

Primera aproximación a la cinética de la obtención de etanol mediante sacarificación y fermentación simultánea del bagazo

Y. Albernas-Carvajal^{1*}, J. Pedraza Gárciga¹, G. Corsano²,
L. Rodríguez Rodríguez¹ y E. González Suárez¹

¹Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas; Carretera a Camajuaní Km 5 ½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. ²Instituto de Desarrollo y Diseño, INGAR, (CONICET-UTN). Dpto. de Matemáticas (FIQ-Universidad Nacional del Litoral). Avellaneda 3657 - (S3002GJC) Santa Fe, Argentina.

First approximation of kinetic of ethanol obtaining by simultaneous saccharification and fermentation of bagasse

Primera aproximació a la cinètica de l'obtenció d'etanol mitjançant sacarificació i fermentació simultània del bagàs

Recibido: 28 de marzo de 2015; revisado: 26 de noviembre de 2015; aceptado: 27 de noviembre de 2015

RESUMEN

El incremento de la disponibilidad de residuos y los costos energéticos han incentivado la descomposición de la biomasa lignocelulósica en azúcares y estas a combustible. Un empleo efectivo de los residuales azucarados puede ser la conversión por hidrólisis enzimática de los residuos en azúcares simples y la fermentación de estos azúcares para obtener etanol. El etanol para combustible puede ser obtenido mediante el proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SSF). En el presente trabajo se analiza el modelo matemático desarrollado por Phillippidis *et al.* (1992) empleando los datos experimentales obtenidos por Albernas-Carvajal *et al.* (2014). Para la solución del sistema de ecuaciones diferenciales obtenido se empleó el algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF). El valor del etanol obtenido experimentalmente y determinado por método cromatográfico es similar al valor del etanol obtenido por el algoritmo matemático de (RKF).

Palabras clave: Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF); cinética; bagazo.

SUMMARY

The increased availability of waste and energy costs have encouraged the breakdown of lignocellulosic biomass into sugars and these into fuel. An effective use of residuals may be sweetened by enzymatic hydrolysis conversion of waste, into simple sugars and fermentation of these sugars to ethanol. Fuel ethanol can be obtained by the process simultaneous saccharification and fermentation (SSF). In present paper mathematical model developed by Phillippidis *et al.* (1992) was analyzed using the exper-

imental data obtained by Albernas-Carvajal *et al.* (2014). For solving the obtained differential equations system the Runge-Kutta-Fehlberg (RKF) algorithm was used. Ethanol value obtained experimentally and determined by chromatographic method is similar to ethanol value obtained by (RKF) mathematical algorithm.

Key words: Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF); kinetics; bagasse.

RESUM

L'increment de la disponibilitat de residus i els costos energètics han incentivat la descomposició de la biomassa lignocel·lulòsica en sucres i aquests en combustible. Un us efectiu dels residus ensucrats pot ser la conversió per hidròlisi enzimàtica dels residus en sucres simples i la fermentació d'aquests sucres per obtenir etanol. L'etanol per a combustible pot ser obtingut mitjançant el procés de sacarificació i fermentació simultània (SSF). En el present treball s'analitza el model matemàtic desenvolupat per Phillippidis *et al.* (1992) emprant les dades experimentals obtingudes per Albernas-Carvajal *et al.* (2014). Per a la solució del sistema d'equacions diferencials obtingut es va emprar l'algoritme de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF). El valor de l'etanol obtingut experimentalment i determinat per el mètode cromatogràfic és similar al valor de l'etanol obtingut per l'algoritme matemàtic de (RKF).

Paraules clau: Sacarificació i Fermentació Simultània (SSF); cinètica; bagàs

*Autor para la correspondencia: yailtac@uclv.edu.cu

1. INTRODUCCIÓN

Durante el siglo pasado la generación y emisión de dióxido de carbono se incrementó exponencialmente debido a las demandas de combustibles fósiles (Kádár *et al.* 2004), por lo que el etanol es uno de los combustibles alternativos como sustituto de los combustibles fósiles (Magesh *et al.* 2011; Nguyen *et al.* 2014). El alcohol etílico es efectivo en las máquinas de combustión interna y su quemado es relativamente limpio, especialmente cuando las cantidades de gasolina con las que se mezclan disminuyen. Además las emisiones tóxicas al aire son menores para el etanol que para la gasolina tal como lo afirma Lynd (1996).

