

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Evaluación del inóculo inicial en la fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando dos cepas de levadura para la producción de etanol

Trabajo de graduación presentado por Gabriela Elizabeth Flores Mcknight para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala,

2025

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Evaluación del inóculo inicial en la fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando dos cepas de levadura para la producción de etanol

Trabajo de graduación presentado por Gabriela Elizabeth Flores Mcknight para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala,

2025

Vo.Bo:

(f) 
Ing. Luis Ernesto Núñez Gonzales, M.Sc.

Tribunal examinador:

(f) 
Ing. Luis Ernesto Núñez Gonzales, M.Sc.

(f) 
Ing. Gamaliel Zambrano Ruano, M.Sc.

(f) 
Ing. Carmen Alicia Ortiz Pineda, M.A.

Fecha de aprobación de examen de graduación:

Guatemala, 09 de enero de 2025

PREFACIO

Este trabajo representa no solo el resultado de mi esfuerzo académico, sino también el apoyo incondicional de muchas personas que han estado a mi lado a lo largo de este camino. En primer lugar, agradezco a Dios, por ser mi fortaleza y guía en cada paso del camino, por brindarme la salud, la sabiduría y las oportunidades para alcanzar mis metas. A mis padres, quienes, con su amor incondicional, esfuerzo y sacrificio me han permitido alcanzar este logro. Gracias por ser mi ejemplo de perseverancia y por siempre creer en mí, incluso en los momentos más difíciles. A mi hermana, mi compañera de vida y amiga incondicional, gracias por tu apoyo y por estar siempre a mi lado.

Quiero agradecer especialmente a mi asesor, el M. Sc., Ing. Luis Núñez, por su invaluable apoyo, guía y conocimientos durante toda mi carrera y, especialmente, en el desarrollo de esta investigación. También extiendo mi agradecimiento al Ingenio que brindó materiales necesarios para llevar a cabo la experimentación de este proyecto. Sin su colaboración, no hubiera sido posible concretar los objetivos planteados.

ÍNDICE

I. Introducción	1
II. Objetivos	3
A. General	3
B. Específicos	3
III. Justificación	4
IV. Marco teórico	6
A. Bioetanol	6
B. Industria del Bioetanol	7
C. Producción de bioetanol mediante procesos biotecnológicos	9
D. Cinética de fermentación	15
E. Métodos de análisis químico	22
F. Berkeley Madonna	24
V. Antecedentes	24
VI. Metodología	29
VII. Resultados	35
VIII. Discusión de resultados	65
IX. Conclusiones	85
X. Recomendaciones	87
XI. Bibliografía	89
XII. Anexos	95
A. Datos originales	95
B. Datos calculados	115
C. Datos de reactivos y equipos	135
D. Cálculos de muestra	137
E. Balance de masa y energía	140
F. Análisis de error	150
G. Cromatogramas	151
H. Ilustraciones	154
I. Glosario	157

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del etanol y gasolina	7
Cuadro 2. Materias primas utilizadas para la producción de bioetanol y su potencial de producción.....	12
Cuadro 3. Composición general de la melaza de caña de azúcar	13
Cuadro 4. Masa de levadura para cada tamaño de inóculo inicial.....	32
Cuadro 5. Composición del medio de fermentación formulado para la generación de bioetanol.....	35
Cuadro 6. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i> con la cepa de levadura común.....	41
Cuadro 7. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3% <i>m/v</i> con la cepa de levadura común.....	42
Cuadro 8. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5% <i>m/v</i> con la cepa de levadura común.....	43
Cuadro 9. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7% <i>m/v</i> con la cepa de levadura común.....	44
Cuadro 10. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10% <i>m/v</i> con la cepa de levadura común	45
Cuadro 11. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 1% <i>m/v</i> con la cepa de levadura SA-1	46
Cuadro 12. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3% <i>m/v</i> con la cepa de levadura SA-1	47
Cuadro 13. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5% <i>m/v</i> con la cepa de levadura SA-1	48
Cuadro 14. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7% <i>m/v</i> con la cepa de levadura SA-1	49

Cuadro 15. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10% <i>m/v</i> con la cepa de levadura SA-1	50
Cuadro 16. Parámetros cinéticos obtenidos con Berkeley Madona para distintos tamaños de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común	51
Cuadro 17. Parámetros cinéticos obtenidos con Berkeley Madona para distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura SA-1	52
Cuadro 18. Comparación de rendimientos globales y productividades con distintos tamaños de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común	63
Cuadro 19. Comparación de rendimientos globales y productividades con distintos tamaños de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura SA-1	63
Cuadro 20. Análisis de Varianza (ANOVA) de rendimientos y productividad	64
Cuadro 21. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	95
Cuadro 22. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	96
Cuadro 23. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	97
Cuadro 24. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	98
Cuadro 25. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	99
Cuadro 26. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	100
Cuadro 27. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	101
Cuadro 28. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	102
Cuadro 29. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	103
Cuadro 30. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	104
Cuadro 31. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	105
Cuadro 32. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	106

Cuadro 33. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	107
Cuadro 34. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	108
Cuadro 35. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	109
Cuadro 36. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	110
Cuadro 37. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	111
Cuadro 38. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	112
Cuadro 39. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	113
Cuadro 40. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	114
Cuadro 41. Mediciones de pH y grados brix del medio de fermentación.....	115
Cuadro 42. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el primer ensayo con la cepa cepa de levadura común	115
Cuadro 43. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el primer ensayo con la cepa SA-1	116
Cuadro 44. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el segundo ensayo con la cepa de levadura común.....	116
Cuadro 45. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el segundo ensayo con la cepa SA-1	117
Cuadro 46. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	118
Cuadro 47. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	119
Cuadro 48. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	120

Cuadro 49. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	121
Cuadro 50. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	122
Cuadro 51. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1% <i>m/v</i>	123
Cuadro 52. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3% <i>m/v</i>	124
Cuadro 53. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5% <i>m/v</i>	125
Cuadro 54. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7% <i>m/v</i>	126
Cuadro 55. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con tamaño de inóculo inicial del 10% <i>m/v</i>	127
Cuadro 56. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 1% <i>m/v</i> utilizando la cepa de levadura común.....	128
Cuadro 57. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 3% <i>m/v</i> utilizando la cepa de levadura común.....	128
Cuadro 58. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 5% <i>m/v</i> utilizando la cepa de levadura común.....	129
Cuadro 59. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 7% <i>m/v</i> utilizando la cepa de levadura común.....	129
Cuadro 60. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 10% <i>m/v</i> utilizando la cepa de levadura común.....	130

Cuadro 61. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 1% <i>m/v</i> utilizando la cepa SA-1 ...	130
Cuadro 62. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 3% <i>m/v</i> para la cepa SA-1	131
Cuadro 63. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de dos ensayos para un inóculo inicial del 5% <i>m/v</i> para la cepa SA-1.	131
Cuadro 64. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato, inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de las dos corridas para inóculo inicial del 7% <i>m/v</i> para la cepa SA-1.....	132
Cuadro 65. Parámetros de cambio de concentración de sustrato, rendimientos instantáneos, inverso de concentración de sustrato inverso de velocidad de reacción para los datos promedio de las dos corridas para inóculo inicial del 10% <i>m/v</i> para la cepa SA-1.....	132
Cuadro 66. Rendimientos globales de biomasa con respecto al sustrato.....	133
Cuadro 67. Rendimientos globales de producto con respecto al sustrato.....	134
Cuadro 68. Productividades globales.....	135
Cuadro 69. Datos de urea utilizada como nutriente para el medio de fermentación	135
Cuadro 70. Datos balanza analítica.....	135
Cuadro 71. Datos refractómetro.....	136
Cuadro 72. Datos Potenciómetro	136
Cuadro 73. Datos equipo de cromatografía de alta resolución (HPLC)	136
Cuadro 74. Datos balanza de laboratorio	136
Cuadro 75. Datos de esterilizador de autoclave.....	136
Cuadro 76. Datos incubadora con agitación	136
Cuadro 77. Datos incubadora con agitación	137
Cuadro 78. Datos centrifuga	137

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Participación de Guatemala en la producción mundial de bioetanol	8
Figura 2. Reacción química simplificada conversión de azúcar en etanol	10
Figura 3. Vía metabólica de la fermentación alcohólica en levadura	11
Figura 4. Curva típica de crecimiento microbiano.....	17
Figura 5. Ejemplo de plataforma del software Berkeley Madonna	24
Figura 6. Coeficientes de rendimiento a distintas concentraciones iniciales de sustrato para el modelo de Monod	27
Figura 7. Ajuste modelo cinético de Monod y Andrews a datos experimentales	27
Figura 8. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 1% <i>m/v</i> con cepa de levadura común.....	36
Figura 9. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 3% <i>m/v</i> con cepa de levadura común.....	36
Figura 10. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 5% <i>m/v</i> con cepa de levadura común.....	37
Figura 11. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 7% <i>m/v</i> con cepa de levadura común.....	37
Figura 12. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 10% <i>m/v</i> con cepa de levadura común.....	38
Figura 13. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 1% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	38
Figura 14. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 3% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	38
Figura 15. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 5% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	39
Figura 16. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 7% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	40
Figura 17. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 10% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	40
Figura 18. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 1% con cepa de levadura común	53
Figura 19. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 3% con cepa de levadura común	54
Figura 20. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 5% con cepa de levadura común	55
Figura 21. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 7% con cepa de levadura común	56
Figura 22. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 10% con cepa de levadura común	57
Figura 23. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 1% con cepa de levadura SA-1	58

Figura 24. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 3% con cepa de levadura SA-1	59
Figura 25. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 5% con cepa de levadura SA-1	60
Figura 26. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 7% con cepa de levadura SA-1	61
Figura 27. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 10% con cepa de levadura SA-1	62
Figura 28. Balance de masa para inóculo inicial 1% <i>m/v</i> con cepa de levadura común ..	140
Figura 29. Balance de masa para inóculo inicial 3% <i>m/v</i> con cepa de levadura común ..	141
Figura 30. Balance de masa para inóculo inicial 5% <i>m/v</i> con cepa de levadura común ..	141
Figura 31. Balance de masa para inóculo inicial 7% <i>m/v</i> con cepa de levadura común ..	143
Figura 32. Balance de masa para inóculo inicial 7% <i>m/v</i> con cepa de levadura común ..	143
Figura 33. Balance de masa para inóculo inicial 1% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	144
Figura 34. Balance de masa para inóculo inicial 3% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	146
Figura 35. Balance de masa para inóculo inicial 5% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	147
Figura 36. Balance de masa para inóculo inicial 7% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1	148
Figura 37. Balance de masa para inóculo inicial 10% <i>m/v</i> con cepa de levadura SA-1 ...	149
Figura 38. Resultado de HPLC para caracterización de azúcares fermentables de la melaza de caña de azúcar	151
Figura 39. Curva de calibración HPLC para sacarosa, glucosa y fructosa	152
Figura 40. Curva de calibración HPLC para etanol	153
Figura 41. Biomasa seca	154
Figura 42. Sistema de fermentación.....	154

RESUMEN

La producción biotecnológica de bioetanol a partir de subproductos industriales, como la melaza de caña de azúcar, la cual contiene niveles considerables de azúcares fermentables, se ha convertido en una alternativa viable mediante fermentación. Generalmente, se emplean cepas de levadura de *Saccharomyces cerevisiae*, que metabolizan estos azúcares en etanol y dióxido de carbono (CO₂). Esta alternativa no solo valoriza un residuo, sino también contribuye a la reducción del uso de combustibles fósiles. En este estudio se evaluó el efecto del tamaño del inóculo inicial en la fermentación de melaza de caña de azúcar para producir bioetanol, comparando dos cepas de levadura, con el fin de maximizar los rendimientos y productividades del proceso fermentativo. Además, se propuso un modelo cinético para determinar las productividades a diferentes tamaños de inóculo inicial (1%, 3%, 5%, 7% y 10% m/v). Para ello se formuló un medio de fermentación utilizando melaza y se cuantificó la concentración de biomasa, azúcares fermentables y etanol durante el proceso para cada tamaño de inóculo inicial. Se obtuvieron concentraciones de etanol más altas de 12.75% m/v para la levadura común y del 12.22% m/v para la cepa SA-1. Para la cepa de levadura común, el tamaño de inóculo inicial del 7% m/v permitió maximizar tanto el rendimiento y productividad, mientras que para la cepa SA-1, fue el tamaño de inóculo inicial del 10% m/v. El tiempo para alcanzar la concentración máxima de etanol fue de 30 h en todas las condiciones y para ambas cepas.

I. INTRODUCCIÓN

El bioetanol es un biocombustible biodegradable que se puede obtener a partir de biomasa mediante la fermentación de azúcares, utilizando microorganismos, ofreciendo una alternativa sostenible a los combustibles fósiles, debido a su alto octanaje y menor emisión de gases de efecto invernadero. Algunas de las fuentes principales para producir bioetanol son melaza de caña de azúcar, cultivos de almidón, residuos de cultivos como el maíz, trigo, paja de desecho, plantas de sorgo, entre otros (Andrade, et al., 2013).

Saccharomyces cerevisiae es el microorganismo comúnmente utilizado para convertir los azúcares reductores en etanol de manera eficiente y competitiva en relación a costos, debido a su alta productividad. Existen distintas cepas de *S. cerevisiae*, siendo un factor que puede influir de manera significativa en la eficiencia y rendimiento del proceso. Algunas cepas puede ser más eficientes en la conversión de azúcares o tener una mayor resistencia a inhibidores presentes en el medio de fermentación y al etanol generado durante el proceso. Otro factor que puede influir en el rendimiento del proceso es el tamaño de inóculo inicial por la competencia de nutrientes, velocidad de crecimiento celular y adaptación de las células de levadura al sustrato (Andrade, et al., 2013).

El mercado del bioetanol fue valorado en 33.610 millones de dólares para el 2021, con una perspectiva de crecimiento del 14.1%, entre 2022 y 2030. Debido al aumento de la demanda energética y la preocupación por la seguridad energética, ha conllevado a la mayoría de los países a buscar soluciones, por lo que la bioenergía se ha convertido en un papel fundamental. Guatemala utiliza el 10% de la tierra total para la producción de biocombustibles y forma parte de los países que contribuyen con el 38% de la producción global de biocombustibles líquidos, siendo Guatemala quien contribuye el 24% de la producción mundial de biodiésel y el 29% de la producción mundial de etanol. Utilizando la melaza de caña de azúcar como una de las fuentes principales para la producción de etanol en Guatemala, debido a su disponibilidad por la producción de caña de azúcar, su bajo costo y su alta concentración de azúcares fermentables (Souza, *et al.*, 2023).

Plantear un modelo cinético para el proceso de fermentación es importante para conocer la dinámica del proceso, principalmente sobre el comportamiento de la levadura. Además, el estudio de la cinética permite comparar los rendimientos y las productividades en distintas condiciones de fermentación, como el tamaño inicial del inóculo del microorganismo, facilitando la correlación de datos y la identificación de condiciones que permiten maximizar los rendimientos del proceso; y proporciona una base para adaptar el proceso de fermentación a escalas industriales (Garnier & Gaillet, 2015).

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el proceso de fermentación de melaza de caña de azúcar con diferentes tamaños de inóculo inicial, utilizando dos cepas de levadura para la producción de bioetanol. Teniendo como objetivos específicos, determinar la formulación de un medio de melaza de caña de azúcar que permita llevar a cabo el proceso

de fermentación para obtener etanol, utilizando distintos tamaños de inóculo inicial de levadura; cuantificar las concentraciones de etanol, azúcares fermentables y etanol en función del tiempo de fermentación, para determinar los rendimientos y productividades para los distintos tamaños de inóculo inicial y cepas de levadura. Además de comparar como influye el tamaño de inóculo inicial en el tiempo necesario para generar la mayor producción de etanol.

II. OBJETIVOS

A. GENERAL

Evaluar el inóculo inicial en la fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando dos cepas de levadura, para maximizar las productividades y rendimientos de la fermentación.

B. ESPECÍFICOS

1. Determinar la formulación de un medio de melaza de caña de azúcar que permita probar el efecto del inóculo inicial en la producción de etanol.
2. Cuantificar la concentración de microorganismos, etanol y azúcares fermentables en función del tiempo de reacción, para determinar los rendimientos y productividades de diferentes concentraciones iniciales de las cepas analizadas.
3. Comparar el efecto del tamaño del inóculo para cada una de las cepas de levadura analizadas en el tiempo de fermentación necesario para generar la mayor producción de etanol.

III. JUSTIFICACIÓN

El sector de transporte se ha convertido en una parte fundamental de la economía global debido a su creciente consumo energético, representando aproximadamente el 28% del total de la energía comercializada a nivel mundial, cifra que se proyecta aumente al 80% para el año 2030. Este incremento en la demanda de energía para el transporte, mayormente satisfecha por combustibles fósiles, ha generado preocupaciones ambientales debido a la contaminación. En este contexto, la producción biotecnológica de etanol se ha convertido en una alternativa importante de los combustibles fósiles, debido a sus ventajas, incluyendo reducción de las emisiones de dióxido de carbono. Esta opción ha impulsado la flexibilidad en el uso de vehículos de combustible, permitiendo mezclas que van desde el 10% v/v hasta el 85% v/v de etanol en la gasolina (Rabbani et al., 2020).

Este avance ha conllevado a la necesidad de aumentar la productividad del etanol a nivel industrial, despertando el interés en la investigación de cepas de levaduras con potencial para mejorar su producción (Rabbani et al., 2020). El 70% de la producción mundial de etanol está dominado por Brasil, que utiliza la caña de azúcar como materia prima principal, y por Estados Unidos, que se basa en el maíz (Pimentel et al., 2020).

No obstante, Guatemala está emergiendo como uno de los países donde se está observando un aumento significativo en la producción de etanol (Párraga et al., 2020). Se constituye como el mayor productor de etanol a nivel Centroamericano, disponiendo de una capacidad instalada de 65 millones de galones de etanol por año. De esta producción total, el 10 % es utilizado para para la industria y preparación de bebidas; mientras que el otro 90 % producido es exportado principalmente a Estados Unidos y La Unión Europea (Pimentel et al., 2020).

El uso de melaza para la producción de etanol ha despertado interés por ser bajo en costo y su alto contenido de sacarosa, lo que la convierte en una materia prima prometedora para la producción de etanol. Esta se obtiene como subproducto a partir de la caña de azúcar. Generalmente la cantidad de melaza producida puede convertirse en un problema ambiental, dado a que sus residuos disminuyen el contenido de oxígeno disuelto en el agua, afectando la vida de los organismos acuáticos (Kartini & Dhokhikah², 2018). En Guatemala se cultivan 230,000 hectáreas de caña de azúcar aproximadamente. Si se procesara la melaza, se podría obtener alrededor de 55 millones de galones de etanol, el cual podría ser utilizado para reemplazar parte de la gasolina sin necesidad de modificar los vehículos (Espinosa & Ovando, 2015).

Actualmente, algunas industrial azucareras guatemaltecas que utilizan la melaza como materia prima para la producción de etanol, buscan comparar entre distintas cepas de levadura. Esto con el objetivo de mejorar la eficiencia tanto en el tiempo de fermentación, como en el rendimiento del proceso (Peña & Arango, 2009).

Sin embargo, no se tiene un control sobre el tamaño del inóculo inicial de levadura que garantice una fermentación consistente y eficiente. No se encontraron estudios locales sobre el efecto del tamaño del inóculo en la concentración de etanol obtenido, a pesar de ser un parámetro importante que influye en el proceso de fermentación. Además, en los ingenios azucareros de Guatemala, no existe un control adecuado sobre el tamaño del inóculo inicial de microorganismos.

Por lo tanto, en este estudio se evaluó la relación entre el tamaño del inóculo inicial de levadura con los rendimientos y productividades del proceso de fermentación, comparando dos cepas comerciales de levadura liofilizada disponibles en el mercado. El objetivo fue comparar el rendimiento del proceso fermentativo e identificar cuál de las cepas maximiza la producción de etanol bajo las condiciones de fermentación establecidas.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Bioetanol

El bioetanol, también denominado como etanol o alcohol etílico, es un compuesto químico con fórmula C_2H_5OH , consiste en un líquido incoloro, volátil e inflamable. Se constituye como el biocombustible más producido a nivel mundial, siendo Brasil y Estados Unidos los mayores productores. Es uno de los biocombustibles líquidos más utilizados, debido a su fácil adaptación para utilizarlo en los motores actuales y cuenta con un mayor octanaje que la gasolina, lo que contribuye a una combustión más eficiente y menos contaminante (Rodovanovic, 2023; Gendy, *et al.*, 2013).

Puede ser utilizado en motores de combustión interna de dos maneras, como una mezcla etanol y gasolina para que funcione como un aditivo o como etanol puro. Comparando las propiedades del etanol, con las propiedades típicas de la gasolina, como se muestra en el Cuadro 1. La diferencia fundamental es que el etanol es un compuesto químico puro, mientras que la gasolina es una mezcla de diferentes hidrocarburos con composición química variable. Además, el etanol es un combustible oxigenado, mientras que la gasolina se compone únicamente de carbono e hidrógeno y no contiene oxígeno. (Ptasinski, 2016).

