Gee, D., & Ramírez, W. (1988). Optimal Temperature Control for Por lotes Beer Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 224-234.
- Gee, D., & Ramírez, W. (1994). A Flavour Model for Beer Fermentation. *Journal Institute of Brewing*, 321-329.
- Han, K., & Levenspiel, O. (1988). Extended Monod kinetics for substrate, product and cell inhibition. *Biotechnol. Bioeng.* 32, 430-437.
- Hosten, L., & Froment, G. (1976). Non-Bayesian sequential experimental design procedure for optimal discrimination between rival models. *Proceedings of Fourth International Symposium on Chemical Reaction Engineering* .
- Inoue, T. (1995). Development of a two-stage immobilized yeast fermentation system for continuous beer brewing. *Proceedings of the European brewing convention congress* , 25-36.
- Jarboe, L. e. (2010). Metabolic Engineering for Production of Biorenewable Fuels and Chemicals: Contributions of Synthetic Biology. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 18.
- Jones, M., & Pierce, J. (1964). Absortion of amino acids from wort by yeasts. *J. Inst. Brew.*, 307-315.

-
- Kourkutas, Y. e. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, 377-397.
- Lei, F., Rotboll, M., & Jorgensen, S. (2001). A biochemically structured model for *saccharomyces cerevisiae*. *Journal of biotechnology*(88), 205-221.
- Levenspiel, O. (1972). *Chemical Reactor Engineering: An Introduction to the Design of Chemical Reactors*. New York: Wiley.
- Luedeking, R., & Piret, E. (1959). Kinetic study of the lactic acid fermentation. Por lotes process at controlled pH. *Journla Biochem Microbiol Technol Eng* , 393-412.
- Luong, J. H. (1987). Generalization of Monod Kinetics for Analysis of Growth Data with Substrate Inhibition. *Biotechnol. Bioeng*, 242-248.
- Malherbe, S., & Toit, B. y. (2007). Understanding prblem fermentations - A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 169 - 186.
- Mamvura, T., Iyuke, S., Sibanda, V., & Yah, C. (2012). Immobilisation of yeast cells on carbon nanotubes. *S Afr J Sci.*, 7.
- Marquez, L. (2015). *Producción de Etanol por Saccharomyces cerevisiae en Floculacion Inducida por Adhesión de Nanotubos de Carbono Funcionalizados*. Morelia, Michoacán.
- Marroquín, S. M. (5 de 12 de 2014). *Destilando Pisco*. Obtenido de <https://elcomercio.pe/blog/destilandopisco/2014/05/la-cerveza-y-algunas-diferencias-entre-la-produccion-artesanal-e-industrial>
- Masschelein, C., & Andries, M. (1995). Future scenario of immobilized systems: Promises and limitations. . *EBC Symposium immobilized yeast application in the brewing industry*, 223-238.
- Mensour, N., Margaritis, A., Briens, C., Pilkington, H., & Russel, I. (1995). "Gas lift" systems for immobilized fermentations. *European Convention Monograph XXIV* , 125-132.
- Merchuk, J. C., & Asenjo, J. A. (1994). Fundamentals of Bioreactor Design . En X. Corporation, *Bioreactor System Design* (págs. 139-205). Berkeley: Bioprocess Technology.
- Moser, A. (1981). *Bioprocess Technology. Kinetics and Reactors*. New York: Springer-Verlag.
- Müller, L. E. (1964). *Manual de laboratorio de Fisiología Vegetal*. Turrialba, Costa Rica: SIC.

-
- Narendra, K., & Parthasarathy, K. (1990). Identification and control of dynamical systems using neural networks. *IEEE Trans. Neural Network*, 4-26.
- Nielsen, J., Nikolajsen, K., & Villadsen, J. (2004). *Bioreaction Engineering Principles* (2nd ed.). China: Kluwer Academic.
- Okpokwasili, G. C., & Nweke, C. O. (2005). Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African Journal of Biotechnology*, 305-317.
- Olsen, A. (1960). *Chem. Ind.*
- Pandiella, S., García, L., Diaz, M., & Daoud, I. (1995). Monitoring the carbon dioxide during beer fermentation. *MBAA Tech. Q.*, 126-31.
- Plessas, S. e. (2007). Use of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized on orange peel as biocatalyst for alcoholic fermentation.
- Pratt, P., Bryce, J., & Stewart, G. (2003). The effects of osmotic pressure and ethanol on yeast viability and morphology. *J. Inst. Brew*, 109, 218-228.
- Ramírez, W., & Maciejowski, J. (2007). Optimal Beer Fermentation. *Journal Institute of Brewing*, 325-333.
- Ribas, M., Hurtado, R., Domenech, F., & Sabadí, R. (2007). *Sistemas de apoyo a la toma de decisiones en la industria azucarera y de derivados*. La Habana: ICIDCA.
- Riegel, E., & Kent, J. (2003). *Riegel's Handbook of industrial Chemistry*. Springer Verlag.
- Sáenz Paredes, M. J. (2012). La cerveza y su historia. *Universitat Jaume I*, 3.
- Stratton, M., Campbell, S., & Banks, D. (1994). Process Developments in the Continuous Fermentation of Beer. *Proc. 23rd Convention Inst. of Brew.*, 96-100.
- Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N., & Guevara-Rodríguez, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar*, 50(1), 20-28.
- Trelea, I., Titica, M., Landaud, S., Latrille, E., Corrieu, G., & A., C. (2001). Predictive Modelling of Brewing Fermentation: Fromknowledge-Based to Black-Box Models. *Mathematics and Computers in Simulation*, 405-424.
- Velázquez-Sánchez, H.I.; Maya-Yescas, R.; Aguilar-López, R. (2018). *Bioethanol and Beyond*. New York: Nova Science publishers.
- Versyck, K. J., Claes, J. E., & Van-Impe, J. F. (1997). Practical identification of unstructures growth kinetics by application of optimal experimental design. *Biotechnol. Prog.* 13, 524-531.

