

**EXTRACCIÓN CON UNA RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO DE LOS
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PRODUCIDOS EN EL PROCESO MIXALCO®**

LAURA CAMILA RIOS CARREÑO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2018

**EXTRACCIÓN CON UNA RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO DE LOS
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PRODUCIDOS EN EL PROCESO MIXALCO®**

LAURA CAMILA RIOS CARREÑO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniera Química**

Directores

VIVIANA SÁNCHEZ TORRES
Ingeniera Química, Ph.D.

MARK T. HOLTZAPPLE
Ingeniero Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2018

DEDICATORIA

A mis padres, por darme la oportunidad de estudiar y depositar la confianza en mí al momento de emprender mis proyectos, Gracias por todos los valores inculcados y su esfuerzo constante por darme siempre lo mejor. Son mi mayor motivación para ser una mejor persona y enorgullecerlos día a día.

A mi hermana por mostrarme una perspectiva más alegre de la vida.

A mis abuelas por todo su amor y respaldo en la distancia.

A Javier por ser mi confidente, por su especial compañía y apoyo durante mi carrera, por demostrarme que el esfuerzo y disciplina tienen verdaderas recompensas.

A Ardila, Paola, Adriana y Mabel por todos los momentos vividos, por todas las risas y tristezas en las que me han acompañado, por ser un pedacito de felicidad en cualquier momento del día.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Industrial de Santander que mediante su oficina de Relaciones Exteriores hicieron posible la realización de esta pasantía de investigación. Al Ph.D. Mark Holtzapple por acogerme en su grupo de investigación y permitirme trabajar en este proyecto de investigación en sus laboratorios en Texas A&M University.

Al Ingeniero MSc. Kefan Yang por compartir sus conocimientos y guiarme durante la etapa experimental de este proyecto. Especiales agradecimientos a mi directora, la Ph.D. Viviana Sánchez Torres, por su apoyo y seguimiento durante la escritura de mi tesis. A la ingeniera Tatiana Zapata por su orientación en el área estadística de este proyecto.

CONTENIDO

	pág
INTRODUCCIÓN	13
1. MARCO TEÓRICO	16
1.1 EL PROCESO DE MIXALCO	16
1.2 FERMENTACIÓN EN CONTRACORRIENTE ANAERÓBICA EN EL PROCESO MIXALCO®	17
1.3 RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO	18
1.3.1 El intercambio iónico.	20
1.3.2 Clasificación	20
1.3.3 Propiedades	22
2. METODOLOGÍA	24
2.1 PREPARACIÓN DE MATERIALES	24
2.2 ADAPTACIÓN DE MICROORGANISMOS	25
2.3 FERMENTACIÓN EN CONTRACORRIENTE	27
2.4 TRANSFERENCIA DE LÍQUIDO A TRAVÉS DE LA RESINA	29
3. RESULTADOS	31
3.1 ANÁLISIS DE BIOGÁS	31
3.2 CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS	32
3.3 REGENERACIÓN	37

4. CONCLUSIONES	38
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	46

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Diagrama de la plataforma de carboxilato	17
Figura 2. Diagrama de un sistema de fermentación en contracorriente.....	18
Figura 3. Representación esquemática de una esfera de resina tipo gel	19
Figura 4. Cuadro metodológico.....	24
Figura 5. Esquema de un fermentador	25
Figura 6. Sistema de liberación de gas.....	26
Figura 7. Procedimiento de la transferencia de líquido en contracorriente	28
Figura 8. Configuración de la columna de resina y sistema de vacío	30
Figura 9. Variación del volumen de biogás del grupo de resina	31
Figura 10. Variación del volumen de biogás en el grupo de control.....	32
Figura 11. Perfil de concentración de ácidos durante la fermentación contracorriente	33
Figura 12. Análisis del método de pendiente para el grupo de resina	34
Figura 13. Diagrama de caja y bigotes para la producción de ácidos carboxílicos	35
Figura 14. Resultados del análisis ANOVA.....	36
Figura 15. Composición de ácidos carboxílicos de los productos líquidos	36
Figura 16. Porcentaje de adsorción de los ácidos carboxílicos producidos durante la fermentación contracorriente.....	37
Figura 17. Fermentadores con la carga inicial de materias primas.....	46
Figura 18. Grupo de fermentadores con la biomasa altamente digerida	46
Figura 19. Incubadora de rodillos.....	47
Figura 20. Etapa de transferencia de masa en contracorriente	47

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Características principales de las resinas tipo gel y macroporosas	19
Tabla 2. Propiedades de la resina Amberlite® IRA-67	22
Tabla 3 . Carga inicial de los fermentadores	26
Tabla 4. Parámetros de operación del grupo de control y el grupo de resina	34
Tabla 5. Resultados de la regeneración	37
Tabla 6. Concentración de ácidos carboxílicos en el estándar externo	48

RESUMEN

TÍTULO: EXTRACCIÓN CON UNA RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO DE LOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PRODUCIDOS EN EL PROCESO MIXALCO®*

AUTOR: LAURA CAMILA RIOS CARREÑO**

PALABRAS CLAVE: MIXALCO®, RESINA DE INTERCAMBIO, ÁCIDOS CARBOXÍLICOS, FERMENTACIÓN CONTRACORRIENTE

DESCRIPCIÓN:

El proceso MixAlco® es una tecnología desarrollada en los laboratorios de Texas A&M University que transforma materiales biodegradables en una mezcla de alcoholes combustibles. Durante el proceso de fermentación se producen ácidos carboxílicos que se acumulan y reducen el pH del caldo de fermentación. La alta concentración de ácidos y un pH bajo inhiben el funcionamiento eficiente de los microorganismos en los fermentadores. Para extraer estos ácidos se aplican diferentes técnicas como extracción líquido-líquido, precipitación y electrodiálisis, las cuales requieren de múltiples operaciones que encarecen el proceso; mientras que los adsorbentes poliméricos, como las resinas de intercambio iónico constan de un montaje sencillo.

Este proyecto de investigación buscó mejorar los parámetros de operación de la fermentación en contracorriente del proceso de MixAlco®, utilizando una columna de resina de intercambio iónico de tipo base débil Amberlite IRA-67 para extraer los ácidos carboxílicos presentes en el caldo de fermentación. Para ello, se utilizaron dos grupos de 4 fermentadores, a uno de ellos se le aplicó la transferencia en contracorriente del producto líquido a través de la resina y el otro se mantuvo como control. La transferencia se llevó a cabo cada 48 h durante 1 mes a partir del día 107 de la fermentación y se obtuvo una conversión y rendimiento de producto de 70.3% y 18.3% respectivamente.

* Trabajo de Grado.

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Directores: Ph.D. Viviana Sánchez Torres y Ph.D. Mark Holtzaple.

ABSTRACT

TITLE: EXTRACTION OF CARBOXYLIC ACIDS PRODUCED IN MIXALCO® PROCESS WITH AN ION EXCHANGE RESIN *

AUTHOR: LAURA CAMILA RIOS CARREÑO**

KEYWORDS: MIXALCO®, ION EXCHANGE RESIN, CARBOXYLIC ACIDS, COUNTERCURRENT FERMENTATION

The MixAlco® process is a technology developed at Texas A&M University laboratories that transforms biodegradable materials into a mixture of combustible alcohols. The carboxylic acids produced during the fermentation process accumulate and reduce the pH of the fermentation broth. High acids concentration and low pH inhibit the efficient functioning of the microorganisms in the fermenters. Different techniques such as liquid-liquid extraction, precipitation and electrodialysis can be used to extract these acids, however, they require multiple operations that make the process more expensive. On the other hand, polymeric adsorbents such as ion exchange resins are an alternative that requires a simple assembly.

This research project was aimed to improve the operation parameters of the counter-current fermentation of the MixAlco® process using a column of weak base type ion exchange resin Amberlite IRA-67 to extract the carboxylic acids present in the fermentation broth. To do this, two groups of 4 fermenters were used and one of them was transferred the liquid product through the resin and the other was kept as control. The transfer was carried out every 48 h during 1 month from day 107 of the fermentation and a conversion and product yield of 70.3% and 18.3% respectively were obtained.

* Bachelor Thesis.

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Directors: Ph.D. Viviana Sánchez Torres and Ph.D. Mark Holtzaple.

INTRODUCCIÓN

La demanda energética mundial aumenta y seguirá haciéndolo como respuesta al crecimiento y expansión económica de los países. Actualmente los combustibles fósiles suplen el 60% de la energía mundial [1]; el incremento en el consumo de éstos combustibles trae consecuencias ambientales negativas y nocivas para la salud, y es por ello que los biocombustibles como biodiesel, bioetanol, biohidrógeno son considerados una alternativa atractiva para sustituir los aceites fósiles, mitigando así la contaminación ambiental, el deterioro de la capa de ozono, las altas emisiones de gases invernadero, etc [2]. La producción de biocombustibles es apoyada por países como Estados Unidos, Brasil y China, con el propósito de combatir preocupaciones de seguridad energética y del agotamiento progresivo de las reservas de petróleo, gas, carbón, entre otros [3].

Los biocombustibles de segunda generación además de ser renovables tienen ventajas adicionales sobre los de primera generación como tener una fuente de materia prima (biomasa lignocelulósica) abundante, económica y que no afecta la cadena alimentaria humana [4]. La biomasa está presente alrededor del mundo en una gran variedad de presentaciones, se encuentra en residuos forestales y agroindustriales como el bagazo de caña y el rastrojo de maíz, residuos humanos y animales. Además, es considerada una fuente potencial de azúcares fermentables, la cual puede ser utilizada, bajo las condiciones adecuadas, para producir alcoholes como bioetanol y biobutanol [5].