El etanol contiene un poder calorífico menor al de la gasolina, por lo cual se requiere de un mayor consumo de combustible en un vehículo para recorrer la misma distancia. Sin embargo, el etanol cuenta con una mayor eficiencia energética en comparación con la gasolina, esto debido a que tiene un mayor calor de vaporización, lo que significa que puede absorber más calor antes de evaporarse, ayudando a enfriar el motor y mejorar su eficiencia. Cuando se combina el etanol puro en un motor de combustión, el consumo es aproximadamente 51% mayor que la gasolina. No obstante, si se mezcla gasolina con un 10% v/v de etanol, el consumo aproximado de combustible es solo un 3.3% mayor a comparación con la gasolina pura (Ptasinski, 2016).

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del etanol y gasolina

Propiedad	Unidad	Etanol	Gasolina
Formula química		C ₂ H ₅ OH	C ₄ -C ₁₂
Peso molecular		46.07	110 avg
% C		52.14	85-88
%H		13.13	12-15
%O		34.73	Nulo
Densidad (20°C)	kg/m ³	789	690-800
Punto de ebullición (atmosférico)	°C	78.5	27-225
Calor latente de vaporización (20°C)	kJ/kg	839	349
Poder calorífico (20°C)	kJ/kg	29800	47200
Relación estequiométrica aire/combustible	kg/kg	8.97	14.7
Solubilidad en agua (20°C)	wt%	Completamente soluble	0.009
Número de octanaje de investigación (RON)		111	88-98
Número de octanaje de motor (MON)		92	80-88

Fuente: Adaptado de Ptasinski, 2016.

El bioetanol presenta ventajas sobre los combustibles derivados de petróleo, tiene una menor toxicidad, mayor combustión cuando se combina con otros gases, puede funcionar como un oxigenador de gasolina, disminuye las emisiones de contaminación. Esto debido a que es un combustible oxigenado respetuoso con el medio ambiente que contiene un 34.73% de oxígeno, lo que lo hace adecuado para reducir las emisiones de partículas y óxidos de nitrógeno, así como gases de efecto invernadero durante la combustión. Además, cuenta con una menor reactividad fotoquímica ambiental, reduciendo la interferencia sobre el ozono (Ptasinski, 2016).

B. Industria del bioetanol

El etanol surgió como el combustible preferido en el motor de combustión interna inventado por Nikolaus Otto en 1876. Sin embargo, la gasolina surgió como una alternativa menos costosa generando su prevalencia sobre el etanol. Debido a la escasez de gasolina durante la Segunda Guerra Mundial, el etanol se comenzó a mezclar con la gasolina en los vehículos militares. Luego de la guerra, se continuó con la práctica de mezclar la gasolina con el etanol y se iniciaron los programas de etanol en Brasil y Estados Unidos (Vasconcelos, 2015).

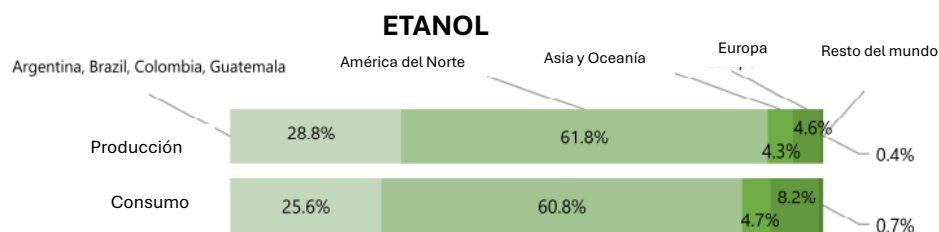
En Brasil, a finales del siglo XIX, se comenzó a implementar la industria azucarera y con ello la producción de etanol a partir de melaza. En 1975 se creó el Programa Brasileño de Incentivo a la Producción de Etanol (Proálcool), convirtiéndose en uno de los programas de incentivo a los combustibles líquidos de biomasa más relevantes a nivel mundial, únicamente superado por los Estados Unidos en el 2005 en volumen de etanol producido. Cuando se implementó el Proálcool, Brasil aumento la capacidad de producción de etanol

en la industria, junto a ello se modernizó y ampliaron las destilerías adjuntas existentes en el país (Vasconcelos, 2015).

Al comienzo, el programa de etanol en Estados Unidos era más pequeño que el de Brasil. En 1979, la American Oil Company comenzó a comercializar mezclas de etanol y gasolina llamadas gasohol. Para mediados de 1990, la participación de gasohol en el mercado de gasolina para motores en Estados Unidos era aproximadamente del 11%. En 2006, la mayor parte del etanol se produjo en Estados Unidos y Brasil, contribuyendo con el 72% de la producción global (Vasconcelos, 2015).

Para febrero de 2023, se estimó que cerca del 28% de la producción mundial de biocombustibles líquidos proviene principalmente de América Central y Sur. Países como Argentina, Brasil, Colombia y Guatemala contribuyen con el 24% de la producción global de biodiésel y 29% de la producción mundial del etanol, como se puede observar en la Figura 1 (Souza, *et al.*, 2023).

Figura 1. Participación de Guatemala en la producción mundial de bioetanol



Fuente: Souza, *et al.*, 2023.

El mercado del bioetanol fue valorado en \$83.400 millones de dólares en 2023 y se proyecta alcance los \$114.700 millones para el 2028, con un crecimiento del 6.6% entre el 2023 y 2028. Esto debido a que el mercado mundial del bioetanol ha crecido de manera constante durante los últimos años (Market Research, 2022).

La necesidad de seguridad energética por parte de los países ha impulsado la búsqueda de implementar políticas de apoyo e incentivos destinados a promover la producción y utilización del bioetanol. Este impulso también ha obligado a las empresas de bioetanol a invertir en proyectos de investigación y desarrollo, centrándose en mejorar los procesos de producción, mejorar la eficiencia y explorar tecnologías avanzadas de producción de bioetanol (Balat, Balar, & Oz, 2008).

La producción de etanol en Guatemala comenzó en el siglo XX permaneciendo siempre ligado al desarrollo de la producción de azúcar. Actualmente se cuenta con cinco destilerías que producen etanol y se cuenta con una capacidad instalada de 790 millones de litros al día, según la Asociación de Combustibles Renovables de Guatemala y el Ministerio de Energía y Minas. Debido a esto, el etanol que se produce en Guatemala debe contar con certificaciones de sostenibilidad para poder exportarse. Sin embargo, Guatemala es de los pocos países que produce etanol, pero no lo utiliza en la gasolina, debido a que no existe un marco legal actualizado que respalde su uso en el país. No obstante, los ingenios azucareros de Guatemala siguen trabajando por mejorar el rendimiento en la producción de etanol (Pimente, *et al.*, 2020).

C. Producción de bioetanol mediante procesos biotecnológicos

1. Fermentación alcohólica

La producción biotecnológica del bioetanol se realiza mediante un proceso de fermentación de carbohidratos simples presentes en biomasa, principalmente sacarosa, fructosa y almidón. Este proceso implica la conversión de los azúcares mediante la acción de microorganismos como levaduras y bacterias, que metabolizan los carbohidratos y los transforman en etanol y dióxido de carbono (Vasconcelos, 2015).

La fermentación puede llevarse a cabo de manera aeróbica, donde el oxígeno actúa como el aceptor final de electrones en el proceso de respiración celular de los microorganismos. La presencia de oxígeno es importante para el desarrollo de los microorganismos y la producción del compuesto deseado. Alternativamente, la fermentación también puede ser anaeróbica, en la cual el metabolito de interés se produce en ausencia de oxígeno. No obstante, en la mayoría de las fermentaciones anaeróbicas, se necesita una pequeña cantidad de oxígeno al inicio del proceso para facilitar el crecimiento y la reproducción del microorganismo (García, 2016).

2. Microorganismos:

Los microorganismos son fundamentales para la fermentación de azúcares en la producción de bioetanol. Algunos microorganismos como *S. cerevisiae*, *S. diastatiuci*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia kudriavzevii*, *Zymomonas mobilis*, entre otros, han sido estudiados para la producción de bioetanol a partir de jugos de azúcar. Entre estos microorganismos productores de etanol, *S. cerevisiae* se ha convertido en la opción más atractiva para la fermentación, debido a su capacidad de hidrolizar la sacarosa en glucosa y fructosa, mayor eficiencia en la conversión de azúcar en etanol y su alta tolerancia al etanol (Zabed, *et al.*, 2014).

S. cerevisiae es una levadura, un microorganismo heterótrofos capaz de realizar metabolismo tanto aeróbico como anaeróbico. Son un tipo de eucariotas unicelulares, que tienen característica de cultivo rápido, reproducción rápida. Son fácil de cultivar en diferentes tipos de medios debido a que no requiere de un medio complejo para crecer y puede cultivarse tanto en medios líquidos como sólidos. A nivel nutricional, las levaduras no son exigente a comparación de otro tipo de microorganismos como las bacterias lácticas. Sin embargo, si requieren de compuestos básicos como azúcares fermentables, aminoácidos, vitaminas, minerales y oxígeno para su crecimiento (Vasconcelos, 2015).

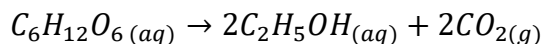
Actualmente, existe una amplia variedad de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* disponibles comercialmente. Este género de levaduras está compuesto por 30 especies y tres variedades, cada una con características específicas en su acción fermentativa y su capacidad para utilizar distintos tipos de azúcares. Estas diferencias permiten que cada cepa influya de manera significativa en el rendimiento de fermentación, debido a sus propiedades metabólicas únicas (Vasconcelos, 2015).

La mejora del proceso de bioetanol conlleva la elección adecuada del microorganismo como agente para la fermentación. También implica la selección de levaduras con velocidades altas de fermentación, buena capacidad de fermentación, elevada alta de conversión de los azúcares a etanol, bajos niveles de espuma, altas tolerancia al sustrato como al etanol, buena eficiencia de fermentación para una alta producción de etanol, elevada velocidad de crecimiento y de consumo de sustrato. Las levaduras con alta eficiencia de conversión de azúcares en etanol, es una de las demandas más importantes a nivel industrial (Patrignani, *et al.*, 2022).

En varias industrias es común utilizar levadura panificable, prensada o seca y granulada. En otras industrias, al final del proceso de etanol, aíslan la levadura y la conservan en un medio nutricional hasta volverla a utilizar (Maicas, 2020).

La ecuación química esquemática para la producción de bioetanol a partir de sacarosa utilizando microorganismos como levadura es la siguiente:

Ecuación 1. Reacción de fermentación para la producción de bioetanol



(Maicas, 2020)

La reacción principal en la fermentación de melaza de caña de azúcar para producir bioetanol, utilizando levadura, implica la conversión de los azúcares presentes en etanol y dióxido de carbono. En términos generales, la ecuación química simplificada para esta reacción se muestra en la Figura 1. Esta ecuación representa el proceso global de fermentación, donde las levaduras consumen los azúcares de la melaza y los convierten en alcohol etílico y dióxido de carbono como subproductos. Además, se pueden formar otras sustancias como glicerol, ácidos orgánicos y ésteres (Maicas, 2020).

Figura 2. Reacción química simplificada conversión de azúcar en etanol



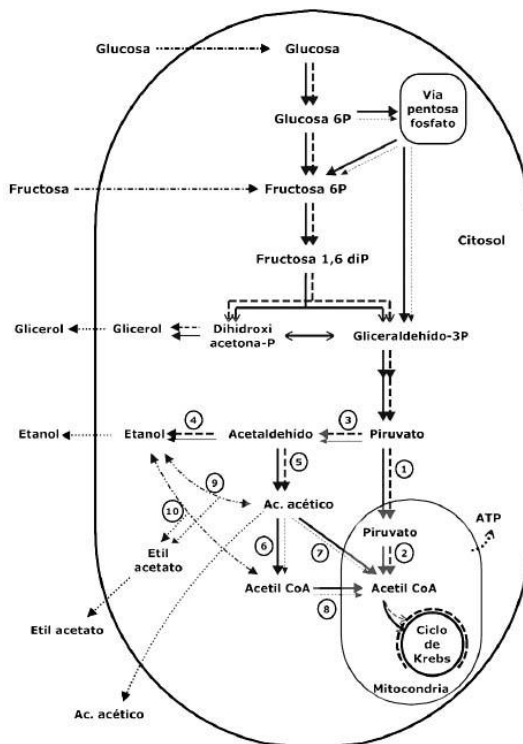
Fuente: Maicas, 2020.

Desde un punto de vista bioquímico, este proceso involucra varias etapas metabólicas dentro de las células de levadura, como la glucólisis, descarboxilación oxidativa y fermentación alcohólica. Durante la glucólisis, los azúcares presentes en la melaza, como la glucosa, la sacarosa y la fructosa, se descomponen en moléculas más simples, como el piruvato, a través de una serie de reacciones bioquímicas. La glucólisis ocurre en el citoplasma de las células de levadura y produce una pequeña cantidad de ATP y NADH como subproductos (Maicas, 2020).

Posterior a la glucólisis, el piruvato producido se convierte en 2 moléculas de acetaldehído y 2 moléculas de dióxido de carbono como subproducto. Luego el acetaldehído es convertido a etanol, esta conversión se lleva a cabo mediante la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa. Este proceso ocurre en ausencia o en condiciones

de limitación de oxígeno. Este proceso se puede observar de manera general en la Figura 3 (Maicas, 2020).

Figura 3. Vía metabólica de la fermentación alcohólica en levadura



Fuente: Escalante, *et al.*, 2012.

3. Materias primas para la producción de bioetanol.

Generalmente las materias primas utilizadas para la producción de etanol mediante fermentación son de origen agrícola. Sin embargo, no todos los cultivos son fuente económica viable de materia prima para la producción de etanol. Para ser considerado como una materia prima viable para la producción de etanol, debe contener glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, celulosa, entre otros. También se debe considerar otros factores como la disponibilidad, facilidad de transporte, costos de producción de la materia prima y del etanol, que contenga el sustrato adecuado para que el microorganismo pueda realizar la fermentación y no exigir un tratamiento previo costoso (Vasconcelos, 2015).

Varios cultivos producen jugos que contienen azúcar libre que puede ser utilizada para la producción de bioetanol, ya sea a escala laboratorio o a escala comercial. La caña de azúcar, la remolacha azucarera, el sorgo dulce y algunas otras frutas son fuentes de jugos ricos en azúcar que se utilizan como materia prima en la producción de etanol. Los jugos fermentables directos obtenidos de estos cultivos o del procesamiento de estos, contienen azúcares libres, especialmente sacarosa, glucosa y fructosa, lo cual los convierte en materias primas rentables en la industria del etanol (Ptasinski, 2016).

La productividad promedio del etanol obtenido por fermentación de biomasa varía según los diferentes cultivos. La mayor productividad de etanol por unidad de superficie cultivada al año proviene de la caña de azúcar. Un problema importante en la producción de bioetanol es la disponibilidad de materias primas para su producción. Debido a que la disponibilidad de estos materiales puede variar por la temporada y dependiendo de su ubicación geográfica. Esto también genera que el precio de las materias primas sea variable. Dado a que las materias primas representa aproximadamente un tercio de los costos de producción es importante mejorar el rendimiento de la producción de bioetanol (Ptasinski, 2016).

Cuadro 2. Materias primas utilizadas para la producción de bioetanol y su potencial de producción

	Potencial de producción de bioetanol (L/ton)
Caña de azúcar	70
Remolacha azucarera	110
Camote	125
Papa	110
Mandioca	180
Maíz	360
Arroz	430
Cebada	250
Trigo	340
Sorgo dulce	60
Bagaso y biomasa celulósica	280

Fuente: Adaptado de Balat, Blar & Oz, 2008.

4. Melaza de caña de azúcar

La producción global de bioetanol utilizando melaza de caña de azúcar varía entre los 280-230 L/tonelada de melaza. La melaza se obtiene como un subproducto de la producción de azúcar de caña, consiste en un líquido denso y viscoso de color marrón oscuro, rico en azúcares y contiene un pequeño porcentaje de agua. Su densidad puede variar entre 1.4 a 1.5 g/mL y su productividad estimada es 40kg/tonelada de caña de azúcar (Vasconcelos, 2015).

Su composición puede variar según el tratamiento del cultivo de la caña de azúcar, así como de las condiciones climáticas, proceso de elaboración del azúcar, proceso de cosecha de la caña, entre otros. Es rica en azúcares, con una concentración que puede oscilar entre el 45%(m/v). a un 50% (m/v). Sin embargo, esta composición puede variar según el proceso del azúcar llegando a alcanzar hasta un 70%(m/v) de azúcares fermentables. También se compone de sales, excepto en nitrógeno, su pH puede variar entre 6.8 a 8.5 y su alta presión osmótica la protege del deterioro microbiano (Vasconcelos, 2015).

La melaza se puede clasificar en los siguientes tres grados:

1. Melaza de primera calidad: Contiene más del 50%(m/v) de azúcares reductores totales.
2. Melaza de segundo grado: Contiene entre un 40% y un 50% (m/v) de azúcar reductor total.
3. Melaza de tercer grado: Contiene menos del 40% (m/v) de azúcares reductores totales.

(Muhd, *et al.*, 2012)

A nivel mundial se producen alrededor de 35-45kg de melaza como subproducto de 1 tonelada de biomasa de caña. Los componentes principales de la melaza en términos generales son sacarosa (30-40% (m/v)), fructosa y glucosa (10-35%(m/v)), compuestos no azucarados (2-3% (m/v)). También se encuentran pequeñas cantidades de vitaminas y minerales, por lo que es ampliamente utilizada como materia prima en la fermentación (Jamir, *et al.*, 2021).

Cuadro 3. Composición general de la melaza de caña de azúcar

Composición	Rango (%m/v)
Sacarosa	29-40
Agua	17-25
Glucosa	4-14
Cenizas	7-15
Potasio	4-51
Calcio	0.8-15
Magnesio	1-14
Sodio	0.09-9
proteína	0.5-4.5
Sulfatos	2.24-9.91
Aminoácidos	0.3-1.5
Ácidos no nitrogenados	1.5-8
Ceras, esteroides y fosfátidos	0.1-1
Biotina	0.1-2 ppm
Riboflavina	1-6 ppm

Fuente: Jamir, *et al.*, 2021.

En Guatemala, se producen aproximadamente 55 millones de galones de etanol al año a partir de la melaza generada en los distintos ingenios azucareros presentes en el país. Debido a su composición alta en azúcares simples, principalmente sacarosa, bajo costo por ser un subproducto de la industria azucarera y su disponibilidad en Guatemala, la melaza se ha convertido en sustrato principal para la producción de bioetanol en el país. Utilizar la melaza para la producción de bioetanol contribuye a la valorización de residuos industriales, reduciendo los desechos y disminuyendo el impacto ambiental asociado a la melaza como residuo. Además de azúcares, la melaza contiene minerales y nutrientes que pueden favorecer el crecimiento y actividad de las levaduras durante el

proceso de fermentación, lo cual puede mejorar el proceso fermentativo y reducir la necesidad de añadir nutrientes adicionales (ASAZGUA, 2022).

5. Factores que influyen en la producción de bioetanol

Diversos factores, especialmente la temperatura, pH, tiempo de fermentación, tasa de agitación, concentración inicial de azúcares y tamaño de inóculo, son factores que pueden influir en el proceso de fermentación, así como en el rendimiento de etanol (Zabed, *et al.*, 2014).

- Temperatura: este parámetro es uno de los más importantes en la producción de bioetanol, debido a que afecta de manera directa la actividad metabólica de los microorganismos y la cinética del proceso. Se debe mantener dentro de los rangos adecuados, debido a que temperaturas muy altas pueden representar un factor de estrés para los microorganismos, siendo desfavorable para su crecimiento. De igual manera, las enzimas involucradas en el proceso de fermentación, las cuales, son producidas por los microorganismos, también son sensibles a la temperatura. Cada microorganismos tiene un rango de temperatura adecuada para fomentar su crecimiento y proceso de fermentación, generalmente este rango se encuentra entre los 20-35°C. También es importante considerar que aumentos en la temperatura pueden incrementar el efecto inhibitor del etanol y favorecer la aparición de otro tipo de bacterias y la posibilidad de evaporación del etanol.
- pH: el pH del medio de fermentación puede influir en la actividad de los microorganismos y en sus proceso celulares. Un pH demasiado alto puede inhibir la actividad enzimática y el crecimiento de los microorganismos, reduciendo la velocidad y rendimiento de la fermentación. Las levaduras son microorganismos acidófilos y funcionan en amplios rangos de pH que puede oscilar entre 4.0 a 6.0.
- Tiempo de fermentación: un tiempo corto de fermentación puede generar un crecimiento inadecuado del microorganismo. Sin embargo, un tiempo alto también puede causar un efecto tóxico en el crecimiento microbiano, mayor riesgo de contaminación y de pérdida de viabilidad del microorganismo. En la industria, el tiempo de fermentación oscila entre 6 a 9h cuando se realiza por lotes.
- Oxígeno: es necesario para el crecimiento celular, pero niveles excesivos pueden provocar oxidación de lípidos y el proceso de fermentación se ve afectado.
- Agitación: la agitación aumenta el consumo de azúcares y reduce la inhibición del etanol en las células. Además, previene la formación de depósitos en el tanque, asegurando una mejor uniformidad del medio de fermentación. Este proceso mantiene las levaduras en suspensión, lo que favorece un contacto eficiente entre los microorganismos y los azúcares presentes en el medio, mejorando así la tasa de fermentación.
- Concentración de azúcares: generalmente la tasa de fermentación aumenta con el aumento de la concentración de azúcar hasta cierto punto. Sin embargo,

concentraciones de azúcar muy elevadas pueden llegar a superar la capacidad de absorción de las células microbianas, ejerciendo un efecto inhibitor sobre el metabolismo de las levaduras.