-
- Viegas, M. A., & Andrietta, S. (2002). Use of tower reactors for continuous ethanol production . *Brazil Journal Chemical Engineering* 2 , 167-173.
- Virkajärvi, I., Vainikka, M., Virtanen, H., & Home, S. (2002). Productivity of immobilized yeast reactors with very-high-gravity worts. *J. AM. Soc. Brew. Chem.*, 4(60), 188-197.
- Walas, S. M., Couper, J. R., Penney, W. R., & Fair, J. R. (2012). *Chemical Process Equipment; Selection and Design* (3ra ed.). Elsevier.
- Wallace-Salinas, V., & Gorwa-Grauslund, M. (2013). Adaptive evolution of an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* for combined tolerance to inhibitors and temperature. *Biotechnology for Biofuels* , 9.
- Willaert, R., & Baron, G. (1996). Gel entrapment and microencapsulation: methods, applications and engineering principles. *Chemical engineering*, 5-205.
- Xiao, J., Zhou, Z., & Zhang, G. (2004). Ant Colony System Algorithm for the Optimization of Beer Fermentation Control. *Journal of Zhejiang University SCIENCE*, 1597-1603.
- Yamauchi, Y., & Kashiwara, T. (1995). Kirin immobilized system. *European Brewery Convention Monograph XXIV*, 99-117.
- Yu, J. e. (2007). A novel immobilization method of *Saccharomyces cerevisiae* to sorghum bagasse for ethanol production. *Journal of Biotechnology*, 415-420.

Anexos

A.1. Glosario

Acetaldehído: También llamado etanal, es un líquido volátil, incoloro, con olor característico ligeramente afrutado. Su fórmula química semi-desarrollada es CH_3CHO . Es un metabolito hepático del etanol, y el factor principal de la resaca alcohólica.

Ácido Pirúvico: También llamado piruvato, es el producto final de la glucólisis, ruta metabólica en la que la glucosa se escinde en dos moléculas de piruvato y se libera energía.

Agar: polisacárido sin ramificaciones obtenido de la pared celular de varias especies de algas de los géneros *Gelidium*, *Euchema* y *Glacilaria*

Ajenjo: Planta medicinal de sabor muy amargo, del género *Artemisa*, natural de regiones de Europa, Asia y norte de África; su nombre científico es *Artemisa absinthium*.

Alginato: polisacárido aniónico distribuido en las paredes celulares de las algas marinas pardas, usado como gelificante.

Aminoácidos: moléculas orgánicas de bajo peso molecular, compuestos por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Se caracterizan porque están compuestos de un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y una cadena lateral carbonada, todos ellos unidos covalentemente a un átomo de carbono denominado alfa.

Amoniaco: *Adj.* Pertenece o relativo al amoníaco.

Asimilación: *Biol.* Conjunto de procesos metabólicos de síntesis de moléculas complejas a partir de otras más sencillas.

Bagazo: Residuo fibroso resultante de la trituración, por presión o maceración de frutos, semillas, tallos, para extraerles su jugo.

Bioetanol: Nombre dado al alcohol etílico obtenido por fermentación de biomasa.

Biomasa: Materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado.

Carragenina: Hidrocoloide extraído de algas marinas rojas de las especies *gigartina*, *hypnea*, *eucheuma*, *chondrus* e *iridaea*. Es utilizada en diversas aplicaciones en la industria alimenticia, tales como espesante, agente de suspensión y estabilizante.

Catalizador: Sustancia química que modifica la velocidad de una reacción sin participar en ella.

Cebada: Planta cereal forrajera, muy parecida al trigo, de espigas prolongadas, flexibles, algo arqueadas y semilla alargada y puntiaguda que, entre otros usos, sirve de alimento a diversos animales.

Cepa: *Biol.* Grupo de organismos emparentados, como bacterias, hongos o virus, cuya ascendencia común es conocida.

Cultivo: *Microbiol.* método para la multiplicación de microorganismos.

Dátil: Fruto de la palmera, de forma elipsoidal prolongada, cubierto con una película amarilla, carne blanquecina comestible y semilla casi cilíndrica, muy dura.

Descarboxilación: Reacción química en la que el grupo carboxilo (-COOH) se separa a partir de otro compuesto, por ejemplo, dióxido de carbono (CO₂).

