

**HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO DE CAÑA; CINÉTICA Y DISEÑO  
PRELIMINAR DE REACTORES**

**ARTURO GONZÁLEZ QUIROGA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2007**

**HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO DE CAÑA; CINÉTICA Y DISEÑO  
PRELIMINAR DE REACTORES**

**ARTURO GONZÁLEZ QUIROGA**

**Trabajo presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Químico**

**Director**

**Rubens Maciel Filho**

**Ingeniero Químico Ph.D**

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE CAMPINAS**

**Subdirector**

**Viatcheslav Kafarov**

**Ingeniero Químico Ph.D**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2007**

*A mi madre  
"Hermelinda Quiroga Santamaría",  
a la memoria de mi padre  
"Ovidio González"  
y a mis hermanos*

*“Gabriel, Jesús, Carlos, Hugo y William”*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por la existencia.

A la UIS por la formación recibida. A la Escuela de Ingeniería Química, Decanato de Ingenierías Físicoquímicas y vicerrectoría Administrativa por la contribución económica para el viaje a Campinas.

A Los Drs. Aline Carvalho Da Costa y Rubens Maciel Filho por la confianza y sabios consejos durante la estadía en la Universidad Estatal de Campinas. A Tiago y Marcelo por la hospitalidad.

A Tilsia, Sandra, Claudia y Andrés por el apoyo incondicional. A los amigos y colegas que dejaron una huella imborrable: Gloria, Andrea, Silvia, Bibian, Astrid, Julie, Jorge Mario, Manuel, Reynel, Leonardo, Wilmar y Fabián

A mi familia por ser la inspiración

## CONTENIDO

|  | Pág.      |
|--|-----------|
| <b>INTRODUCCIÓN</b>  | <b>13</b> |
| <b>1. CINÉTICA</b>   | <b>15</b> |
| <b>1.1 INTRODUCCIÓN</b>  | <b>15</b> |
| <b>1.2 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>   | <b>17</b> |
| <b>1.3 MODELOS CINÉTICOS PARA LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>   | <b>19</b> |
| 1.3.1 Revisión de la literatura.   | 19        |
| 1.3.2 Modelos cinéticos “Michaelis-Menten”.  | 21        |
| 1.3.3 Mecanismo sin inhibición.  | 21        |
| 1.3.4 Mecanismo con inhibición competitiva.  | 23        |
| 1.3.5 Mecanismo con inhibición no competitiva.   | 23        |
| 1.3.6 Modelos cinéticos pseudos-homogéneos para la reacción de hidrólisis enzimática de sustratos celulósicos. | 24        |
| <b>1.4 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS PSEUDO-HOMOGÉNEOS.</b>                             | <b>29</b> |
| 1.4.1 Datos experimentales.  | 29        |
| 1.4.2 Determinación de parámetros cinéticos.   | 29        |
| <b>1.5 PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS</b>   | <b>31</b> |
| <b>1.6 COMPARACIÓN ENTRE LOS MODELOS Y LOS PERFILES EXPERIMENTALES</b>   | <b>31</b> |
| <b>1.7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>   | <b>31</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1.8 CONCLUSIONES</b>   | <b>34</b> |
| <b>2. DISEÑO DE REACTORES</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.1 INTRODUCCIÓN</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.2 REACTORES CSTR EN SERIE DE VOLUMEN ÓPTIMO</b>                                    | <b>37</b> |
| <b>2.3 REACTORES cstr EN SERIE DE IGUAL VOLUMEN</b>                                     | <b>42</b> |
| <b>2.4 REACTOR TUBULAR</b>  | <b>43</b> |
| <b>2.5 PARÁMETROS DE LA SIMULACIÓN</b>  | <b>44</b> |
| <b>2.6 RESULTADOS DE LA SIMULACIÓN</b>  | <b>47</b> |
| <b>2.6.1 Efecto del reciclo.</b>  | <b>47</b> |
| <b>2.6.2 Comparación reactores CSTR en serie sin reciclo - reactor PFR sin reciclo.</b> | <b>47</b> |
| <b>2.6.3 Producción de glucosa y proyección de la producción de etanol.</b>             | <b>49</b> |
| <b>2.7 FACTORES TECNOLÓGICOS</b>  | <b>52</b> |
| <b>2.7.1 Rendimiento teórico (Conversión 100%).</b>                                     | <b>52</b> |
| <b>2.7.2 Rendimiento real.</b>  | <b>53</b> |
| <b>2.8 DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>  | <b>54</b> |
| <b>2.9 CONCLUSIONES</b>   | <b>57</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>   | <b>59</b> |
| <b>ANEXOS</b>   | <b>66</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|   | pág.      |
|---|-----------|
| <b>Figura 1. Representación esquemática de la acción del complejo celulasa</b>  | <b>18</b> |
| <b>Figura 2. Representación de una reacción enzimática para sustrato soluble</b>  | <b>23</b> |
| <b>Figura 3. Representación de una reacción enzimática para sustrato insoluble.</b>   | <b>25</b> |
| <b>Figura 4. Perfiles de Glucosa y azúcares reductores totales para la hidrólisis enzimática de sustratos celulósicos (Li et al., 2004)</b> | <b>26</b> |
| <b>Figura 5. Reactores CSTR en serie con reciclo</b>  | <b>38</b> |
| <b>Figura 6. Reactor tubular con reciclo</b>  | <b>43</b> |
| <b>Figura 7. Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V</b>   | <b>48</b> |
| <b>Figura 8. Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V</b>   | <b>48</b> |
| <b>Figura 9. Volumen de reacción por reactor, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V</b>   | <b>49</b> |
| <b>Figura 10. Composición de una Tn de bagazo</b>   | <b>52</b> |

## LISTA DE TABLAS

|   | pág.      |
|---|-----------|
| <b>Tabla 1. Resumen de los modelos cinéticos Michaelis-Menten sin inhibición</b>  | <b>22</b> |
| <b>Tabla 2. Resumen de los modelos cinéticos de Michaelis-Menten con inhibición</b>   | <b>24</b> |
| <b>Tabla 3. Resumen de los modelos cinéticos pseudo-homogéneos</b>  | <b>27</b> |
| <b>Tabla 4. Balances de masa para la serie de reactores CSTR de la figura 5</b>   | <b>38</b> |
| <b>Tabla 5. Resumen de los parámetros del modelo cinético</b>   | <b>45</b> |
| <b>Tabla 6. Producción de glucosa para un caudal de <math>10m^3/h</math> y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V</b>   | <b>50</b> |
| <b>Tabla 7. Producción de glucosa para un caudal de <math>10m^3/h</math> y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V. Conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable</b> | <b>51</b> |
| <b>Tabla 8. Producción de etanol para un caudal de <math>10m^3/h</math> y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V</b>  | <b>51</b> |
| <b>Tabla 9. Producción de etanol para un caudal de <math>10m^3/h</math> y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V. Conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable</b>  | <b>52</b> |
| <b>Tabla10. Rendimientos para el cultivo de caña en Colombia</b>  | <b>53</b> |
| <b>Tabla 11. Aumento en el rendimiento por hectárea</b>   | <b>54</b> |

## LISTA DE ANEXOS

|   | pág.      |
|---|-----------|
| <b>ANEXO A. PERFILES EXPERIMENTALES DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>   | <b>66</b> |
| <b>ANEXO B. PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS Y COMPARACIÓN ENTRE LOS MODELOS CINÉTICOS Y LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES</b>   | <b>68</b> |
| <b>ANEXO C. PROGRAMA DE OPTIMIZACIÓN SUCESIVA DE PARAMETROS. CÓDIGO PARA FORTRAN 95</b>   | <b>76</b> |
| <b>ANEXO D. PROGRAMA PARA CÁLCULO DE VOLÚMENES DE REACCIÓN. SERIE DE REACTORES CSTR DE VOLUMEN OPTIMO, SERIE DE CSTR DE IGUAL VOLUMEN Y REACTOR PFR CON O SIN RECICLO EN LOS CUALES SE LLEVA A CABO LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO DE CAÑA DESLIGNIFICADO. CÓDIGO PARA FORTRAN 95</b> | <b>84</b> |
| <b>ANEXO E. PROGRAMA PARA CÁLCULO DEL PERFIL DE GLUCOSA A PARTIR DEL PERFIL DE T(CELOBIOSA + GLUCOSA). CÓDIGO PARA FORTRAN 95</b>   | <b>89</b> |
| <b>ANEXO F. EFECTO DEL RECICLO</b>  | <b>92</b> |
| <b>ANEXO G. VOLÚMENES DE REACCIÓN, S0 5.0 % (w/v)</b>   | <b>94</b> |

## RESUMEN

**TÍTULO:                   HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO DE CAÑA; CINÉTICA Y DISEÑO PRELIMINAR DE REACTORES\***

**AUTOR:                   ARTURO GONZÁLEZ QUIROGA\*\***

**PALABRAS CLAVE:   BAGAZO DE CAÑA, ETANOL, HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA, CINÉTICA, REACTORES**

### CONTENIDO

Por su abundancia y capacidad de renovación sustentable, las materias primas más viables para la producción de biocombustibles resultan ser los azúcares presentes en los residuos agroindustriales, siendo su bajo costo otro factor que favorece su uso. El bagazo de caña (BCA), es un residuo abundante y de bajo costo que se encuentra concentrado en los ingenios azucareros, y contiene en promedio 42% de celulosa (Base seca) la cual puede hidrolizarse a glucosa por hidrólisis ácida ó enzimática y finalmente fermentada a etanol. La industria de producción de azúcar y etanol a partir de la caña de azúcar ha sido objeto de continuas mejoras técnicas del proceso incluido el balance energético, dando como resultados en la mayoría de los casos, mejoras en los balances térmicos en las plantas de producción y por lo tanto excedentes de bagazo del orden de 25 a 30% del bagazo total producido. Es decir, el bagazo provee toda la energía térmica y eléctrica requerida para la producción de azúcar y alcohol y aún sobra material que es utilizado para la generación de excedentes de electricidad y utilizado como combustible. Con la destinación de parte del bagazo de caña a la producción de etanol vía hidrólisis enzimática, se logran aumentos significativos en la producción de etanol sin necesidad de ampliar el área plantada. El presente trabajo, es una primera aproximación al diseño preliminar de reactores de hidrólisis enzimática de bagazo de caña, con miras a la realización práctica de dicha tecnología. El trabajo está enfocado en la validación de modelos cinéticos para la etapa de la hidrólisis y la proyección de diferentes opciones para el sistema de reacción a escala industrial

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas, Escuela de Ingeniería Química. Director Rubens Maciel Filho

## ABSTRACT

**TITLE: ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SUGAR-CANE BAGASSE;  
KINETIC AND PRELIMINARY REACTORS DESIGN\***

**AUTHOR: ARTURO GONZÁLEZ QUIROGA\*\***

**KEY WORDS: SUGAR-CANE BAGASSE, ETHANOL, ENZYMATIC  
HYDROLYSIS, KINETIC, REACTORS**

## CONTENT

By their abundance and capacity of sustainable renovation, the more viable raw materials for the production of biofuels turn out to be the present sugars in the agro-industrial remainders, being his low cost another factor that favors its use. The sugar-cane bagasse (BCA), is an abundant remainder and of low cost that is concentrated in the sugar talents, and contains in average 42% of cellulose (dry Base) which can be hidrolizated to glucose by acid or enzymatic hydrolysis and finally fermented to ethanol. The industry of production of sugar and ethanol from the sugar cane has been object of continuous technical improvements of the process including the power balance, giving like results in most of the cases, improvements in the thermal in plants of production and therefore excessive balance of sugar-cane bagasse of the order of 25 to 30% of the produced total sugar-cane bagasse. That is to say, the bagasse provides all the thermal energy and electrical required for the production of sugar and alcohol and still material exceeds that is used for the generation of excessive of used electricity and like fuel. With the destination from the sugar-cane bagasse to the ethanol production via enzymatic hydrolysis, increases significant in the ethanol production are obtained with no need to extend the planted area. The present work is one first approach to the preliminary design of cane enzymatic bagasse hydrolysis reactors, with a view to the practical accomplishment of this technology. The project is focused in the validation of kinetic models for the stage of hydrolysis and the projection of different options for the reaction system from industrial scale

---

\* Project of degree

\*\* School of Chemical Engineering. Director Rubens Maciel Filho

## INTRODUCCIÓN

*“Yo creo que el agua un día será empleada como combustible y que el hidrógeno y el oxígeno que la constituyen, usados de forma individual o conjunta, originarán una fuente inagotable de calor y luz”.* Estas palabras del visionario Julio Verne (***La isla misteriosa, 1874***) cobran hoy una especial relevancia, que demuestra que nuestra sociedad actual no hace sino volver sobre un tema que siempre ha estado asociado al desarrollo de la humanidad: la necesidad de disponer de recursos energéticos. En las últimas décadas además esta necesidad se ha unido a otra de vital importancia, que el uso de estos recursos no perjudique el medio ambiente.

La progresiva disminución de las reservas de combustibles fósiles y los problemas medioambientales asociados a su combustión obligan a la búsqueda de nuevas alternativas energéticas. En este contexto, el etanol producido a partir de la biomasa lignocelulósica surge como un “vector energético”, es decir, un transportador de energía primaria hasta los lugares de consumo que ofrece además importantes ventajas. El bagazo de caña es una materia prima lignocelulósica abundante, de bajo costo y que por su contenido de celulosa (*45-55% en peso, base seca*) se puede procesar vía hidrólisis enzimática y posterior fermentación, con un potencial teórico de aumento en la producción de etanol de 43% por hectárea de caña plantada.

La hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósica es materia de investigación actual en varios países con enfoque en el conocimiento fundamental del sistema de reacción. Sin embargo, no se cuentan con estudios relacionados con la puesta en funcionamiento de reactores de hidrólisis enzimática a nivel industrial. Concientes de esta falencia, y de la necesidad de la realización práctica de la

tecnología, en este trabajo se muestra un análisis de modelos cinéticos de la reacción y finalmente varias opciones de sistemas de reacción.

El trabajo está organizado en dos capítulos: Cinética y Diseño de Reactores. En el primer capítulo se hace una revisión de los modelos cinéticos para la hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósica, se muestran en detalle los modelos basados en la hipótesis de Michaelis-Menten con inhibición, se comparan los modelos con perfiles experimentales de reacción y se muestran conclusiones sobre la validez de dichos modelos. Con un conocimiento mas profundo de los modelos cinéticos, se procede al diseño preliminar de reactores mostrando como opción una serie de reactores CSTR y un reactor PFR con o sin reciclo, de volumen óptimo y de igual volumen.

## 1. CINÉTICA

Se refieren modelos cinéticos pseudo-homogéneos de Michaelis-Menten con inhibición competitiva y no competitiva por producto para describir la reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña deslignificado. Se presenta una metodología para el ajuste parámetros y se comparan las predicciones de los modelos con resultados experimentales. El modelo con inhibición competitiva es el que mejor describe los perfiles de la reacción de hidrólisis enzimática.

### 1.1 INTRODUCCIÓN

El bagazo de caña de azúcar (*BCA*) es un material lignocelulósico abundante y de bajo costo que se obtiene como residuo del proceso de extracción de jugo de la caña de azúcar. (**Ferrara et al.**, 2002; **Takahashi et al.**, 2000). Un uso adecuado del *BCA*, además de los beneficios económicos soluciona el inconveniente de acumulación de este abundante material. El uso más común del *BCA* es la producción de energía por medio de su combustión (**Kilicaslan et al.**, 1999; **Neureiter et al.**, 2002). Esto provoca problemas de polución e incrementa las emisiones de  $CO_2$ . Otros usos alternativos del *BCA* son la producción de compuestos químicos como furfural o hidroximetilfurfural (**Almazán et al.**, 2001; **Gong et al.**, 1993), producción de pasta de papel (**Caraschi et al.**, 1996; **Nagieb et al.**, 2000; **Shukry et al.**, 2002) o la producción biotecnológica de etanol (**David et al.**, 1985; **Grethlein y Converse**, 1991; **Laser et al.**, 2002).

El *BCA* está constituido por tres fracciones principales; celulosa, hemicelulosa y lignina. El contenido aproximado es de 50, 25 y 25 % respectivamente.

Químicamente, contiene cerca de 50 % de  $\alpha$ -celulosa, 30 % de pentosas y 2.4 % de cenizas. Debido a su bajo contenido de cenizas, el *BCA* ofrece numerosas ventajas para su bioconversión en comparación a otros residuos de cosecha como cascarilla de arroz y paja de trigo los cuales tienen contenidos de cenizas de 17.5 y 11.0 % respectivamente (**Pandey et al.**, 2000).

La biomasa lignocelulósica en general, es resistente a la bioconversión y el bagazo de caña no es la excepción. Se requiere pretratamiento para alterar la estructura de la biomasa lignocelulósica con el fin de facilitar la acción del complejo enzimático que cataliza la reacción de conversión de polímeros de carbohidratos en azúcares fermentables. El objetivo del pretratamiento es romper la capa de lignina y fraccionar la estructura cristalina de la celulosa. El pretratamiento ha sido visto como una de las etapas más caras del proceso de bioconversión de biomasa a azúcares fermentables (**Lynd et al.**, 1996; **Lee et al.**, 1994; **Colman et al.**, 1995).

Entre las dificultades de la realización práctica de la tecnología para bioconversión de biomasa, se cuentan la lenta velocidad de reacción y carencia de un sistema reaccionante adecuado para llevar a cabo la compleja e interfacial hidrólisis (**Jones y Lee**, 1988; **Nobel**, 1990). Dado un tiempo de reacción suficiente y dependiendo de la calidad, composición y estructura del sustrato, la conversión de sustrato ha sido satisfactoria en varios sistemas de reacción reportados (**Katz y Reseei**, 1968; **Ghose y Kostick**, 1970). La lenta velocidad de reacción ha sido reconocida como el mayor obstáculo para llevar a cabo una hidrólisis enzimática económicamente viable (**Brown y Holtzapple**, 1990; **Ryu y Mendels**, 1980).

La descripción cuantitativa de la hidrólisis enzimática es de gran valor en dos contextos; para estructuración y prueba del conocimiento fundamental y en diseño y evaluación de sistemas de ingeniería basados en modelos cuantitativos. En el presente trabajo se evalúan dos modelos cinéticos Michaelis-menten pseudo-

homogéneos con el doble propósito de describir los perfiles de hidrólisis y realizar un diseño preliminar de reactores de hidrólisis enzimática de bagazo deslignificado. Después de describir los modelos cinéticos de Michaelis-Menten y los modelos cinéticos pseudo-homogéneos se encuentran los parámetros cinéticos de los modelos propuestos. Finalmente se comparan los resultados de los modelos con perfiles experimentales

## 1.2 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

La reacción de hidrólisis enzimática de celulosa es catalizada por las enzimas celulasas, las cuales son altamente específicas (**Béguin y Aubert, 1994**). El producto de la hidrólisis son usualmente azúcares reductores, incluyendo la glucosa. La reacción se lleva a cabo bajo condiciones suaves ( $PH : 4.8, T : 45 - 50^{\circ}C$ ) (**Duff y Murria, 1996**). Al contrario de los catalizadores comunes, las enzimas presentan una elevada especificidad con respecto al sustrato, y su uso reduce la obtención de subproductos indeseables (**Segel, 1975**).

