

# Comparación de modelos cinéticos no estructurados para fermentación de bioetanol con *Saccharomyces cerevisiae*

Meza Gutiérrez Jenifer Lilian, Serrano Hernández Eduardo, Figueroa Estrada Juan Carlos\*

Universidad Mexiquense del Bicentenario, Unidad de Estudios Superiores Tultitlán. San Antonio s/n, Villa Esmeralda, Tultitlan de Mariano Escobedo, Estado de México. C.P. 54910. México.

\*Autor para correspondencia: [juan.figueroa@umb.mx](mailto:juan.figueroa@umb.mx)

## Recibido:

12/junio/2022

## Aceptado:

30/diciembre/2022

## Palabras clave:

Modelos cinéticos,  
bioetanol,  
fermentación

## Keywords:

Kinetic models,  
bioethanol,  
fermentation

## RESUMEN

La producción alcohólica es importante para la industria de los biocombustibles. La representación con modelos cinéticos mediante simulaciones numéricas puede dar una idea para mejorar las condiciones de fermentación. En el presente trabajo se utilizaron datos experimentales reportados por Zentou *et al.* (2019), de un proceso de fermentación alcohólica mediante *Saccharomyces cerevisiae* a tres diferentes concentraciones iniciales de melaza como sustrato. Se propusieron tres diferentes modelos (Haldane-Levespiel, Haldane-Luong y Moser-Levespiel). Como objetivo principal se estimaron los parámetros cinéticos para cada modelo y se validaron por medio de simulaciones numéricas y el cálculo de los coeficientes de correlación para cada variable. En general se obtuvieron mejores ajustes que los presentados por Zentou *et al.* (2019). El modelo cinético de Moser-Levespiel presentó el coeficiente de correlación global más alto que fue de  $R^2=0.98$ .

## ABSTRACT

Alcoholic production is important to the biofuels industry. The representation with kinetic models through numerical simulations can give an idea to improve the fermentation conditions. In the present work, experimental data reported by Zentou *et al.* (2019), from an alcoholic fermentation process using *Saccharomyces cerevisiae* at three different initial concentrations of molasses as a substrate. Three different models were proposed (Haldane-Levespiel, Haldane-Luong and Moser-Levespiel). The main objective was to estimate the kinetic parameters for each model and validate them by means of numerical simulations and the calculation of the correlation coefficients for each variable. In general, better adjustments were obtained than those presented by Zentou *et al.* (2019). The Moser-Levespiel kinetic model presented the highest global correlation coefficient, which was  $R^2=0.98$ .

## Introducción

El estudio del comportamiento cinético de un bioproceso es importante en la bioingeniería, porque permite predecir el comportamiento de los diferentes tipos de biorreactores bajo diferentes condiciones de operación. Generalmente, se utilizan modelos no estructurados para describir el comportamiento cinético.

Una forma significativa de conocer el comportamiento cinético de los microorganismos en el proceso de fermentación es a través de los parámetros cinéticos. Estos parámetros se obtienen a partir de las concentraciones de biomasa, productos y sustratos consumidos durante la fermentación. Estos parámetros proporcionan información sobre el fenómeno de inhibición como resultado de altas concentraciones de sustratos o productos. Además, dan información sobre el fenómeno de limitación causado por bajas concentraciones de nutrientes. (Arellano *et al.*,2007).

En varios países, la investigación está trabajando actualmente en el desarrollo de biocombustibles avanzados, que se producen a partir de biomasa celulósica no alimentaria, como residuos de madera y paja de la agricultura y la silvicultura, plantas de rotación rápida, cultivos no alimentarios (posiblemente cultivados en tierras marginales no cultivables), fracción orgánica de residuos urbanos y materias primas a base de algas. Estos tipos de materia prima requieren un procesamiento avanzado que requiere mucho capital para producir biocombustibles, pero pueden ser más sostenibles, ya que ofrecen reducción emisiones y menos sensibilidad a las fluctuaciones en los costos de la materia prima.

La melaza parece ser una materia prima prometedora para la producción de bioetanol con alto rendimiento y bajo costo. En este sentido, la investigación ha destacado la producción de bioetanol a partir de melaza utilizando *Saccharomyces cerevisiae* (Zentou *et al.*,2015).