Enzima: Proteína soluble producida por las células del organismo, actúa como biocatalizador regulando las reacciones químicas en los seres vivos.

Fermentación: Proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento.

Fermentador: Recipiente donde se lleva a cabo alguna fermentación.

Fermento: Sustancia orgánica soluble en agua que, en contacto con otra sustancia, la hace fermentar.

Floculación: Agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal, en general por la adición de algún agente externo.

Flóculo: Grumo que aparece en una floculación.

Glucólisis: Conjunto de reacciones químicas, llevadas a cabo en el interior de la célula, que degradan algunos azúcares obteniendo energía en el proceso.

Glucosa: Aldohexosa presente en muchos frutos maduros, es un sólido blanco muy soluble en agua, de sabor muy dulce.

Inhibición: Acción y efecto de suspender transitoriamente una función o actividad de un organismo mediante la acción de un estímulo adecuado.

κ-Carragenina: Carragenina que presenta estructura de gel rígido, quebradizo, termorreversible, de alta resistencia.

Lúpulo: Planta trepadora de la familia de las cannabáceas, sus frutos deshidratados se emplean para aromatizar y dar sabor amargo a la cerveza.

Malta: Cebada que, tras ser germinada artificialmente y tostada, se emplea en la fabricación de la cerveza.

Malteado: Proceso de forzar la germinación de semillas de cereales, con el fin de mejorar la palatabilidad de líquidos fermentados, como la cerveza.

Maltosa: Disacárido formado por dos moléculas de glucosa.

Maltotriosa: Carbohidrato extraído principalmente de los azúcares de la maltosa en su descomposición por medio de la fermentación por levadura.

Mecanicista: Modelo que tiende a explicar los fenómenos naturales o vitales por medio de las leyes mecánicas del movimiento.

Metabolismo: Conjunto de reacciones químicas que efectúan las células de los seres vivos con el fin de sintetizar o degradar sustancias.

Modelo de Caja negra: Modelo matemático que estudia un elemento desde el punto de vista de las entradas que recibe y las salidas o respuestas que produce, sin considerar su funcionamiento interno.

Mosto: Jugo rico en azúcares fermentables.

Parámetros: Datos o factores que se toman como necesarios para analizar o valorar una situación.

Reactor: Recipiente diseñado para que en su interior se produzcan reacciones químicas o biológicas.

Residual: Pertenece o relativo al residuo.

***Saccharomyces cerevisiae*:** Hongo unicelular, tipo de levadura, utilizado industrialmente en la fabricación de pan, cerveza y vino.

Subproducto: Producto que se obtiene en algún proceso industrial, además del principal, y que suele ser de menor valor agregado.

Sustrato: Sustancia sobre la que actúa una enzima.

Tolerancia: Capacidad que tiene un organismo para resistir y aceptar el aporte de determinadas sustancias.

Variable de proceso: Aquella que se mide, manipula o regula, a fin de cambiar, controlar o mantener las condiciones durante la operación de un proceso industrial.

A.2. Determinación de peso seco:

Realizada en el medio de malta libre de sólidos, centrifugada y realizada por triplicado.

Metodología:

1. Se colocan las charolas metálicas de desecación necesarias, limpias y marcadas en el horno a 55° C por 24 horas a peso constante.
2. Se pesan las charolas con cuidado de no tocarlas para evitar que se altere el peso.
3. Se colocan 1000 μ L de cada muestra de extracto de malta en las charolas correspondientes.
4. Cuidadosamente se colocan las charolas con la muestra de nueva cuenta en el horno, para eliminar toda la posible humedad presente en el extracto, por 24 horas.
5. Una vez cumplido este lapso, se vuelven a pesar, y se registran estos datos.

Análisis de Resultados:

La determinación de la concentración mediante éste método se realiza restando el peso de la charola al peso de la charola con muestra. Como el ensayo se realiza por triplicado se promedian los resultados y la respuesta se expresa en gramos por mililitro de extracto (g/ml).

Sin embargo, en ningún apartado, hace mención a la forma correcta de hacer las mediciones de biomasa en un medio con nanotubos, por lo que se sugiere que los datos que involucran la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados están comprometidos.

Por lo tanto, se propone la utilización de los modelos matemáticos antes mencionados para la obtención de los parámetros cinéticos que nos sirvan de partida para la generación de un modelo cinético que involucre la presencia de nanotubos de carbono funcionalizados.

A.3. Datos experimentales obtenidos previamente

Datos experimentales "Biomasa" 30° C

Testigo		Ntc's 14mg	
Tiempo (horas)	g/L	Tiempo (horas)	g/L
0	0	0	0
4	2.55	4	2.55
8	3.21	8	3.8
12	3.28	12	1.8
16	3.7	16	2.5
20	3.85	20	1.8
24	5.2	24	2.3
28	5.5	28	4.1
32	5.5	32	4.1

Datos experimentales "Sustrato" 30° C

Testigo		14 mg NTC's	
Tiempo (horas)	g/L	Tiempo (horas)	g/L
0	198.76	0	196.59
2	194	2	196
4	147	4	146
8	132	8	132
12	104	12	97
16	48	16	55
20	40	20	40
24	30	24	32
28	25	28	24
32	7	32	15