Cuando el objetivo es producir biomasa, es conveniente usar bajas concentraciones de azúcares y aeración; a diferencia, cuando el objetivo es producir etanol, mayor concentración de azúcares puede aumentar la cantidad de etanol. Concentraciones adecuadas de azúcar incrementan la velocidad de fermentación y productividad, ya que permite menores niveles de crecimiento celular, favoreciendo la conversión de azúcares en etanol en lugar de su uso para la proliferación celular.

- Tamaño de inóculo: la concentración del inóculo no tiene una influencia significativa en la concentración final de etanol, pero si influye en la tasa de consumo de azúcar y productividad del etanol. El aumento de la concentración inicial de células puede reducir el tiempo de fermentación, debido al rápido crecimiento de las células en el medio de fermentación que consumen rápidamente los azúcares.

(Vasconcelos, 2015; Zabed, *et al.*, 2014)

D. Subproductos de la fermentación

Durante el proceso de fermentación de la melaza de caña de azúcar para la producción de bioetanol, se generan diversos subproductos, siendo estos principalmente la biomasa de levadura, dióxido de carbono, vinaza y otros compuestos volátiles. Estos subproductos pueden ser aprovechados de otras maneras, lo que ayuda a contribuir a la sostenibilidad del proceso de producción de bioetanol (Bazúa, 2022).

La biomasa de levadura se refiere a la cantidad de células de levadura generadas durante el proceso de fermentación. Es considerada un subproducto manejable, debido a que no todos los lotes de levadura obtenidos durante la producción de etanol es considerado como desecho, debido a que puede ser reutilizada para una nueva fermentación. Sin embargo, el reutilizarla se considera según la composición del mosto a fermentar y prácticas de higiene por posible contaminación con otro tipo de microorganismos. La producción cuantificable de biomasa depende de diversos factores, entre ellos las condiciones de fermentación como la temperatura, pH, aireación, microorganismo utilizado, concentración de inóculo, concentración de nutrientes en el medio de fermentación, entre otros. Además, la biomasa generada es rica en proteínas, por lo que puede ser aglutinada para incorporarlo en alimentos de peces, ganado y aves. También cuenta con un alto contenido de nutrientes, por lo que también puede ser utilizada como fertilizante orgánico (Łukaszewicz, *et al.*, 2024; Bazúa, 2022).

Durante el proceso de fermentación también se produce dióxido de carbono, el cual es un gas que se libera durante el proceso de fermentación y puede ser capturado y utilizado en otras aplicaciones industriales. Durante la fermentación, por cada molécula de sacarosa o glucosa consumida por la levadura se producen dos moléculas de dióxido de carbono, de

manera teórica la producción aproximada puede ser de 4kg de dióxido de carbono por cada hectolitro de fermentación. Debido a esto se ha despertado el interés de capturar el dióxido de carbono producido, dado a que este gas puede ser purificado y luego pasado por un proceso de licuefacción, tras lo cual puede ser almacenado en tanques para que pueda ser utilizado como fuente de dióxido de carbono en industrias de bebidas carbonatadas, envasado de alimentos para su conservación, producción de químicos, entre otros usos (Grand, et al., 2024).

Otro subproducto de la fermentación de melaza de caña de azúcar es la vinaza, esta consiste en un efluente líquido con alta carga orgánica y contenido de minerales, que puede destinarse a la producción de biogás mediante digestión anaerobia o utilizarse como fertilizante en la agricultura. Además, la vinaza puede ser sometida a tratamientos anaeróbicos para la producción de biogás rico en metano a partir de sus compuestos, lo cual puede ser utilizado como una fuente de energía renovable (Bazúa, 2022).

Además de los subproductos mencionados anteriormente, en el proceso de fermentación de la melaza de caña de azúcar con levadura también se generan compuestos orgánicos. Los compuestos volátiles incluyen aldehídos, ésteres, ácidos orgánicos y alcoholes superiores, los cuales pueden influir en las características sensoriales del producto final. En particular, los alcoholes como el isoamílico y el isobutílico, se producen a partir del metabolismo de aminoácidos y pueden tener aplicaciones en la industria de aromas y solventes (Bazúa, 2022).

El glicerol es otro subproducto relevante de la fermentación, su producción se relaciona con la regulación osmótica de la levadura bajo condiciones de estrés. Generalmente se ha reportado que el glicerol se puede producir entre un 2 y 5% de los productos generados en la fermentación alcohólica, dependiendo de la cepa de levadura y las condiciones del proceso fermentativo. Este compuesto tiene diversas aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, debido a que actúa como humectante, estabilizador y puede ser utilizado como precursor en la síntesis de otros compuestos químicos (Mutton, et al., 2019).

E. Cinética de fermentación

Los procesos de fermentación pueden ser modelados mediante ecuaciones cinéticas que permiten describir la evolución de la generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto en el tiempo de fermentación. Modelar matemáticamente el proceso de fermentación, permite comprender como se da la transformación de sustratos en el producto de interés industrial, como biomasa, moléculas orgánicas, biocombustibles, enzimas, entre otros (Liu, 2013).

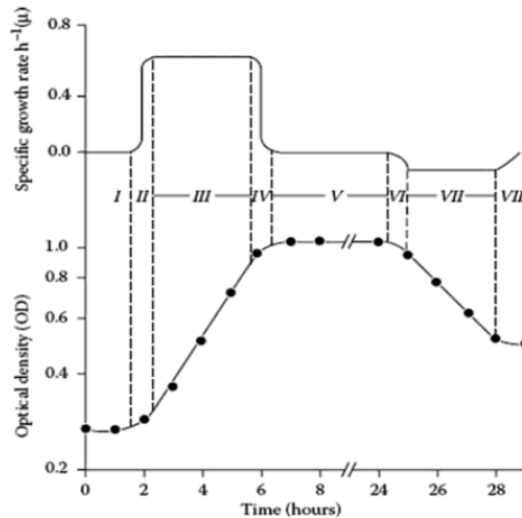
El proceso de fermentación se puede describir como una reacción catalítica, en donde las células y enzimas actúan como catalizadores sin ser consumidos. Por lo tanto, la cinética de fermentación se enfoca en modelar estas transformaciones mediante ecuaciones diferenciales que permiten predecir la dinámica del crecimiento celular y generación de producto (González, 2018).

El estudio cinético de fermentación permite obtener información sobre la velocidad de formación de biomasa y producto, lo cual está influenciado por diversos factores, como oxígeno, pH, temperatura y acumulación de intermediarios que pueden actuar como inhibidores. Además, los modelos cinéticos de fermentación permiten obtener el rendimiento del proceso (González, 2018).

a) Descripción matemática del crecimiento microbiano

El cambio en la concentración celular durante el proceso de fermentación se analiza midiendo la velocidad de crecimiento del microorganismo, basándose en la cantidad de biomasa generada a lo largo del tiempo.

Figura 4. Curva típica de crecimiento microbiano



Fuente: Mansi, *et al.*, 2019.

La curva típica de crecimiento del microorganismo en un proceso de fermentación se puede observar en la figura 3. En donde se pueden diferenciar las siguientes fases de crecimiento:

- Fase Lag (I): el microorganismo se adapta al nuevo ambiente y a la nueva fuente de carbono. En un proceso de fermentación, no es deseable que las células entren en esta fase de latencia debido a la pérdida de tiempo y el aumento de costos. Las células deben ser jóvenes, idealmente en la fase exponencial de crecimiento. Cuando el inóculo es pequeño o tiene una baja fracción de células viables, puede presentarse una fase pseudo-lag. Esto se debe a la mala adaptación del inóculo y a su condición subóptima. La edad del cultivo también influye significativamente en la duración de esta fase, ya que un inóculo más envejecido prolonga la fase de latencia.

- Fase de aceleración (II): fase de transición entre la fase lag y la exponencial, durante la cual las células comienzan a adaptarse de manera progresiva, acelerando su tasa de crecimiento.
- Fase exponencial (III): Una vez que las células se han adaptado al nuevo ambiente, entran en la fase exponencial, donde su crecimiento se acelera. Durante esta fase, cada célula aumenta de tamaño y, si las condiciones son favorables, se divide. Este ciclo se repite continuamente mientras las condiciones lo permitan. En esta etapa, las células transforman la fuente principal de carbono en precursores biosintéticos, que luego se utilizan para la síntesis de moléculas necesarias para su crecimiento.
- Fase de desaceleración (IV): Durante esta fase, la tasa de crecimiento celular comienza a disminuir debido a la reducción de nutrientes disponibles, la acumulación de productos de desecho, y el agotamiento de otros factores importantes para el crecimiento. Las células no pueden mantener su tasa de crecimiento exponencial y, por lo tanto, la velocidad de división celular empieza a decaer. En este punto, el sistema metabólico del microorganismo ajusta su actividad, reduciendo la producción de nuevas células y priorizando la supervivencia.
- Fase estacionaria (V): Cuando la fase de desaceleración llega a su fin, el crecimiento celular se detiene por completo y el microorganismo entra en la fase estacionaria. En esta etapa, la tasa de división celular es igual a la tasa de muerte celular, lo que significa que no hay un cambio neto en el número total de células.
- Fase de muerte acelerada y exponencial de muerte (VI y VII): A medida que el estrés ambiental continúa, las células que no pueden adaptarse comienzan a morir. En la fase de muerte acelerada, la tasa de mortalidad aumenta rápidamente, llevando a una fase exponencial de muerte.
- Fase de muerte o supervivencia (VIII): En las últimas etapas de la fase de muerte, muchas células se desintegran (lisis), liberando los nutrientes acumulados en su interior. Este proceso permite que algunas células sobrevivientes, generalmente aquellas que son viables, pero no cultivables, utilicen estos recursos liberados.

(Mansi, *et al.*, 2019)

b) Ecuaciones de Monod

Consiste en un modelo simple de crecimiento que puede describir el crecimiento microbiano como una aproximación cercana. Incorpora efectos tanto de la concentración celular como de la concentración de sustrato.

La tasa de crecimiento de las células puede describirse mediante la ecuación de Monod:

Ecuación 2. Tasa de crecimiento (Monod)

$$\mu = \frac{\mu_{max}S}{K_S + S}$$

Donde

- S es la concentración del sustrato,
- μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento
- K_S es la constante de afinidad al sustrato o constante de saturación.

Para la formación de producto la ecuación de Monod se describe como la siguiente ecuación:

Ecuación 3. Tasa de formación de producto

$$\mu_G = \frac{\mu_{max} S}{K_p + S}$$

Donde

- K_p es la constante de generación de producto

(Liu, 2013)

c) Consideración de factor de rendimiento en las ecuaciones cinéticas

Para describir de mejor manera la cinética de crecimiento de una manera sencilla, se han definido parámetros relacionados estequioméricamente denominados rendimientos. Los factores de rendimiento se definen en función de la cantidad de consumo del sustrato. Por lo tanto, el factor de rendimiento de crecimiento en una fermentación se puede definir como la ecuación 4.

Ecuación 4. Factor de rendimiento de crecimiento

$$Y_{X/S} = \frac{\mu_G X}{-r_S} = \frac{dX_{crecimiento}}{-dS}$$

Donde

- μ_G es la tasa de crecimiento específico de las células.
- X es la cantidad de biomasa
- $-r_S$ es la tasa de consumo de sustrato

(Liu, 2013)

Cuando finaliza el periodo de crecimiento, se tiene un factor de rendimiento de crecimiento aparente. Debido a que las condiciones del cultivo alteran como el microorganismo utiliza el sustrato, el factor de rendimiento del crecimiento no es una constante. Sin embargo, según la ecuación anterior solo el cambio de biomasa y cambio del sustrato son los factores que afectan el rendimiento de crecimiento. No obstante, el sustrato también puede consumirse para más de un propósito como fuente de carbono o energía para el microorganismo. Por lo tanto, las necesidades de mantenimiento son necesarias ya sea que la célula se encuentre en crecimiento o simplemente para mantener sus funciones (Liu, 2013).

La conversión del sustrato en producto puede no estar directamente relacionada con el crecimiento de la biomasa celular, pero si está relacionado con las necesidades de mantenimiento. Por lo tanto, se puede definir el rendimiento del consumo de sustrato directamente atribuido a la asimilación de biomasa. El rendimiento basado en consumo de sustrato y generación de producto se puede definir como la ecuación 5.

Ecuación 5. Factor de rendimiento de generación de producto

$$Y_P = \frac{dX_{\text{crecimiento}}}{-d[O_2]} = \frac{dP}{-dS}$$

Donde

- $dX_{\text{crecimiento}}$ es el cambio en la biomasa (crecimiento) en función del sustrato consumido.
- dP es el cambio en la cantidad de producto formado.
- $-d[O_2]$ cambio en la concentración de oxígeno
- $-dS$ cambio en la cantidad de sustrato consumido.

(Liu, 2013)

Para microorganismos que crecen de manera anaeróbica el crecimiento es menos eficiente y el factor de rendimiento tiende a reducirse. Por lo tanto, considerando el factor de rendimiento, la tasa de absorción del sustrato está dada por la ecuación 6.

Ecuación 6. Tasa de absorción de sustrato

$$r_s = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} * \frac{X}{Y_{X/S}}$$

(Liu, 2013)

Los microorganismos también consumen parte del sustrato para el mantenimiento celular y mantener sus funciones celulares. Por otro lado, el metabolismo endógeno se refiere a las necesidades metabólicas de una célula para mantenerse viable consumiendo nutrientes disponibles o convirtiendo materiales intracelulares. El mantenimiento celular depende del crecimiento celular, mientras que las necesidades metabólicas endógenas a menudo son independientes del crecimiento. Sin embargo, las necesidades metabólicas endógenas y el mantenimiento celular si están estrechamente relacionadas. Por lo tanto, ambos se combinan en modelos de bioprocesos de manera indistinta (Liu, 2013).

Es importante considerar el metabolismo endógeno debido a que este da como resultado una disminución de la cantidad de biomasa. Para considerarla en modelos cinéticos se introduce una constante empírica denominada coeficiente de mantenimiento, la cual permite agrupar las dos necesidades de crecimiento indirectas en una sola cantidad (Liu, 2013).

En los procesos de fermentación el coeficiente de mantenimiento (m_s) es importante y tiene influencia en la biomasa y rendimiento del producto. Para obtener un valor exacto de la masa celular (m_s), es necesario medir las tasas con precisión en un rango amplio. Sin embargo, la tasa de consumo de sustrato en el proceso de mantenimiento puede depender

de la tasa de crecimiento específico, ya que incluye tanto las necesidades de mantenimiento celular como los requerimientos metabólicos internos (Liu, 2013).

Para incluir el mantenimiento celular en la ecuación de Monod, se puede introducir un término μ_S que representa la concentración de sustrato necesaria para el mantenimiento celular, por lo tanto, la ecuación de Monod se vuelve como la ecuación 7.

Ecuación 7. Ecuación de Monod con mantenimiento celular

$$\mu = \frac{\mu_{max}S}{K_S + S} - \mu_S$$

Donde:

- μ_S coeficiente de mantenimiento celular

(Liu, 2013)

Otras consideraciones en la ecuaciones de Monod son la inhibición por concentraciones altas de sustrato por encima de los requerimientos estequiométricos actúa como un efecto inhibitorio de las funciones celulares. Sin embargo, los niveles inhibidores varía según los diferentes tipos de sustratos y células (Liu, 2013).

Debido a que la ecuación de Monod es solo una ecuación de velocidad de crecimiento aproximada, por lo que no puede diferenciar la velocidad máxima de crecimiento con constante de saturación del caso no inhibido. Por lo tanto, para considerar la inhibición no competitiva del sustrato la tasa de crecimiento específico de las células se puede reescribir como la ecuación 9.

Ecuación 8. Tasa de crecimiento específica modificada con inhibición no competitiva

$$\mu_G = \frac{\mu_{max}}{\left(1 + \frac{K_S}{S}\right) * \left(1 + \frac{S}{K_I}\right)}$$

Donde:

- K_I constante de inhibición no competitiva

(Liu, 2013)

También se pueden generar inhibiciones por concentración de productos o subproductos. Altas concentraciones extracelular del producto puede actuar como un inhibidor del crecimiento microbiano. Este tipo de inhibición puede ser competitiva o no competitiva.

Para inhibición competitiva, la ecuación 8 se reescribe como la ecuación 9.

Ecuación 9. Tasa de crecimiento específica modificada con inhibición competitiva por generación de producto

$$\mu_G = \frac{\mu_{max} S}{K_S \left(1 + \frac{P}{K_P}\right) + S}$$

Donde:

- p es la concentración de producto
- K_p es la constante de inhibición competitiva por generación de producto (Liu, 2013)

Ecuación 10. Tasa de crecimiento específica modificada con inhibición no competitiva por generación de producto

$$\mu_G = \frac{\mu_{max} S}{(K_S + S) \left(1 + \frac{P}{K_P}\right)}$$

(Liu, 2013)

La fermentación de etanol a partir de glucosa usando levadura es un ejemplo de inhibición no competitiva, el etanol actúa como un inhibidor del crecimiento del microorganismo a concentraciones superiores del 5% (Liu, 2013).

d. Ecuación de Luede-King-Pirete.

Otra ecuación utilizada para describir la tasa de formación de producto en ciertos procesos biológicos, durante las fases de crecimiento lento o estacionario es la ecuación de Luede-King-Pirete, la cual se muestra en la ecuación 11.

Ecuación 11. Luede-King Pirete

$$\mu_P = \beta - \alpha \mu_G$$

Donde:

- β se relaciona con la producción asociada al crecimiento, si su valor es cero indica que el producto solo se genera cuando las células están en fase exponencial.
- α se relaciona con la producción no asociada al crecimiento, si es cero indica que el producto no se genera durante la fase estacionaria de crecimiento celular.

La ecuación de Luede-Kinge-Pirete permite modelar la formación de productos tanto durante el crecimiento celular como en fases estacionarias, dependiendo de los valores de β y α . Permite entender si el producto se genera principalmente durante el crecimiento activo o cuando las células dejan de crecer (Liu, 2013).

F. Métodos de análisis químico

1. HPLC (Cromatografía líquida de alta precisión)

La cromatografía líquida de alta precisión, denominada como HPLC por sus siglas en inglés, consiste en un tipo de cromatografía en columna que se utiliza comúnmente para

análisis bioquímico, principalmente para separar, identificar y cuantificar sustancias químicas activas. En este tipo de cromatografía el disolvente fluye a través de la columna empujado a bajas presiones de hasta 400 atmósferas para genera una separación de la muestra en diferentes constituyentes en función de las diferencias en afinidades relativas (Sadapha & Dhamak, 2022).

Dentro de la columna de HPLC también se comprende un material de relleno que constituye la fase estacionaria y también cuenta con un detector que permite detectar los tiempos de retención de las moléculas presentes en la muestra. Los distintos tiempos de retención se ven afectados por las interacciones entre la fase estacionaria, las moléculas a analizar y el disolvente utilizado (Sadapha & Dhamak, 2022).

Las muestras para analizar se van añadiendo en pequeñas cantidades a la corriente de la fase móvil y se retardan mediante interacciones químicas y físicas específicas con la fase estacionaria. El tiempo de retardo está determinada por la naturaleza del analito, así como por la composición de la fase estacionaria (Sadapha & Dhamak, 2022).

Este método analítico permite analizar de manera rápida azucares individuales, entre otros compuestos como el etanol. Lo cual la convierte en una técnica analítica adecuada para monitorear los compuestos durante el proceso fermentativo. Entre las ventajas del uso del HPLC en la fermentación se encuentran su alta precisión y velocidad, la posibilidad de analizar múltiples compuestos en una sola corrida, y la obtención de datos confiables que facilitan el control del proceso fermentativo (Sadapha & Dhamak, 2022).

2. Método de peso seco para cuantificación de biomasa

La biomasa microbológica es una variable fundamental en investigaciones microbológicas, principalmente para estudios de cinética de crecimiento, factores de rendimiento o cocientes metabólicos. También es importante para el análisis y mejora de la eficiencia de distintos procesos microbianos, como procesos fermentativos (Li & Osduña, 2009).

El método más tradicional para determinar de manera directa la biomasa es mediante la medición del peso seco, en donde la muestra se somete a un proceso de secado constante en un horno. Este método generalmente requiere largas fases de secado, por lo que los resultados no están disponibles de manera inmediata (Li & Osduña, 2009).