Sin embargo, la producción de biocombustibles a partir de biomasa representa grandes retos para la ingeniería y la ciencia, debido a su compleja composición. Los componentes principales de la lignocelulosa son celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales poseen una difícil degradación y normalmente deben ser sometidos a pretratamientos para liberar la celulosa y la hemicelulosa de los entrelazados de lignina [6]. El proceso de MixAlco® es una tecnología patentada que convierte material biodegradable en combustibles de una mezcla de alcoholes; se lleva a cabo en un fermentador, donde ocurre la digestión

anaeróbica y con la ayuda de un cultivo mixto de microorganismos formadores de ácidos se producen ácidos carboxílicos (ácido acético, propiónico, y butírico) [7].

Los ácidos carboxílicos son los ácidos orgánicos más conocidos. Son usados a gran escala en la industria química y de alimentos. Muchos ácidos carboxílicos pueden convertirse en carbohidratos u otras materias primas renovables por medio de la fermentación. Sin embargo, tienen un efecto tóxico sobre los microorganismos fermentadores [8].

Con el objetivo de aumentar la fermentabilidad de la biomasa es necesario reducir la concentración de estos ácidos. Existen diferentes métodos de extracción, la eliminación in-situ por extracción con solvente es la técnica más popular. Sin embargo, los microorganismos crecen a un pH de 6.8 y la mayoría de los extractantes funcionan eficientemente a pH menores a 6, condición a la cual los microorganismos tienen bajas tasas de crecimiento [9].

La evaporación es otro tratamiento usado para la eliminación de compuestos volátiles como el ácido acético y ácido fórmico. Sin embargo, compuestos como el ácido levulínico, no son eliminados. El tratamiento debe realizarse a un pH bajo ya que compuestos como el ácido acético y fórmico sólo son volátiles en la forma protonada [10].

Por otro lado, la adsorción es un método de detoxificación físico, donde los adsorbentes convencionales como el carbón activado usualmente resultan contaminando el producto, especialmente cuando la biomasa tiene un componente afín con el carbón. Murali et al.¹ concluyeron que utilizar adsorbentes poliméricos, como las resinas de intercambio iónico, tiene resultados más eficientes en el proceso de separación de ácidos carboxílicos.

¹ MURALI, Nandita; SRINIVAS, Keerthi y AHRING, Brigitte. Biochemical Production and Separation of Carboxylic Acids for Biorefinery Applications. En: Fermentation. Mayo, 2017, vol 3, no 2. p 22.

Esta afirmación es comprobada por autores como Srivastava et al². y González et al.³ quienes mejoraron la productividad de sus fermentaciones al aplicar esta técnica de extracción.

Este proyecto de investigación se desarrolló en los laboratorios del grupo de investigación Holtzapple's lab en Texas A&M University y tuvo como objetivo principal extraer los ácidos carboxílicos producidos durante el proceso Mixalco en la etapa de fermentación utilizando una resina de intercambio iónico Amberlite® IRA-67.

² SRIVASTAVA, Kiresten, *et al.* Biological formation of caproate and caprylate from acetate: fuel and chemical production from low grade biomass. En: Energy & Environmental Science. Noviembre, 2010, vol 4, no 1. p 216-224.

³ GONZALEZ, Isabel *et al.* Purification of Lactic Acid from Fermentation Broths by Ion-Exchange Resins. En: Industrial & engineering chemistry research. Marzo, 2006. p 3243–3247.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 EL PROCESO DE MIXALCO

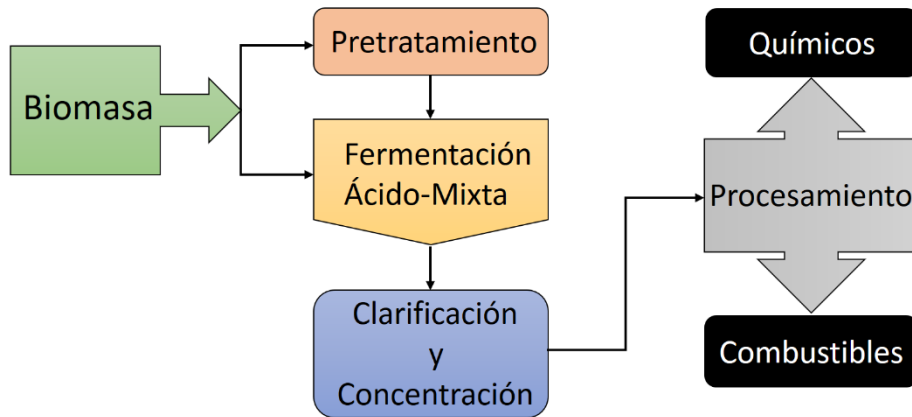
Para transformar la biomasa lignocelulósica en biocombustibles se utilizan principalmente 3 plataformas: termoquímica, de azúcar y de carboxilato [11]. El proceso termoquímico utiliza el calor y/o la catálisis para convertir la lignocelulosa en productos de valor industrial, que pueden ser gases como CO, CO₂, H₂, CH₄, líquidos como aceites bio-crudos los cuales requieren procesos de refinación, separación y mejoramiento para aumentar su valor y sólidos como combustible para calentar o cocinar por su alto contenido energético [12].

En la plataforma de azúcar, la celulosa y hemicelulosa se convierten primero en azúcares fermentables como glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa y manosa, usando ácidos o enzimas, los cuales son fermentados para producir etanol [13].

Por otro lado, la plataforma de carboxilato incluye todos los procesos que a partir de la fermentación anaeróbica de biomasa producen sales de carboxilato o ácidos carboxílicos. Las sales pueden ser vendidas como productos primarios o después de ser fermentadas con diferentes microorganismos como productos secundarios. Una característica especial de esta plataforma es que utiliza una mezcla de cultivos de microorganismos para la etapa de fermentación [14].

El proceso de MixAlco, ilustrado en la Figura 1, fue desarrollado en los laboratorios del profesor Mark Holtzaple en la Universidad de Texas A&M. Es un ejemplo de la plataforma carboxilato y es una tecnología capaz de convertir material biodegradable en químicos útiles como ácidos carboxílicos, cetonas y biocombustibles [15].

Figura 1. Diagrama de la plataforma de carboxilato



Fuente WARNOCK GOLUB, Kristina. Effect of bioreactor mode of operation on mixed-acid fermentation. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2012, p 3- 24.

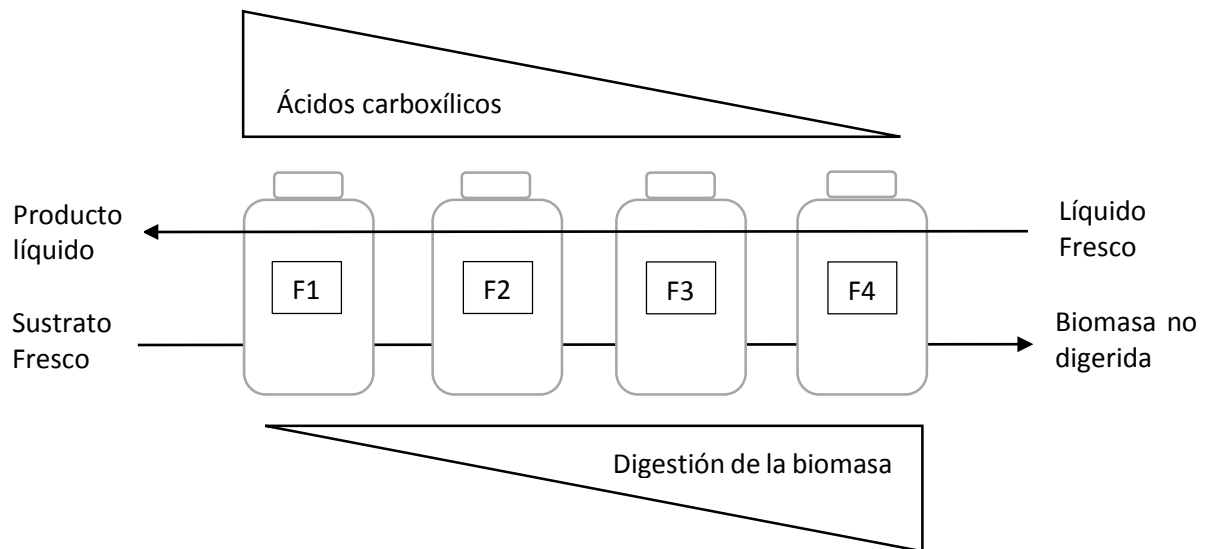
Inicialmente se alimenta la biomasa a un reactor y se utiliza una mezcla de cultivos de microorganismos para fermentar la materia prima, lo cual le brinda a esta fase una mayor flexibilidad metabólica. También se añade carbonato de magnesio para neutralizar los ácidos producidos y convertirlos en sales. Estas sales son separadas del caldo fermentado y convertidas térmicamente en cetonas, las cuales son hidrolizadas a alcoholes; finalmente estos son convertidos catalíticamente a hidrocarburo [16].

1.2 FERMENTACIÓN EN CONTRACORRIENTE ANAERÓBICA EN EL PROCESO MIXALCO®

Parar obtener altos valores de conversión y de concentración de producto, este proceso utiliza fermentación por lotes en contracorriente, donde se manejan dos fases: sólida y líquida. Al final de cada lote el líquido y el sólido se mueven en contraflujo [17] como se muestra en la Figura 2. A medida que la biomasa se digiere resulta menos reactiva y la producción de ácidos carboxílicos inhibe la digestión [18]. No obstante, la fermentación en contracorriente permite que la biomasa más digerida esté en contacto con la menor concentración de ácidos y

la biomasa más fresca esté en contacto con la concentración más alta de ácidos, logrando así las condiciones más óptimas para la producción de ácidos [17].