A.4. Resultados de simulación de los modelos Andrew y Andrew Levenspiel

Modelo de Andrew 14mg NTC							
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Pendiente	Ys/x	Ys/p	Yp/x
0	0.0001	196.59	0				
0.6915057	0.0004454	196.5778	0.0004318	0.00049949	35.3213665		
0.9946175	0.0008572	196.5632	0.0009465	0.00135857		28.3660385	1.24987858
1.304184	0.0016723	196.5344	0.0019654	0.00263304	35.333088		
1.617142	0.0032851	196.4775	0.0039813	0.00515341		28.2256064	1.249938
1.932213	0.0064763	196.3647	0.0079704	0.01012851	35.3472048		
2.249175	0.0127955	196.1414	0.0158693	0.01993677		28.2697591	1.24998418
2.568751	0.0253259	195.6986	0.0315324	0.03920945	35.3380578		
2.892994	0.0502447	194.8181	0.0626809	0.07685224		28.2678139	1.25
3.226512	0.1000924	193.0567	0.1249905	0.1494603	35.3356323		
3.579671	0.2010597	189.489	0.2511996	0.28589757		28.2681677	1.24999975
3.892673	0.355733	184.0235	0.4445412	0.49416074	35.335769		
4.165469	0.5542114	177.0101	0.6926393	0.72757079		28.2686566	1.2500005
4.514544	0.8911177	165.1053	1.113772	0.96514016	35.3356408		
4.88491	1.308988	150.3395	1.63611	1.12826312		28.2686689	1.2500003
5.128842	1.588282	140.4705	1.985228	1.14496663	35.3355246		
5.635024	2.117344	121.7757	2.646555	1.04520113		28.2686175	1.24999905
5.891024	2.347937	113.6275	2.934797	0.90075391	35.3358515		
6.147024	2.553188	106.3749	3.191361	0.80176172		28.2681904	1.25000122
6.403024	2.735205	99.9432	3.418881	0.71100391	35.3357104		
6.915024	3.040283	89.16305	3.800228	0.59585547		28.268611	1.24999836
7.171024	3.168521	84.63167	3.960526	0.50092969	35.3357039		
7.427024	3.283548	80.56711	4.10431	0.44932422		28.2685139	1.25000217
7.683024	3.387213	76.90402	4.233892	0.40494141	35.3358414		
8.195024	3.566465	70.57004	4.457956	0.35010156		28.2686197	1.24999442
8.451024	3.644471	67.81364	4.555464	0.30471094	35.3357434		
8.707024	3.716029	65.28508	4.644912	0.27952344		28.2684912	1.25000699
8.963024	3.781926	62.95657	4.727283	0.25741016	35.3355995		
9.475024	3.899302	58.80902	4.874002	0.22925		28.2686632	1.24999148
9.731024	3.951834	56.95276	4.939667	0.20520312	35.3357953		
9.987024	4.000842	55.22104	5.000927	0.1914375		28.2683643	1.25
10.24302	4.046686	53.6011	5.058232	0.17908092	35.3359218		
10.75502	4.130095	50.65379	5.162493	0.1629082		28.268576	1.249997
11.01102	4.168171	49.30835	5.210088	0.14873438	35.3356445		
11.26702	4.204117	48.03817	5.255021	0.14041406		28.2683106	1.25001391

