



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA UNIDAD
IZTAPALAPA

POSGRADO DE ENERGÍA Y MEDIO
AMBIENTE

**EVALUACIÓN INTEGRAL DE BIORREFINERÍAS DE
CAÑA DE AZÚCAR**

TESIS

para obtener el grado de

**DOCTOR EN CIENCIAS
(ENERGÍA Y MEDIO AMBIENTE)**

PRESENTA:

M. en C. Omar Anaya Reza

Asesor:

Dra. María Teresa López Arenas

Sinodales:

Dr. Héctor Fernando Puebla Nuñez

Dr. Eduardo Salvado Pérez Cisneros

Dr. Ricardo Morales Rodríguez

Dr. Edgar Ramírez Jiménez

Dr. Roberto Olivares Hernández

Ciudad de México,
12 de Marzo de 2018.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

AGRADECIMIENTOS

El Doctorado en Ciencias (Energía y Medio Ambiente) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del CONACyT a partir del 2017. Se contó con el apoyo financiero del Acuerdo 2/2011 de la Universidad Autónoma Metropolitana, mediante el convenio para el otorgamiento de becas para posgrados de reciente creación con número de matrícula del alumno 2131800687.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Cuando comencé con mis estudios de doctorado nunca imagine que conocería a mis mayores impulsos en la vida, mis hijas Sofía Ximena Anaya Alfaro y Natalia Loreto Anaya Alfaro, del cual estoy agradecido con la vida por permitirme conocer a las personas más increíbles y maravillosas. Siempre serán todo para mí, las amo.

Mi esposa Ana María Alfaro Trujillo que al comienzo siempre me apoyo y ánimo para continuar con mis estudios. Al final lo manifestó con hechos, a pesar de lo complicado. Te amo y agradezco mucho.

Me gustaría agradecer a mi madre María del Carmen Reza Jordán y a mi padre Francisco Javier Anaya Aguilar por su gran apoyo, ya que se manifestó de todo corazón. Es un honor ser su hijo.

Estoy muy agradecido con la Dra. María Teresa López Arenas, ya que desde el primer día que la conocí, ha tratado de explicarme lo grandioso que puede ser el mundo de la investigación. Se convirtió en una persona importante en mi vida.

A mis suegros Jorge Alfaro y Enriqueta Trujillo, que apoyaron en los momentos difíciles a mi familia. Estamos agradecidos con ustedes.

Mis hermanos Isahel, Jhovana y Xavier que junto con mis sobrinos Ema, Lua y Eliud confían en mí y por supuesto que yo siempre confiare en ellos.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

Comité tutorial

Dra. María Teresa López Arenas. Departamento de Procesos y Tecnología, División de Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

El jurado designado por la
Comisión Académica del Posgrado en Energía y Medio Ambiente
de la Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis que presentó

OMAR ANAYA REZA

El día **número de día** de **mes** del año **2017**

Miembros del Jurado

Nombre del presidente del examen

Presidente

Nombre del secretario del examen

Secretario

Nombre del vocal del examen

Vocal



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

Contenido

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Antecedentes	4
Importancia de las biorrefinerías	4
Importancia del diseño conceptual de las biorrefinerías	4
1.2 Justificación	7
L-lisina	9
Ácido láctico	10
Polihidroxibutirato	11
1.3. Objetivos	13
Objetivos General	13
Objetivos Particulares	13
1.4. Organización de la tesis	13
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	14
2.1. Descripción general	15
2.2. Evaluación técnica	16
Análisis dinámico de reactores	16
Análisis del proceso de producción	17
2.3. Evaluación económica	18
2.4. Evaluación ambiental	19
CAPÍTULO III. L-LISINA	21
3.1. Introducción	22
3.2. Modelo del reactor	23
3.3. Diseño conceptual del proceso de producción	26
3.4. Resultados y discusión	29



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

3.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación	29
3.4.2. Análisis técnico-económico y ambiental del proceso de producción.....	35
CAPÍTULO IV. ÁCIDO LÁCTICO.....	42
4.1. Introducción	43
4.2. Modelo del reactor.....	44
4.3. Diseño conceptual del proceso de producción	48
4.4. Resultados y discusión.....	51
4.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación	51
4.4.2. Análisis técnico-económico-ambiental del proceso de producción	54
CAPÍTULO V. POLIHIDROXIBUTIRATO	60
5.1. Introducción	61
5.2. Modelo del reactor.....	63
5.3. Diseño conceptual del proceso de producción	65
5.4. Resultados y discusión.....	68
5.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación	68
5.4.2. Análisis técnico-económico-ambiental del proceso de producción	71
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....	77
Posible trabajo futuro.....	80
Referencias.....	81



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

Índice de Figuras

Fig. 1. Volumen de producción y los precios de algunos productos básicos	7
Fig. 2. Información económica de la melaza en México: (a) producción y consumo nacional, (b) importación y exportación.....	8
Fig. 3. Distribución mundial de las principales plantas de L-lisina, junto con su capacidad de producción anual. La gama de la capacidad de las principales plantas se da en toneladas por año. (Eggeling & Bott, 2015).....	9
Fig. 4. Información económica del L-lisina en México: (a) volúmenes de exportación e importación, (b) importación, exportación y balanza comercial (SIAVI, 2017).....	10
Fig. 5. Información económica del AL en México: (a) volúmenes de exportación e importación, (b) importación, exportación y balanza comercial (SIAVI, 2017).....	11
Fig. 6. (a) Producción de polietileno (Pemex) , y (b) importación, exportación y balanza comercial (Banco de México, 2017) de plásticos en México.....	12
Fig. 7. Metodología para la evaluación integral de una biorrefinería.....	15
Fig. 8. Representación esquemática del metabolismo central de <i>C. glutamicum</i> . Las reacciones están indicadas para glucosa, vía glucólisis y ciclo del ácido tricarbóxico en la síntesis de L- lisina.	22
Fig. 9. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de L-lisina	28
Fig. 10. Validación del modelo para la fermentación de L-lisina	30
Fig. 11. Respuesta dinámica del reactor para: a,b Caso referencia; c,d ML; y e,f MLA	32
Fig. 12. Efecto de k_{La} , $C_{T,0}$ y $C_{S,0}$ sobre el rendimiento total del producto (Y_{OP}) y la productividad (Pr): a-d ML y e, f MLA.....	33
Fig. 13. Distribución de costos de operación para MLA.....	38
Fig. 14. Evaluación del índice de impacto ambiental potencial (PEI) para el ML y el MLA, considerando seis reactores.	39
Fig. 15. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de L-lisina en función de C_T : (a) ML, (b) MLA.....	40
Fig. 16. Evaluación integral para el proceso de producción de L-lisina en ML y MLA.	41
Fig. 17. Ruta metabólica para la obtención del ácido láctico de manera (a) homofermentativa y (b) heterofermentativa.....	43
Fig. 18. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de ácido láctico.....	49
Fig. 19. Respuesta dinámica del reactor de fermentación ML para: (a) $a = 1$, (b) $a = 4$	52
Fig. 20. Respuesta dinámica del reactor de fermentación MLA (con $a = 4$) para: (a) flujo escalonado, (b) flujo exponencial	53
Fig. 21 Distribución de costos de operación para la producción de ácido láctico:.....	55
Fig. 22. Distribución del índice de impacto ambiental para los procesos ML y MLA.	56



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

Fig. 23. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de AL en función de a : (a) ML, (b) MLA.	58
Fig. 24. Evaluación integral para el proceso de producción de AL en ML y MLA.	59
Fig. 25. Ruta metabólica para la síntesis y degradación intracelular de P(3HB) a partir de carbohidratos por <i>R. eutropha</i>	62
Fig. 26. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de P(3HB)	67
Fig. 27. Validación del modelo para la fermentación de PHB	69
Fig. 28. Efecto de $C_{s,1}$ y $C_{s,2}$ sobre el rendimiento y la productividad para ML	69
Fig. 29. Respuesta dinámica del reactor en la obtención de P(3HB) para (a) ML y (b) MLA.....	70
Fig. 30. Distribución de costos de operación para la producción de P(3HB):	72
Fig. 31. Distribución del índice de impacto ambiental para los procesos ML y MLA.	75
Fig. 32. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de P(3HB) en función de la concentración de KH_2PO_4 : (a) ML, (b) MLA.	76
Fig. 33. Evaluación integral para el proceso de producción en ML y MLA para P(3HB).	76
Fig. 34. Evaluación integral para el proceso de producción en ML y MLA para L-lisina, ácido láctico y P(3HB).	78
Fig. 35. Diseño conceptual de una biorrefinería multi-producto a partir de melaza.	79



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

Índice de Tablas

Tabla 1. Publicaciones recientes de evaluaciones técnicas, económicas y ambientales para biorrefinerías ..	6
Tabla 2. Parámetros del modelo y datos de operación para la fermentación de L-lisina utilizando <i>C. glutamicum</i>	25
Tabla 3. Comparación en el modo de operación al final de la reacción	34
Tabla 4. Análisis de rentabilidad para la producción de L-lisina-HCl, variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA)	36
Tabla 5. Informe técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de L-lisina	37
Tabla 6. Parámetros del modelo para la fermentación de AL utilizando glucosa y <i>Lactobacillus casei ssp. Rhamnosus</i> (Youssef y col., 2005)	47
Tabla 7. Comparación del modo de operación para diferentes valores de α	51
Tabla 8. Análisis de rentabilidad para la producción de AL, variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA)	55
Tabla 9. Reporte técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de AL (con $\alpha = 1$)	57
Tabla 10. Parámetros del modelo para la fermentación de P(3HB) utilizando <i>Ralstonia eutropha</i> (Shang y col., 2007)	65
Tabla 11. Comparación del modo de operación para diferentes valores de KH_2PO_4	71
Tabla 12. Análisis de rentabilidad para la producción de P(3HB), variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA)	72
Tabla 13. Reporte técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de P(3HB) para el caso ML (1 g/L de KH_2PO_4) y MLA (4.5 g/L de KH_2PO_4)	74

RESUMEN

La biomasa es una de las materias primas más prometedoras utilizada en una biorrefinería, ya que produce un balance neutro de CO₂. Mientras que la bioeconomía es un nuevo enfoque que enfatiza el uso eficiente y sostenible de la biomasa para obtener productos químicos, materiales, y energía. Algunos productos químicos de base biológica como aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, antibióticos son excelentes ejemplos de la utilización de procesos biológicos para una gran escala sostenible y económica producción.

El principal objetivo de este trabajo es presentar y analizar el diseño (como selección de insumos, equipo, operaciones y método de operación), operación (diagrama del proceso), síntesis (configuración del proceso) y evaluación integral (mediante criterios técnicos, económicos y ambientales) del proceso de producción en una biorrefinería de melaza de caña de azúcar. Las principales contribuciones son: (i) el desarrollo de estrategias de operación para un reactor de fermentación con el fin de aumentar el rendimiento y la productividad del producto, y (ii) la propuesta de una metodología de evaluación técnico-económica y ambiental detallada, útil para decidir la rentabilidad y sostenibilidad de un bioproceso industrial.

La metodología se basa en un enfoque sistemático, empleando herramientas de modelado y simulación, que apoyan la toma de decisiones en la etapa inicial del diseño de una biorrefinería. La metodología considera dos pasos de análisis: en primer lugar, el análisis dinámico de la etapa reactiva. Aquí se estudia el efecto de las condiciones de operación sobre los criterios técnicos, en segundo lugar, se realiza el análisis del proceso de producción industrial, en el que se incluyen la etapa reactiva junto con los procesos corriente arriba y corriente abajo. En este segundo análisis se estudia la influencia del modo de operación y la capacidad instalada de la planta sobre el rendimiento global de la biorrefinería. La metodología se aplica a varios escenarios en una biorrefinería de melaza de caña de azúcar para producir L-lisina, ácido láctico y polihidroxibutirato.

La influencia de los parámetros clave en el desarrollo de los procesos es crucial en la evaluación de criterios técnicos, económicos y ambientales, para determinar un diseño rentable y sostenible de la biorrefinería. De los casos estudiados, el mejor diseño de biorrefinería se logra para el proceso de producción de ácido láctico, obteniendo como criterios técnicos: máximo rendimiento de $Y_{OP} = 0.97$ kg/kg y productividad de $Pr = 1.7$ kg/L/h; como económicos: máximos retorno sobre la inversión de $RSI = 62.2\%$ y periodo de recuperación de $PR = 1.61$ años; y finalmente como criterios ambientales: un gasto energético de $E = 0.29$ MJ/Kg y un índice de impacto ambiental de $PEI = 0.18$ PEI/kg. Los resultados determinan las regiones de operación para lograr un diseño conceptual de una biorrefinería que sea rentable con bajo impacto ambiental.

ABSTRACT

Biomass is one of the most promising raw materials used in a biorefinery, as it produces a neutral balance of CO₂. While bioeconomics is a new approach that emphasizes sustainable use of biomass to produce chemicals, materials, and energy. Some biological-based chemicals such as amino acids, enzymes, organic acids, antibiotics are excellent examples of the use of biological processes for large-scale sustainable and economical production.

The main objective of this work is to present and analyze the design (such as selection of inputs, equipment, operations and operating method), operation (process diagram), synthesis (process configuration) and comprehensive evaluation (using technical, economic and environmental criteria) of the production process in a sugar cane molasses biorefinery. The main contributions are: (i) the development of operation strategies for a fermentation reactor in order to increase the product yield and productivity, and (ii) the proposal of a detailed methodology of the technical-economic and environmental evaluation, useful for decide the profitability and sustainability of an industrial bioprocess.

The methodology is based on a systematic approach, using modeling and simulation tools, which support decision making in the initial stage of the design of a biorefinery. The methodology considers two steps of analysis: first, the dynamic analysis of the reactive stage. Here the effect of the operating conditions on the technical criteria is studied. Secondly, the analysis of the industrial production process is carried out, in which the reactive stage is included together with the upstream and downstream processes. In this second analysis, the influence of the mode of operation and the installed capacity of the plant on the overall performance of the biorefinery is studied. The methodology is applied to several scenarios in a sugar cane molasses biorefinery to produce L-lysine, lactic acid and polyhydroxybutyrate.

The influence of the key parameters in the development of the processes is crucial in the evaluation of technical, economic and environmental criteria, to determine a profitable and sustainable design of the biorefinery. From the cases studied, the best biorefinery design is achieved for the production process of lactic acid, obtaining as technical criteria: maximum yield of $Y_{OP} = 0.97$ kg/kg and productivity of $Pr = 1.7$ kg/L/h); as economic criteria: maximum return on investment of $RSI = 62.2\%$ and recovery period of $PR = 1.61$ years; and finally, as environmental criteria: an energy consumption of $E = 0.29$ MJ/Kg and environmental impact index of $PEI = 0.18$ PEI/kg. The results determine the operation regions to achieve a conceptual design of a biorefinery that is profitable with low environmental impact.

1.1 Antecedentes

Importancia de las biorrefinerías

En la última década, el número de productos obtenidos mediante procesos biotecnológicos ha aumentado continuamente. Estos bioprocesos comúnmente ayudan a reducir el consumo de energía y la generación de residuos, a menudo son productos biodegradables e incluso permiten la síntesis de productos que no son posibles químicamente (Hatti-Kaul y col., 2007). Entre los bioproductos (o productos biotecnológicos) obtenidos por fermentación de azúcares y microorganismos se encuentran aminoácidos, combustibles, biopolímeros, enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas, antibióticos, suplementos para alimentos, fertilizantes, entre otros. El mercado mundial de productos derivados de la fermentación fue de 16 mil millones \$US en 2009 y se estimaba un aumento a 22 mil millones \$US para 2013 (de Jong y col., 2012).

Una biorrefinería es una estructura que integra procesos de conversión de biomasa y equipamiento para producir combustibles, energía y productos químicos. La biomasa como recurso renovable se considera que produce un balance neutro de CO₂, siendo así una de las materias primas alternativas más prometedoras. Por lo cual, ha crecido el interés general en la producción sostenible de productos químicos y/o materiales a partir de biomasa. La sustitución de productos químicos derivados del petróleo por biomasa ayudará a tener un papel clave para sustentar el crecimiento de la industria química (Yuan y col., 2013). Contrariamente a los recursos petroleros que están limitados en la composición, los biorecursos se componen de compuestos heterogéneos tales como celulosa, hemicelulosa, aceites, lignina, almidón y proteínas. Cada constituyente de la biomasa puede ser utilizado para producir fracciones de bioproductos. De manera que debe desarrollarse un conjunto complejo de tecnologías específicas para convertir de manera eficiente cada fracción de biomasa en productos de valor agregado. Pero precisa aún de desarrollos tecnológicos que permitan obtener estos productos a un costo menor y de una manera más eficiente.

Importancia del diseño conceptual de las biorrefinerías

La producción de multi-productos de alto valor agregado en una biorrefinería mejora la economía del proceso de producción, minimiza la descarga de desechos y el consumo energético, y reduce la dependencia de productos petroleros. De manera que las biorrefinerías ofrecerán nuevas oportunidades económicas para la agricultura y la industria química (Fitzpatrick y col. 2010). Sin embargo, la elección de la materia prima y los productos finales, así como de la tecnología de procesamiento, son importantes en el diseño de la biorrefinería debido a las implicaciones de

producción a gran escala. Por lo tanto, en la próxima década, será fundamental la investigación básica y aplicada en esta área.

Las biomásas provienen de productos agrícolas altamente variables, y cuya variedad depende de las condiciones climáticas y la región de procedencia. Las cepas o levaduras son microorganismos, cuyo desempeño para convertir los azúcares en bioproductos (en la etapa de fermentación) está sujeto a la concentración de azúcares y de agentes estresantes tales como la temperatura y concentración de nutrientes. Éstos y otros factores crean un impacto directo en la producción final de los bioproductos. En particular, un mejor conocimiento de los mecanismos de las etapas reactivas podría permitir la selección, diseño, optimización y control del proceso, que permitirían acoplar una materia prima con una configuración adecuada de diseño de la biorrefinería (Mosier y *col.*, 2005).

Desde el punto de vista del diseño de biorrefinerías, hasta el momento existen diversas publicaciones que se han enfocado a: estudios cinéticos de las etapas de fermentación, efecto de algunas condiciones de operación, diseños a nivel laboratorio y piloto, o evaluaciones técnico-económicas-ambientales. Sin embargo, no hay trabajos publicados que consideren el diseño integral involucrando estudios dinámicos, alternativas de diseño del proceso, análisis de los posibles productos de una biorrefinería y sus implicaciones en las evaluaciones técnicas-económicas-ambientales. Siendo que el diseño y la síntesis de procesos juegan un papel clave en el desarrollo de tecnologías innovadoras y rentables, se requieren establecer criterios técnicos, económicos y ambientales que permitan estudiar las alternativas para el diseño conceptual de biorrefinerías sostenibles. La mayoría de los diseños conceptuales de biorrefinerías reportados consideran como principal producto un biocombustible y pocos reportes consideran la inclusión de otros bioproductos, como son los precursores de la industria alimentaria (como ácido cítrico, ácido láctico, levadura de pan) o biopolímeros (como PHB, polihidroxibutirato, y PLA, ácido poli-láctico). La Tabla 1 muestra algunos trabajos publicados recientemente en relación con este tema.

Para realizar los análisis técnico-económicos de las biorrefinerías, los simuladores de procesos modulares (tales como *Aspen Plus*, *Pro/II*, *Chemcad*, *SuperPro Designer*, etc.) ofrecen un entorno de modelado fiable y riguroso mediante la evaluación de balances de materia y energía a partir de diagramas de flujo de proceso. Estos simuladores, cuyas características se pueden encontrar en varias referencias (Seider y *col.*, 2009; Turton y *col.*, 2008), contienen bases de datos extensas de propiedades de componentes puros, bibliotecas de operaciones unitarias, bancos de datos para modelos termodinámicos y cinéticos, algoritmos para la solución de sistemas de ecuaciones no lineales, y en algunos casos modelos económicos y ambientales. Por lo que los simuladores de procesos proporcionan la oportunidad de resolver modelos realistas de plantas a gran escala, de manera sistemática, rápida y confiable.

Tabla 1. Publicaciones recientes de evaluaciones técnicas, económicas y ambientales para biorrefinerías

Referencia	Materia prima	Simulador	Estudio	Producto
Hamid & Wagialla (2017)	Aceite de Jatropha	SuperPro Designer	T E	Biodiesel
Sebastião y col. (2016)	Papel y celulosa	SuperPro Designer	E	Bioetanol
Moncada y col. (2015)	Bagazo de caña de azúcar	Aspen Plus	T E A	Etanol y PHB
Tao y col. (2014)	Rastrojo de maíz	Aspen Plus	T E A	Bioetanol y butanol
Qureshi y col. (2013)	Paja de trigo	SuperPro Designer	T E	Butanol
Cavalett y col. (2012)	Caña de azúcar	Aspen-Plus	T E A	Bioetanol
Posada y col. (2011)	Glicerol	Aspen Plus	T E	Poli-hidroxitirato
Stephenson y col. (2010)	Residuos lignocelulósicos	Aspen-HYSYS	E A	Bioetanol
Woinaroschy & Taras (2009)	Almidón	SuperPro Designer	S	Ácido cítrico
Quintero y col. (2008)	Azúcar de caña y maíz	Aspen Plus	E	Bioetanol
Heinzle y col. (2006)	Glucosa	SuperPro Designer	E	L-Lisina Ácido Cítrico

S: simulación del proceso, T: evaluación técnica, E: evaluación económica, A: evaluación ambiental

En este trabajo se presenta un diseño de una biorrefinería de melaza de caña de azúcar para producir productos con valor agregado, el cual se analiza mediante la evaluación de diversos criterios técnicos, económicos y ambientales para garantizar la sostenibilidad del diseño de la biorrefinería. El análisis del diseño se presenta en dos partes, empleando herramientas de modelado y simulación. Primero se realiza un análisis dinámico del reactor de fermentación para dos modos de operación (lote y lote alimentado), utilizando un factor de enriquecimiento asociado a la concentración de nutrientes en el medio, evaluando la productividad y el rendimiento como criterios técnicos. En este análisis se contribuye con la definición de estrategias de alimentación para modo lote alimentado (MLA). En la segunda parte, se analiza un diseño conceptual industrial de la biorrefinería mediante la evaluación de varios criterios económicos (como costo de producción unitario y retorno sobre la inversión) y ambientales (como consumo energía y un índice de impacto ambiental). En este análisis se incluye el efecto del modo de operación, de la concentración de nutrientes, del número de reactores instalados y de la capacidad instalada sobre la rentabilidad y sostenibilidad de una biorrefinería azucarera.

1.2 Justificación

Hay una gran variedad en la madurez del mercado para productos bioquímicos, que van desde los mercados maduros como el ácido láctico a los mercados nacientes de productos químicos tales como plásticos polihidroxialcanoatos. En el caso de productos derivados de biotecnología de generaciones menos avanzadas, tales como las de ácidos orgánicos, levaduras, microorganismos biopesticidas, enzimas, antibióticos, y productos derivados de fraccionamiento de plantas y microorganismos, México cuenta con empresas de capacidad en innovación, manufactura y comercialización en escalas nacional e internacional. Se estima que, en la actualidad, el mercado mexicano de biotecnología es de aproximadamente 1,000 millones de dólares americanos y que el 90% de dicho mercado, en valor, está constituido por productos biotecnológicos y biológicos para salud humana. A pesar de la actualización en la legislación sobre organismos genéticamente modificados, y sobre biocombustibles, se puede aseverar que México es fundamentalmente deficitario en la mayor parte de los productos derivados de biotecnología moderna, de productos biológicos (Trejo Estrada, 2010).

En una biorrefinería los co-productos pueden ser seleccionados de los químicos básicos, cuya denominación en inglés es “*commodity chemicals*” o “*bulk chemicals*” (Fig. 1). Éstos se caracterizarían por un elevado volumen de producción y un coste reducido, cuya principal utilidad, aunque no la única, es servir como base o intermediarios para la producción de otros compuestos químicos y polímeros (Roncal y *col.*, 2009).

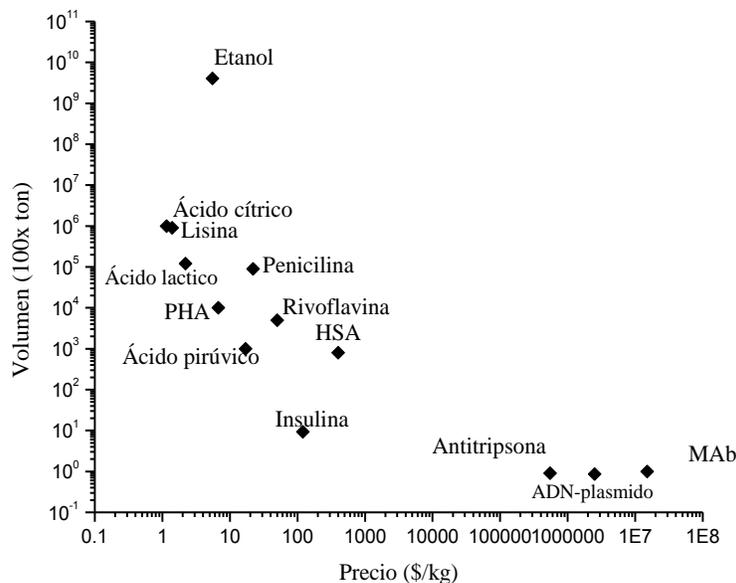


Fig. 1. Volumen de producción y los precios de algunos productos básicos

Los ingenios azucareros en México son una oportunidad potencial debido a que la industria nacional de azúcar tiene serios problemas de operación y rentabilidad. La industria azucarera nacional es de gran importancia en la industria alimentaria rural por su contribución económica y nutricional. En la zafra 2015/2016 la molienda de caña de azúcar bruta fue de más de 54 millones de toneladas. Entre los principales residuos de importancia económica obtenidos de la molienda está la melaza. La distribución del uso de la melaza es alrededor de 35% en la producción de etanol, 24% en los piensos (suplemento en la alimentación de ganado rumiante), 14% para la producción de levadura (proteína unicelular) y un 29% para exportación (Viniegra-González, 2009).

La producción nacional de melaza de la zafra 2006/2007 a la 2015/2016 ha tenido una tasa de crecimiento de 10.5% (Fig. 2a). La menor producción ocurrió en la zafra 2009/2010 con 1.4 millones de toneladas, y la mayor en la zafra 2012/2013 con 2.3 millones de toneladas (CONADESUCA, 2016b). El consumo aparente de melaza mantiene niveles y tendencias proporcionales a la producción anual (Fig. 2a). Además, México es un exportador neto de melaza de caña con un mínimo de importaciones (Fig. 2b). La balanza comercial ha mostrado un crecimiento anual, a pesar de algunos descensos y de mantener una producción anual de melaza casi constante.

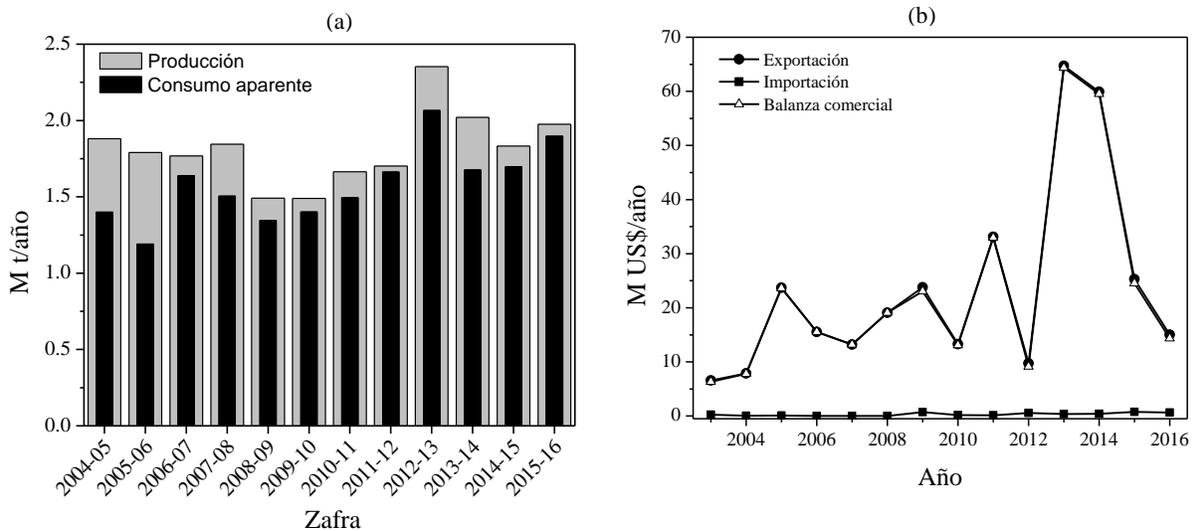


Fig. 2. Información económica de la melaza en México: (a) producción y consumo nacional, (b) importación y exportación.

Existen productos químicos básicos que se pueden obtener en una biorrefinería por sus características particulares de procesamiento y por su demanda en el mercado nacional como L-lisina, ácido cítrico y proteína unicelular para la industria alimentaria y polihidroxitirato P(3HB) para la industria de bioplásticos, además de ácido láctico (AL) que se utiliza para los dos tipos de industria mencionados. Con la finalidad de describir la metodología, en este proyecto de investigación se mostrarán los análisis de evaluación para 3 bioproductos: L-lisina, AL y P(3HB).

L-lisina

La L-lisina es un aminoácido esencial que puede ser producido tanto mediante procedimientos químicos, a partir de materias primas fósiles, como mediante fermentación microbiana, siendo este segundo el procedimiento más económico. Sus usos principalmente son como suplemento en la alimentación humana y animal, y como ingrediente en las industrias de cosméticos y farmacéutica. Su volumen de producción mundial es de aproximadamente 850 000 t/año, con un aumento en el mercado de 10-15% por año (Leuchtenberger y *col.*, 2005), es decir, ha aumentado más de 20 veces en las últimas dos décadas (Fig. 3).