Algunos compuestos, como el etanol, son tóxicos para los microorganismos y pueden provocar la inhibición del producto (Arellano *et al.*,2007). La fermentación por lotes de etanol de *S. cerevisiae* reveló que las temperaturas de cultivo más bajas causaban un crecimiento más lento y una producción de etanol más lenta (Monod, 1950). Este problema se debe a la falta de consumo de azúcares por parte de las levaduras, causada principalmente por las condiciones de estrés que promueven un ambiente adverso (Arellano *et al.*,2007).

Con el paso del tiempo, la fermentación alcohólica por lotes para la obtención de bioetanol ha tenido un gran interés en el sector industrial y gracias a eso se han

desarrollado variedades de modelos cinéticos para así explicar el comportamiento del crecimiento microbiano, el consumo del sustrato y la generación de producto.

La modelización matemática de los procesos de fermentación puede clasificarse en dos categorías principales: modelos estructurados y no estructurados. En los modelos no estructurados, la biomasa se considera un compuesto químico en una solución con una fórmula media. En los modelos estructurados, la biomasa se considera como un número de compuestos bioquímicos, teniendo así en cuenta el cambio en la composición interna del organismo (Garhyan y Elnashaie, 2004). Normalmente, los modelos no estructurados son también modelos no segregados. Los modelos segregados tratan cada célula como independiente, y una población como una colección de dichas células distintas. Describen diferentes tipos morfológicos de células o el envejecimiento celular y a veces, describen las interacciones entre las diferentes células. Existen otros modelos denominados “de caja negra” que utilizan una red neuronal artificial para predecir la cinética de la fermentación a partir de los datos iniciales (Arellano *et al.*,2007).

En consecuencia, en el campo de la biotecnología resulta interesante el estudio cinético de microorganismos que tienen la capacidad de producir alcoholes. En el presente trabajo se realizó la estimación de parámetros cinéticos con tres modelos no estructurados (Haldane-Levespiel, Haldane-Luong, Moser-Levespiel), para la producción de etanol a partir de melaza como sustrato, con un cultivo por lote de *S. cerevisiae*, con tres concentraciones diferentes iniciales de sustrato (75, 150 y 225 g/L). Se validaron los modelos mediante simulaciones numéricas y se obtuvieron los coeficientes de correlación globales de cada modelo. Finalmente, los coeficientes de correlación obtenidos fueron comparados con los resultados obtenidos del trabajo de Hamid Zentou *et al.* (2019). Los modelos presentados en este trabajo muestran mejores ajustes para las tres concentraciones, por lo que se obtienen modelos más robustos.

## Metodología

### Selección de datos experimentales

Se utilizaron datos experimentales de un proceso de fermentación por lote de melaza, utilizando *S. cerevisiae* a tres diferentes concentraciones iniciales de sustrato: 75 g.L-1, 150 g.L-1 y 225 g.L-1 (Zentou *et al.*,2019).

## Descripción de balances de materia de la fermentación alcohólica por lote con *S. cerevisiae*

La tabla 1 muestra los balances de materia establecidos para la fermentación por lote con *S. cerevisiae*.

**Tabla 1.** Balances de materia.

| Balace          | Ecuación                             |
|-----------------|--------------------------------------|
| <b>Biomasa</b>  | $\frac{dX}{dt} = \mu X - K_d X$ (1)  |
| <b>Sustrato</b> | $\frac{dS}{dt} = -\mu X Y_{S/x}$ (2) |
| <b>Producto</b> | $\frac{dP}{dt} = \mu X Y_{P/x}$ (3)  |

Dónde:

$\mu$ , Velocidad de crecimiento 1/h

$K_d$ , Velocidad de muerte 1/t

$X$ , Concentración de Biomasa g/L

$S$ , Concentración de Sustrato g/L

$P$ , Concentración de Producto g/L

$Y_{S/x}$ , Rendimiento Sustrato- Biomasa gS/gX

$Y_{P/x}$ , Rendimiento Producto-Biomasa gP/gX

### Propuesta de modelos cinéticos no estructurados

Se propusieron tres modelos cinéticos de inhibición por producto (Arellano *et al.*,2007) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Modelos cinéticos no estructurados.