11.52302	4.238118	46.8367	5.297523	0.13281641			
12.03502	4.300924	44.61742	5.37603	0.12266797		28.268562	1.24999204
12.29102	4.330004	43.58988	5.412379	0.11359375	35.3349381		
12.54702	4.357694	42.61143	5.446992	0.10816406		28.2682807	1.25001806
12.80302	4.384098	41.67839	5.479998	0.10314062	35.3370701		
13.31502	4.433418	39.93564	5.541648	0.09632812		28.2684509	1.25
13.57102	4.456494	39.12023	5.570493	0.09014063	35.3358468		
13.82702	4.47861	38.33877	5.598137	0.08639062		28.2687021	1.24995478
14.08302	4.499827	37.58903	5.624659	0.08287891	35.3367583		
14.59502	4.539795	36.17674	5.674619	0.0780625		28.2684147	1.25
14.85102	4.558646	35.51063	5.698183	0.07363672	35.335526		
15.10702	4.576802	34.86908	5.720878	0.07092187		28.268341	1.25
15.36302	4.594303	34.25065	5.742754	0.06836328	35.3368379		
15.87502	4.62749	33.078	5.784237	0.06481836		28.2682063	1.2499774
16.13102	4.643241	32.52141	5.803926	0.06152734	35.336804		
16.38702	4.658471	31.98325	5.822964	0.05949219		28.2676752	1.25003283
16.64302	4.673208	31.46252	5.841384	0.05756641	35.3348714		
17.15502	4.701299	30.46989	5.876499	0.05486523		28.2679766	1.2500445
17.41102	4.7147	29.99636	5.89325	0.05234766	35.3354227		
17.66702	4.727699	29.53704	5.909499	0.05077734		28.2675857	1.25001923
17.92302	4.740315	29.09125	5.925268	0.04928125	35.3352885		
18.43502	4.764468	28.23777	5.95546	0.04717383		28.2684155	1.25003105
18.69102	4.776038	27.82893	5.969923	0.04519531	35.3362143		
18.94702	4.787291	27.43132	5.983988	0.04395703		28.2694632	1.24988892
19.20302	4.798239	27.04445	5.997674	0.04276562	35.3370479		
19.71502	4.819276	26.3011	6.02397	0.04108789		28.268558	1.24998812
19.97102	4.829388	25.94378	6.03661	0.0395	35.3362342		
20.22702	4.839244	25.59551	6.04893	0.0385		28.2686688	1.25
20.48302	4.848854	25.25593	6.060943	0.03753906	35.3361082		
20.99502	4.867376	24.60146	6.084094	0.03617578		28.2696212	1.24991902
21.25102	4.876305	24.28595	6.095256	0.03487891	35.3354239		
21.50702	4.885024	23.97786	6.106155	0.03405859		28.267731	1.25002867
21.76302	4.893541	23.6769	6.116801	0.03326953	35.3363861		
22.27502	4.909998	23.09538	6.137372	0.03214258		28.2689223	1.24998481
22.53102	4.917951	22.81433	6.147314	0.03106641	35.3388658		
22.78702	4.92573	22.53945	6.157038	0.03038672		28.2682024	1.25003214
23.04302	4.933341	22.27053	6.166551	0.02973047	35.3330706		
23.55502	4.94808	21.74973	6.184975	0.02878711		28.2674772	1.25001696
23.81102	4.955218	21.49748	6.193898	0.02788281	35.3390305		
24.06702	4.96221	21.25043	6.202637	0.0273125		28.2698249	1.24985698
24.32302	4.969059	21.0084	6.211199	0.02675391	35.3380055		
24.83502	4.982349	20.53879	6.227812	0.02595703		28.2676217	1.25003762
25.09102	4.988799	20.3109	6.235873	0.02519531	35.3317829		
						28.2694497	1.25

25.34702	4.995123	20.08743	6.243778	0.02470313	35.3345156			
25.60302	5.001326	19.86825	6.251532	0.02423047		28.2687459	1.25	
26.11502	5.013382	19.44224	6.266602	0.02354688	35.3361775			
26.37102	5.019242	19.23517	6.273927	0.02289063		28.2686692	1.25017385	
26.62702	5.024994	19.03189	6.281118	0.02246875	35.3301469			
26.88302	5.030643	18.83231	6.288178	0.02206641		28.2689369	1.25004548	
27.39502	5.041637	18.44381	6.301921	0.02147266	35.3363229			
27.65102	5.046989	18.25469	6.308612	0.02090625		28.2717176	1.24985739	
27.90702	5.052248	18.06886	6.315185	0.02054297	35.3366873			
28.16302	5.057416	17.88624	6.321645	0.0201875		28.2664973	1.25004963	
28.67502	5.06749	17.53028	6.334238	0.01967578	35.3308898			
28.93102	5.072401	17.35677	6.340376	0.01918359		28.2703777	1.25020713	
29.18702	5.077229	17.18613	6.346412	0.01885937	35.3305263			
29.44302	5.081979	17.01831	6.352349	0.01855469		28.2694631	1.24997303	
29.95502	5.091248	16.69078	6.363935	0.01810352	35.3393765			
30.21102	5.095771	16.53094	6.369589	0.01766797		28.2659479	1.25	
30.46702	5.100223	16.37364	6.375154	0.01739062	35.3354633			
30.72302	5.104605	16.2188	6.380631	0.01711719		28.2683861	1.2499708	
31.23502	5.113166	15.9163	6.391332	0.0167207	35.3371593			
31.49102	5.117348	15.76852	6.39656	0.01633594		28.2711733	1.24981792	
31.74702	5.121467	15.62298	6.401708	0.01608984	35.3379895			
32	5.125476	15.48131	6.40672	0.0158471				
				Pendiente máx	1.14496663	35.335664	28.2697089	1.24999437