Uno de los materiales lignocelulósicos a ser considerados en los países tropicales es el bagazo de caña de azúcar (SCB), residuo fibroso obtenido después de la extracción del jugo de la caña (*Saccharum officinarum*) en el proceso de producción de azúcar (Pandey *et al.* 2000). El bagazo es un paradigma por su bajo costo y abundancia, además de no competir con alimentos (Mesa *et al.*, 2011; Albernas-Carvajal, 2013). De acuerdo con Hofsetz & Silva (2012), y Dantas *et al.* (2013) por cada tonelada de caña de azúcar se obtienen aproximadamente de 0,27 a 0,3 toneladas de bagazo (Albernas-Carvajal *et al.* 2014 a); una porción de ese bagazo es quemada en las calderas de vapor, pero queda un excedente que puede ser empleado en la obtención del etanol de segunda generación (Mesa *et al.* 2011a).

El bagazo de caña de azúcar de manera general tiene una composición aproximada de 50 % de celulosa, 25 % de hemicelulosa y 25 % de lignina (Haagensen & Ahring, 2002). A pesar de ser rica en carbohidratos (celulosa, hemicelulosa), la biomasa lignocelulósica es un sustrato insoluble con una estructura compleja, por lo que se necesita lograr una eficiente conversión de la celulosa en azúcares fermentables para luego obtener el etanol. La lignina forma una barrera protectora alrededor de la celulosa y la hemicelulosa, protegiendo los polisacáridos de la degradación enzimática. Para la conversión de la biomasa en etanol la celulosa debe estar disponible a la acción de las enzimas celulasas.

La conversión a etanol a partir de biomasa lignocelulósica incluye dos procesos: la hidrólisis de la celulosa a celobiosa y otros productos solubles por la acción de enzimas exoglucanasas y endoglucanasas presentes en la preparación de la celulasas, conversión de la celobiosa a glucosa por la acción de la enzima β -glucosidasa y conversión de la glucosa a etanol por fermentación empleando levaduras (Lynd *et al.* 2001). El proceso de hidrólisis enzimática puede ser combinado con el de fermentación microbiana en una sola unidad llevando a cabo el llamado el proceso de Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF) (South *et al.* 1993).

La SSF es un proceso de bioconversión incluyendo la hidrólisis de los polisacáridos en monosacáridos en presencia de organismos fermentativos que consumen los azúcares simples (Takagi *et al.* 1976; Philippidis *et al.* 1992; Sasikumar & Viruthagiri, 2010). Comparado con la sacarificación y fermentación secuencial, la SSF reduce la inhibición por producto de la enzima hidrolítica mientras reduce la inhibición por sustrato de los organismos fermentativos. Junto con la cinética enzimática y parámetros de crecimiento microbiano que son intrínsecos de las enzimas y microorganismos en el proceso de SSF, la carga inicial de polisacáridos, la concentración inicial de enzimas y de inó-

culo microbiano gobiernan la dinámica de los procesos batch de SSF (Raman & Anex, 2012). Investigaciones han demostrado que la sacarificación simultánea de la celulosa a glucosa y fermentación de la glucosa a etanol mejoran la cinética (Takagi *et al.* 1977) así como la economía de la conversión de biomasa por productos de la inhibición enzimática en la hidrólisis, minimización de los riesgos de contaminación por la presencia de etanol y reducción de los requerimientos de capital invertido (Wright *et al.* 1988). El objetivo del presente trabajo es identificar y analizar los pasos del proceso de SSF aplicado a la conversión del bagazo de caña de azúcar y demostrar que el modelo cinético desarrollado por Philippidis *et al.* (1992) puede ser empleado para el estudio aproximado y simulación adecuada del proceso de SSF empleando bagazo de caña de azúcar pretratado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo experimental de la SSF para la determinación del mejor experimento en la obtención de etanol se realizó empleando los siguientes materiales y métodos:

2.1 Materia prima

Bagazo de caña de azúcar (60 % w/w humedad) recogido de una fábrica de azúcar cubana. La composición de este bagazo en términos de sus principales componentes en % peso base seca es: glucosa 44,94 \pm 0,23%; xilosa, 28,24 \pm 0,6%; lignina, 18,93 \pm 0,19%; extractivos, 5,6 \pm 0,12%; cenizas, 2,29 \pm 0,09% (valores promedios de tres réplicas) (Albernas-Carvajal, 2013). Esta composición es similar a la reportada por Sasikumar & Viruthagiri (2010).