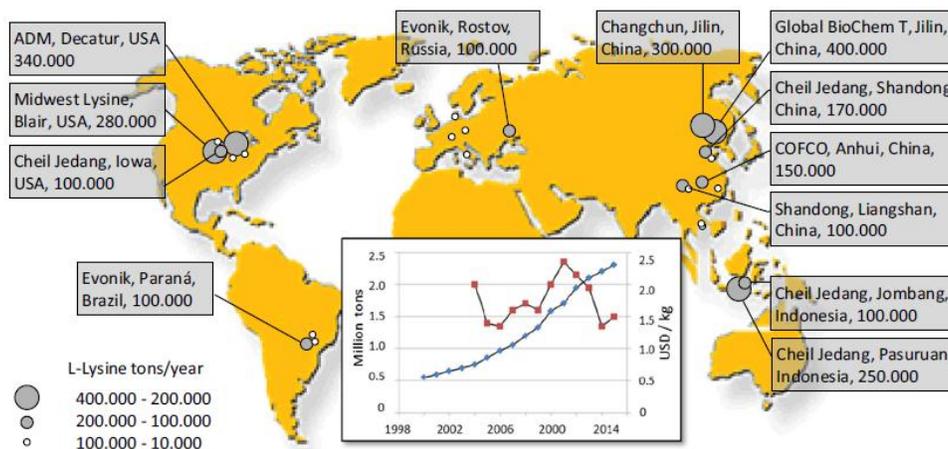


Fig. 3. Distribución mundial de las principales plantas de L-lisina, junto con su capacidad de producción anual. La gama de la capacidad de las principales plantas se da en toneladas por año. (Eggeling & Bott, 2015)

En México, el volumen de importación es mucho mayor al de exportación (Fig. 4a). Las estadísticas de importación, exportación y balanza comercial (Fig. 4b) muestran que existe un

déficit comercial, implicando que la producción nacional no es suficiente y por ende es un producto con gran demanda.

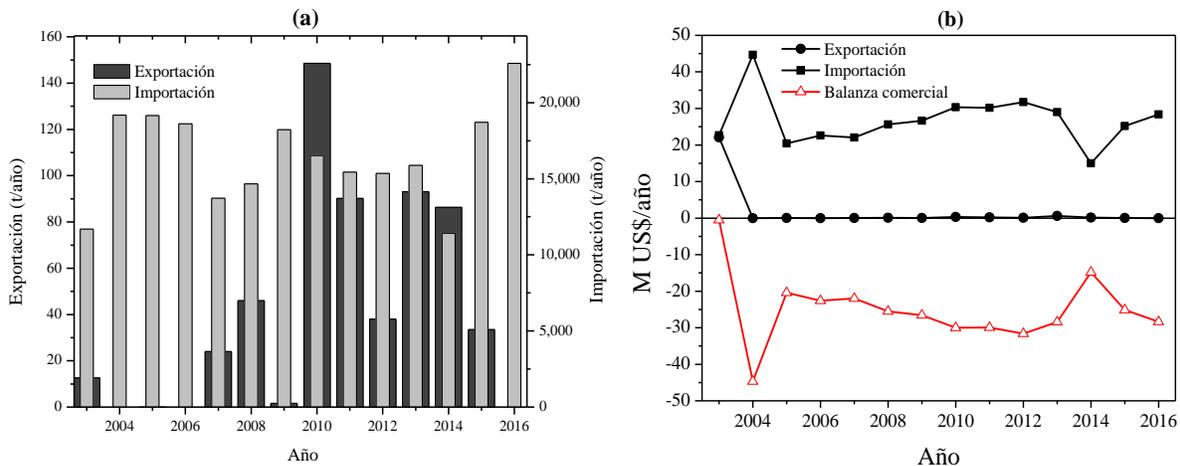


Fig. 4. Información económica del L-lisina en México: (a) volúmenes de exportación e importación, (b) importación, exportación y balanza comercial (SIAVI, 2017).

Ácido láctico

El ácido láctico constituye la mayor parte de los químicos renovables que se vendieron en el año 2010 a nivel mundial, lo que representa cerca del 79.2% del mercado junto con el glicerol. La demanda de AL ha sido estimada en un crecimiento anual de 5-8%. En el año 2012, el mercado mundial anual para la producción de AL se encontró alrededor de las 259,000 t/año, esperando un incremento a 367,300 t/año para finales del 2017 (Abdel-Rahman y col., 2013). El precio comercial grado alimenticio del AL está entre 1.38 US\$/kg (50% de pureza) y 1.54 US\$/kg (88% de pureza). Para satisfacer las aplicaciones recientes del AL como precursor del PLA y para ser comercialmente viable, los costos globales de producción de AL deben ser iguales o inferiores a 0.8 US\$/kg, para que el precio de venta del PLA sea competitivo con plásticos provenientes del petróleo (John y col., 2007).

En particular en México, los volúmenes de exportación son casi nulos en comparación con los volúmenes de importación (Fig. 5a). Mientras que los niveles de importación y exportación generan un déficit comercial, donde la balanza comercial apunta a una demanda alta de este producto en el mercado (Fig. 5b). Estas estadísticas justifican la producción nacional de AL en biorrefinerías de melaza de caña de azúcar.

Aproximadamente 70% de ácido láctico producido se usa en la industria alimentaria debido a su papel en la producción de yogur y queso (Castillo y col., 2012). Sin embargo, hay un aumento en la demanda de ácido láctico como materia prima para la producción del biopolímero ácido poli-

láctico (PLA), que es una alternativa biodegradable, biocompatible, y prometedora como sustituto de los plásticos derivados de petroquímicos.

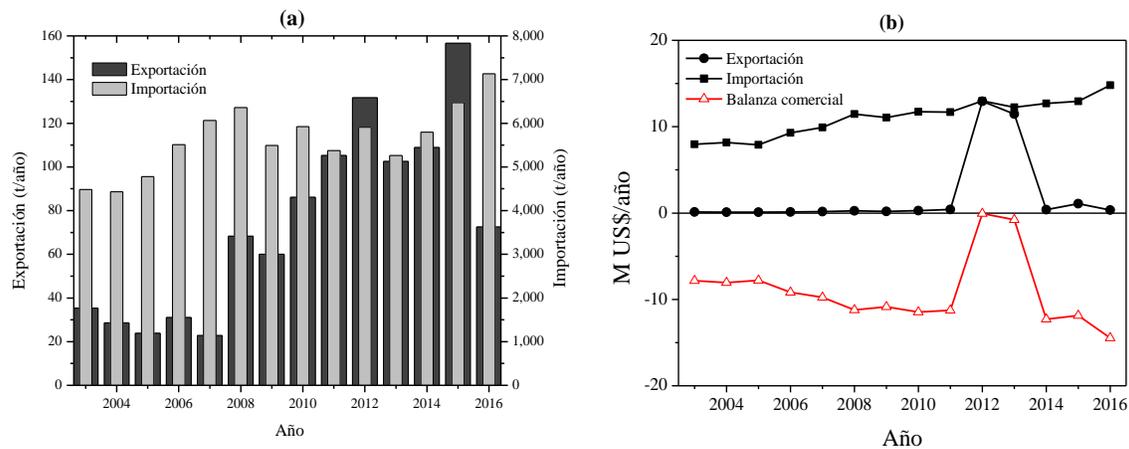


Fig. 5. Información económica del AL en México: (a) volúmenes de exportación e importación, (b) importación, exportación y balanza comercial (SIAVI, 2017).

Polihidroxibutirato

El plástico tiene características bastante alentadoras en comparación con otros materiales, y es por esta razón que es utilizado como material apto para diferentes usos y servicios. De esta manera comenzaron con la sustitución de materiales como algunos metales, madera, papel, cartón, vidrio y algunas fibras naturales que permitió que muchos productos alcanzaran un consumo masivo. Se calcula que, del total de la demanda de envase y embalaje, 40% se satisface con materiales de plástico; 25%, en el caso de los materiales usados en la construcción de casas y edificios; 10% del peso de los automóviles nuevos y de los muebles es de plástico, así como 5% en los componentes eléctricos. En México, la sustitución reciente más sonada es la del papel moneda, donde el Banco de México puso en circulación 150 millones de pesos en billetes de plástico de 20 pesos. Sin embargo, existen cientos de productos que están compuestos principalmente de plástico. El plástico más representativo es el polietileno, que en los últimos años presenta un incremento en su nivel de exportación (Fig. 6a), contribuyendo a que exista un déficit comercial en la demanda total de plásticos en México (Fig. 6b). Los insumos de esta industria proceden en mayoría del petróleo y gas natural, con los que comparte los vaivenes del mercado.

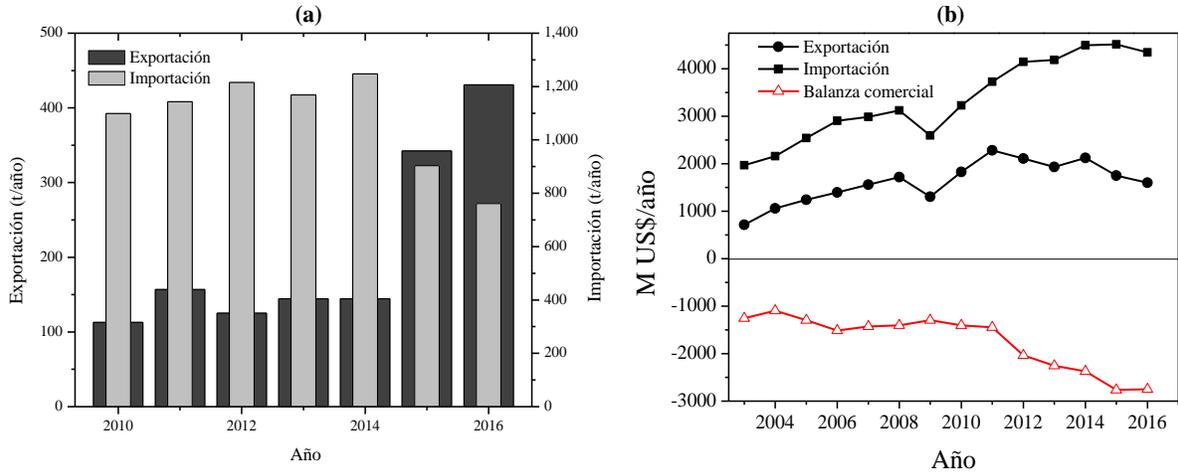


Fig. 6. (a) Producción de polietileno (Pemex) , y (b) importación, exportación y balanza comercial (Banco de México, 2017) de plásticos en México.

A nivel mundial, incluyendo México, existe una problemática importante por la contaminación del agua, aire y suelo; ocasionada en gran medida por los grandes volúmenes de residuos que se generan diariamente y que reciben inadecuado, escaso o nulo tratamiento. Ante esta situación, la producción de bioplásticos puede ser una opción viable para mitigar en alguna medida, esta problemática. El reporte "Polyhydroxyalkanoate (PHA) Market, By Application (Packaging, Food Services, Bio-medical, Agriculture) & Raw Material — Global Trends & Forecasts to 2018" define segmentos del mercado de polihidroxicanoatos (PHA) global con el análisis y la previsión de los ingresos globales y el estudio de mercado, donde se estima un crecimiento de los bioplásticos PHA de 10 mil millones de toneladas en 2013 a 34 mil millones de toneladas métricas en 2018, con una tasa compuesta anual del 27.7% (marketsandmarkets.com, 2013). Es importante mencionar que el bioplástico P(3HB) forma parte de los bioplásticos PHA, considerándose uno de los de mayor demanda en la industria del bioplástico. México, como importante productor mundial agropecuario, es fabricante prometedor de plásticos elaborados a partir de una base biológica y costos competitivos. Las escalas de producción y una creciente demanda serán cruciales para hacer de los bioplásticos un mercado rentable y en crecimiento.

1.3. Objetivos

Objetivos General

Estudiar diferentes configuraciones de proceso para una biorrefinería de melaza de caña de azúcar mediante análisis técnico, económico y ambiental, que permita evaluar de manera integral el diseño, la operación y la factibilidad de una biorrefinería.

Objetivos Particulares

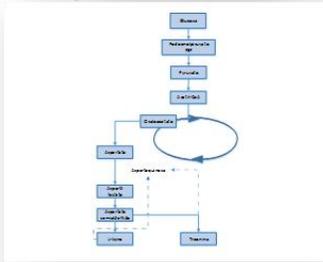
- Definir un diseño conceptual de la biorrefinería de melaza de caña de azúcar y sus posibles configuraciones de diseño, mediante diagramas de bloques y condiciones de operación para los procesos de producción de: L-lisina, ácido láctico y polihidroxibutirato (productos preseleccionados de acuerdo con el análisis realizado en los antecedentes y justificación).
- Desarrollar y validar modelos matemáticos para los productos anteriormente mencionados, incorporando modelos cinéticos rigurosos del reactor de fermentación.
- Estudiar el efecto de las condiciones de operación mediante análisis dinámicos, determinando el punto final de operación y comparando los modos de operación lote y lote alimentado.
- Realizar un estudio técnico para determinar las condiciones de operación de cada subproceso de manera que se alcancen los máximos rendimientos y productividades.
- Realizar un estudio económico para determinar la rentabilidad de cada producto y el tamaño de la capacidad instalada del proceso de producción industrial.
 - Determinar el índice de impacto ambiental de los subprocesos, considerando aspectos toxicológicos (i.e. impacto sobre la salud) y atmosféricos (i.e. impacto sobre el medio ambiente).

1.4. Organización de la tesis

En este capítulo se han presentado los antecedentes, justificación y objetivos de la tesis. En el Capítulo II se describe detalladamente la metodología desarrollada para la evaluación integral de la biorrefinería, definiendo los criterios seleccionados para las evaluaciones técnicas, económicas y ambientales. Posteriormente en los Capítulos III, IV y V se muestran los análisis, resultados y conclusiones de cada subproceso, aplicando la metodología propuesta, para la producción de L-lisina, AL y P(3HB), respectivamente. Finalmente, en el Capítulo VI se discuten los resultados generales de la biorrefinería, comparando los casos de estudio, y estableciendo algunos aspectos de investigación futuros.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

Ruta metabólica del proceso de fermentación



Modelo del proceso de fermentación

$$\frac{dC_C}{dt} = \frac{1}{Y_{x/c}} \mu C_x - \frac{1}{Y_{p/c}} r_p C_x - m_C C_x$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \mu C_x - \frac{1}{Y_{p/s}} r_p C_x - m_S C_x + \frac{F}{V} (C_{s,f} - C_s)$$

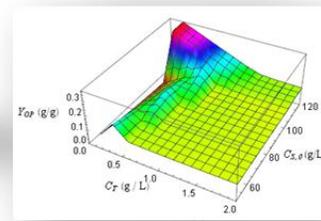
$$\frac{dC_T}{dt} = -\frac{1}{Y_{x,t}} \mu C_x - \frac{F}{V} C_T$$

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_x - \frac{F}{V} C_x$$

$$\frac{dC_P}{dt} = r_p C_x - \frac{F}{V} C_P$$

$$\frac{dV}{dt} = F$$

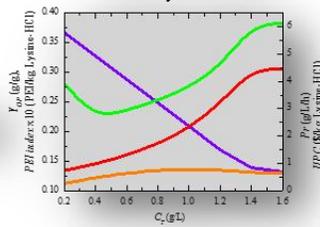
Evaluación técnica del proceso de fermentación



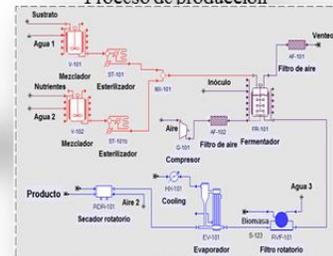
Biorrefinería sostenible



Evaluación técnica, económica y ambiental



Diseño conceptual del Proceso de producción



2.1. Descripción general

Anteriormente, la comercialización de productos nuevos o mejorados se basaba generalmente en el análisis económico como herramienta durante la toma de decisiones en el desarrollo y diseño del proceso. Ahora existe un llamado mundial para la implementación de tecnologías sostenibles y ambientalmente atractivas. Así, se presenta un enfoque metodológico basado en criterios técnicos, económicos y ambientales, que apoyará la toma de decisiones en el diseño y operación del proceso de producción. Los pasos principales del enfoque propuesto (Fig. 7) y la definición de los criterios de evaluación se describen en las subsecciones siguientes.

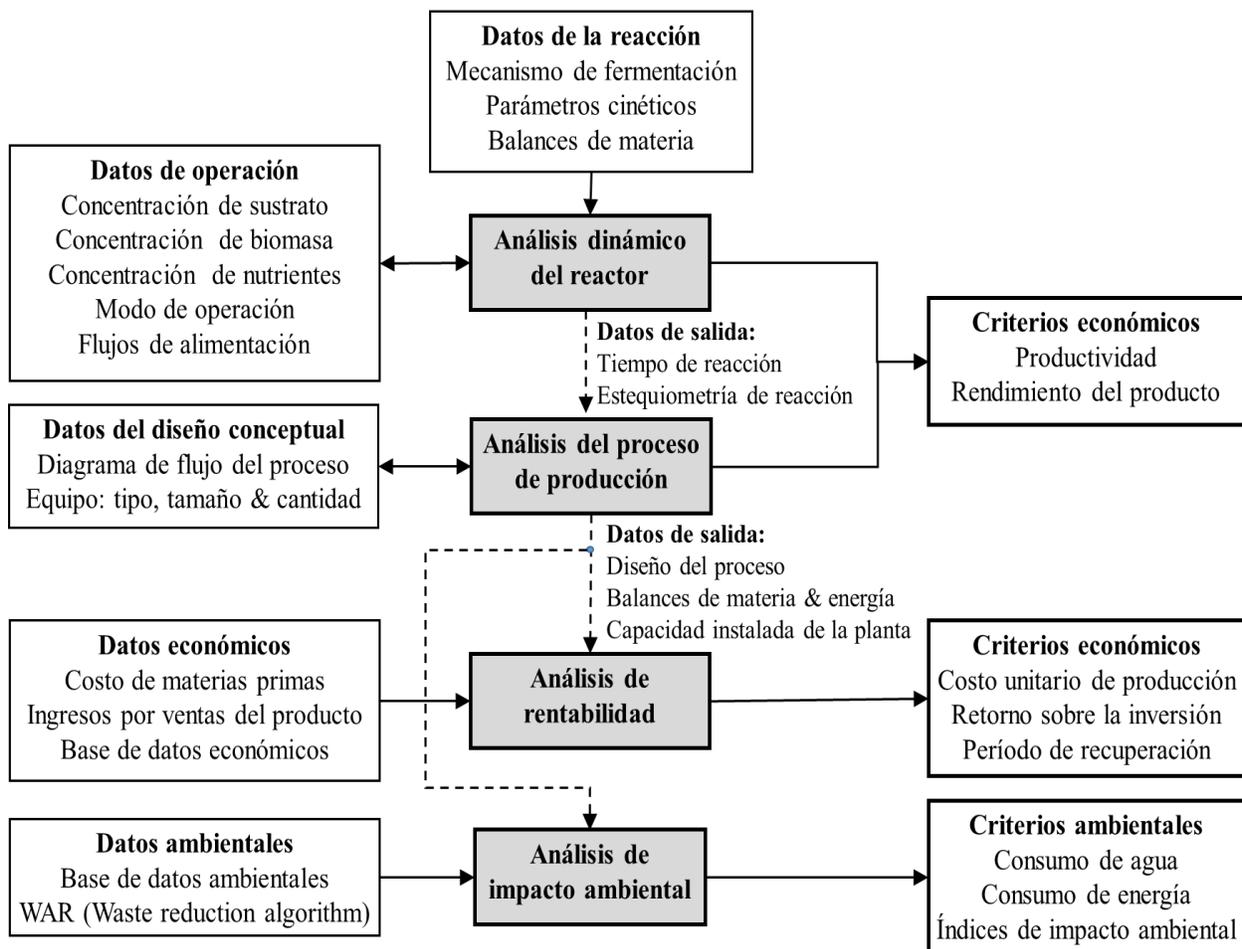


Fig. 7. Metodología para la evaluación integral de una biorrefinería

2.2. Evaluación técnica

Análisis dinámico de reactores

Un bioproceso consiste principalmente de tres etapas: tratamiento de materia prima, reacción y purificación. Sin embargo, la conversión de materia prima en producto se produce en la etapa de reacción. Por lo tanto, se están realizando esfuerzos constantes para mejorar los procesos de fermentación y así lograr la máxima eficiencia y mayor rendimiento del producto, incluyendo: (a) la búsqueda de cepas nuevas o modificadas genéticamente, para aumentar su productividad intrínseca; (b) mejorar la operación del proceso modificando la agitación, suministro de oxígeno, temperatura, pH, etc.; (c) optimizar los medios de cultivo, determinando las concentraciones iniciales de azúcar y la influencia de los principales nutrientes y aditivos; y (d) determinar configuraciones de procesamiento en la etapa de purificación, para aumentar la recuperación y la pureza del producto terminado (Anastassiadis, 2007). La primera es una tarea principalmente biotecnológica, no siendo tema de este trabajo. Mientras que las tareas posteriores están relacionadas con la ingeniería de procesos y se abordan en el enfoque propuesto.

La reacción de fermentación se lleva a cabo en un reactor de tanque agitado (STR). En primer lugar, se definen dos escenarios basados en el modo de operación: Para un modo de proceso por lotes (ML) el medio de cultivo esterilizado y el microorganismo se cargan en el biorreactor que, al finalizar la fermentación, el medio resultante es retirado. Para un modo alimentado por lotes (MLA), los microorganismos se alimentan bajo un régimen discontinuo (normalmente hasta finalizar la fase de crecimiento exponencial). En este caso, el fermentador es alimentado con una solución de sustratos, sin desechar el medio de cultivo durante un transcurso de tiempo. La alimentación debe ser equilibrada para mantener el crecimiento de los microorganismos a una tasa de crecimiento específico deseada, y así reducir simultáneamente la producción de subproductos (que pueden ser efectos inhibidores del crecimiento o del producto). No se considera el modo continuo, ya que no es recomendado para un proceso de fermentación debido a dificultades técnicas como posible contaminación en el medio, problemas de inestabilidad microbiológica durante el transcurso del tiempo y alta demanda energética causada por la esterilización continua del medio de cultivo.

En ambos modos de operación (ML y MLA), la concentración de los nutrientes en el medio cambia continuamente con el tiempo siendo el fermentador un sistema de estado inestable, aunque en un reactor bien mezclado, se supone que las condiciones son uniformes en todo el reactor a cualquier instante. Además, hay muchos factores que intervienen en el control y la regulación de un reactor ML o MLA que pueden ser investigados experimentalmente o por

simulación, utilizando un modelo dinámico del reactor de fermentación basado en balances de energía y materia. En esta etapa, el modelo dinámico puede ser resuelto utilizando simuladores orientados a ecuaciones (como Matlab, Mathematica, Maplesoft, etc.) aprovechando las herramientas computacionales que ayudaran en obtener una respuesta rápida y eficiente de los modelos y resultados, además de una reducción de costos de materiales y equipos a largo plazo. En particular, en esta etapa, el interés se enfoca en estudiar el efecto del modo de operación (lote o alimentado), así como las condiciones iniciales (tales como concentración de la fuente de carbono y nutrientes) y las condiciones operativas (tales como el volumen del reactor, la estrategia de alimentación, influencia $k_{L,a}$, etc.) para aumentar el rendimiento del producto y la productividad. Sin embargo, a menudo el aumento en el rendimiento provoca una disminución de la productividad. Por lo tanto, las condiciones de operación deben ser definidas para mantener un balance entre estos dos criterios técnicos.

Análisis del proceso de producción

El diseño conceptual, que se refiere al diseño industrial pre-acabado, es el enfoque de alternativas tecnológicas y de diseño que pueden existir en el mercado o pueden ser creadas. En esta etapa, es necesario definir el diagrama de flujo del proceso, limitando las condiciones en cuanto a los posibles materiales de uso, diseño y dimensiones de los equipos, ciclo o restricciones del proceso. En esta etapa, también se establecen evaluaciones preliminares de costos y de impacto ambiental para determinar la factibilidad del proceso y, si es posible, su optimización.

En general, el diseño conceptual de un bioproceso puede dividirse en tres secciones: (a) preparación del medio de cultivo, donde se diluyen, esterilizan y añaden sustratos y nutrientes al medio de cultivo para satisfacer los requerimientos de crecimiento microbiano y obtención de producto; b) fermentación, donde se realiza la conversión de las materias primas en producto, tal como se ha mencionado anteriormente; y (c) separación y purificación, donde se requieren diversas operaciones unitarias para separar la biomasa y otros compuestos, y purificar el producto (cuanto más puro es el producto terminado, más complejo y costoso es el diseño del proceso).

Un diagrama de detalle para una planta industrial puede ser desarrollado e implementado en simuladores de procesos modulares (Aspen Tech, Pro/II, Chemcad, SuperPro Designer, etc.), cuyas características se pueden encontrar en Turton y *col.*, 2008; Seider y *col.*, 2009. Aquí basta con mencionar que los simuladores de procesos ofrecen un entorno de modelado fiable y riguroso que se basa en una extensa base de datos de propiedad de componentes puros, biblioteca de operaciones unitarias, bancos de datos para modelos termodinámicos y cinéticos, varios algoritmos para la solución de sistemas no lineales y en algunos casos económicos y ambientales. Por lo tanto, los simuladores de procesos ofrecen la oportunidad de resolver modelos de plantas a

mayor escala, siendo realistas. En particular, para este caso de estudio, SuperPro Designer se utiliza como una herramienta computacional para evaluar balances de masa y energía en estado estacionario, con el fin de: (i) verificar que el diseño conceptual alcance el mismo rendimiento y productividad del producto a partir del análisis de biorreactores, y ii) examinar los factores de diseño, como el tipo, el número y el tamaño del equipo, la capacidad instalada en términos de producción, etc.

2.3. Evaluación económica

Las medidas de rentabilidad desempeñan un papel crucial durante todo el proceso para ayudar a seleccionar sus mejores alternativas para el diseño del proceso. Aquí se seleccionan las medidas de rentabilidad como: costo unitario de producción (CUP), tasa de retorno de inversión (RSI) y período de retorno (PR). Estos criterios de rentabilidad proporcionan una visión instantánea de la economía del proceso y se utilizan a menudo para estimaciones preliminares cuando se comparan diferentes diagramas de flujo durante la etapa de síntesis del diseño del proceso. No obstante, podrían emplearse criterios de rentabilidad más rigurosos, en los que se considere el flujo de efectivo (como el valor actual neto, NPV y la tasa interna de rendimiento, IRR) para que la administración pueda tomar una decisión final sobre la viabilidad financiera de un proceso (Seider y *col.*, 2009).

En primer lugar, se definen algunos conceptos implicados en la generación de informes sobre la rentabilidad. La Inversión total de capital se refiere a los costos fijos que están asociados con el proceso. Se calcula como la suma del capital fijo directo (incluye equipo, instalación, tubería, instrumentación y otras cuestiones relacionadas con los edificios y la construcción), capital de trabajo (incluye los fondos necesarios para operar el negocio, tales como costos de mano de obra, materias primas y servicios públicos), y los costos iniciales. El costo anual de operación incluye los costos relacionados con la demanda de todos los recursos, tales como materias primas, suministros, mano de obra, agentes de transferencia de calor y servicios de energía, eliminación de desechos, etc. (el concepto toma en cuenta la depreciación del equipo). Los ingresos totales consisten en todos los ingresos asociados con la operación de una planta, incluyendo los ingresos provenientes de la venta de productos primarios y secundarios. Por último, el beneficio neto se calcula como el beneficio bruto anual menos los impuestos anuales más la depreciación anual.

Utilizando los conceptos anteriores, se pueden definir las medidas de rentabilidad. El costo de producción unitario (CUP) se define en la Ec. (1). Cuanto menor sea CUP, mayor será la rentabilidad del proceso. El retorno de la inversión (RSI) es una medida utilizada para evaluar la viabilidad de una inversión o para comparar la rentabilidad de una serie de inversiones diferentes.

Su cálculo es de acuerdo a la Ec. (2). Típicamente, el RSI deseado por las compañías es del 15-20%. Además, el período de retorno (PR) es el tiempo requerido después de la inversión total de capital inicial para ser recuperada por la ganancia neta acumulada, el cual se define en la Ec. (3). Por lo general, las empresas prefieren un PR menor de 4 años, de lo contrario no se considerará la inversión (Seider y *col.*, 2009).

$$CUP = \frac{\text{costo de operación anual}}{\text{tasa de ingresos del producto principal}} \quad (1)$$

$$RSI = \frac{\text{ganancia anual neta}}{\text{inversión total de capital}} \quad (2)$$

$$PR = \frac{\text{inversión total de capital}}{\text{ganancia anual neta}} \quad (3)$$

La evaluación del análisis de rentabilidad puede realizarse en hojas de cálculo a partir de los balances de masa y energía del diseño conceptual o puede realizarse sistemáticamente en simuladores de procesos como Aspen o SuperPro Designer. Este último se utiliza en este trabajo para evaluar los criterios económicos descritos anteriormente.

2.4. Evaluación ambiental

Es necesario identificar y evaluar las preocupaciones ambientales de los procesos de fabricación. Aquí los criterios consideran cinco índices ambientales: agua de proceso, emisiones de CO₂, consumo de energía estándar, agentes de transferencia de calor (como vapor, refrigeración y agua enfriada) y un índice de impacto global obtenido del Algoritmo WASTE Reduction (WAR) (Young & Cabezas, 1999).

El consumo de agua de proceso tiene su impacto en la escasez de agua y la degradación de los ecosistemas. Mientras que las emisiones de CO₂, el consumo de energía y los agentes de transferencia de calor son factores que contribuyen al calentamiento global. Las plantas de proceso requieren energía en varias formas (energía mecánica, electricidad, vapor, agua caliente, etc.) con un alto impacto económico y ambiental. La energía se compra a un proveedor de energía fuera de la planta de proceso (comúnmente relacionado con la combustión de combustible), mientras que la calefacción se produce en la planta de proceso a través de la combustión de combustibles fósiles. Así que, a mayor uso de vapor y consumo de energía, mayor es el impacto ambiental.

En una biorrefinería, el agua de proceso se utiliza principalmente para la dilución de la materia prima y los nutrientes para obtener la concentración requerida del medio de cultivo. Los agentes

de transferencia de calor se utilizan para la calefacción y refrigeración de los equipos, así como para el lavado. En particular, el vapor se utiliza para la esterilización, evaporación, secado y actividades de limpieza. El agua de refrigeración es necesaria para esterilizar y mantener la temperatura del fermentador. Mientras que el agua enfriada se utiliza principalmente en la etapa de purificación. Cuando se requiere una mayor cantidad de agua, existe mayor tiempo y trabajo en la separación y purificación del producto. Por lo tanto, sería necesario emplear más equipos y los costos de operación y energía aumentarían.