Ys/x= 35.335664

Yx/s= 0.02830002

Ys/p= 28.2697089

Yp/s= 0.03537355

Yp/x= 1.24999437

Yx/p= 0.8000036

Modelo Andrew-Levenspiel 14mg NTC							
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Pendiente	Ys/x	Ys/p	Yp/x
0	0.0001	196.59	0				
0.6561088	0.0004422	196.5757	0.000584	0.00052156	41.7884278		
1.003662	0.0009717	196.5537	0.0014875	0.00152351		24.349751	1.70632672
1.299578	0.0018989	196.515	0.0030697	0.00313332	41.7385677		
1.658404	0.0042757	196.416	0.0071257	0.00662382		24.408284	1.70649613
1.959476	0.0084372	196.2426	0.0142273	0.01382228	41.6676679		
2.262497	0.016681	195.8991	0.0282953	0.02720538		24.4171169	1.70649458
2.568568	0.0330423	195.2174	0.0562155	0.0534559	41.6653933		
2.880383	0.0656368	193.8593	0.1118375	0.10453153		24.4165977	1.70648422
3.203921	0.1310795	191.1325	0.2235145	0.20227207	41.666985		
3.553108	0.2647232	185.564	0.4515754	0.38272817		24.4167238	1.70648448
3.874756	0.472949	176.888	0.8069096	0.64737166	41.6663065		
4.17569	0.7496466	165.3589	1.27909	0.91946274		24.4167272	1.70648535
4.686283	1.329988	141.178	2.269433	1.13660273	41.666681		
4.898443	1.573783	131.0199	2.685466	1.14910916		24.4165727	1.70648701
5.139746	1.832953	120.2211	3.127735	1.07404384	41.6668596		
5.638131	2.284293	101.4153	3.89794	0.9056051		24.4166164	1.70648513
5.878819	2.461812	94.01867	4.200874	0.7375482	41.6666948		
6.12667	2.620715	87.39769	4.47204	0.64112309		24.4167042	1.70648761
6.63867	2.886556	76.32101	4.925692	0.5192207	41.6665601		
6.89467	2.994467	71.8247	5.109842	0.42152734		24.4165626	1.70649887
7.15067	3.08929	67.87375	5.271655	0.37040234	41.6665788		
7.40667	3.173132	64.38031	5.414731	0.32750781		24.4166737	1.70649555
7.91867	3.31446	58.49169	5.655904	0.27603125	41.6663365		
8.17467	3.374506	55.98974	5.758373	0.23455469		24.4166528	1.70650834
8.43067	3.428808	53.72715	5.851038	0.21211719	41.6667894		
8.68667	3.47815	51.67126	5.935239	0.19274219		24.4164559	1.70647724
9.19867	3.564452	48.07533	6.082512	0.16855859	41.6668212		
9.45467	3.602417	46.49346	6.147299	0.14830078		24.4164724	1.70649282
9.71067	3.637465	45.03311	6.207108	0.13690625	41.6671422		
9.96667	3.669928	43.68052	6.262504	0.12680859		24.4167449	1.70643502
10.47867	3.728186	41.2531	6.361921	0.11378516	41.6667239		
10.73467	3.754435	40.15938	6.406715	0.10253516		24.4166629	1.7065031
10.99067	3.779017	39.13512	6.448664	0.09602344	41.6670735		
11.24667	3.802091	38.17369	6.48804	0.09013281		24.4166497	1.70650949
11.75867	3.844259	36.41672	6.559998	0.08235938	41.6659552		
12.01467	3.863583	35.61155	6.592974	0.07548438		24.4168486	1.70647899
12.27067	3.881867	34.84973	6.624175	0.07142187	41.6659374		
						24.4168273	1.70654432

12.52667	3.899195	34.1277	6.653746	0.0676875	41.6659395		
13.03867	3.931285	32.79064	6.708506	0.06267578		24.4167651	1.70651444
13.29467	3.946175	32.17021	6.733916	0.05816406	41.6665493		
13.55067	3.960372	31.57867	6.758143	0.05545703		24.4162919	1.70648565
13.80667	3.973925	31.01397	6.781271	0.05294141	41.6674556		
14.31867	3.999275	29.9577	6.824531	0.04951172		24.4167571	1.70646682
14.57467	4.011151	29.46287	6.844797	0.04639062	41.6646181		
14.83067	4.022541	28.98831	6.864233	0.04449219		24.4160995	1.70666789
15.08667	4.033474	28.53273	6.882892	0.04270703	41.6654538		
15.59867	4.054087	27.67388	6.918066	0.04025977		24.4163354	1.70662007
15.85467	4.063815	27.26852	6.934668	0.038	41.6641775		
16.11067	4.073189	26.87796	6.950664	0.03661719		24.4171421	1.70638345
16.36667	4.082228	26.50135	6.966088	0.03530859	41.6680275		
16.87867	4.099374	25.78691	6.995348	0.03348828		24.4155751	1.70646033
17.13467	4.107516	25.44768	7.009242	0.03180469	41.6702655		
17.39067	4.115389	25.11961	7.022678	0.03075391		24.4155644	1.70656168
17.64667	4.123009	24.80211	7.035682	0.02976562	41.6648314		
18.15867	4.137539	24.19672	7.060476	0.02837891		24.4184277	1.70633204
18.41467	4.144472	23.90785	7.072306	0.02708203	41.6698885		
18.67067	4.151197	23.62762	7.083784	0.02626953		24.4174147	1.7064951
18.92667	4.157725	23.35561	7.094924	0.0255	41.6662667		
19.43867	4.170226	22.83474	7.116256	0.02441602		24.4154192	1.70662882
19.69467	4.176215	22.58519	7.126477	0.02339453	41.6615173		
19.95067	4.182041	22.34247	7.136418	0.02275781		24.4174506	1.70659845
20.20667	4.187709	22.10628	7.146091	0.02214063	41.6651368		
20.71867	4.198603	21.65238	7.164681	0.02127734		24.4175898	1.70651136
20.97467	4.20384	21.43416	7.173618	0.02045703	41.6669931		
21.23067	4.208945	21.22145	7.18233	0.01994141		24.4178929	1.7061659
21.48667	4.213924	21.01402	7.190825	0.01944922	41.6684035		
21.99867	4.22352	20.61417	7.207201	0.01874219		24.4143346	1.70672142
22.25467	4.228147	20.42137	7.215098	0.01807422	41.6685107		
22.51067	4.232666	20.23307	7.222809	0.01765234		24.4173082	1.70645527
22.76667	4.237081	20.04911	7.230343	0.01724609	41.6652994		
23.27867	4.245614	19.69358	7.244904	0.01666602		24.4133523	1.70666667
23.53467	4.249739	19.52171	7.251944	0.01611328	41.6679058		
23.79067	4.253774	19.35358	7.258829	0.01576172		24.4167409	1.70668693
24.04667	4.257722	19.18906	7.265567	0.01542188	41.6642698		
24.55867	4.265371	18.87037	7.27862	0.01493945		24.4165085	1.70642202
24.81467	4.269077	18.71596	7.284944	0.01447656	41.6694215		
25.07067	4.272707	18.5647	7.291139	0.01417969		24.4184514	1.70649424
25.32667	4.276264	18.41648	7.297209	0.01389453	41.6640116		
25.83867	4.283169	18.12879	7.308992	0.01348633		24.4178322	1.70644391
26.09467	4.286521	17.98912	7.314712	0.01309375	41.6636253		
26.35067	4.289809	17.85213	7.320322	0.01284375		24.4141689	1.70644761