2.2 Pretratamientos

El bagazo de caña de azúcar fue pretratado en dos etapas, la primera incluye cualquiera de los dos propósitos, producción de furfural o de xilosa. Para la producción de furfural las condiciones operacionales son temperatura (175°C), tiempo (40 min), relación sólido líquido (1:1 w/v en base fibra seca), y concentración de H₂SO₄ (1 % w/v) base fibra seca (Morales *et al.* 2010). Para la producción de xilosa las condiciones son: temperatura 120 °C, tiempo 40 min, relación sólido líquido 1:4 (w/v), concentración de H₂SO₄ (1 % w/v) base fibra seca y 24 horas de impregnación antes del pretratamiento. Esta etapa fue desarrollada en un reactor semipiloto inyectado con vapor directo (Mesa *et al.* 2011). El segundo pretratamiento va dirigido a la separación de la lignina por organosolvólisis con etanol. Las condiciones operacionales fueron: temperatura 185 °C, tiempo 60 min, concentración de etanol 30 % v/v, relación sólido líquido 1:7 w/v y concentración de NaOH 3 % w/w basado en fibra seca (Mesa *et al.* 2010). Esta segunda etapa se llevó a cabo en un reactor Parr de 1 L. Posteriormente al pretratamiento el sólido residual es separado del hidrolizado, lavado con agua y almacenado a 4 °C antes de las determinaciones analíticas y los experimentos de sacarificación y fermentación simultánea (Albernas-Carvajal *et al.* 2014).

2.3 Sacarificación y fermentación simultánea

El sólido producto de los pretratamientos previos, lavado, es sometido al proceso SSF. Para el proceso de SSF se emplea la mezcla de enzimas compuestas por el complejo celulolítico Cellic[®]CTec2 y β -glucosidasa (NS50010),

proporcionada por Novozymes A/S (Dinamarca), que ha sido profundamente estudiada de acuerdo con Bansal *et al.* (2009). La fermentación se lleva a cabo por la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* No. 1701 (Colección del cultivo DER CIEMAT, España).

Las corridas de SSF fueron llevadas a cabo en frascos Erlenmeyer de 100 mL, cada uno contiene 25 mL de medio en 0,05 M tampón citrato de sodio a pH 4,8 a 30-35 °C en zaranda rotatoria (Certomat-R, B-Braun, Alemania) a 150 rpm por 50 h con 10 o 15 % (w/v) en dependencia del diseño experimental. El límite superior fue escogido tan alto como era posible para lograr una solución de glucosa concentrada manteniendo el medio bien mezclado.

2.4 Diseño de experimentos

Los experimentos de SSF fueron desarrollados empleando un diseño factorial completo 2³, se desarrollaron 8 experimentos. Los niveles de las variables seleccionados fueron basados en los reportes de Mesa *et al.* (2010); (2011). Las variables y sus niveles fueron: X₁, temperatura (°C) con nivel bajo de 30 y nivel alto de 35; X₂, carga enzimática (Unidades de papel de filtro UPF/g materia seca), los niveles son 10 y 20 y X₃, concentración de sólidos, (% w/v), variando entre 10 y 15. Todos los experimentos se desarrollaron en duplicado.

2.5 Métodos Analíticos

La composición química de los materiales pretratados se determinó acorde con los métodos NREL (NREL, 2004). La concentración de etanol fue determinada en un cromatógrafo de gases 7890A, Agilent, con inyector split/splitless, detector de ionización por llama, acoplado a él, un generador de hidrógeno H2PEM-100 AWF 100, Parker. Se emplea una columna DB-ALC2, J & W Scientific de 30 cm de longitud, 0,32 mm de diámetro interior, y 1,20 μm de capa interior. Detector de ionización por llama, gas portador: hidrógeno a 3 mL/min, gases en el detector de ionización por llama: Hidrógeno, 30 mL/min; Aire, 400 mL/min. Temperatura del inyector 210 °C y temperatura del detector 240 °C.

2.6 Descripción del modelo SSF

De acuerdo con Philippidis *et al.* (1992), la cinética SSF depende de cuatro factores fundamentales:

1. Calidad y concentración del sustrato celulósico.
2. Calidad y concentración del sistema enzimático celulasa y β-glucosidasa
3. Modo de interacción entre el sustrato y la enzima
4. Modo de interacción entre la enzima y el organismo fermentativo.