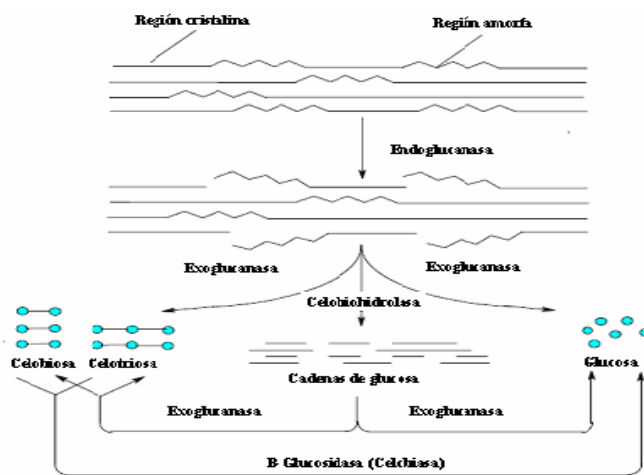
La reacción de hidrólisis enzimática se caracteriza por un sustrato insoluble (*celulosa*) y un catalizador soluble (*enzimas*). Así, las características estructurales de la celulosa y el modo de acción de las enzimas influyen la tasa de reacción. La susceptibilidad de la celulosa al ataque enzimático es determinada por la accesibilidad de los sitios de enlace para la celulasas lo que determina la subsecuente adsorción de la enzima sobre el sustrato sólido.

A pesar de las reservas presentadas por algunos autores, relacionadas con la especificidad de las diferentes celulasas y su modo de acción, se reconoce la existencia de tres tipos de celulasas en los sistemas completos: endoglucanasa, exoglucanasa o celobiohidrolasa y  $\beta$ -glucosidasa o celobiasa (**Bhat y Bhat, 1997; Mani et al., 2002; Gan et al., 2003**). Las moléculas de celulosa son lineales y se

asocian unas con otras formando ejes fibrosos que presentan zonas cristalinas y amorfas. Las endoglucanasas hidrolizan preferencialmente los enlaces internos en el polímero de celulosa, en regiones amorfas ó en la superficie de las microfibrillas, produciendo oligosacáridos de menor peso molecular, celodextrinas y celobiosa (**Word**, 1989; **Heikinheimo**, 2002). Las exoglucanasas o celobiohidrolasas inician la hidrólisis en los extremos de la cadena (**Irwin et al.**, 1993; **Heikinheimo**, 2002) y las  $\beta$ -glucosidasas completan la hidrólisis catalizando la hidrólisis de celobiosa a glucosa. La figura 1 muestra una representación esquemática de la acción de endoglucanasa, exoglucanasa y  $\beta$ -glucosidasa provenientes del hongo celulolítico *T reesei*.

El efecto del complejo enzimático celulasa se expresa por la acción sinérgica de las tres enzimas anteriores. En la medida que la concentración de celobiosa y glucosa aumentan en el medio reaccional, la actividad de la exoglucanasas y celobiasas es inhibida por estos productos, resultando en la disminución en la tasa de rendimiento del proceso de sacarificación. La celobiosa presenta un poder de inhibición mayor que el de la glucosa.

**Figura 1. Representación esquemática de la acción del complejo celulasa**



La no linealidad observada cuando se grafica conversión de azúcares vs. Tiempo de hidrólisis dada una concentración inicial de enzima, indica que la velocidad de reacción desciende y a menudo para antes que todo el sustrato sea consumido (**Zhang et al.**, 1999). Hay varios factores que llevan al decrecimiento de la velocidad de hidrólisis conforme la reacción la progresa entre ellos inhibición por producto final, baja reactividad del sustrato (*alta cristalinidad, alto contenido de lignina, baja accesibilidad*), inactivación de las enzimas y pérdida de enzima debido a absorción irreversible. Se ha encontrado que la pérdida de reactividad del sustrato no es la principal causa del descenso en la velocidad de reacción (**Desai y Converse**, 1997). Resultados similares se reportan para la inhibición por producto final, a diferencia de la inactivación de enzimas por absorción irreversible sobre el sustrato y la formación de enlaces improductivos que se han catalogado como la principal causa en el descenso de la velocidad de hidrólisis (**Ericksson et al.**, 2002).

### **1.3 MODELOS CINÉTICOS PARA LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

**1.3.1 Revisión de la literatura.** Los modelos para la reacción de hidrólisis enzimática se pueden clasificar dentro de dos categorías: tipo de modelo (*empírico o mecanístico*) y tipo de sustrato (*puro o impuro*). La mayoría de los modelos mecanísticos para la reacción de hidrólisis enzimática son o modelos Michaelis-Menten con algún tipo de inhibición o modelos más detallados con múltiples reacciones. Esos modelos generalmente consideran múltiples reacciones debido a la acción de diferentes tipos de enzimas o diferentes sustratos (*cristalino y amorfo*) ó una combinación de los dos. Los modelos más simplificados incluyen una sola expresión de velocidad de reacción para la hidrólisis, mientras

que los modelos que consideran múltiples reacciones usan varias expresiones de velocidad y muchos parámetros.

**Ghose y Das**, (1971) usaron una expresión cinética de primer orden para describir la hidrólisis de cascarilla de arroz, pero encontraron que un modelo Michaelis-Menten describe muy bien la hidrólisis de flóculos de solka. **Dwividi y Ghose**, (1979) estudiaron la hidrólisis de bagazo pretratado con álcali, por la enzima *trichoderma reseei*. Ellos concluyeron que los datos seguían un modelo cinético Michaelis-Menten con inhibición competitiva. Otros estudios que usaron modelos cinéticos Michaelis-Menten con inhibición competitiva son **Brown y Waliuzzaman**, (1977), **Ohmine et al.**, (1983) y **González et al.**, (1989)

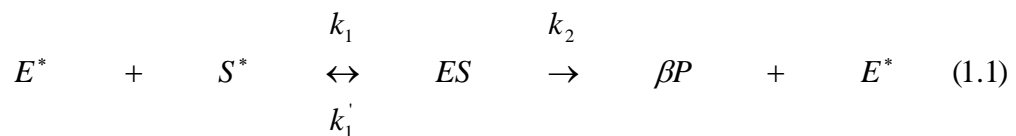
Usando flóculos de solka bajo la acción de celulasa *trichoderma viride*, **Howell y Stuck**, (1975) encontraron que un modelo cinético Michaelis-Menten con inhibición competitiva es aplicable. **Camina et al.**, (1985) también usaron un modelo cinético Michaelis-Menten. Ellos encontraron que la inhibición por glucosa fue competitiva, pero no pudieron distinguir entre inhibición competitiva y no competitiva para celobiosa. **Huang**, (1975) modeló la hidrólisis de celulosa por *Trichoderma viride* usando un modelo cinético Michaelis-Menten con inhibición competitiva pero también incluyó un paso de absorción modelado como una isoterma tipo Langmuir.

El modelo propuesto por **Beltrame y Carniti**, (1984), describe un mecanismo para la hidrólisis de materiales celulósicos catalizados por un sistema multienzimático en el cual se tiene en cuenta que inhibición acompetitiva y competitiva por glucosa se presentan para dos tipos de enzimas. Uno de los últimos modelos propuestos es el *HCH -1* (**Holtzapple et al.**, 1984). El modelo *HCH -1* es esencialmente el mecanismo cinético Michaelis-Menten con un paso de absorción e inhibición no competitiva por glucosa y celobiosa.

Una posible explicación para la diversidad de resultados reportados con respecto al tipo de inhibición es presentada por **Holtzaple et al.**, (1984). Dependiendo del sustrato usado, la velocidad de difusión enzimática puede llegar a ser un factor determinante. Entonces, para velocidades de difusión bajas, la inhibición podría ser no competitiva mientras que para velocidades de difusión altas, la inhibición podría ser competitiva.

**1.3.2 Modelos cinéticos “Michaelis-Menten”.** Los modelos tipo Michaelis-Menten han sido usados durante mucho tiempo para caracterizar la cinética de reacciones entre un sustrato y un tipo de enzima en sistemas homogéneos. Aunque en un comienzo los modelos fueron desarrollados para sistemas homogéneos, han sido usados para describir la hidrólisis enzimática de celulosa.

**1.3.3 Mecanismo sin inhibición.** El mecanismo aceptado para muchas reacciones entre enzimas y un sustrato soluble es:



De acuerdo con el mecanismo anterior (ver **Figura 2**), enzima libre  $E^*$ , y sustrato libre  $S^*$ , se combinan reversiblemente para formar un complejo sustrato-enzima  $ES$ . La enzima cataliza la reacción irreversible de sustrato para formar  $\beta$  moles de producto  $P$ .

La cinética de este mecanismo es descrita por un conjunto de ecuaciones diferenciales para los cuales no hay una solución analítica. Por consiguiente, se hacen simplificaciones que resultan en las ecuaciones de “Michaelis-Menten”. Hay dos simplificaciones comúnmente hechas, en consecuencia, dos ecuaciones

distintas que tradicionalmente se conocen como “ecuaciones de Michaelis-Menten”.

El primer modelo resulta de la aplicación de la simplificación de “estado pseudo-estable” para el complejo sustrato-enzima y el segundo modelo se deriva de la simplificación adicional que la concentración de sustrato libre y sustrato total son iguales. En este trabajo solamente se tiene en cuenta la simplificación de “estado pseudo-estable”.

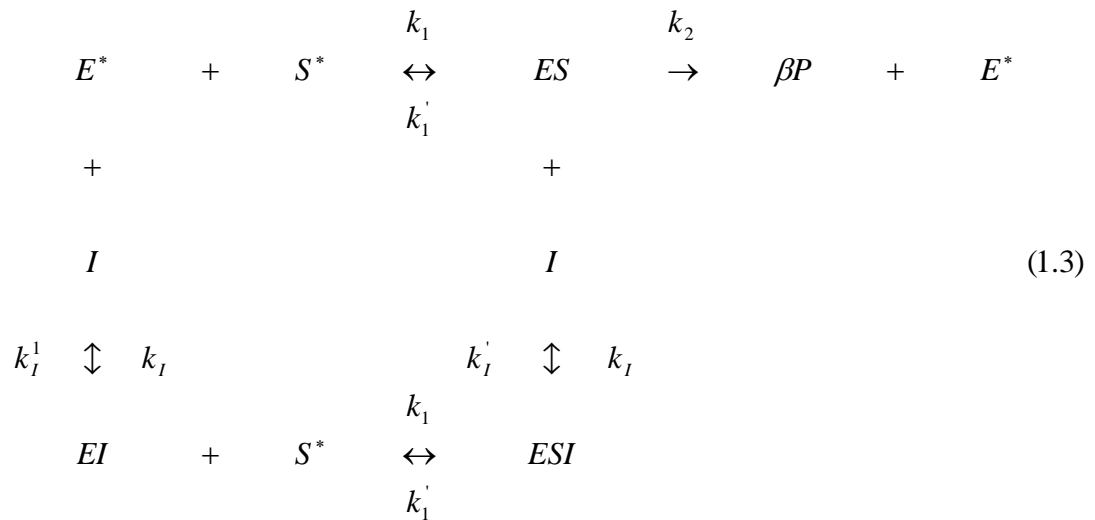
**Tabla 1. Resumen de los modelos cinéticos Michaelis-Menten sin inhibición**

| <i>Simplificaciones</i>                 | <i>Ecuaciones</i>  | <i>Parámetros</i> |
|---|--|-------------------|
| <i>Ninguna</i>                          | $\frac{d[S^*]}{dt} = -k_1[E][S^*] + (k_1' + k_1[S^*])[ES]$ $\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S^*] - (k_1[S^*] + k_1' + k_2)[ES]$  | $k_1, k_1', k_2$  |
| $\frac{d[ES]}{dt} = 0$                  | $\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_2[E]\phi[S]}{K_M + \phi[S]}, \text{ donde } \phi = \frac{[S^*]}{[S]}$ $\phi = \frac{-(K_M + [E] - [S]) + \sqrt{(K_M + [E] - [S])^2 + 4K_M[S]}}{2[S]}$ | $k_2, K_M$        |
| $\frac{d[ES]}{dt} = 0$<br>$[S^*] = [S]$ | $\frac{d[S]}{dt} = -\frac{k_2[E][S]}{K_M + [S]}$   | $k_2, K_M$        |

$$K_M = \frac{k_1' + k_2}{k_1}$$



El mecanismo de reacción aceptado para muchas reacciones entre enzimas y un sustrato soluble con inhibición no competitiva es:



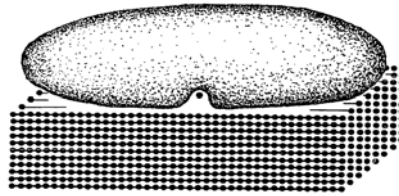
**Tabla 2. Resumen de los modelos cinéticos de Michaelis-Menten con inhibición**

| <i>Inhibición</i>       | <i>Ecuaciones</i>  | <i>Parámetros</i> |
|-------------------------|--|-------------------|
| <i>Competitiva</i>      | $\frac{dP}{dt} = \beta \frac{k_2[E_0][S]}{K_M(1 + \frac{[I]}{K_I}) + [S]}$   | $K_M, K_I, k_2$   |
| <i>No – Competitiva</i> | $\frac{dP}{dt} = \beta \frac{k_2[E_0][S]}{(K_M + [S])(1 + \frac{[I]}{K_I})}$ | $K_M, K_I, k_2$   |

**1.3.6 Modelos cinéticos pseudos-homogéneos para la reacción de hidrólisis enzimática de sustratos celulósicos.**

**Figura 3. Representación de una reacción enzimática para sustrato insoluble.**

Un esquema simplificado del mecanismo de reacción se muestra a continuación:



(1.4)

Donde :

*S* : Sustrato insoluble

*O* : Oligosacárido soluble

*G* : Glucosa

*EG* : Endoglucanasa

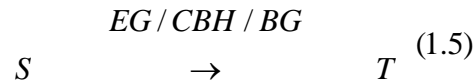
*CBH* : Celobiohidrolasa

*BG* :  $\beta$ -Glucosidasa

El primer paso es la reacción heterogénea entre sustrato insoluble *S* y solución enzimática para producir el oligosacárido soluble *O* bajo la acción sinérgica de *EG* y *CBH*, y se considera como el paso que gobierna la velocidad global de reacción. El segundo paso es la reacción homogénea de los oligosacáridos para producir glucosa *G*, catalizada principalmente por *BG* y con una velocidad de reacción mucho mayor que la del primer paso.

Si se considera que los oligosacáridos (*O*) liberados durante la reacción están formados en mayor proporción por celobiosa, la suma de oligosacáridos y

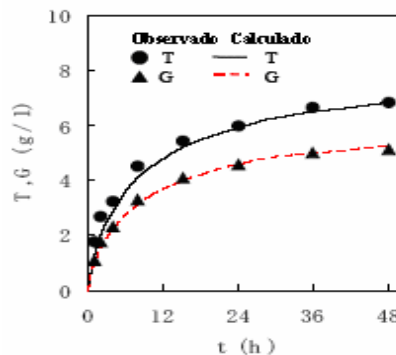
glucosa, ( $T = O + G$ ), representan la fracción de los productos de la reacción que inhiben las enzimas celulasa. Considerando un único efecto inhibitorio, el esquema simplificado de reacción se reduce a:



El modelo pseudo-homogéneo asume que  $T$  es producido a partir de un sustrato soluble hipotético cuya concentración durante la reacción corresponde a la diferencia entre la máxima cantidad de  $T$  producida durante la reacción, ( $T_\infty$ ) y la cantidad de  $T$  presente en el tiempo  $t$ . El nuevo sustrato ( $T_\infty - T$ ), se introduce en los modelos cinéticos de Michaelis-Menten.  $T_\infty$  es un nuevo parámetro del modelo cinético para el cual se halla una relación funcional con la concentración inicial de sustrato.

Una vez se conoce el perfil de  $T$ , se puede predecir el perfil de glucosa  $G$  ya que la forma de los perfiles guarda mucha similitud (**Figura 4**), tal como lo muestran los resultados de la literatura (Li *et al.*, 2004)

**Figura 4. Perfiles de Glucosa y azúcares reductores totales para la hidrólisis enzimática de sustratos celulósicos (Li et al., 2004)**



El modelo cinético propuesto tiene la siguiente forma funcional:

$$\frac{dT}{dt} = f_1(S_0, T) \quad (1.6)$$

donde  $f_1$  tiene la forma de las ecuaciones de Michaelis-Menten con inhibición competitiva ó no-competitiva.

Para describir el perfil de glucosa se propone una ecuación similar al modelo cinético que describe le perfil de celobiosa más glucosa ( $T$ ).

$$\frac{dG}{dt} = f_2(S_0, G) \quad (1.7)$$

Donde  $f_2$  es un ajuste empírico cuya forma funcional es sugerida por el perfil de glucosa.

**Tabla 3. Resumen de los modelos cinéticos pseudo-homogéneos**

| <i>Modelo</i>                      | <i>Ecuaciones</i>   | <i>Parámetros</i> |
|------------------------------------|---|-------------------|
| <i>Forma General</i>               | $\frac{dT}{dt} = f_1(S_0, T) , T = O + G , \frac{dG}{dt} = f_2(S_0, T)$ <p><math>f_1 \rightarrow</math> modelo cinético<br/> <math>f_2 \rightarrow</math> ajuste empírico</p> | $K_M, K_I, V_m$   |
| <i>Inhibición Competitiva</i>      | $\frac{dT}{dt} = \frac{V_m [T_\infty - T]}{K_M \left( 1 + \frac{T}{K_I} \right) + 0.9 [T_\infty - T]}$  | $K_M, K_I, V_m$   |
| <i>Inhibición No – Competitiva</i> | $\frac{dT}{dt} = \frac{V_m [T_\infty - T]}{(K_M + 0.9 [T_\infty - T]) \left( 1 + \frac{T}{K_I} \right)}$  | $K_M, K_I, V_m$   |

$$V_m = k_2 \cdot [E_0]$$

En los modelos cinéticos anteriores,  $T_\infty$  representa el máximo valor de  $T$  (*Celobiosa + Glucosa*) alcanzado durante la reacción y por lo tanto  $(T_\infty - T)$  es la concentración del sustrato hipotético del modelo pseudo-homogéneo. La constante 0.9 es la relación entre el peso molecular de una unidad de glucosa en celulosa y el peso molecular de la glucosa, donde la concentración de azúcares totales es analizada usando una relación de calibración con la glucosa como una sustancia estándar (Li *et al.*, 2004).  $V_m$  es la constante aparente que representa la frecuencia de enlace entre celulosa y celulosa y  $K_M$  es la constante aparente de Michaelis-Menten que representa la afinidad entre celulosa y celulosa.  $K_I$  es la constante aparente de inhibición competitiva ó no competitiva entre celulosa-glucosa y celulosa.