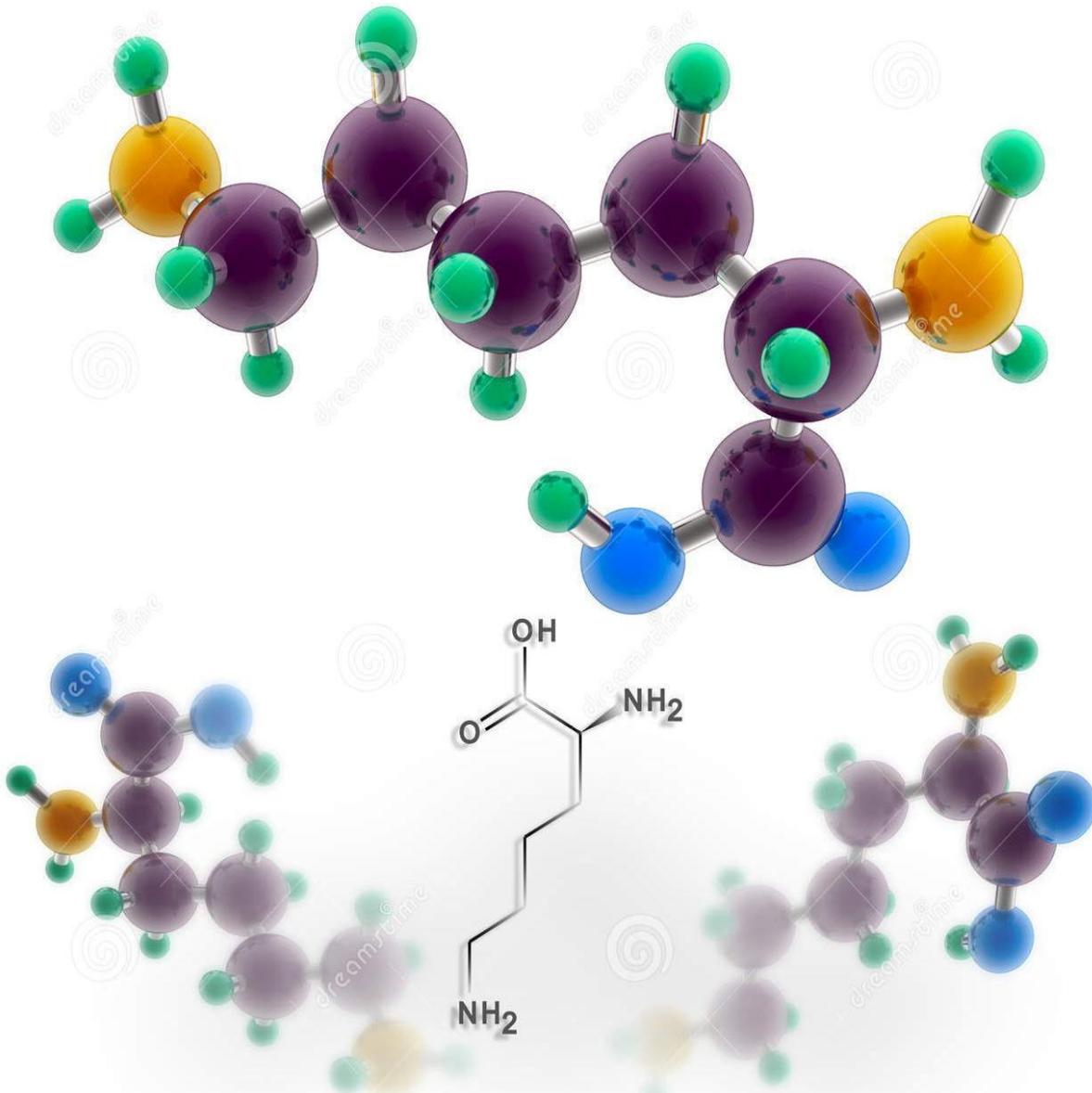
Por otro lado, se evaluaron los índices de impacto global del algoritmo WAR (Young & Cabezas, 1999). Este algoritmo, fue diseñado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) y se basa en la determinación del índice de Impacto Ambiental Potencial (PEI por sus siglas en inglés). PEI es una cantidad conceptual que representa el efecto o impacto promedio que las emisiones de masa y energía tendrían sobre el ecosistema si fueran emitida al medio ambiente. WAR puede usarse para reducir los impactos ambientales y los relacionados con la salud humana en la etapa de diseño del proceso. Este algoritmo considera ocho categorías de impacto ambiental, que se pueden dividirse en dos áreas principales: toxicológica (potencial de toxicidad humana por ingestión, HTPI; potencial de toxicidad humana por exposición, HTPE; potencial de toxicidad terrestre, TTP; y potencial de toxicidad acuática, ATP) y atmosférica (Potencial de calentamiento global, GWP; potencial de agotamiento de la capa de ozono, ODP; potencial de oxidación fotoquímica, PCOP; y potencial de acidificación, AP). Se evaluó un índice de impacto para cada categoría: I_{out} en unidades de PEI/kg de producto. De manera que el índice global de PEI [Ec. (4)] es la suma ponderada (por el factor de peso α_i) de todos los índices de impacto individuales ψ_{kl} del compuesto químico (k) sobre todas las categorías posibles (l), tomando en cuenta las cantidades de las corrientes de salida del proceso (M_k) y sus composiciones de los componentes involucrados (x_{kl}).

$$PEI = \sum_l \alpha_l \psi_{kl}; \quad \psi_k = \sum_k M_k \sum_l x_{kl} \psi_l \quad (4)$$

El valor del PEI permite comparar diferentes alternativas de proceso basadas en el impacto ambiental potencial emitido por el proceso por unidad de masa de producto. Cuanto menor es el índice de impacto global del proceso, más favorable es para el medio ambiente.

El software WAR GUI libremente disponible (interfaz gráfica de usuario del algoritmo WAR), soporta la evaluación de los índices de impacto, el cual permite la entrada de datos del proceso químico y por lo tanto estima el potencial de impacto ambiental. Los datos necesarios para WAR GUI son: (a) el caudal y la composición de cada corriente que entra y sale del proceso, obtenidos de los balances de materia; y (b) los impactos ambientales potenciales individuales de los componentes, los cuales están incluidos en la propia base de datos de WAR GUI.

CAPÍTULO III. L-LISINA



3.1. Introducción

Los aminoácidos son producidos por bacterias en gran escala. En 10 años, el mercado se ha duplicado casi en 5 millones de toneladas. La posición de liderazgo entre los productores de aminoácidos bacterianos está ocupada por *Corynebacterium glutamicum*. El microorganismo tiene una larga tradición en la biotecnología y en la industria de las biorrefinerías donde las ventajas al utilizarlas son diversas, ya que es fácil de cultivar, fácil de manejar genéticamente, de manera general reconocida como segura (organismo GRAS), y es notablemente resistente contra suministro de sustrato como ocurre en las fermentaciones a gran escala. Además, tiene capacidad de mantener una funcionalidad catalítica bajo condiciones de crecimiento suprimido, permitiendo preparaciones a granel de alta densidad celular. El microorganismo puede ser utilizado si se desea catabolizar diferentes azúcares en paralelo, ya que se ha aprovechado para construir vías catabólicas y de transporte de pentosas eficientes en el microorganismo para mejorar aún más su eficacia de conversión de los recursos renovables, logrando evitar la competencia entre biorrefinerías y la comida o el suministro de alimentación (Tatsumi & Inui, 2012).

Los sustratos más relevantes para la producción de lisina industrial son almidón y melaza. Se basan en glucosa y sacarosa como importantes fuentes de carbono. Los sustratos tienen una influencia en la producción de Lisina por *Corynebacterium glutamicum*, el cual está relacionado a los diferentes puntos entre el metabolismo central. En este caso las rutas principales a considerar son la glucólisis, la ruta pentosa fosfato y el ciclo del ácido tricarboxílico como se muestra en la Fig. 8.

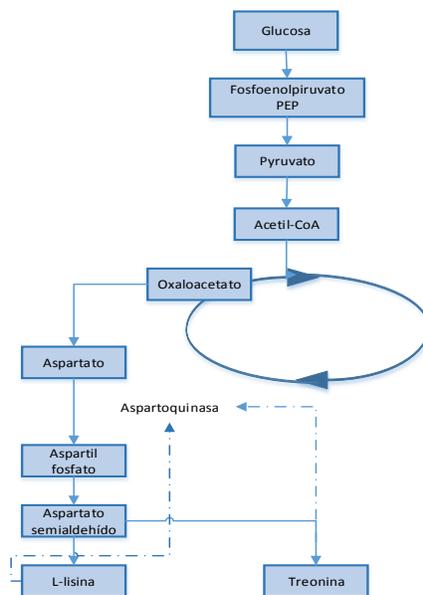


Fig. 8. Representación esquemática del metabolismo central de *C. glutamicum*. Las reacciones están indicadas para glucosa, vía glucólisis y ciclo del ácido tricarboxílico en la síntesis de L- lisina.

3.2. Modelo del reactor

La L-lisina se produce principalmente por fermentación de la glucosa utilizando la cepa *Corynebacterium glutamicum*, que tiene varias características importantes desde el punto de vista industrial, como su alto rendimiento de crecimiento, incluso en condiciones de alta concentración de azúcar. En el estado de arte se conocen varios procedimientos de fermentación que emplean diversas cepas auxotróficas aisladas con propiedades de resistencia para la producción de L-lisina. La concentración y el tipo de sustratos desempeñan un papel importante para el crecimiento celular y la obtención del producto. La concentración del sustrato principal (es decir, la fuente de carbono), afecta significativamente a la fermentación de L-lisina, ya que altas concentraciones podrían conducir a una inhibición de la biomasa y el producto. Buechs (1994) no asumió una inhibición de sustrato para una concentración inicial de glucosa de 100 g/L. Mientras que Razak & Viswanath (2014), encontraron que a una concentración mayor de 120 g/L de glucosa, existe una inhibición en el crecimiento bacteriano junto con un bajo rendimiento de producto. Por otra parte, también hay informes sobre el efecto de la treonina como sustrato suplementario. Rajvanshi y col. (2013) resaltaron la sobreproducción de L-lisina en *Corynebacterium glutamicum* como resultado de la inhibición de retroalimentación por treonina ejercida sobre el aspartato quinasa. Por lo tanto, se analizó el efecto de la concentración de treonina en la inhibición y síntesis de L-lisina, así como en la tasa de crecimiento. La treonina es un aminoácido esencial para las proteínas, por lo que se puede ser añadido al medio de cultivo en cantidades necesarias. Altas concentraciones de treonina en el medio favorecen el crecimiento e inhiben la producción de L-lisina. Sin embargo, su limitación conduce a la inhibición en la concentración de la biomasa y la acumulación de L-lisina. Por lo tanto, la treonina tiene que ser complementada a los medios de cultivo en caso de cepas auxotróficas, y su concentración en el medio de cultivo puede ser utilizado como un parámetro de control del biorreactor para mejorar el rendimiento (Knoll & Buechs, 2006).

El modelo cinético para la fermentación de L-lisina fue reportado por Buechs (1994). La velocidad cinética de crecimiento (μ) se formula como un producto de la cinética de Monod para glucosa, oxígeno y treonina, como sigue:

$$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{C_s + K_s} \right) \left(\frac{C_T}{C_T + K_T} \right) \left(\frac{C_o}{C_o + K_o} \right) \quad (5)$$

La velocidad de formación del producto (r_p) depende de las concentraciones de glucosa y oxígeno, y toma en cuenta una cinética mixta relacionada con el crecimiento (parámetro α_p) e independiente del crecimiento (parámetro β_p):

$$r_p = (\alpha\mu + \beta) \left(\frac{C_s}{C_s + K_{ps}} \right) \left(\frac{C_o}{C_o + K_o} \right) \quad (6)$$

La fermentación se lleva a cabo en un reactor de tanque agitado, ya sea por lotes o lote alimentado. Para el desarrollo del modelo matemático se consideran los siguientes supuestos: el funcionamiento es isotérmico (35° C) a presión atmosférica y pH neutro, el reactor está bien mezclado de modo que las propiedades fisicoquímicas son constantes, así como la transferencia volumétrica de oxígeno (k_{La}). Los correspondientes balances de masa para el reactor están dados por (los valores de los parámetros del modelo se pueden encontrar en la Tabla 2):

$$\frac{dC_s}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \mu C_X - \frac{1}{Y_{P/S}} r_p C_X - m_s C_X + \frac{F}{V} (C_{S,F} - C_s), \quad C_s(0) = C_{S,0} \quad (7)$$

$$\frac{dC_T}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/T}} \mu C_X - \frac{F}{V} C_T, \quad C_T(0) = C_{T,0} \quad (8)$$

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_X - \frac{F}{V} C_X, \quad C_X(0) = C_{X,0} \quad (9)$$

$$\frac{dC_o}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/O}} \mu C_X - \frac{1}{Y_{P/O}} r_p C_X - m_o C_X + k_{La} (S_o Y_o P - C_o), \quad C_o(0) = C_{o,0} \quad (10)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = r_p C_X - \frac{F}{V} C_P, \quad C_P(0) = C_{P,0} \quad (11)$$

$$\frac{dV}{dt} = F, \quad V(0) = V_0 \quad (12)$$

Donde C_s , C_T , C_X , C_o and C_P son las concentraciones de glucosa, sustrato treonina, biomasa (*C. glutamicum*), oxígeno y producto (L-lisina), respectivamente. El volumen (V) del medio de cultivo depende del flujo de alimentación del fermentador (F), y $C_{S,F}$ es la concentración del sustrato en la alimentación. Las concentraciones de los sustratos iniciales ($C_{S,0}$, $C_{S,F}$ y $C_{T,0}$) son los principales factores que afectan el rendimiento y la productividad del producto. Cuando el reactor funciona por lotes (ML), no hay flujo de alimentación ($F = 0$) y el volumen del reactor permanece constante. Sin embargo, cuando el reactor es alimentado (MLA), el flujo de alimentación desempeña un papel importante para la reducción de los tiempos de funcionamiento y, por tanto, el aumento de la productividad. Otro parámetro operativo importante es k_{La} , ya que la concentración de oxígeno disuelto constituye un parámetro crítico de fermentación para la biomasa en condiciones aerobias influenciadas por la saturación de aire en el biorreactor (para metabolizar la glucosa a través de la vía de Embden-Meyerhof-Parnas).

Tabla 2. Parámetros del modelo y datos de operación para la fermentación de L-lisina utilizando *C. glutamicum*.

Parámetros del modelo	Valor	Unidades	Nomenclatura
μ_{max}	0.28	1/h	Velocidad de crecimiento específico
$Y_{X/S}$	0.52	g/g	Rendimiento de biomasa por cantidad de sustrato
$Y_{P/S}$	0.6	g/g	Rendimiento de producto por cantidad de sustrato
$Y_{X/T}$	0.33	g/g	Rendimiento de biomasa por cantidad de treonina
$Y_{P/O}$	4.11	g/g	Rendimiento de producto por cantidad de oxígeno
$Y_{X/O}$	1.29	g/g	Rendimiento de biomasa por cantidad de oxígeno
K_O	6.4×10^{-6}	g/L	Constante de afinidad del oxígeno
K_s	0.1	g/L	Constante de afinidad de la fuente de carbono
K_T	0.1	g/L	Constante de afinidad de la treonina
K_{ps}	0.072	g/L	Constante de afinidad del producto
m_o	0.036	g/L	Consumo específico de oxígeno para el mantenimiento
m_s	0.034	g/L	Consumo específico de sustrato para el mantenimiento
α	0.2	g/g	Coefficiente de crecimiento asociado al producto
β	0.043	g/g/h	Coefficientes de crecimiento no asociado al producto
S_O	0.03776	mol/L/bar	Solubilidad del oxígeno
Y_O	0.2095	mol/mol	Fracción mol del oxígeno en la fase gas
Condiciones de operación	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S,F}$	700 ^a , 0 ^b , 1700 ^c	g/L	Concentración de glucosa en la alimentación
F	F^a , 0 ^b , F^c	L/h	Velocidad de flujo de la glucosa (0–2500 L/h)
$k_L a$	1000	1/h	Coefficiente de transferencia específica de masa
$V_{reactor}$	300 ^a , 400 ^{b,c}	m ³	Volumen de llenado del reactor
P	1.013	bar	Presión del reactor
Condiciones iniciales	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S,0}$	35 ^a , 120 ^b , 120 ^c	g/L	Concentración de glucosa inicial
$C_{T,0}$	1.6 ^a , 0.4 ^b , 4 ^c	g/L	Concentración de treonina inicial
$C_{X,0}$	0.1	g/L	Concentración de biomasa inicial
$C_{O,0}$	0.008	g/L	Concentración de oxígeno inicial
$C_{P,0}$	0	g/L	Concentración de producto inicial
V_0	225 ^{a,c} , 400 ^b	m ³	Volumen inicial

^a Caso de referencia, ^b ML, ^c MLA

Finalmente, se calculan los criterios técnicos (rendimiento total del producto, Y_{OP} y productividad, P_r) utilizados para comparar los resultados (donde $C_{S, total}$ es la concentración de sustrato total utilizada durante la fermentación completa):

$$Y_{OP} = \frac{C_p}{C_{S, total}}, \quad \text{donde} \quad C_{S, total} = \frac{C_{S,0} V_0 + C_{S,F} (V - V_0)}{V}; \quad P_r = \frac{C_p}{t} \quad (13)$$

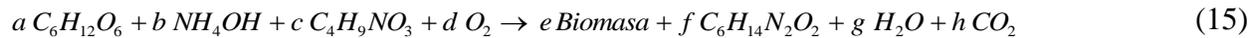
3.3. Diseño conceptual del proceso de producción

Para la producción industrial de lisina-HCl, la melaza de caña de azúcar se emplea como fuente de carbono siendo un subproducto de los ingenios azucareros. Se trata aproximadamente de 35% de sacarosa, 15% de glucosa, 29% de azúcares no fermentables, 20% de agua y 1% de impurezas. Para la fermentación, tanto la glucosa como la sacarosa se consideran que producen L-lisina (la sacarosa se convierte primero en glucosa por hidrólisis). El diagrama de flujo del proceso se muestra en la Fig. 9 y cada sección del proceso se describe a continuación.

En la primera sección, “preparación de la melaza”, la melaza se diluye con agua a través de un mezclador (V-101) para que la mezcla tenga una densidad manejable y el tanque de mezcla se mantenga con un volumen máximo de 400 m³. Las impurezas son tratadas y separadas de la solución principal a través del filtro (PFF-101) y una columna de cromatografía de intercambio iónico (C-101). A continuación, la solución se esteriliza (ST-101) para ser mezclada con la corriente final de la sección “preparación del medio de cultivo” que se añade en el fermentador. La mezcla resultante tiene la concentración deseada de azúcares (tal como se definió a partir de simulaciones dinámicas).

La preparación del medio de cultivo se lleva a cabo al mismo tiempo que la preparación de melaza. Los medios de fermentación comunes para la producción de L-lisina contienen fuentes de carbono y nitrógeno, iones inorgánicos y oligoelementos (Fe^{++} , Mn^{++}), aminoácidos, vitaminas y numerosos compuestos orgánicos complejos. Además, se ha descrito un pH adecuado del medio de cultivo entre 5 y 8 utilizando NH_4OH (Anastassiadis, 2007). A efectos de simulación, el nutriente principal suplementado al medio es NH_4OH , puesto que la cantidad de otros compuestos es irrelevante para los balances de masa. La treonina, utilizada como biocatalizadores para la excreción de L-lisina, y los nutrientes se mezclan y diluyen con agua en un recipiente (V-201). Luego, la solución se esteriliza usando alternativamente el mismo esterilizador (ST-101) de la sección de la preparación de melaza. A continuación, en la sección de fermentación, los parámetros físicos y las condiciones operativas para la fermentación como la agitación y la velocidad de aireación, la temperatura y la composición del medio deben satisfacer de una

manera adecuada las necesidades de crecimiento microbiano según los resultados dinámicos del fermentador. Posteriormente se obtiene una reacción estequiométrica utilizando las concentraciones de sustratos, nutrientes, biomasa y producto al tiempo final de la reacción. Por lo tanto, la reacción (molar) estequiométrica para las condiciones de operación está dada por:



Inicialmente, las condiciones del reactor se ajustan para llevar a cabo la hidrólisis de la sacarosa, Ec. (14), mediante invertasa a 45° C. Entonces, la fermentación de la glucosa, Ec. (15), se lleva a cabo en condiciones aerobias a temperatura constante de 30°C (Anastassiadis, 2007). El aire filtrado (AF-301) es alimentado al reactor y los gases generados (dióxido de carbono, nitrógeno y oxígeno) son filtrados (AF-302) antes de ser liberados al ambiente. A continuación, el medio resultante se transfiere a un tanque de almacenamiento (V-301) para continuar con el proceso de purificación. Hoy en día, el tamaño de los reactores varía de 50 a 500 m³ en la producción de aminoácidos. La L-lisina se fabrica en plantas de producción en las que típicamente se utilizan una serie de biorreactores de aproximadamente 500 m³ de tamaño (Eggeling & Bott, 2015). Por lo tanto, se utilizaron fermentadores de 500 m³, para aumentar la capacidad de la planta y alcanzar una producción máxima.

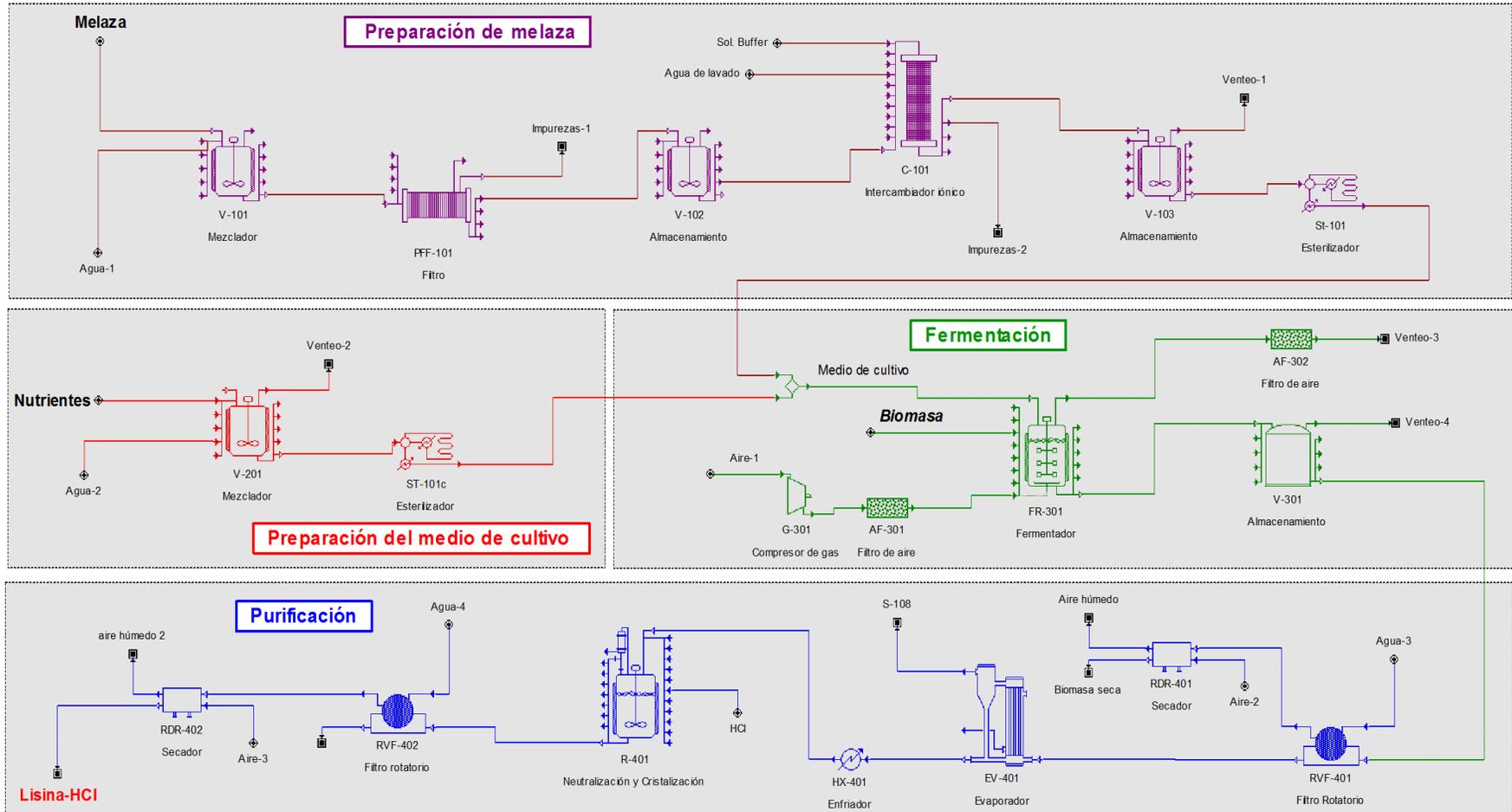


Fig. 9. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de L-lisina

Al iniciar la sección de purificación, la biomasa se elimina a través de un filtro giratorio (RVF-401). Posteriormente, se seca utilizando un secador rotativo con el fin de considerarla como un complemento a los ingresos y pueda ser vendida. Por otra parte, se utiliza un evaporador (EV-401) para eliminar el hidróxido amonio y el agua de la corriente principal. A continuación, la corriente se enfría, y después se neutraliza y purifica en un cristizador (R-401). Las reacciones estequiométricas de la neutralización y cristalización son:



Una vez que se obtiene una solución con cristales, se lleva a un filtro giratorio (RVF-402) que elimina las impurezas y los sólidos suspendidos por enjuagado con agua. Finalmente, los cristales se obtienen en un secador por pulverización (RDR-402), obteniéndose un producto con 98.5% de L-lisina-HCl.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación

(a) Validación

Antes de analizar el proceso, el modelo de fermentación [Ecs. (5) - (12)] fue validado utilizando: (a) datos experimentales para una fermentación por lotes reportado por Buechs (1994), y (b) un estudio lote alimentado reportado por (Heinzle y col, 2007), el cual, puede ser citado como el caso referencia. Para la validación del modelo con datos experimentales, los parámetros del modelo se dan en la Tabla 2, donde las condiciones de operación fueron $k_{La} = 180 \text{ h}^{-1}$ y $P = 1.5$ bar, y las condiciones iniciales fueron $C_{S,0} = 100 \text{ g/L}$, $C_{T,0} = 0.4 \text{ g/L}$, $C_{X,0} = 0.1 \text{ g/L}$, $C_{O,0} = 0.008 \text{ g/L}$, $C_{P,0} = 0$. La Fig. 10 muestra la validación del modelo correspondiente, donde puede verse que el modelo tiene un ajuste satisfactorio.

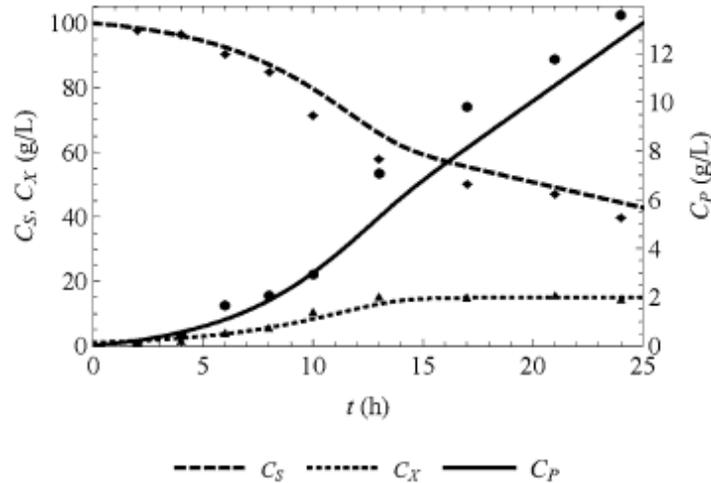


Fig. 10. Validación del modelo para la fermentación de L-lisina

El caso de referencia considera un reactor alimentado por lotes, en condiciones operativas y condiciones iniciales para la fermentación indicadas en la Tabla 2, excepto para el flujo de alimentación. En la estrategia de alimentación, el reactor se llena inicialmente a 225 m³ que corresponde al 75% del volumen de llenado del reactor. A continuación, se varió el flujo de alimentación y se ajustó manualmente para mantener la concentración de glucosa lo suficientemente baja como para evitar la limitación de oxígeno, hasta un 100% de llenado del reactor. La respuesta dinámica resultante para las concentraciones y el volumen correspondiente de llenado del reactor se muestran en la Fig. 11a, mientras que la estrategia de alimentación en la Fig. 11b. Como puede verse en la Fig. 11a, hay una primera etapa en la que casi toda la glucosa se consume con poca formación del producto (antes de aproximadamente 19 h). Posteriormente, hay una segunda etapa en la que se maximiza la velocidad de formación del producto (desde 19 h hasta el final de la reacción). En esta segunda etapa, el flujo de alimentación del sustrato comienza cuando la glucosa (C_S) se agota en el medio. En este momento, comienza la fase exponencial de la biomasa, donde la treonina actúa como catalizador. La biomasa alcanza la fase pseudo-estacionaria a las 31 h, cuando casi toda la treonina se consume. Por lo tanto, el flujo de alimentación disminuye, ayudando a la biomasa a continuar con la producción de L-lisina. El proceso de fermentación se detiene cuando se alcanza la máxima concentración de producto, a las 64 h, donde se alcanza la máxima productividad ($Pr = 0.65$ g/L/h) con un rendimiento de producto de $Y_{OP} = 0.20$ g de L-lisina/g de glucosa, como se muestra en Fig. 11b. Este caso pretende validar el modelo de fermentación y el análisis de la estrategia de alimentación.

En particular, para la fermentación con L-lisina en la que se emplea una cepa auxotrófica (es decir, *C. glutamicum*), el rendimiento del producto puede aumentarse cultivando la cepa en una cantidad limitada de glucosa. Esto significa que el rendimiento de un reactor discontinuo puede aumentarse a través de un flujo de alimentación de glucosa controlado. Una estrategia de alimentación por lote permitirá mantener una concentración de glucosa lo suficientemente baja para prevenir la limitación de oxígeno y aumentar el crecimiento de la biomasa. Por lo tanto, en esta sección, se comparan dos estudios de caso para examinar el efecto de la estrategia de alimentación: el ML se referirá a un reactor de fermentación por lotes, mientras que el MLA corresponderá al modo lote alimentado.