Figura 2. Diagrama de un sistema de fermentación en contracorriente



Fuente MOODY, Andrew Garret. Pilot-scale fermentation of office paper and chicken manure to carboxylic acids. Tesis de magister en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2006.

1.3 RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Las resinas de intercambio consisten en cadenas hidrocarbonadas que constituyen una matriz donde se unen grupos funcionales iónicos, por medio de enlaces covalentes [19]. Los grupos funcionales más comunes son sales de ácidos sulfónicos o carboxílicos y sales de amonio cuaternario. Estos polímeros iónicos tienen dos tipos de iones, unos que están ligados a la estructura y otros con carga opuesta que están libres, los cuales pueden ser intercambiados por una cantidad equivalente estequiométricamente de otros iones de la misma carga al ponerse en contacto con una solución de electrolitos.

Las resinas de intercambio iónico pueden ser fabricadas como dos tipos de estructuras físicas: gelatinosas ó macroporosas, las cuales se diferencian entre sí por sus características fisicoquímicas (Tabla 1).

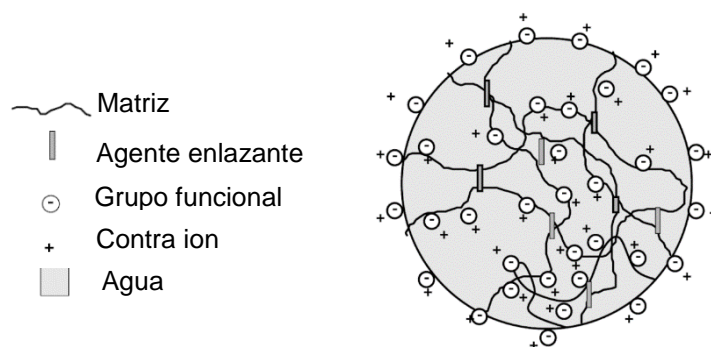
Se requiere que el material de las resinas sea insoluble, característica que confieren las cadenas hidrocarbonadas (hidrofóbicas) y resistentes a la fractura [20]. En general, pueden tener forma esférica (Figura 3), granular o laminar. Por otro lado, la estabilidad térmica, mecánica y química de la resina depende principalmente de la estructura, el grado de enrejillamiento de la matriz, de la naturaleza y el número de grupos iónicos fijos.

Tabla 1. Características principales de las resinas tipo gel y macroporosas

Característica	Tipo	
	Resina gelatinosa	Resina macroporosas
Apariencia	Transparente	Opacas
Porosidad	Dependiente del grado de reticulación	Función del grado de reticulación
Capacidad de adsorción	Alta	Reducida
Capacidad de elución	Rápida	Reducida
Resistencia química	Baja	Alta
Aplicaciones	Sistemas con agua	Aplicaciones especiales

Fuente ZAGANIARIS, Emmanuel. Ion Exchange Resins in Uranium Hydrometallurgy. Estados Unidos: Books On Demand. 2009. p 142.

Figura 3. Representación esquemática de una esfera de resina tipo gel



Fuente MICHAUD, Chubb. Ion Exchange Reactions: A Review. En: Water conditioning & purification. Junio, 2011. p 2-6.

1.3.1 El intercambio iónico. Los primeros estudios del intercambio iónico datan del siglo XIX, cuando al practicarse experimentos en suelos se le descubrió. Actualmente es considerado como una operación unitaria y es un suplemento extremadamente valioso para otros procedimientos como filtración, destilación y adsorción [21].

El intercambio iónico es un fenómeno que se produce al poner en contacto un sólido iónico (intercambiador) y una mezcla líquida que contiene iones en disolución (electrolito), produciéndose un intercambio entre los grupos iónicos del sólido y los iones de la misma carga de la disolución, hasta que se alcanza un equilibrio dinámico en el que la distribución de iones en el sólido y el líquido permanece constante [22].

1.3.2 Clasificación

1.3.2.1 Resina Catiónica. Son resinas que reaccionan solo con iones positivos como Ca^{+2} , Mg^{+2} o Na^{+} . La mayoría de estas resinas son preparadas por copolimerización y tienen adherido al benceno ácidos sulfónicos los cuales reaccionan con los cationes del medio circundante, intercambiando un H^{+} [23].

- **Resina catiónica de ácido fuerte:** son consideradas de ácido fuerte porque la disociación del SO_3H es tan fuerte como la del ácido clorhídrico o sulfúrico. De hecho, se disocia no solo en soluciones alcalinas, sino que también incluye las soluciones ácidas. Se estima que son las resinas más usadas, y son implementadas comúnmente en procesos de desmineralización [24]. Las ventajas de este tipo de resina incluyen un costo moderado, alta resistencia a la fractura y eliminación no selectiva de cationes. Aunque requieren de una cantidad de regenerante sustancial.

- **Resina catiónica de ácido débil:** Estas resinas tienen como grupos de intercambio ácidos carboxílicos, los cuales muestran una acidez débil, es decir que no se disocian en una solución ácida. Las resinas de ácido débil se caracterizan por tener una regeneración eficiente, pero solo pueden ser usadas en un rango limitado de pH [25].

1.3.2.2 Resina Aniónica. Las resinas de intercambio aniónico solo reaccionan con iones cargados negativamente como bicarbonato y sulfato.

- **Resina aniónica de base fuerte:** Estas resinas tienen un grupo amonio cuaternario como grupo de intercambio. El grupo de intercambio se disocia en soluciones alcalinas fuertes como NaOH o KOH.
- **Resina aniónica de base débil:** El grupo de intercambio de estas resinas es una amina; como el grupo amino es de base débil, no se disocia en soluciones alcalinas. Además, estas resinas no descomponen sales neutras. La desacidificación es el uso más frecuente de estas resinas, además pueden ser regeneradas con cantidades casi estequiométricas de una base fuerte [26].

Debido a que el producto de interés para este proyecto son los ácidos carboxílicos, este tipo de resina es la mejor elección. Según Roy ⁴ la resina Amberlite IRA-67 es la más adecuada para el proceso de MixAlco[®]. En la Tabla 2 se muestran algunas de sus propiedades.

⁴ SAMARPITA, Roy. Effect of extraction using ion-exchange resins on batch mixed-acid fermentations. Tesis de magister en ingeniería Civil. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2014, p 21-46.

Tabla 2. Propiedades de la resina Amberlite® IRA-67

Características	Propiedades
Forma	Esferas blancas translúcidas
Capacidad (eq /L)	1.6
Grupo Funcional	Amina Terciaria
Tamaño de partícula (mm)	0.50 -0.75

Fuente HARLAND, Clinve. Ion Exchange. Theory and Practice. Cambridge: Royal society of chemistry, 1994. p 49-53.

1.3.3 Propiedades

1.3.3.1 Humedad. Al entrar en contacto la resina seca con el agua, el agua entra en las esferas de resina, por la diferencia de presión osmótica que existe entre la resina y la solución externa. Debido a la penetración del agua las esferas de resina se hinchan.

La humedad se representa usualmente como un porcentaje y se define como la cantidad de agua contenida en 100 g de resina mojada bajo condiciones atmosféricas. Expresada como:

$$\%Humedad = \frac{\text{Peso de la resina húmeda} - \text{Peso de la resina seca}}{\text{Peso de la resina húmeda}} * 100$$

1.3.3.2 Capacidad de intercambio iónico. Permite cuantificar los grupos funcionales iónicos que contiene una cantidad específica de resina [27]. El número total de centros activos varía muy poco entre el mismo tipo de resinas, por lo que la accesibilidad a los mismos, y la afinidad que presenten por un determinado tipo de ión serán los que determinen la capacidad de intercambio.

Esta propiedad se puede expresar de dos maneras, la primera es conocida usualmente como capacidad intrínseca o específica y es el número de grupos funcionales equivalentes por kilogramo de resina seca (miliq). La segunda es la capacidad volumétrica y hace referencia al número de grupos funcionales equivalentes en un volumen de resina dado, éste es un volumen aparente el cual

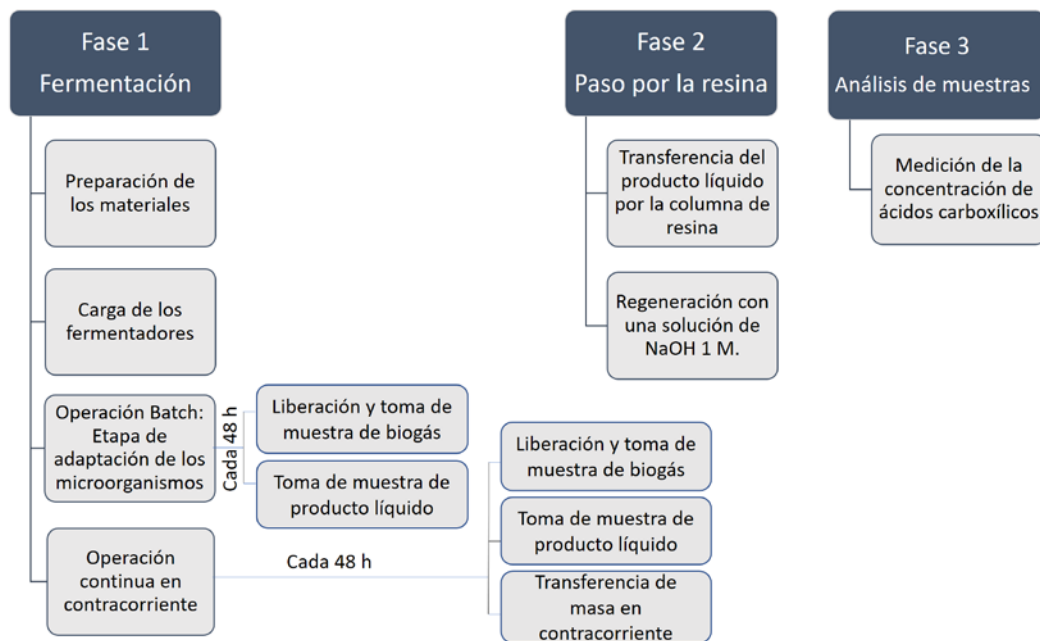
representa el espacio ocupado por la resina en un cilindro vertical e incluye el volumen de las esferas de resina más el volumen intersticial entre las ellas. Este último tipo de capacidad se emplea con mucha más frecuencia en los laboratorios e industria y se considera un valor más útil [19].