Para un sistema dado los valores de  $V_m$  pueden depender de la eficiencia de contacto entre sustrato insoluble y celulosa en solución, de las propiedades del sustrato y condiciones de operación como tipo, tamaño de reactor, mezclado y concentración inicial de sustrato. Los valores de  $T_\infty$  dependen de las mismas variables anteriores, especialmente de la concentración inicial de sustrato. Por otro lado, se asume que  $K_M$  es intrínseco a un sistema dado de celulosa y celulosa, mientras  $K_I$  puede variar para altas concentraciones de sustrato.

En este trabajo, se presenta una metodología para encontrar el perfil de glucosa una vez se conoce el perfil de  $T$  (*Celobiosa + Glucosa*)

## 1.4 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS PSEUDO-HOMOGENEOS.

**1.4.1 Datos experimentales.** Para determinar los parámetros de los modelos cinéticos y probar el desempeño de los modelos propuestos se tomaron perfiles experimentales de la reacción de hidrólisis enzimática bajo las siguientes condiciones:

Sustrato: bagazo de caña pretratado con álcali (**Dwivedi y Ghose, 1979**)

*Celulasa* = 1,36 IU / g

$T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$

$pH = 4.8$

$rpm > 100$

Concentraciones iniciales de sustrato de 1.36, 5.0 y 7,5 % (W/V)

Los perfiles experimentales de la reacción se muestran en el anexo A. Se nota que durante toda la reacción hay una considerable cantidad de celobiosa, especialmente en las primeras 20 horas de reacción.

**1.4.2 Determinación de parámetros cinéticos.** Los parámetros del modelo cinético se obtienen por medio de un algoritmo de optimizaciones sucesivas propuesto en este trabajo. El algoritmo que se describe a continuación se implementó en **FORTRAN 95** (*Ver código en anexo C*).

- Se da un valor inicial para los parámetros  $K_m$ ,  $V_m$  y  $K_I$  así como rango de búsqueda, sensibilidad del cálculo y número de optimizaciones sucesivas.
- Con los valores iniciales de  $V_m$ ,  $K_I$  y el rango de búsqueda para el primer parámetro, se efectúa la búsqueda del parámetro  $K_m$  que mejor ajusta los datos

experimentales. La integración del modelo cinético se realiza por medio de un algoritmo de **RUNGE-KUTTA** de cuarto orden con un paso de 0.01 y el parámetro óptimo es aquel que minimiza el error definido como el cuadrado de la diferencia entre la predicción del modelo y los datos experimentales.

- Una vez se conoce el primer parámetro óptimo, se realiza la búsqueda para el segundo parámetro cuidando de usar cada vez el parámetro óptimo que se acaba de encontrar.
- Conocidos los dos primeros parámetros óptimos se calcula el tercer parámetro óptimo y se repite el cálculo tantas veces como se especifique en los datos de entrada, cada vez utilizando los nuevos valores óptimos para cada uno de los parámetros.
- Para cada optimización sucesiva el programa muestra el último residual que representa la suma del cuadrado de las diferencias entre los valores experimentales y los predichos por el modelo. Durante el proceso de optimización se pueden cambiar los intervalos de búsqueda, la sensibilidad y el número de optimizaciones. El procedimiento se repite hasta que la variación en el valor alcanzado con la optimización sucesiva para cada parámetro, es despreciable.
- Los datos de salida son los parámetros óptimos y el residual.

Una vez conocidos los parámetros del modelo cinético para predecir el perfil de  $T(\text{celobiosa} + \text{glucosa})$ , se predice el perfil de  $G(\text{glucosa})$ . Se asume que la producción de glucosa se puede describir con una ecuación similar al modelo cinético con inhibición competitiva, cuyos parámetros son ajustados con un procedimiento de optimización similar al expuesto anteriormente para el modelo cinético.

## 1.5 PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS

La relación funcional entre los parámetros cinéticos y la concentración inicial de sustrato, permite diferenciar el modelo cinético que mejor reproduce los resultados según el mecanismo descrito anteriormente. El modelo cinético con inhibición no competitiva por producto, muestra una disminución de la inhibición al aumentar la concentración inicial de sustrato (*Tal como está definido  $K_i$  en el modelo cinético, un mayor valor del parámetro significa menor efecto inhibitorio; si  $K_i \rightarrow \infty$  no hay inhibición*). Esta contradicción con el modelo propuesto y los reportes existentes en la literatura llevan a descartar este modelo.

## 1.6 COMPARACIÓN ENTRE LOS MODELOS Y LOS PERFILES EXPERIMENTALES

La validación de los modelos con los perfiles experimentales muestra que los modelos con inhibición competitiva y no competitiva son apropiados para describir las curvas de reacción. La diferencia entre los modelos radica en que la dependencia de los parámetros cinéticos con la concentración inicial de sustrato para el modelo con inhibición competitiva, está de acuerdo con el mecanismo de reacción propuesto. Lo contrario ocurre con el modelo cinético con inhibición no competitiva. (*En el anexo B se muestran las curvas correspondientes*)

## 1.7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los modelos pseudos-homogéneos basados en las ecuaciones de Michaelis\_Menten con inhibición competitiva y no competitiva, describen satisfactoriamente los perfiles para la hidrólisis enzimática de bagazo de caña pretratado con peróxido de hidrógeno ó álcali y bajo la acción del sistema celulasa.

Esto ya había sido señalado para la hidrólisis enzimática de sustratos celulósicos por **Shou et al.**, (1993). Los resultados son muy buenos porque la reacción de conversión celobiosa-glucosa, catalizada por  $\beta$ -glucosidasa, se presenta en solución y no sobre la superficie del sustrato insoluble, lo que justifica la simplificación de sistema pseudo-homogéneo. Los modelos cinéticos con inhibición competitiva y no competitiva por producto, se diferencian en el valor y dependencia de los parámetros con la concentración inicial de sustrato.

El parámetro  $V_m$ , que representa la frecuencia de enlace entre celulosa y celulasa depende fuertemente de la cantidad inicial de sustrato. Para los dos modelos testados se halló una correlación entre estas variables. El modelo cinético con inhibición competitiva muestra que a mayores concentraciones iniciales de sustrato, aumenta la frecuencia de enlace entre celulosa y celulasa pero la razón de cambio de  $V_m$  con respecto a  $S_o$  va disminuyendo. Para el modelo con inhibición no competitiva a mayores concentraciones de sustrato ocurre un aumento en  $V_m$  y la razón de cambio de  $V_m$  con respecto a  $S_o$  va aumentando. Los modelos coinciden en la predicción del aumento en  $V_m$ , pero para una concentración de enzima única (*tal como se desarrollaron los experimentos*) se espera que la razón de aumento de  $V_m$  con respecto a  $S_o$  disminuya porque hay menos enzima disponible por unidad de sustrato, se presentan impedimentos estéricos y mayor inhibición por producto.

El modelo con inhibición competitiva muestra claramente una disminución en el valor del parámetro  $K_m$  a medida que se aumenta la concentración inicial de sustrato mientras que el modelo con inhibición no competitiva no muestra una tendencia clara de la variación de este parámetro en el rango que fueron realizados los experimentos.

La diferencia más importante entre los modelos se presenta en la predicción de la inhibición por producto a medida que se aumenta la concentración inicial de sustrato. El modelo con inhibición competitiva predice un aumento en la inhibición lo cual es correcto si se tiene en cuenta que hay mayor presencia de los inhibidores glucosa y celobiosa en el sistema. El modelo con inhibición no competitiva predice disminución en la inhibición lo cual es completamente errado a la luz del mecanismo en el que se basa el modelo cinético.

Los resultados obtenidos muestran que el modelo que mejor se ajusta al mecanismo y los perfiles experimentales es el modelo con inhibición competitiva. A pesar que el modelo con inhibición no competitiva describe bien los perfiles experimentales, la dependencia de los parámetros con la concentración inicial de sustrato no es acorde al mecanismo que se pretende describir.

Finalmente se testó la capacidad del modelos para predecir el perfil de glucosa a partir del perfil de  $T$  (*Celobiosa + Glucosa*). Dentro del rango de concentraciones iniciales de sustrato que se llevaron a cabo las pruebas, es posible predecir con buena precisión la cantidad de glucosa presente en el sistema a determinada concentración  $T$  (*Celobiosa + Glucosa*). La concentración de glucosa es de gran interés porque la etapa final del proceso consiste en la fermentación de los azúcares resultantes en la reacción de hidrólisis, de los cuales, la glucosa representa el azúcar fermentable para levaduras comerciales. Cabe resaltar que una adición de enzima, principalmente de  $\beta$ -glucosidasa conllevaría a una mayor conversión de celobiosa a glucosa y de un menor efecto inhibitorio, por lo que los modelos que se presentan este trabajo no sobreestiman la producción de glucosa debido a la baja concentración de enzima utilizada en los experimentos.

Se hace énfasis en el rango de validez de los resultados del presente trabajo para no hacer generalizaciones incorrectas. Los parámetros obtenidos, si bien están restringidos a un rango de concentraciones iniciales de sustrato, son muy útiles en

el dimensionamiento preliminar de reactores de hidrólisis enzimática, tema que representa la segunda parte de este trabajo.

## 1.8 CONCLUSIONES

- La reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña pretratado con álcali, bajo la acción de las enzimas celulasa puede ser descrita satisfactoriamente con modelos cinéticos Michaelis-Menten pseudo-homogéneos con inhibición por producto.
- El modelo con inhibición competitiva presenta una dependencia de los parámetros con la concentración inicial de sustrato, acorde con la hipótesis del mecanismo para reacciones enzimáticas; lo contrario ocurre con el modelo con inhibición no competitiva
- Para bajas concentraciones de enzima, a concentraciones mayores de sustrato el efecto inhibitorio por producto aumenta debido a la alta cantidad de celobiosa presente en las primeras horas de reacción.
- Al final de la reacción (*después de 48 horas de reacción*), hay una cantidad considerable de celobiosa que no fue convertida a glucosa. Esto significa que el complejo enzimático utilizado es deficiente en la enzima  *$\beta$ -glucosidasa* responsable por la hidrólisis de la celobiosa a glucosa. La adición de  *$\beta$ -glucosidasa* al sistema, aumenta la conversión de sustrato hidrolizable a glucosa, aumentando la producción de alcohol en una etapa posterior de fermentación.

- El modelo cinético pseudo-homogéneo con inhibición competitiva por producto que se propone en este trabajo es muy adecuado para el diseño preliminar de reactores dada su simplicidad (1 ecuación y 4 parámetros) y ajuste con los perfiles experimentales
- El perfil de glucosa se predice a partir del perfil de  $T$  (*Celobiosa + Glucosa*) por medio de una ecuación semiempírica, lo que restringe la utilidad del modelo a concentraciones de sustrato entre 2.6% y 7.5%  $W/V$ . A pesar de la restricción anterior, el rango de validez es adecuado para dimensionamiento preliminar de reactores.

## 2. DISEÑO DE REACTORES

Se presentan las ecuaciones de diseño para una serie de reactores CSTR de volumen óptimo, serie de reactores CSTR de igual volumen y un reactor PFR con o sin reciclo, en los cuales se lleva a cabo la reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña deslignificado. El reciclo no disminuye el volumen de reacción necesario para alcanzar determinada conversión dada una concentración inicial de sustrato; la serie de CSTR de volumen óptimo no muestra diferencias significativas en volumen de reacción con la serie de reactores CSTR de igual volumen y se requieren grandes volúmenes de reacción ( $> 150 m^3$ ) para alcanzar conversiones de sustrato hidrolizable, mayores al 90 % .

### 2.1 INTRODUCCIÓN

El proceso convencional para la conversión de biomasa usa dos pasos individuales: Sacarificación, donde la biomasa es convertida a azúcares usando enzimas y fermentación, donde los azúcares son convertidos a alcoholes usando levaduras. Una alternativa para los pasos antes mencionados combina la sacarificación y la fermentación y es llamada “Sacarificación y Fermentación Simultánea” (*SSF*). La ventaja de la (*SSF*) es que minimiza la inhibición por producto manteniendo bajas concentraciones de azúcares. Este descubrimiento es importante porque mejora la eficiencia global del proceso (**Sun y Cheng, 2002**)

Hay dos procesos fundamentales para degradar la biomasa a azúcares: hidrólisis enzimática e hidrólisis con ácido diluido. Comparada con la hidrólisis con ácido diluido, la hidrólisis enzimática es más promisoría porque permite alcanzar altos

rendimientos, eliminar el uso de productos químicos y la formación de subproductos inhibidores formados durante la hidrólisis ácida (**Pfeifer et al.**, 1984; **Tran y Chambers**, 1986).

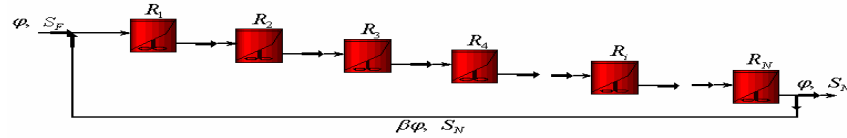
A pesar de que las investigaciones sobre la hidrólisis enzimática de biomasa no escatiman esfuerzos para alcanzar la realización práctica de la tecnología, los sistemas de reacción usados en las investigaciones no superan el nivel de laboratorio ya que están encaminados a conocimiento fundamental. Los estudios muestran diferentes alternativas para la conversión de biomasa a etanol, pero no se dispone de mayor información acerca del volumen de reacción necesario para llevar a cabo la reacción a nivel industrial. La fermentación de azúcares es un campo tecnológicamente maduro, mientras que surgen aún muchos interrogantes en la hidrólisis enzimática. Es por esto, que el presente estudio está encaminado a mostrar el sistema de reaccionante para la hidrólisis enzimática de bagazo de caña desde una perspectiva industrial.

Después de mostrar las ecuaciones de diseño para una serie de CSTR de volumen óptimo, una serie de CSTR de igual volumen y un reactor PFR, con o sin reciclo, en los cuales se lleva a cabo la reacción de hidrólisis enzimática, se calculan los volúmenes de reacción para concentraciones iniciales de sustrato entre 3 y 5 %  $W/V$ . El modelo cinético utilizado hace parte del presente trabajo y se explica detalladamente en el capítulo 1. Finalmente se calcula la producción de glucosa con el fin de hacer un estimativo de la producción de etanol.

## **2.2 REACTORES CSTR EN SERIE DE VOLUMEN ÓPTIMO**

Para una serie de reactores CSTR en lo que se lleva a cabo la reacción de hidrólisis enzimática de bagazo deslignificado, bajo la condición de estado estacionario, se tienen los siguientes balances de masa:

**Figura 5. Reactores CSTR en serie con reciclo**



**Tabla 4. Balances de masa para la serie de reactores CSTR de la figura 5**

| Unidad              | Balace de sustrato (S)  |
|---------------------|---|
| Mezclador (M)       | $0 = \varphi \cdot S_F + \beta \cdot \varphi \cdot S_N - (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_0$             |
| Reactor 1 ( $R_1$ ) | $0 = (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_0 - (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_1 - r(S_1) \cdot V_{R1}$     |
| Reactor 2 ( $R_2$ ) | $0 = (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_1 - (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_2 - r(S_2) \cdot V_{R2}$     |
| Reactor i ( $R_i$ ) | $0 = (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_{i-1} - (1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_i - r(S_i) \cdot V_{Ri}$ |

Donde :

$\varphi$  : Flujo volumétrico ( $m^3 / h$ )

S : Concentración de sustrato ( $Kg / m^3$ )

$\beta$  : Razón de reciclo (a dimensional)

$r(S)$  : Velocidad de desaparición de sustrato ( $Kg / m^3 h$ )

Del balance de masa para el reactor  $i$  se obtiene:

$$\tau_i = \frac{V_{Ri}}{(1 + \beta) \cdot \varphi} = \frac{S_{i-1} - S_i}{r(S_i)} \quad (2.1)$$

Donde :

$\tau$  : Tiempo de residencia ( $s^{-1}$ )

La ecuación que representa la velocidad de desaparición de sustrato (ver tabla 5) es:

$$r(S) = \frac{V_m \cdot (T_\infty - T)}{K_M \cdot (1 + T / K_I) + 0.9 \cdot (T_\infty - T)} \quad (2.3)$$

Reescribiendo la ecuación con  $(T_\infty - T)$  como  $S$  y  $T$  como  $(S_0 - S)$  se obtiene:

$$r(S) = \frac{V_m \cdot S}{K_M \cdot (1 + (S_0 - S) / K_I) + 0.9 \cdot S} \quad (2.4)$$

Reemplazando la velocidad de desaparición de sustrato (**Ec. 2.3**) en la ecuación 2.1 se obtiene:

$$\tau_i = \frac{V_{Ri}}{(1 + \beta) \cdot \varphi} = \frac{S_{i-1} - S_i}{V_m \cdot S_i} \cdot K_m \cdot \left(1 + \frac{(S_0 - S_i)}{K_I} + 0.9 \cdot S_i\right) \quad (2.5)$$

La ecuación anterior se puede escribir en grupos adimensionales así:

$$\theta_i = \frac{V_{Ri} \cdot V_m}{(1 + \beta) \cdot \varphi \cdot S_0} = \frac{S_{i-1} - S_i}{S_i} \cdot \left(\frac{K_M}{S_0} + \frac{K_M}{K_I} \frac{(S_0 - S_i)}{S_0} + 0.9 \cdot \frac{S_i}{S_0}\right) \quad (2.6)$$

Donde :

$\theta_i$  : *Tiempo de residencia a dimensional*

Definiendo las siguientes variables adimensionales:

$$\alpha = \frac{S}{S_0} ; K'_M = \frac{K_M}{S_0} \text{ y } \xi = \frac{K_M}{K_I}, \text{ se obtiene:}$$

$$\theta_i = \frac{\alpha_{i-1} - \alpha_i}{\alpha_i} \cdot (K'_M + \xi \cdot (1 - \alpha_i) + 0.9 \cdot \alpha_i) \quad (2.7)$$

La condición de volumen mínimo para la serie de reactores exige que:

$$\frac{\partial}{\partial \alpha_i} \sum_{j=1}^N \theta_j = 0, i = 1, 2, \dots, N-1 \quad (2.8)$$

Sólo dos términos de la ecuación anterior contienen  $\alpha_i$ :

$$\frac{\partial}{\partial \alpha_i} \left[ \frac{\alpha_{i-1} - \alpha_i}{\alpha_i} \cdot [K'_M + \xi \cdot (1 - \alpha_i) + 0.9 \cdot \alpha_i] + \frac{\alpha_i + \alpha_{i+1}}{\alpha_{i+1}} \cdot [K'_M + \xi \cdot (1 - \alpha_{i+1}) + 0.9 \cdot \alpha_{i+1}] \right] = 0 \quad (2.9)$$

La derivada anterior da como resultado:

$$\alpha_{iop} = \sqrt{\alpha_{i-1} \cdot \alpha_{i+1}} \quad (2.10)$$

Donde:

$\alpha_{iop}$ : Razón óptima entre  $S_i$  y  $S_0$

La ecuación anterior muestra que las concentraciones intermedias de sustrato para el tiempo de residencia adimensional óptimo no dependen de  $K_M$ ,  $K_I$  y  $S_0$ .