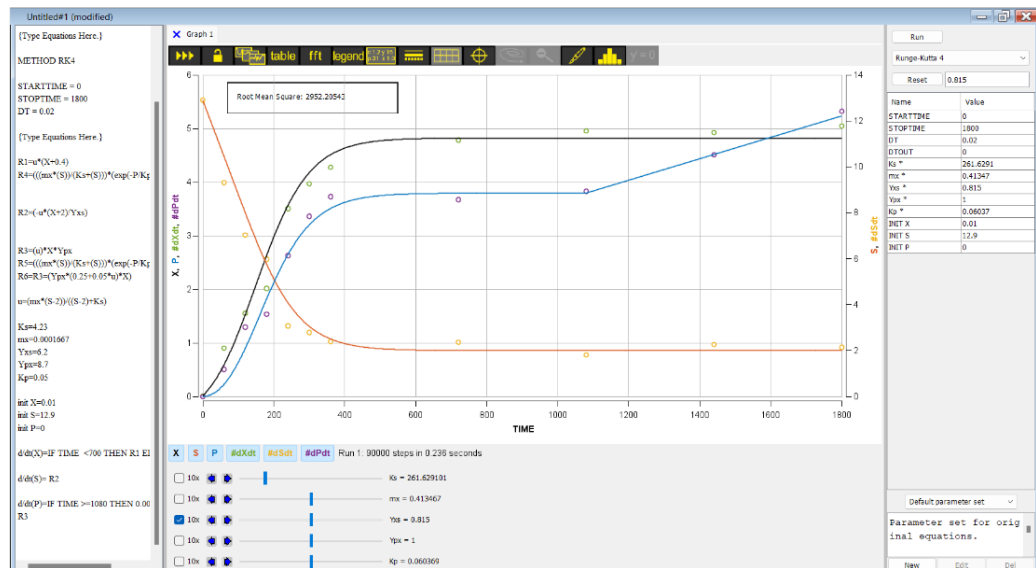
La técnica de peso seco se basa en la deshidratación completa de la muestra de biomasa hasta solo obtener el sólido. Para recolectar la biomasa esta primero se puede someter a un proceso de centrifugación para eliminar el exceso de líquido y luego la biomasa se puede transferir a un recipiente previamente tarado y se coloca en el horno a temperaturas ente 60-105°C y se deja secar hasta obtener un peso constante. Una vez seca la biomasa, se pesó y se calcula el peso seco considerando el peso del recipiente (Li & Osduña, 2009).

G. Berkeley Madonna

Berkeley Madonna consiste en un solucionador de ecuaciones diferenciales de uso general. Cuenta con una interfaz gráfica que permite construir modelos matemáticos complejos con facilidad. También permite modelar sistemas dinámicos complejos que cuentan con componentes con relaciones complejas como cinética de reacciones químicas y enzimáticas. Además, permite generar controles para explorar la influencia de los parámetros (Shiflet & Shiflet, 2006).

Permite construir modelos matemáticos en términos de ecuaciones diferenciales que representan cambios en el tiempo de diversas variables dentro de un sistema. Al definir estas ecuaciones, el programa calcula el comportamiento dinámico de los parámetros bajo estudio. Además, permite el ajuste de variables en tiempo real a datos experimentales, facilitando la interpretación de los resultados (Shiflet & Shiflet, 2006).

Figura 5. Ejemplo de plataforma del software Berkeley Madonna



Fuente: Elaboración propia, 2024.

V. ANTECEDENTES

En la industria de la fermentación, se pueden encontrar distintas levaduras comerciales, especialmente *S. cerevisiae*, la cual es la levadura comúnmente utilizada por su capacidad para convertir los azúcares en etanol de manera eficiente. Sin embargo, estudios previos han demostrado que la producción de etanol utilizando melaza de caña de azúcar y diferentes cepas comerciales de levadura que se venden en el mercado, pueden presentar diferencias en el contenido de etanol generado durante el proceso de fermentación (Jayus, *et al.*, 2016).

En un estudio llevado a cabo por Basso, L.; Amorim, H.; Oliveira, A. y Lope, M. en 2008 analizaron 24 cepas de *S. cerevisiae* en fermentaciones industriales. Entre las cepas estudiadas se encontraban Fleischmann, conocida por su uso en la industria de fermentaciones alcohólicas, y Cepa de levadura común, mencionada principalmente como levadura de panadería. En dicho estudio destacaron las diferencias entre las cepas en términos de producción de etanol bajo condiciones industriales, reafirmando que no todas las cepas de *S. cerevisiae* son igualmente eficientes en el mismo proceso de fermentación.

En este estudio también se destaca que las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas por las marcas Fermipan y Fleischmann, identificadas como cepa de levadura común y cepa SA-1 respectivamente, han variado a lo largo de los años. Aunque es evidente que las cepas difieren entre sí, las marcas no revelan específicamente qué cepa utilizan. Sin embargo, estas diferencias pueden distinguirse mediante el análisis morfológico de la levadura liofilizada. Se ha observado que la cepa de levadura común presenta células más grandes y esféricas, mientras que la cepa de levadura SA-1 se caracteriza por tener células más pequeñas, alargadas y de un color beige más claro.

En un estudio realizado por Hernández, C. y Purihuman, R., en 2014, comparan tres cepas de levaduras comerciales instantáneas para la fermentación de etanol utilizando melaza de caña de azúcar, en su estudio destacan que se utilizó levadura instantánea debido a que éstas presentan diversas ventajas, como su larga vida útil y alta viabilidad celular que puede llegar a ser mayor a $4.6 \cdot 10^{10}$ células de levadura/g, presentan una mayor eficiencia y reducen el problema de preparación del cultivo disminuyendo de esa manera el riesgo de contaminación con otro tipo de bacterias.

En su estudio utilizaron las cepa de levadura común, Red Star y Fleischmann (SA-1) para determinar su rendimiento en la conversión de azúcares en etanol bajo diferentes condiciones de pH y bacteriostático. Sus resultados revelaron que la cepa de levadura común mostró el mayor rendimiento alcanzado, siendo de 5%v/v; a diferencia la cepa SA-1 presentó un rendimiento ligeramente menor siendo de 4.2%v/v de etanol, mientras que la cepa Red Star mostró el menor rendimiento, siendo de 3.8%v/v de etanol.

En investigaciones previas sobre producción de etanol utilizando cepas de levadura *S. cerevisiae*, se ha observado que la concentración de azúcares en el medio es un factor importante en el rendimiento fermentativo. Un estudio realizado por Raharja, R., Murdiyatmo, A. y Wandani K. en 2019 utilizaron un medio de fermentación de melaza de caña de azúcar con concentraciones de 20%, 25% y 30% m/v de azúcares y determinaron un contenido de etanol que oscilaba entre 5-9%v/v utilizando de igual manera levadura instantánea.

Además, un estudio realizado por Murphy N. en 1982 determinó que una concentración adecuada de azúcares provenientes de melaza de caña de azúcar se encuentra en el rango de 17-20% p/v. Esta concentración permite maximizar la conversión de azúcares en etanol por parte de las levaduras, logrando rendimientos que oscilan entre 8-10% m/v de etanol. Dentro de este estudio, también se destaca que la melaza proporciona los nutrientes necesarios para un crecimiento y fermentación eficientes; sin embargo, carece de nitrógeno, un componente crucial para el proceso de fermentación. Por lo tanto, determinaron que concentraciones de 1-1.5 g/L de nitrógeno son suficientes para corregir esta deficiencia y facilitar un adecuado desarrollo de la fermentación.

El tamaño de inóculo inicial también constituye otros de los factores que influyen en la dinámica de la fermentación y en la producción de etanol. De igual manera en el estudio realizado por Raharja, R., Murdiyatmo, A. y Wandani K. en 2019 mencionan que un tamaño de inóculo pequeño puede generar retrasos en el inicio de la fermentación y una baja productividad del proceso, mientras un tamaño de inóculo grande puede conllevar a un rápido agotamiento de los nutrientes afectando de igual manera la productividad de etanol. Según este estudio concentraciones de inóculo entre el 5% y el 10% (m/v) tienden a ser efectivas en la producción de etanol a partir de sustratos como la melaza.

Otros estudios, como el estudio realizado por Permatasari, et al., en 2023 estudiaron que tamaños de inóculo inicial que puede variar entre 5-10% m/v ya que estas concentraciones permitieron un adecuado crecimiento y metabolismo de la levadura, aumentando la concentración de etanol obtenida en el proceso de fermentación.

De acuerdo con otros estudios, los requisitos de temperatura y pH para fermentaciones alcohólicas por levaduras son ambientes cálidos y ácidos, la mayoría de las cepas de *S. cerevisiae* crecen de manera adecuada ente 20-35°C y pH de 4.5-6.5. Estas condiciones fueron adaptadas en el siguiente estudio para asegurar un ambiente adecuado para el crecimiento y actividad metabólica de las cepas de *S. cerevisiae* (Walker & Stewart, 2016).

Realizar un modelo cinético, permite entender de mejor manera la dinámica de un proceso fermentativo, lo cual es importante para poder predecir el rendimiento del proceso y permite ajustar los parámetros operativos para obtener los mejores rendimientos en una situación determinada. Además, permite obtener los parámetros para poder escalar el proceso. En un estudio realizado por Zentou, *et al.*, en 2019, sobre un modelo de fermentación de melaza para la producción de bioetanol, comparando la precisión de los modelos de Monod y Andrews. Para estimar los parámetros de Monod como μ_{max} y K_S llevaron a cabo un conjunto de fermentaciones por lotes utilizando diferentes concentraciones de sustrato, obteniendo valores para μ_{max} de 0.179/h y K_S de 11.37g/L, los coeficientes de rendimiento obtenidos en dicho estudio se muestran la figura 5. El ajuste

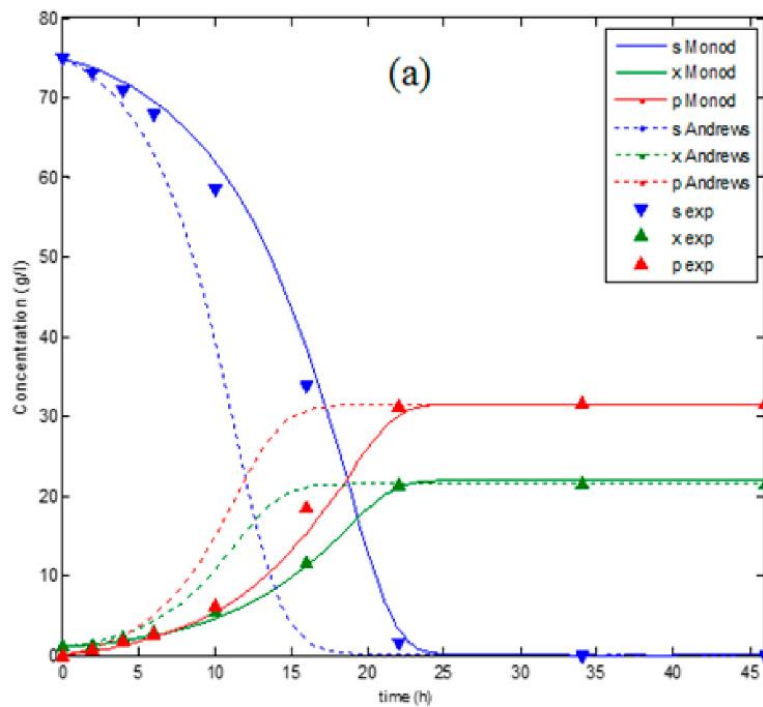
de los dos modelos cinéticos a los datos experimentales estudiados en dicho estudio se muestran en la figura 6.

Figura 6. Coeficientes de rendimiento a distintas concentraciones iniciales de sustrato para el modelo de Monod

Concentración inicial de sustrato (g.L ⁻¹)	Y _{x/s}	Y _{p/s}
5	0.267	0.384
10	0.282	0.397
15	0.290	0.446
20	0.278	0.435
25	0.283	0.439
Promedio	0,280 ± 0,0084	0,420 ± 0,002

Fuente: Zentou., *et al*, 2019.

Figura 7. Ajuste modelo cinético de Monod y Andrews a datos experimentales



Fuente: Zentou., *et al*, 2019.

La línea azul representa el ajuste de modelo cinético de Monod a los datos de concentración de sustrato, la línea roja a los datos de concentración de etanol y la verde a los datos de concentración de biomasa. Los triángulos representan los datos experimentales obtenidos en el estudio y las líneas punteadas representan el ajuste del modelo cinético de Andrews comparado en el estudio de Zentou., *et al*, 2019.

En el estudio de Zentou., *et al*, 2019 determinaron que el modelo de Monod es un modelo básico utilizado para simular un proceso de fermentación alcohólica. Sin embargo, los resultados obtenidos en su estudio permitieron observar que es difícil definir modelos cinéticos adecuados para distintas condiciones de crecimiento microbiano; en su estudio el modelo de Andrews mostró ser menos preciso para predecir el comportamiento cinético a bajas concentraciones iniciales de sustrato y el modelo de Monod mostró ser más idóneo para ese caso, por lo tanto, utilizar modificaciones de los modelos cinéticos comunes como el modelo de Monod permite generar una mejor representación real de los datos experimentales.

VI. METODOLOGÍA

A. Caracterización de azúcares totales, pH y grados Brix de la melaza de caña de azúcar

Materiales y equipo

- 1g de melaza de caña de azúcar
- Agua destilada
- 1 beacker de 50mL
- Probeta de 10mL
- Agitador magnético
- Tubo de ensayo de 10mL
- Pipeta Pasteur
- Kimwipes
- Estufa con agitación
- Balanza analítica (OHAUS Pioneer, modelo T5400)
- Refractómetro (ATAGO, RX-5000)
- Potenciómetro (OHAUS Pioneer, modelo ST20)
- Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) (Detector de índice de refracción P-1200, Marca Agilent, columna Hi-Plex CA)

Procedimiento:

Preparación de dilución de melaza de caña de azúcar

1. Utilizando un beacker de 50mL se pesó 1g de melaza y se agregaron 9mL de agua destilada.
2. La mezcla se agitó y se calentó a 30°C hasta que la melaza se disolvió completamente en el agua.
3. Se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Determinación de pH

1. Se limpió el electrodo del pH metro con agua destilada y se secó con un papel kimwipe.
2. Se midió el pH de la muestra diluida de la melaza introduciendo el electrodo del pH metro en la solución, esperando hasta que la lectura se estabilizará.
3. Después de la medición, se limpió nuevamente el electrodo con agua destilada y se secó con papel kimwipe.

Determinación de grados Brix

1. Se limpió el prisma del refractómetro utilizando agua destilada y se secó con un kimwipe.
2. Posteriormente se colocó una gota de agua destilada en el prisma para calibrar el refractómetro a cero.
3. Utilizando un pipeta Pasteur, se tomó una muestra de la melaza diluida y se colocó sobre el prisma del refractómetro, procurando que la muestra lo cubriera por completo y que no se formara burbujas.
4. Se midieron el valor de °Brix de la muestra diluida de melaza.
5. Se limpió el prisma del refractómetro con agua destilada y se secó con un kimwipe.

Determinación de azúcares fermentables

4. Se transfirió la solución de melaza diluida a un tubo de ensayo.
5. La muestra se envió para análisis de azúcares fermentables (sacarosa, glucosa y fructosa) mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

B. Preparación medio de cultivo

Materiales y equipo

- 2,150 g de melaza de caña de azúcar
- 75g de urea
- Agua destilada
- Etanol al 70%
- Probeta de 500mL
- Probeta de 100mL
- 50 Erlenmeyers de 250mL
- 4 Erlenmeyer de 2L
- Beacker 250mL
- Pipeta graduada 5mL
- Balanza de laboratorio (OHAUS Pionner CS3000)
- Estufa con agitación
- Campana de laboratorio
- Mechero
- 3 agitadores magnéticos
- Esterilizador de autoclave (Tuttnauer modelo 5075ELVC)
- Papel aluminio
- Espátula analítica

Procedimiento

- Se lavaron y secaron 50 Erlenmeyer de 250 mL y 4 matraces Erlenmeyer de 2L para asegurar condiciones limpias en la preparación del medio de fermentación.
- En cada uno de los 3 Erlenmeyer de 2L se pesaron 713.4g de melaza utilizando una balanza de precisión.
- Luego se añadieron 784.24g de agua destilada a cada uno, tomando al mismo tiempo el volumen de agua añadida utilizando una probeta graduada de 500mL.
- Se llevó la mezcla de melaza y agua a agitación calentando a 30°C, hasta que se obtuvo una solución homogénea, utilizando la estufa con agitación y los agitadores magnéticos.

- Una vez homogenizadas las soluciones en cada Erlenmeyer, los medios preparados se combinaron y mezclaron nuevamente con ayuda de otro Erlenmeyer de 2L, para asegurar una homogeneización total de todos los medios de fermentación preparados antes de su uso en el proceso.
- Posteriormente, utilizando una probeta de 100 mL, se distribuyeron 95 mL de la melaza diluida en cada uno de los Erlenmeyer de 250 mL, los cuales se taparon con papel aluminio.
- Los medios preparados se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15psi durante 15min, junto con 275mL de agua en un Erlenmeyer separado.
- Una vez esterilizado y enfriados los medios de fermentación a temperatura ambiente, se añadieron los 67.3g de urea al Erlenmeyer en 225mL de agua esterilizada y se agito con una varilla hasta observar dilución completa de la urea y luego se añadieron 5mL de la solución de urea a cada frasco para una concentración 1%*m/v* de urea.

*Este procedimiento se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar desinfectada previamente con etanol al 70% y sometida a luz UV por 15min. Para minimizar el riesgo de contaminación, se utilizó un mechero durante la manipulación de los frascos.

* El procedimiento se repitió para cada cepa y por cada corrida realizada.

C. Preparación del inóculo

Materiales y equipo

- Agua destilada
- 390g Levadura seca instantánea cepa de levadura común
- 390g Levadura seca instantánea cepa SA-1
- 5 Erlenmeyer de 500mL
- Estufa con agitación
- Termómetro
- Balanza analítica (OHAUS Pioneer, modelo T5400)
- Agitador de varilla
- Probeta de 50mL

Procedimiento

- Se midieron 450 mL de agua destilada en cada uno de los cinco frascos Erlenmeyer de 500 mL. Los frascos se cubrieron adecuadamente y se esterilizaron a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos, con una presión de 15 psi.
- Una vez concluida la esterilización, se dejó enfriar el agua a temperatura ambiente bajo condiciones estériles para evitar cualquier riesgo de contaminación.
- Posteriormente se pesaron las cantidades adecuadas de levadura seca para los distintos tamaños de inóculo inicial, según la siguiente tabla.

Cuadro 4. Masa de levadura para cada tamaño de inóculo inicial

Tamaño de inóculo inicial (%m/v)	Masa de levadura (g)
1%	15
3%	45
5%	75
7%	105
10%	150

- El agua previamente esterilizada se calentó a 34 °C en una estufa y se añadió la levadura a cada uno de los Erlenmeyer correspondientes, mezclando bien para asegurar una activación uniforme y se dejó activar por 5 min.
- Una vez activada la levadura, se distribuyeron 50 mL de inóculo a cada uno de los 9 frascos de fermentación, utilizando una probeta de 50 mL previamente esterilizada. Este proceso se repitió para cada uno de los tamaños de inóculo. (No se inóculo el frasco de la hora cero)
*Se realizó este mismo procedimiento para ambas cepas de levadura en duplicado.

D. Fermentación y toma de muestras

Materiales y equipo

- Incubadora con agitación (New Brunswick Scientific serie 25 y Serproma SI-6000)
- Centrífuga (Sorvall RT7)
- Mechero
- Pipeta graduada de 1mL
- Pipeta graduada de 10mL
- 56 tubos de ensayo de 10mL
- Gradilla para tubos de ensayo
- Cloruro de calcio
- Papel aluminio
- Secador
- Balanza analítica (OHAUS Pioneer, modelo T5400)
- HPLC

Procedimiento

Preparación de muestras sin inóculo para determinación de azúcares iniciales

- Se 10mL del caldo de fermentación y se transfirió a un tubo Eppendorf para ser centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos.
- Se midió el volumen del sobrenadante, y el pellet resultante se colocó en un vidrio reloj.
- El pellet se secó en una estufa durante 1 hora y se registró el peso seco de la biomasa.

- Posteriormente, se tomó 1 mL del sobrenadante utilizando una pipeta graduada y se diluyó en 9 mL de agua destilada en un tubo de ensayo, mezclando para homogeneizar.
- Finalmente, se rotuló la muestra para su análisis de azúcares fermentables por HPLC en el Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado del Centro de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala.