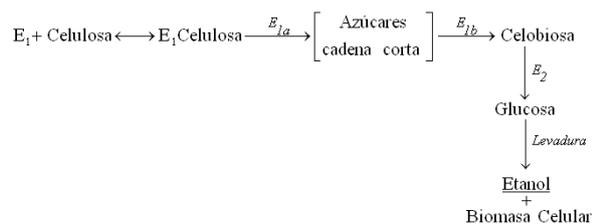


Figura 1. Representación del mecanismo cinético de la SSF. E₁: Celulasa; E_{1a}: endoglucanasa; E_{1b}: exoglucanasa; E₂: β-glucosidasa, Philippidis *et al.* (1992).

Para facilitar el desarrollo del modelo y la estimación de los parámetros se asume que: la celulasa (E₁), consiste solo en

endoglucanasa y exoglucanasa, se absorbe hacia el sustrato sólido lignocelulósico y se adhiere la celulosa [C] a las cadenas de polisacáridos a través de la acción de la endoglucanasa (E_{1a}); simultáneamente, se desarrolla la hidrólisis de esas cadenas hacia la celobiosa [B] por la exoglucanasa (E_{1b}). Sin embargo debido a que la concentración de las macromoléculas intermedias insolubles no puede ser determinada experimentalmente, el esquema de reacción se simplifica más allá a la conversión directa de la celulosa a celobiosa. La celobiosa se difunde en la fase acuosa, donde la β-glucosidasa (E₂) cataliza esta hidrólisis hacia la glucosa [G], que es fuente de energía y carbono y conduce hacia la producción del etanol [E], como producto metabólico principal, y la biomasa celular [X]. El modelo también considera que:

1. La celulasa consiste en endoglucanasa y exoglucanasa, pero no se hace distinción entre ellas, ya que no se distinguen las actividades de los dos componentes de la celulasa durante la SSF.
2. La celulasa y la β-glucosidasa son componentes exógenos añadidos al sistema de SSF.
3. La celulosa es hidrolizada hacia la celobiosa por la celulasa con la formación de cantidades despreciables de glucosa.
4. El pH durante la SSF no varía considerablemente, por lo tanto no tiene un efecto significativo en la actividad enzimática y el crecimiento celular.
5. El etanol y el dióxido de carbono son los principales productos metabólicos.
6. El medio de crecimiento provee un exceso de nutrientes excepto fuente de carbono (glucosa), que se deriva de la celulosa.

El modelo no se restringe a cualquier sistema particular de SSF o juego de condiciones, y se refiere a ambas operaciones, anaerobia y aerobia.

2.7 Formulación del modelo cinético de la SSF

Basados en el modelo desarrollado por Philippidis *et al.* (1992), los perfiles de celulosa, celobiosa, glucosa, masa celular y concentración de etanol durante la SSF desarrollada a batch son descritas por las siguientes ecuaciones de balances de masa:

$$\text{Celulosa} \quad \frac{d[C]}{dt} = -r_1 \quad (1)$$

$$\text{Celobiosa} \quad \frac{d[B]}{dt} = 1,06 \cdot r_1 - r_2 \quad (2)$$

$$\text{Glucosa} \quad \frac{d[G]}{dt} = 1,05 \cdot r_2 - r_3 \quad (3)$$

$$\text{Masa Celular} \quad \frac{d[X]}{dt} = \mu_m \cdot \left(\frac{[G]}{K_3} + [G] + \frac{[G]^2}{K_1} \right) \cdot \left(\frac{K_{3E}}{K_{3E} + [E]} \right) \cdot [X] - K_d \cdot [X] \quad (4)$$

$$\text{Etanol} \quad \frac{d[E]}{dt} = \left(a \cdot \frac{d[X]}{dt} + b \cdot [X] \right) \cdot \left(\frac{[G]}{K_4} + [G] \right) \quad (5)$$

Donde: *a* es la constante de crecimiento asociada a la formación de etanol, g/g; *b* es la velocidad específica de producción de etanol, g/g/h; [B] es la concentración de celobiosa, g/L; [C] es la concentración de celulosa, g/L; [G] es la concentración de glucosa, g/L; [E] es la concentración de etanol, g/L; [X] es la concentración de masa celular, g/L; *K_d* velocidad específica de muerte celular, h⁻¹; *μ_m* velocidad específica de crecimiento del microorganismo, h⁻¹; *K₁* es la constante de inhibición del crecimiento celular por sustrato (glucosa), g/L; *K_{3E}* es la constante de inhibición del crecimiento celular por etanol, g/L; *K₃* es la constante de Monod de la glucosa para el crecimiento celular, g/L; y *K₄*

es constante de Monod de la glucosa para la síntesis de etanol, g/L.