La segunda derivada de la ecuación (2.9) es positiva ( $2\alpha_{i-1} \cdot (K'_M + \xi) / \alpha_i^3$ ) lo cual confirma que el procedimiento de optimización arroja como resultado un mínimo.

La ecuación para la relación óptima de sustrato, realmente consiste en un conjunto de ecuaciones que se pueden escribir de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
- \alpha_{N-1}^2 &= \alpha_{N-2} \cdot \alpha_N \\
- & \cdot \\
- & \cdot \\
- \alpha_i^2 &= \alpha_{i-1} \cdot \alpha_{i+1} \\
- & \cdot \\
- & \cdot \\
- \alpha_1^2 &= \alpha_0 \cdot \alpha_2
\end{aligned} \tag{2.11}$$

Sustituyendo de la última ecuación hacia atrás se obtiene:

$$\alpha_i = \alpha_0^{i!(i+1)!} \cdot \alpha_{i+1}^{i/(i+1)}, i = 1, 2, \dots, N-1 \tag{2.12}$$

Como la relación de sustrato a la entrada del reactor 1 ( $\alpha_0 = S_0 / S_0$ ) equivale a la unidad, la ecuación (2.12) se simplifica aún más. La ecuación (2.12), realmente consiste en un conjunto de ecuaciones que se pueden escribir de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
- \alpha_{N-1} &= \alpha_N^{(N-1)/N} \\
- & \cdot \\
- & \cdot \\
- \alpha_i &= \alpha_N^{i/N} \quad i = 1, 2, \dots, N-1 \\
- & \cdot \\
- & \cdot \\
- \alpha_1 &= \alpha_N^{1/N}
\end{aligned} \tag{2.13}$$

Finalmente se obtuvo una relación muy sencilla entre la relación óptima de sustrato para cada reactor ( $\alpha_i$ ), el número de reactores ( $N$ ) y la relación de sustrato a la salida del último reactor de la serie ( $\alpha_N$ ).

Las ecuaciones (2.7) y (2.13) se pueden combinar para encontrar el tiempo de residencia adimensional óptimo, especificando el número de reactores y la relación de sustrato a la salida del último reactor:

$$\theta_{iop} = (\alpha_N^{1/N} - 1) \cdot (K_M' + \xi \cdot (1 - \alpha_N^{i/N}) + 0.9 \cdot \alpha_N^{i/N}) \quad (2.14)$$

El tiempo de residencia adimensional óptimo para la serie de reactores puede obtenerse de:

$$\sum_{i=1}^N \theta_{iop} = (\alpha_N^{1/N} - 1) \cdot \sum_{i=1}^N (K_M' + \xi \cdot (1 - \alpha_N^{i/N}) + \alpha_N^{i/N}) \quad (2.15)$$

### 2.3 REACTORES cstr EN SERIE DE IGUAL VOLUMEN

Aplicando la ecuación (2.7) a los reactores  $i$  e  $i+1$ , bajo la condición de igual tamaño, se obtiene:

$$\alpha_{i-1} = \left\{ \frac{\left[ \frac{\alpha_i}{\alpha_{i+1}} - 1 \right] \cdot [K_M' + (0.9 - \xi) \cdot \alpha_{i+1} + \xi]}{K_M' + (0.9 - \xi) \cdot \alpha_i + \xi} + 1 \right\} \cdot \alpha_i \quad (2.16)$$

La ecuación anterior se resuelve para las relaciones intermedias de sustrato usando el siguiente algoritmo:

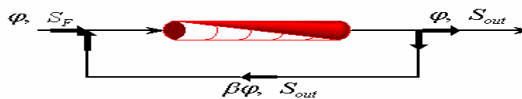
- Se fija un valor de  $\alpha_N$
- $\alpha_{N-1}$  Se hace igual a  $\alpha_N + \Delta$ , donde  $\Delta$  es un incremento ( $\Delta = 10^{-6}$ )

- Con el valor de  $\alpha_N$  y  $\alpha_{N-1}$ , se calcula el valor de  $\alpha_{N-2}$  por medio de la ecuación (2.16)
- Con los valores de  $\alpha_{N-1}$  y  $\alpha_{N-2}$ , se calcula  $\alpha_{N-3}$  por medio de la ecuación (2.16) y se repite el procedimiento hasta llegar a  $\alpha_0$
- El valor hallado para  $\alpha_0$  es comparado con 1; si la diferencia entre el valor absoluto de  $\alpha_0$  y 1 no es menor que una tolerancia previamente fijada ( $10^{-5}$ ), se calcula un nuevo valor de  $\alpha_{N-1}$  como  $\alpha_N + j \cdot \Delta$  donde  $j$  es el número de iteraciones
- El paso anterior se repite hasta que se cumpla la condición para  $\alpha_0$

Los valores de  $\alpha_i$  para los cuales  $\alpha_0 \approx 1$ , son las relaciones intermedias de sustrato que corresponden a reactores con igual tiempo de residencia adimensional. Conocidos los valores apropiados de  $\alpha_i$ , el tiempo de residencia adimensional es calculado para un reactor por medio de la ecuación 2.7. El tiempo de residencia adimensional para la serie de reactores se calcula como  $N \cdot \theta_i$  donde  $N$  es el número de reactores de la serie.

## 2.4 REACTOR TUBULAR

Figura 6. Reactor tubular con reciclo



Un balance de sustrato para reactor tubular (ver figura 6) da:

$$0 = (\beta + 1) \cdot \varphi \cdot (S - (S + dS)) - r(S) \cdot dV_R$$

(2.17)

Reacomodando la ecuación anterior:

$$\frac{1}{(\beta + 1) \cdot \varphi} dV_R = -\frac{dS}{r(S)}$$

(2.18)

Reemplazando la ecuación de desaparición de sustrato en la ecuación anterior se obtiene:

$$\frac{1}{(\beta + 1) \cdot \varphi} dV_R = \frac{K_M \cdot (1 + \frac{S_0 - S}{K_I}) + 0.9 \cdot S}{V_m \cdot S} \cdot -dS$$

(2.19)

Usando las mismas variables adimensionales de la serie de CSTR se obtiene:

$$d\theta = -\frac{K'_M + \xi - \xi \cdot \alpha + 0.9 \cdot \alpha}{\alpha} \cdot d\alpha$$

(2.20)

Integrando la ecuación anterior bajo las condiciones  $\alpha_0 = 1, \theta_0 = 0$  y

$$\alpha = \alpha_{PFR}, \theta = \theta_{PFR} \quad \text{se obtiene: } \theta_{PFR} = (1 - \xi) \cdot (1 - \alpha_{PFR}) - (K'_M + \xi) \cdot \ln \alpha_{PFR}$$

(2.21)

## 2.5 PARÁMETROS DE LA SIMULACIÓN

Modelo cinético pseudo-homogéneo con inhibición competitiva por producto

$$\frac{dT}{dt} = \frac{V_m [T_\infty - T]}{K_M \left(1 + \frac{T}{K_I}\right) + 0.9 [T_\infty - T]}$$

(2.22)

**Tabla 5. Resumen de los parámetros del modelo cinético**

| PARÁMETROS          | SIGNIFICADO FÍSICO  | CORRELACIÓN                               | RANGO DE VALIDÉZ                    |
|---------------------|---|---|-------------------------------------|
| $V_m [g/L \cdot h]$ | Frecuencia de enlace entre celulosa y celulasa. Se representa como una función de la concentración inicial de sustrato. Es directamente proporcional a la concentración inicial de enzima. Varía con las condiciones del sistema reaccionante | $V_m = -0.2524S_o^2 + 7.835S_o - 2,2156$  | $2.6 < S_o < 42.4$<br>$S_o [\%W/V]$ |
| $K_M [g/L]$         | Representa la afinidad entre celulosa y celulasa. Es función de la concentración inicial de sustrato  | $K_M = 0.02958S_o^2 - 0.7186S_o + 7.7553$ |                                     |

|                    |   |   |  |
|--------------------|---|---|--|
| $K_I [g / L]$      | Representa la inhibición competitiva de celulasa causada por glucosa y celobiosa. Es función de la concentración inicial de sustrato si la concentración inicial de enzima se mantiene constante  | $K_I = 0.03909S_o^2 - 0.07153S_o + 0.6593$    |  |
| $T_\infty [g / L]$ | Máxima concentración de T(CELOBIOSA + GLUCOSA) alcanzada durante la reacción. Es una función de la concentración inicial de sustrato. (Para los datos experimentales en los que se basa este trabajo, se trabajó con una única concentración inicial de enzima) | $T_\infty = -0,2554S^2 + 7,8348 * S - 2,1643$ |  |

$S_o$  [%W / V] porcentaje masa / volumen

Para encontrar el tiempo de residencia adimensional se usan dos parámetros

adimensionales,  $K'_M = \frac{K_M}{T_\infty - T}$  y  $\xi = \frac{K_M}{K_I}$

En la simulación se tienen en cuenta los siguientes casos:

- Serie de reactores CSTR de volumen óptimo con o sin reciclo

- Serie de reactores CSTR de igual volumen con o sin reciclo
- Reactor PFR con o sin reciclo

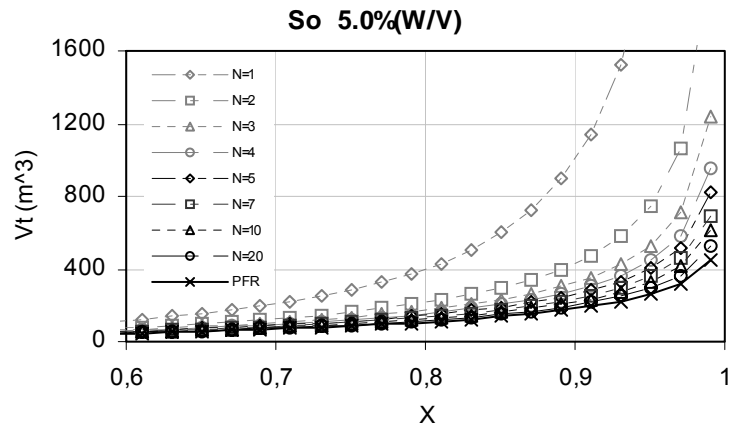
La simulación se realizó en **FORTRAN 95**. El código del programa se muestra como anexo en el presente trabajo. (*Ver código anexo D*)

## **2.6 RESULTADOS DE LA SIMULACIÓN**

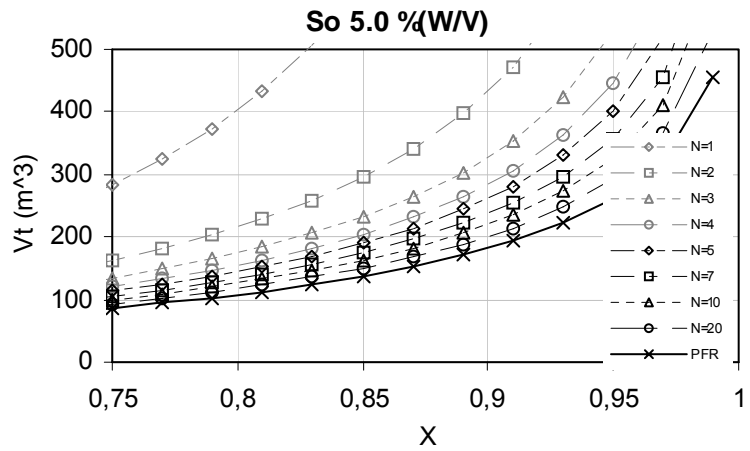
**2.6.1 Efecto del reciclo.** Para determinar el efecto del reciclo sobre el volumen de la serie de reactores, se comparan los volúmenes de reacción necesarios para obtener una determinada conversión de sustrato con diferentes valores de reciclo en un reactor PFR. Las conclusiones obtenidas a partir de los resultados para el reactor PFR son aplicables a la serie de reactores CSTR. Los resultados de la simulación muestran (*Ver gráficas en anexo F*) que el reciclo no disminuye el volumen de reacción requerido para alcanzar determinada conversión.

**2.6.2 Comparación reactores CSTR en serie sin reciclo - reactor PFR sin reciclo.** Según los cálculos realizados, la diferencia entre los volúmenes de reacción necesarios para alcanzar determinada conversión dado una concentración inicial de sustrato para una serie de CSTR de volumen óptimo y una serie de CSTR de igual volumen, no es significativa. Esto confirma el uso de reactores de igual volumen ya que además de no diferir del volumen óptimo, presentan facilidades de fabricación, instalación, mantenimiento, control, etc. Los resultados que se reportan a continuación son los de la serie de CSTR de igual volumen para una concentración inicial de sustrato de 5.0% W/V.

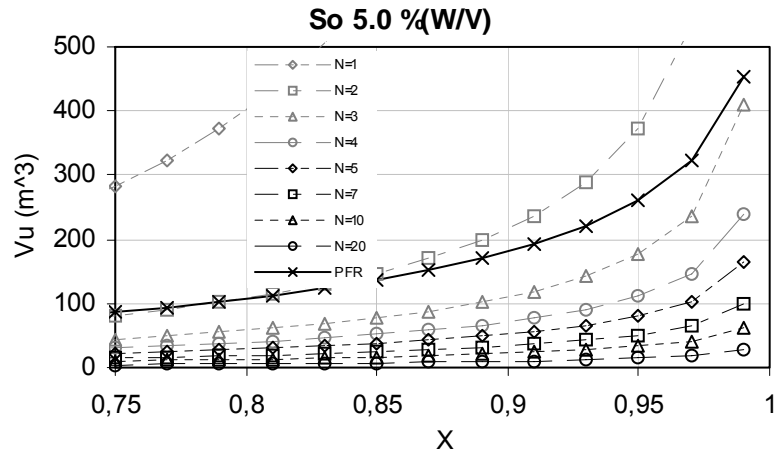
**Figura 7. Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V**



**Figura 8. Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V**



**Figura 9. Volumen de reacción por reactor, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V**



La conversión mostrada en las figuras 7, 8 y 9, corresponde al sustrato hidrolizable, por lo que a nivel industrial es deseable alcanzar altas conversiones para aprovechar de la mejor manera la materia prima. El *anexo G* muestra en mas detalle la diferencia entre los volúmenes de reacción necesarios para alcanzar conversiones del 85, 90, 95 y 98 % con una concentración inicial de sustrato del 5.0% W/V.

**2.6.3 Producción de glucosa y proyección de la producción de etanol.** Una vez conocidos los volúmenes de reacción necesarios en cada uno de los arreglos que se calcularon en este trabajo, conviene hacer una proyección general sobre la producción de glucosa durante la reacción de hidrólisis y la producción de etanol en la etapa posterior de fermentación. Cabe recordar, que los experimentos de hidrólisis con los que se validaron los modelos cinéticos, corresponden a ensayos con baja concentración de enzima, por lo que los resultados que se muestran a continuación corresponden a un margen mínimo de producción de etanol. Con mayores concentraciones de enzima se puede convertir más celobiosa a glucosa y

por lo tanto alcanzar mayores producciones de etanol, no sin olvidar que mayores cantidades de enzima, además de ser un insumo muy caro llevan a mayores pérdidas de esta por inhibición y absorción irreversible sobre la superficie del sustrato.

La tabla 6 está basada en concentraciones iniciales de sustrato de 5% W/V, es decir, 50g/L y la actividad enzimática referida en el capítulo 1. Como una cantidad considerable de celobiosa no fue transformada en glucosa, lo cual se lograría con adición de más enzima  $\beta$ -glucosidasa, la tabla 7 presenta cálculos de producción de glucosa basados en el 80% de la conversión del sustrato hidrolizable a glucosa, lo cual brinda una expectativa más realista de la tecnología. Las predicciones del volumen de reacción no se afectan ya que están basadas en el sustrato hidrolizable, el cuál permanece inalterado en los cálculos.

**Tabla 6. Producción de glucosa para un caudal de  $10\text{m}^3/\text{h}$  y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V**

| $X_{sh}$ | $T(\text{g/L})$ | $G(\text{g/L})$ | $Q(\text{m}^3/\text{h})$ | $G(\text{Kg/h})$ |
|----------|-----------------|-----------------|--------------------------|------------------|
| 0,85     | 26,1            | 10,0            | 10                       | 100              |
| 0,90     | 27,6            | 11,8            |                          | 118              |
| 0,95     | 29,2            | 14,4            |                          | 144              |
| 0,98     | 30,1            | 17,1            |                          | 171              |

$X_{sh}$  : Sustrato hidrolizable  $T$  : Glucosa + Celobiosa

**Tabla 7. Producción de glucosa para un caudal de  $10\text{m}^3/h$  y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V. Conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable**

| $X_{sh}$ | $T(g/L)$ | $G(g/L)$ | $Q(\text{m}^3/h)$ | $G(\text{Kg}/h)$ |
|----------|----------|----------|-------------------|------------------|
| 0,85     | 26,1     | 20,9     | 10                | 209              |
| 0,90     | 27,6     | 22,1     |                   | 221              |
| 0,95     | 29,2     | 23,4     |                   | 234              |
| 0,98     | 30,1     | 24,1     |                   | 241              |

En la reacción de fermentación de glucosa, se producen 2 moles de etanol a partir de una mole de glucosa. A nivel industrial, los rendimientos alcanzados durante la reacción son superiores al 80%. La tabla 8 muestra la producción de etanol en Kg./h y L/h para diferentes rendimientos de la reacción de hidrólisis enzimática y de la fermentación con la concentración de enzima de los experimentos y la tabla 9 muestra la producción de etanol para conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable.