| Modelo                   | Ecuación   |
|--------------------------|--|
| <b>Haldane Levespiel</b> | $\mu(S, P) = \frac{\mu_m S}{K_s + S + S^2 K_i^{-1}} \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)^m$ (4)              |
| <b>Haldane Loung</b>     | $\mu(S, P) = \frac{\mu_m S}{K_s + S + S^2 K_i^{-1}} \left(1 - \left(\frac{P}{K_p}\right)^m\right)$ (5) |
| <b>Moser Levespiel</b>   | $\mu(S, P) = \frac{\mu_m S^n}{K_s + S^n} \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)^m$ (6)                         |

Donde:

$\mu_m$ , Velocidad máxima de crecimiento 1/h

$K_s$ , Contante de afinidad de sustrato g/L

$K_i$ , Constante de afinidad g/L

$K_p$ , Constante de inhibición por producto g/L

$K_d$ , Velocidad de muerte 1/h

$m$ , Constante de ajuste

$n$ , Constante de ajuste

### Estimación de parámetros cinéticos y validación de los modelos cinéticos.

Los parámetros cinéticos fueron estimados mediante el programa ModelMaker 3, con el método numérico MARQUARDT, con un equipo de cómputo que cuenta con un procesador Intel Core i3 y una memoria RAM de 8.00 GB. Los modelos se validaron mediante el cálculo de los

coeficientes de correlación de los datos simulados vs los datos experimentales.

## Resultados y discusión

### Estimación de parámetros cinéticos

La tabla 3 muestra los parámetros cinéticos para los tres modelos propuestos y rendimientos estimados.

**Tabla 3.** Parámetros cinéticos estimados.

| Parámetro         | Haldane-Levespiel | Haldane-Luong | Moser-Levespiel |
|-------------------|-------------------|---------------|-----------------|
| $K_d$ (1/h)       | 0.0036            | 0.0036        | 0.0036          |
| $K_i$ (g/L)       | 700               | 550           | -               |
| $K_p$ (g/L)       | 500               | 450           | 200             |
| $K_s$ (g/L)       | 20                | 25            | 15              |
| $m$               | 1                 | 1             | 1               |
| $\mu_m$ (1/h)     | 0.28              | 0.32          | 0.25            |
| $n$               | -                 | -             | 1               |
| $Y_{P/x}$ (gS/gX) | 1.48              | 1.48          | 1.48            |
| $Y_{S/x}$ (gP/gX) | 3.68              | 3.68          | 3.68            |