(b) Modo lote (ML)

Para el ML, se utiliza la concentración de glucosa máxima permisible para evitar la inhibición del sustrato; este valor es de 120 g/L de glucosa. Las condiciones operativas e iniciales para la fermentación se presentan en la Tabla 2. Las respuestas dinámicas se muestran en las Figs. (11c)-(11d). En una primera etapa, la biomasa crece constantemente debido al lento consumo de glucosa y al rápido consumo de treonina. En esta etapa, casi no hay formación de producto. En una segunda etapa, cuando la treonina se agota (a las 25 h), el crecimiento de la biomasa se detiene (alcanzando la fase pseudo-estacionaria) y la tasa de consumo de glucosa aumenta para producir L-lisina. La reacción se termina cuando los sustratos se agotan completamente (a $t_{\text{reac}}=82,8$ h), de modo que la concentración de producto C_P alcanza un máximo (correspondiente a los valores máximos de $Y_{OP} = 0.33$ g L-lisina/g de glucosa y $Pr = 0.47$ g/L/h).

(c) Modo lote alimentado (MLA)

El segundo caso considera el reactor de fermentación en un modo lote alimentado, que funciona en condiciones operativas y concentraciones iniciales similares al caso I, como se indica en la Tabla 2. En particular, como el flujo de alimentación contiene sólo glucosa, entonces la concentración inicial de treonina es equilibrada. Mientras que el volumen inicial se fijó de forma similar al caso de referencia a 225 m³, el volumen de llenado se fijó en 400 m³ para aumentar la producción de L-lisina. Como ya se ha mencionado, la estrategia de alimentación es muy importante en la fermentación. Por lo tanto, en este caso, se incluyó un control PI (control integral) para la adición de glucosa, con el fin de mantener una concentración mínima de glucosa a través del tiempo, y así ayudar a maximizar el rendimiento y la productividad del producto (es decir, los criterios técnicos). Las respuestas dinámicas correspondientes se muestran en las figs. (11e)-(11). Obsérvese que el reactor de fermentación comienza en modo discontinuo, de manera que hay una formación lenta de biomasa y producto. A continuación, a las 19 h, el crecimiento celular comienza con la adición de glucosa en el medio. Esto acelera la tasa de crecimiento [μ ,

Ec. (5)], aumentando las concentraciones de C_X y C_P . El consumo de treonina aumenta rápidamente el crecimiento de la biomasa, de modo que alcanza la fase pseudo-estacionaria cuando la treonina se agota (a las 50 h). En este punto, el controlador incrementa el flujo de alimentación de manera que comienza la sobreproducción de L-lisina. El tiempo de fermentación es de 123.8 h, donde a pesar de ser más prolongado que en otros casos de estudio, la productividad ($Pr = 1.99 \text{ g/L/h}$) es aproximadamente 2 a 3 veces mayor que el Caso de Referencia y ML. Esto se debe al gran aumento de la concentración de producto, C_P . El rendimiento del producto, Y_{OP} , no tiene diferencia significativa con el ML, aunque es más alto que el Caso de Referencia.

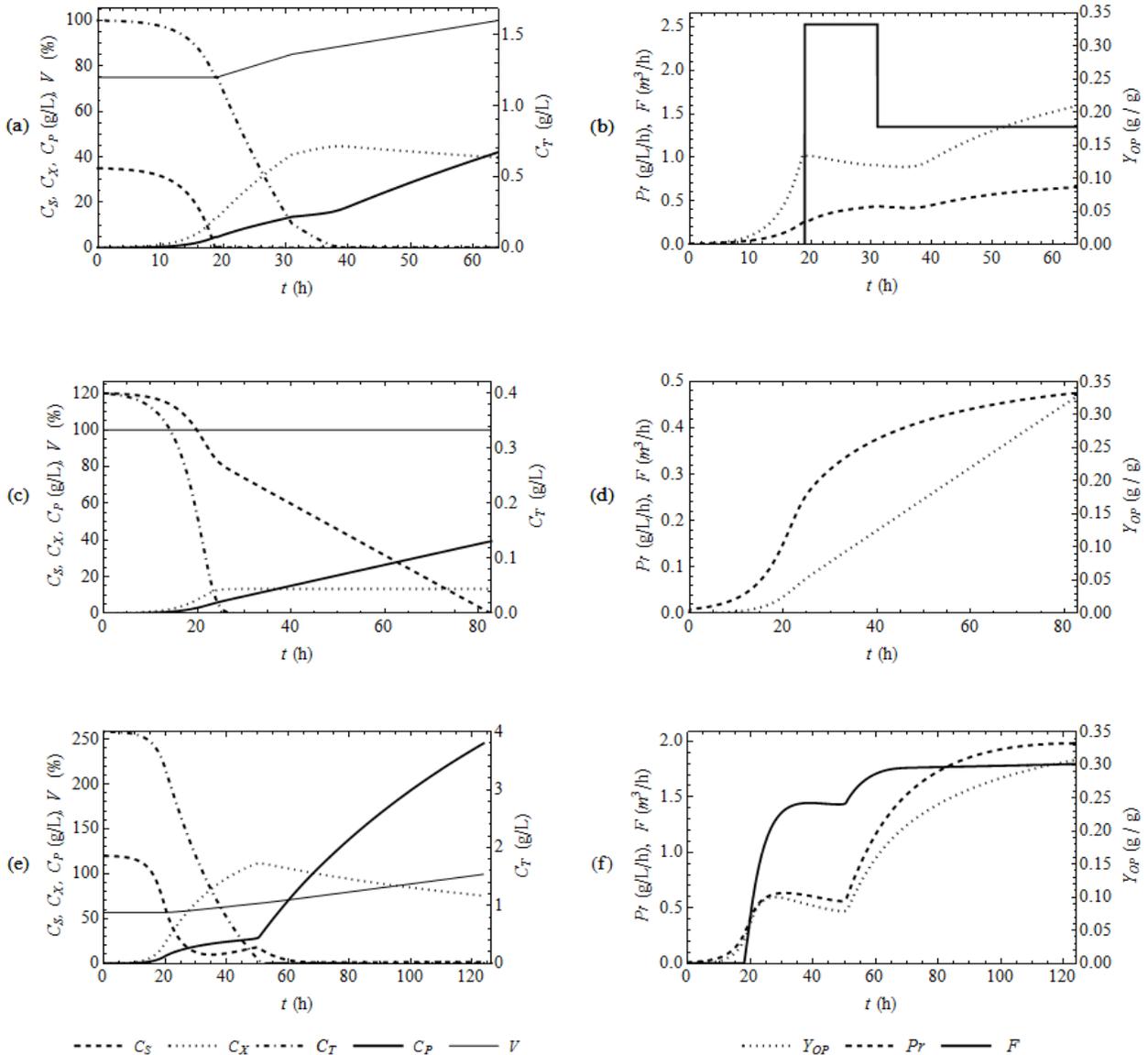


Fig. 11. Respuesta dinámica del reactor para: a,b Caso referencia; c,d ML; y e,f MLA

Las condiciones de operación a estudiar son $k_{L\alpha}$, $C_{S,0}$ y $C_{T,0}$ debido a su importancia en los criterios técnicos (Pr y Y_{OP}). Los intervalos evaluados fueron: $200 \text{ h}^{-1} \leq k_{L\alpha} \leq 1000 \text{ h}^{-1}$, $60 \text{ g/L} \leq C_{S,0} \leq 120 \text{ g/L}$ y $0,2 \text{ g/L} \leq C_{T,0} \leq 2 \text{ g/L}$. En primer lugar, se investigó el efecto de $k_{L\alpha}$ y $C_{T,0}$ para el ML, obteniendo que $k_{L\alpha}$ no tiene un efecto significativo en Y_{OP} (Fig. 12a), pero altos valores de $k_{L\alpha}$ aumentan ligeramente Pr (Fig. 12b). Por lo tanto, se recomiendan valores de $k_{L\alpha}$ alrededor de 1000 h^{-1} . Es importante mencionar que se obtuvieron resultados similares para MLA en cuanto el efecto de $k_{L\alpha}$. Para $C_{T,0}$, se puede observar que Y_{OP} disminuye mientras que $C_{T,0}$ se incrementa, por lo que se obtienen altos rendimientos de producto a bajas concentraciones de treonina, aunque altos valores de Pr (por encima de 0.6 g/L/h) obtenidos entre $0.4\text{-}0.7 \text{ g/L}$ de $C_{T,0}$ (véase Fig. 12b).

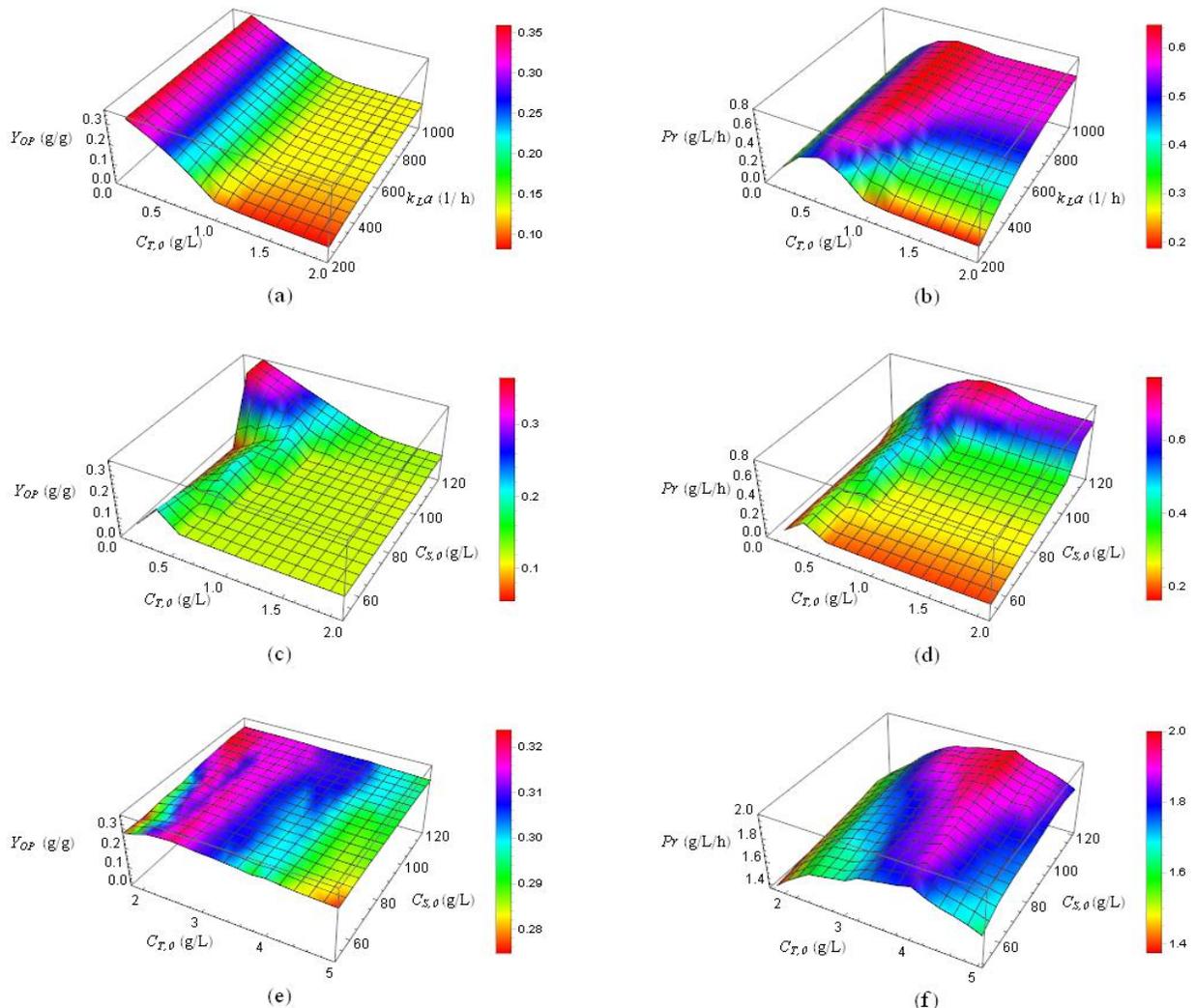


Fig. 12. Efecto de $k_{L\alpha}$, $C_{T,0}$ y $C_{S,0}$ sobre el rendimiento total del producto (Y_{OP}) y la productividad (Pr): a-d ML y e, f MLA

Como se ha mencionado anteriormente, la concentración inicial de los sustratos en la fermentación es clave para alcanzar valores altos de Y_{OP} y Pr . El efecto de $C_{S,0}$ y $C_{T,0}$ se muestran en las figs. (12c)-(12d) para el ML, mientras que las figs (12e)-(12f) corresponden al MLA. Se encuentran resultados satisfactorios cuando $C_{S,0}=120$ g/L para el ML y MLA. Se puede observar en las figs. (12d)-(12f) que Pr es fuertemente dependiente de $C_{T,0}$. Sin embargo, cuando la productividad aumenta, el rendimiento del producto disminuye. Para el ML, se eligió un valor intermedio de $C_{T,0} = 0,4$ para alcanzar altos valores de productividad y rendimiento (los valores máximos corresponden a $Pr = 0.47$ g/L/ h y $Y_{OP} = 0.33$ g/g). El valor de productividad es menor que del Caso de Referencia, pero el Y_{OP} fue incrementado. Por otro lado, para el MLA, $C_{T,0}$ no tiene un efecto significativo sobre Y_{OP} (ver Fig. 12e), así que, los valores que se considerarán para estudios posteriores están determinados por Pr . Por lo tanto, se encontraron resultados satisfactorios a 120 g/L de glucosa y aproximadamente 4 g/L de treonina, donde los valores máximos se alcanzaron a $Pr=1.99$ g/L/h y $Y_{OP} = 0.31$ g/g.

Un resumen de los principales resultados obtenidos del análisis dinámico del reactor de fermentación se muestra en la Tabla 3. El ML mostró un rendimiento de producto aproximadamente 65% más alto que el Caso de Referencia, sin embargo, su productividad fue 27.7% menor. Para el MLA, el rendimiento no tuvo una diferencia significativa con el ML, sin embargo, fue 55% mayor que el caso de referencia. Mientras que la productividad del MLA fue aproximadamente 3-4 veces mayor que el Caso de Referencia y el ML. Estos resultados satisfacen los criterios técnicos establecidos en el enfoque metodológico descrito en la Sección 2. Es importante mencionar que no hay estudios dinámicos reportados para la comparación del modo de funcionamiento de un reactor de fermentación de L-lisina. Por lo tanto, los resultados obtenidos aquí serán relevantes para el diseño, la rentabilidad y la sostenibilidad del proceso. Primero, usando los resultados dinámicos del reactor de fermentación se determinaron los coeficientes estequiométricos molares de la reacción de fermentación, obteniendo: (a, b, c, d, e, f, g, h) = (1, 0.908, 0.005, 2.290, 0.853, 0.403, 4.770, 2.740) para el ML y (1, 0.845, 0.0075, 2.591, 0.381 4.890, 3.010) para el MLA.

Tabla 3. Comparación en el modo de operación al final de la reacción

Caso	t_{react} (h)	$C_{S,total}$ (g/L)	C_P (g/L)	C_X (g/L)	Y_{OP} (g/g)	Pr (g/L/h)
Ref.	64.0	201.05	42.06	39.69	0.20	0.65
ML	82.8	120.00	39.26	13.3	0.33	0.47
MLA	123.8	796.42	246.26	75.07	0.31	1.99

3.4.2. Análisis técnico-económico y ambiental del proceso de producción

Análisis de rentabilidad

Ante un análisis costo-beneficio del proceso productivo, se consideraron los siguientes parámetros económicos: tiempo de funcionamiento anual de 50 semanas, período de depreciación de 15 años e impuestos sobre la renta del 30%. Con respecto al material que entró en el proceso, se consideraron melaza, treonina, ácido clorhídrico (37% p/p), hidróxido de amonio e hidróxido de sodio (1 M), cuyos precios se fijaron en 0.15 US \$/kg, 2.7 US \$/kg, 0.2 US \$/kg, 0.25 US \$/kg y 0.02 US \$/kg, respectivamente. De acuerdo con el enfoque propuesto presentado en la Sección 2, los criterios económicos para determinar la rentabilidad del proceso son: un CUP menor que el precio de venta de L-lisina-HCl (2 US\$/kg), un RSI superior al 20% y un PR de alrededor de 4 años.

El análisis técnico-económico también podría ayudar a determinar el diseño del proceso en término del número de reactores que se pueden utilizar en el proceso. Utilizando este método, se puede reducir el tiempo de ciclo del proceso (el tiempo de comienzo entre el inicio de dos lotes consecutivos), aumentar el rendimiento de la planta instalando una serie de reactores que funciona en modo escalonado y alimentar el mismo tren de purificación (Heinzle y col, 2007). La concentración de producto esperada, la duración de la reacción y el rendimiento esperado en sentido descendente se utilizan para estimar el número necesario de reactores. La estrategia de optimización consiste en aumentar el número de reactores, calcular el tiempo de ciclo correspondiente y el número de lotes por año, y reevaluar los parámetros técnicos y económicos. Para el ML, el número de reactores fue modificado (de 1 a 8) y no se encontró un escenario con un beneficio neto positivo. Sin embargo, para el MLA, se encontraron varios escenarios que cumplían los criterios de evaluación económica utilizando 5 y 6 reactores, con un punto de rentabilidad máximo cuando se emplean 6 reactores. Se muestran los resultados correspondientes para MLA en la Tabla 4 cuando el número de reactores se incrementa.

Otro factor esencial para ser determinado en un diseño conceptual de un proceso de producción es la capacidad de la planta, de acuerdo con la cantidad de materia prima y/o cantidad de producto deseado. Así, la Tabla 4 muestra también diferentes cantidades de melaza y criterios de evaluación económica para encontrar la rentabilidad del proceso para el MLA, donde se pueden ver varios escenarios que cumplen con los criterios de rentabilidad. A medida que la capacidad de la planta o número de reactores aumenta, la rentabilidad también aumenta, pero hay un máximo.

Puesto que después del punto máximo, la rentabilidad disminuye. De modo que el mejor escenario se encontró cuando se emplean 6 reactores para procesar 430 t/lote de melaza.

Tabla 4. Análisis de rentabilidad para la producción de L-lisina-HCl, variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA).

Melaza (t/lote)	CUP (US\$/kg) / RSI (%) / PR (año)			
	Número de Reactores			
	4	5	6	7
400	1.66/22.2/4.5	1.63/24.8/4.0	1.62/25.6/3.9	1.64/23.8/4.2
410	1.65/22.5/4.4	1.62/25.2/4.0	1.61/26.0/3.9	1.64/24.1/4.2
420	1.65/22.8/4.4	1.62/25.5/3.9	1.61/26.2/3.8	1.63/24.4/4.1
430	1.65/23.0/4.3	1.61/25.8/3.9	1.60/26.5/3.8	1.63/24.6/4.1
440	1.68/20.9/4.7	1.64/23.2/4.3	1.62/24.6/4.1	1.65/22.5/4.4
450	1.67/21.2/4.7	1.64/23.4/4.3	1.62/24.8/4.0	1.65/22.8/4.4
460	1.66/21.4/4.7	1.63/23.7/4.2	1.61/25.1/4.0	1.64/23.0/4.4
470	1.66/21.5/4.7	1.63/23.8/4.2	1.61/25.2/4.0	1.64/23.1/4.3

La Tabla 5 muestra los resultados de los mejores escenarios para ML y MLA (es decir, para los casos de estudios que se presentan en la Tabla 3 y el mejor caso de la Tabla 4) junto con un resumen del análisis económico. Para el ML, según los criterios de evaluación, el valor de CUP (2.91 US\$/kg) es mayor que el precio de venta y los valores de PR y RSI no se pueden calcular debido a un beneficio neto anual negativo. Para el MLA, los resultados muestran que los criterios económicos se encuentran dentro de los criterios de evaluación mencionados anteriormente. De esta manera el MLA muestra altos rendimientos económicos mientras que el ML no muestra rentabilidad. En particular, el ML no es rentable porque el medio de cultivo está más diluido que el MLA, así que se requiere mayor inversión ya que el procesamiento de la materia prima requiere mayor número de equipos en todas las secciones del proceso (tanques, fermentadores, equipos de separación). Además, el costo anual de operación es mayor (debido al mayor consumo de energía y mayores requerimientos de agentes de transferencia de calor). Por lo tanto, el beneficio neto anual para el ML es siempre negativo y el CUP es mayor que el precio de venta, así que el proceso no es rentable.

Tabla 5. Informe técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de L-lisina

Concepto	Valor		Unidades
	Caso ML	Caso MLA	
Informe técnico			
Tiempo de fermentación	82.8	123.8	h
Consumo anual de melaza	127 710*	131 580**	t/año
Producción anual de L-lisina	25 153	25 411	t/año
Producción anual de biomasa seca	43 243	37 581	t/año
Tiempo de ciclo de producción	27.8	26.9	h
Rendimiento global	0.196	0.193	kg/kg
Informe de rentabilidad			
Inversión de capital total			
Capital fijo directo	198 931 000	54 068 000	US\$
Capital de trabajo	3 534 000	2 728 000	US\$
Costos arranque	9 947 000	2 703 000	US\$
Inversión total	212 412 000	59 500 000	US\$
Ingresos			
Costo de venta unitario de L-lisina	2.0	2.0	US\$ /kg
Costo de venta unitario de biomasa seca	0.2	0.2	US\$ /kg
Ingreso anual por L-lisina	50 305 132	50 821 779	US\$/año
Ingreso anual por biomasa seca	8 648 610	7 516 163	US\$/año
Ingresos totales	58 953 742	58 337 942	US\$/año
Costo anual de operación	73 059 000	40 737 000	US\$/año
Costo de producción unitario (CUP)	2.91	1.60	US\$ /kg L-lisina
Retorno sobre la inversión (RSI)	-	26.5	%
Periodo de recuperación (PR)	-	3.8	año
Informe de Impacto Ambiental			
Agua de proceso	23.4	4.2	kg/kg
Vapor	47.9	7.1	kg/kg
Agua de enfriamiento	3 098.2	382.7	kg/kg
Energía eléctrica	11.5	2.6	MJ/kg
Emisiones de CO ₂	1.76	1.96	kg/kg
Índice PEI	0.0145	0.0124	PEI/kg

* Caso ML: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 20. Número de lotes por año = 297.

** Caso MLA: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 6. Número de lotes por año = 306.

En la Fig. 13 se presenta la contribución de cada una de las partidas en los costos de operación, como son materia prima (la mayor contribución), mantenimiento de las instalaciones, servicios, mano de obra, uso de laboratorio, y otros como tratamiento/desecho de residuos y consumibles (la menor aportación). De aquí la relevancia de seleccionar materias primas de fácil acceso y bajo costo.

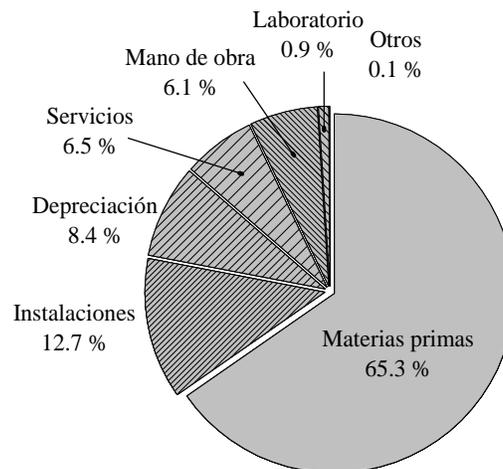


Fig. 13. Distribución de costos de operación para MLA

Análisis de impacto ambiental

Como se menciona en la subsección 2.4, se seleccionaron los criterios de evaluación del impacto ambiental como la cantidad de agua de proceso, agentes de transferencia de calor, consumo de energía, emisiones de CO₂ e índice PEI. Los resultados para los mejores casos ML y MLA se presentan en la Tabla 5. Cuando la capacidad de producción en ambos casos es similar (25 153 t/año de L-lisina-HCl para el ML y 25 411 t/año L-lisina-HCl para MLA, según la Tabla 5). En general, se puede observar que el ML: (i) requiere mayor cantidad de agua de proceso que el MLA, debido a que el medio de cultivo está más diluido para llevar a cabo la fermentación; (ii) requiere mayores cantidades de agentes de transferencia de calor (vapor, agua enfriada y refrigeración) para la etapa de purificación, porque el evaporador y algunos otros dispositivos necesitan eliminar más agua usada en las etapas del proceso para secar el producto; y (iii) por lo tanto requiere también una mayor cantidad de energía (aproximadamente 6 veces más que el MLA).

La cantidad de CO₂ emitida al medio ambiente durante el proceso es generada principalmente por la etapa de fermentación. Los resultados para las emisiones de CO₂ por kg se presentan en la

Tabla 5, además que el CO₂ también se representa como uno de los principales gases de efecto invernadero representados en el factor de impacto GWP de la Fig. 14. Para este criterio particular, la cantidad de emisiones de CO₂ para el MLA es ligeramente superior a las emisiones del ML. Esto se debe a que el MLA tiene un mayor tiempo de fermentación, lo que implica una mayor generación de CO₂.

El último criterio mostrado en la Tabla 5 es el índice PEI que tiene ocho factores de impacto (I_{out}), como se describe en la metodología (sección 2.4). La Fig. 14 muestra los posibles factores de impacto que tienen gran influencia en el ML y MLA, donde PCOP y ODP no están incluidos ya que ningún contaminante emitido en el ambiente reacciona con ozono para formar oxígeno molecular (es decir, PCOP y ODP son nulos). Los potenciales más altos son HTPI y TTP principalmente debido al cloruro de amonio, que se genera en la fermentación. El ácido clorhídrico se utiliza en la etapa de neutralización y se considera uno de los compuestos que tiene mayor influencia en el índice PEI, especialmente en el factor AP. Este compuesto se requiere en cantidades mayores para el ML, lo que contribuye a que tengan un mayor impacto. Por otro lado, el componente que tiene menor índice de impacto ambiental es el CO₂, que como se mencionó anteriormente, se produce en la fermentación. Cuando se agregan todos los factores para obtener el índice general de PEI, se deduce que el MLA tiene un menor impacto ambiental que el ML (a pesar de los resultados opuestos en las emisiones de CO₂).

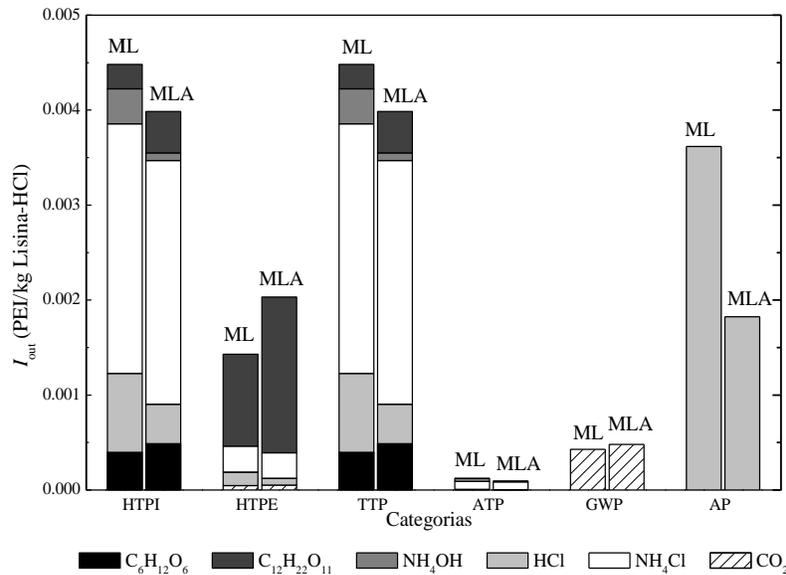


Fig. 14. Evaluación del índice de impacto ambiental potencial (PEI) para el ML y el MLA, considerando seis reactores.

Evaluación integrada

En la Fig. 15 se muestra una colección de los criterios más significativos dentro del análisis técnico económico y ambiental para el ML y el MLA. Para el ML, el rendimiento del producto disminuye con el aumento de la concentración de treonina, mientras que la productividad no varía significativamente. En contraste, el índice de PEI aumenta con la concentración de treonina. Los comportamientos no están correlacionados, por lo que es difícil seleccionar una concentración adecuada de treonina. Sin embargo, el comportamiento CUP muestra un mínimo de 0.4 g/L de treonina. Por lo tanto, este punto corresponde al mejor escenario para el ML.

Mientras que, para el MLA, el rendimiento del producto y el índice PEI no varían significativamente con el aumento de la concentración de treonina. Se observa un punto con un mínimo de CUP y una productividad máxima. Este punto corresponde a 4 g/L de treonina siendo el punto óptimo para operar el reactor de fermentación.