**Tabla 8. Producción de etanol para un caudal de  $10\text{m}^3/h$  y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V**

| $X_G$    | 0,85 |      | 0,90 |      | 0,95 |      | 0,98 |      |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| $X_{sh}$ | kg/h | L/h  | kg/h | L/h  | kg/h | L/h  | kg/h | L/h  |
| 0,85     | 43,4 | 55,0 | 46,0 | 58,3 | 48,6 | 61,5 | 50,1 | 64,8 |
| 0,90     | 51,3 | 64,9 | 54,3 | 68,8 | 57,3 | 72,6 | 59,1 | 76,4 |
| 0,95     | 62,6 | 79,3 | 66,2 | 83,9 | 69,9 | 88,6 | 72,1 | 93,2 |
| 0,98     | 74,3 | 94,1 | 78,7 | 99,7 | 83,0 | 105  | 85,7 | 111  |

Densidad e tan ol,  $\rho : 789,3 \text{ Kg} / \text{m}^3$

**Tabla 9. Producción de etanol para un caudal de  $10m^3/h$  y concentración inicial de sustrato de 5.0%W/V. Conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable**

| $X_G$    | 0,85 |     | 0,90 |     | 0,95 |     | 0,98 |     |
|----------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| $X_{sh}$ | kg/h | L/h | kg/h | L/h | kg/h | L/h | kg/h | L/h |
| 0,85     | 90,8 | 115 | 96,1 | 122 | 102  | 129 | 105  | 133 |
| 0,90     | 96,0 | 122 | 102  | 129 | 107  | 136 | 111  | 140 |
| 0,95     | 102  | 129 | 108  | 136 | 114  | 144 | 117  | 148 |
| 0,98     | 105  | 133 | 111  | 140 | 117  | 148 | 121  | 153 |

## 2.7 FACTORES TECNOLÓGICOS

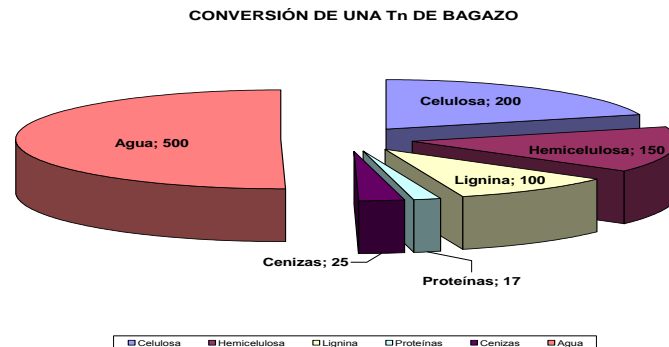
### 2.7.1 Rendimiento teórico (Conversión 100%).

Polímero Celulosa: 200 Kg

Conversión a celulosa: 202 Kg

Conversión a etanol: 103 kg; 131 l

**Figura 10. Composición de una Tn de bagazo**



**Tabla10. Rendimientos para el cultivo de caña en Colombia**

| Producto    | Caña (Tn/Ha) | Bagazo (Tn/Ha) | Etanol (l/Ha) |
|-------------|--------------|----------------|---------------|
| Rendimiento | 120.4        | 28.32          | 8520          |

Fuente: Cenicaña (2006)

La producción de etanol a partir de la conversión ideal de la hemicelulosa del

bagazo a alcohol asciende a:  $131 \frac{l}{Tn} * 28.32 \frac{Tn}{Ha} = 3710 \frac{l}{Ha}$

En condiciones ideales se lograría un aumento en la producción de etanol por

hectárea plantada de:  $\frac{3710}{8520} * 100\% = 43.54\%$

**2.7.2 Rendimiento real.** En el cálculo de producción de etanol que se muestra en este trabajo, se tuvo en cuenta un caudal de  $10m^3 / h$  con una concentración de sólidos de  $5\%W/V$ . La masa total de sólidos tratados por unidad de tiempo corresponde a:

$$\frac{5}{100} \frac{g}{ml} * 1000 \frac{ml}{l} * 1000 \frac{l}{m^3} * \frac{1}{1000} \frac{Kg}{g} 10 \frac{m^3}{h} = 500 \frac{Kg}{h}$$

La materia prima en base seca ha sido tratada con pérdidas en masa de  $37\%$ , por lo tanto la materia seca antes de pretratamiento es de:  $790Kg$  en base seca. La humedad promedio para el bagazo es de  $54\%$  por lo que la masa equivalente de bagazo fresco tratado es de  $1717.4Kg$ . Asumiendo que la conversión de sustrato hidrolizable a glucosa es del  $80\%$ , la tabla 11 muestra el aumento en el rendimiento de producción de etanol por hectárea

**Tabla 11. Aumento en el rendimiento por hectárea**

| $X_G$    | 0,85                          | 0,90 | 0,95 | 0,98 |
|----------|-------------------------------|------|------|------|
| $X_{sh}$ | Aumento en el Rendimiento (%) |      |      |      |
| 0,85     | 22.3                          | 23.7 | 25.0 | 25.8 |
| 0,90     | 23.7                          | 25.0 | 26.4 | 27.2 |
| 0,95     | 25.0                          | 26.4 | 27.9 | 28.7 |
| 0,98     | 25.8                          | 27.2 | 28.7 | 29.7 |

$X_G$  Conversión de glucosa,  $X_{sh}$ , Conversión de sustrato hidrolizable

## 2.8 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El diseño preliminar de reactores se basó en la descripción de varios posibles sistemas reaccionantes para la reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña deslignificado. En orden de complejidad se contempló una serie de  $n$  reactores CSTR con reciclo, un reactor PFR con reciclo, una serie de  $n$  reactores CSTR sin reciclo y un reactor PFR sin reciclo. Las distintas configuraciones probadas se justifican en un intento por disminuir el volumen de reacción necesario para obtener determinada conversión, ya que por las bajas concentraciones de sustrato en la corriente que ingresa al sistema, se requieren grandes volúmenes de reacción para alcanzar producciones de etanol a nivel industrial.

la implementación del reciclo no disminuye el volumen de reacción necesario para alcanzar una determinada conversión en un reactor PFR. Esta conclusión se tomó como válida para la serie de reactores CSTR, por lo que no se insistió en mantener el reciclo para la serie de CSTR.

El sistema de reacción requiere de grandes volúmenes para alcanzar conversiones de sustrato hidrolizable superiores al 50 %. En el anexo G se muestra de una forma aún más clara el volumen de reacción requerido y las disminuciones en volumen de reacción a medida que se agregan reactores CSTR a la serie, con un límite de menor volumen correspondiente al reactor PFR. El sustrato del modelo cinético pseudo-homogéneo corresponde a la parte del sustrato inicial deslignificado que es hidrolizable con la carga enzimática descrita en el capítulo 1, por lo que se debe procurar alcanzar conversiones superiores al 90%.

Para una conversión fija, hay una gran disminución en el volumen de reacción al pasar de uno a dos reactores CSTR, por lo que no se justifica el uso de un solo reactor CSTR. Para series de más de 2 reactores se consiguen disminuciones en el volumen de reacción pero también se aumentan los costos por reactor (materiales, construcción, instalación, accesorios), por lo que se pueden hacer cálculos de un número de reactores óptimo para la economía del proceso. Si se impone un límite superior práctico de  $100\text{ m}^3$  por reactor, para la serie de CSTR de igual tamaño, conversiones del 85% requieren del uso de 3 o más reactores, conversiones del 90% exigen usar 4 o más reactores, conversiones del 95% precisan de 5 o más reactores y conversiones del 98% requieren de 7 o más reactores CSTR en serie.

Las tablas 6 y 7 muestran las producciones de glucosa y etanol para diferentes conversiones de la reacción de hidrólisis y la reacción de fermentación. En la tabla 6 se puede apreciar una diferencia significativa entre la producción de  $T(\text{celobiosa} + \text{Glucosa})$  y la producción de glucosa. Esto indica que una parte considerable de la celobiosa no está siendo convertida a glucosa debido a la baja concentración de la enzima  $\beta$ -glucosidasa responsable de la hidrólisis de la celobiosa. Esto constituye un punto a mejorar en el proceso, cuyo análisis incluye el alto costo de la enzima y la pérdida de esta a concentraciones mayores por

inhibición y absorción irreversible sobre la superficie del sustrato. Las producciones de etanol que se muestran en la tabla 7 no sobreestiman la producción de etanol, y rendimientos mucho mayores se consiguen procurando hidrolizar la totalidad de la celobiosa, con una adición de enzima al sistema.

Con el fin de mostrar las producciones de etanol que se pueden alcanzar con la hidrólisis hasta glucosa del 80% del sustrato hidrolizable, la tabla 9 muestra los resultados para el mismo caudal y concentración de sustrato inicial en los que se basa la tabla 6. Comparando las tablas 8 y 9 se puede ver que se consiguen aumentos muy importantes en la producción de etanol mediante una hidrólisis efectiva de la celobiosa.

Cabe anotar que los resultados de esta investigación constituyen una herramienta muy útil a la hora de tomar decisiones sobre la tecnología de conversión de bagazo a etanol una vez se cuente con información económica completa de la economía del proceso. Los puntos más desconocidos hasta el momento para hacer una proyección industrial son el pretratamiento y el sistema de reacción para la hidrólisis. Se espera que este trabajo contribuya con el segundo punto.

Por último, con base en la tabla 8 se puede decir que un sistema de reacción para la hidrólisis enzimática de bagazo deslignificado, alimentado con  $10m^3/h$  de una solución que contiene  $5.0\%W/V$  (peso/volumen) de bagazo y  $1,36IU/g$  de enzima celulasa y con una conversión de sustrato hidrolizable del 95%, puede producir entre  $84$  y  $89 L/h$  ( $2016$  y  $2136 L/día$ ) de etanol si se consideran conversiones en la reacción de fermentación entre  $90$  y  $95\%$ . Para un mejor aprovechamiento del sustrato hidrolizable constituido por glucosa y celobiosa (conversión a glucosa del 80% del sustrato hidrolizable como resultado de la adición de  $\beta$ -glucosidasa al sistema de reacción) y bajo los mismos rendimientos de la reacciones de hidrólisis y fermentación anteriores, se consiguen

producciones de etanol entre 136 y 144  $L/h$  (3642 y 3456  $L/día$ ) de etanol. El volumen de reacción necesario se puede leer en las figuras 16. Se recomienda usar 5 o más reactores CSTR para que el volumen de reacción por reactor sea menor de  $100m^3$ . Dependiendo de la cantidad de materia prima disponible se podrían disponer más de una serie de reactores. No se debe pasar por alto la opción de llevar a cabo la reacción en un reactor PFR

## 2.9 CONCLUSIONES

- La reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña para producción de etanol a nivel industrial, requiere de grandes volúmenes de reacción por lo que el sistema de reacción debe estar compuesto por una serie de reactores CSTR o un reactor PFR.
- La implementación de reciclaje en una serie de  $n$  reactores CSTR, en los cuales se lleva a cabo la reacción de hidrólisis enzimática de bagazo de caña deslignificado, no reduce el volumen de reacción necesario para alcanzar determinada conversión de sustrato hidrolizable.
- El uso de dos reactores CSTR en serie reduce el volumen de reacción necesario para alcanzar determinada conversión de sustrato hidrolizable en más de la mitad si se compara con un único reactor CSTR. La adición de más reactores a la serie disminuye el volumen de reacción pero cada vez su efecto es menor, tendiendo hacia el volumen de un reactor PFR.
- El modelo cinético propuesto en este trabajo ha sido ajustado para una concentración única de enzima, la cuál es deficiente en la enzima  $\beta$ -glucosidasa. Esto se evidencia en la cantidad de celobiosa que permanece en el sistema sin

ser convertida a glucosa y por lo tanto, se obtienen bajos rendimientos de etanol. Para conversiones de sustrato hidrolizable superiores al 80 %, se podrían alcanzar producciones de glucosa y por lo tanto de etanol del orden de 1.5 veces la producción alcanzada con deficiencia de enzima.

- La metodología propuesta en este trabajo para ajuste y escogencia de los parámetros y tipo de modelo cinético, así como las diferentes opciones de sistemas de reacción se pueden aplicar a perfiles de reacción de hidrólisis con concentraciones de enzima mayores a las usadas en este trabajo.
- Los gráficos y tablas mostrados en este capítulo del trabajo, constituyen una herramienta de cálculo rápido, fácil de usar y confiable para hacer evaluaciones económicas de la tecnología de conversión de biomasa a etanol vía hidrólisis enzimática.

## BIBLIOGRAFÍA

Almazán, O., González, L., & Gálvez, L. (2001). The sugarcane, its byproducts and co-products. *Sugar Cane International*, 7, 3–8.

Beltrame, P., Carniti, P., Focher, B., Marzetti., Sarto, V. (1984). Enzymatic hydrolysis of cellulose materials. kinetic study, *Biotechnology And Bioengineering*. 26, 1233-1238

Bhat, M.K., Bhat, S. (1997). Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnology advances*. 15, 583-620

Brown, R.F., Holtzapple, M.T (1990). A comparison of the Michaelis-Menten and HCH-1 models. *Biotechnology and Bioengineering*, 36, 1151-1154

Brown, D.E., Waliuzzaman, M. (1977). Kinetics of enzymatic hydrolysis of waste newspaper, *Process Bioconversion Symposium*. 351

Bueguin, P., Aubert, J.P. (1992). The biological degradation of cellulose. *Fems Microbiology*. 13, 25-58

Caminal, G., Lopez-Santin, J., Sola, C. (1985). Kinetics modeling of the enzymatic hydrolysis of pretreated cellulose, *Biotechnology And Bioengineering*. 27, 1282

Caraschi, J. C., Campana, F., & Curvelho, A. A. S. (1996). Preparation and characterization of dissolving pulps obtained from sugar cane bagasse. *Polymer: Science and Technology*, 6, 24–29.

David, C., Fornasier, R., Greindl-Fallon, C., & Vanlautem, N. (1985). Enzymatic hydrolysis and bacterial hydrolysis-fermentation of eucalyptus wood pretreated with sodium hypochlorite. *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 1591–1595.

Desai, S.G., Converse, A.O. (1997). Substrate reactivity as a function of the extent of reaction in the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Biotechnology Bioengineering*. 56:650-655.

Duff, S.J., Murray, W.D. (1996). Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Bioresource Technology*, 55, 1-33

Dwivedi, C.P., Ghose, T.K. (1979) A model on hydrolysis of bagasse cellulose by enzyme from *Trichoderma reesei* QM 9414, *J. Fermentation Technology*. 57, 15

Eriksson, T., Karlsson, J., Tjerneld, F., (2002). A model explaining declining rate in hydrolysis of lignocellulose substrates with cellobiohydrolase I (Cel7A) and endoglucanase I (Cel7B) of *Trichoderma reesei*. *Applied Biochemical Biotechnology* 101:41-60.

Ferrara, M. A., Bon, E. P. S., & Neto, J. S. A. (2002). Use of steam explosion liquor from sugar cane bagasse for lignin peroxidase production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98–100, 289–300.

Gan, Q., Allen, S.J., Taylor, G. (2003). Kinetics dynamics in heterogeneous enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview , an experimental study and mathematical modeling. *Process Biochemistry*. 38, 1003-1018

Ghose, T.K., Kostick, J. (1970). A model for continuous enzymatic saccharifications of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*, 12, 921-930

Ghose, T.K., Das, K. (1971). A simplified kinetic approach to cellulose-cellulase system, *Advances in Biochemical Engineering*. 1

Gong, C. S., Chen, C. S., & Chen, L. F. (1993). Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolyzate for ethanol production by yeast. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 39/40, 83–88.

Gonzalez, G., Caminal, G., De Mas, C., Lopez-Santin, J. (1989). A kinetic model for pretreated wheat straw saccharification by cellulose, *J Chemical Technology Biotechnology*. 44, 275-288

Grethlein, H. E., & Converse, A. O. (1991). Common aspects of acid prehydrolysis and steam explosion for pretreating wood. *Bioresource Technology*, 36, 77–82.

Heikinheimo, L. (2002). *Trichoderma reesei* cellulases in processing of cotton. Doctoral dissertation. Vtt Publications 483, Espoo, Finlandia

Hoh Y, Yeoh H, Tan T. 1992. Properties of  $\beta$ -glucosidase purified from *Aspergillus niger* mutants USDB-0827 and USDB-0828. *Appl Microbiol Biotechnol* 37:590-593.

Holtzapple, M.T, Caram, H.S., Humphery, A.E. (1984). The HCH-1 model of enzymatic cellulose hydrolysis, *Biotechnology And Bioengineering*. 26, 775

Holtzapple, M.T., Caram, H.S., Humphery, A.E. (1984). Determining the inhibition constant in the HCH-1 model of cellulose hydrolysis, *Biotechnology And Bioengineering*. 26, 753-757

Holtzapple M, Cognata M, Shu Y, Hendrickson C. 1990. Inhibition of *Trichoderma reesei* cellulase by sugars and solvents. *Biotechnol Bioeng* 36:275-287.

Holtzaple M, Ross M, Chang N, Chang V, Adelson S, Brazel C. 1997. Biomass conversion to mixed alcohol fuels using the MixAlco Process. Fuels and Chemicals from Biomass. American Chemical Society, Washington, DC.

Howell, J.A., Stuck, J.D. (1975). Kinetics of solka floc cellulose hydrolysis by trichoderma viride cellulase, *Biotechnology And Bioengineering*. 17, 873

Huang, A.A. (1975). Kinetic studies on insoluble cellulose-cellulase system, *Biotechnology And Bioengineering*. 17, 1421

Irwin, D., Spezio, M., Walker, L., Wilson, D. (1993). Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism and binding domain efforts. *Biotechnology Bioengineering*. 42, 1002-1013

Jones, E. O., Lee, M.J. (1988). Kinetics analysis of bioconversion in an attrition bioreactor, *Biotechnology and Bioengineering*, 31, 35-43

Katz, M., Reseei, E.T. (1968). Production of glucose by enzymatic hydrolysis of cellulose. *Applied Microbiology*, 16, 419-425

Kilicaslan, I., Sarac, H. I., Özdemir, E., & Ermis, K. (1999). Sugar cane as an alternative energy source for Turkey. *Energy Conversion and Management*, 40, 1–11.

Kohlmann, K.L., Sarikaya, A., Westgate, P.J., Weil, J., Velayudhan, A., Hendrickson, R., Ladisch, M.R., 1995. Enhanced enzyme activities on hydrated lignocellulosic substrates. In: Saddler, J.N., Penner, M.H. (Eds.), *Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates*. ACS Publishing, pp. 237–255

Lee, D., Yu, A.H.C., Wong, K.K.Y., Saddler, J.R., 1994. Evaluation of the enzymatic susceptibility of cellulosic substrates using specific hydrolysis rates and enzyme adsorption. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 45/45, 407–415

Li, C., Yoshimoto, M., Tsukuda, N., Fukunaga, K., Nakao, K. (2004). A kinetic study on enzymatic hydrolysis of a variety of pulps for its enhancement with continuous ultrasonic irradiation. *Biochemical Engineering*, 19, 155-164

Lynd, L.R., Elander, R.T., Wyman, C.E., 1996. Likely features and costs of mature biomass ethanol technology. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 57/58, 741–761.

Mani, S. Tabil, L.G., Opuku, A. (2002). Etanol from agricultural crop residues, an overview. *Asae/Csae North Central Intersectional Meeting*. Canada.

Nagieb, Z. A., Abd-El-Sayed, E. S., E-I-Sakhawy, M., & Khalil, E. M. (2000). Hydrogen peroxide alkaline pulping of bagasse. *IPPTA*, 12(3), 23–34.

Neureiter, M., Danner, H., Thomasser, C., Saidi, B., & Braun, R. (2002). Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98–100, 49–58.

Nobel, R.D. (1990). Analysis of enzyme catalysis under batch conditions. *Chemical Engineering Journal*, 44, 47-50.

Ohmine, K., Ooshima, H., Haramo, Y. (1983). Kinetic study on enzymatic hydrolysis of cellulose by cellulose from trichoderma viride, *Biotechnology And Bioengineering*. 25, 2041

Pandey, A., Soccol, C., Nigam, P., & Soccol, V. (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: Sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 74, 69-80

Patric, J. (2005). Developing A Fundamental Understanding Of Biomass Structural Features Responsible For Enzymatic Digestibility. Texas A&M University, Doctoral Thesis

Pfeifer PA, Bonn G, Bobleter O. 1984. Influence of biomass degradation products on the fermentation of glucose to ethanol by *Saccharomyces carlsbergensis* W 34. *Biotech Lett* 6(8): 541-546.