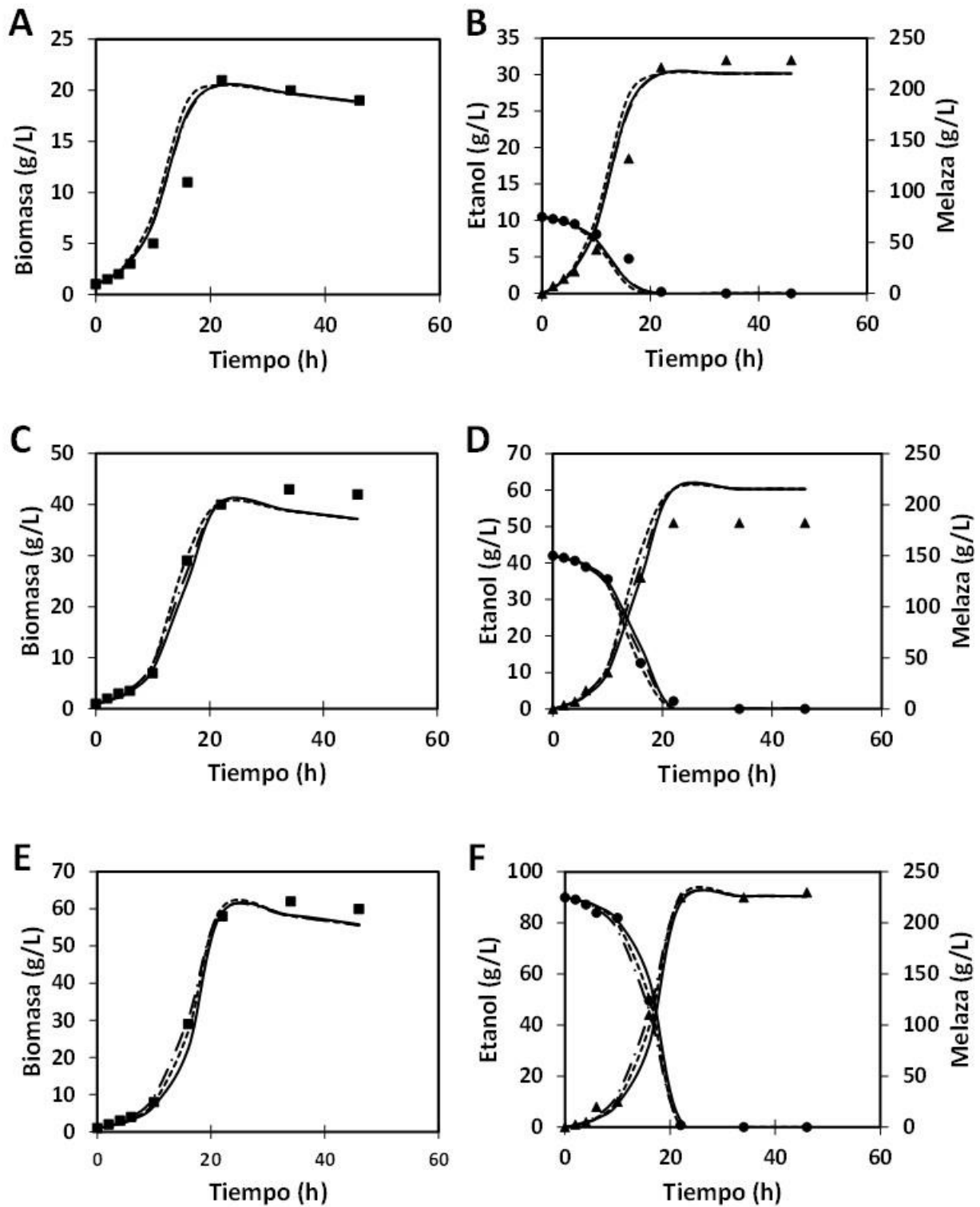
### Validación de modelos cinéticos

La figura 1, muestra los resultados de las simulaciones de biomasa, sustrato y producto con las tres concentraciones iniciales de sustrato (75, 150 y 225 g/L) y con los tres modelos cinéticos (Haldane Levespiel, Haldane Luong y Moser Levespiel). La figura 2 muestra las gráficas correspondientes al cálculo de los coeficientes de correlación para el mejor ajuste, que fue con el modelo de Moser Levespiel.