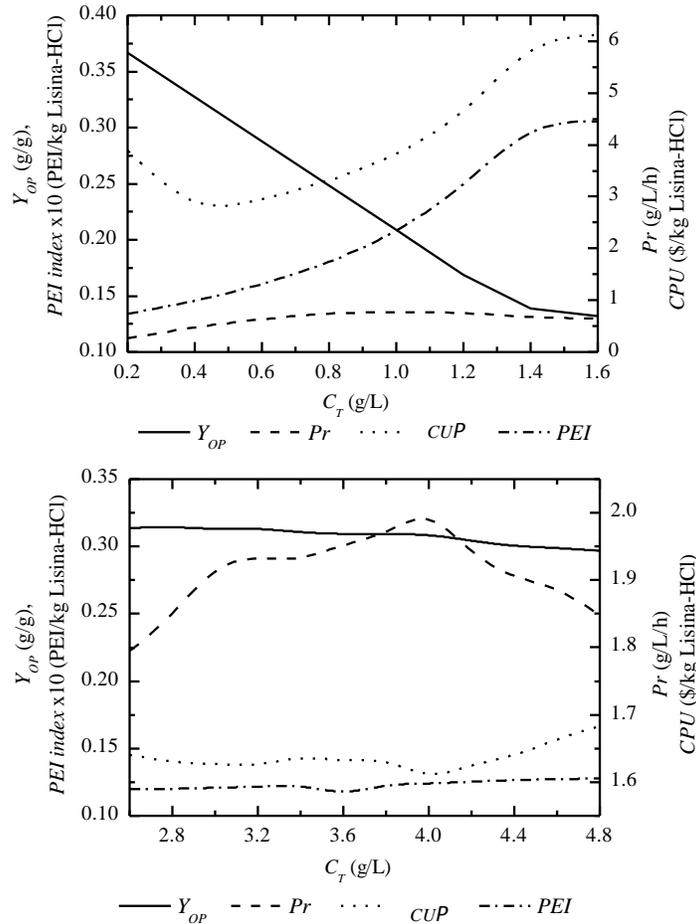


Fig. 15. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de L-lisina en función de C_T :
(a) ML, (b) MLA

En la Fig. 16 se establece un procedimiento simple para evaluar y comparar de manera integral los procesos de producción de los bioproductos seleccionados (en este caso, L-Lisina-HCl). Como variables dependientes se han seleccionado cada uno de los criterios que se requieren minimizar: $1/Pr$ y $1/Y_{OP}$ como parámetros técnicos; $1/RSI$ y PR como parámetros económicos; PEI , emisiones de CO_2 y consumo de energía E como parámetros ambientales. De manera que el caso de estudio que presente una menor área en las gráficas de radar (Fig. 16) corresponderá al mejor diseño sostenible. Como puede observarse, el caso MLA presentan un área menor al caso ML, y comparando todos los casos estudiados se concluye que el mejor diseño sostenible corresponde a la producción de ácido láctico en MLA, por lo tanto, se concluye que el mejor diseño sostenible corresponde a la producción de L-lisina en MLA con: $Y_{OP} = 0.31$ kg/kg, $Pr = 1.99$ kg/L/h, $CUP = 1.6$ US\$/kg, $RSI = 26.5\%$, $PR = 3.8$ años, $E = 2.6$ MJ/Kg y $PEI = 0.0124$ PEI/kg.

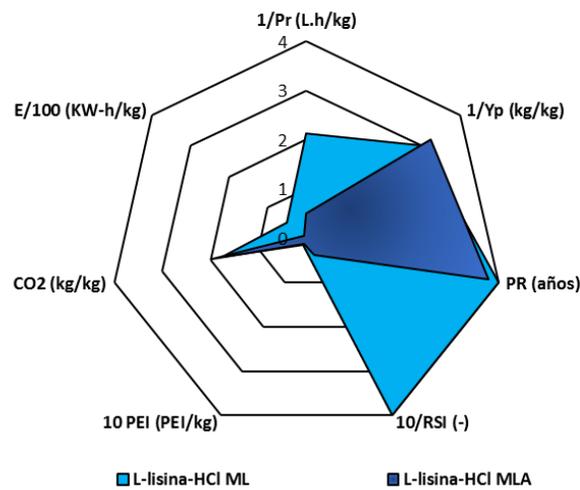
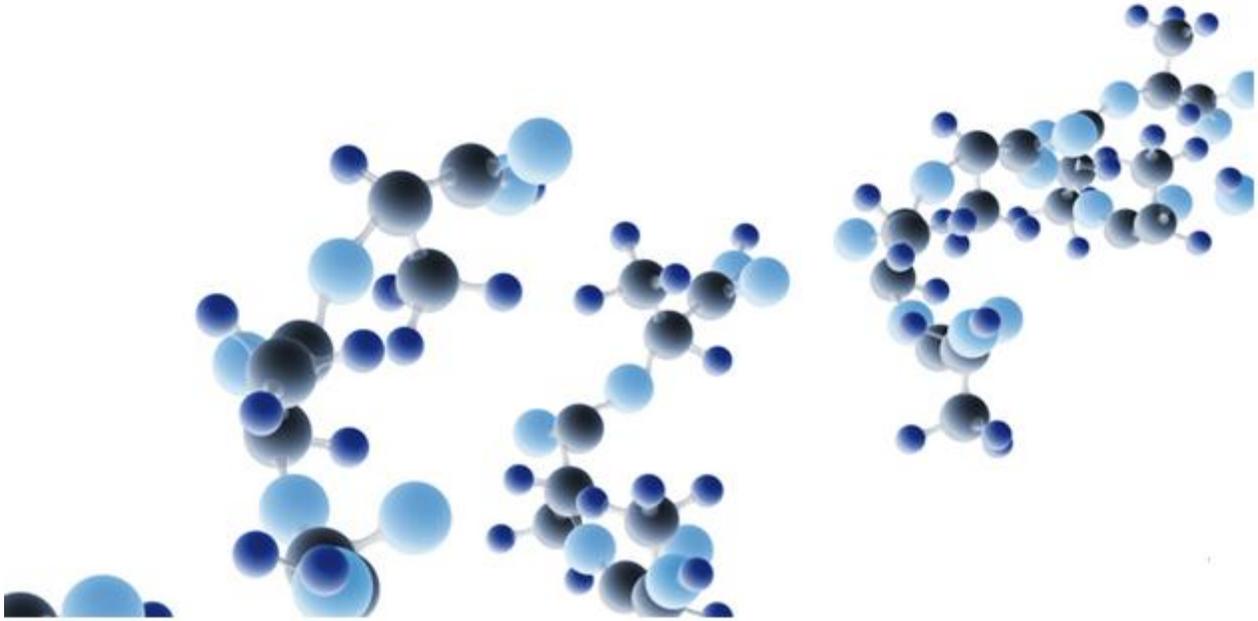


Fig. 16. Evaluación integral para el proceso de producción de L-lisina en ML y MLA.



CAPÍTULO IV. ÁCIDO LÁCTICO



4.1. Introducción

El AL principalmente se produce por fermentación con bacterias ácido-lácticas (LAB, por sus siglas en inglés), las cuales se dividen en homofermentativas y heterofermentativas. Las primeras, prácticamente sólo producen AL siguiendo la vía Embden-Meyerhof [Fig. 17]. Algunas de estas bacterias son *Lactobacillus (Lb.) helveticus*, *Lb. amylovorus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. delbruekii*, *Lc. lactis*, *Str. salivarius* entre otras. Las bacterias heterofermentativas pueden generar AL junto con otros productos adicionales, como etanol, dióxido de carbono y ácido acético (Serna-Cock y Rodríguez de Stouvenel, 2005). Algunas bacterias de este género son *Leuconostoc* y algunas especies de *Lactobacillus*. El rendimiento teórico de AL por glucosa es de 1 g/g y 0.5 g/g para bacterias homofermentativas y heterofermentativas, respectivamente (Abdel-Rahman y col., 2013).

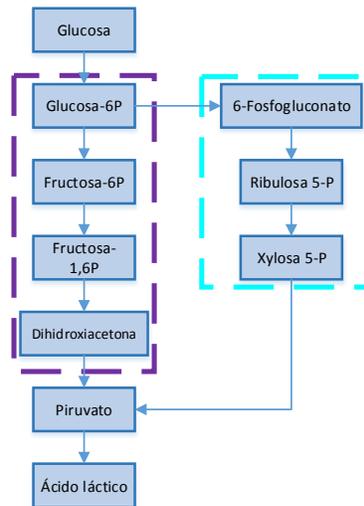


Fig. 17. Ruta metabólica para la obtención del ácido láctico de manera homofermentativa

La producción de AL es afectada por factores nutricionales de la bacteria, el exceso de acidez y la inhibición de sustrato y producto. Para lograr un alto crecimiento celular son importantes tanto los nutrientes como la fuente de carbono (ya sea en forma de azúcares, aminoácidos o ácidos orgánicos). El nitrógeno como nutriente está disponible en aminoácidos, péptidos y compuestos inorgánicos y pueden ser agregados al medio de cultivo, como extracto de levadura, peptona, urea y sulfato de amonio. Otros nutrientes, como las vitaminas que están presentes en el extracto de levadura, son elementos esenciales que actúan como cofactores en muchas reacciones enzimáticas (Martínez y col., 2013). Se ha demostrado que el AL como producto ejerce un efecto inhibitorio sobre el crecimiento celular, posiblemente debido al aumento de la presión osmótica y por algunos subproductos de fermentación heteroláctica (como ácido fórmico o acético) (Martínez y col., 2013). Bibal y col. (1989) estudiaron la tolerancia de las cepas por el AL y

encontraron que los valores críticos del producto final, pueden estar relacionados a la concentración de extracto de levadura y triptona en el medio. Por lo tanto, la concentración de extracto de levadura y triptona puede ser utilizada como una estrategia ante la inhibición del producto, debido a que el medio de cultivo utilizado como factor de crecimiento y nitrógeno proteico está relacionado con la inhibición del microorganismo.

También puede ocurrir inhibición por altas concentraciones de azúcar en el medio, por lo que decrece la concentración de producto y la productividad (Nancib y *col.*, 2015). La fermentación por lote es el método más utilizado industrialmente para la producción de AL, sin embargo, una de sus limitantes principales se enfoca en el uso de altas concentraciones, ya que ocurre una inhibición hacia el microorganismo. Una de las estrategias es utilizar una fermentación en modo lote alimentado, ya que el sustrato puede ser añadido al medio de manera parcial logrando reducir los efectos de inhibición.

Por lo tanto, para mitigar el efecto de la inhibición, se han propuesto diversas estrategias, entre las que se encuentran el uso de tecnologías de fermentación capaces de eliminar el producto del medio, la neutralización del AL para dar su forma disociada que tiene un efecto menos inhibitorio y la adaptación de microorganismos y/o el uso de cultivos mixtos (Martínez y *col.*, 2013).

4.2. Modelo del reactor

Existen diversos modelos cinéticos reportados sobre la fermentación del AL. Lunelli y *col.* (2010) estudiaron la fermentación por lote de AL utilizando el modelo de Luedeking-Piret basado en inhibición de sacarosa hacia el microorganismo. De manera similar, Sharma y Mishra (2014) se basaron en el modelo logístico, considerando *L. plantarum* como microorganismo y utilizando como sustrato desechos de jugo de calabaza y zanahoria, debido a que contienen altas cantidades de azúcares totales. Zacharof & Lovitt (2013) consideran una fermentación con *L. lactis* y proponen una extensión del modelo logístico en combinación con el modelo de Taylor y Hinselwood. Su estudio se lleva a cabo en modo lote, lote alimentado y continuo, no obstante, el estudio solo es a escala laboratorio.

Se considera un reactor tipo tanque agitado, en el cual se lleva a cabo la reacción de homofermentación de azúcares con *Lactobacillus casei ssp. Rhamnosus* para producir AL, en condiciones isotérmicas (42 °C) y anaerobias.

El modelo cinético (Youssef y *col.*, 2005) para la fermentación considera inhibición por producto y por sustrato en la velocidad de crecimiento específico, μ :

$$\mu = \bar{\mu}_{\max} \left(\frac{K_p}{K_p + C_p} \right) \left(\frac{C_s}{K_{SC} + C_s} \right) \left(1 - \frac{C_p}{C_{pc}} \right) \quad (18)$$

Mientras que la velocidad específica de consumo, q_s , y la velocidad específica de producción de AL, V_p , están dadas por:

$$q_s = \frac{V_p}{Y_{p/s}} \quad (19)$$

$$V_p = \delta\mu + \beta \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \quad (20)$$

Además, existe un ajuste de los parámetros cinéticos que depende del factor de enriquecimiento del medio afín α , el cual relaciona las cantidades de nutrientes requeridas para la fermentación (correspondiendo $\alpha=1$ a 5 g/l de extracto de levadura y 10 g/L de triptona):

$$K_s = K_{s\max} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha s} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (21)$$

$$\bar{\mu}_{\max} = \mu_{\max} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha \mu} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (22)$$

$$K_p = K_{p\max} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha p} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (23)$$

Debido a que puede ocurrir una inhibición en la fermentación por concentraciones altas de sustrato, una opción para contrarrestar este efecto es suministrar una corriente de alimentación de sustrato al medio de cultivo. De este modo se podría incrementar la productividad y reducir el tiempo de fermentación. Así, una de las propuestas en este trabajo es comparar el modo de operación del reactor: (ML) y (MLA). Cabe señalar que no se considera el modo de operación continuo, ya que las fermentaciones continuas a escala industrial tienen debilidades como inestabilidad microbiológica o contaminación, y dificultades técnicas como menor concentración de productos finales, procesamiento aguas abajo más complicado, limitaciones de mezcla y transferencia de oxígeno durante períodos largos, y los procesos continuos requieren un alto consumo de energía para mantener la esterilidad a largo plazo (Li y col., 2014).

Los balances de masa para el reactor de fermentación en ML y MLA están descritos por las siguientes ecuaciones (los parámetros del modelo y las variables involucradas se presentan en la Tabla 6):

$$\frac{dC_S}{dt} = -q_s C_X + \frac{F}{V} (C_{S,F} - C_S), \quad C_S(0) = C_{S_0} \quad (24)$$

$$\frac{dC_X}{dt} = C_X (\mu - K_d) - \frac{F}{V} C_X, \quad C_X(0) = C_{X_0} \quad (25)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = V_P C_X - \frac{F}{V} C_P, \quad C_P(0) = C_{P_0} \quad (26)$$

$$\frac{dV}{dt} = F, \quad V(0) = V_0 \quad (27)$$

Para el caso ML no se considera flujo de alimentación ($F = 0$), así que el volumen permanece constante. Mientras que los procesos en MLA se pueden clasificar de acuerdo con la estrategia de alimentación, ya sean estrategias a lazo abierto o a lazo cerrado (comúnmente mediante control retroalimentado). Para este trabajo consideramos dos estrategias a lazo abierto mediante flujos de alimentación: (a) escalonado y (b) exponencial.

La estrategia de alimentación mediante flujo escalonado está basada en la velocidad de crecimiento de la biomasa [dC_X/dt , Ec.(25)]. Para implementar esta estrategia se inicia la operación del reactor en ML hasta que dC_X/dt alcance su valor máximo, punto en el cual se inicia la adición de sustrato. Cuando dC_X/dt llega a cero, se elimina la adición de sustrato y se opera nuevamente el reactor en ML hasta que se consuma el sustrato remanente.

La estrategia de alimentación con flujo exponencial está basada en la velocidad específica de crecimiento de la biomasa [μ , Ec. (18)], la cual bajo condiciones ideales crece de manera exponencial. Si la velocidad de alimentación del sustrato aumenta en proporción a la tasa de crecimiento exponencial, es posible mantener una alta tasa de crecimiento durante un largo tiempo (Yamanè y Shimizu, 1984). El flujo exponencial de alimentación de sustrato está determinado por la Ec.(28), la cual se deriva de los balances de materia de sustrato y biomasa, y considerando μ constante:

$$F = \frac{q_s V_0 C_{X,0} e^{(\mu - k_d)t}}{C_{S,F} - C_{S,0}} \quad (28)$$

Este flujo exponencial de alimentación es la base de un diseño de control pre-alimentado, el cual depende de las condiciones iniciales del cultivo ($C_{X,0}$, $C_{S,0}$, V_0), de la concentración de la alimentación ($C_{S,F}$) y la cinética de fermentación (μ , k_d , q_s).

Tabla 6. Parámetros del modelo para la fermentación de AL utilizando glucosa y *Lactobacillus casei ssp. Rhamnosus* (Youssef y col., 2005).

Parámetro	Valor	Unidades	Nomenclatura
K_{SC}	0.5	g/L	Constante de afinidad de anabolismo
K_{Smax}	12	g/L	Constante de afinidad de catabolismo
K_{pmax}	15	g/L	Constante de inhibición máxima por producto
$Y_{P/S}$	0.98	g/L	Rendimiento producto-sustrato determinada por la biomasa
C_{PC}	95	g/L	Concentración crítica de producto, g/L
k_d	0.02	1/h	Constante de muerte celular, h
μ_{max}	0.45	1/h	Velocidad específica máxima de crecimiento de la biomasa
δ	3.5	g/L	Constante de producción asociada al crecimiento
β	0.9	g/L/h	Constante de producción no asociada al crecimiento
α_0	0.02	g/g	Factor de enriquecimiento mínimo para crecimiento
$K_{\alpha\mu}$	0.2	g/g	Constante de saturación asociada al crecimiento
$K_{\alpha p}$	1.1	g/g	Constante de saturación asociada al producto
$K_{\alpha S}$	4	g/g	Constante de saturación asociada al sustrato
Condiciones de operación	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S,F}$	1700	g/L	Concentración de la glucosa en la alimentación
F	0 ^{a,b} , F ^c	L/h	Velocidad de alimentación de glucosa
$V_{reactor}$	0.002 ^a , 300 ^b , 400 ^c	m ³	Volumen de llenado del reactor
Condiciones iniciales	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S,0}$	50 ^{a,b,c}	g/L	Concentración de glucosa inicial
$C_{X,0}$	0.03 ^a , 0.01 ^{b,c}	g/L	Concentración de biomasa inicial
$C_{P,0}$	0	g/L	Concentración de producto inicial
V_0	0.002 ^a , 500 ^b , 485 ^c	m ³	Volumen inicial

^a Caso de referencia, ^b ML, ^c MLA

4.3. Diseño conceptual del proceso de producción

Existen pocos estudios técnico-económicos del proceso de producción de AL (por mencionar: Akerberg y Zacchi, 2000; González y *col.*, 2007). No obstante, no hay estudios que integren las multi-escalas (i.e., considerando desde la escala macroscópica del reactor hasta la escala industrial para su comercialización) ni la evaluación del impacto ambiental del proceso de producción.

La Fig. 18 muestra el diagrama de flujo del diseño conceptual para la producción de AL a partir de la homofermentación utilizando melaza de caña de azúcar en el proceso. La biorrefinería se divide en cuatro secciones: (a) preparación de la melaza, (b) preparación del medio de cultivo, (c) fermentación, y (d) purificación. Cada una de las secciones está delimitada por áreas grises.

El objetivo de la sección de preparación de melaza y preparación de medio de cultivo se encuentran descritos en la sección 3.3.

En la sección de fermentación, la melaza, los nutrientes y la biomasa (*Lb. casei ssp. Rhamnosus*) se transfieren al reactor (FR-301), donde la mezcla es diluida para lograr la concentración inicial deseada en el reactor de fermentación. Se utilizan agentes de transferencia para mantener el medio de cultivo a una temperatura de 42°C en condiciones anaerobias, ya que ocurre una fermentación homoláctica. El tiempo de fermentación, el rendimiento y la productividad son calculados previamente del análisis dinámico del reactor. Las condiciones de operación seleccionadas favorecen el crecimiento de biomasa y la alta producción de AL. Las principales reacciones que se llevan a cabo en esta etapa son:



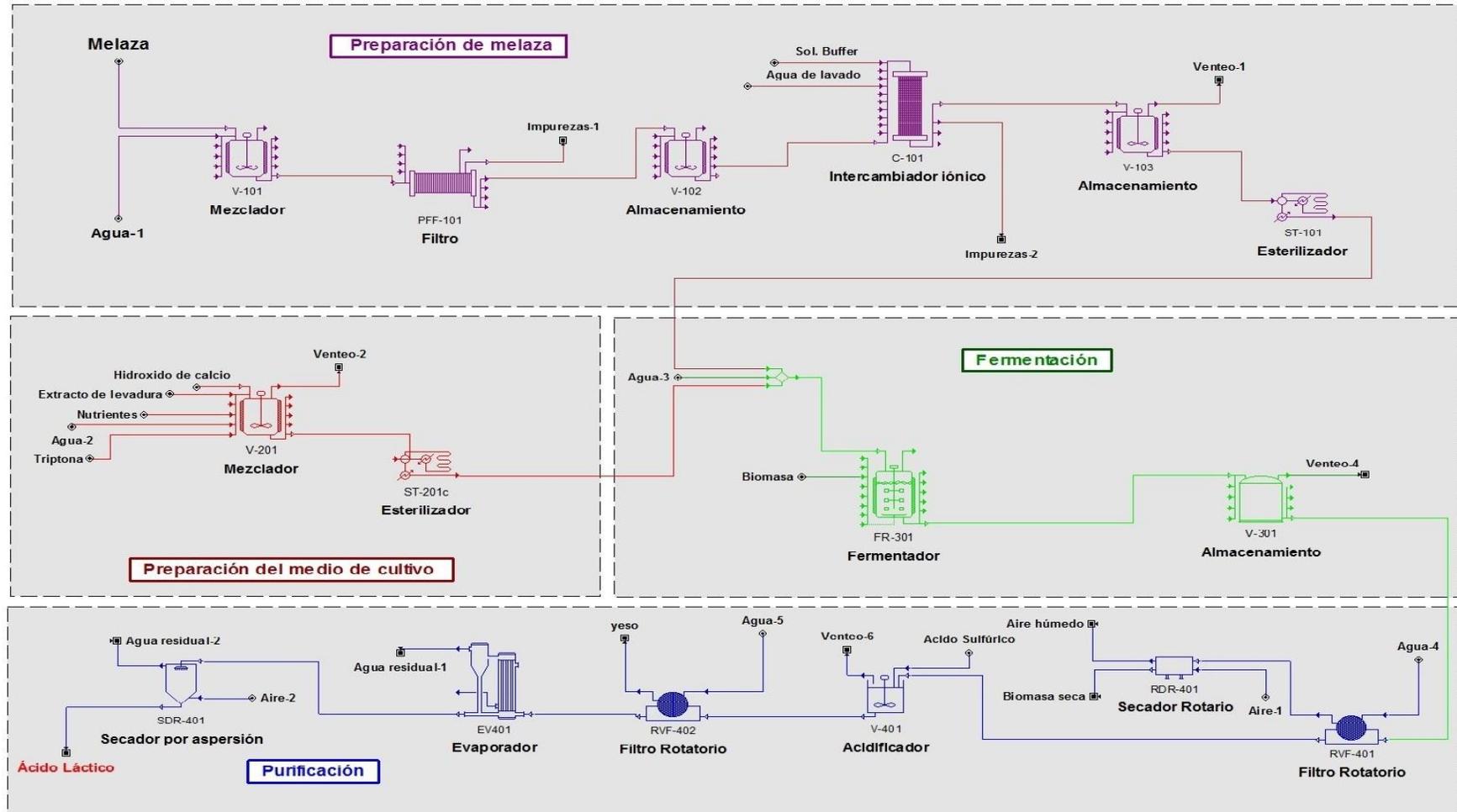


Fig. 18. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de ácido láctico

Los sustratos que contiene la melaza son la sacarosa y glucosa utilizadas como fuente de carbono para el microorganismo (o biomasa). Primero, la sacarosa es convertida en glucosa por medio de hidrólisis [Ec. (29)] e incorporada al resto de glucosa para ser utilizada en la fermentación. Una vez que el microorganismo se alimenta de los nutrientes, se produce AL y una mayor cantidad de biomasa [Ec. (30)]. Los coeficientes estequiométricos (a , b , c , d) de esta reacción dependen de las condiciones de operación para determinar los rendimientos de producto/sustrato y biomasa/sustrato (los cuales se obtendrán del análisis dinámico del reactor). Debido a que la producción de biomasa es inhibida por el propio AL producido, se agrega hidróxido de calcio al fermentador para neutralizar el ácido [Ec. (31)], manteniendo la mezcla reactiva a un pH de 5-6 y formando sales de calcio. Con el propósito de incrementar la capacidad instalada de la biorrefinería y obtener mayor producción, se utilizan reactores de capacidad máxima de 500 m³, que actualmente llegan a ser utilizados en producción a gran escala (Eggeling & Bott, 2015). Debido a la gran cantidad de melaza a procesar, se implementa un tren de reactores de fermentación en paralelo, sin embargo, solo se muestra uno en el diagrama de flujo. El número de reactores es determinado tal que se cubra la demanda de producto y el informe económico indique que el proceso es rentable. Una vez que se completa la fermentación, el caldo se descarga en un tanque de almacenamiento (V-301), que actúa como un amortiguador entre la sección de fermentación y la sección de purificación.

La sección de purificación comienza con la eliminación de la biomasa mediante un filtro rotatorio al (RVF-401). Por una parte, la biomasa se seca en un secador rotario (RDR-401), la cual constituye un producto secundario para venta (suplemento para piensos). Por otra parte, el AL es recuperado y purificado del licor de fermentación clarificado.

El AL es recuperado del licor de fermentación clarificado en el tanque V-401, mediante la disociación del lactato de calcio con ácido sulfúrico, produciendo CaSO₄ (yeso) como se indica en la siguiente reacción:



Seguido de la acidificación, el yeso es removido por un filtro rotatorio (RVF-402). Debido a que se manejan altas cantidades de agua (utilizada para dilución, hidrólisis, Ec. (29) y producida en la reacción final en la fermentación, Ec. (31)). Ésta es removida por un evaporador (EV-401) y un secador por aspersión (SDR-401). El producto final tiene una pureza de 50.5% de AL.

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación

(a) Validación

El modelo del reactor de fermentación de AL [ecs. (18)-(27)] fue validado utilizando datos experimentales para una fermentación ML de glucosa, reportados por Youssef y *col.* (2005), considerando $C_{S,0} \approx 50$ g/L, $C_{X,0} = 0.03$ g/L y $C_{P,0} = 0$. La Fig. 19 muestra la validación de la simulación con respecto a los datos experimentales, para los factores de enriquecimiento mínimo y máximo: (a) $\alpha = 1$ y (b) $\alpha = 4$. Como se puede notar, el modelo reproduce satisfactoriamente el comportamiento dinámico de las concentraciones de las especies involucradas. El final de la reacción ML está determinado por punto en el cual se ha consumido el sustrato y la concentración de producto cuando alcanza su valor máximo, en el cual se obtienen los máximos valores de productividad y rendimiento. Se puede observar que los rendimientos son similares para ambos valores de α , pero se obtiene mayor productividad utilizando $\alpha = 4$ dado que el tiempo de reacción es menor.

(b) Modo lote (ML)

Con la finalidad de comparar resultados entre los modos de operación, se evaluaron los criterios técnicos definidos, con las siguientes condiciones de operación: $C_{S,0} = 50$ g/L, $C_{P,0} = 0$, $C_{x,0} = 0.1$ g/L, $V_0 = 500\ 000$ L; y el factor de enriquecimiento α fue manipulado en el rango de 1 – 4. Los valores al final de la reacción se presentan en Tabla 7 para los diferentes valores de α . Nuevamente se observa que la productividad Pr es más alta con $\alpha = 4$, mientras el rendimiento Y_{OP} no es sensible al factor α , ya que su valor se mantiene constante para todos los casos. De lo cual se concluye que se logran mejores resultados técnicos al aumentar el factor de enriquecimiento.

Tabla 7. Comparación del modo de operación para diferentes valores de α .

α	ML			MLA		
	t_{reac}	Pr	Y_{OP}	t_{reac}	Pr	Y_{OP}
1	29.6	1.6	0.97	54.1	1.7	0.97
2	24.8	1.9	0.97	43.2	2.2	0.97
3	23.3	2.0	0.97	40.5	2.3	0.97
4	22.7	2.1	0.97	39.4	2.4	0.97

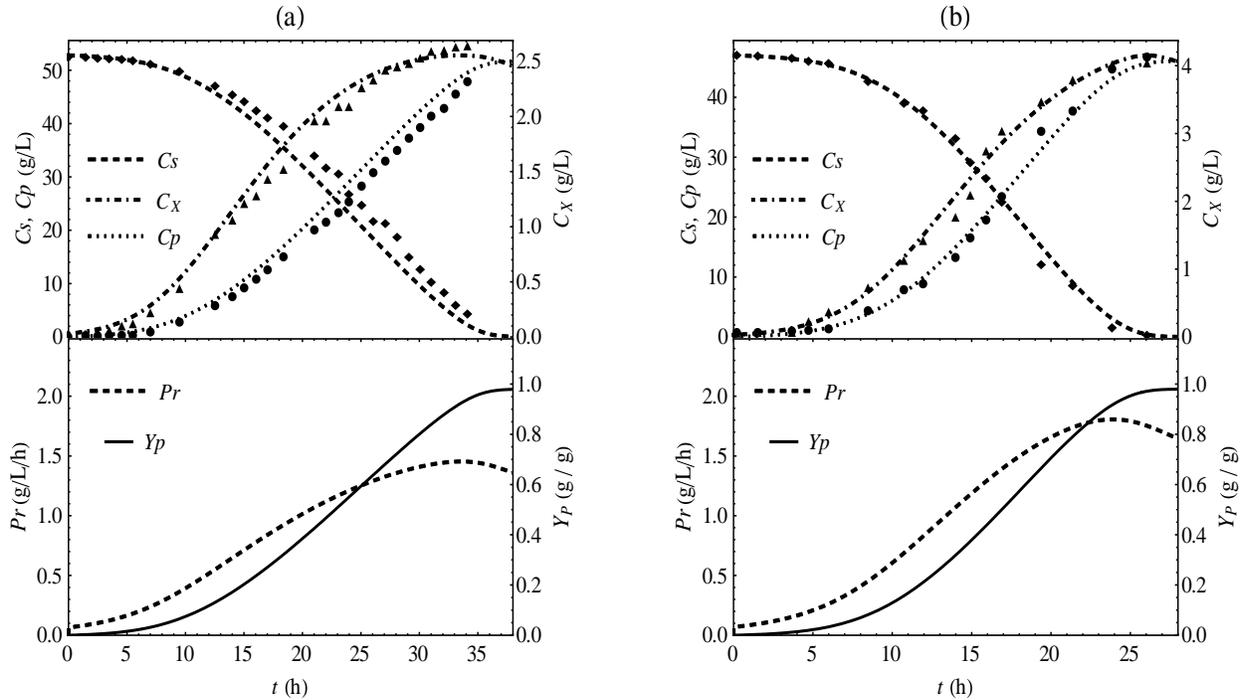


Fig. 19. Respuesta dinámica del reactor de fermentación ML para: (a) $a = 1$, (b) $a = 4$.

(c) *Modo lote alimentado (MLA)*

Como se mencionó en la sección 4.2, se consideran dos estrategias de alimentación de sustrato. En la Fig. 20 se comparan los comportamientos cuando se implementa un flujo escalonado y un flujo exponencial, considerando las condiciones iniciales: $C_{S,0} = 50$ g/L, $C_{P,0} = 0$, $C_{x,0} = 0.1$ g/L, $V_0 = 485\ 000$ L, $C_{S,F} = 1700$ g/L.

En la estrategia de alimentación de flujo escalonado (Fig. 20a), el factor relevante es dC_x/dt , Ec. (25). La operación del reactor se comienza en ML hasta que dC_x/dt alcanza su valor máximo, en $t = 10$ h, punto en el cual se inicia el flujo de alimentación. El flujo se mantiene constante mientras $dC_x/dt > 0$, lo cual indica que el microorganismo se encuentra en su fase de crecimiento exponencial, y por lo tanto requiere del mayor consumo de sustrato. El flujo de alimentación se elimina cuando $dC_x/dt < 0$, lo cual ocurre en $t = 25$ h. A partir de este punto el fermentador es nuevamente operado en ML hasta que el sustrato remanente se consume totalmente. Logrando al final de la reacción valores de $Y_{OP} = 0.97$ kg/kg y $Pr = 2.4$ kg/L/h.