Ryu, D.D.Y., Mandels, M. (1980). Cellulases: biosynthesis and applications. *Enzyme Microbiology and Technology*. 2, 91-102

Segel, I.H. *Enzyme kinetics: Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady state approach*: John Wiley. Capl: Enzymes as biological catalyst, 1-17

Schou, C., Rasmussen, G., Katoft, M.B., Henrissat, B., Schulein, M. (1993). Stereochemistry, specificity, and kinetics of the hydrolysis of reduced cellodextrins by nine cellulases. *Eur J Biochem FEBS* 217:947-953.

Shukry, N., Hassan, E. M., Yousef, M. A., & Fadel, S. M. (2002). Pulping of sugar cane bagasse with acetic acid under atmospheric pressure. *IPPTA*, 14(2), 37–43.

Sun Y, Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technol* 83:1-11.

Takahashi, C. M., Lima, K. G. C., Takahashi, D. F., & Alterthum, F. (2000). Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate and sugar

mixtures to ethanol by recombinant *Escherichia coli* KO11. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 829–834.

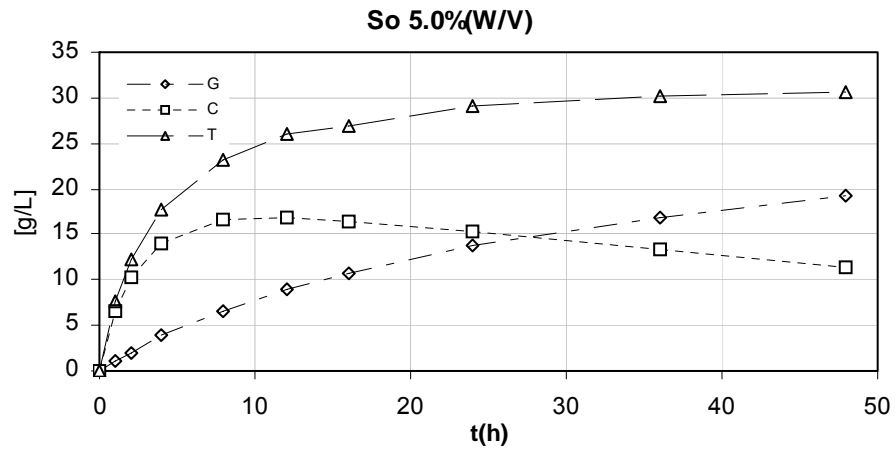
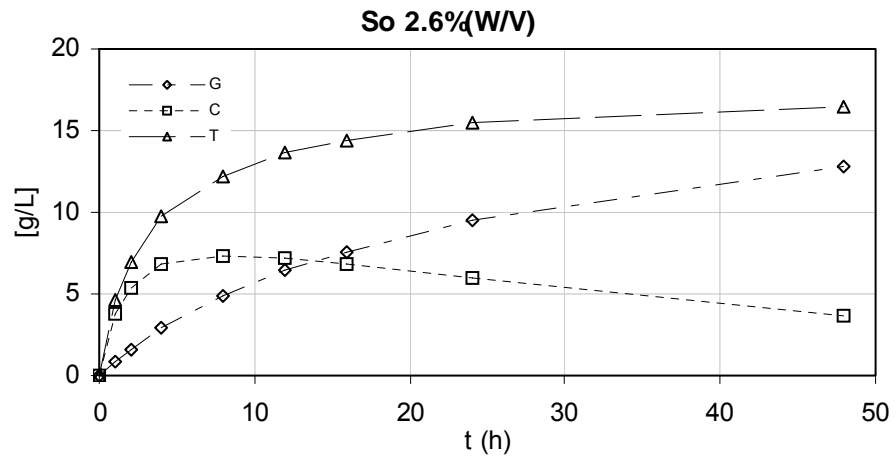
Tran AV, Chambers RP. 1986. Ethanol fermentation of red oak acid prehydrolyzate by the yeast *Pichia stipitis* CBS 5776. *Enz Microbiol Tech* 8(7): 439-444.

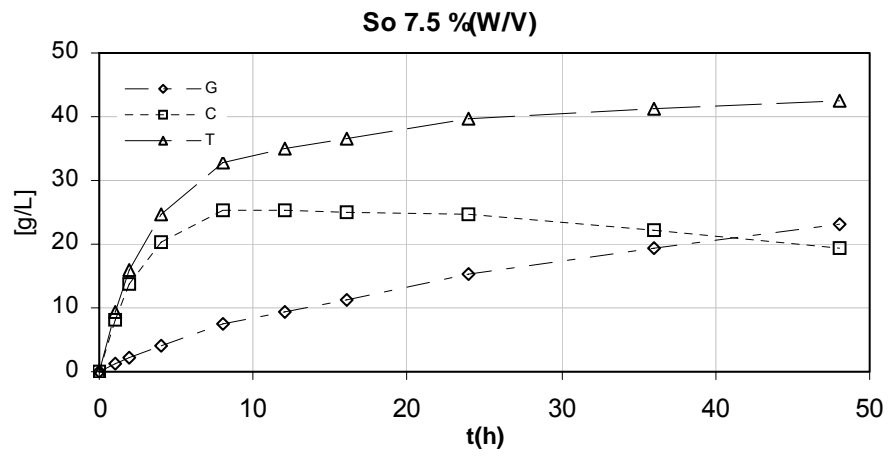
Wood, T.M. (1989). Mechanism of cellulose degradation by enzymes from aerobic and anaerobic fungi. In: Coughlan, M.P. (Ed). *Enzyme systems for lignocellulose degradation*. Elsevier, London. 17-35

Zhang, S., Wolfgang, D., Wilson, D., (1999). Substrate heterogeneity causes the nonlinear kinetics of insoluble cellulose hydrolysis. *Biotechnology Bioengineering*. 66:35-41.

## ANEXOS

### ANEXO A. PERFILES EXPERIMENTALES DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA





## ANEXO B. PARÁMETROS DE LOS MODELOS CINÉTICOS Y COMPARACIÓN ENTRE LOS MODELOS CINÉTICOS Y LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

Dependencia del parámetro  $V_m$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición competitiva.

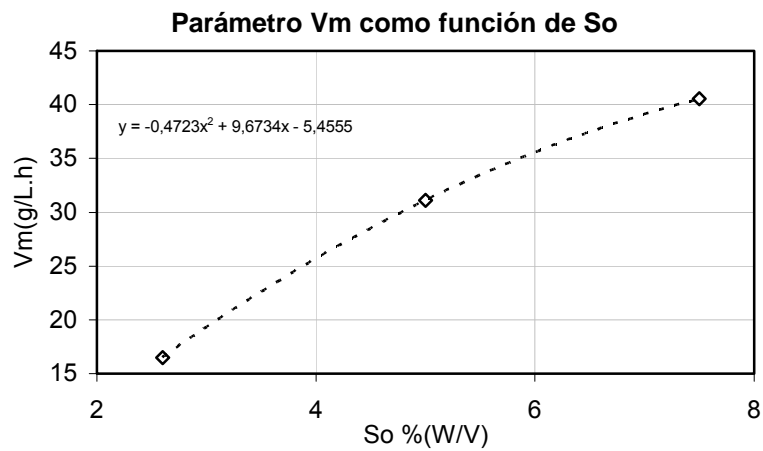
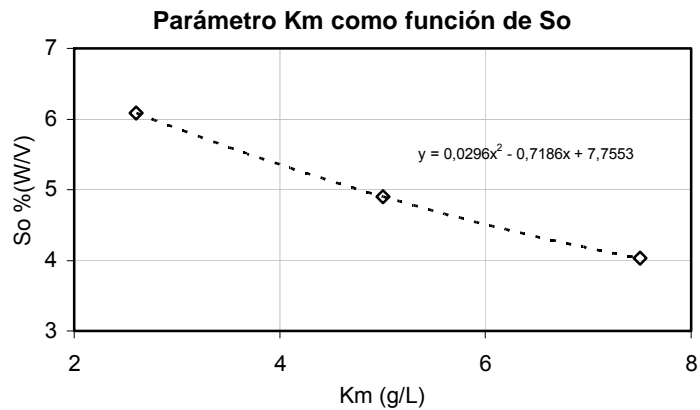
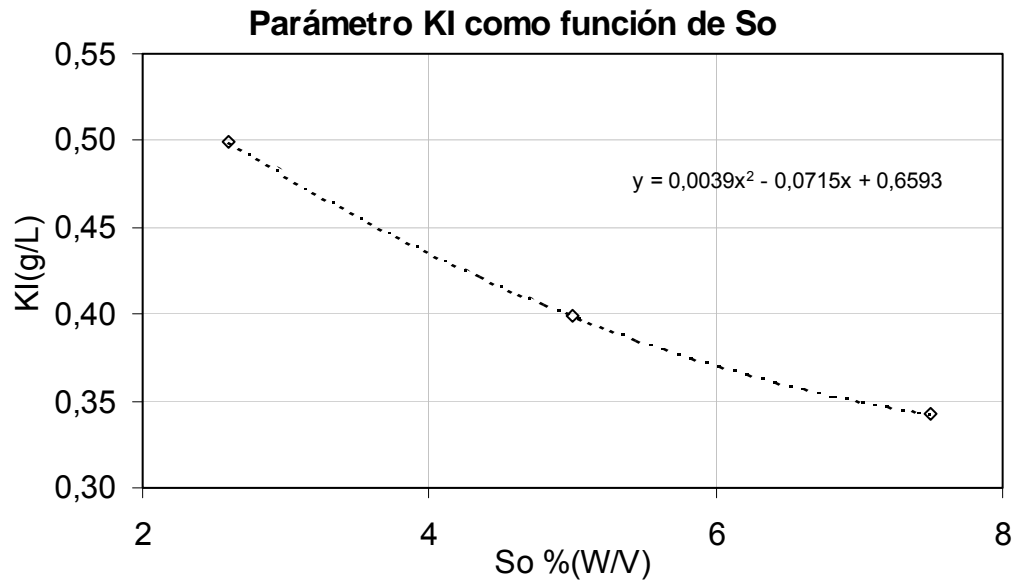


Figura 13. Dependencia del parámetro  $K_m$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición competitiva.



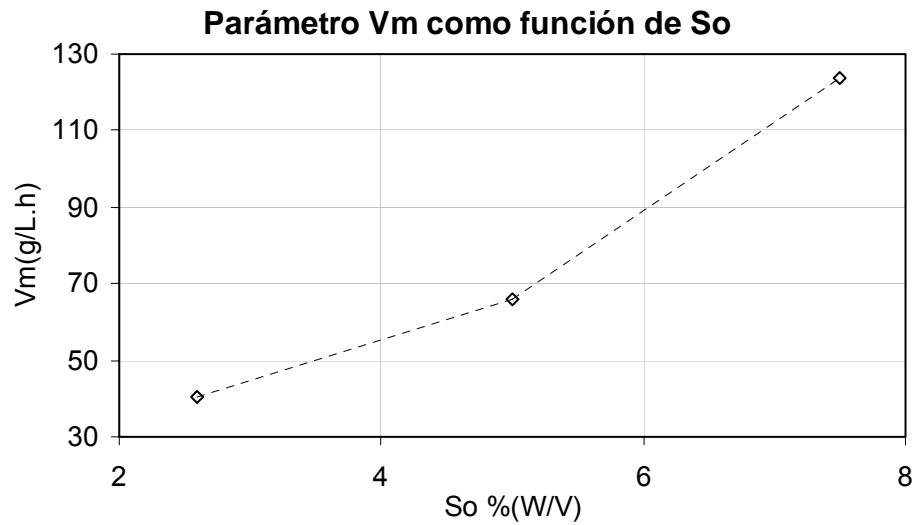
Dependencia del parámetro  $K_i$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición competitiva.



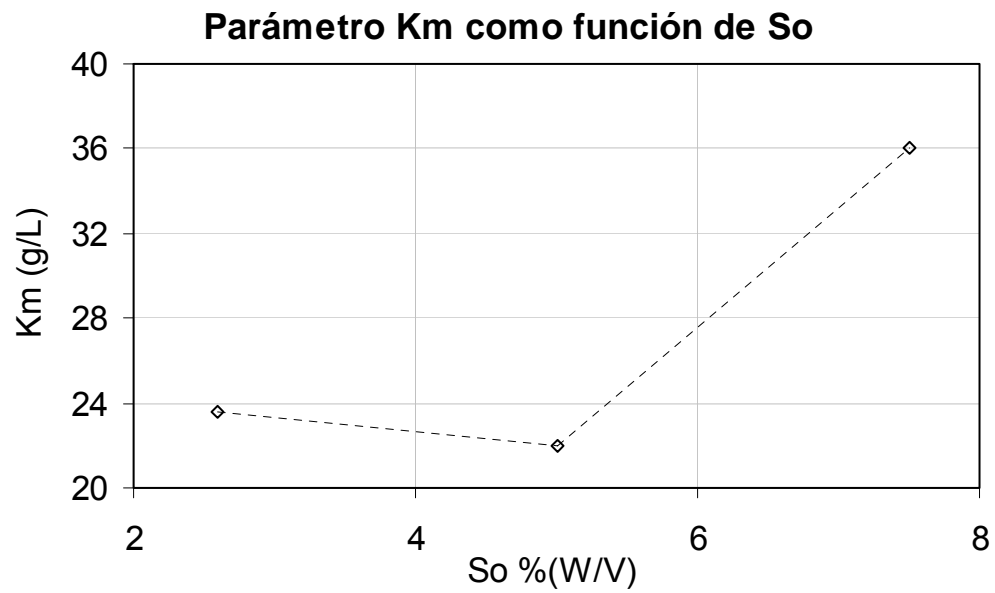
**Resumen de resultados; modelo cinético con inhibición competitiva**

| <i>Parámetro</i>                     | <i>Correlación</i>                                      |
|--------------------------------------|---|
| $V_m$ (g / L · h)                    | $V_m = -0.4723 \cdot S_o^2 + 9.6734 \cdot S_o - 5.4555$ |
| $K_m$ (g / L)                        | $K_m = 0.0296 \cdot S_o^2 - 0.7186 \cdot S_o + 7.7553$  |
| $K_i$ (g / L)                        | $K_i = 0.0039 \cdot S_o^2 - 0.0715 \cdot S_o + 0.6593$  |
| <i>Rango de validez</i>              |   |
| $0.026 \leq S_o \leq 7.5 S_o$ [%W/V] |   |

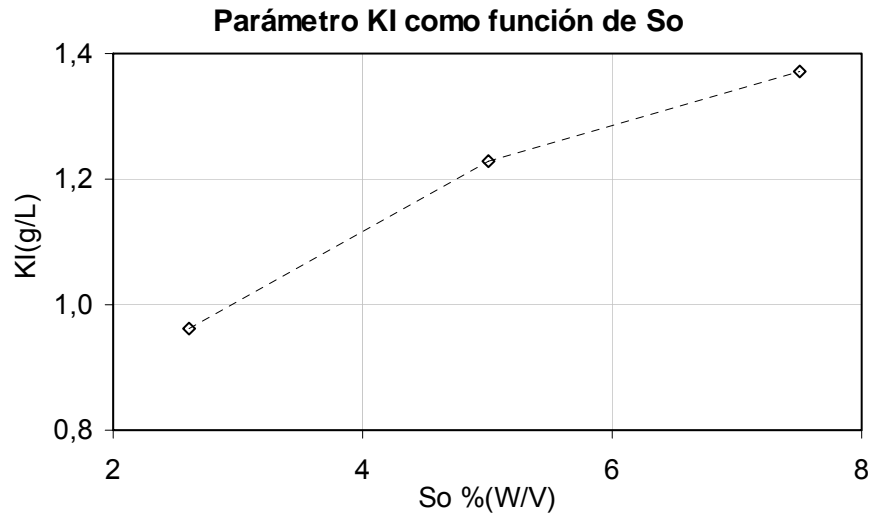
Dependencia del parámetro  $V_m$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición no competitiva.



Dependencia del parámetro  $K_m$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición no competitiva.

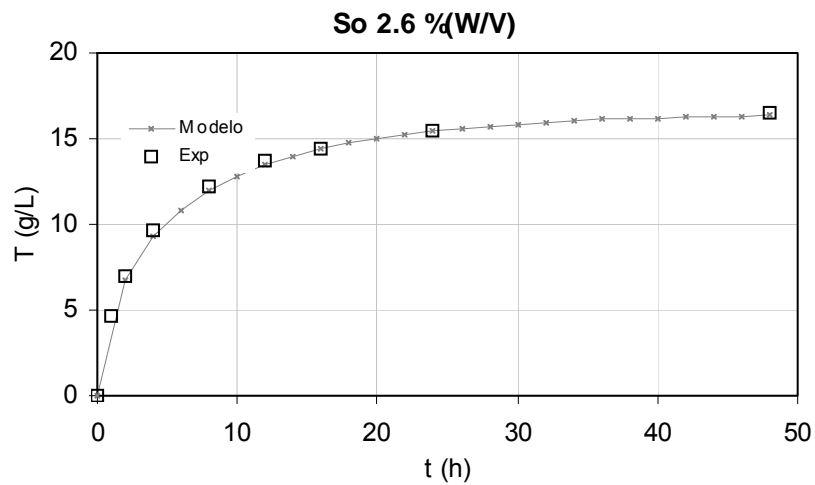


Dependencia del parámetro  $K_i$  con la concentración inicial de sustrato; modelo cinético con inhibición no competitiva.