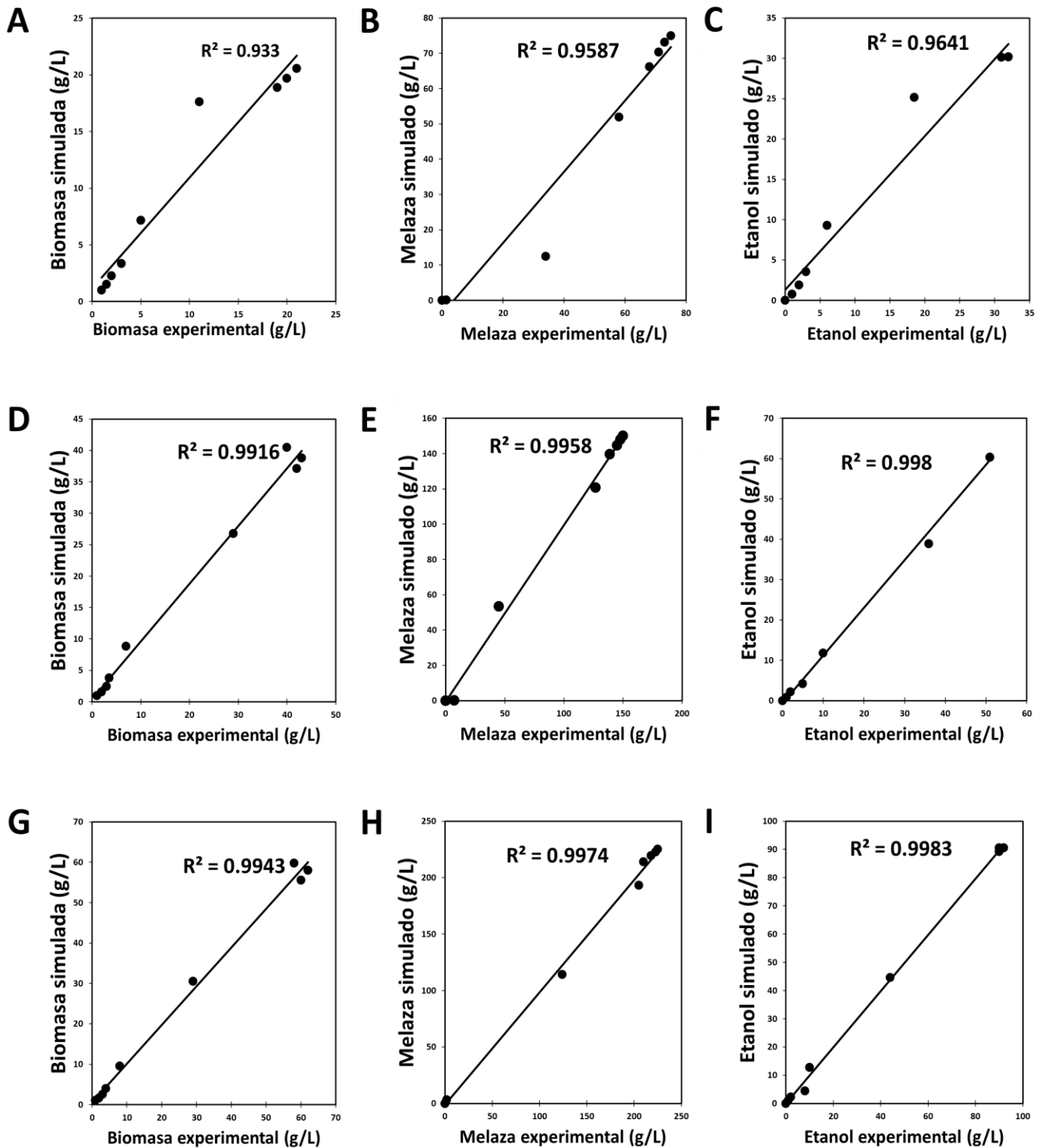
Las tablas 4, 5 y 6, muestran los resultados de los coeficientes de correlación de cada variable y globales, correspondientes a los tres modelos cinéticos y las tres condiciones iniciales de sustrato. Se puede observar que, para las tres concentraciones iniciales diferentes, los modelos cinéticos tienen mejores ajustes para los casos de 150 y 225 g/L de melaza, en ambas concentraciones los coeficientes de correlación son mayores a 0.99.

**Tabla 4.** Coeficientes de correlación para el modelo de Haldane-Levespiel.

|                       | [75 g/L] | [150 g/L] | [225 g/L] |
|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| Biomasa               | 0.929    | 0.990     | 0.992     |
| Melaza                | 0.956    | 0.991     | 0.995     |
| Etanol                | 0.962    | 0.993     | 0.991     |
| Promedio              | 0.949    | 0.991     | 0.992     |
| R <sup>2</sup> global | 0.978    |           |           |



**Figura 1.** Simulaciones de crecimiento de *S. cerevisiae*, consumo de melaza y producción de etanol. A y B; Concentración de 75 g/L de sustrato inicial, C y D; Concentración de 150 g/L de sustrato inicial y E y F.; Concentración de 225 g/L de sustrato inicial. Los símbolos ■, ●, ▲; corresponden a las concentraciones de biomasa, sustrato y producto respectivamente (Zentou *et al.*, 2019). Las líneas (—), (---) y (— · —); corresponden a los modelos de Haldane Levespiel, Haldane Luong y Moser Levespiel respectivamente.