1.3.3.3 Regeneración. Después de una serie de ciclos de intercambio iónico las resinas sufren la pérdida de sitios de intercambio activo o sufren la rotura de los enlaces transversales de la resina, disminuyendo su capacidad de intercambio [28]. Por lo tanto, es necesario regenerarlas, este proceso consiste en hacer pasar a través de la columna de resina una solución que contenga el ion móvil original, el cual se deposita en la resina y desaloja los iones captados durante el agotamiento [29]. Los ácidos carboxílicos son usualmente recuperados con hidróxido de sodio o hidróxido de amonio y pueden concentrarse por medio de evaporación e hidrólisis para obtener un ácido puro [30].

2. METODOLOGÍA

Durante el desarrollo de este proyecto se llevaron a cabo 3 fases, las cuales se describen en la Figura 4.

Figura 4. Cuadro metodológico



2.1 PREPARACIÓN DE MATERIALES

Como fuente de carbono para los microorganismos, se utilizó papel de oficina cortado en tiras, debido a su alto contenido de celulosa y hemicelulosa, y contenido mínimo de lignina. Con el fin de aportar los nutrientes y minerales requeridos se empleó estiércol de pollo, éste se obtuvo fresco del Departamento de ciencia avícola de Texas A&M University (College Station, TX); se secó por 48 h a 105°C en un horno de convección. Adicionalmente se añadió urea como fuente suplementaria de nitrógeno.

Para garantizar un carácter anaerobio estricto del proceso, se preparó agua desgasificada haciendo hervir agua destilada para así liberar su oxígeno disuelto. Después de dejar enfriar el agua en un recipiente cerrado, se agregaron

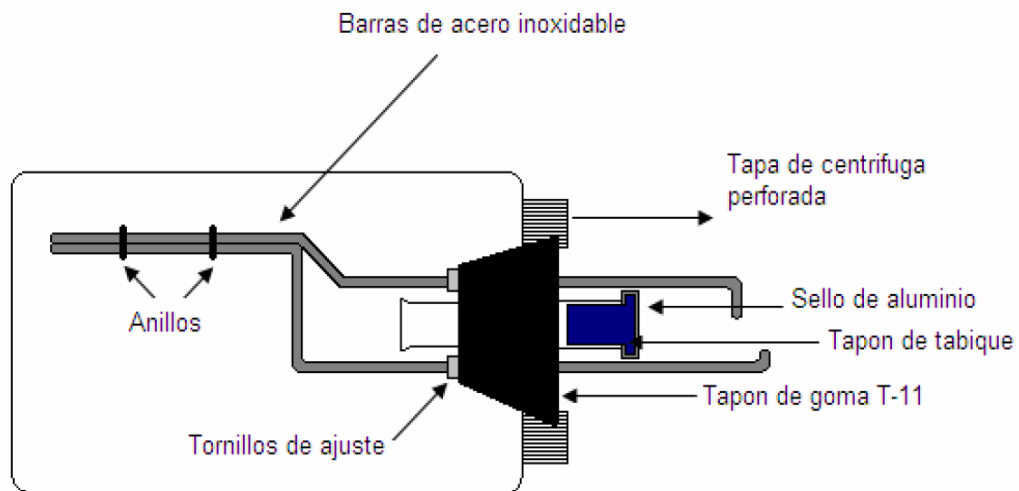
0.275 g/L de clorhidrato de cisteína y 0.275 g/L de sulfuro de sodio para garantizar un menor contenido de oxígeno.

Como inóculo se tomaron muestras de sedimentos de playa a 0.5 m de profundidad de la orilla del mar en la isla de Galveston (Texas), las cuales se almacenaron en botellas plásticas y se refrigeraron a 4° C hasta su uso.

2.2 ADAPTACIÓN DE MICROORGANISMOS

Los fermentadores consisten en botellas plásticas de 1 L selladas con un tapón de caucho que a su vez tenía insertado un tubo de vidrio sellado en la parte externa con un tapón y agrafe (Figura 5). Además, dos tubos de acero inoxidable atraviesan el tapón, los cuales actúan como deflectores ayudando al mezclado del contenido del fermentador (Anexo A).

Figura 5. Esquema de un fermentador



Fuente DARVEKAR, Pratik. Assessment of shock pretreatment of corn stover using the carboxylate platform. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2016.

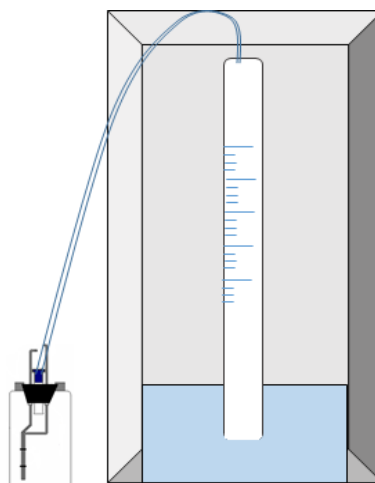
Se emplearon 8 fermentadores cargados como se indica en la Tabla 3; se purgaron con nitrógeno antes de ser sellados.

Tabla 3 . Carga inicial de los fermentadores

Sustancia	Cantidad
Papel de oficina	33.7 g
Estiércol de pollo	8.2 g
Inóculo	50 mL
Agua desgasificada	350 mL
Yodoformo	120 μ l
Urea	0.8 g

Los fermentadores operaron en modo discontinuo a 40 °C y 2 rpm en una incubadora de rodillos (Wheaton, Estados Unidos) durante 30 días. Cada 48 h se retiraron de la incubadora, regular la presión interna de los fermentadores liberando los gases hacia un cilindro invertido (Figura 6) lleno de una solución acuosa de 300 g de CaCl_2/L (añadido para evitar el crecimiento microbiano y la adsorción de dióxido de carbono en el interior del cilindro). El líquido era desplazado por el gas que entraba y el volumen era medido con una regla graduada.

Figura 6. Sistema de liberación de gas



Además, cada 48 h los fermentadores se centrifugaron por 10 min a 4000 rpm en una centrífuga J1 M6 (Beckman Coulter, Estados Unidos) y se recolectó una

muestra de 5 ml del sobrenadante de cada fermentador para analizar el contenido de ácidos disueltos. El pH del caldo de fermentación era medido y posteriormente ajustado el pH a 7.0 empleando MgCO_3 o HCl 5 mol/L según si se requería subir o bajar el pH. Antes de devolver los fermentadores a la incubadora se purgaban nuevamente con nitrógeno por 30 s.

La concentración de ácidos carboxílicos se midió usando un cromatógrafo de gases serie 6890 (Agilent, Estados Unidos) equipado con un detector de ionización de llama y un muestreador automático de líquidos 7683 (Agilent, Estados Unidos) (Anexo B).

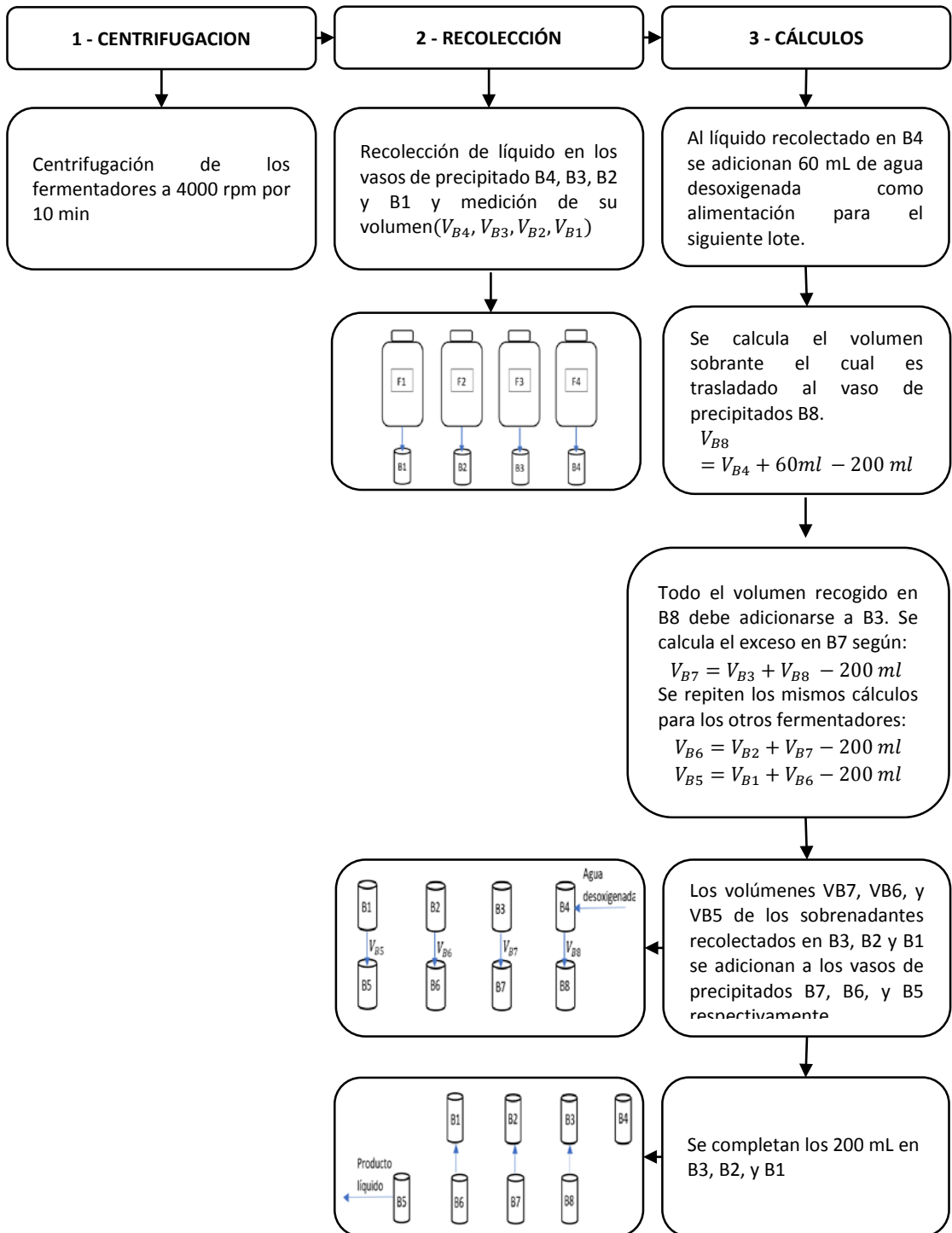
Al finalizar los 30 días se centrifugaron los fermentadores durante 10 min a 4000 rpm en una centrífuga J1 M6 (Beckman Coulter, Estados Unidos) y se recolectó el sobrenadante de cada fermentador para usarlo como inóculo en la fermentación contracorriente.