De este forma el modelo matemático de SSF está compuesto por cinco ecuaciones diferenciales involucrando cinco variables dependientes, $[C]$, $[B]$, $[G]$, $[X]$ y $[E]$ y una independiente (tiempo, t). En la formulación del modelo se asume que la desactivación de la enzima es despreciable, la concentración de lignina se considera constante, la lignina es químicamente inerte durante la SSF. El modelo puede ser fácilmente modificado en diferentes condiciones de SSF y modos de operación, tales como múltiples productos metabólicos, SSF y síntesis enzimática simultánea, fermentación aeróbica y operaciones fed-batch y continuas, (Albernas-Carvajal *et al.* 2014).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Etanol obtenido experimentalmente.

En la tabla 1 se muestran los resultados del etanol obtenido experimentalmente y determinado por cromatografía gaseosa antes descrita según lo desarrollado por Albernas-Carvajal *et al.* (2014). Todas las determinaciones analíticas se desarrollaron en réplica y los resultados promedios del etanol máximo son:

Tabla 1. Resultados promedios del etanol obtenido en la SSF.

Exp	X ₁	X ₂	X ₃	Etanol Máximo (g/L)
1	+	+	+	22,00
2	+	+	-	14,60
3	+	-	+	14,20
4	+	-	-	11,20
5	-	+	+	18,30
6	-	+	-	17,52
7	-	-	+	15,27
8	-	-	-	9,26

Como se puede apreciar el nivel de etanol obtenido para las condiciones de experimentación ensayadas, se encuentra entre 9,26 y 22,0 g/L, valores que corresponden a los niveles inferior y superior de las variables empleadas respectivamente. Atendiendo a esto se decide, para el estudio cinético, utilizar el valor máximo de concentración de etanol obtenido, es decir, 22,0 g/L. Es importante resaltar que este valor es prometedor si se compara con lo obtenido por Lu *et al.* (2013), 24,0 g/L sin suplemento de nutrientes y 22,0 g/L con suplemento de nutrientes. Por otra parte Sánchez *et al.* (2005) logran también bajo la tecnología SSF 18,0 g/L, valor muy cercano a lo obtenido en el presente trabajo.

En un trabajo posterior se presentará un estudio completo y detallado del efecto de todos los factores involucrados en este experimento y sus interacciones. Muy brevemente se puede anunciar el compromiso a establecer con la temperatura de trabajo, que para la levadura empleada la óptima reportada es de 30°C, como lo apunta Mesa (2010), pero para la hidrólisis enzimática la enzima empleada tiene reportado por el fabricante como óptima 50°C (Albernas-Carvajal, 2013); es decir, que en el proceso SSF se presenta una complicada combinación donde la hidrólisis enzimática y la fermentación están fuera de sus óptimos y se debe lograr un compromiso para el trabajo, lo cual se analizará en el trabajo posterior.

3.2 Determinación de los parámetros del modelo cinético

Para la solución del sistema de ecuaciones se emplea el

algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF). Este algoritmo controla el estimado del error de integración y altera los pasos de la solución del sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias con el objetivo de mantener el error por debajo de un cierto valor prefijado. Los valores empleados para los errores relativos y absolutos son menores que 10^{-10} que garantizan una solución apropiada del sistema de ecuaciones diferenciales. Sin embargo este nivel de error es prácticamente imposible de alcanzar, por lo que se usa como criterio de parada un error de 10^{-7} , para el error absoluto y de 10^{-4} para el error relativo. Los cálculos del tipo Runge-Kutta tienen gran popularidad debido a que tienen una gran estabilidad, son métodos de un solo paso donde es suficiente solo con la información de la función en el paso previo para predecir la solución en el paso siguiente. En el modelo matemático que describe el proceso de fermentación de la glucosa, ecuación (3) a la (5), $r_2 = 0$ (no hay formación de glucosa). Donde la velocidad de hidrólisis de la celulosa, r_1 , depende de la concentración de celulosa absorbida en la celulosa:

$$r_1 = k_1 \cdot (E_1^*) \quad (6)$$

Donde k_1 es la velocidad específica de hidrólisis y (E_1^*) es la concentración de celulosa absorbida, que no se considera en el presente trabajo. La velocidad de utilización de la glucosa por el microorganismo, r_3 , es:

$$r_3 = \frac{1}{Y_{XG}} \cdot \frac{d[X]}{dt} + m \cdot [X] \quad (7)$$

Donde Y_{XG} es el coeficiente de rendimiento promedio de masa celular en el sustrato (glucosa), y m es la velocidad específica de consumo del sustrato por requerimientos de mantenimiento.