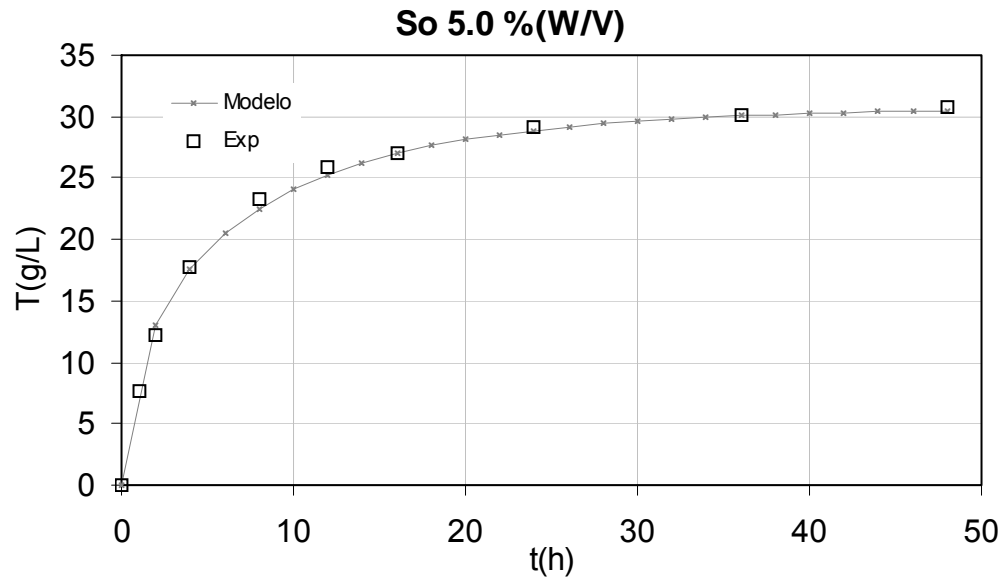


**Comparación entre el modelo con inhibición competitiva y el perfil experimental**

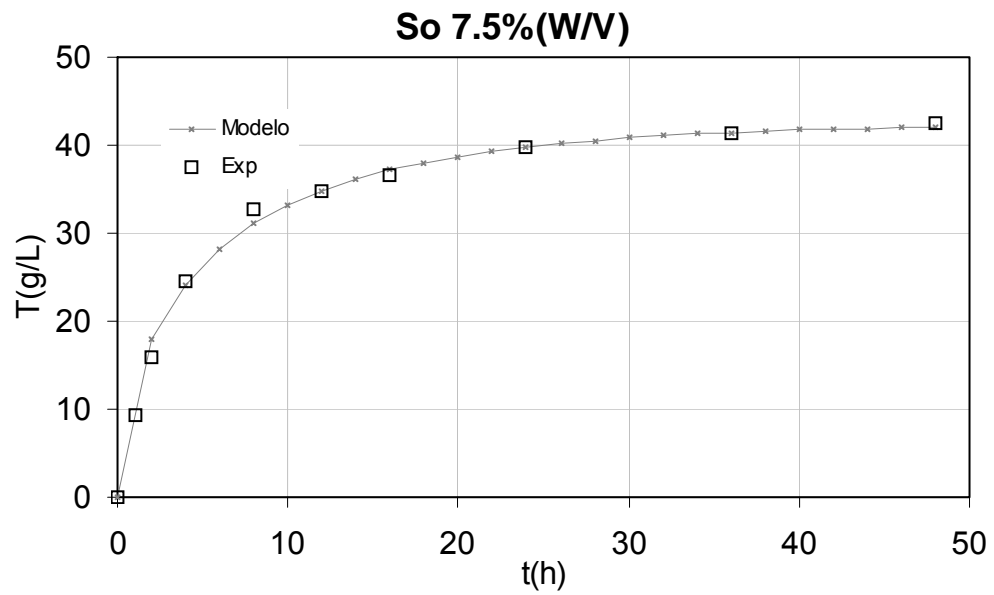
**COMPARACIÓN ENTRE EL MODELOS CINÉTICO CON INHIBICIÓN COMPETITIVA Y LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES**



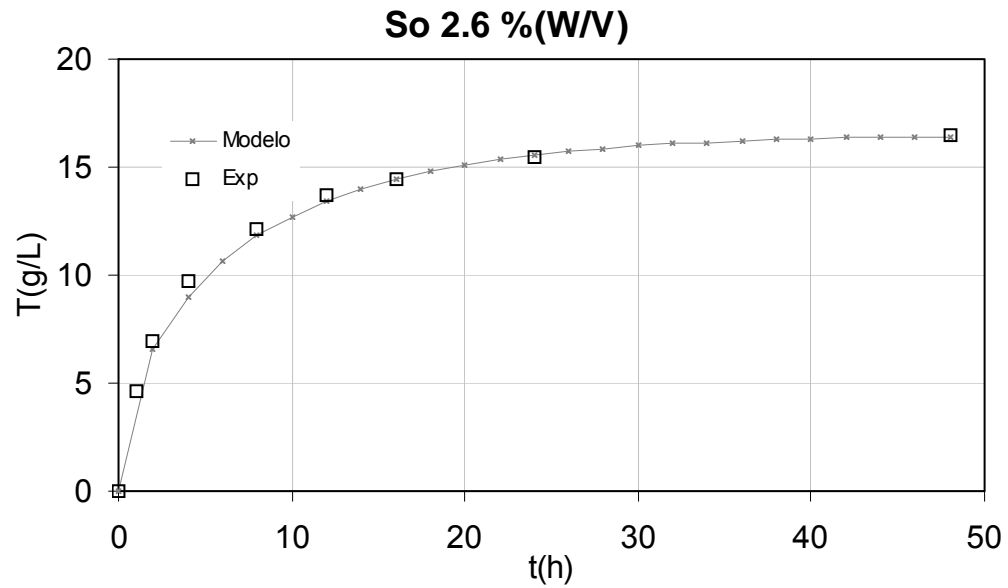
**Comparación entre el modelo con inhibición competitiva y el perfil experimental**



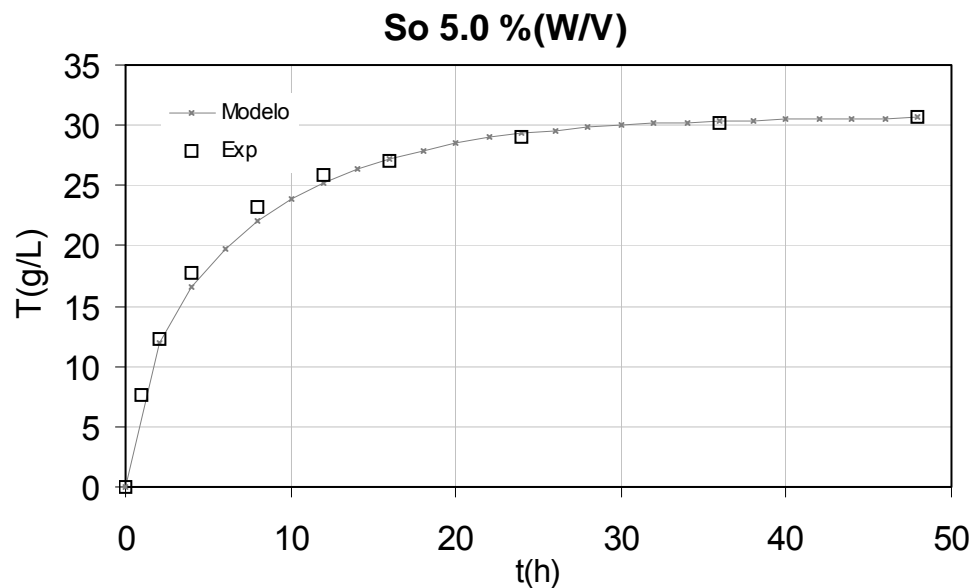
**Comparación entre el modelo con inhibición competitiva y el perfil experimental**



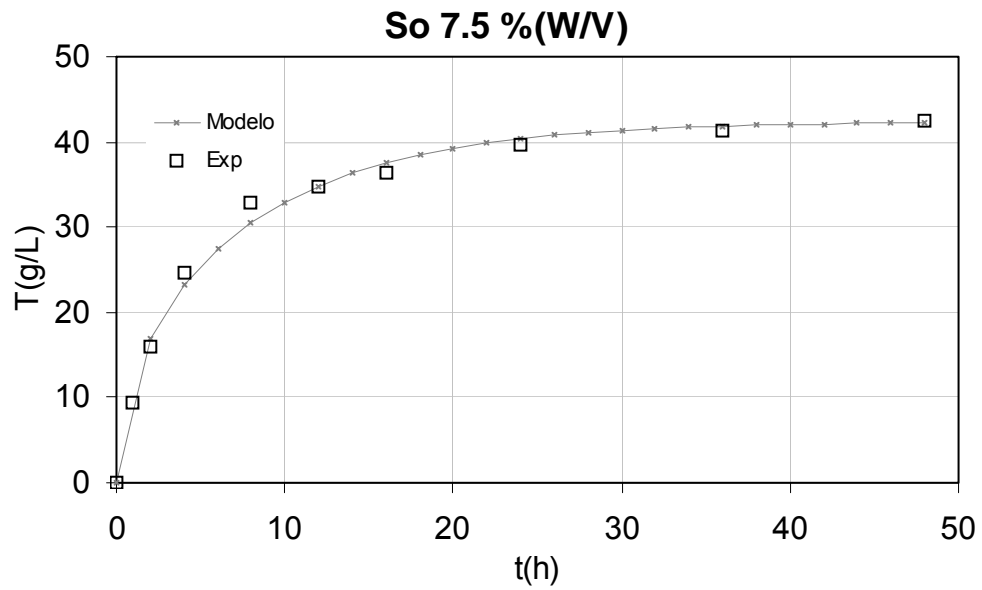
## COMPARACIÓN ENTRE EL MODELOS CINÉTICO CON INHIBICIÓN COMPETITIVA Y LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES



Comparación entre el modelo con inhibición no competitiva y el perfil experimental



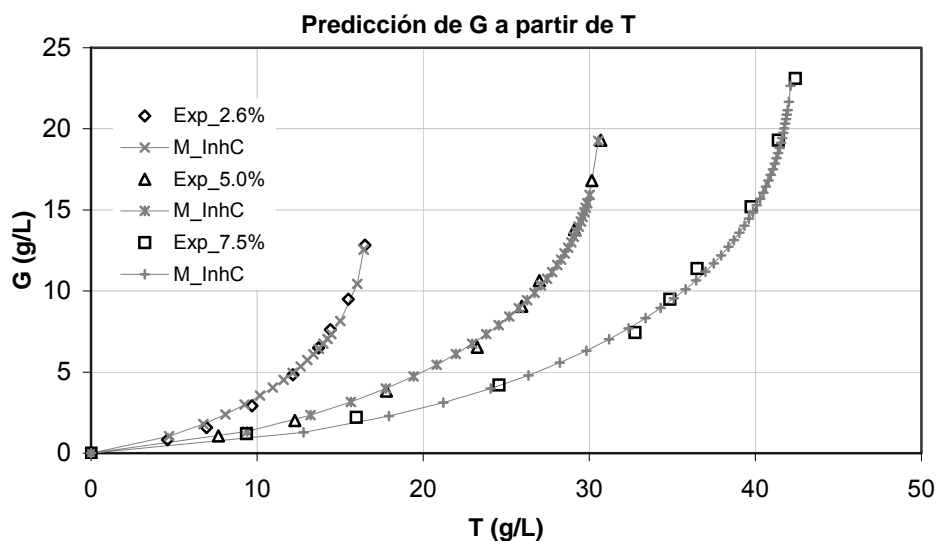
Comparación entre el modelo con inhibición no competitiva y el perfil experimental



**Comparación entre el modelo con inhibición no competitiva y el perfil experimental**

**Tabla 13. Predicción del perfil de glucosa a partir del perfil de  $T$**

| <i>Inhibición</i>  | <i>Modelo</i>   |
|--------------------|---|
| <i>Competitiva</i> | $\frac{dG}{dT} = \frac{\frac{a \cdot [T_{\infty} - G]}{b \cdot \left(1 + \frac{G}{c}\right) + 0.9 \cdot [T_{\infty} - G]}}{\frac{V_m [T_{\infty} - T]}{K_M \left(1 + \frac{T}{K_I}\right) + 0.9 [T_{\infty} - T]}}$ |



**Figura 24. Comparación entre la predicción del perfil de glucosa a partir del modelo con inhibición competitiva y los datos experimentales**

La predicción del perfil de glucosa con el modelo mostrado en la tabla 6, se programo con una rutina **RUNGE-KUTTA** de cuarto orden para **FORTRAN 95**.  
(Ver código en el anexo E)

**Tabla 14. Resumen de resultados. Correlación empírica propuesta para predecir el perfil de Glucosa**

| <i>Correlación empírica</i>  | <i>Parámetros</i> |
|--|-------------------|
| $\frac{dG}{dt} = \frac{a \cdot [T_{\infty} - G]}{b \cdot \left(1 + \frac{G}{c}\right) + [T_{\infty} - G]}$             | <i>a, b, c</i>    |
| $a = -0.0448S_o^2 + 0.4511S_o + 0.2027$ $b = -0.1113S_o^2 + 0.9552S_o + 2.2232$ $c = 0.0201S_o^2 - 0.2447S_o + 1.7918$ |                   |
| <i>Rango de validez</i><br>$0.026 \leq S_o \leq 7.5 S_o [\%W/V]$   |                   |

**ANEXO C. PROGRAMA DE OPTIMIZACIÓN SUCESIVA DE PARAMETROS.  
CÓDIGO PARA FORTRAN 95**

- c Programa de optimización sucesiva de parametros
- c Los datos experimentales deben ser guardados en el
- c archivo optsc.txt

```
module global
  integer nrf,nd,niter
  dimension x(100),y(100)
  dimension xr(100),yr(100)
  dimension av(1000000),eav(100000)
  dimension bv(1000000),ebv(100000)
  dimension cv(1000000),ecv(100000)
end module global
```

- c

```
program optsc
  use global
  WRITE(*,*)'*****'
  WRITE(*,*)'*****OPTIMIZACION SUCESIVA DE PARAMETROS*****'
  WRITE(*,*)'*****HIDROLISIS ENZIMATICA DE*****'
  WRITE(*,*)'*****BAGAZO DE CANA DESLIGNIFICADO*****'
  WRITE(*,*)'*****POR-ARTURO-G-QUIROGA*****'
  WRITE(*,*)'*****'
  open(10,file='optsc.txt',status='old')
  read(10,*)nd
  write(*,*)"numero de datos"
  print*,nd
  write(*,*)"      dexp      xe      ye"
```

```

do i=1,nd,1
  read(10,*)x(i),y(i)
  print*,i,x(i),y(i)
enddo
write(*,*)"digite a,b,c(inicial) y tm"
read*,aop,bop,cop,tm
1000 continue
write(*,*)"rango de búsqueda de a"
read*,al,ah
write(*,*)"rango de busqueda de b"
read*,bl,bh
write(*,*)"rango de busqueda de c"
read*,cl,ch
write(*,*)"sensibilidad"
read*,niter
write(*,*)"optimizaciones sucesivas"
read*,nop
pasoa=(ah-al)/niter
pasob=(bh-bl)/niter
pasoc=(ch-cl)/niter
c
c
do k=1,nop,1
C  optimizacion primer parametro
  j=1
  a=al
  b=bop
  c=cop
20  continue
  call modelo(a,b,c,tm)

```

```

call aerror(ae)
av(j)=a
eav(j)=ae
a=a+pasoa
j=j+1
if(a.lt.(ah+pasoa))goto 20
call paop(aop,eop)
c   optimizacion segundo parametro
j=1
a=aop
b=bl
c=cop
30  continue
call modelo(a,b,c,tm)
call berror(be)
bv(j)=b
ebv(j)=be
b=b+pasob
j=j+1
if(b.lt.(bh+pasob))goto 30
call pbop(bop,eop)
c   optimizacion tercer parametro
j=1
a=aop
b=bop
c=cl
40  continue
call modelo(a,b,c,tm)
call cerror(ce)
cv(j)=c

```

```

ecv(j)=ce
c=c+pasoc
j=j+1
if(c.lt.(ch+pasoc))goto 40
call pcop(cop,eop)
print*,k,eop
enddo
print*,aop,bop,cop
write(*,*)"si desea continuar la busqueda digite '1'"
write(*,*)"para finalizar la busqueda digite '2'"
read*,des
if(des.eq.1)goto 1000

```

c

```

stop
end program optsc

```

c

```

c la subrutina modelo integra la ecuacion del modelo
c cinetico por medio de un RUNGE-KUTTA de cuarto orden
subroutine modelo(a,b,c,tm)

```

```

use global
implicit real(a-h,o-z)
tprint=0
h=0.01
i=1
xi=0
yi=0

```

```

100 continue
if(xi.lt.tprint)goto 10
xr(i)=xi
yr(i)=yi

```

```

i=i+1
tprint=tprint+6
10 continue
xx=xi
yy=yi
c1=a*(tm-yy)/(b*(1+c*yy)+0.9*(tm-yy))
xx=xi+(h/2)
yy=yi+(h/2)*c1
c2=a*(tm-yy)/(b*(1+c*yy)+0.9*(tm-yy))
xx=xi+(h/2)
yy=yi+(h/2)*c2
c3=a*(tm-yy)/(b*(1+c*yy)+0.9*(tm-yy))
xx=xi+h
yy=yi+h*c3
c4=a*(tm-yy)/(b*(1+c*yy)+0.9*(tm-yy))
yy=yi+(h/6)*(c1+2*c2+2*c3+c4)
xi=xx
yi=yy
if(xi.lt.54)goto 100
end subroutine modelo

```

c

c la subrutina aerror calcula el cuadrado de la diferencia  
c entre el valor predicho por el modelo y el valor experimental  
subroutine aerror(ae)

```

use global
implicit real(a-h,o-z)
ae=0
do i=1,nd,1
ae=ae+(y(i)-yr(i))**2
enddo

```

```

end subroutine aerror
c
c la subrutina paop encuentra el parametro a para el cual
c el error es minimo en el rango de busqueda especificado
subroutine paop(aop,eop)
  use global
  implicit real (a-h,o-z)
  if(eav(3).gt.eav(2))then
    aop=av(2)
    eop=eav(2)
    goto 110
  end if
  do i=1,niter,1
    if(eav(i+1).gt.eav(i))then
      aop=av(i)
      eop=eav(i)
      goto 110
    endif
  enddo
  if(eav(niter).lt.eav(niter-1))then
    aop=av(niter)
    eop=eav(niter)
  endif
110 continue
end subroutine paop
c
subroutine berror(be)
  use global
  implicit real(a-h,o-z)
  be=0

```

```
do i=1,nd,1
  be=be+(y(i)-yr(i))**2
enddo
end subroutine berror
```

c

```
subroutine pbop(bop,eop)
  use global
  implicit real (a-h,o-z)
  if(ebv(3).gt.ebv(2))then
    bop=bv(2)
    eop=ebv(2)
    goto 210
  end if
  do i=1,niter,1
    if(ebv(i+1).gt.ebv(i))then
      bop=bv(i)
      eop=ebv(i)
      goto 210
    endif
  enddo
  if(ebv(niter).lt.ebv(niter-1))then
    bop=bv(niter)
    eop=ebv(niter)
  endif
210 continue
end subroutine pbop
```

c

```
subroutine cerror(ce)
  use global
  implicit real(a-h,o-z)
```

```
ce=0
do i=1,nd,1
ce=ce+(y(i)-yr(i))**2
enddo
end subroutine cerror
```

c

```
subroutine pcop(cop,eop)
use global
implicit real (a-h,o-z)
if(ecv(3).gt.ecv(2))then
cop=cv(2)
eop=ecv(2)
goto 310
end if
do i=1,niter,1
if(ecv(i+1).gt.ecv(i))then
cop=cv(i)
eop=ecv(i)
goto 310
endif
enddo
if(ecv(niter).lt.ecv(niter-1))then
cop=cv(niter)
eop=ecv(niter)
endif
310 continue
end subroutine pcop
```