2.3 FERMENTACIÓN EN CONTRACORRIENTE

Se repitió el proceso de carga de ocho nuevos fermentadores según la Tabla 3 y se inocularon con la mezcla de sobrenadantes obtenidos en la etapa anterior. Los fermentadores se mantuvieron a 40° C en la incubadora de rodillos (Wheaton, Estados Unidos) y los procedimientos de liberación de biogás y toma de muestra de líquido para la medición de la concentración de los ácidos carboxílicos se llevaron a cabo como se explica en la sección 2.2. Sin embargo, en esta nueva etapa se incluyó la transferencia de masa a contracorriente cada 48 h en dos trenes de fermentación constituidos por 4 fermentadores (Figura 2). Esta etapa tuvo una duración de 107 días.

A partir del primer lote, para iniciar cada nuevo lote, se fijó un volumen de líquido de 200 ml y un peso de sólidos de 200 g para los fermentadores. Se inició con la transferencia de líquido la cual se detalla en la Figura 7.

Figura 7. Procedimiento de la transferencia de líquido en contracorriente



Para la transferencia de sólidos, se pesó el precipitado en los fermentadores (W_1 , W_2 , W_3 y W_4) y se calculó la masa que debía ser transferida (W_5 , W_6 , W_7 y W_8)

para asegurar 200 g de sólidos en cada fermentador. Para este cálculo se tuvo en cuenta el peso del fermentador vacío ($W_{Ferm\ Vacio}$).

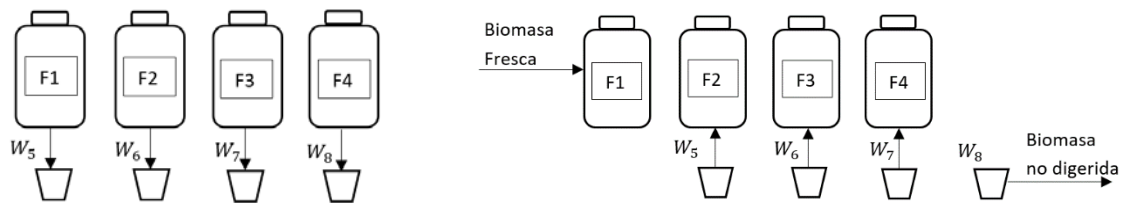
$$W_5 = W_1 - W_{Ferm\ Vacio} - 200\ g - g\ Biomasa\ fresca$$

$$W_6 = W_2 - W_{Ferm\ Vacio} - 200\ g + W_5$$

$$W_7 = W_3 - W_{Ferm\ Vacio} - 200\ g + W_6$$

$$W_8 = W_4 - W_{Ferm\ Vacio} - 200\ g + W_7$$

Figura 8. Transferencia de sólidos



La transferencia se hizo partiendo de F1 hacia F4. En F1 se alimentó la biomasa fresca (Figura 8) la cual estaba representada por un 80% de papel de oficina (4.8 g) y 20% de estiércol de pollo (1.2 g). Se añadió 0.8 g de urea para mantener una razón de C/N entre el 25-35% [23]. A los vasos de precipitado B1, B2, B3 y B4 ya ajustados a 200 mL se les ajustó el pH a 7.0 y se adicionaron 120 μ L de yodoformo para prevenir la producción de metano. Este líquido se añadió al fermentador correspondiente. Finalmente, se purgaba cada fermentador con nitrógeno para garantizar un ambiente anaerobio y se sellaban para regresarlos a la incubadora.

2.4 TRANSFERENCIA DE LÍQUIDO A TRAVÉS DE LA RESINA

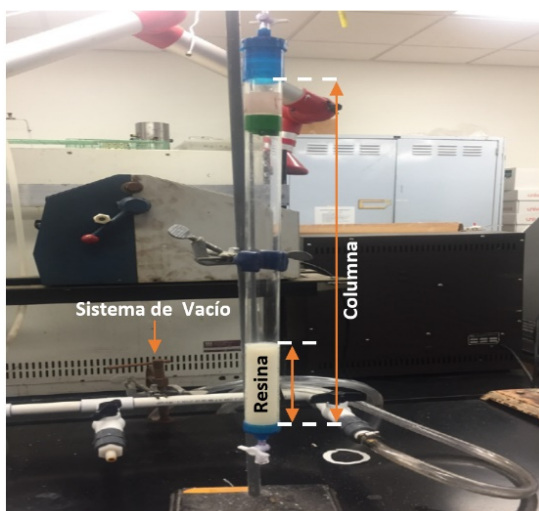
Después de alcanzarse la estabilización en la concentración de ácidos, se inició la transferencia de líquido a través de la resina con el objetivo de mejorar la actividad microbiana reduciendo la inhibición causada por los ácidos carboxílicos disueltos. La técnica de extracción de ácidos se aplicó a un solo grupo de fermentadores, el otro se utilizó como grupo de control. La resina empleada fue Amberlite® IRA-67 (Lenntech, Estados Unidos).

La resina se lavó con agua desionizada para remover cualquier impureza o amina libre. El sobrenadante de cada fermentador B1, B2, B3, y B4 (Figura 7), se pasó a través de una columna cargada con 80 g de resina de intercambio iónico durante 1 min donde los ácidos carboxílicos fueron adsorbidos y el líquido saliente fue regresado a su respectivo fermentador. Se tomó una muestra del fermentador F1, representativa del sistema para determinar la capacidad de adsorción de la resina.

$$\text{Capacidad de adsorción de ácidos} = \frac{\text{Masa de ácidos adsorbidos (g)}}{\text{Masa de la resina (g)}}$$

El montaje de esta etapa, mostrado en la Figura 8, consistía en una columna que contenía la resina y un sistema de filtración al vacío para facilitar el paso del producto líquido a través de la resina.

Figura 8. Configuración de la columna de resina y sistema de vacío



Para la desorción de los ácidos, la resina fue regenerada utilizando 350 ml de una solución alcalina 1 M de NaOH para reemplazar los iones acetatos por OH⁻. Se tomó una muestra de 1 ml de líquido para cuantificar los ácidos carboxílicos disueltos en la solución de NaOH.

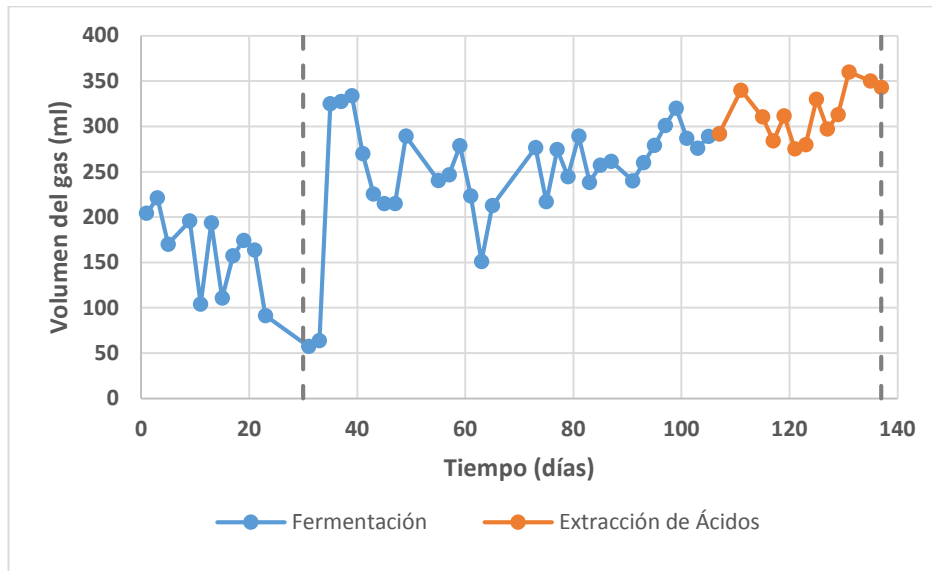
RESULTADOS

3.1 ANÁLISIS DE BIOGÁS

Durante los experimentos se hizo seguimiento de cada reactor para verificar que la fermentación se estuviera llevando a cabo adecuadamente, sin embargo, el análisis de biogás se realizó únicamente al reactor del cual se colecta el producto líquido, es decir el F1.