*Este mismo procedimiento se realizó en duplicado para cada cepa

Fermentación y toma de muestras

- Después de añadir el inóculo, todos los frascos se cubrieron con papel de aluminio, asegurando los bordes con cinta adhesiva para minimizar la entrada de oxígeno al medio y mantener condiciones limitadas de oxígeno, necesarias para el proceso de fermentación.
- Posteriormente, todos los frascos se colocaron en la incubadora a 34°C con una agitación constante de 250 rpm.
- Durante las primeras 5 horas de fermentación, se retiró un Erlenmeyer por cada tamaño de inóculo, cada hora. Posteriormente, se continuó retirando otra muestra a las 6h de fermentación y luego cada 6 horas, hasta completar un total de 30 horas de fermentación.
- Los Erlenmeyers retirados se centrifugaron a 3500 rpm durante 20 minutos.
- Se midió el volumen del medio de fermentación (sobrenadante), y la biomasa se transfirió a platos de aluminio para su secado a 60°C por una hora y media, registrando su peso húmedo antes del secado y su peso seco después del secado.
- Se tomó 1 mL del medio de fermentación utilizando una pipeta graduada esterilizada, y se diluyó en 9 mL de agua destilada esterilizada en un tubo de ensayo, mezclando para homogeneizar. Esto para una dilución 1:10 de la muestra.
- Para asegurar que el proceso de fermentación continuara, incluso luego de retirar la levadura por el proceso de centrifugación, se añadió cloruro de calcio a las muestras.
- Finalmente, las muestras se etiquetaron y se enviaron para análisis de azúcares fermentables y etanol mediante HPLC en el Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado del Centro de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala.

Nota: se preparó un medio de fermentación adicional sin inocular, para centrifugar y obtener el peso seco de sólidos suspendidos presentes en el medio de fermentación provenientes de la melaza de caña de azúcar.

E. Generación del modelo cinético de fermentación

Materiales y equipo

- Software de Excel
- Berkeley Madonna

Procedimiento

- Se tabularon en Excel los valores obtenidos del análisis por HPLC de las muestras, de concentración de azúcares y etanol con respecto a tiempo de toma de muestra.
- Se tabularon los datos de biomasa seca con respecto al tiempo en Excel.
- Posteriormente se generó las gráficas de concentración de azúcares, etanol y biomasa con respecto al tiempo de fermentación para visualizar el comportamiento de cada variable.
- Se gráfico la estimación de la derivada de generación de biomasa con respecto al tiempo y la inversa de concentración de sustrato para obtener estimaciones de los parámetros cinéticos de constante de afinidad (K_S) Y velocidad máxima de reacción (μ_{max}).
- También se calculó el cambio de biomasa con respecto a sustrato, biomasa con respecto a producto y producto con respecto al sustrato para estimar los rendimientos instantáneos.
- se guardó en archivos separados el promedio entre corridas de biomasa, etanol y concentración de azúcares con respecto al tiempo en formato Comma Separated Values (CSV).
- se abrió el simulador Berkeley Madonna y se escribieron las ecuaciones generales basadas en el modelo de Monod y Luede King Pirete para la velocidad de reacción, consumo de sustrato, generación de producto y biomasa, utilizando los parámetros estimados calculados en Excel.
- Se ejecutó el simulador utilizando el método de Runge-Kutta 4 para graficar las ecuaciones planteadas.
- Se importaron cada uno de los archivos CSV de biomasa, concentración de azúcares y etanol con respecto al tiempo con respecto a cada tamaño de inóculo y cepa.
- Se utilizó la función de “fit curve” y “define slider” para que el software ejecutara una curva que se acoplara a los valores experimentales según las ecuaciones establecidas.
- Los datos obtenidos por el simulador con las ecuaciones planteadas y ajustadas a los datos experimentales se calculó el coeficiente de determinación para determinar de manera estadística el grado de ajuste de los datos experimentales al simulador cinético.

* Cada procedimiento se realizó para cada serie de datos de cada una de las cepas de levadura

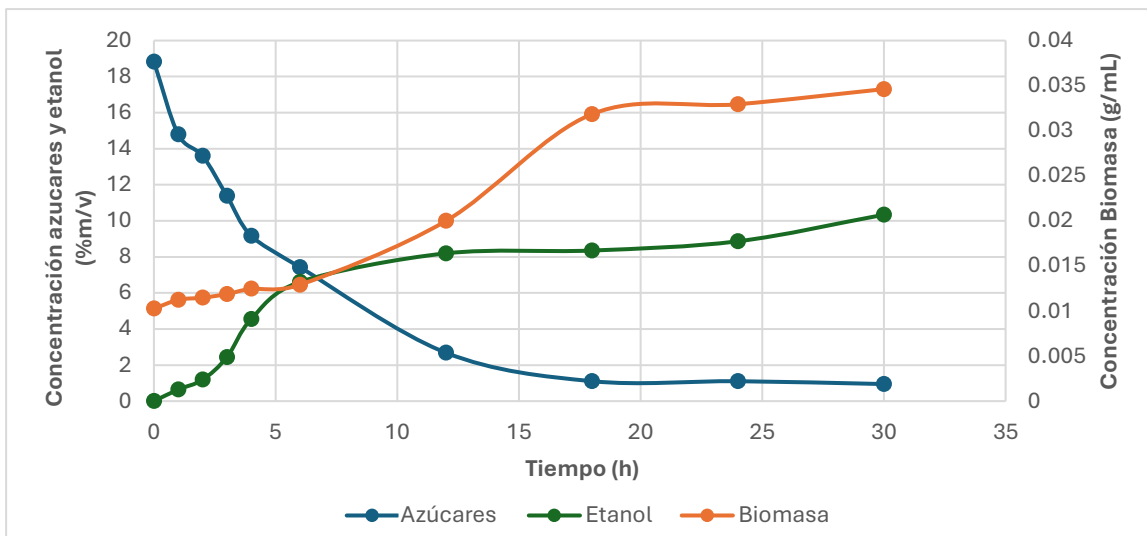
VII. RESULTADOS

Cuadro 5. Composición medio de fermentación formulado para la generación de bioetanol

Componente del medio de cultivo	Composición (% m/v)	
	Cepa de levadura común	Cepa de levadura SA-1
Concentración inicial de azúcares totales	18.83±0.22	18.55 ± 0.17
Sacarosa	8.90±0.10	8.28±1.64
Glucosa	6.36±0.073	5.61 ± 1.02
Fructosa	3.56±0.041	4.66 ± 0.50
Urea	1.02±0.041	1.05±0.034
pH	5.95±0.01	5.97±0.01
°Brix	20.80±0.001	20.14±0.01

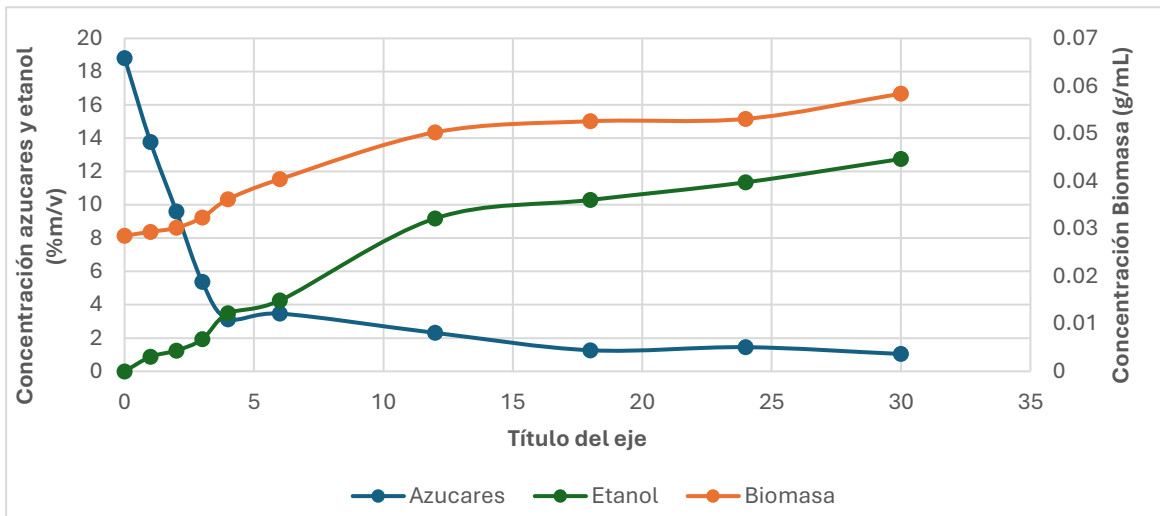
El cuadro anterior presenta las composiciones promedio obtenidas de dos corridas experimentales realizadas con las levaduras cepa de levadura común y cepa SA-1. Se muestran las concentraciones de azúcares totales, así como las concentraciones de sacarosa, glucosa y fructosa en el medio de cultivo preparado con melaza de caña de azúcar. Los datos se obtuvieron mediante cromatografía de alta afinidad (HPLC). Además, se incluye la concentración de urea añadida como fuente de nitrógeno, dato obtenido con el peso de urea añadido en el volumen total del medio de fermentación. Los datos de pH se obtuvieron usando un potenciómetro y los °Brix utilizando un refractómetro.

Figura 8. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 1%*m/v* con la cepa de levadura común



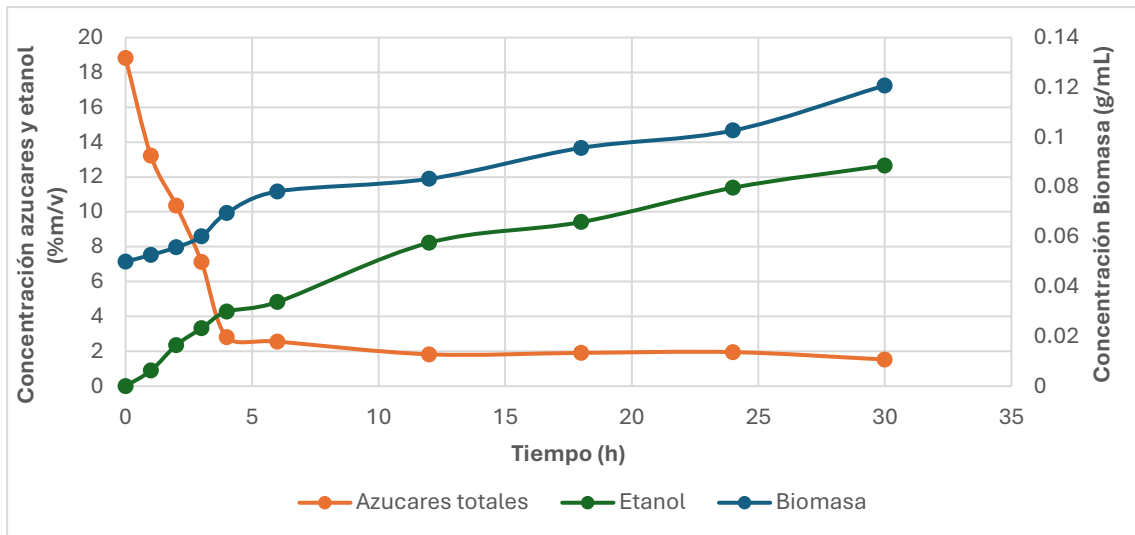
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 1%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 9. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 3%*m/v* con la cepa de levadura común



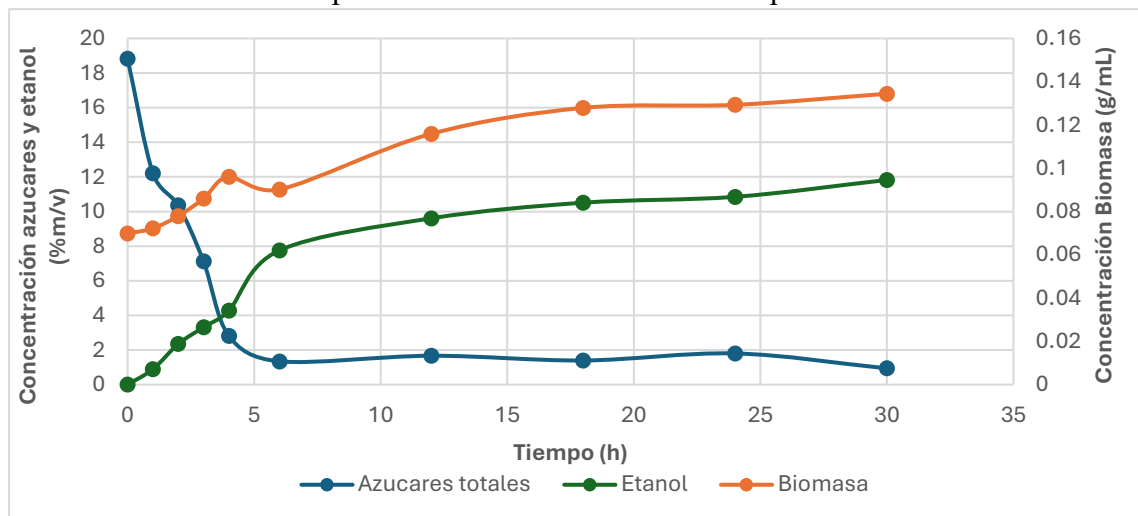
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 3%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 10. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura común



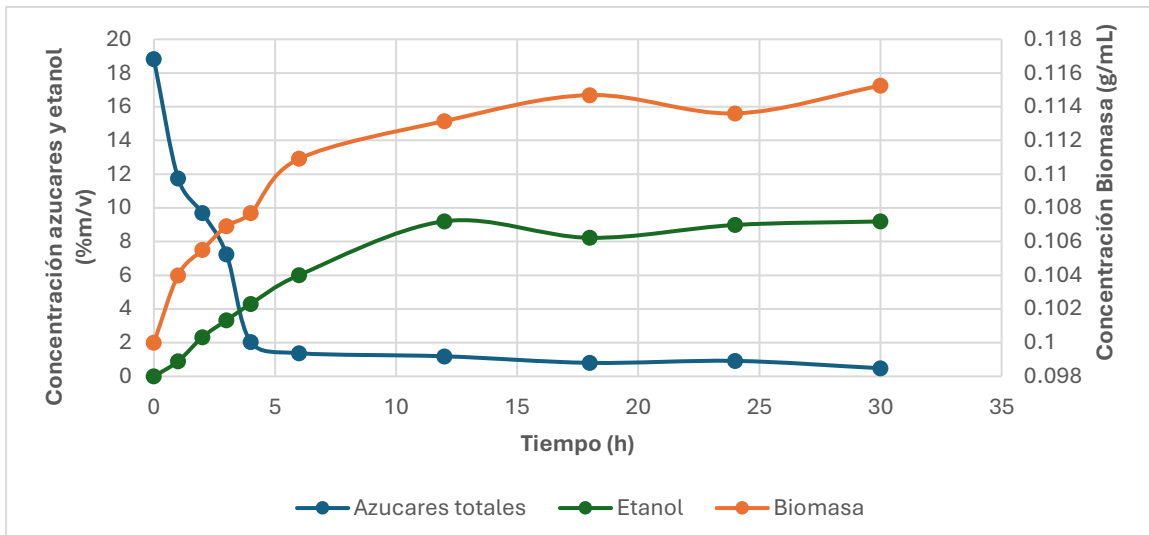
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 5%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 11. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 7%*m/v* con cepa de levadura común



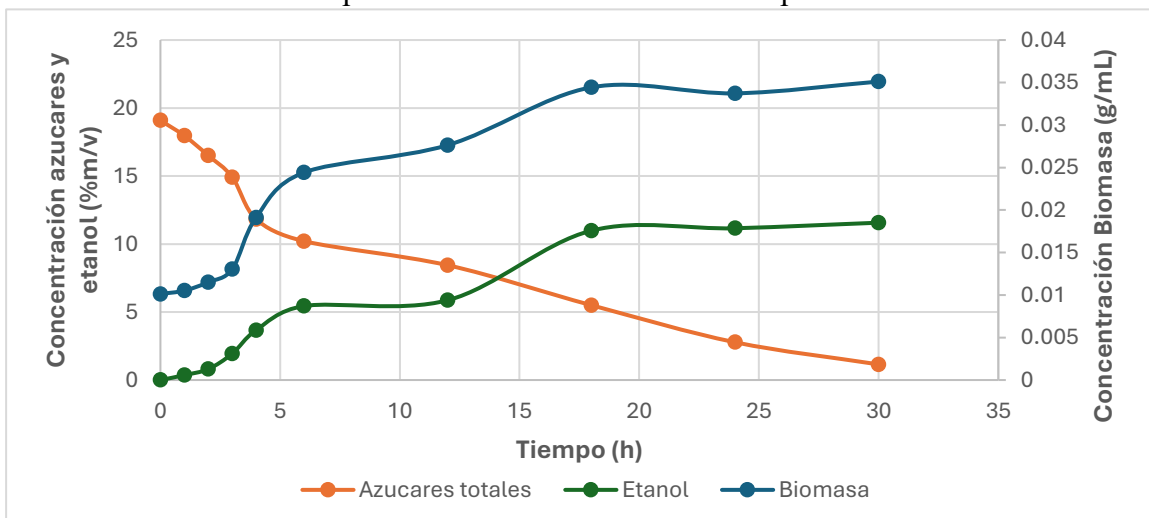
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 7%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 12. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 10%*m/v* con cepa de levadura común



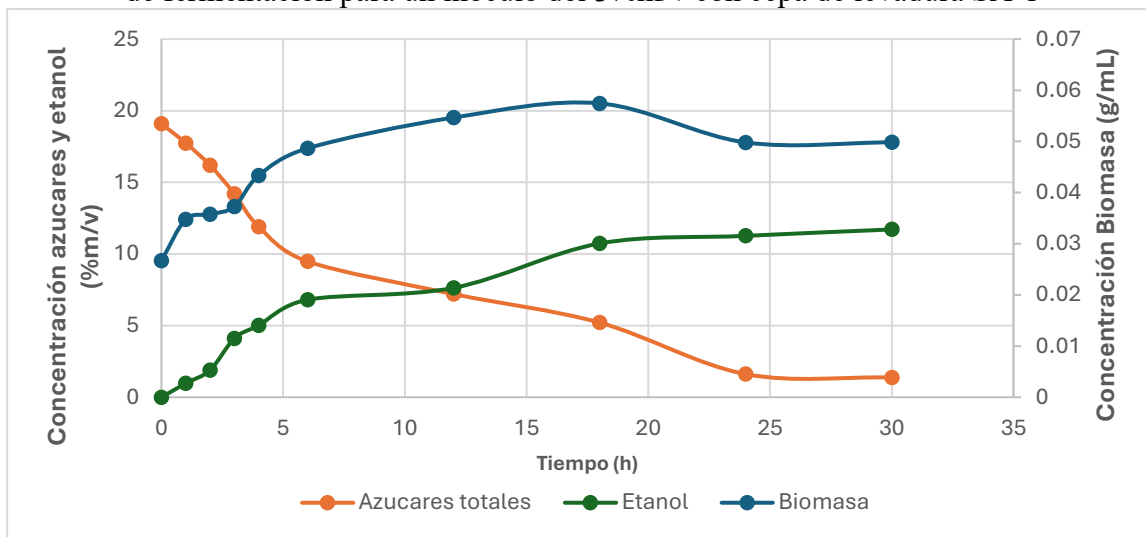
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 10%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 13. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 1%*m/v* con cepa de levadura SA-1



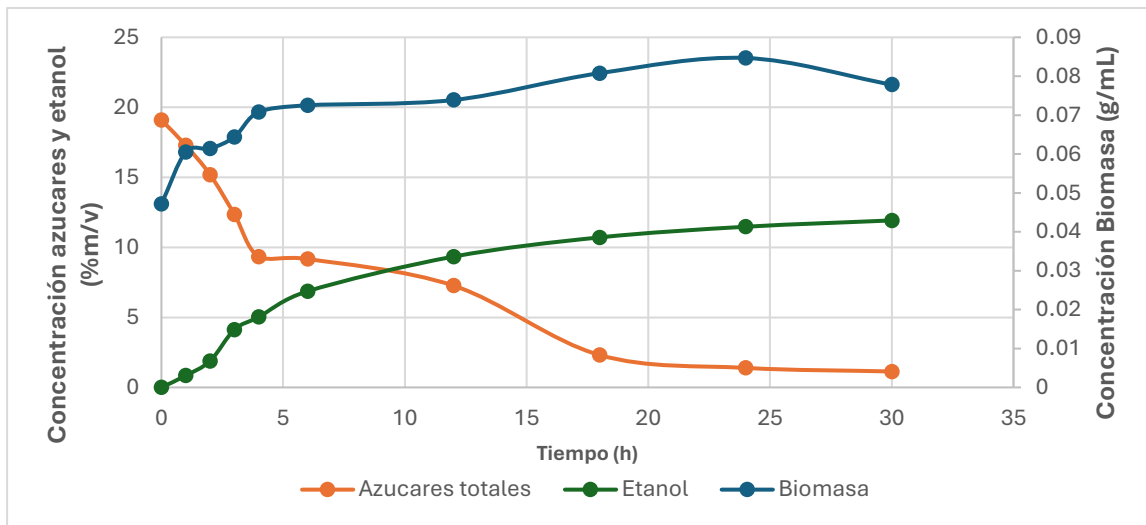
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 1%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 14. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 3%*m/v* con cepa de levadura SA-1