26.60667	4.293035	17.71773	7.325827	0.01260156	41.669324			
27.11867	4.299307	17.45638	7.33653	0.01225		24.4122167	1.70688525	
27.37467	4.302357	17.32929	7.341736	0.01191406	41.6694491			
27.63067	4.305352	17.20449	7.346847	0.01169922		24.4163347	1.70632223	
27.88667	4.308294	17.08192	7.351867	0.01149219	41.6704486			
28.39867	4.314023	16.84319	7.361644	0.01118945		24.4162117	1.7061985	
28.65467	4.316814	16.72692	7.366406	0.01090234	41.6660591			
28.91067	4.319557	16.61263	7.371087	0.01071484		24.4154715	1.70634038	
29.16667	4.322254	16.50027	7.375689	0.01053516	41.6714204			
29.67867	4.327513	16.28112	7.384664	0.01027148		24.412974	1.70682261	
29.93467	4.330078	16.17424	7.389042	0.01001953	41.6640254			
30.19067	4.332602	16.06908	7.393348	0.00985937		24.4171779	1.70611916	
30.44667	4.335086	15.9656	7.397586	0.00970313	41.6725098			
30.95867	4.339935	15.76353	7.405862	0.0094707		24.4136566	1.70620515	
31.21467	4.342304	15.66485	7.409904	0.00925391	41.6680961			
31.47067	4.344636	15.56768	7.413883	0.00910938		24.4169431	1.70688153	
31.72667	4.346932	15.47199	7.417802	0.00896875	41.6611433			
32	4.349346	15.37142	7.421921	0.00883182				
				Pendiente máx	1.14910916	41.6706109	24.4148174	1.70649347