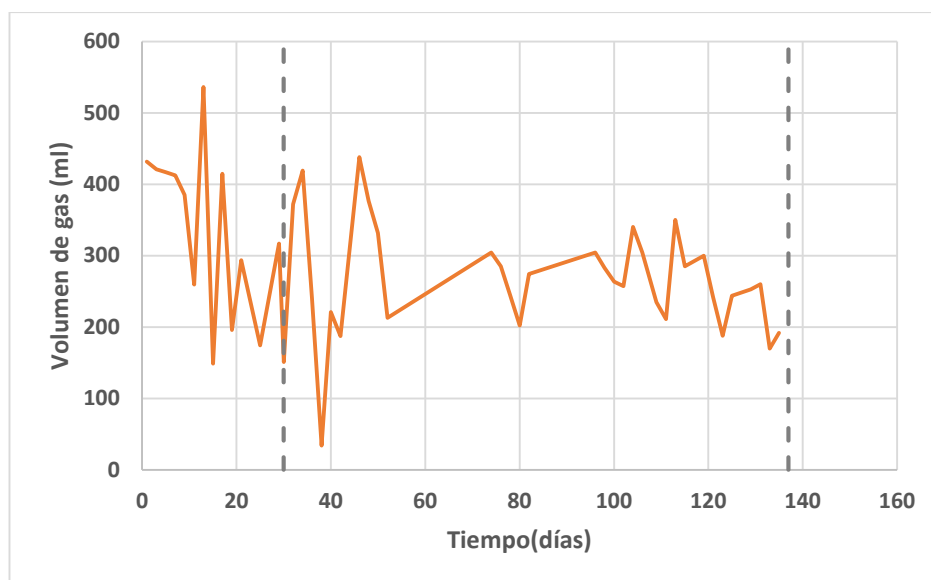
En la Figura 9 se presenta el comportamiento en el tiempo del volumen del fermentador F1 del grupo de resina. Durante la fase de adaptación se evidencia una disminución constante del volumen de biogás debido al agotamiento del sustrato en el caldo de fermentación, mientras que en el día 35 se observa un aumento súbito del volumen de gas que sugiere que los microorganismos tienen una alta actividad microbiológica causada por el ingreso de biomasa fresca. A partir del día 107, se implementó el sistema de extracción con la resina por 30 días y se observó que la producción de gas osciló entre 276 y 340 ml.

Figura 9. Variación del volumen de biogás del grupo de resina



En la Figura 10, se presenta la variación del volumen de biogás para el fermentador F1 del grupo de control. El volumen de gas tuvo amplias oscilaciones durante la fase de adaptación alcanzando un valor máximo de 550 ml y bajando hasta 148 ml, lo cual sugiere que los microorganismos encontraron mayor dificultad en adaptarse a este medio. En la etapa de fermentación contracorriente el volumen de gas empezó a estabilizarse el día 74 en un rango de 190 hasta 350 ml.

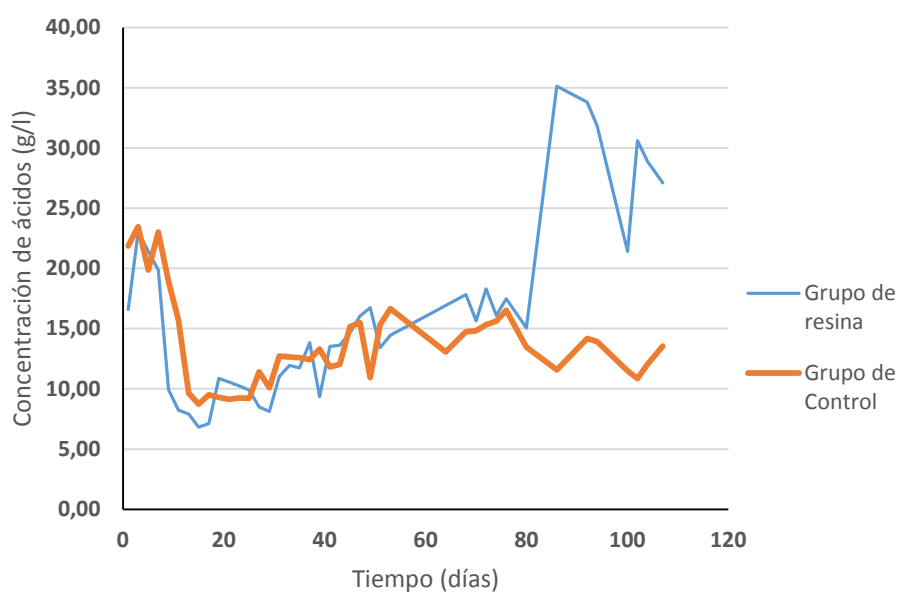
Figura 10. Variación del volumen de biogás en el grupo de control



3.2 CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS

En la gráfica 11 se observa que al iniciar la fermentación contracorriente, se produce una alta concentración de ácidos, causada por el contacto entre el inóculo adaptado y una biomasa rica en nutrientes. A medida que transcurre la fermentación, la producción de ácidos se estabiliza en un valor de 13 g/l aproximadamente, permitiendo iniciar con la fase de la extracción de ácidos con la resina. En el día 92, se evidencia una máxima concentración de ácidos de 35 g/l que sugiere que el uso de la resina produjo efectos positivos sobre la fermentación.

Figura 11. Perfil de concentración de ácidos durante la fermentación contracorriente



Para el análisis de los parámetros de la fermentación, se estudiaron los datos de la transferencia de masa en contracorriente desde el día 77 de los fermentadores F1 de cada grupo hasta el final de los experimentos. En la Figura 12 se muestra la tendencia de los datos de la masa acumulada durante todos los ciclos de la biomasa no digerida, del sustrato fresco alimentado, de la producción de ácidos antes y después del uso de la resina y con base a ello se determinó el flujo promedio de cada variable, identificado como la pendiente de cada recta. Este método se utilizó para calcular el rendimiento, conversión y selectividad del proceso.

- **Rendimiento del producto respecto al sustrato**

$$Y = \frac{g \text{ de ácidos producidos}}{g \text{ de sustrato}}$$

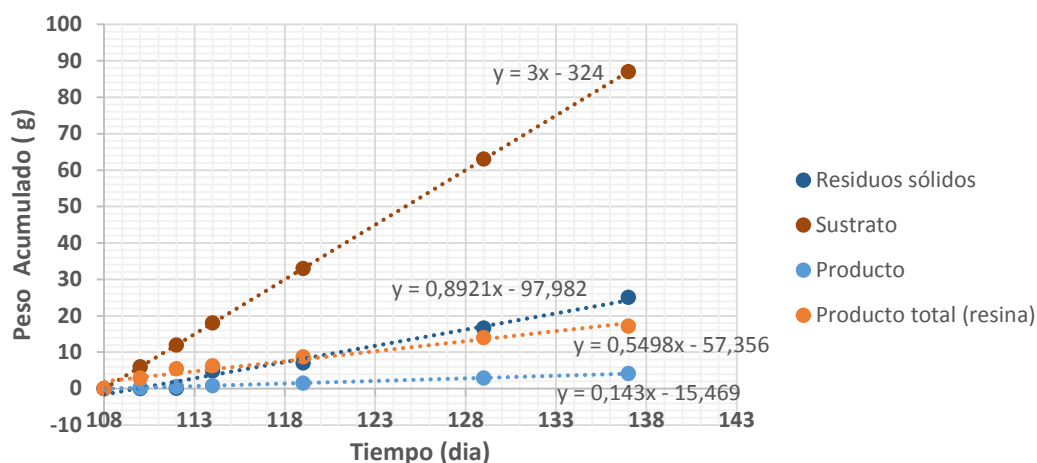
- **Conversión de la biomasa**

$$X = \frac{(g \text{ de sustrato alimentado} - g \text{ de biomasa no digerida})}{g \text{ de sustrato alimentado}}$$

- **Selectividad**

$$S = \frac{\text{Rendimiento}}{\text{Conversión}}$$

Figura 12. Análisis del método de pendiente para el grupo de resina



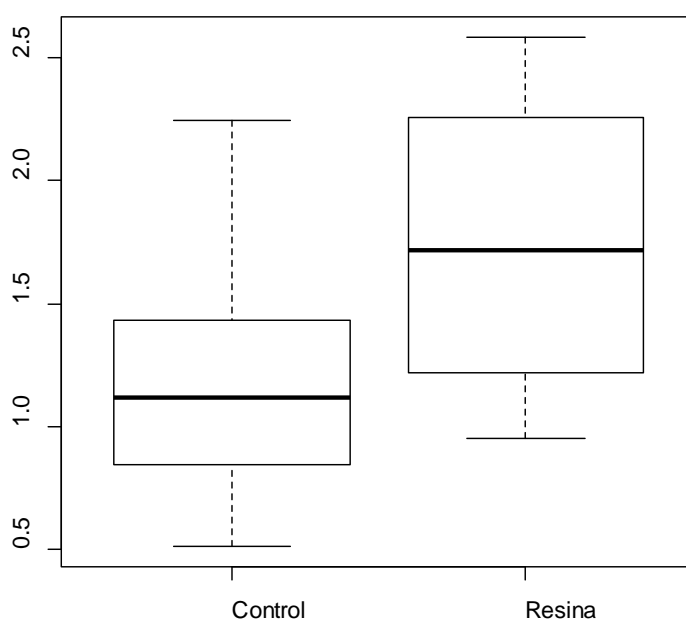
En la Tabla 4 se plantea una comparación entre los resultados de los parámetros de operación obtenidos por el grupo de control y el grupo de la resina, donde se observa que al aplicar el proceso de extracción con la resina de intercambio iónico de los ácidos carboxílicos la conversión y el rendimiento aumentan un 13.02 % y 21.20%.