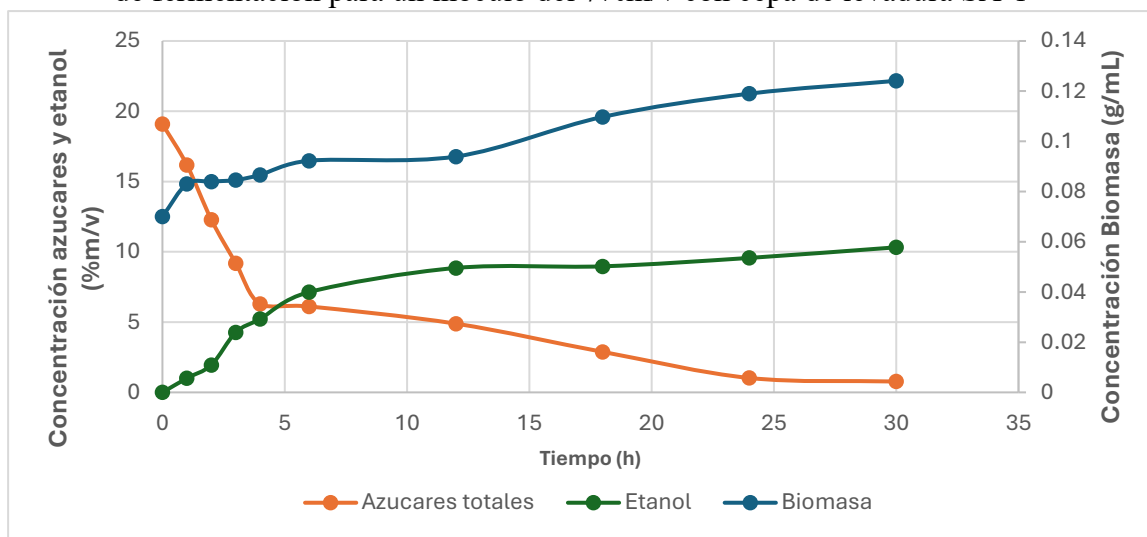
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 3%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 15. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura SA-1



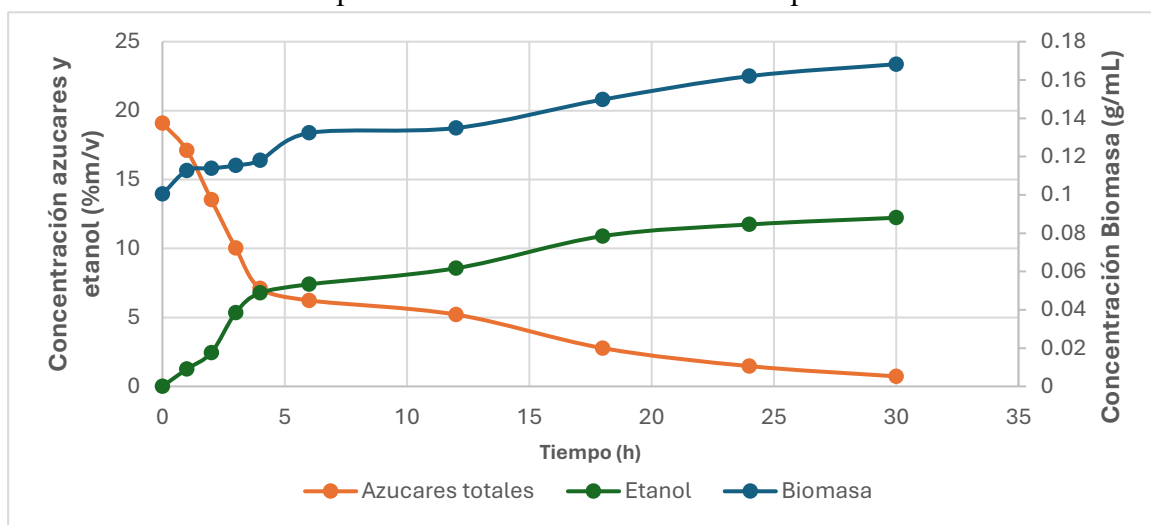
En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 5%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 16. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 7%*m/v* con cepa de levadura SA-1



En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 7%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Figura 17. Cambios de concentración de azúcares, biomasa y etanol durante el proceso de fermentación para un inóculo del 10%*m/v* con cepa de levadura SA-1



En la figura anterior se muestra la tendencia de los datos experimentales con líneas suavizadas generadas con Microsoft Excel del consumo de azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar, generación de biomasa y generación de etanol a lo largo del tiempo de fermentación. Los resultados mostrados son el promedio de dos corridas realizadas bajo condiciones de fermentación a 34°C, 250rpm, con un tamaño de inóculo del 10%*m/v* y condiciones limitadas de oxígeno. El consumo total de azúcares y la producción de etanol fueron determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y biomasa por el método de peso seco.

Cuadro 6. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* con cepa de levadura común

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * (X + 2)/Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.5) * Y_{XP}$
	$t > 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.23$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 0.946)}{K_S + (S - 0.946)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 7. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* con cepa de levadura común

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S - \mu * \frac{X + 8}{Y_{XS}}$
Generación de producto	$t < 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.8) * Y_{XP}$
	$t > 0.24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.23$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 1.042)}{K_S + (S - 1.042)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 8. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura común

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 6$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$12 < t > 6$	$\frac{dX}{dt} = r_X = 0.0004$
	$t > 12$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S - \mu * (X + 8) / Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 6$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.8) * Y_{XP}$
	$t > 6$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.31$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 1.528)}{K_S + (S - 1.528)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 9. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* con cepa de levadura común

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 20$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 20$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S - \mu * (X + 4) / Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 12$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.6) * Y_{XP}$
	$t > 12$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.23$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 0.943)}{K_S + (S - 0.943)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 10. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* con cepa de levadura común

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 20$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 20$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * (X + 4) / Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 12$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.6) * Y_{XP}$
	$t > 12$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.23$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 0.484)}{K_S + (S - 0.484)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 11. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* con cepa de levadura SA-1

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$t < 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * (X + 2)/Y_{XS}$
	$t > 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -0.4$
Generación de producto	$t < 18$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.5) * Y_{XP}$
	$t > 18$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 1.111)}{K_S + (S - 1.111)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 12. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* con cepa de levadura SA-1

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$t < 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * \frac{X + 2}{Y_{XS}}$
	$t > 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -0.4$
Generación de producto	$t < 18$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.8) * Y_{XP}$
	$t > 18$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 1.381)}{K_S + (S - 1.381)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 13. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura SA-1

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 24$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * (X + 2) / Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.5) * Y_{XP}$
	$t > 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.23$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 1.137)}{K_S + (S - 1.137)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 14. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* con Cepa de levadura SA-1

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 18$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$t < 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * \frac{X + 4}{Y_{XS}}$
	$t > 6$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -0.25$
Generación de producto	$t < 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.6) * Y_{XP}$
	$t > 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.11$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 0.776)}{K_S + (S - 0.776)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 15. Ecuaciones propuestas para la predicción de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* con Cepa de levadura SA-1

Concepto	Intervalo de tiempo (h)	Ecuación propuesta
Generación de biomasa	$t < 12$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \beta + \alpha X$
	$t > 12$	$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu * e^{-\frac{P}{K_P}} * X$
Consumo de sustrato	$0 \leq t \leq 30$	$\frac{dS}{dt} = r_S = -\mu * (X + 4) / Y_{XS}$
Generación de producto	$t < 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = \mu * (X + 0.5) * Y_{XP}$
	$t > 24$	$\frac{dP}{dt} = r_P = 0.105$
Velocidad de crecimiento	$0 \leq t \leq 30$	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - 0.682)}{K_S + (S - 0.682)}$

En el cuadro anterior se muestran las ecuaciones propuestas para modelar el proceso de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Además, se detallan los intervalos de tiempo durante los cuales cada una de las ecuaciones es aplicable, abarcando un total de 30 horas de fermentación.

Cuadro 16. Parámetros cinéticos obtenidos con Berkeley Madonna para el modelo de fermentación con distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura común

Parámetro	Valor según tamaño de inóculo inicial				
	1% m/v	3% m/v	5% m/v	7% m/v	10% m/v
Velocidad máxima de crecimiento específica (μ_{\max}) (h^{-1})	0.561	0.315	0.429	0.350	0.350
Constante de afinidad de sustrato (K_S) (g/mL)	8.08	8.76	8.26	8.22	8.90
Rendimiento instantáneo de biomasa con relación al sustrato (Y_{XS}) (g/g)	0.309	0.823	0.489	0.206	0.206
Rendimiento instantáneo de biomasa con relación al producto (Y_{PX}) (g/g)	0.628	0.694	0.606	0.746	0.744
Constante de inhibición por generación de producto (K_P) (g/g)	0.024	1.596	0.854	1.420	1.484
Coefficiente asociado a la producción no asociada al crecimiento (β) (g/mL h^{-1})	0.064	$3.18 \cdot 10^{-3}$	0.0767	0.0182	0.0351
Coefficiente asociado a la producción asociada al crecimiento (α) (g/mL h^{-1})	$8.841 \cdot 10^{-7}$	0.306	$9.631 \cdot 10^{-4}$	0.488	0.0699

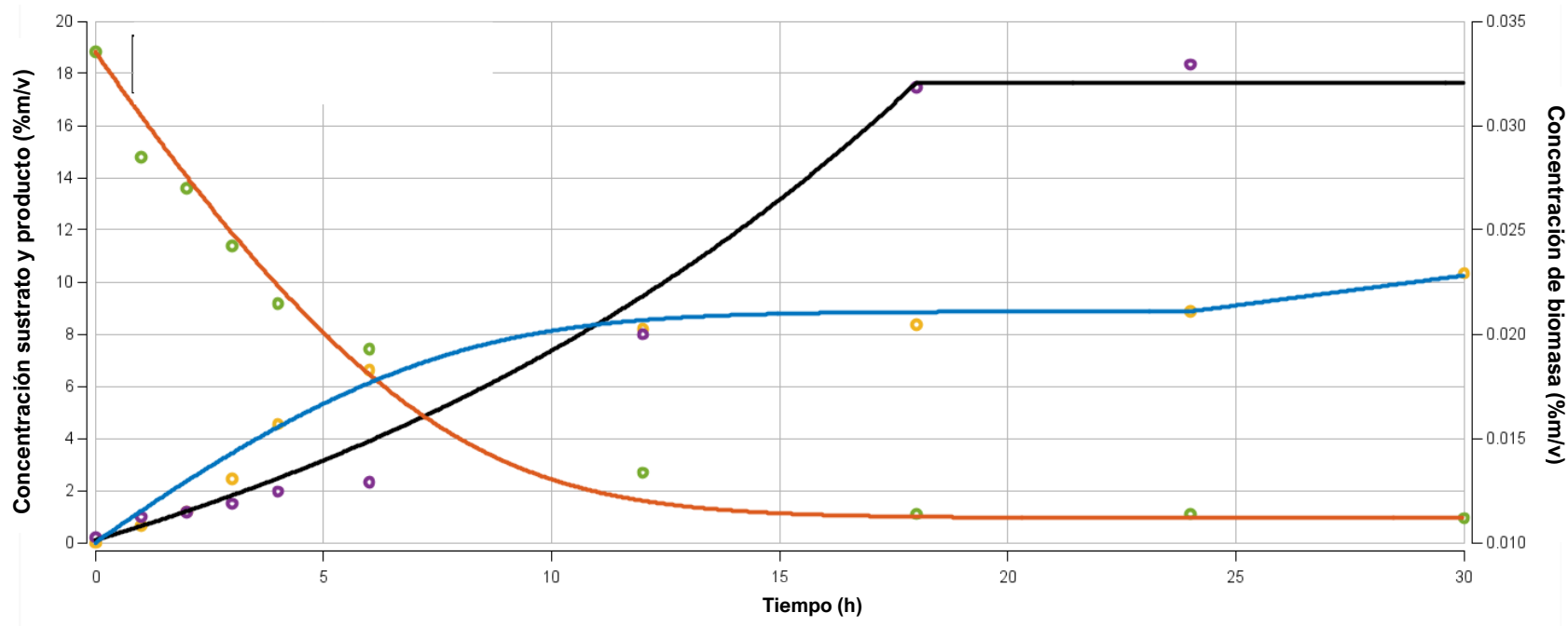
En el cuadro anterior se muestran los parámetros cinéticos del modelo propuesto para la generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para el proceso de fermentación con los distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura común. Los valores se obtuvieron utilizando el simulador Berkeley Madonna.

Cuadro 17. Parámetros cinéticos obtenidos con Berkeley Madonna para el modelo de fermentación con distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura SA-1

Parámetro	Valor según tamaño de inóculo inicial				
	1% m/v	3% m/v	5% m/v	7% m/v	10% m/v
Velocidad máxima de crecimiento específica (μ_{\max}) (h^{-1})	0.2410	0.221	0.221	0.359	0.359
Constante de afinidad de sustrato (K_S) (g/mL)	6.923	6.73	7.81	7.591	7.59
Rendimiento instantáneo de biomasa con relación al sustrato (Y_{XS}) (g/g)	0.223	0.186	0.164	0.164	0.164
Rendimiento instantáneo de biomasa con relación al producto (Y_{PX}) (g/g)	0.916	0.101	0.139	0.111	0.960
Constante de inhibición por generación de producto (K_P) (g/g)	0.464	0.200	0.2102	0.258	0.201
Coefficiente asociado a la producción no asociada al crecimiento (β) (g/mL h^{-1})	-0.167	-0.128	-0.0109	$4.626 \cdot 10^{-5}$	$4.626 \cdot 10^{-5}$
Coefficiente asociado a la producción asociada al crecimiento (α) (g/mL h^{-1})	1.818	1.512	0.606	0.303	0.218

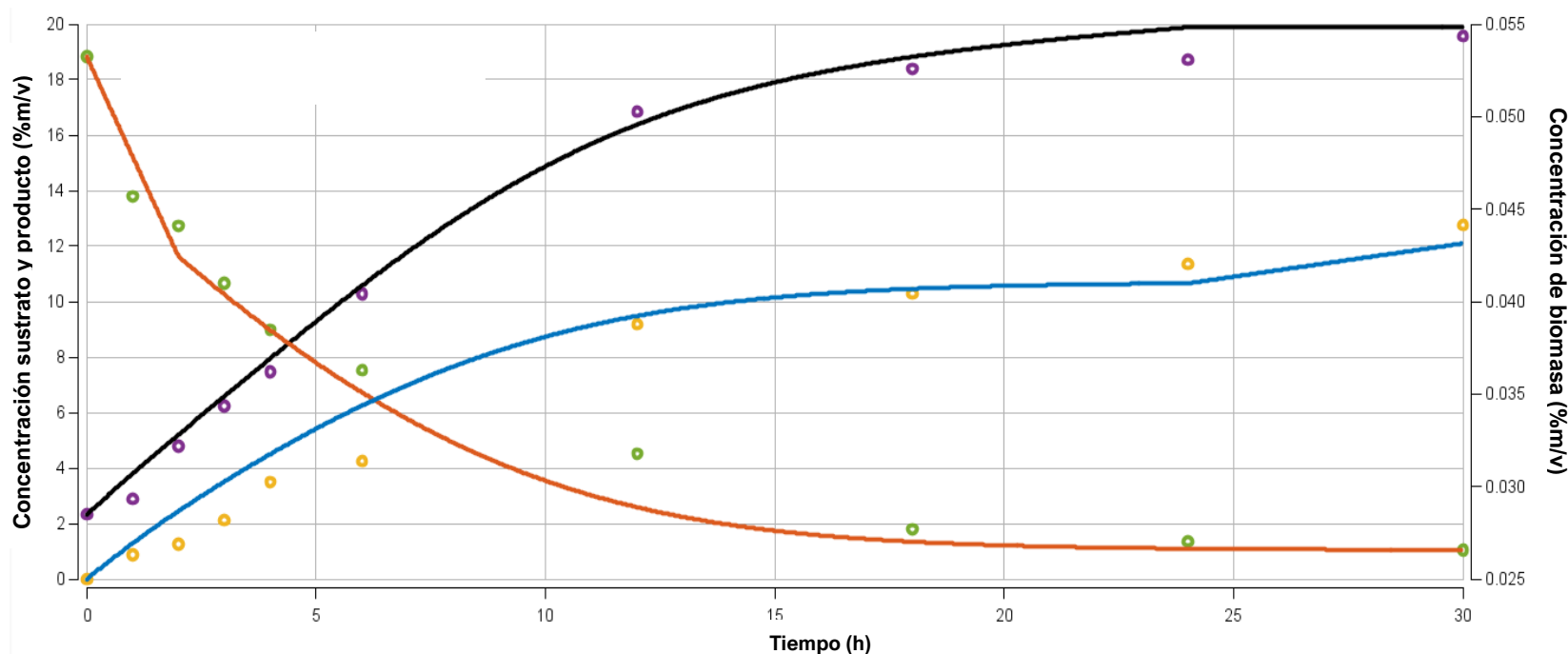
En el cuadro anterior se muestran los parámetros cinéticos del modelo propuesto para la generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto para el proceso de fermentación con los distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura SA-1. Los valores se obtuvieron utilizando el simulador Berkeley Madonna.

Figura 18. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* con cepa de levadura común



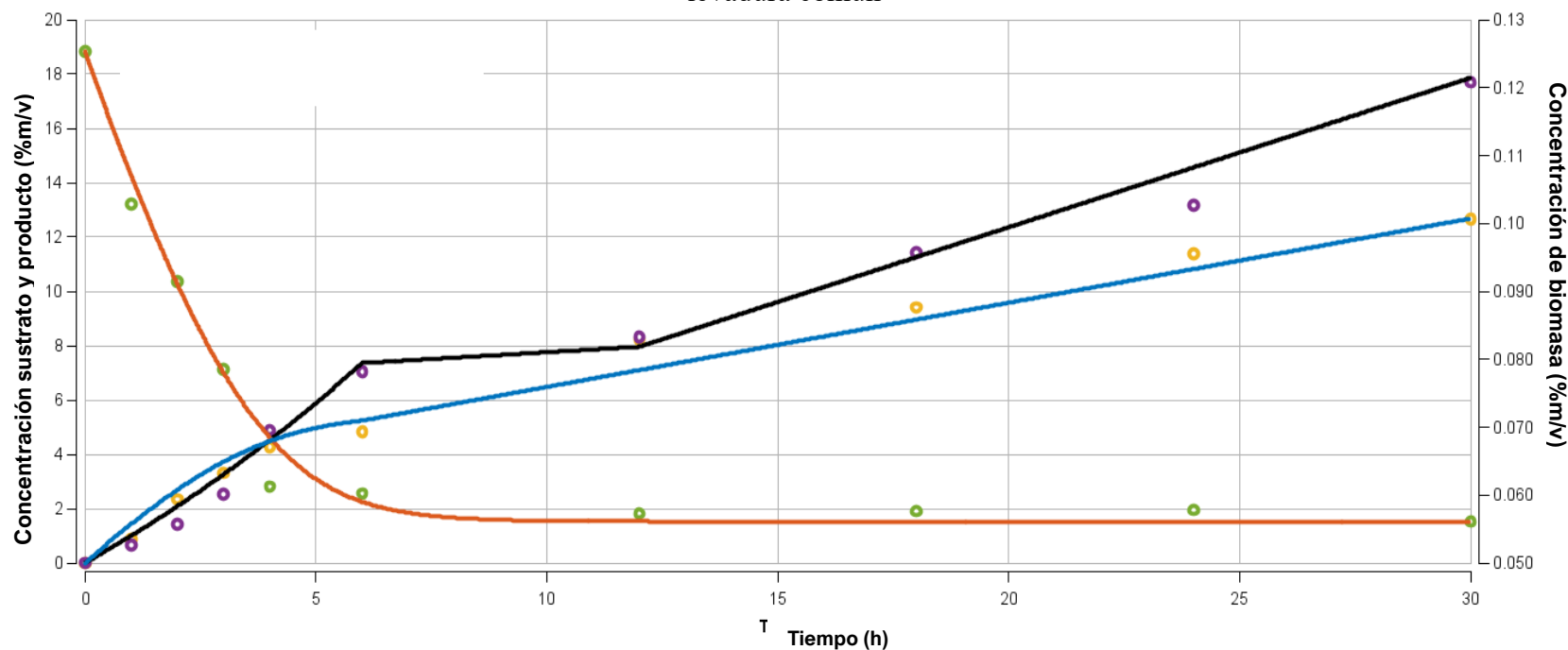
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 1%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 5, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 15. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.991 para la biomasa, 0.985 para sustrato y 0.985 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.815 para sustrato, 0.257 para producto y $9.47E-7$ para biomasa.