Por otra parte, en la Fig. 20b se muestra la implementación de la estrategia de flujo exponencial. En este caso el flujo de alimentación es calculado directamente por la Ec. (28). Debido a que este modo de alimentación está relacionado la velocidad específica de crecimiento del microorganismo, cuando μ es nulo, no existe flujo de alimentación al reactor. En la Fig. 20b se

observa la respuesta dinámica de las concentraciones de las especies reactivas, la productividad y el rendimiento, los cuales siguen un comportamiento similar a la estrategia de flujo escalonado. A pesar de que la dinámica del flujo de alimentación es diferente, se observa que la variación dC_X/dt es similar para ambas estrategias. Al final de reacción se logra alcanzar resultados de $Y_{OP} = 0.97$ kg/kg y $Pr = 2.4$ kg/L/h.

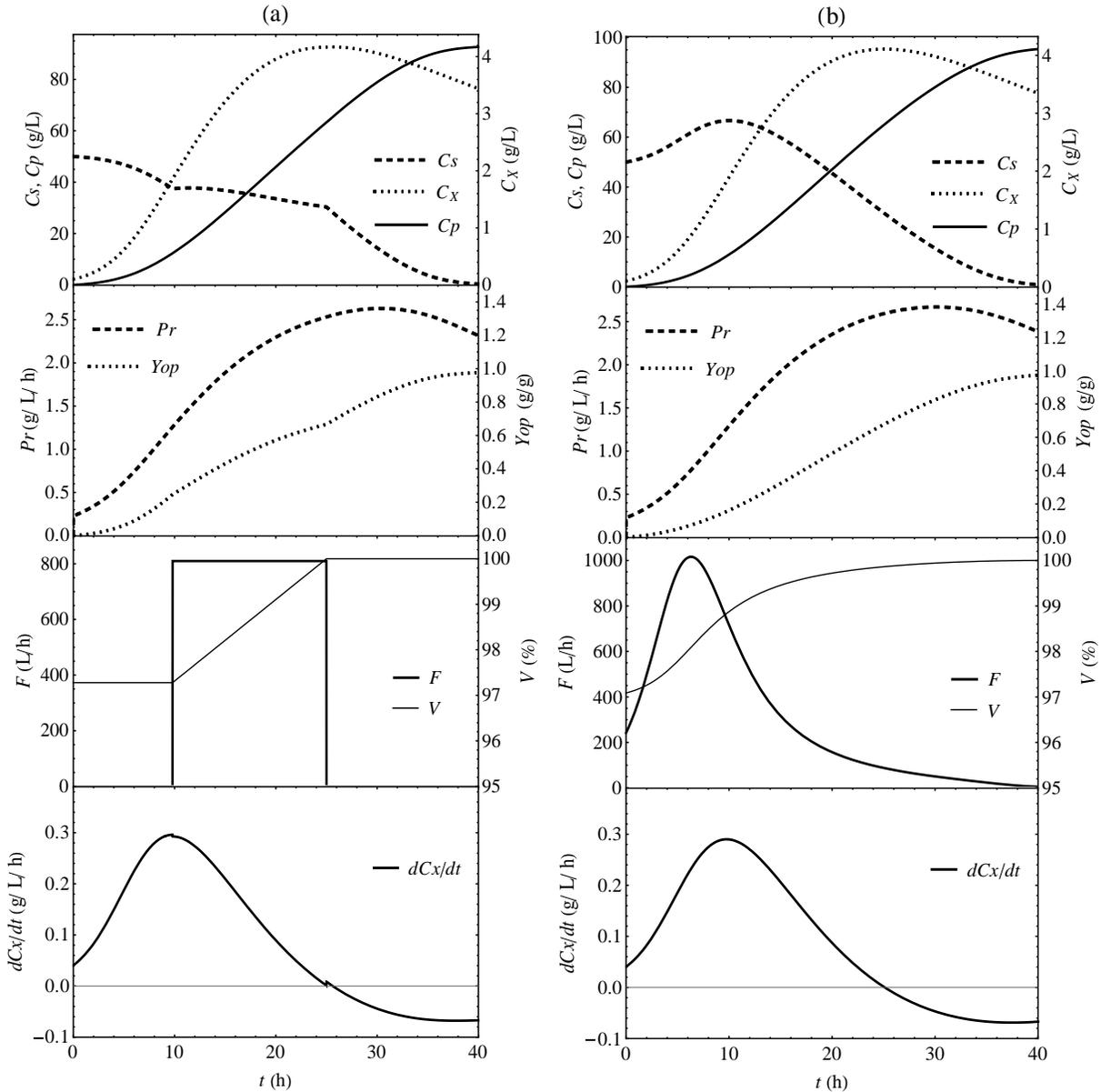


Fig. 20. Respuesta dinámica del reactor de fermentación MLA (con $a = 4$) para: (a) flujo escalonado, (b) flujo exponencial

A pesar de lograr valores idénticos de Y_{OP} y Pr utilizando ambas estrategias de adición, la estrategia exponencial tiene la ventaja de que el flujo es precalculado automáticamente de los balances de materia [Ec. (28)], mientras que la estrategia de flujo escalonado debe diseñarse de forma manual.

De manera similar al reactor en ML, se llevaron a cabo simulaciones con diferentes valores de α para el MLA, usando la estrategia de adición de flujo exponencial. Los resultados se presentan en la Tabla 7 donde se observa que nuevamente se alcanza una máxima productividad y menor tiempo de reacción con $\alpha = 4$, además que el reactor MLA siempre alcanza productividades mayores que su correspondiente ML.

4.4.2. Análisis técnico-económico-ambiental del proceso de producción

Se implementó el proceso de producción descrito en la Sección 4 considerando los casos de operación del reactor en ML y MLA para cada valor de α . Primero, usando los resultados dinámicos del reactor de fermentación se determinaron los coeficientes estequiométricos de la reacción de fermentación, Ec. (30), obteniendo: $(a, b, c, d) = (1, 0.054, 0.58, 1.92)$ para el ML y $(1, 0.004, 0.24, 1.94)$ para el MLA. Luego, para cada valor de α se realizó un análisis de rentabilidad-sustentabilidad en función de la cantidad de melaza procesada y el número de reactores instalados.

Análisis de rentabilidad

La Tabla 8 muestra el análisis de rentabilidad, en particular, para el caso de MLA con $\alpha = 1$. Como puede observarse, para este caso todos los escenarios cumplen que el CUP es mucho menor al costo de venta de AL (1.38 US\$/kg), el RSI es mucho mayor a 20% y PR es menor a 4 años. Logrando los mejores valores de rentabilidad para el proceso con 430 t/lote e implementado 24 reactores escalonados. Al comparar los resultados del análisis de rentabilidad para valores de $\alpha = 1, 2, 3$ y 4, se lograron los mejores resultados económicos con $\alpha = 1$; contrariamente a la evaluación técnica en la que se concluyó que las mejores productividades se lograron con $\alpha = 4$ (de acuerdo con la Tabla 7). Desde el punto de vista técnico, altos valores de α involucran mayor cantidad de nutrientes, velocidad de producción de AL más rápida y mayor productividad. Sin embargo, los criterios económicos indican todo lo contrario, debido a que un valor mayor de α involucra un mayor consumo de extracto de levadura, cuyo costo es mucho más alto (9.2 US\$/kg) comparado con la melaza (0.15 US\$/kg) y demás nutrientes.

Tabla 8. Análisis de rentabilidad para la producción de AL, variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA).

Melaza (t/lote)	CUP (US\$/kg) / RSI (%) / PR (año)			
	Número de Reactores			
	18	24	30	36
400	0.69/52.60/1.90	0.67/61.17/1.63	0.68/57.03/1.75	0.69/50.84/1.97
410	0.69/52.57/1.90	0.66/61.23/1.63	0.67/57.16/1.75	0.69/51.01/1.96
420	0.69/52.83/1.89	0.66/61.60/1.62	0.67/57.70/1.73	0.69/51.50/1.94
430	0.68/53.34/1.87	0.66/62.19/1.61	0.67/58.27/1.72	0.69/52.02/1.92
440	0.69/52.14/1.92	0.67/60.54/1.65	0.68/56.37/1.77	0.69/50.19/1.99
450	0.70/48.25/2.07	0.67/56.72/1.76	0.68/53.23/1.88	0.70/47.68/2.10
460	0.72/41.76/2.39	0.69/50.13/1.99	0.70/47.67/2.10	0.72/43.13/2.32
470	0.72/42.29/2.36	0.69/50.73/1.97	0.70/48.22/2.07	0.72/43.62/2.29

La distribución de costos de operación, presentada en la Fig. 21, muestra que efectivamente el mayor porcentaje corresponde al consumo de extracto de levadura, seguido por el consumo de melaza y en tercer lugar por los costos relacionados a las instalaciones de la biorrefinería. Más aún, el costo por consumo de extracto de levadura es casi el doble para $\alpha = 4$ (71.1%) en comparación con $\alpha = 1$ (37.9).

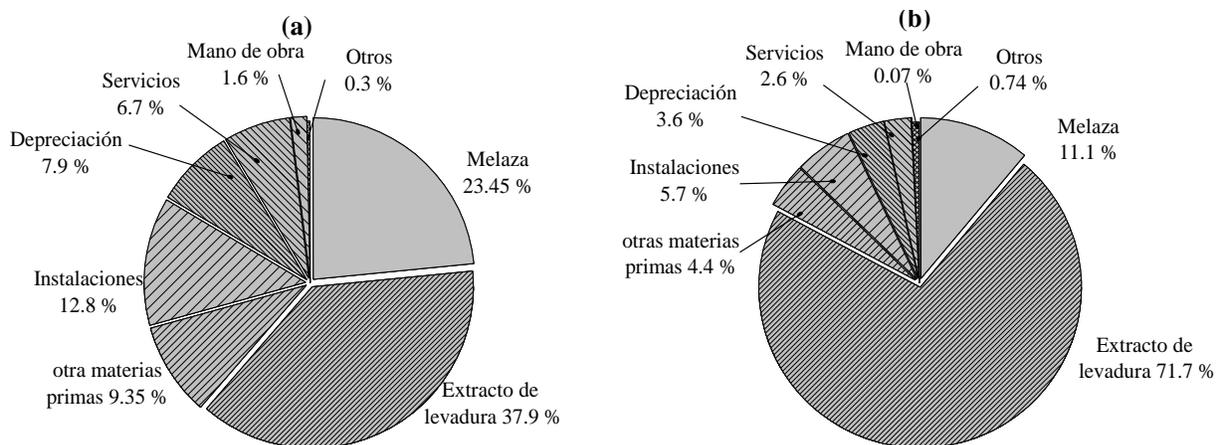


Fig. 21 Distribución de costos de operación para la producción de ácido láctico:
(a) $\alpha = 1$, (b) $\alpha = 4$.

El informe técnico-económico-ambiental desglosado para los dos mejores casos ML y MLA (con $\alpha = 1$) se presentan en la Tabla 9. Las capacidades instaladas en ambos casos son similares: 136 291 t/año de AL para el caso ML y 129 476 t/año de AL para el caso MLA. Se puede observar que ambos casos ML y MLA nuevamente satisfacen los criterios de rentabilidad establecidos (para CUP, RSI y PR), no obstante, el mejor escenario de rentabilidad para la producción de AL corresponde al MLA.

Análisis de impacto ambiental

Sobre el impacto ambiental de este proceso de producción, la tercera sección de la Tabla 9 muestra los resultados para los mejores casos ML y MLA. Los aspectos relevantes de este análisis son: (i) los requerimientos de agua de proceso y de agentes de transferencia (enfriamiento y calentamiento) son menores para el MLA, debido a que con la estrategia de alimentación se procesa mayor cantidad de melaza con menor cantidad de agua; (ii) el consumo de energía también es menor para el MLA, debido principalmente a que los tiempos de fermentación son menores (menor consumo de energía para aireación y agitación); y (iii) el PEI es aproximadamente igual para ambos casos ML y MLA, como se muestra el desglose de los factores de impacto de la Fig. 22. En esta figura solo se han incluido los factores que contribuyen al PEI (HTPI, HTPE, TTP), ya que el resto son nulos. En particular, el factor GWP (potencial de agotamiento de la capa de ozono) incluye las emisiones de gases efecto invernadero como es el CO_2 , no obstante, en el proceso de producción del AL no hay emisiones de CO_2 debido a que la reacción de fermentación homoláctica es anaerobia.

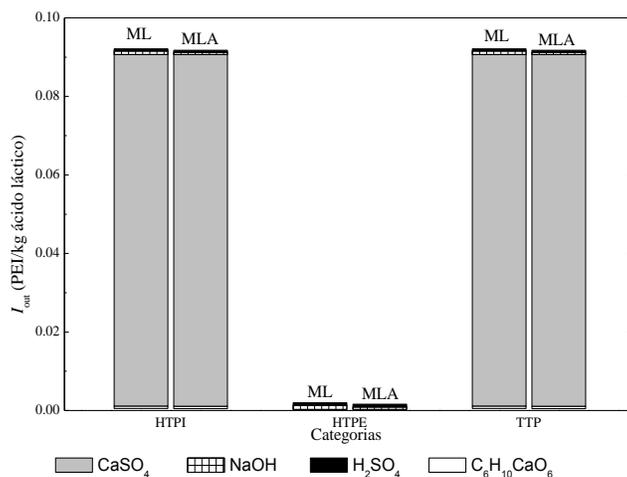


Fig. 22. Distribución del índice de impacto ambiental para los procesos ML y MLA.

Tabla 9. Reporte técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de AL (con $\alpha = 1$).

Concepto	Valor		Unidades
	Caso ML	Caso MLA	
Reporte técnico			
Tiempo de fermentación	29.6	54.14	h
Consumo anual de melaza	142 760 *	134 160 **	t/año
Producción anual de AL	136 291	129 476	t/año
Producción anual de biomasa seca***	36 067	13 770	t/año
Tiempo de ciclo de producción	24	25.5	h
Rendimiento global	0.95	0.96	kg/kg
Reporte de rentabilidad			
Inversión de capital total			
Capital fijo directo	186 362 000	107 190 000	US\$
Capital de trabajo	9 590 000	6 070 000	US\$
Costos arranque	9 318,000	5 360 000	US\$
Inversión total	205 270 000	118 620,000	US\$
Ingresos			
Precio de venta de AL	1.38	1.38	US\$/kg
Precio de venta de biomasa seca	0.2	0.2	US\$/kg
Ingreso anual por AL	188 082 648	178,677,197	US\$/año
Ingreso anual por biomasa seca	7 213 550	2 754 080	US\$/año
Ingresos totales	195 296 198	181 431 277	US\$/año
Costo anual de operación	138 157 000	85 749 000	US\$/año
Costo unitario de producción (CUP)	1.01	0.66	US\$/kg AL
Retorno sobre la inversión (RSI)	25.24	62.19	%
Periodo de recuperación (PR)	3.96	1.61	Año
Reporte de Impacto Ambiental			
Agua de proceso	30.6	6.4	kg/kg
Vapor	16.36	10.38	kg/kg
Agua de enfriamiento	237.46	228.51	kg/kg
Energía eléctrica	0.32	0.29	MJ/kg
Índice PEI	0.18	0.18	PEI/kg

* Caso ML: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 48. Número de lotes por año = 332.

** Caso MLA: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 24. Número de lotes por año = 312.

*** Producto para venta como suplemento en alimento para ganado.

Evaluación integrada

Como parte del análisis integral de la biorrefinería, se determinó la influencia del factor de enriquecimiento (a) y el modo de operación (ML y MLA) en los principales criterios técnicos, de rentabilidad e impacto ambiental. De acuerdo con la Fig. 23, el factor de enriquecimiento (el cual definió entre 1 y 4 g/L por limitaciones de la validez modelo cinético) tiene efectos significativos en la productividad y el costo, mientras que no afecta al rendimiento ni al PEI (ya que son casi constantes). En particular, la rentabilidad del proceso es mejor con valores bajos de a (i.e. CUP mínimo), aunque la productividad esté favorecida con altos valores de este factor.

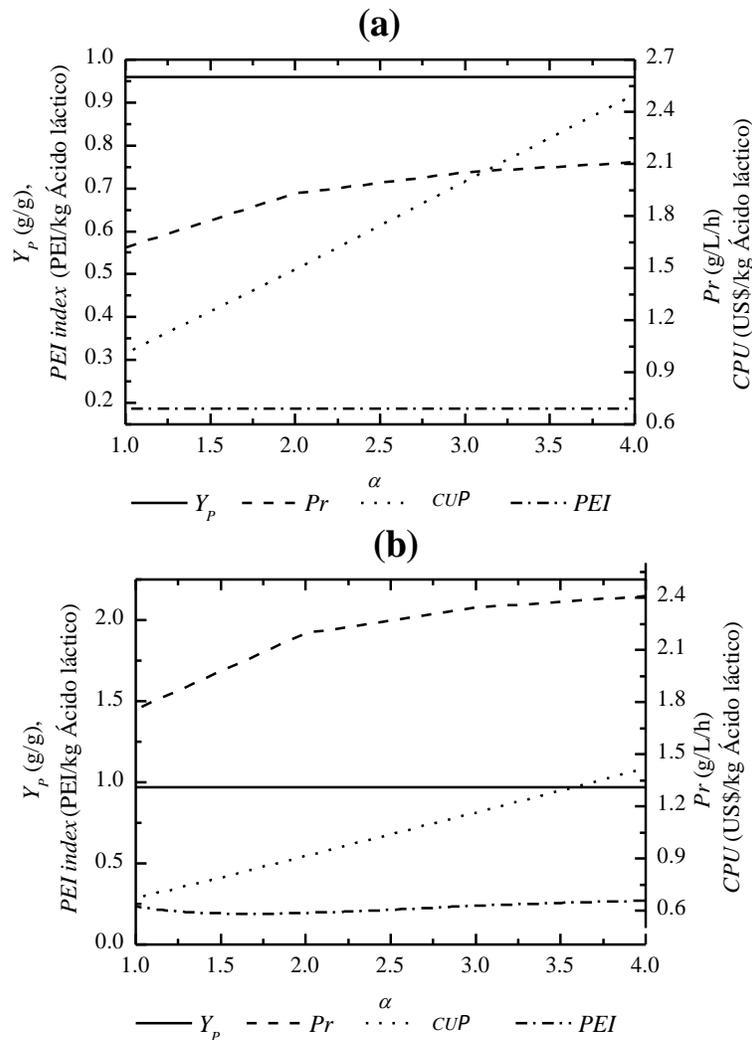


Fig. 23. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de AL en función de a : (a) ML, (b) MLA.

Con la finalidad de comparar las operaciones ML y MLA, se estableció un procedimiento simple para evaluar y comparar de manera integral las diferentes estrategias de procesos de producción. Como variables dependientes se han seleccionado cada uno de los criterios que se requieren minimizar: $1/Pr$ y $1/Y_{OP}$ como parámetros técnicos; $1/RSI$ y PR como parámetros económicos; PEI y consumo de energía E como parámetros ambientales. De manera que el caso de estudio que presenta una menor área en la Fig. 24, corresponde al mejor diseño sostenible. Donde el caso MLA presenta un área menor comparado con el caso ML, por lo tanto, se concluye que el mejor diseño sostenible corresponde a la producción de AL en MLA con: $Y_{OP} = 0.97$ kg/kg, $Pr = 1.7$ kg/L/h, CUP = 0.66 US\$/kg, $RSI = 62.2\%$, $PR = 1.61$ años, $E = 0.29$ MJ/Kg y $PEI = 0.18$ PEI/kg.

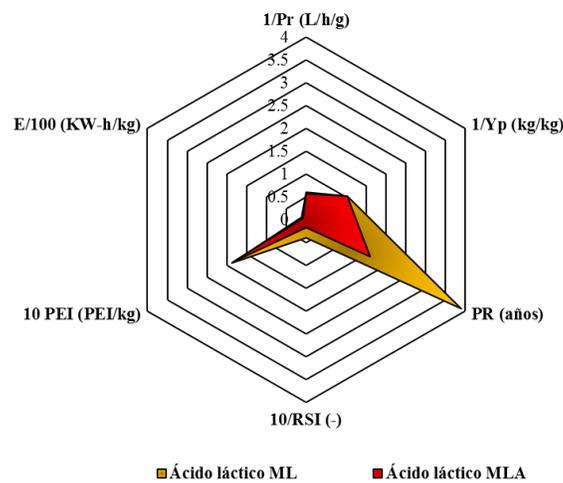
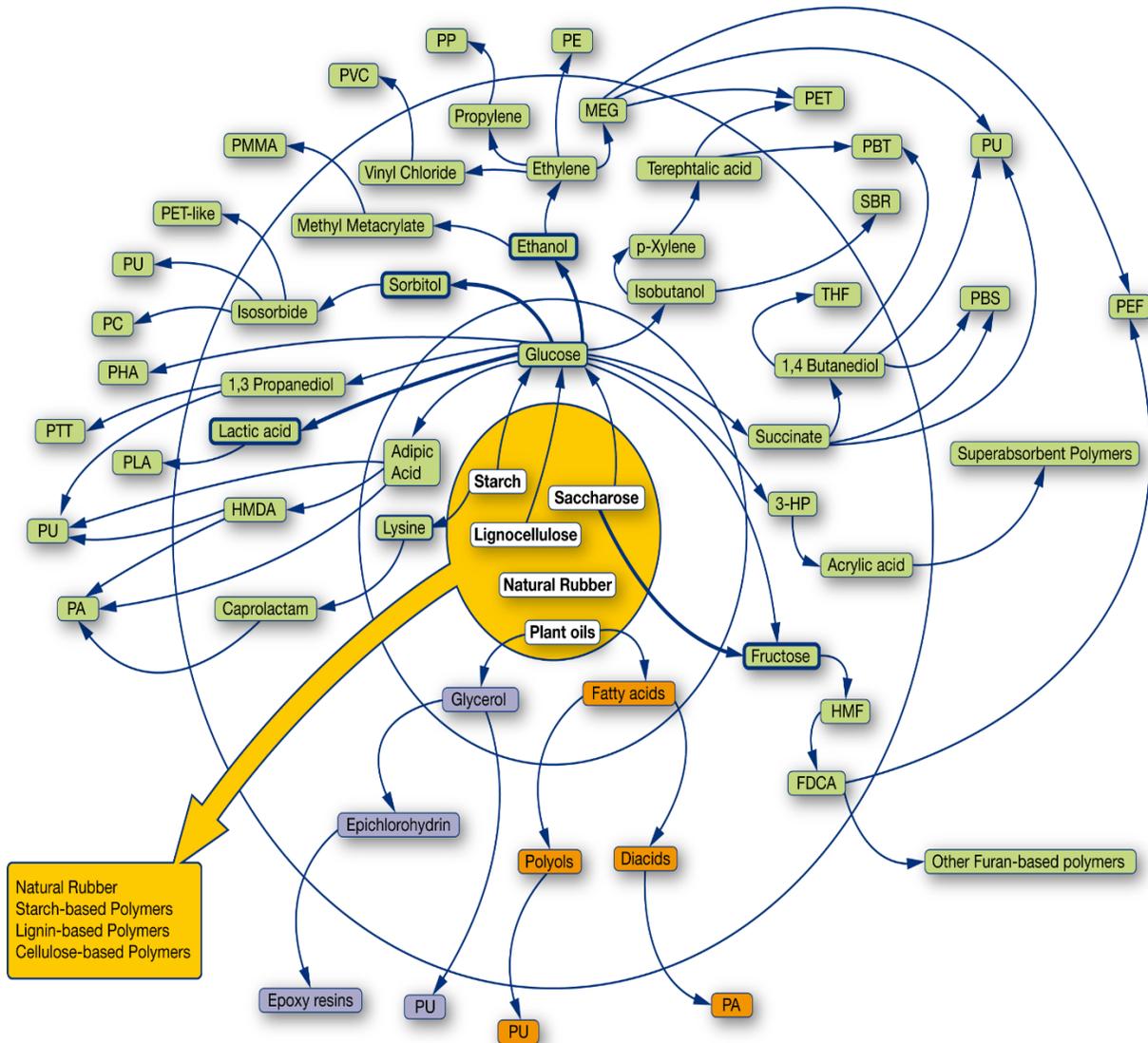


Fig. 24. Evaluación integral para el proceso de producción de AL en ML y MLA.

CAPÍTULO V. POLIHIDROXIBUTIRATO



5.1. Introducción

El plástico es la tercera aplicación más extendida del petróleo después de la energía y el transporte. Sin embargo, existe una problemática importante por la contaminación del agua, aire y suelo; ocasionada en gran medida por los grandes volúmenes de residuos que se generan diariamente y que reciben inadecuado, escaso o nulo tratamiento. La creciente demanda de soluciones sostenibles se refleja en el crecimiento de las capacidades de producción de bioplásticos (en 2012 ascendió a aproximadamente 1,4 millones de toneladas). En ellos se encuentra una amplia gama de aplicaciones, como en fabricación de botellas, materiales de embalaje y algunos usos en la agricultura debido a que son polímeros de alta masa molecular con propiedades similares a los plásticos convencionales, como el polipropileno. Además, tienen la ventaja de ser biocompatibles, lo que les permite usarse en aplicaciones médicas y farmacéuticas. Algunos beneficios que se encuentran en los bioplásticos son los siguientes (CONADESUCA, 2016):

- Ofrecen nuevo potencial para la agricultura al utilizar cultivos como materia prima.
- La materia prima para su elaboración es renovable al provenir de cultivos agrícolas.
- Cada tonelada métrica de bio-polietileno producido evita la emisión de 2 a 2.5 toneladas métricas de CO₂ sobre una base de ciclo de vida, por lo que ocasiona una menor huella de carbono.
- Reducen la generación de residuos plásticos tradicionales que necesitan ser incinerados para su eliminación o reciclados para su posterior uso.
- Para su elaboración se requiere menor consumo energético.
- Son procesables mediante técnicas tradicionales, usando procesos y tecnologías existentes.
- Presentan una tendencia al descenso del costo de producción.
- Restructura la industria del plástico.

Uno de los PHA más estudiado es el polihidroxitirato (P(3HB)) y uno de los microorganismos que puede producirlo es *Ralstonia eutropha*, por lo que la ruta de biosíntesis en este microorganismo a partir de carbohidratos ha sido descrita a detalle (Fig. 25). En general el proceso metabólico para la producción de PHA de cadena corta (P(3HB)) comienza a partir de acetil-CoA, en una secuencia de tres reacciones catalizadas por las enzimas 3-cetotiolasa, acetoacetil-CoA reductasa y la poli(3-hidroxitirato) sintetasa.

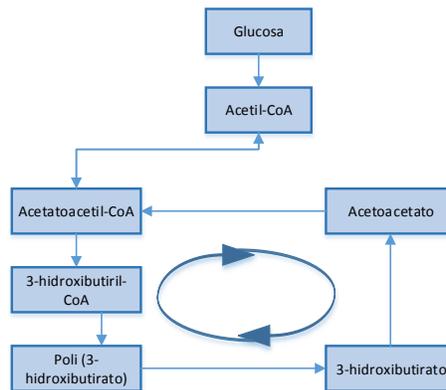


Fig. 25. Ruta metabólica para la síntesis y degradación intracelular de P(3HB) a partir de carbohidratos por *R. eutropha*.

La producción y aplicación de PHA está relacionada con la química, la reducción de las emisiones de CO₂, protección del medio ambiente y el desarrollo sostenible; esto explica por qué muchas empresas aún están invirtiendo tiempo en la producción de P(3HB), buscando una rentabilidad favorable, y así competir con los plásticos basados en petróleo. Todavía hay mucho que mejorar para la producción de estos bioplásticos. A nivel mundial hay 24 empresas que se sabe que han participado en investigación y desarrollo: AT&T (usa envases que se componen de hasta un 30% de materiales de origen vegetal procedentes de etanol de caña de azúcar), Coca-Cola (lanzó PlantBottle, un bioplástico hecho con caña de azúcar), Heinz (utiliza envases PlantBottle en sus famosas botellas de ketchup), ecover (utiliza envases de origen vegetal), Braskem (invirtió cerca de \$290 millones para producir anualmente 200 mil toneladas métricas de polietileno a base de caña de azúcar), Johnson y Johnson (usa un envase que contiene 60% de plástico verde y 40% de material reciclado), Nestlé (utiliza el polietileno producido a partir de caña de azúcar) y Tetra Pak y Pantene (produce botellas de champú principalmente de caña de azúcar).

5.2. Modelo del reactor

Existen diversos estudios sobre microorganismos productores de PHA como Mozumder y *col.* (2015), donde evalúan el efecto de concentración de sodio (Na^+) en *Cupriavidus necator* en la producción de P(3HB). Otro estudio es presentado en un cultivo por lote y extrapolado a un cultivo lote alimentado de *Azohydromonas australica* DSM 1124, basándose en el efecto del sustrato sobre la inhibición del microorganismo (Gahlawat & Srivastava, 2013). Grousseau y *col.* (2014) verificaron el efecto de la limitación del fosforo en un cultivo de *Cupriavidus N* sobre la obtención de polihidroxitirato-co-hidroxicvalerato [P(3HB-co-3HV)], donde concluyeron que la limitación asociado con una fuente de carbono afecta la producción del producto. Todos los estudios antes mencionados utilizaron herramientas de simulación para concluir sus análisis.