Tabla 4. Parámetros de operación del grupo de control y el grupo de resina

	Grupo Control	Grupo Resina
Ácidos totales en 30 días (g)	13.59	14.85
Conversión (g sustrato no digerido /g de sustrato alimentado)	0.622	0.703
Rendimiento (g totales de ácidos carboxílicos producidos/ g de sustrato alimentado)	0.15	0.183
Selectividad (g totales de ácidos carboxílicos producidos/g)	0.243	0.260

Se realizó un análisis estadístico de los datos de los dos fermentadores F1 de la producción de ácidos carboxílicos de cada uno de los ciclos durante la etapa de extracción de ácidos con la resina. Para ello se empleó el software estadístico R.

Figura 13. Diagrama de caja y bigotes para la producción de ácidos carboxílicos



En la gráfica 13 se observa un desplazamiento hacia arriba en la producción de ácidos carboxílicos cuando se implementa la resina, en el control se observó una producción mínima de 0.51 g y máxima de 2.25 g con un valor promedio de 1.16 g, mientras que para la resina la producción mínima fue de 0,95 g y se obtuvo una producción máxima de 2,58 g, el valor medio en este caso fue de 1.72 g.

Con el fin de comprobar si la diferencia observada entre el control y la resina es estadísticamente significativa, se realizó un análisis de varianza ANOVA, el cual se presenta en la Figura 14.

Figura 14. Resultados del análisis ANOVA

Analysis of Variance Table						
Response: Masa						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Grupo	1	1.942	1.9420	7.3061	0.01217	*
Residuals	25	6.645	0.2658			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

Según los resultados obtenidos en el análisis de varianza, ya que el p-valor es menor de 0,05 se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias, por tanto, se concluye con un nivel de confianza del 95% que sí existe diferencia estadísticamente significativa entre el control y el fermentador con resina.

Por otro lado, en la Figura 15 se muestran los resultados que indican que la productividad de los ácidos carboxílicos de cadena media aumentó en el grupo de la resina en comparación con el grupo de control, lo que significa que la extracción de producto favorece la elongación de las cadenas. La Figura 16 muestra que el porcentaje de adsorción para las cadenas de ácidos medios es de 25% aproximadamente y el de las cortas estuvo entre 25 y 35%.

Figura 15. Composición de ácidos carboxílicos de los productos líquidos

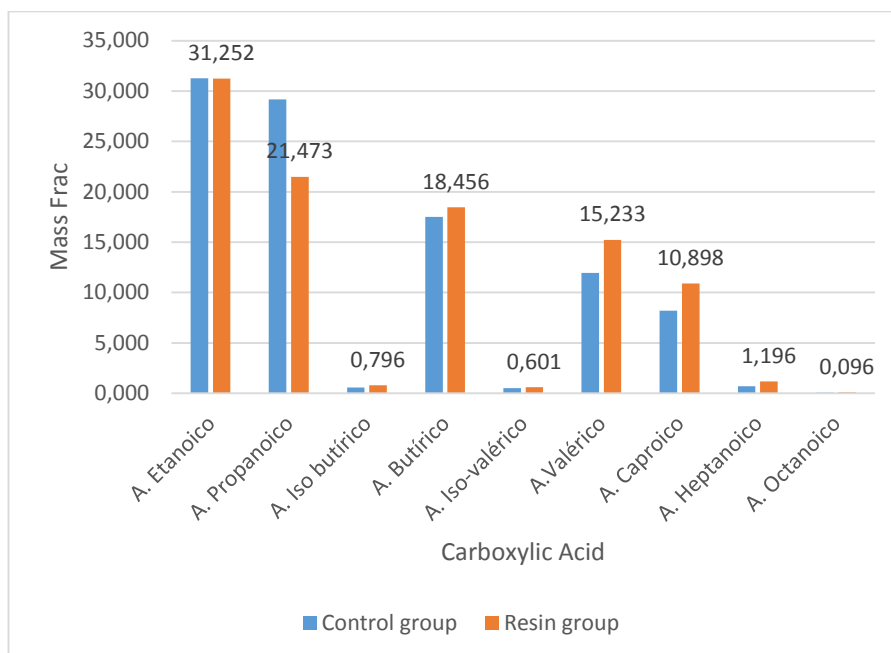
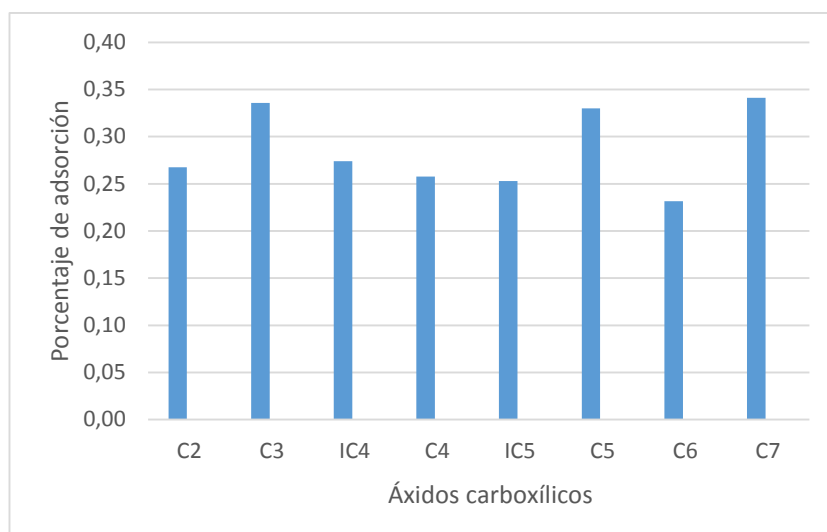


Figura 16. Porcentaje de adsorción de los ácidos carboxílicos producidos durante la fermentación contracorriente



3.3 REGENERACIÓN

En la Tabla 5 se muestran los datos obtenidos después de finalizar el ciclo de la última transferencia a través de la resina. Se puede observar que la resina además de adsorber ácidos también retiene una cantidad de líquido en sus poros. Este fenómeno tiene gran impacto ya que ese líquido retenido hace parte de los ácidos extraídos del sistema. Así mismo, los datos mostraron que el producto se recupera de la resina casi en su totalidad (98.8%).

Tabla 5. Resultados de la regeneración

	Resina	Regeneración (NaOH)
Concentración original (g/L)	31.52	0
Concentración de equilibrio (g/L)	28.67	3.46
Volumen inicial (ml)	0.24	0.2
Volumen después de la extracción (ml)	0.215	N/A
Ácidos adsorbidos (g)	0.68	1.38
Ácido en el líquido restante (g)	0.72	
% de regeneración	98.8	

4. CONCLUSIONES

La implementación del sistema de extracción de ácidos con la resina de intercambio iónico Amberlite 67[®] aumentó la producción de biogás, lo cual indica que las actividades metabólicas de los microorganismos mejoran cuando se disminuyen las concentraciones de ácidos carboxílicos disueltos en el caldo de fermentación.

El grupo cuyo producto líquido se transfirió a través de la resina, presentó un aumento en su conversión del 11.53% y en el rendimiento del 18% con respecto al grupo de control. Por lo tanto, se concluye que extraer los ácidos del caldo de fermentación se disminuye la inhibición por producto y se aumenta la fermentabilidad de la biomasa presente en el reactor.

Los ácidos de cadena media como el ácido butírico, valérico y caprónico tuvieron un aumento en su productividad entre un 5 y 25%. Por lo tanto, se puede afirmar que las rutas metabólicas de estos ácidos son las que más se inhiben por la concentración de ácidos en el medio de fermentación.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BP. BP Energy Outlook. [En línea]. 2016. (Recuperado en 16 de Diciembre 2016). Disponible en <https://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/energy-economics/energy-outlook-2016/bp-energy-outlook-2016.pdf>
- [2] SINGH, Vijai; KUMAR, Dharmendra; MANI, Indra y KUMAR, Pawan. Recent advances and challenges of the use of cyanobacteria towards the production of biofuels. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Julio, 2016, vol. 60. p 1-10.
- [3] LIANG, Hanwei, *et al.* Identification of critical success factors for sustainable development of biofuel industry in China based on grey decision-making trial and evaluation laboratory (DEMATEL). En: Journal of Cleaner Production. Septiembre 2016, vol 131. p 500-508.
- [4] ANTIZAR LADISLAO, Blanca y TURRION GÓMEZ, Juan. Second-generation biofuels and local bioenergy systems. En: Biofuels, Bioproducts & Biorefining. Agosto, 2008. p 455-469.
- [5] QUINTERO, Julian; RINCÓN y CARDONA, Carlos. Production of Bioethanol from agroindustrial residues as feedstocks. En: Biofuels - Biofuels - Alternative Feedstocks and Conversion Processes. 1 ed. Estados Unidos: Ashok Pandey, *et al*, 2011. p 251-285.
- [6] CHEN, Hongzhang. Lignocellulose Biorefinery Engineering: Principles and Applications. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2015. p 71-72.
- [7] GRANDA, Cesar, *et al.* The MixAlco Process Part 2: Process Economics. En: Applied Biochemistry and Biotechnology. Mayo, 2009, vol 156. p 107-124.

[8] NELSON, Roger, et al. Mixed Carboxylic Acid Production by *Megasphaera elsdenii* from Glucose and Lignocellulosic Hydrolysate. En: Fermentation. Marzo, 2017, vol 3, no. 1. p 3-10.