Figura 19. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* con cepa de levadura común



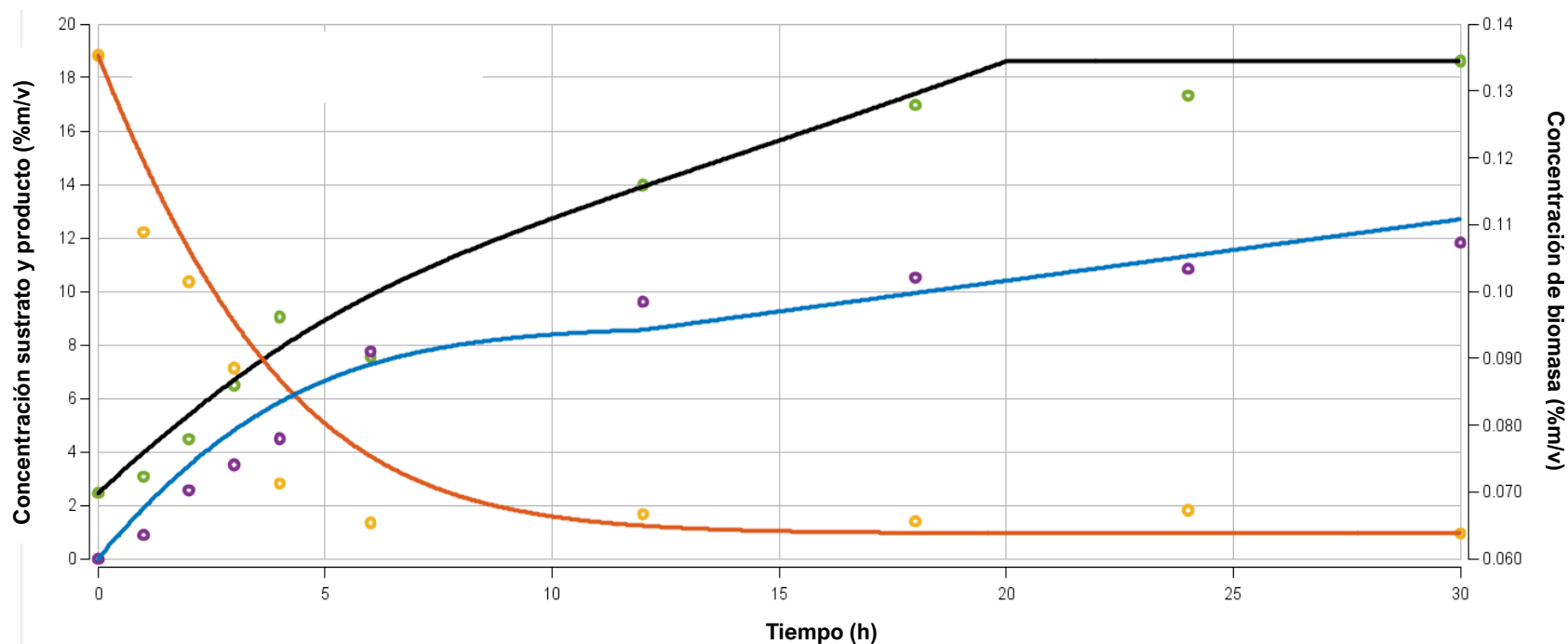
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 3%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 6, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 15. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.996 para la biomasa, 0.982 para sustrato y 0.971 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.752 para sustrato, 1.085 para producto y 7.107E-7 para biomasa.

Figura 20. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura común



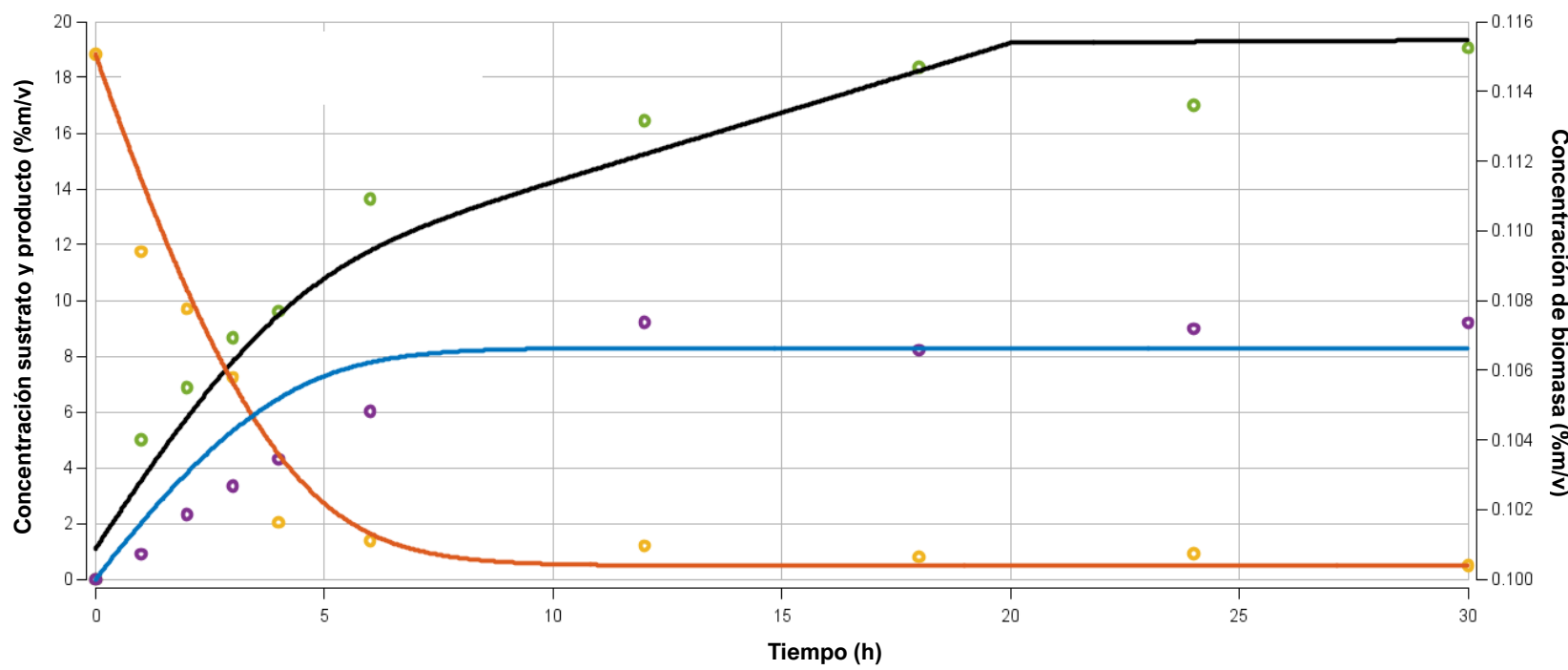
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 5%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 7, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 15. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.991 para la biomasa, 0.987 para sustrato y 0.989 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.453 para sustrato, 0.251 para producto y 4.99E-6 para biomasa.

Figura 21. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* con cepa de levadura común



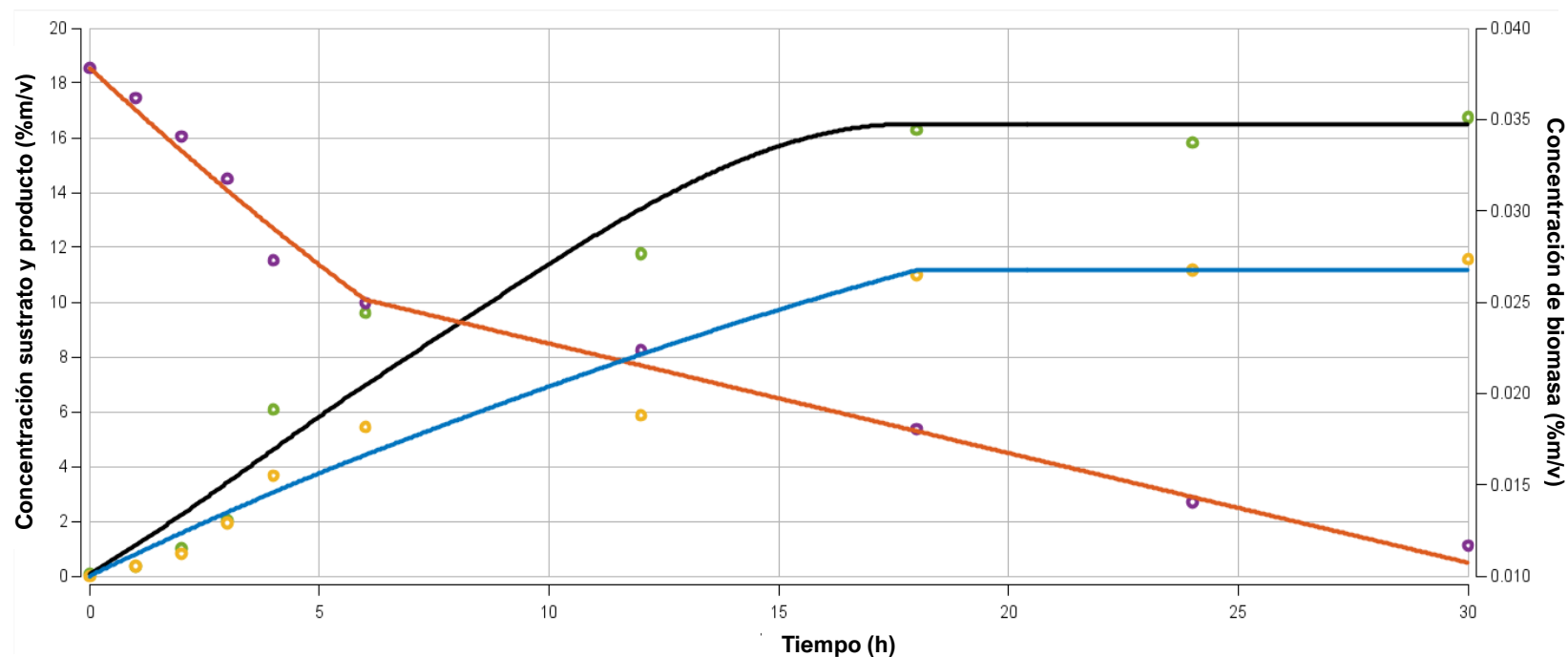
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 7%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 8, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 15. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.975 para la biomasa, 0.979 para sustrato y 0.937 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.851 para sustrato, 1.674 para producto y 1.64E-7 para biomasa.

Figura 22. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* con cepa de levadura común



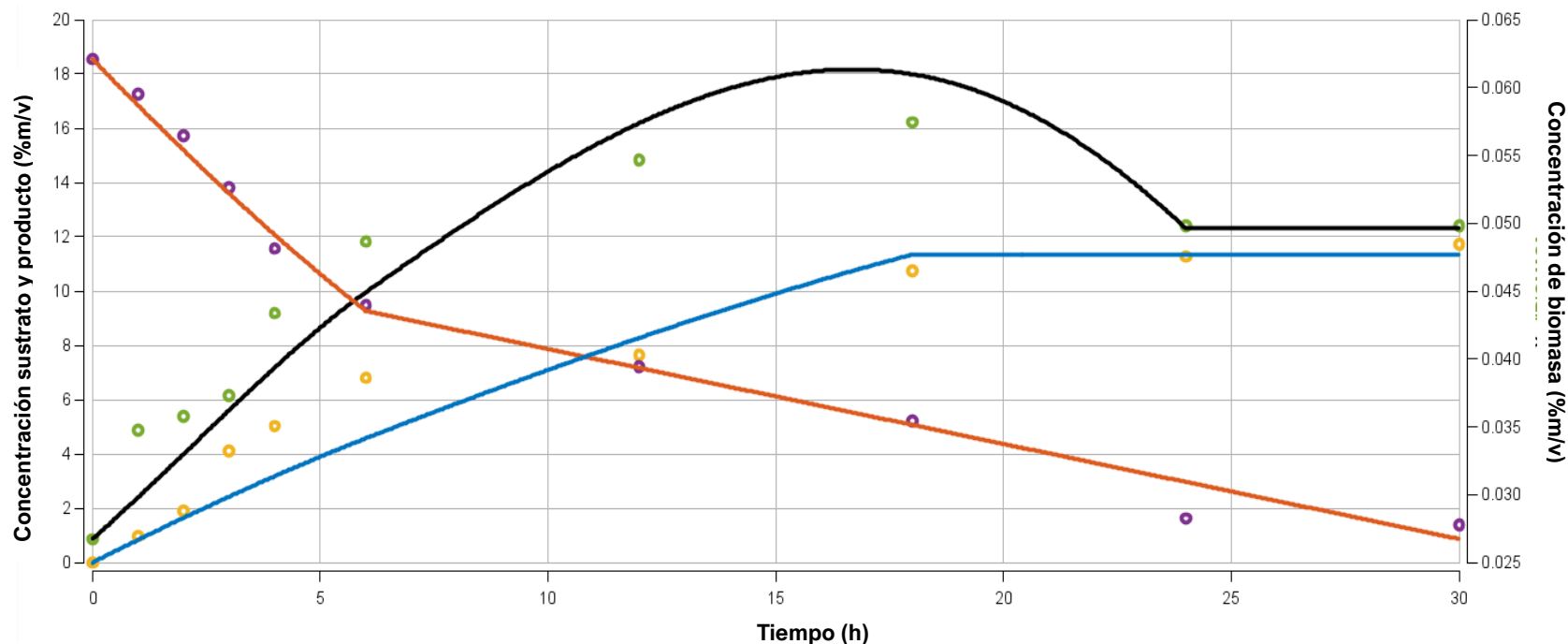
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 10%*m/v* utilizando la cepa de levadura común. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 9, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 15. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.948 para la biomasa, 0.975 para sustrato y 0.849 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 1.065 para sustrato, 2.298 para producto y 1.58E-7 para biomasa.

Figura 23. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* con cepa de levadura SA-1



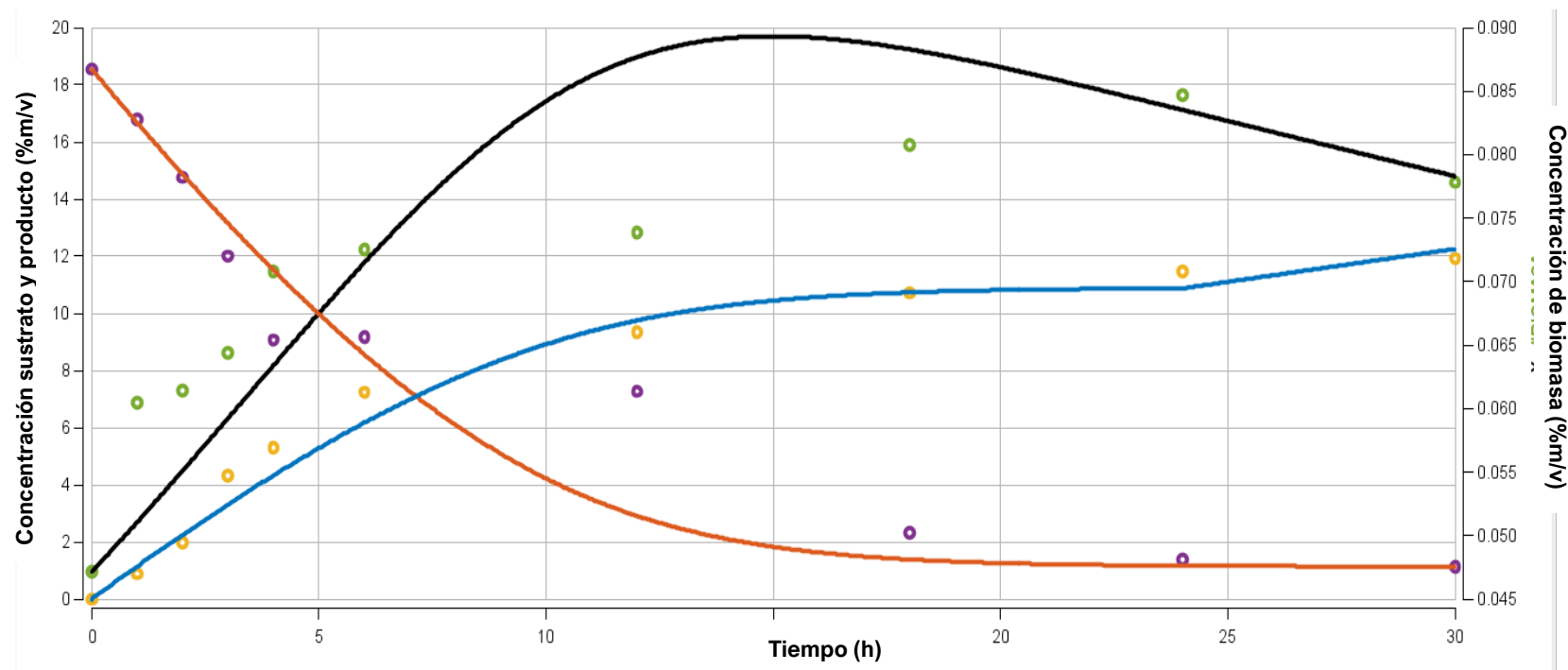
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 1%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Los círculos verde, morado y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 10, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 16. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.942 para la biomasa, 0.994 para sustrato y 0.960 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 8.149 para sustrato, 0.711 para producto y 6.12E-6 para biomasa.

Figura 24. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 3%*m/v* con cepa de levadura SA-1



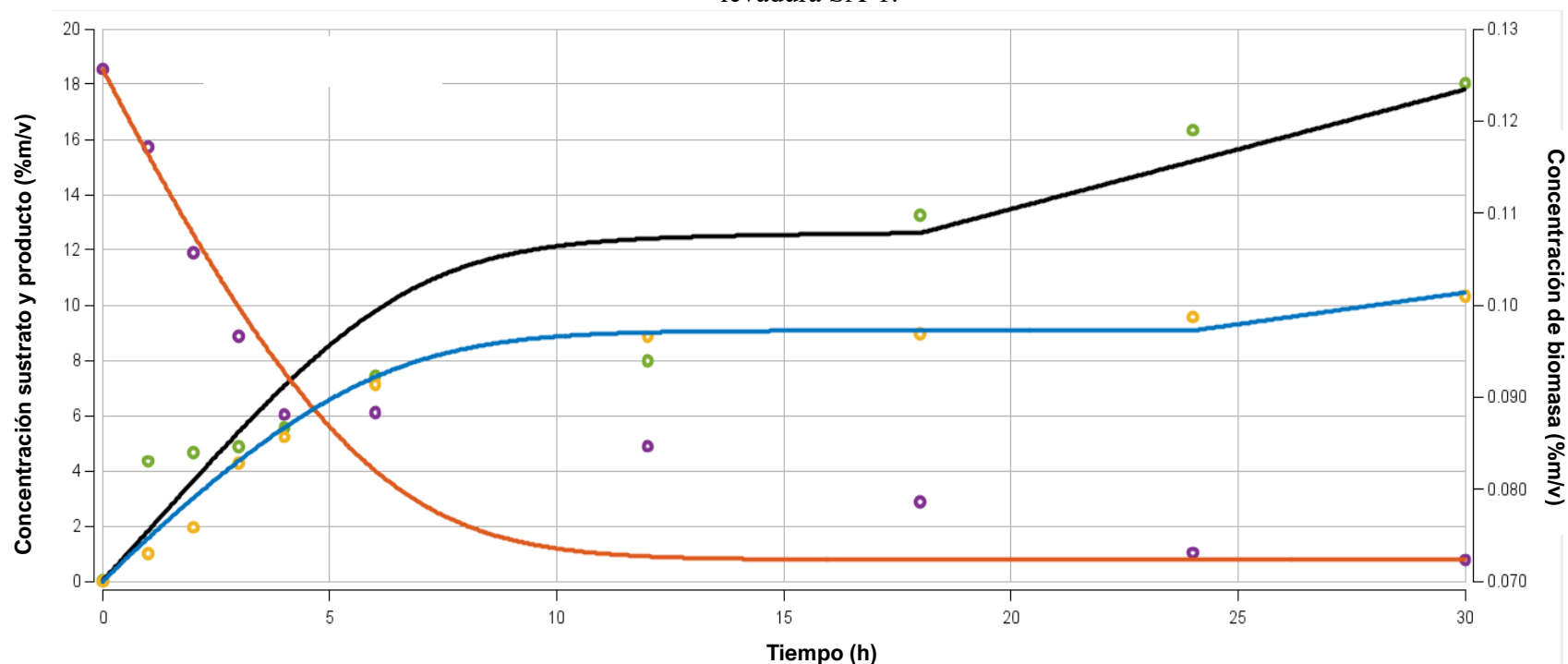
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 3%*m/v* utilizando la Cepa de levadura SA-1. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 11, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 16. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.798 para la biomasa, 0.993 para sustrato y 0.889 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.815 para sustrato, 0.257 para producto y 1.2 para biomasa.