El modelo cinético para la fermentación de P(3HB) fue reportado por Shang (2007) para el estudio de un cultivo lote alimentado en la síntesis de P(3HB). El efecto de la glucosa en el crecimiento celular podría ser expresado por el modelo de Monod, donde la velocidad de crecimiento específico celular (μ) [Ec. (33)] puede ser afectada por diversos factores como el pH, temperatura, presión y sobre todo la concentración de los nutrientes como el fosfato que es necesario para la división y el crecimiento celular. Este nutriente está considerado en la siguiente ecuación:

$$\mu = \mu_m \left(\frac{C_{S1}}{C_{S1} + k_G} \right) \left(\frac{k_I C_{S2}}{C_{S2} + k_{P1}} \right) \quad (33)$$

donde μ_m es la velocidad de crecimiento específico celular máxima, C_{S1} es C_{S2} son las concentraciones de glucosa y fosfato relativamente. Mientras que k_1, k_G, k_{P1} son constantes. Una velocidad de síntesis de P(3HB) específica se propone [Ec. (34)] para indicar que la producción de P(3HB) puede ser inhibida por altas concentraciones de glucosa. La ecuación también muestra una relación del efecto que tiene la concentración de fosfato en la síntesis del producto, debido a que la limitación de algunos nutrientes como N,P,S entre otros, es favorable para la producción de P(3HB). Así que, se espera que la mayor síntesis del producto se presente cuando exista una limitación en los nutrientes. La ecuación mencionada anteriormente es la siguiente:

$$\beta = \beta_m \left(\frac{C_{S1}}{k_{GG} + C_{S1} + \frac{C_{S1}^2}{k_{IG}}} \right) \left(\frac{k_{P2}}{k_{P3} + C_P} \right) \left(1 - \frac{C_{PHB}}{(C_{PHB})_{\max}} \right) \quad (34)$$

Donde β_m es la velocidad de síntesis específica máxima de P(3HB), C_{PHB} representa el contenido de células y $(C_{PHB})_{max}$ el máximo contenido de células.

Puede ocurrir una inhibición en la fermentación por concentraciones altas de sustrato y una opción para contrarrestar este efecto es suministrar una corriente de alimentación de sustrato al medio de cultivo (descrita en las secciones 3.2 y 4.2). De este modo se podría incrementar la productividad y reducir el tiempo de fermentación.

Los balances de masa para el reactor de fermentación en ML y MLA están descritos por las siguientes ecuaciones (los parámetros del modelo se presentan en la Tabla 10):

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_X - C_X \left(\frac{F}{V} \right), \quad C_X(0) = C_{X,0} \quad (35)$$

$$\frac{dC_{S1}}{dt} = (C_{S,F1} - C_{S1}) \left(\frac{F}{V} \right) - \left(\left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} \right) + \left(\frac{\beta}{Y_{P/S}} \right) + Y_M \right) C_X, \quad C_{S1}(0) = C_{S1,0} \quad (36)$$

$$\frac{dC_{S2}}{dt} = -K_{P/X} \mu C_X - C_{S2} \left(\frac{F}{V} \right), \quad C_{S2}(0) = C_{S2,0} \quad (37)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = \beta C_X - C_P \left(\frac{F}{V} \right), \quad C_P(0) = C_{P,0} \quad (38)$$

$$\frac{dV}{dt} = F, \quad V(0) = V_0 \quad (39)$$

De la misma forma que en la sección 3.2 y 4.2, para el ML no se considera flujo de alimentación ($F=0$), así que el volumen permanece constante. Mientras que en MLA la estrategia de alimentación es de flujo escalonado basada en la velocidad de crecimiento de la biomasa [dC_X/dt , Ec. (35)] descrita en la sección 4.2. Al comienzo el proceso comienza en ML hasta notar un aumento notable en dC_X/dt que posteriormente alcanza su máximo valor. La alimentación termina cuando el reactor es finalmente llenado en su capacidad. Debido a que al comienzo de la operación el biorreactor trabaja en ML, los microorganismos solo se alimentan de los nutrientes como glucosa y fosfato de potasio. Cuando inicia el modo de operación MLA el biorreactor es alimentado sólo con glucosa, debido a que Shiraki y *col.* (2006) mencionan que se sintetiza y acumula mayor cantidad de P(3HB) cuando la fuente de carbono está disponible en exceso (hasta llegar a una concentración que no inhiba la síntesis de producto) y el nitrógeno, fósforo y oxígeno están limitados.

Tabla 10. Parámetros del modelo para la fermentación de P(3HB) utilizando *Ralstonia eutropha* (Shang y col., 2007).

Parámetro del modelo	Valor	Unidades	Nomenclatura
k_G	1.8	g/L	Constantes en las ecuaciones
k_{GG}	6	g/L	
k_{IG}	8	g/L	
k_I	2.4	1/h	
k_{p1}	4.5	1/h	
k_{p2}	13	1/h	
k_{p3}	2	g/L	
$(C_{PHB})_{max}$	0.8	%	
$K_{P/X}$	0.038	g/g	
$Y_{X/S}$	0.45	g/g	
$Y_{P/S}$	0.47	g/g	Rendimiento producto-sustrato
Y_M	0.02	g/g/h	Coefficiente de mantenimiento
μ_m	0.29	1/h	Velocidad específica máxima de crecimiento celular
β_m	0.16	1/h	Velocidad de síntesis específica máxima
Condiciones de operación	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S,F1}$	700 ^a , 1700 ^c	g/L	Concentración de la glucosa en la alimentación
F	0 ^{a,b} , F ^c	L/h	Velocidad de alimentación de glucosa
$V_{reactor}$	0.005 ^a , 500 ^b , 500 ^c	m ³	Volumen de llenado del reactor
Condiciones iniciales	Valor	Unidades	Nomenclatura
$C_{S1,0}$	20 ^{a,c} , 90 ^b	g/L	Concentración de glucosa inicial
$C_{S2,0}$	4.5 ^{a,c} , 1.5 ^b	g/L	Concentración de fosforo inicial
$C_{X,0}$	0.65	g/L	Concentración de biomasa inicial
$C_{P,0}$	0	g/L	Concentración de producto inicial
V_0	0.005 ^a , 500 ^b , 400 ^c	m ³	Volumen inicial

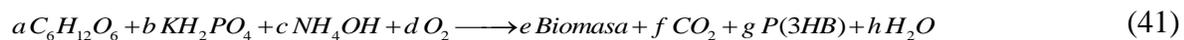
^a Caso de referencia, ^b ML, ^c MLA

5.3. Diseño conceptual del proceso de producción

La Fig. 26 muestra el diagrama de flujo del diseño conceptual para la producción de P(3HB) utilizando melaza de caña de azúcar en el proceso. La biorrefinería se divide en cuatro secciones: (a) preparación de la melaza, (b) preparación del medio de cultivo, (c) fermentación, y (d) purificación. Cada una de las secciones está delimitada por áreas grises.

El objetivo de la sección de preparación de melaza y preparación de medio de cultivo se encuentran descritos en la sección 3.3.

La melaza tratada en la parte “preparación de la melaza” y los nutrientes de la sección “preparación del medio de cultivo” son transferidos al reactor FR-301, donde la mezcla es diluida para lograr la concentración inicial deseada en el reactor de fermentación donde es inoculada con *R.eutropha*. El reactor se mantiene a 30°C utilizando los agentes de transferencia en condiciones aerobias con la finalidad de tener mayor crecimiento celular (debido a que el producto se da de forma intracelular, se busca obtener una alta concentración celular). El tiempo de fermentación, el rendimiento y la productividad son calculados previamente del análisis dinámico del reactor. Las principales reacciones que se llevan a cabo en esta etapa son:



Como se mencionó en las secciones 3.3 y 4.3, la sacarosa es convertida en glucosa por medio de hidrólisis [Ec. (40)], de tal modo que la glucosa se considera el nutriente principal limitante. La concentración de fosfato es ajustada de acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio dinámico. Debido a que el cultivo es aerobio, aire es esterilizado por un filtro (AF-301) e ingresado al reactor. Una vez dada la fermentación, el cultivo es enviado a un tanque de almacenamiento (V-301) para estabilizar el medio.

En la sección de “Purificación”, se busca obtener un producto con alta pureza y que sea rentable económicamente. Se separa la biomasa del medio de cultivo, sobre todo de las impurezas presentes en el medio. La separación se lleva a cabo por un filtro rotatorio (RVF-401). Parte del medio de cultivo y biomasa junto con P(3HB) son transportados a un mezclador (V-401) donde los gránulos se extraen de la célula por lisis utilizando sodio dodecil sulfato (tensoactivo abreviado SDS) en una tercera parte de la biomasa producida para romper la pared celular del microorganismo. El proceso continuo y el medio es mezclado con hipoclorito de sodio (30% NaClO) [Jacquel y col, (2008)]. Finalmente, los gránulos de P(3HB) son separados de la biomasa por medio de un centrífugas de disco (DS-401, DS-402) y secados en un secador por aspersion (SDR-401) para obtener el producto final alrededor del 98% de pureza (común para el P(3HB) de acuerdo con Jacquel y col. (2008); Anis y col. (2013).

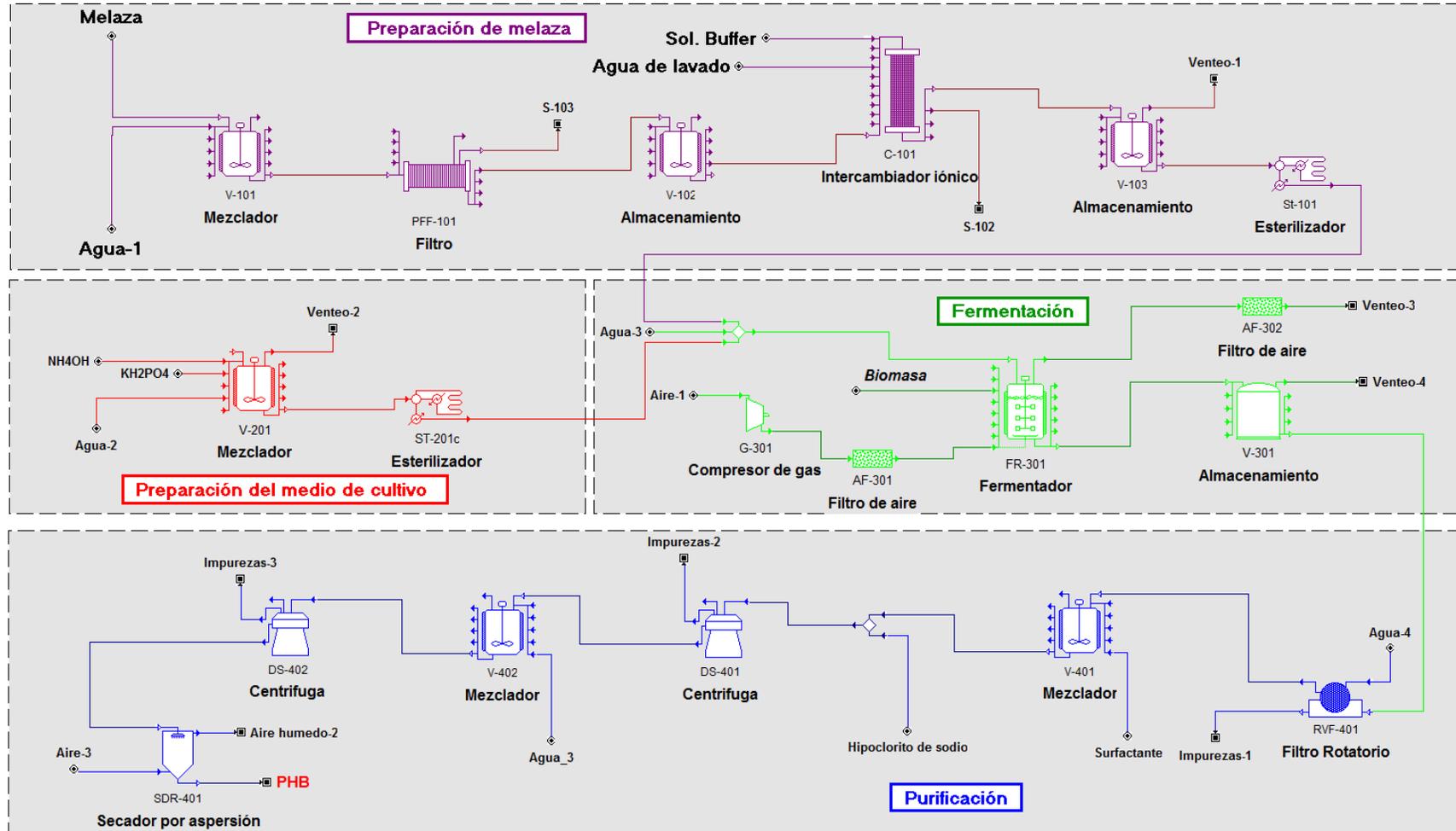


Fig. 26. Diagrama de flujo del proceso para la producción industrial de P(3HB)

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Análisis dinámico del reactor de fermentación

(a) Validación

El modelo del reactor de fermentación de P(3HB) [ecs. (33)-(39)] fue validado utilizando datos experimentales para una fermentación MLA de glucosa, reportados por Shang *y col.* (2007), considerando $C_{S1,0} = 20$ g/L, $C_{S2,0} = 4.5$ g/L, $C_{X,0} = 0.65$ g/L y $C_{P,0} = 0$. Utilizando las ecuaciones mencionadas se validó el modelo con respecto a sus datos experimentales de manera satisfactoria (véase la Fig. 27). La operación comienza en ML hasta esperar que la C_S se termine (alrededor de las 9 h). En este momento, es cuando comienza el modo de operación MLA alimentando al reactor con una solución concentrada de glucosa en las condiciones de operación mencionadas en la Tabla 10. Es importante resaltar que se determina la biomasa seca (DCW) y biomasa residual (RCW), donde la primera se describe como $DCW = RCW + P(3HB)$, debido a que la síntesis del bioplástico se da de forma intracelular. De tal manera, se consideran dos conceptos de biomasa para este estudio. A las 45 h, se logra la mayor concentración de producto de 122.13 g/L y rendimiento de 0.298 g/g. Sin embargo, la máxima productividad se alcanza en un tiempo menos prolongado alrededor de las 32 h, logrando un valor de 2.713 g/L/h.

(b) Modo lote (ML)

Se evaluaron los criterios técnicos como la productividad y el rendimiento sobre el medio de cultivo, utilizando las condiciones de operación mencionadas en la Tabla 10, manipulando $C_{S1,0}$ (10 - 150 g/L) y $C_{S2,0}$ (0.5 - 5 g/L). El efecto entre las concentraciones de los nutrientes se muestra en la Fig. 28. Es notable que la concentración de glucosa no tiene efecto sobre el rendimiento, sin embargo, al incrementar la concentración de fosfato, el rendimiento decrece (Fig. 28a). Por otra parte, la $C_{S1,0}$ está directamente relacionada con la productividad. Así que se compararon diferentes concentraciones de fosfato. A una concentración de fosfato entre 1.5 y 2.5 g/L, se obtiene la mayor productividad (Fig. 28b). Debido a que, a una $C_{S1,0}$ mayor de 90 g/L no existe cambio significativo con respecto a la productividad e incluyendo que no tiene efecto en el rendimiento, se seleccionó una $C_{S1,0}$ de 90 g/L y una $C_{S2,0}$ de 1 g/L para estudios en ML. Al utilizar estas concentraciones, al momento de que $dC_X/dt = 0$ a las 26 h el $Y_{OP} = 0.17$ g/g y la $Pr = 0.62$ g/L/h. (véase Fig. 29a).

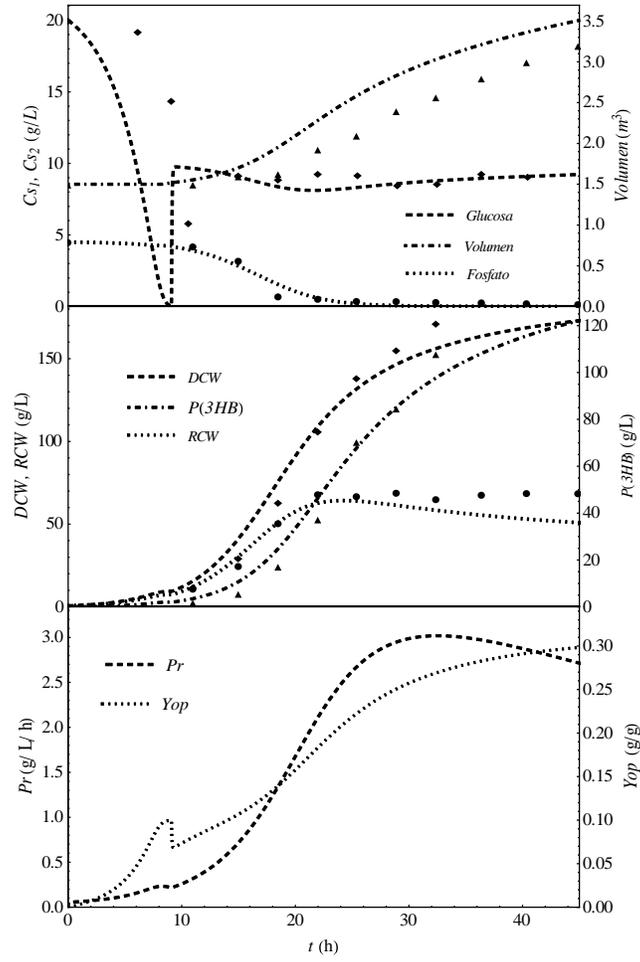


Fig. 27. Validación del modelo para la fermentación de PHB

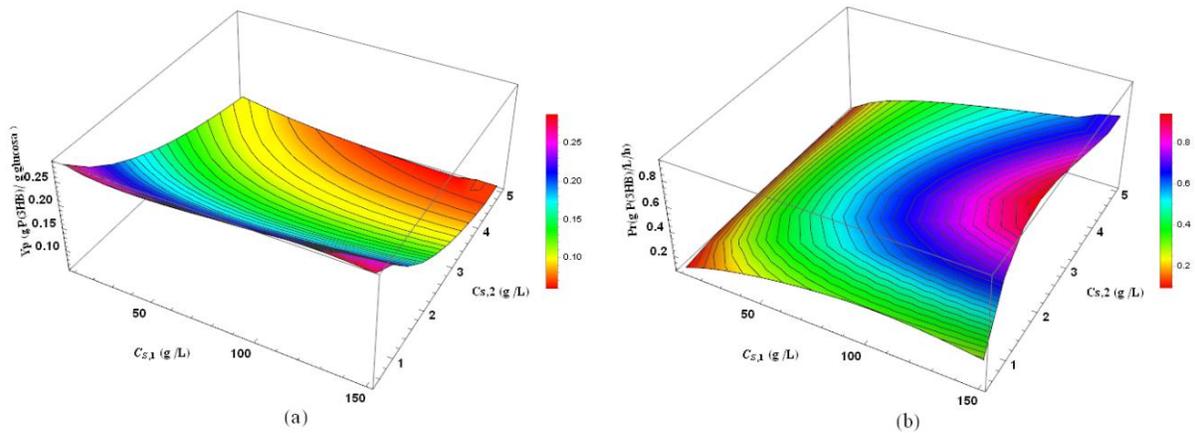


Fig. 28. Efecto de $C_{S,1}$ y $C_{S,2}$ sobre el rendimiento y la productividad para ML

(c) Modo lote alimentado (MLA)

La estrategia de alimentación se basa en el comportamiento de dC_X/dt . La alimentación comienza cuando dC_X/dt aumenta notablemente a las 9 h (véase Fig. 29b) donde C_{S1} es menor a 5 g/L, lo cual algunos autores como Ding & Tan (2006) utilizan esta concentración como límite para alimentar al reactor. Un flujo de 5500 L/h se mantiene constante hasta llenar completamente el reactor (42 h), en donde se presenta el estado pseudo-estacionario y por lo tanto la máxima concentración de producto, ya que como se ha mencionado anteriormente el producto se da de forma intracelular. Este punto se logra al final de la reacción obteniendo un $Y_{OP} = 0.277$ kg/kg y $Pr = 3.74$ kg/L/h.

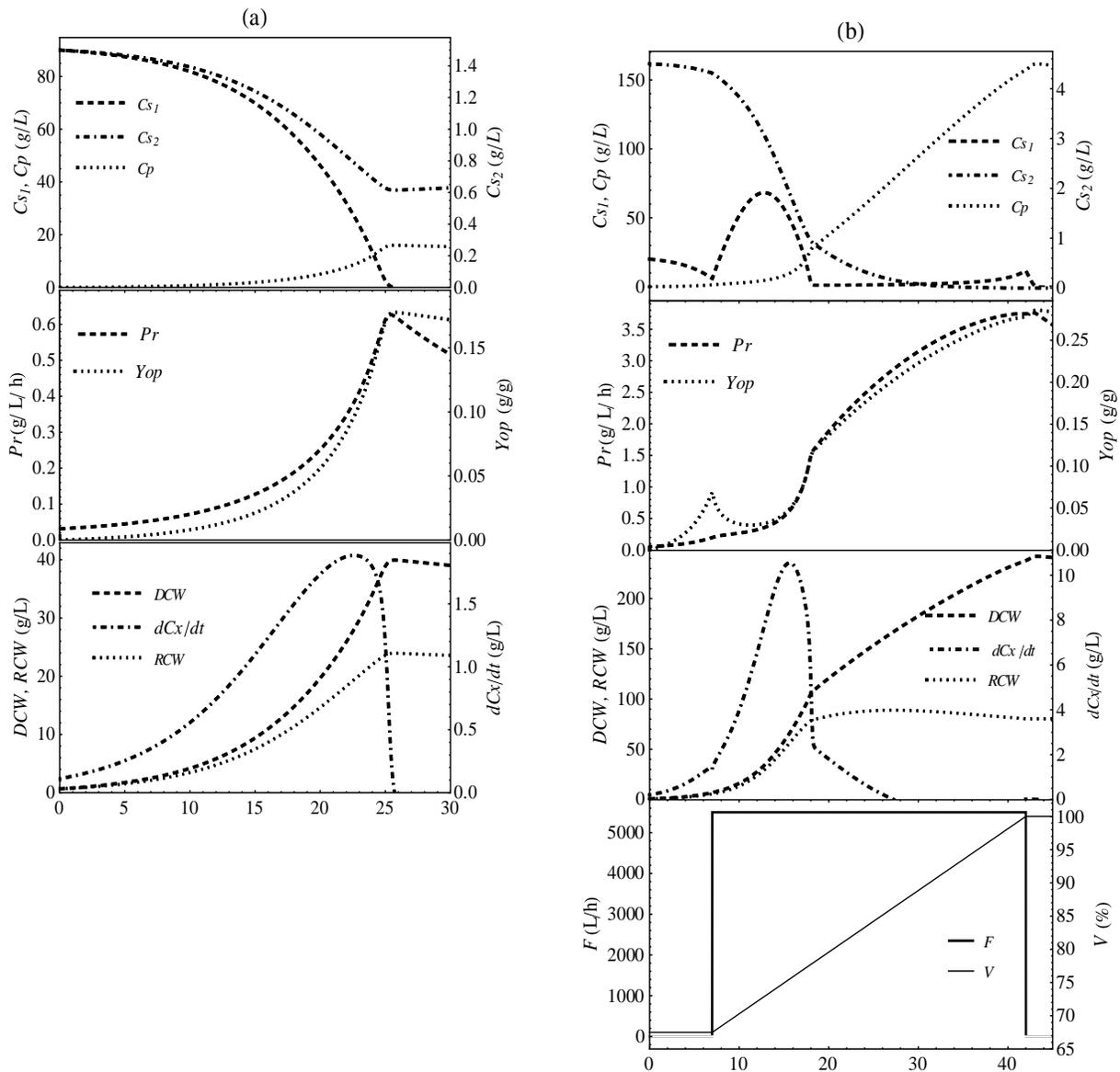


Fig. 29. Respuesta dinámica del reactor en la obtención de P(3HB) para (a) ML y (b) MLA

De manera similar al reactor en ML, se llevaron a cabo simulaciones con diferentes valores de KH_2PO_4 para el MLA. Los resultados se presentan en la Tabla 11, donde se observa que la máxima productividad y rendimiento se da entre concentraciones de 3 a 5 g/L. La concentración que se toma para realizar los siguientes estudios es de 4.5 ya que muestra una máxima productividad y rendimiento.

Tabla 11. Comparación del modo de operación para diferentes valores de KH_2PO_4 .

KH_2PO_4	ML			KH_2PO_4	MLA		
	t_{reac}	Pr	Y_{OP}		t_{reac}	Pr	Y_{OP}
1	36.6	0.5	0.22	1	7	0.1	0.04
1.5	25.7	0.6	0.17	2	45	0.3	0.02
2	20.6	0.6	0.14	3	34	0.8	0.06
3	15.7	0.6	0.10	4	37	3.8	0.27
4	13.3	0.5	0.08	4.5	42	3.7	0.28
5	11.8	0.5	0.06	5	50	3.6	0.28

5.4.2. Análisis técnico-económico-ambiental del proceso de producción

Usando los resultados dinámicos del reactor de fermentación se determinaron los coeficientes estequiométricos molares de la reacción de fermentación, obteniendo: (a, b, c, d, e, f, g, h) = (0.4996, 0.0110, 0.1900, 1.1070, 0.2481, 1.2611, 0.1859, 2.1181) para el ML y (3.1406, 0.0330, 0.7160, 7.0690, 0.8326, 8.2254, 1.8273, 12.3231) para el MLA. Se realizó un análisis de rentabilidad-sustentabilidad en función de la cantidad de melaza procesada y el número de reactores instalados.

Análisis de rentabilidad

En la metodología se mencionó que los criterios a considerar para que el proceso sea rentable es obtener un CUP menor al costo de venta, un RSI mayor al 20% y PR menor a 4 años. La Tabla 12 muestra la rentabilidad de la producción ya que, al variar el número de reactores y la materia prima, los resultados se encuentran dentro de los intervalos deseados, logrando valores de rentabilidad a 470 t/lote y 4 reactores escalonados. Es de importancia mencionar que con el propósito de comparar el proceso de producción de P(3HB) contra los procesos para L-lisina y ácido láctico (capítulos III y IV), se dio un seguimiento a los valores obtenidos para 430 t/lote y 4 reactores escalonados para P(3HB).

Tabla 12. Análisis de rentabilidad para la producción de P(3HB), variando el insumo de materia prima y el número de reactores de fermentación (caso MLA).

Melaza (t/lote)	CUP (US\$/kg) / RSI (%) / PR (año)				
	Número de Reactores				
	2	4	6	8	10
400	3.20/24.9/4.0	2.61/37.8/2.6	2.63/36.9/2.7	2.61/37.1/2.6	2.72/34.6/2.9
410	3.18/25.3/4.0	2.58/38.4/2.6	2.55/39.0/2.6	2.65/36.2/2.8	2.69/35.0/2.9
420	3.07/26.7/3.7	2.53/39.6/2.5	2.65/36.4/2.8	2.70/34.8/2.9	2.75/33.4/3.0
430	3.14/25.9/3.9	2.58/38.5/2.6	2.63/36.8/2.7	2.68/35.3/2.8	2.73/33.9/3.0
440	3.12/26.0/3.8	2.56/38.8/2.6	2.55/38.6/2.6	2.67/35.6/2.8	2.72/34.1/2.9
450	3.10/26.4/3.8	2.55/39.3/2.6	2.6/37.6/2.7	2.65/36.0/2.8	2.7/34.5/2.9
460	3.08/26.7/3.7	2.53/39.7/2.5	2.58/38.0/2.6	2.63/36.4/2.8	2.68/35.0/2.9
470	3.06/27.0/3.7	2.52/40.2/2.5	2.51/40.1/2.5	2.62/36.9/2.7	2.67/35.4/2.8

La distribución de costos de operación mostrada en la Fig. 30, representa que el mayor porcentaje en ML lo exhibe la depreciación, seguido de las instalaciones y el consumo de melaza. A diferencia en MLA, el mayor porcentaje corresponde al consumo de melaza primordialmente, seguido de la depreciación e instalaciones. De aquí la relevancia de seleccionar un nutriente de fácil acceso y bajo costo. La depreciación que se presenta en ML y MLA, representa una pérdida de capital fijo inevitablemente (valor considerado a 5%) del cual se presenta a un periodo de depreciación de 15 años.

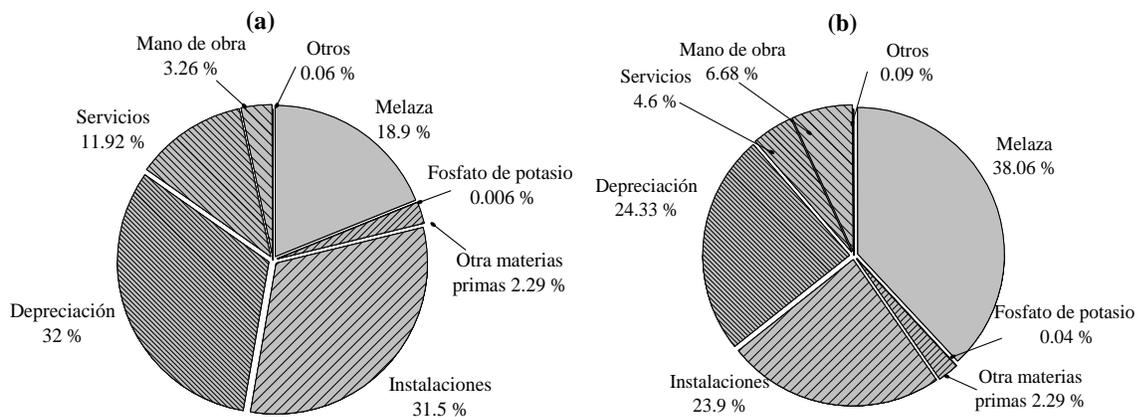


Fig. 30. Distribución de costos de operación para la producción de P(3HB):
(a) ML y (b) MLA.

Análisis de impacto ambiental

El informe técnico-económico-ambiental desglosado para los dos mejores casos ML (1 g/L de KH_2PO_4) y MLA (4.5 g/L de KH_2PO_4) se presenta en la Tabla 13. A pesar de que, el consumo anual de melaza sea el mismo en los dos casos (125 560 t/año), la melaza representa un mayor porcentaje de costo (38.06 %) en MLA en comparación a ML (18.9 %) y esto es debido a que existe mayor porcentaje de depreciación en ML.

El rendimiento global del proceso es mayor en MLA (0.15 kg /kg) que en ML (0.12 kg/kg) considerando que el tiempo de fermentación sea más prolongado en MLA. Esto es debido a que la producción anual de P(3HB) es mayor en MLA. Nótese en la Tabla 13 que ML no satisface con los criterios económicos a pesar de que se presenta el mejor de los casos. El mejor escenario de rentabilidad lo presenta el MLA ya que cumple con los criterios económicos, logrando un RSI favorable (38.5 %) y un PR reducido (2.6 años).