El modelo de fermentación consiste en tres ecuaciones diferenciales ordinarias (ecuaciones 3, 4 y 5), incluyendo una variable independiente (t), tres variables dependientes ($[X]$, $[G]$, y $[E]$), y diez parámetros (μ_m , K_d , K_{3E} , K_1 , K_d , Y_{XG} , m , a , b , y K_d). Para el cálculo de los parámetros se usó una regresión no lineal (a partir de experimentos realizados, cuyos resultados se muestran en la tabla 2, para estudiar la cinética del crecimiento celular y la síntesis del etanol) con el objetivo de estimar aquellos valores de los parámetros que minimizaran la suma de los cuadrados de los residuos. Se utilizó para ello el método de la minimización de los mínimos cuadrados de Levenberg – Marquardt, que es un híbrido de los métodos de Gauss-Newton y de paso descendente.

Tabla 2. Resultados experimentales empleados en el cálculo de los parámetros del modelo SSF

Tiempo (h)	Concentración media de Etanol (g/L)	Concentración media de Glucosa (g/L)	Concentración media de Masa Celular (g/L)
0	0,00	7,50	1,15
5	7,05	1,04	2,20
12	15,25	0,40	1,60
22	18,79	0,00	1,10
29,5	19,88	0,00	0,50
45,5	22,00	0,00	0,45

Los valores de los parámetros obtenidos son los siguientes:

$$\begin{aligned} \mu_m &= 0,17 \text{ h}^{-1} & K_3 &= 0,171 \text{ g/L} & K_1 &= 33,8 \text{ g/L} \\ K_d &= 0,0505 \text{ h}^{-1} & Y_{XG} &= 0,24 \text{ g/g} & m &= 0,211 \text{ h}^{-1} \\ a &= 0,00269 \text{ g/g} & b &= 0,198 \text{ h}^{-1} & K_d &= 0,65 \text{ g/L} \\ K_{3E} &= 0,18 \text{ g/L} \end{aligned}$$

El etanol obtenido por el algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF) es 20,84 g/L y el etanol determinado por el método cromatográfico para el mejor experimento abordado por Albernas-Carvajal *et al.* (2014) fue de 22,0 g/L, lo cual demuestra la eficiencia del algoritmo RKF empleado. Como se puede apreciar en la figura 2 los valores experimentales tienen una tendencia similar a los valores obtenidos por los modelos.

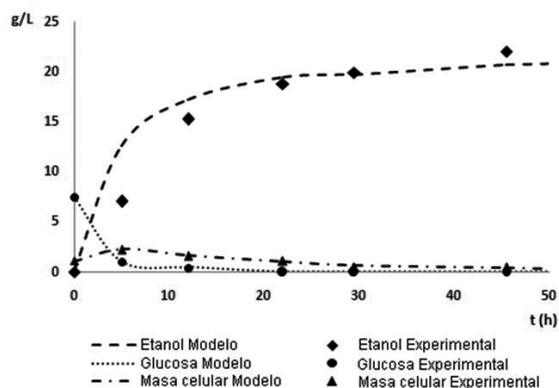


Figura 2. Perfiles obtenidos en el modelo y experimental de consumo de glucosa, formación de etanol y masa celular

El etanol obtenido se encuentran en el orden de los valores reportados por Sánchez *et al.* (2005), que empleando otra materia prima lignocelulósica, como ya se apuntó previamente, logran 18,0 g/L de etanol a las 70 h de experimento mientras que en el presente se logran los 22,0 g/L experimentales y 20,84 g/L por el algoritmo RKF a las 50 h. Los mencionados autores reportan 0 g/L de glucosa a las 5 h, presentando un comportamiento muy similar al presente con 2,0 g/L a las 5 h, disminuyendo progresivamente hasta llegar a valores cercanos a 0 g/L a las 18 h.