[9] OLIVA DOMINGUEZ, José. Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre *Kluyveromyces Marxianus*. Tesis doctoral. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de ciencias biológicas, 2003, 13 p.

[10] HOLTZAPPLE, Mark; DAVIDSON, Richard y LUETTICH, Torsten. Recovery of fermentation salts from dilute aqueous solutions. Noviembre 1999.

[11] HOLTZAPPLE, Mark y GANDA, Cesar. Carboxylate Platform: The MixAlco Process Part 1: Comparison of Three Biomass Conversion Platforms. En: Applied Biochemistry and Biotechnology. Enero, 2009. p 525-536.

[12] RAI, Ravishankar. Advances in Food Biotechnology. West Sussex: Wiley Blackwell, 2016. p 433.

[13] KEITH, Waldron. Bioalcohol Production. Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2010. p 24-72.

[14] DAPRACHO, Caye; NGHIM, Nhuan y WALKER, Terry. Ethanol Production. En: Biofuels Engineering process Technology. 1 ed. New York: McGraw-Hill Professional, 2008. p 105-174.

[15] STUART, Paul y EL-HALWAGI, Mahmoud. Integrated Biorefineries. Design, Analysis, and Optimization. Boca Raton: CRC Press, 2013. p 158-162.

[16] SPRING BLACK, Amanda. The conversion of corn stover and pig manure to carboxylic acids with the Mixalco process. Tesis de ingeniería química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2000, p 2.

- [17] HOLTZAPPLE, Mark, *et al.* Biomass Conversion to Mixed Alcohol Fuels Using the MixAlco Process. En: Applied Biochemistry and Biotechnology. Marzo, 1999, vol 79. p 609-631.
- [18] WARNOCK GOLUB, Kristina. Effect of bioreactor mode of operation on mixed-acid fermentation. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2012, p 3- 24.
- [19] YANG, Kefan. Effect of liquid residence time, extraction, and chain elongation on countercurrent mixed-acid fermentations. Tesis de magister en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2017.
- [20] FRITZ, Jame y GJERDE, Douglas. Ion Chromatography. Weinheim: WILEY-VCH, 2009. p 40-41.
- [21] ZAGANIARIS, Emanuel. Ion Exchange Resins and Synthetic Adsorbents in Food Processing. Norderstedt: Books on demand GmbH. 2011. p 23.
- [22] HELFFERICH, Friedrich. Ion Exchange. New York: Dover Publications, Inc. 1962. p 2.
- [23] RODRIGUEZ ROMERO, Juan. Eliminación de metales alcalinos de polioles mediante intercambio iónico. Tesis doctoral. Castilla la mancha: Universidad de Castilla la mancha. 1995, 20 p.
- [24] MOHAMMAD, Inamudin. Ion Exchange Technology II. Applications. Aligarh: Springer, 2012. p 151-153.
- [25] PALOMINO CANO, Julio. Adsorción de plata en resinas de intercambio iónico a partir de soluciones de bromuro. Tesis de Ingeniería Química.

Hermosillo: Universidad Sonora. Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia. 1997, p 33-46.

[26] WIST, William; LEHR, Jay y MCEACHERN, Rod. Water Softening with Potassium Chloride. New Jersey: John Wiley, 2009. p 56-58.

[27] PUGA BULLÓN, José. Regeneracion resinas de intercambio ionico. 2015. (Recuperado en 5 de Enero 2018). Disponible en: http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=632

[28] DESILVA, Frank. Resin Regeneration Fundamentals. 2006. (Recuperado en 8 de Enero 2018). Disponible en <https://www.wqpmag.com/resin-regeneration-fundamentals>

[29] DARVEKAR, Pratik. Assessment of shock pretreatment of corn stover using the carboxylate platform. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2016.

[30] MURALI, Nandita; SRINIVAS, Keerthi y AHRING, Brigitte. Biochemical Production and Separation of Carboxylic Acids for Biorefinery Applications. En: Fermentation. Mayo, 2017, vol 3, no 2. p 22.

BIBLIOGRAFÍA

BALAN, Venkatesh; CHIARAMONTI, David y KUMAR, Sandeep. Review of US and EU initiatives toward development, demonstration, and commercialization of lignocellulosic biofuels. En: *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*. Julio, 2013. Vol 7. p. 732-759.

CARRIQUIRY, Miguel; DU, Xiaodong and TIMILSINA, Gouvinda. Second generation biofuels: Economics and policies. En: *Energy Policy*. Mayo, 2011. Vol 39. p. 4222-4234.

DARVEKAR, Pratik. Assessment of shock pretreatment of corn stover using the carboxylate platform. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2016.

DOMKE, Susan; AIELLO-MAZZARRI, Cateryna y HOLTZAPPLE, Mark. Mixed acid fermentation of paper fines and industrial biosludge. En: *Bioresource Technology*. Mayo 2003. Vol 91. p. 41-51.

DOW CHEMICAL COMPANY. Dowex Ion Exchange resins. 2002. Midland, 2002. p. 1-10.

FU, Zhihong y HOLTZAPPLE, Mark. Anaerobic Mixed-Culture Fermentation of Aqueous Ammonia-Treated Sugarcane Bagasse in Consolidated Bioprocessing. En: *Biotechnology and Bioengineering*. Enero, 2010. p. 216-227.

FU, Zhihong y HOLTZAPPLE, Mark. Fermentation of Sugarcane Bagasse and Chicken Manure to Calcium Carboxylates under Thermophilic Conditions. En: *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Agosto, 2009. Vol 162. p. 561-578.

HARLAND, Clinve. Ion Exchange. Theory and Practice. Cambridge: Royal society of chemistry, 1994. p 49-53.

JI, Xi y LONG, Xianling. A review of the ecological and socioeconomic effects of biofuel and energy policy recommendations. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Marzo, 2016. Vol 61. p. 41-52.

KERTEST, A. y KING, C. Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids. En: Biotechnology and bioengineering. Junio 2009, vol. 103. P. 269-282.

LIANG, Hanwei, *et al.* Identification of critical success factors for sustainable development of biofuel industry in China based on grey decision-making trial and evaluation laboratory (DEMATEL). En: Journal of cleaner production. 2016. Vol 131. P. 500-508.

MICHAUD, Chubb. Ion Exchange Reactions: A Review. En: Water conditioning & purification. Junio, 2011. p 2-6.

MOODY, Andrew Garret. Pilot-scale fermentation of office paper and chicken manure to carboxylic acids. Tesis de magister en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2006.

PEREZ LOMBARD, Luis ; ÓRTIZ, José y POUT, Christine. A review on buildings energy consumption information. En: Energy and Buildings. Marzo 2007. Vol 40. p. 394-398.

SAMARPITA, Roy. Effect of extraction using ion-exchange resins on batch mixed-acid fermentations. Tesis de magister en ingeniería Civil. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2014, p. 21-46.

SCHENK, Peer, *et al.* Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. En: Bioenergy research. Marzo, 2008. Vol 1. p. 20-43.

REN, Jingzheng, *et al.* Life cycle energy and CO₂ emission optimization for biofuel supply chain planning under uncertainties. En: Energy. Marzo, 2016. Vol 103. p. 151-166.

SMITH, Aaron Douglas y HOLTZAPPLE, Mark. The Slope Method: A Tool for Analyzing Semi-Continuous Data. En: Applied Biochemistry and Biotechnology. Septiembre 2010, vol. 163. p. 826-835.

WARNOCK GOLUB, Kristina. Effect of bioreactor mode of operation on mixed-acid fermentation. Tesis doctoral en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2012, p 3- 24.

YANG, Kefan. Effect of liquid residence time, extraction, and chain elongation on countercurrent mixed-acid fermentations. Tesis de magister en ingeniería Química. College Station: Texas A&M University. Departamento de Ingeniería química. 2017.

ZAGANIARIS, Emmanuel. Ion Exchange Resins in Uranium Hydrometallurgy. Estados Unidos: Books On Demand. 2009. p 142.

ANEXOS

ANEXO A

Figura 17. Fermentadores con la carga inicial de materias primas



Figura 18. Grupo de fermentadores con la biomasa altamente digerida



Figura 19. Incubadora de rodillos



Figura 20. Etapa de transferencia de masa en contracorriente



ANEXO B

Antes de la transferencia de masa descrita en la sección 2.3, producto líquido se recolectó para analizar la concentración de ácidos presentes en el medio. Después de centrifugar (4000 rpm, 3300xg, 25 min) el líquido de fermentación fue mezclado en partes iguales con estándar interno (1.162 g/L ácido 4-métil-n-valérico) y ácido 3-M fosfórico (H_3PO_4) y luego la solución fue ultra centrifugada (13000 rpm, 10 min). Añadir el H_3PO_4 asegura que las sales carboxílicas sean convertidas a ácidos carboxílicos antes del análisis.

La concentración de ácidos carboxílicos se midió usando un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890 equipado con un detector de ionización de llama y un muestreador automático de líquidos Agilent 7683. La temperatura del CG se aumentó de 40 °C a 200 °C de a 20 °C/min. Helio fue usado como el gas de arrastre. El estándar externo era una mezcla de ácido volátil, usado para calibrar las muestras contra el estándar interno IC-6. La concentración de ácidos carboxílicos en el estándar externo se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentración de ácidos carboxílicos en el estándar externo

Ácido	Concentración (g/L)
Ácido etanoico	3.98
Ácido propanoico	3.015
Ácido iso-butírico	0.997
Ácido butírico	1.989
Ácido iso-valérico	0.803
Ácido valérico	1.562
Ácido iso-caproico	1.158
Ácido caproico	0.808
Ácido heptanoico	0.397
Ácido octanoico	0.169