**ANEXO D. PROGRAMA PARA CÁLCULO DE VOLÚMENES DE REACCIÓN.  
SERIE DE REACTORES CSTR DE VOLUMEN OPTIMO, SERIE DE CSTR DE  
IGUAL VOLUMEN Y REACTOR PFR CON O SIN RECICLO EN LOS CUALES  
SE LLEVA A CABO LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE BAGAZO  
DE CAÑA DESLIGNIFICADO. CÓDIGO PARA FORTRAN 95**

```

module global
  real sopv,a,v,wx,y,z,the,delta,alp1,alp2,alp3,seqv
  real spfr
  integer i
end module global

c
c el programa rdiseno calcula el volumen de reaccion en
c metros cubicos para una serie de CSTR de volumen op-
c timo, igual volumen y un reactor PFR con o sin reciclo
c Los datos de salida se guardan en el archivo rdiseno_1.csv
program rdiseno
  use global
  WRITE(*,*)'*****'
  WRITE(*,*)'*****DISENO PRELIMINAR DE REACTORES*****'
  WRITE(*,*)'*****HIDROLISIS ENZIMATICA DE*****'
  WRITE(*,*)'*****BAGAZO DE CANA DESLIGNIFICADO*****'
  WRITE(*,*)'*=====POR ARTURO G. QUIROGA=====*'
  WRITE(*,*)'*****'
  open(unit=20,file='rdiseno_1.csv',status='unknown')
  write(*,*)"concentracion inicial de sustrato [% w/v]"
  read*,sfr
  write(*,*)"caudal [m**3/h]"

```

```

read*,q
write(*,*)"numero de reactores de la serie"
read*,nr
write(*,*)"factor de reciclo"
read*,bet
write(*,*)"      X      igv      opv      pfr"
c
sf=-0.252381*sfr**2+7.834762*sfr-2.154286
c inicio de iteraciones para la serie de reactores
n=1
do j=1,nr,1
c
alpn=0.99
c inicio de iteraciones para todas las posibles
c conversiones
1000continue
conv=1.-alpn
s0=sf/(1+bet*(1-alpn))
s0r=(7.834762-(7.834762**2-4*0.252381*(2.154286+s0))**0.5)
s0r=s0r/(2*0.252381)
If(s0r.lt.2.5) then
write(*,*)"la concentracion de sustrato a la entrada del"
write(*,*)"primer reactor es muy baja o descendio a cau-"
write(*,*)"sa del reciclo. El calculo de los parametros"
write(*,*)"del modelo cinetico exige extrapolacion"
write(*,*)"Los resultados obtenidos no son confiables"
goto 3000
endif
2000continue
c correlaciones para los parametros

```

```
vm=-0.472286*s0r**2+9.673416*s0r-5.455527
pkm=0.029582*s0r**2-0.718570*s0r+7.755271
pki=0.003909*s0r**2-0.071534*s0r+0.659308
```

c

```
pkm1=pkm/s0
eps=pkm/pki
```

c

```
call opv(alpn,pkm1,eps,n)
If(n.gt.1)then
call igv(alpn,pkm1,eps,n)
else
seqv=sopv
endif
call pfr(pkm1,eps,alpn)
```

c

```
calculo del volumen real
seqv=seqv*q*(1+bet)*s0/vm
sopv=sopv*q*(1+bet)*s0/vm
spfr=spfr*q*(1+bet)*s0/vm
```

c

```
write (6,90)conv,seqv,sopv,spfr
write (20,90)conv,seqv,sopv,spfr
```

90

```
format(5X,5(F8.2,','))
alpn=alpn-0.02
if(alpn.gt.0.01)goto 1000
```

c

```
n=n+1
enddo
```

3000continue

```
stop
```

```

        close(unit=20,status='keep')
    end program rdiseno

c
c  la subrutina opv calcula el tiempo de residencia
c  adimensional para una serie de reactores CSTR de
c  volumen optimo
subroutine opv(alpn,pkm1,eps,n)
    use global
    implicit real (a-h,o-z)
    sopv=0
    do i = 1,n,1
        a=i
        z = alpn**(-1./n) - 1.
        y = pkm1 + eps * (1. - alpn**(a/n)) + 0.9*alpn**(a/n)
        the = y * z
        sopv=sopv+the
    enddo
end subroutine opv

c
c  la subrutina igv calcula el tiempo de residencia
c  adimensional para una serie de reactores CSTR de
c  igual volumen
subroutine igv(alpn,pkm1,eps,n)
    use global
    implicit real (a-h,o-z)
    delta=0
100  continue
    delta = delta + 0.00000001
    alp3 = alpn
    alp2 = alp3 + delta

```

```

do i = 1,(n-1),1
z = alp2/alp3 - 1
y = pkm1 + alp3*(0.9-eps)+eps
x = pkm1 + alp2*(0.9-eps)+eps
alp1 = (z * y / x + 1) * alp2
alp3 = alp2
alp2 = alp1
enddo
if (abs(1 - alp1).gt.0.0001) goto 100
w = (delta)/alpn
v = pkm1 + alpn*(0.9-eps)+eps
seqv = n*v*w
end subroutine igv

```

c

- c la subrutina pfr calcula el tiempo de residencia
- c adimensional para un reactor PFR

```

subroutine pfr(pkm1,eps,alpn)
use global
implicit real (a-h,o-z)
spfr=(0.9-eps)*(1.-alpn)-(pkm1+eps)*log(alpn)
end subroutine pfr

```

**ANEXO E. PROGRAMA PARA CÁLCULO DEL PERFIL DE GLUCOSA A PARIR  
DEL PERFIL DE T(CELOBIOSA + GLUCOSA). CÓDIGO PARA FORTRAN 95**

```

module global
  real a,b,c,vm,pkm,pki
end module global

c  programa para calcular el perfil de glucosa a partir
c  del peril de T (celobiosa + glucosa)
c  los datos de salida se guardan en el archivo glucosa_1.csv
c

program glucosa
  use global
  WRITE(*,*)'*****'
  WRITE(*,*)'*****PREDICCION DEL PERFIL DE GLUCOSA*****'
  WRITE(*,*)'*****HIDROLISIS ENZIMATICA DE*****'
  WRITE(*,*)'*****BAGAZO DE CANA DESLIGNIFICADO*****'
  WRITE(*,*)'*=====POR ARTURO G. QUIROGA=====*'
  WRITE(*,*)'*****'
  open(unit=20,file='glucosa_1.csv',status='unknown')
  implicit real (a-h,o-z)
  write(*,*)"ingrese el valor de So"
  read*,so
  write(*,*)"  T      G"
  tm=-0.2524*so**2+7.8348*so-2.1543
  xi=0
  yi=0
  tprint=0
  h=0.0001

```

c     integracion por un runge-kutta de cuarto orden

```
100  continue
      x=xi
      y=yi
      if(xi.lt.tprint)goto 10
      write (6,90)xi,yi
      write (20,90)xi,yi
90   format(5X,2(F8.2,','))
      tprint=tprint+0.1
10   continue
      call compet(so,zz,yy,x,y)
      c1=zz/yy
      x=xi+h/2
      y=yi+(h/2)*c1
      call compet(so,zz,yy,x,y)
      c2=zz/yy
      x=xi+h/2
      y=yi+(h/2)*c2
      call compet(so,zz,yy,x,y)
      c3=zz/yy
      x=xi+h
      y=yi+h*c3
      call compet(so,zz,yy,x,y)
      c4=zz/yy
      y=yi+(h/6)*(c1+2*c2+2*c3+c4)
      xi=x
      yi=y
      if(xi.lt.(tm-0.1))goto 100
```

c  
stop

```

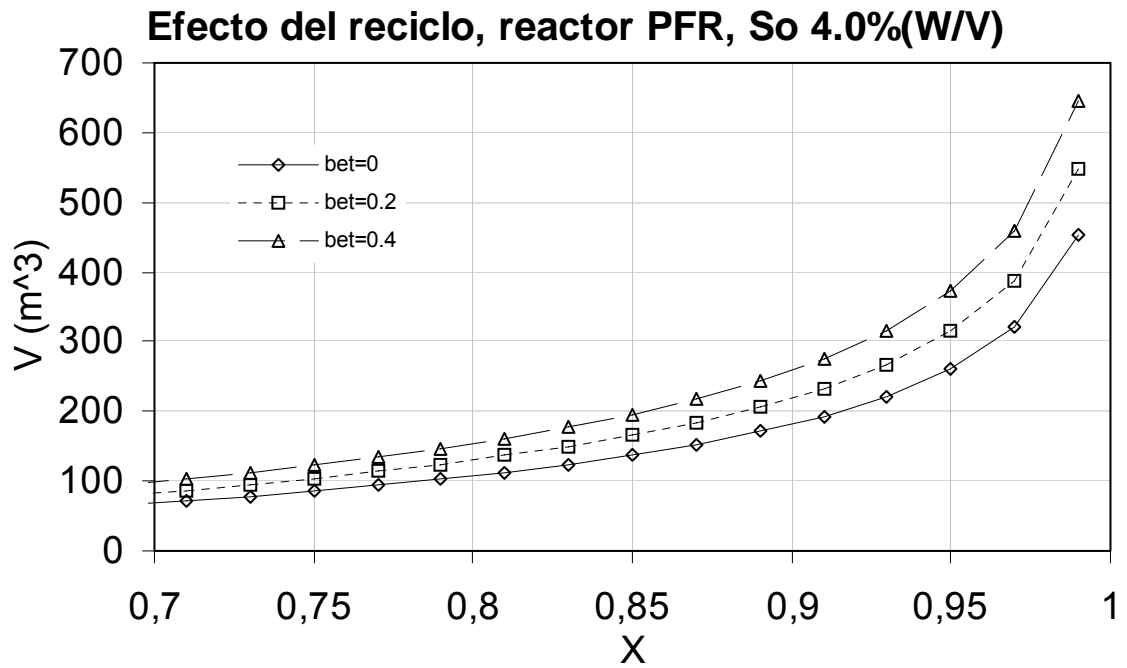
        close(unit=20,status='keep')
end program glucosa

c
c La subrutina compet calcula el valor de la funcion
c usada para predecir el perfil de glucosa, haciendo
c uso de todas las correlaciones para cada uno de los
c parámetros
subroutine compet(so,zz,yy,x,y)
    use global
    implicit real(a-h,o-z)
    tm=-0.2524*so**2+7.8348*so-2.1543
c correlacion empirica
    a=-0.044804*so**2+0.451120*so+0.202744
    b=-0.111319*so**2+0.955226*so+2.223181
    c=0.020098*so**2-0.244708*so+1.791758
c parametros del modelo cinetico
    vm=-0.472286*so**2+9.673416*so-5.455527
    pkm=0.029582*so**2-0.718570*so+7.755271
    pki=0.003909*so**2-0.071534*so+0.659308
c
    zz=a*(tm-y)/(b*(1+y/c)+0.9*(tm-y))
    yy=vm*(tm-x)/(pkm*(1+x/pki)+0.9*(tm-x))
end subroutine compet

```

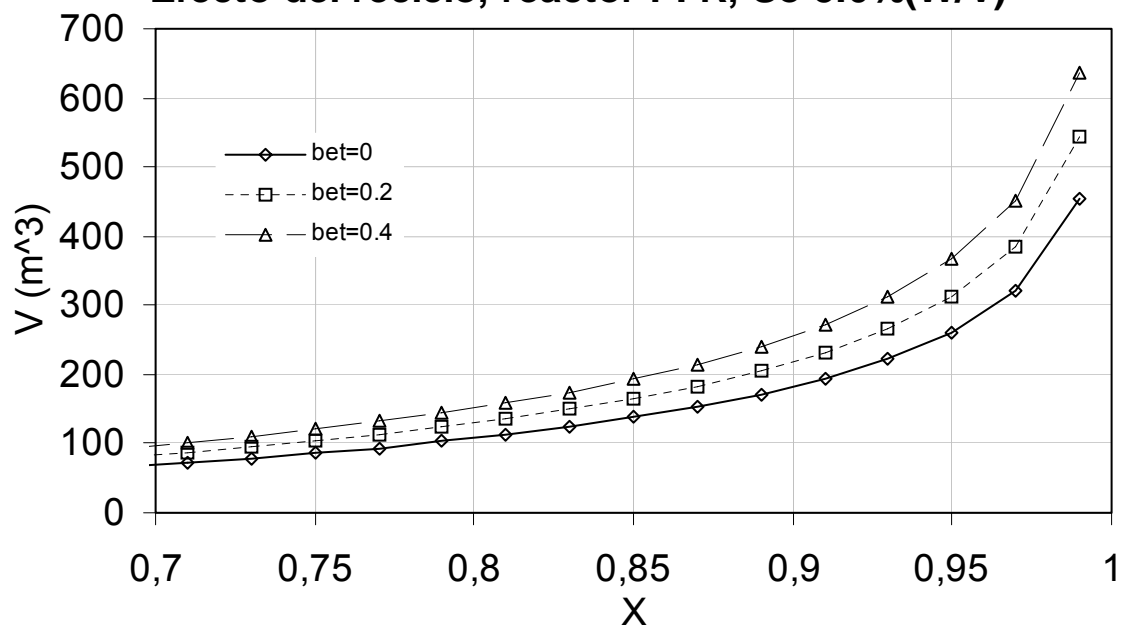
## ANEXO F. EFECTO DEL RECICLO

### EFECTO DEL RECICLO



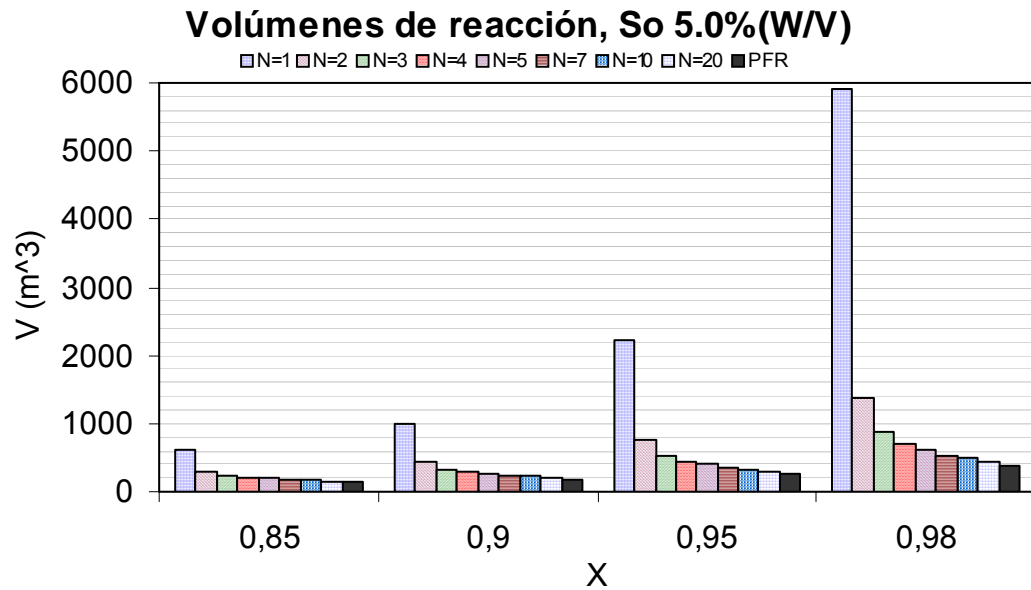
Volumen de reacción, PFR con reciclo, So 4.0 % W/V

### Efecto del reciclo, reactor PFR, So 5.0%(W/V)

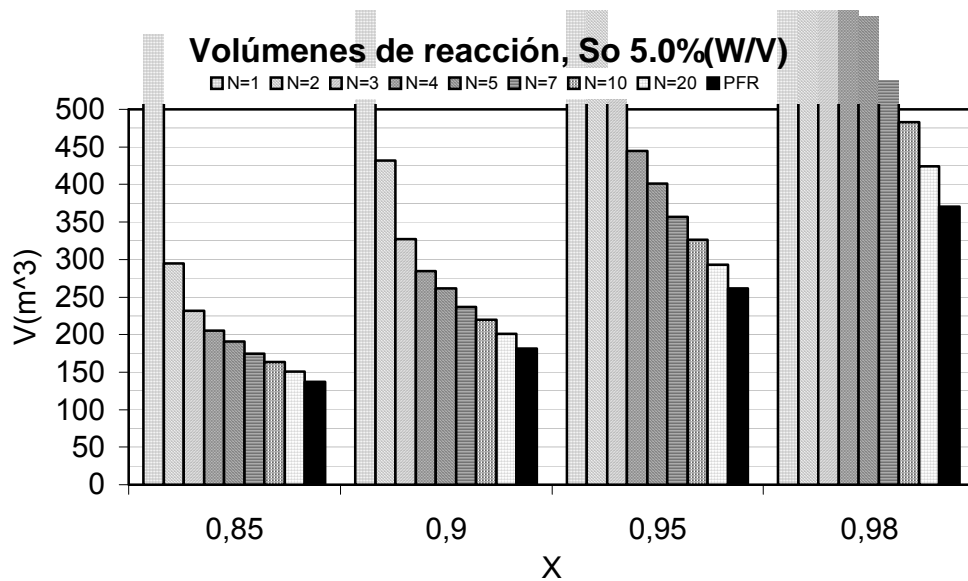


Volumen de reacción, PFR con reciclo, So 5.0 % W/V

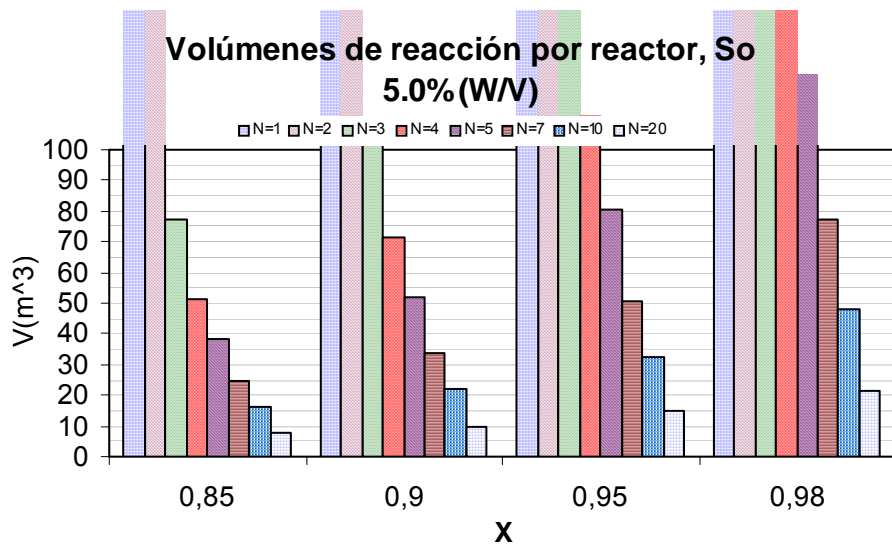
**ANEXO G. VOLÚMENES DE REACCIÓN, S0 5.0 % (w/v)**



**Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V**



**Volumen total de reacción, serie de CSTR y PFR sin reciclo, So 5.0 % W/V**



**Volumen de reacción por reactor, serie de CSTR sin reciclo, So 5.0 % W/V**