Por otra parte Lu *et al.* (2013), haciendo el pretratamiento con agua líquida caliente empleando el material lignocelulósico insoluble en el agua a 210 °C y la misma levadura *Saccharomyces cerevisiae*, logra hasta 24,0 g/L de etanol sin suplemento de nutrientes y 22,0 g/L con suplemento de nutrientes. Para el caso de la glucosa a las 24 h obtuvieron 2,0 g/L sin suplemento de nutrientes y 1,0 g/L con suplemento de nutrientes, decayendo progresivamente hasta llegar a niveles de 0 g/L pasadas las 36 h de experimento. Phillippidis *et al.* (1992) en los compuestos mencionados se comporta de manera similar, visto como tendencia general, pero al tratarse de otro material y otro pretratamiento diferente los valores logrados son inferiores al presente, 4,0 g/L de etanol a partir de las 20 h y glucosa con valores cercanos a 0 g/L a partir de las 16 h.

Todo este análisis da una medida de la eficiencia y adecuación del modelo empleado, el cual proporciona una valiosa visión de las interacciones más importantes y las limitaciones de la velocidad en la SSF, y puede ser empleado en un futuro como herramienta para desarrollar el escalado del proceso de bioconversión.

El hecho de haber podido demostrar en el presente el método de resolución numérica aplicado a la SSF del bagazo de caña de azúcar pretratado es una herramienta importante que puede emplearse como guía para procesos similares de SSF empleando otras materias primas, siempre y cuando se ajusten los parámetros del modelo a las nuevas condiciones de la nueva materia prima empleada.

4. CONCLUSIONES

- La expresión cinética propuesta por Phillippidis *et al.* (1992) para la obtención de etanol, masa celular y consumo de glucosa fue analizada y probada en el presente trabajo.
- Este modelo describe satisfactoriamente el proceso de obtención de etanol a partir de bagazo pretratado mediante el proceso de Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF).
- La concentración de etanol obtenida experimentalmente y determinada por métodos cromatográficos por Albernas-Carvajal *et al.* (2014) presenta valores similares a los obtenidos en el proceso de modelación y simulación por el algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF), lo cual demuestra la efectividad de este algoritmo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la República Argentina (MINCYT) y el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de la República de Cuba (CITMA).

REFERENCIAS

1. Albernas-Carvajal, Y., Procedimiento para la síntesis y el diseño óptimo de plantas discontinuas de obtención de bioetanol empleando bagazo de caña de azúcar., a *PhD thesis* presented in the Central University "Marta Abreu" of Las Villas, Santa Clara, Cuba, 2013.
2. Albernas-Carvajal, Y., Pedraza, J., Rodríguez, L., Mesa, L., Martínez, Y, and González, E., Modelación matemática y aproximación cinética de la conversión del bagazo pretratado en etanol mediante Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF)., *Memoirs from VI International Congress of Biofuels Science and Technology* (CIBSCOL 2014), Cartagena de Indias, Colombia 2014, pp. 28-29.
3. Albernas-Carvajal, Y, Corsano, G., Morales, M., González, M., Santos, R., and González, E., Optimal desing for an ethanol plant combining first and second-generation technologies., *CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro*, Vol. 5 No. 5 December 2014 a, pp. 97 – 120.
4. Bansal, P., Hall, M., Realff, M.J., Lee, J.L., Bommaris, A.S., Modeling cellulose kinetics on lignocellulosic substrates., *Biotechnology Advances*, Vol. 27, 2009, pp. 833-848.
5. Dantas, G.A., Legey, L.F.L. & Mazzone, A., Energy from sugarcane bagasse in Brazil: An assessment of the productivity and cost of different technological routes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 21, 2013, pp. 356–364.
6. Haagensen, F., and Ahring, B.K., Enzymatic hydrolysis and glucose fermentation of wet oxidized sugarcane bagasse and rice straw for bioethanol production., *Riso-R-1517 (EN)*, Vol. 1, 2002, pp.184 -195.
7. Hofsetz, K. & Silva, M. A. Brazilian sugarcane bagasse: Energy and non-energy consumption. *Bio-mass and Bioenergy*, 46: 2012, pp. 564-573.