Ys/x= 41.6706109

Yx/s= 0.02399773

Ys/p= 24.4148174

Yp/s= 0.04095873

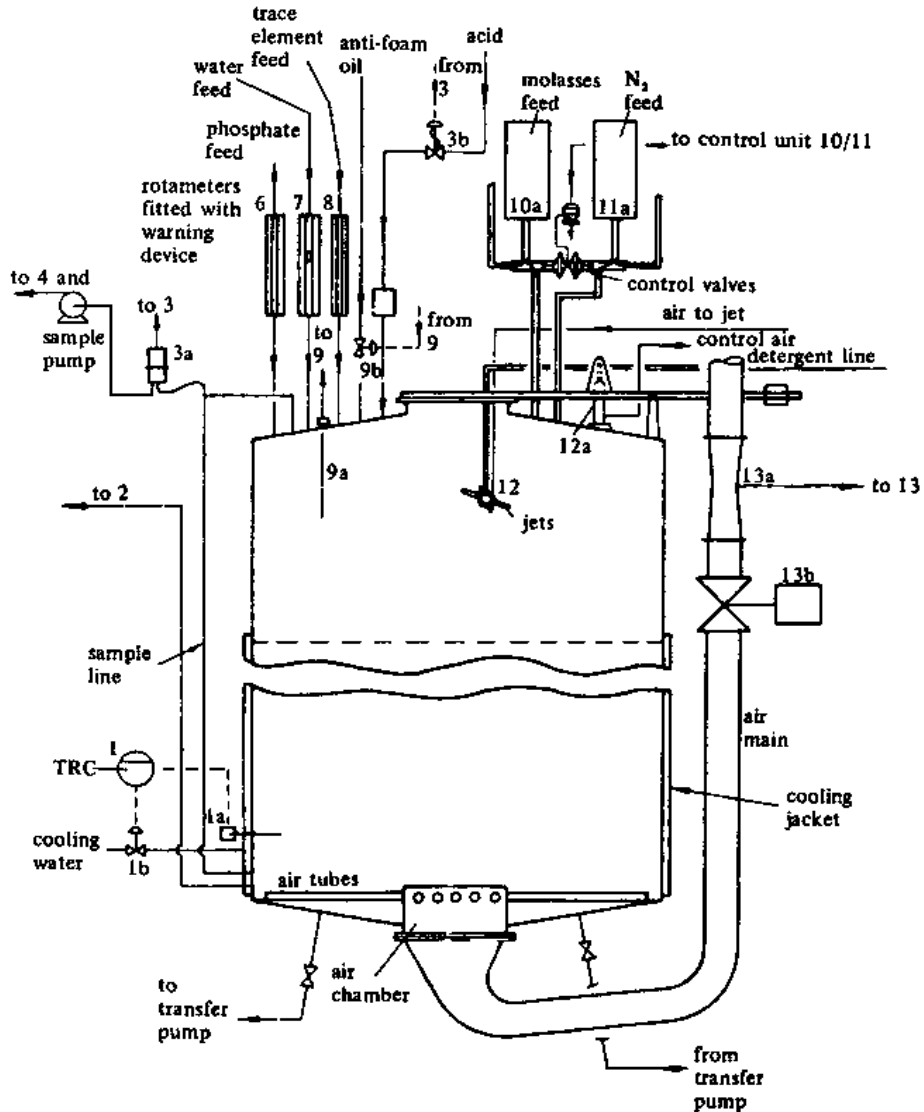
Yp/x= 1.70649347

Yx/p= 0.58599697

A.5. Especificaciones estándar de un fermentador

1. Las superficies en contacto con el cultivo son 316 SS, todas las demás 304 SS; libre de grietas, pulido mecánicamente y pulido hasta aproximadamente 220 granos.
2. Proporciones aproximadas: altura / diámetro = 2, diámetro del impulsor / recipiente = 0:35, ancho del deflector / diámetro del recipiente = 0: 1
3. Volumen de trabajo máximo = 75–80%, mínimo = 25%
4. Los puertos y las penetraciones son 20, a saber (Figura A6.1):
 - A. Puerto de inoculación / adición esterilizable con vapor.
 - B. Ventana de visualización combinada / puerto de llenado en el cabezal
 - C. Ventana de entrada de luz y lámpara en el cabezal
 - D. Línea de entrada de aire
 - E. línea de escape de aire
 - F. Sonda para sensor de control de temperatura y sensor de registro de temperatura
 - G. Sonda para termómetro
 - H. Línea de entrada de agua a la camisa del recipiente.
 - I. Tubería de salida de agua de la camisa del recipiente.
 - J. Disco de ruptura en la placa de cabeza y válvula de alivio de presión en la chaqueta
 - K. Manómetro tipo diafragma
 - L. Puerto de muestra esterilizable con vapor
 - M. Puerto de drenaje inferior esterilizable con vapor, la válvula de descarga está al fondo

-
- N. Puerto de entrada lateral para electrodo de pH
 - O. Puerto de entrada superior o lateral (dependiente del tamaño) para la instalación del electrodo de oxígeno disuelto
 - P. Puerto de entrada superior para sensor de espuma
 - Q. Puertos de entrada lateral para la adición de ácido, base y antiespumante (con válvulas y tuberías según sea necesario)
 - R. Penetraciones de repuesto en la placa de cabeza para la inserción de sensores adicionales, es decir, 1 1/8 pulg. NPT, 1 3/8 pulg. NPT, 1 3/4 pulg. NPT
5. Rotura de espuma: puerto de inyección provisto para rotura química; disyuntor mecánico opcional, consta de un doble disco girado a alta velocidad con su propio accionamiento.
6. El sistema de agitación tiene tres impulsores de turbina de seis palas ajustables a lo largo del eje, velocidad máxima de la punta de 1200 pies / min, transmisión estándar de 40 HP para un recipiente de 5000 L, transmisión inferior estándar, transmisión superior opcional.
7. Controles y monitores: nivel de líquido, pH, oxígeno disuelto, potencial de reducción-oxidación (Redox), velocidad del aire, temperatura, control de ciclo de esterilización automático (opcional), disco de ruptura en recipiente, válvula de alivio en camisa.



- | | | | |
|----|---|-------|--|
| *1 | Control y registrador de Temperatura | *9 | Controlador de espuma |
| 1a | Termómetro de Resistencia | 9a | Detector de espuma |
| 1b | Válvula de Control | 9b | Válvula de control |
| *2 | Nivel de fermentación | 10/11 | Unidad de control de dosificación |
| *3 | Registrador y Controlador de pH | 10a | Alimentación de melazas |
| 3a | Sistema de electrodos de pH | 11a | Alimentación de Nitrógeno |
| 3b | Válvula de control | 12 | Rotor de propulsión a chorro |
| *4 | Registrador de la conc. de Levadura | 12a | Unidad de Poder |
| *5 | Controlador de Registrador | *13 | Registrador del controlador de aire |
| 6 | Rotámetro de alimentación de fosfatos | 13a | Venturi |
| 7 | Rotámetro de alimentación de agua | 13b | Válvula de control de aire accionada por energía |
| 8 | Rotámetro Alimentación de trazas de elementos | * | Indica instrumentos montados en Panel |

Figura A6.1 Bosquejo de un fermentador con equipo auxiliar. En muchos casos es común una agitación suplemental mecánica (Olsen, 1960).