El impacto ambiental se muestra en la Tabla 13, donde los requerimientos de agua de proceso, agentes de transferencia (enfriamiento y calentamiento) y consumo de energía son menores para el MLA (11.03, 2.98 y 7.46 veces respectivamente), debido a que con la estrategia de alimentación se procesa la misma cantidad de melaza que en ML, aunque utilizando menor cantidad de agua. El índice PEI que considera las corrientes de entrada y salida para cada uno de los compuestos es similar en los dos modos de operación, aunque un poco menor en MLA (Fig. 31). Los factores de impacto ambiental que incluye este estudio son HTPI, HTPE, TTP, ATP y GWP, ya que el resto son nulos. Los compuestos más notorios son la glucosa (presente en HTPI y TTP) y el CO_2 (presente en GWP). El último componente mencionado, se nota mayor presencia en el factor GWP debido a que se requiere una alta concentración de microorganismos con el propósito de acumular P(3HB).

Tabla 13. Reporte técnico-económico-ambiental para el proceso de producción de P(3HB) para el caso ML (1 g/L de KH_2PO_4) y MLA (4.5 g/L de KH_2PO_4)

Concepto	Valor		Unidades
	Caso ML	Caso MLA	
Reporte técnico			
Tiempo de fermentación	37	42	h
Consumo anual de melaza	125 560 *	125 560 **	t/año
Producción anual de P(3HB)	15 212	19 181	t/año
Tiempo de ciclo de producción	26.87	26.87	h
Rendimiento global	0.12	0.15	kg/kg
Reporte de rentabilidad			
Inversión de capital total			
Capital fijo directo	336 055 000	126 730 000	US\$
Capital de trabajo	3 305 000	2 331 000	US\$
Costos arranque	16 803 000	6 337 000	US\$
Inversión total	356 164 000	135 398 000	US\$
Ingresos			
Precio de venta de P(3HB)	5.00	5.00	US\$/kg
Ingreso anual por P(3HB)	76 058 893	95 906 610	US\$/año
Ingreso anual por biomasa seca	16 625 709	10 844 058	US\$/año
Ingresos totales	92 684 602	106 750 668	US\$/año
Costo anual de operación	99 596 000	49 481 000	US\$/año
Costo unitario de producción (CUP)	6.55	2.58	US\$/kg P(3HB)
Retorno sobre la inversión (RSI)	7.02	38.50	%
Periodo de recuperación (PR)	14.24	2.6	Año
Reporte de Impacto Ambiental			
Agua de proceso	45 480	4 120	kg/kg
Vapor	23 240	14 280	kg/kg
Agua de enfriamiento	1 746 420	579 610	kg/kg
Energía eléctrica	20.9	2.8	MJ/kg
Índice PEI	5.5×10^{-6}	4.1×10^{-6}	PEI/kg

* Caso ML: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 12. Número de lotes por año = 292.

** Caso MLA: tamaño de lote = 430 t de melaza. Número total de reactores = 4. Número de lotes por año = 292.

*** Producto para venta como suplemento en alimento para ganado.

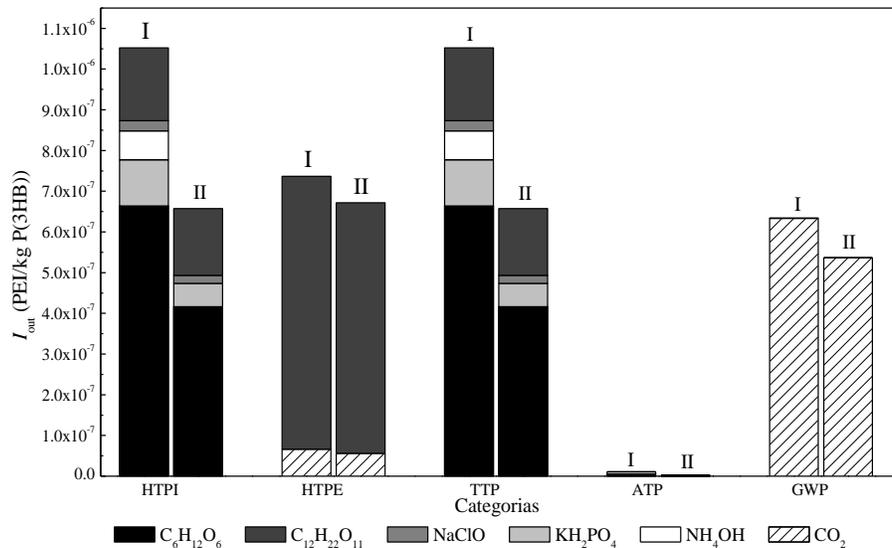


Fig. 31. Distribución del índice de impacto ambiental para los procesos ML y MLA.

Evaluación integrada

En la Fig. 32 se muestra una colección de los criterios más relevantes dentro del análisis técnico económico y ambiental para el ML y el MLA. Como parte del análisis integral del proceso, se determinó la influencia de la concentración de KH_2PO_4 en el modo de operación (ML y MLA). La concentración (la cual se definió entre 1 y 5 g/L por limitaciones de la validez modelo cinético) tiene efectos significativos en el rendimiento, el costo y PEI, mientras que no afecta a la productividad (ya que es casi constante). En particular, existe mayor rentabilidad del proceso a concentraciones bajas de KH_2PO_4 para ML (i.e. CUP mínimo). Sin embargo, la rentabilidad y la productividad incrementan junto con la concentración de KH_2PO_4 para ML, mientras que la productividad y PEI permanecen casi constantes.

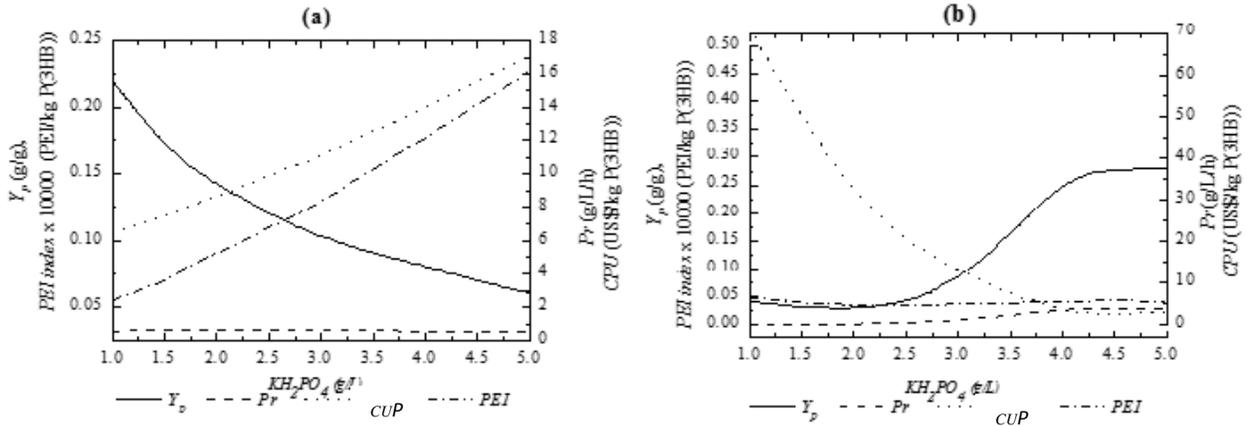


Fig. 32. Evaluación técnico-económica-ambiental del proceso de producción de P(3HB) en función de la concentración de KH_2PO_4 : (a) ML, (b) MLA.

Un procedimiento sencillo para comparar ML y MLA se muestra en la Fig. 33, donde las variables dependientes que se requieren minimizar son: $1/\text{Pr}$ y $1/\text{Y}_{\text{OP}}$ como parámetros técnicos; $1/\text{RSI}$ y PR como parámetros económicos; PEI y el consumo de energía E como parámetros ambientales. De tal forma que el caso que presente menor área corresponde al mejor diseño sostenible. Es notable entonces que MLA presenta un área menor comparado con ML. Así que los parámetros técnicos, económicos y ambientales corresponden a $\text{Y}_{\text{OP}} = 0.28 \text{ g/g}$, $\text{Pr} = 3.7 \text{ g/L/h}$, $\text{CUP} = 2.58 \text{ US\$/kg P(3HB)}$, $\text{RSI} = 38.5 \%$, $\text{PR} = 2.6 \text{ años}$, $\text{E} = 2.8 \text{ MJ/kg}$ y $\text{PEI} = 4.1 \times 10^{-6} \text{ PEI/kg}$.

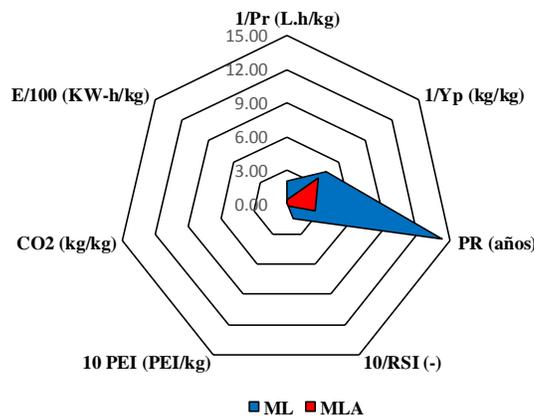


Fig. 33. Evaluación integral para el proceso de producción en ML y MLA para P(3HB).

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

La biomasa aparece como una alternativa a la economía basada en petróleo para la producción de productos químicos básicos. Los costos de producción, los problemas de impacto ambiental ocasionados por los procesos de producción, y la demanda de productos novedosos han iniciado una nueva actividad económica más sostenible emergiendo así las biorrefinerías. Sin embargo, su sostenibilidad ha sido cuestionada. Como alternativa a esto, el concepto de biorrefinería aparece como una opción para construir una bioeconomía, a partir de procesos de producción que consideren diversos tipos de biomasa como insumo para generar una diversidad de productos con valor agregado con un mínimo de residuos. A pesar de que existen varios reportes publicados en el tema de diseño de procesos de biorrefinería sostenibles, no se han reportado metodologías que involucren el análisis del proceso de producción desde un análisis dinámico del bioreactor hasta una escala industrial. Los criterios de evaluación propuestos pueden ser útiles en la etapa de diseño inicial para determinar un equilibrio entre el desempeño económico y el impacto ambiental, tomando en cuenta el efecto de las condiciones de operación (de la etapa reactiva principalmente).

La fermentación por lotes es el método de investigación más simple y primario para cualquier bioproceso. El cultivo lote alimentado se utiliza a menudo para lograr una alta productividad y densidad celular, que actúan para reducir los costos de producción. Normalmente, sólo los nutrientes clave se alimentan en el fermentador. Otros nutrientes se alimentan una vez al principio, y sus concentraciones en caldo de cultivo posteriormente disminuyen durante el proceso de cultivo. Por lo tanto existen estrategias de alimentación que se pueden utilizar. En este estudio se llevó a cabo la estrategia de alimentación basada en: (a) control integral (PI) para la adición de glucosa, con el fin de mantener su concentración mínima a través del tiempo, (b) flujo escalonado y (c) exponencial que se basan en el monitoreo del crecimiento de la biomasa dCx/dt .

Con el propósito de comprender el estudio, la Fig. 34 muestra una evaluación integrada general para L-lisina, AL y P(3HB), seleccionando los criterios con mayor relevancia. Los resultados mostrados son en MLA para los tres bioproductos debido a que este modo presentó mayor rentabilidad económica y menor impacto ambiental. Claramente se observa que el proceso de ácido láctico tiene menor área, seguido del proceso de P(3HB) y finalmente L-lisina. Esto quiere decir que el proceso de producción de ácido láctico tiene el mejor diseño sostenible.

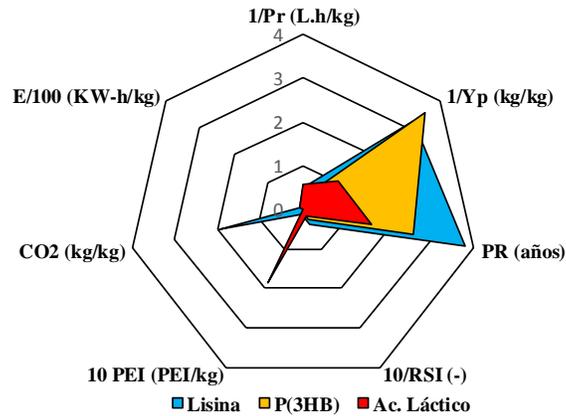


Fig. 34. Evaluación integral para el proceso de producción en ML y MLA para L-lisina, ácido láctico y P(3HB).

La biorrefinería podría considerar la producción de un producto o más, lo cual dependerá de un estudio de mercado mensual de los nutrientes, materia prima y principalmente de los productos. La metodología de evaluación se ejemplificó para tres casos de estudio (L-lisina y ácido láctico y P(3HB)), sin embargo, ésta se puede extender a otros bioproductos. Como se mencionó en la metodología, el proceso se puede dividir en cuatro secciones (preparación de la melaza, preparación del medio de cultivo, fermentación y purificación), donde en general la sección de purificación es diferente para cada bioproducto. El diagrama de flujo para el diseño conceptual de una biorrefinería multi-producto a partir de melaza se presenta en la Fig. 35., donde se muestra la etapa de purificación para L-lisina y ácido láctico, P(3HB), ácido cítrico y proteína unicelular.

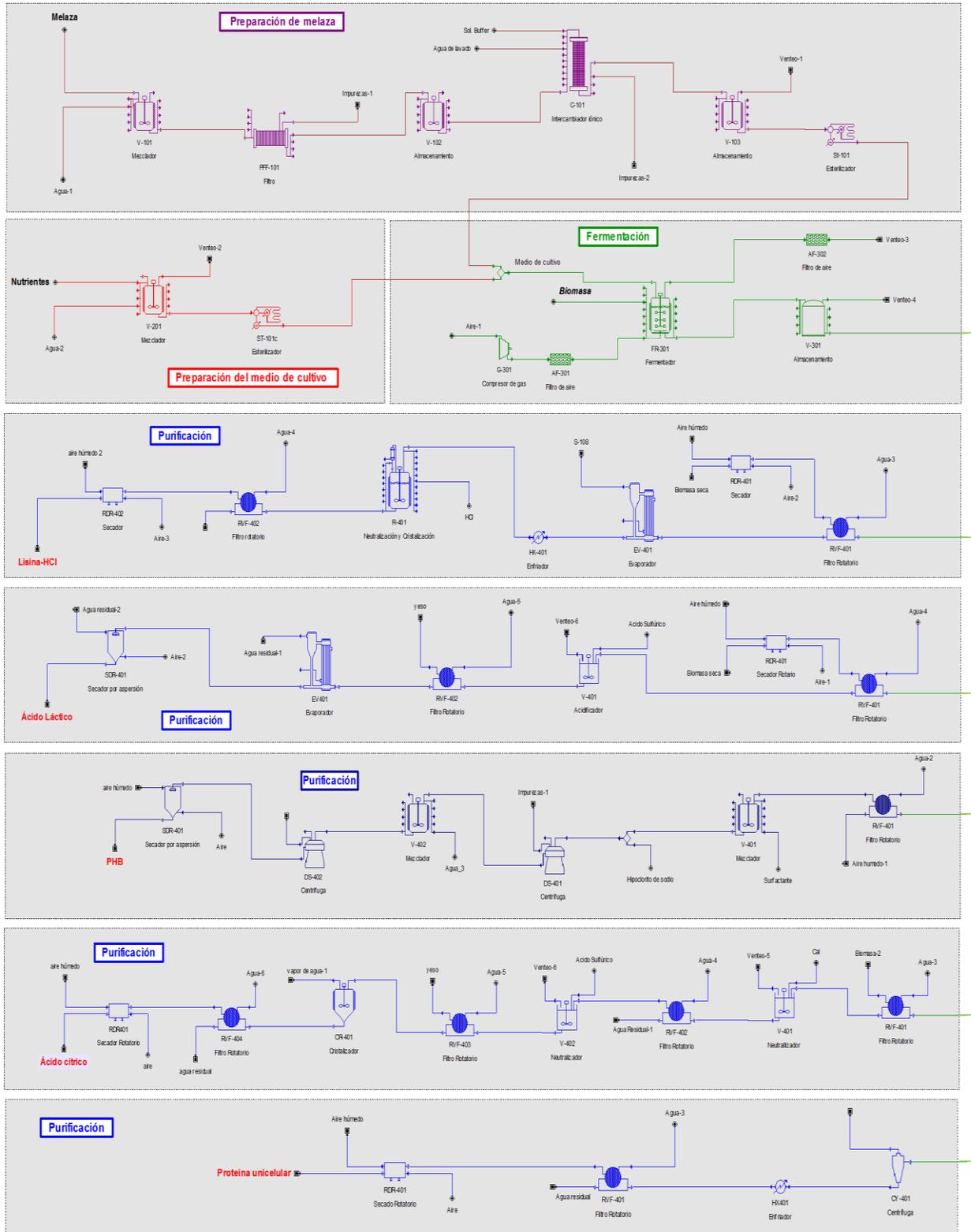


Fig. 35. Diseño conceptual de una biorrefinería multi-producto a partir de melaza.

Possible trabajo futuro

- i. Como parte del estudio mostrado en esta tesis se consideró solo un estudio dinámico riguroso del reactor de fermentación, sin embargo, podría realizarse un estudio de análisis similar para otras operaciones unitarias claves en el proceso.
- ii. Se puede incorporar un estudio de integración de calor de la biorrefinería para reducir consumos energéticos y por lo tanto reducir los costos de producción.
- iii. La reducción de residuos contaminantes puede integrarse a la biorrefinería. Por ejemplo, incorporando una planta de tratamiento de aguas residuales y una sección de purificación y almacenamiento del CO₂ generado en el proceso.
- iv. Considerar otros productos y/o combustibles como ácido cítrico, proteína unicelular, etanol, etc. En particular la producción de etanol anhidro tiene gran potencial, ya que los ingenios azucareros actualmente están cambiando a “alcoholeras” produciendo alcohol al 98%, pero pueden hacer adiciones al proceso para producir etanol anhidro para su uso como combustible.

Referencias

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., Sonomoto, K. (2013) Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology advances* **31**, 877-902.
- Akerberg, C. y Zacchi, G. (2000). An economic evaluation of the fermentative production of lactic acid from wheat flour. *Bioresource Technology* **75**, 119-126.
- Anastassiadis, S. (2007) L-Lysine Fermentation. *Recent Patents on Biotechnology* **1**, 11-24.
- Banco de México (2017). Balanza de Productos Petroquímicos y de Origen Petroquímico. <http://www.banxico.org.mx>
- Bibal, B., Vayssier, Y., Tournou, M. y Pareilleux, A. (1989). Enhanced inhibitory effect of lactic acid on growth kinetics of *Streptococcus cremoris* during nutritional medium limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* **30**, 630-635.
- Buechs J (1994) Precise optimization of fermentation processes through integration of bioreaction. *Process computations in biotechnology*. McGraw-Hill, New Delhi
- Castillo Martinez, F., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., Domínguez, J. M., Converti, A., & Souza Oliveira, R. P. (2012). Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science & Technology* 70-83.
- Cavalett, O., J. T., Dias, M. O., Jesus, C. D., Mantelatto, P. E., Cunha, M. P. (2012) Environmental and economic assessment of sugarcane first generation biorefineries in Brazil, *Clean Technologies and Environmental Policy* **3**, 399-410.
- CONADESUCA - Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar (2016a) Informe estadístico del sector agroindustrial de la caña de azúcar en México, Zafras 2016-2007/2015-2015.
- CONADESUCA - Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar (2016b) Nota informativa: Melazas de caña de azúcar y su uso en la fabricación de dietas para ganado.
- de Jong, E., Higson, A., Walsh, P., Wellisch, M. (2012) Bio-based chemicals value added products from biorefineries. *IEA Bioenergy, Task 42*.
- Ding, S., & Tan, T. (2006). L-lactic acid production by *Lactobacillus casei* fermentation using different fed-batch feeding strategies. *Process Biochemistry* **41**, 1451-1454.

- Eggeling, L., & Bott, M. (2015). A giant market and a powerful metabolism: L-lysine provided by *Corynebacterium glutamicum*. *Applied microbiology and biotechnology* **99**, 3387-3394.
- Fitzpatrick, M., Champagne, P., Cunningham, M., Whitney, R. (2010) A biorefinery processing perspective: treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresource Technology* **101**, 8915-22.
- Gahlawat, G., & Srivastava, A. K. (2013). Development of a mathematical model for the growth associated Polyhydroxybutyrate fermentation by *Azohydromonas australica* and its use for the design of fed-batch cultivation strategies. *Bioresource technology* **137**, 98-105.
- González, M. I., Álvarez, S., Riera, F. y Álvarez, R. (2007). Economic evaluation of an integrated process for lactic acid production from ultrafiltered whey. *Journal of Food Engineering* **80**, 553-561.
- Grousseau, E., Blanchet, E., Déléris, S., Albuquerque, M. G., Paul, E., & Uribe Larrea, J. L. (2014). Phosphorus limitation strategy to increase propionic acid flux towards 3-hydroxyvaleric acid monomers in *Cupriavidus necator*. *Bioresource technology* **153**, 206-215.
- Hamid, M. I. M., & Wagialla, K. M. (2017). Simulation of Jatropha Biodiesel production using SuperPro Designer.
- Hatti-Kaul, R., Törnvall, U., Gustafsson, L., Börjesson, P. (2007) Industrial biotechnology for the production of bio-based chemicals. *Trends Biotechnol.* **25**, 119-124.
- Heinzle, E., Biber, A., Cooney, C. (2007) Development of Sustainable Bioprocesses: Modeling and Assessment, Wiley, Chichester.
- Jacquel, N., Lo, C. W., Wei, Y. H., Wu, H. S., & Wang, S. S. (2008). Isolation and purification of bacterial poly(3-hydroxyalkanoates). *Biochemical Engineering Journal* **39**, 15-27.
- Jacquel, N., Lo, C., Wei, Y., Wu, H., & Wang, S. S. (2007). Isolation and purification of bacterial poly(3-hydroxyalkanoates). *Biochemical Engineering Journal* **39**, 15-27.
- John, R. P., Nampoothiri, K. M. y Pandey, A. (2007). Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* **74**, 524-534.
- Leuchtenberger, W., Huthmacher, K., & Drauz, K. (2005). Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* **69**, 1-8.
- Li, T., Chen, X. B., Chen, J. C., Wu, Q. y Chen, G. Q. (2014). Open and continuous fermentation: products, conditions and bioprocess economy. *Biotechnology Journal* **9**, 1503-1511.

- Lunelli, B. H., Andrade, R. R., Atala, D. I., Maciel, M. R. W., Maugeri Filho, F., y Maciel Filho, R. (2010). Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **161**, 227-237.
- Martínez, F. A. C., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., González, J. M. D., Converti, A. y de Souza Oliveira, R. P. (2013). Lactic acid properties, applications and production: a review. *Trends in Food Science & Technology* **30**, 70-83.
- Moncada, J., Matallana, L.G., Cardona, C.A. (2015) Selection of Process Pathways for Biorefinery Design Using Optimization Tools: A Colombian Case for Conversion of Sugarcane Bagasse to Ethanol, PHB and Energy, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **52** , 4132-4145
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Ladisch, M. (2005) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology* **96**, 673-686.
- Mozumder, M. S. I., Garcia-Gonzalez, L., De Wever, H., & Volcke, E. I. (2015). Effect of sodium accumulation on heterotrophic growth and polyhydroxybutyrate (PHB) production by *Cupriavidus necator*. *Bioresource technology* **191**, 213-218.
- MPM - El Mercado del Polietileno en México (2013) www.ptq.pemex.mx
- Nancib, A., Nancib, N., Boubendir, A., & Boudrant, J. (2015). The use of date waste for lactic acid production by a fed-batch culture using *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*. *Brazilian Journal of Microbiology* **46**, 893-902.
- Naranjo Vasco, J. M. (2010). Producción de polihidroxibutirato a partir de residuos agroindustriales (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales).
- Pemex Petroquímica (2013). Mercado del polietileno en México. <http://www.ptq.pemex.mx>
- Polyhydroxyalkanoate (PHA) Market, By Application (Packaging, Food Services, Bio-medical, Agriculture) & Raw Material — Global Trends & Forecasts to 2018 (2013) marketsandmarkets.com.
- Posada, J., Naranjo, J., López, J., Higuera, J., Cardona, C. (2011). Design and analysis of poly-3 hydroxybutyrate processes from crude glycerol. *Process Biochemistry*, 310-317.
- Quintero, J., Montoya, M., Sánchez, O., Giraldo, O., & Cardona, C. (2008) Fuel ethanol production from sugarcane and corn: Comparative analysis for a Colombian case, *Energy* **33**, 385-399.
- Qureshi, N., Saha, B. C., Cotta, M. A., Singh, V. (2013) An economic evaluation of biological conversion of wheat straw to butanol: a biofuel, *Energy Conversion and Management* **65**, 456-462.

- Rajvanshi M, Gayen K, Venkatesh KV (2013) Lysine overproducing *Corynebacterium glutamicum* is characterized by a robust linear combination of two optimal phenotypic states. *Syst Synth Biol* **7**,51–62.
- Roncal, T., Cadierno, U., Torrecilla, J., Jaca, J. G., Garmendia, I., Azpeitia, M., & Gómez, J. R. O. (2009). La biotecnología en el sector químico (I): producción industrial de productos químicos básicos. *Ingeniería química* **476**, 120-123.
- Sebastião, D., Gonçalves, M. S., Marques, S., Fonseca, C., Gírio, F., Oliveira, A. C., & Matos, C. T. (2016). Life cycle assessment of advanced bioethanol production from pulp and paper sludge. *Bioresource technology* **208**, 100-109.
- Seider, W.D., Seader, J.D., Lewin, D.R. (2009) Product & Process Design Principles: Synthesis, Analysis and Evaluation. John Wiley & Sons, New York.
- Serna-Cock, L. y Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). Producción biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *CYTA-Journal of Food* **5**, 54-65.
- Shang, L., Di Fan, D., Kim, M. I., & Chang, H. N. (2007). Modeling of poly (3-hydroxybutyrate) production by high cell density fed-batch culture of *Ralstonia eutropha*. *Biotechnology and bioprocess engineering* **12**, 417-423.
- Sharma, V. y Mishra, H. N. (2014). Unstructured kinetic modeling of growth and lactic acid production by *Lactobacillus plantarum* NCDC 414 during fermentation of vegetable juices. *LWT-Food Science and Technology* **59**, 1123-1128.
- Shiraki, M., Endo, T., & Saito, T. (2006). Fermentative production of (R)-(-)-3-hydroxybutyrate using 3-hydroxybutyrate dehydrogenase null mutant of *Ralstonia eutropha* and recombinant *Escherichia coli*. *Journal of bioscience and bioengineering* **102**, 529-534.
- SIAMI - Sistema de Información Arancelaria Vía Internet (2017) www.economiasnci.gob.mx
- SIE-API - Sistema de Información Económica (2017) <http://www.banxico.org.mx>
- Stephenson, A. L., Dupree, P., Scott, S. A., Dennis, J. S. (2010). The environmental and economic sustainability of potential bioethanol from willow in the UK. *Bioresource technology* **24**, 9612-9623.
- Tao, L., Tan, E.C.D., McCormick, R., Zhang, M., Aden, A., He, X., Zigler, B.T. (2014) Techno-economic analysis and life-cycle assessment of cellulosic isobutanol and comparison with cellulosic ethanol and n-butanol, *Biofuels, Bioproducts & Biorefinery* **8**, 30-48.
- Tatsumi, N., & Inui, M. (2012). *Corynebacterium glutamicum: biology and biotechnology* **23**, Springer Science & Business Media.

- Trejo Estrada, S. (2010). La biotecnología en México: Situación de la biotecnología en el mundo y Situación de la biotecnología en el México y su factibilidad de desarrollo. Oaxaca: Centro de Investigación en Biotecnología.
- Turton, R., Bailie, R.C., Whiting, W.B., Shaeiwitz, J.A. (2008) Analysis, synthesis and design of chemical processes. Prentice Hall, Upper Saddle River.
- Viniegra-González, G. (2009) Biorefinerías de la Caña de Azúcar, *Concyteg* **54**, 1177-1184.
- Woinaroschy, A., Taras, S. (2009) Simulation and Optimization of Citric Acid Production with SuperPro Designer using a Client-Server Interface, *Revista de Chimie* **60**, 979-983.
- Yamanè, T., y Shimizu, S. (1984). Fed-batch techniques in microbial processes, *Bioprocess parameter control*, 147-194.
- Young, D.M., Cabezas, H. (1999) Designing sustainable processes with simulation: the waste reduction (WAR) algorithm. *Computers & Chemical Engineering* **23**, 1477-1491.
- Youssef, C. B., Goma, G. y Olmos-Dichara, A. (2005). Kinetic modelling of *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* growth and lactic acid production in batch cultures under various medium conditions. *Biotechnology Letters* **27**, 1785-1789.
- Yuan, Z., Chen, B., Gani, R. (2013) Applications of process synthesis: Moving from conventional chemical processes towards biorefinery processes, *Computers & Chemical Engineering* **49**, 217-229.
- Zacharof, M. P. y Lovitt, R. W. (2013). Modelling and simulation of cell growth dynamics, substrate consumption, and lactic acid production kinetics of *Lactococcus lactis*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* **18**, 52-64.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00001
 Matrícula: 2131800687

EVALUACIÓN INTEGRAL DE
 BIORREFINERÍAS DE CAÑA DE
 AZÚCAR

En la Ciudad de México, se presentaron a las 14:00 horas del día 12 del mes de marzo del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. HECTOR FERNANDO PUEBLA NUÑEZ
 DR. ROBERTO OLIVARES HERNANDEZ
 DR. RICARDO MORALES RODRIGUEZ
 DR. EDGAR RAMIREZ JIMENEZ
 DR. EDUARDO SALVADOR PEREZ CISNEROS

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS (ENERGIA Y MEDIO AMBIENTE)

DE: OMAR ANAYA REZA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



[Signature]

OMAR ANAYA REZA
ALUMNO

REVISÓ

[Signature]
 LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
 DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

[Signature]

DR. JOSE GILBERTO CORDOBA HERRERA

PRESIDENTE

[Signature]

DR. HECTOR FERNANDO PUEBLA NUÑEZ

VOCAL

[Signature]

DR. ROBERTO OLIVARES HERNANDEZ

VOCAL

[Signature]

DR. RICARDO MORALES RODRIGUEZ

VOCAL

[Signature]

DR. EDGAR RAMIREZ JIMENEZ

SECRETARIO

[Signature]

DR. EDUARDO SALVADOR PEREZ CISNEROS