8. Kádár, Zs., Szengyel, Zs., Réczey, K., Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) of Industrial Wastes for the Production of Ethanol. *Ind. Crops and Prod.*, Vol. 20, 2004, pp. 103-110.
9. Lu, J., Li, X., Yang, R., Yang, L., Zhao, J., Liu, Y., Qu, Y., Fed-batch semi-simultaneous saccharification and fermentation of reed pretreated with liquid hot water for bio-ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae*., *Bioresource Technology*, Vol 144, 2013, pp. 539-547.
10. Lynd, L.R., Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and Policy. *Annu. Rev. Energy Environ.*, Vol. 21, 1996, pp. 403.
11. Lynd, L.R., Lyford, K., South, C. R. and Walsum, P., Levenson, K., Evaluation of paper sludges for amenability to enzymatic hydrolysis and conversion to ethanol., *Tappi J.* Peer Reviewed Paper, 2001.
12. Magesh, A., Preetha, B., Viruthagiri, T., Simultaneous Saccharification and Fermentation of Tapioca Stem var. 226 WhiteRose to Ethanol by Cellulase Enzyme and *Saccharomyces cerevisiae*., *Int.J. ChemTech Res.*, Vol. 3, No. 4, 2011, pp. 1821-1829.
13. Mesa L., Estrategia investigativa para la tecnología de obtención de etanol y coproductos del bagazo de la caña de azúcar, a *PhD thesis* presented in the Central University "Marta Abreu" of Las Villas, Santa Clara, Cuba, 2010.
14. Mesa L., González E., Cara C., Ruiz E, Castro E., Mussatto S.I., An approach to optimization of enzymatic hydrolysis from sugarcane bagasse based on organosolv pretreatment., *J. Chem. Technol. Biotechnol*, Vol. 85, 2010, pp. 1092-1098.
15. Mesa, L., González, E., Cara, C., González, M., Castro, E., Mussatto, S.I., The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse., *Chemical Engineering Journal*, Vol. 168, 2011, pp. 1157-1162.
16. Mesa, L., González, E., Romero, I., Ruiz, E., Cara, C. & Castro, E. Comparison of process configurations for ethanol production from two-step pretreated sugarcane bagasse. *Chem. Eng. J.*, 175: 2011a, pp. 185-191.
17. Morales, M., Verelst, H., Mesa, L., and González, E., Simulation of furfural production process for revamping with ethanol technology from lignocellulosic residuals., *Chemical Engineering Transactions*, Vol. 21, 2010, pp. 967-972.
18. Nguyen, C.N., Le, T.M., Chu-Ky, S., Pilot scale simultaneous saccharification and fermentation at very high gravity of cassava flour for ethanol production., *Industrial Crops and Products*, Vol. 56, 2014, pp. 160-165.
19. NREL, Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass., *National Renewable Energy Laboratory*, Golden, Co. LAP002, 2004.
20. Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., and Soccol, V.T., Biotechnological potential of agro-industrial residues I: sugarcane bagasse., *Bioresource Technol.*, Vol.74, 2000, pp. 69-81.
21. Philippidis, G.P., Spindler, D.D., Wyman C.E., Mathematical modeling of cellulose conversion to ethanol by the simultaneous saccharification and fermentation process., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 34/35, 1992, pp. 543 – 556.
22. Raman, D.R, Anex, R.P, Conceptual and mathematical models of batch simultaneous saccharification and fermentation: dimensionless groups for predicting process dynamics. *Agricultural and Biosystems Engineering.*, 2012, pp. 1-20.
23. Sánchez, O.J., Cardona, C.A., Cubides, D.C., Modeling of Simultaneous Saccharification and Fermentation process coupled with pervaporation for fuel Ethanol., *2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering*, Costa Verde, Brasil, August 2005, pp. 1-10.
24. Sasikumar, E., Viruthagiri, T., Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) of Sugarcane Bagasse - Kinetics and Modeling., *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, Vol. 3, No. 3, 2010, pp. 57-64.
25. South, C.R., Hogsett, D.A.L., Lynd, L.R., Continuous Fermentation of Cellulosic Biomass to Ethanol., *Applied Bioch. and Biot.*, Vol. 39/40, 1993, pp. 587-600.
26. Takagi, M., Suzuki, S., Gauss, W.F., Manufacture of Alcohol from Cellulosic Materials Using Plural Ferments., *United States Patent*, 3,990,944., 1976.
27. Takagi, M., Abe, S., Suzuki, S., Emert, G. H. and Yata, N., *Bioconversion Symposium Preceedings*, IIT, Delhi, 1977, pp. 551-571.
28. Wright, J.D., Wyman, C.E., and Grogmann, K., *Appl. Biochem. Biotechnol.* Vol. 18, 1988, pp. 75-90.