**Figura 2.** Cálculo de coeficientes de correlación para el modelo de Moser Levespiel, para la producción de alcohol con *S. cerevisiae* a diferentes concentraciones de melaza al inicio de la fermentación por lote. A, B y C; corresponden a concentración inicial de sustrato de 75 g/L, D, E y F; corresponden a concentración inicial de sustrato de 150 g/L y G, H e I; corresponden a concentración inicial de sustrato de 225 g/L. Los datos experimentales corresponden a Zentou *et al.*, 2019



**Tabla 5.** Coeficientes de correlación para el modelo de Haldane-Luong.

|                       | [75 g/L] | [150 g/L] | [225 g/L] |
|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| Biomasa               | 0.903    | 0.989     | 0.994     |
| Melaza                | 0.936    | 0.998     | 0.999     |
| Etanol                | 0.942    | 0.999     | 0.997     |
| Promedio              | 0.949    | 0.991     | 0.992     |
| R <sup>2</sup> global | 0.973    |           |           |

**Tabla 6.** Coeficientes de correlación para el modelo de Moser-Levespiel.

|                       | [75 g/L] | [150 g/L] | [225 g/L] |
|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| Biomasa               | 0.933    | 0.991     | 0.994     |
| Melaza                | 0.958    | 0.995     | 0.997     |
| Etanol                | 0.961    | 0.998     | 0.998     |
| Promedio              | 0.950    | 0.994     | 0.996     |
| R <sup>2</sup> global | 0.980    |           |           |

Para el caso de los coeficientes de correlación globales, el menor obtenido fue para modelo de Haldane Luong con un R<sup>2</sup> = 0.973 y el más alto fue para el modelo de Moser Levespiel con un R<sup>2</sup> = 0.980.

Además, analizando los coeficientes de correlación promedio por concentración inicial de sustrato (tablas 4, 5, 6). Se observa que el modelo de Moser Levespiel es el que mejor ajusta en todos los casos, por lo que se lograron obtener valores de parámetros cinéticos, capaces simular los tres estados (biomasa, sustrato y producto), a las tres concentraciones iniciales de sustrato (75, 150 y 225 g/L). Por lo que al final, se obtuvo un modelo cinético robusto para la producción de etanol a partir de melaza como sustrato utilizando a *S. cerevisiae*.

Debido a los resultados obtenidos de los modelos cinéticos propuestos en este trabajo. Es posible hacer propuestas de estudios posteriores, para analizar la producción de etanol por la fermentación con *S. cerevisiae* utilizando melaza como sustrato, con el fin de optimizar este proceso.

## Conclusiones

Se propusieron 3 modelos cinéticos para la producción de etanol a partir de melaza como sustrato utilizando a *S. cerevisiae* como microorganismo fermentador. Respecto al ajuste de los modelos, se obtuvieron coeficientes de correlación globales superiores a 0.97. Además, el modelo de Moser Levespiel resulto robusto ya que ajusto para todas las condiciones y fue el que obtuvo mejores resultados (R<sup>2</sup> global = 0.98).

Por lo que este modelo resulta interesante para estudios posteriores mediante simulación numérica, para la producción de etanol con fines de optimización.

## Agradecimientos

Agradecemos a la UMB Tultitlán por facilitarnos el uso de sus instalaciones para llevar a cabo este trabajo.

## Referencias

- Arellano-Plaza, M. & Herrera-López, E.J., Díaz-Montaña, D.M., Moran, A. & Ramírez-Córdova, J. (2007). Unstructured Kinetic Model for Tequila Batch Fermentation. *International Journal of Mathematics and Computers in Simulation*. 1: 1
- Garhyan, P.& Elnashaie, S. (2004). Utilization of mathematical models to investigate the bifurcation and chaotic behavior of ethanol fermentors. *Math. Comput. Model.*, 39: 381-427.
- Monod, J. (1950). La technique de culture continue. *Théorie et applications*. *Ann. Inst. Pasteur*, 79: 390-410.
- Zentou, H.; Abidin, Z.Z.; Zouanti, M.; Greetham, D. (2015). Effect of operating conditions on molasses fermentation for bioethanol gggproduction. *Int. J. Appl. Eng. Res.*, 12: 1-6.
- Zentou, H., Zainal Abidin, Z., Yunus, R., Awang Biak, D., Zouanti, M., & Hassani, A. (2019). Modelling of Molasses Fermentation for Bioethanol Production: A Comparative Investigation of Monod and Andrews Models Accuracy Assessment. *Biomolecules*, 9(8), 308. <https://doi.org/10.3390/biom9080308>