Figura 25. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 5%*m/v* con cepa de levadura SA-1



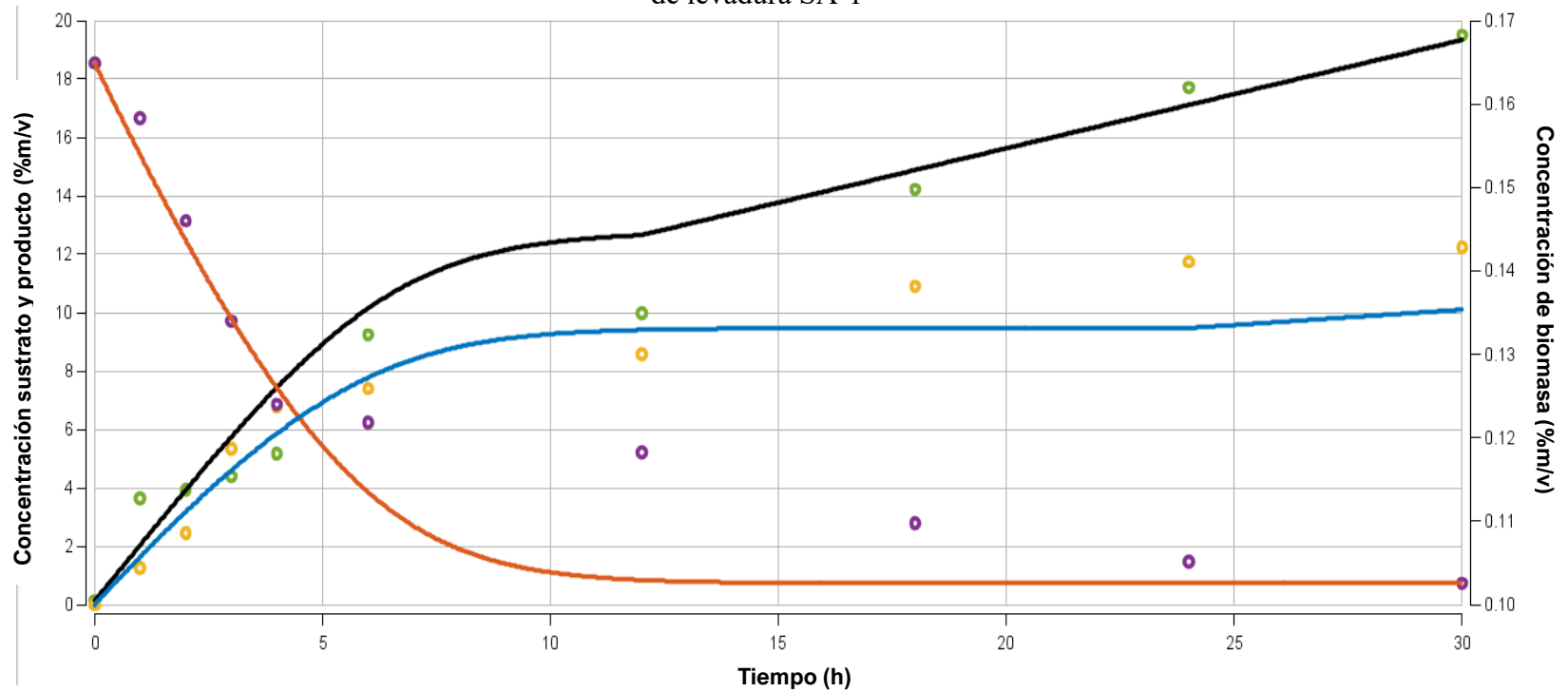
En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 5%*m/v* utilizando la Cepa de levadura SA-1. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 12, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 16. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.853 para la biomasa, 0.955 para sustrato y 0.986 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 2.28 para sustrato, 0.99 para producto y 2.09 para biomasa.

Figura 26. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 7%*m/v* con cepa de levadura SA-1.



En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 7%*m/v* utilizando la Cepa de levadura SA-1. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 13, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 16. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.892 para la biomasa, 0.954 para sustrato y 0.991 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 1.695 para sustrato, 0.131 para producto y 1.85 para biomasa.

Figura 27. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales obtenidos para un tamaño de inóculo del 10%*m/v* con cepa de levadura SA-1



En la figura anterior se presenta el ajuste de los datos experimentales obtenidos de la fermentación con un inóculo inicial del 10%*m/v* utilizando la cepa de levadura SA-1. Los círculos morado, verde y amarillo representan los datos experimentales de biomasa, el sustrato y el producto, respectivamente. Las curvas negras, naranjas y azules muestran los resultados del modelo cinético basado en las ecuaciones propuestas en el Cuadro 13, cuyos parámetros se detallan en el Cuadro 16. Cada color está asociado con la biomasa, el sustrato y el producto, en ese orden. El ajuste del modelo se evaluó estadísticamente mediante el coeficiente de determinación, obteniendo valores específicos de 0.867 para la biomasa, 0.948 para sustrato y 0.968 para producto. También se evaluó el error medio cuadrático, obteniendo valores de 0.829 para sustrato, 1.338 para producto y 1.98 para biomasa.

Cuadro 18. Comparación de rendimientos globales y productividades con distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura común

Tamaño de inóculo (%m/v)	Rendimiento de biomasa por sustrato (Y_{xs}) (g/g)	Rendimiento de producto por sustrato (Y_{ps}) (g/g)	Productividad (%m/v h⁻¹)
1	0.00136	0.578	1.261
3	0.00145	0.579	1.330
5	0.00409	0.732	1.503
7	0.00361	0.661	2.224
10	0.000831	0.501	2.111

En el cuadro anterior se muestran los rendimientos globales del proceso de fermentación con los distintos tamaños de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común. Los resultados se obtuvieron a partir de los datos de cambio de concentración final e inicial de sustrato, biomasa y etanol generado durante el proceso de fermentación.

Cuadro 19. Comparación de rendimientos globales y productividades con distintos tamaños de inóculo inicial con cepa de levadura SA-1

Tamaño de inóculo (%m/v)	Rendimiento de biomasa por sustrato (Y_{xs}) (g/g)	Rendimiento de producto por sustrato (Y_{ps}) (g/g)	Productividad (%m/v h⁻¹)
1	0.00143	0.663	0.816
3	0.00135	0.682	0.960
5	0.00176	0.685	1.115
7	0.00304	0.581	1.149
10	0.00380	0.686	1.212

En el cuadro anterior se muestran los rendimientos globales del proceso de fermentación con los distintos tamaños de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura SA-1. Los resultados se obtuvieron a partir de los datos de cambio de concentración final e inicial de sustrato, biomasa y etanol generado durante el proceso de fermentación.

Cuadro 20. Análisis de Varianza (ANOVA) de rendimientos y productividad

Rendimiento	Variación por replicas			Variación por tratamiento (tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura)		
	F	P-valor	Valor crítico F	F	P-valor	Valor crítico F
Rendimiento de etanol por biomasa (Y_{xp})	4.789E-6	1	3.056	44.889	4.66E-7	3.682
Rendimiento de biomasa por sustrato (Y_{xs})	1.347E-5	1	3.056	44.805	4.71E-7	3.682
Rendimiento de producto por sustrato (Y_{ps})	0.00596	0.999	3.056	15.185	0.000248	3.682
Productividad	---	---	---	0.164	0.994	3.179
Tiempo de obtención de la mayor concentración de etanol	---	---	---	0.993	0.479	2.46

En el cuadro anterior se muestra el análisis de varianza ANOVA para los rendimientos y productividad utilizando los datos de las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo inicial por cada cepa de levadura. Los valores se analizaron mediante análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo en Microsoft Excel, para determinar la variación entre los datos obtenidos por corrida y por combinación de tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura. Para la productividad se utilizó el análisis de varianza de dos factores con una muestra, debido a que estos datos se obtuvieron a partir de los modelos cinéticos realizados con el promedio de las dos corridas para cada tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo general del presente trabajo de graduación fue evaluar el efecto de distintos tamaños de inóculo inicial, de dos diferentes cepas de levadura, en el rendimiento y productividad del proceso de fermentación de un medio a base de melaza de caña de azúcar, para la producción de bioetanol.

Dentro del diseño experimental se llevó a cabo dos repeticiones del proceso de fermentación para cada cepa de levadura, considerando cada tamaño de inóculo inicial establecido en el estudio. Se tomaron 10 muestras por cada tamaño de inóculo en ambas corridas, para un total de 50 muestras por cada proceso de fermentación para cada una de cepas. Las muestras fueron analizadas por cromatografía de alta afinidad (HPLC) para determinar la concentración de azúcares y etanol; en cuanto a la biomasa se realizó por el método de peso seco. Cabe destacar que se realizaron dos repeticiones para obtener mayor conjunto de datos para estimar el error experimental y evitar conclusiones erróneas por variaciones aleatorias. Es relevante señalar que no se llevó a cabo una tercera corrida experimental debido a la limitación de recursos disponibles, en particular, a la cantidad de muestras que podían ser enviadas para análisis mediante HPLC. La disponibilidad de reactivos y el costo asociado al procesamiento de un mayor número de muestras.

Con este propósito, inicialmente se formuló un medio de fermentación utilizando melaza de caña de azúcar que permitiese el crecimiento de ambas cepas de levadura para la producción de etanol. Se seleccionó melaza como el componente principal del medio de fermentación, debido a su disponibilidad local, siendo un subproducto comúnmente generado en los ingenios azucareros de Guatemala. Además, la melaza cuenta con un alto contenido de azúcares fermentables, principalmente sacarosa, glucosa y fructosa, lo que la convierte en un sustrato adecuado para la producción de etanol mediante fermentación microbiana (Jamir, *et al.*, 2021).

El proceso de fermentación para cada tamaño de inóculo, con cada una de las levaduras se llevó a cabo en un total de 1500mL de medio de fermentación, los cuales fueron divididos en diez frascos Erlenmeyer de 250mL de capacidad, colocando 150mL del medio de fermentación en cada frasco. Antes de la distribución, el medio de cultivo se preparó en conjunto diluyendo la melaza para obtener una concentración inicial aproximada de 20%*m/v* de azúcares fermentables en el medio. De igual manera, el inóculo se preparó pesando la cantidad de levadura necesaria y activando de manera adecuada. Posteriormente se distribuyeron 50mL del inóculo en cada frasco, para garantizar el tamaño de inóculo deseado (1, 3, 5, 7 o 10%*m/v*). Esto se realizó de esta manera para garantizar condiciones uniformes en cada frasco de fermentación y minimizar la variabilidad entre ellos. Además,

al trabajar con volúmenes más pequeños, se garantizó una mejor distribución de las células dentro de cada frasco, lo que permitió que el muestreo de la biomasa fuera más representativo. Finalmente, el uso de frascos separados también permitió probar diferentes tamaños de inóculo inicial de manera simultánea con un mismo medio de fermentación.

También es importante mencionar que se estudiaron 5 variaciones de tamaño de inóculo inicial, esto para evaluar de manera más detallada el efecto de la concentración inicial de levadura en la cinética de fermentación. Se incluyeron valores por debajo (1% y 3%) y por encima (7% y 10%) del rango comúnmente reportado en la literatura (5-10% v/v) (Permatasari, *et al.*, 2023). Esto con el objetivo de analizar si concentraciones menores o mayores influían significativamente en el rendimiento y productividad del proceso de fermentación para la producción de etanol.

Los frascos fueron sellados adecuadamente para minimizar la entrada de oxígeno al medio de fermentación y a la vez permitir la salida de CO₂, el proceso se llevó a cabo a una temperatura controlada de 34 °C, considerada como la temperatura adecuada según la literatura para el crecimiento y producción de etanol de las levaduras *S. cerevisiae*. Para garantizar una distribución homogénea de la levadura y los nutrientes en el medio, se estableció una agitación constante de 250 rpm. Esto para favorecer la transferencia de masa y mejorar el contacto entre la levadura y los azúcares presentes en el medio (Suárez, *et al.*, 2016).

Otro aspecto importante que destacar es la comparación entre la cepa de levadura común y la cepa SA-1, ambas comerciales y disponibles en Guatemala. Aunque estas cepas están formuladas principalmente para procesos de panificación, también pueden ser efectivas para la fermentación de azúcares con el fin de producir etanol, ya que *Saccharomyces cerevisiae* es la cepa que generalmente emplean estas marcas, reconocida por su alta eficiencia en la conversión de azúcares en etanol (Suárez *et al.*, 2016). Además, el uso de recursos locales representa una oportunidad de investigación sobre la viabilidad de implementar materiales disponibles en la región en otros procesos industriales, como la producción de bioetanol.

Aunque las marcas de levadura utilizadas no revelan el nombre específico de la cepa que utilizan, es posible inferir que se trata de distintas cepas de *S. cerevisiae* debido a las diferencias observadas en la morfología de las células de levadura liofilizada, como se muestra en las figuras de la 43 y 44 sección de anexos, se puede notar que la cepa de levadura común presenta una morfología más gruesa y alargada, con un color beige característico. En contraste, la cepa SA-1 exhibe una morfología más pequeña y delgada, con un color marrón más claro. Un estudio realizado por Basso, *et al.*, en 2008, comparó diversas cepas comerciales de levadura, identificando que la cepa SA-1 corresponde al código utilizado por la marca Fleischmann para su levadura instantánea, siendo diferente de las cepas empleadas por otras marcas.

Como se puede observar en el Cuadro 4, la concentración inicial promedio de azúcares totales fue del $18.83 \pm 0.22\%$ m/v para el medio de fermentación utilizado con la cepa de

levadura común y $18.55 \pm 0.38\%$ m/v para la cepa de levadura SA-1. Cabe destacar que, se buscaba alcanzar una concentración inicial de azúcares fermentables del 20%*m/v*. Se eligió esta concentración de azúcares debido a que, según estudios anteriores se ha reportado que una concentración del 15-20%*m/v* de azúcares fermentables han demostrado mejores rendimientos de producción de etanol, siendo la concentración del 20%*m/v* reportada como la que ha brindado los mayores rendimientos de etanol, sin llegar a una concentración de sustrato que inhibiera la actividad fermentativa de las levaduras (Fadel, *et al.*, 2013).

No obstante, durante el proceso experimental, el objetivo era alcanzar una concentración del 20%*m/v* de azúcares en el medio de fermentación. Sin embargo, la concentración real al realizar el análisis por HPLC se obtuvo una reducción en las concentraciones al $18.83 \pm 0.22\%$ m/v y $18.55 \pm 0.17\%$ m/v respectivamente. Esto se dio debido al cambio en el volumen por evaporación de agua al momento de esterilizar el medio de fermentación, lo cual produjo que el volumen de agua fuera menor y por consiguiente la concentración de azúcares fuera mayor en relación al volumen, siendo un parámetro difícil de controlar de manera precisa. Dado que ajustar la concentración de azúcares después de la esterilización habría requerido de añadir agua, esto podría haber introducido más variabilidad entre los frascos, por lo cual se optó por no corregir el desfase y mantener las condiciones. A pesar de esta reducción de la concentración de azúcares, el medio de fermentación fue adecuado para poder evaluar el rendimiento de fermentación de ambas cepas de levadura, proporcionando una cantidad de azúcares fermentables adecuada.

De igual manera como se puede observar en el Cuadro 4, ambos valores de composición promedio de azúcares del medio de fermentación utilizado para ambas cepas de levadura fueron similares entre sí. En cuanto a los azúcares fermentables, para la sacarosa se obtuvo una composición promedio de $8.90 \pm 0.10\%$ m/v para la cepa de levadura común y $8.28 \pm 0.1.64\%$ m/v para la cepa SA-1, para la glucosa $6.36 \pm 0.073\%$ m/v para la cepa de levadura común y $5.61 \pm 1.02\%$ m/v para la cepa SA-1, para la fructosa $3.56 \pm 0.041\%$ m/v y $4.66 \pm 0.50\%$ m/v para la cepa SA-1. A pesar de que la composición de los azúcares totales fueron similares para la fermentación de ambas cepas, las concentraciones de azúcares individuales si presentaron ligeras variaciones entre sí, lo cual se pudo generar por factores inherentes al proceso de preparación y manejo del medio, así como a posibles fluctuaciones durante el análisis analítico.

Es importante considerar que el método utilizado para cuantificar los azúcares, como el HPLC, puede tener pequeñas variaciones en la precisión debido a la preparación de las muestras o la calibración del equipo. Además, debido a que la melaza se mantuvo en almacenamiento y hubo un tiempo de diferencia entre las pruebas de fermentación realizadas, esto pudo generar la hidrólisis de los azúcares fermentables, lo cual también pudo causar el cambio en las concentraciones de los azúcares individuales observado en los resultados. Sin embargo, se considera que el error debido a esto es mínimo (Hibert, *et al.*, 2001).

Para garantizar la disponibilidad adecuada de nitrógeno en el medio de fermentación, se utilizó urea como la fuente de nitrógeno en una concentración del 1% m/v. Sin embargo, dado que la esterilización previa del medio podría conducir a la descomposición de la urea y generar la liberación de amoníaco, lo que resultaría en una pérdida significativa de nitrógeno, se decidió añadir la urea después del proceso de esterilización. En el Cuadro 4, se puede observar la concentración promedio de urea añadido al medio de fermentación utilizado para cada levadura, siendo estos valores de $1.02 \pm 0.041\%$ m/v para el medio con la cepa de levadura común y $1.05 \pm 0.034\%$ m/v para el medio de fermentación de la cepa SA-1, variando según la masa de urea añadida. Sin embargo, es importante señalar que este reactivo no se midió por algún otro método analítico durante el proceso de fermentación, debido a que solo se añadió en una baja concentración para poderlo considerar como un reactivo no limitante en la tasa de producción del etanol durante el proceso de fermentación.

Otro aspecto que se puede observar en el Cuadro 4 son el pH y °Brix promedio de los medios de fermentación utilizados, siendo estos valores de pH de 5.95 ± 0.01 para el medio de fermentación de cepa de levadura común y 5.97 ± 0.17 para la cepa SA-1, estos valores de pH se encuentran dentro del rango de 5-6 indicado como adecuado para el crecimiento de las levaduras *S. cerevisiae*. En cuanto a los °Brix, estos valores fueron de 20.80 ± 0.001 y 20.14 ± 0.001 respectivamente para cada cepa, este parámetro al ser una medida indirecta de la concentración de sólidos presentes en el medio de fermentación, principalmente azúcares pueden compararse con la concentración de azúcares en el medio de fermentación obtenida mediante HPLC. Siendo estos valores cercanos al establecido como la concentración de azúcares buscada al formular el medio de fermentación, pero si varían ligeramente en comparación con los valores obtenidos mediante HPLC.

Esta discrepancia entre los grados Brix y los resultados obtenidos por HPLC indica que los otros sólidos disueltos en la melaza de caña de azúcar si afectaron en la medición de los grados Brix indicando una concentración de azúcares mayor a la real, pero de igual manera cercana al 20% m/v de azúcares establecida como el objetivo de la concentración de azúcares del medio de fermentación. Por lo tanto, el método analítico de HPLC al ser más preciso y al permitir distinguir los azúcares de otros sólidos presentes en la melaza, permitió obtener una evaluación más exacta de la concentración de azúcares iniciales del medio de fermentación (Pistón, *et al.*, 2017).

Como segundo objetivo, se estableció cuantificar las concentraciones de azúcares fermentables, biomasa y etanol en función del tiempo de fermentación. El tiempo de fermentación se estableció de 30h, tomando muestras cada hora durante las primeras 6h y luego cada 6 horas hasta el total de las 30h. Cabe señalar que se estableció este tiempo de fermentación, dado a que en estudios anteriores indican que, un proceso de fermentación puede variar entre 24 y 48 horas (Fadel, *et al.*, 2013). Además, se tomó como referencia el proceso de fermentación del ingenio azucarero que suministró la melaza de caña de azúcar, quienes indicaron que su proceso de fermentación es de 30 horas. Cabe destacar que se decidió realizar muestreos cada hora al inicio del proceso para obtener datos sobre cambios

notorios que ocurren en esta etapa y comprender mejor la adaptación y dinámica de las levaduras en el medio de fermentación.

En las figuras de la 8 a la 12 se puede observar las curvas de cambio de concentración de biomasa, etanol y azúcares fermentables en función del tiempo de fermentación para la cepa de levadura común, a distintos tamaños de inóculo inicial. Se pudo observar un comportamiento similar en cada una de las curvas. En cuanto al cambio de concentración de azúcares en el tiempo de fermentación, se pudo distinguir una disminución rápida de la concentración durante las primeras horas de fermentación, variando el tiempo al cual se llegó a una concentración estable a medida que aumentaba el tamaño de inóculo inicial, siendo este tiempo de 18h para el tamaño de inóculo del 1%*m/v*, 12h para 3%*m/v*, 6h para 5%, 7% y 10%*m/v*. Estos resultados indican que, al comienzo de la fermentación, las células de levadura posiblemente se encontraban en una fase de crecimiento exponencial, donde su actividad metabólica era más alta, por lo tanto, la mayor disponibilidad de azúcares simples de fácil acceso al inicio de la fermentación pudo generar que las células de levadura tuvieran una fuente de energía inmediata, por lo que priorizaron el consumo de azúcares (Wardani, *et al.*, 2023).

La diferencia en el tiempo de estabilización de consumo de azúcares observada con los distintos tamaños de inóculo inicial, indica que a medida que se incrementó el tamaño de inóculo inicial, lo cual resultó en una mayor cantidad de células de levadura, aumento en la capacidad de consumir los azúcares presentes en el medio de fermentación de melaza. Sin embargo, para los tamaños de inóculo inicial de 5%, 7% y 10% *m/v*, el hecho de que el consumo de azúcares se estabilizara en un tiempo similar sugiere que, a partir de un inóculo inicial del 5% *m/v*, no se producen cambios tan perceptibles en términos del tiempo de estabilización del consumo de azúcares.

Esto también indica que posiblemente a partir de un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v* o mayores, la densidad celular de levaduras presentes en el medio de fermentación podría haber generado un aumento de la actividad metabólica, aumentando la capacidad de las levaduras para metabolizar los azúcares disponibles y agotando los nutrientes de manera más rápida debido a la competencia de nutrientes por mayor cantidad de células de levadura presentes en el medio. Llegando a concentraciones finales de azúcares fermentables del 0.946%*m/v*, 1.042%*m/v*, 1.528%*m/v*, 0.943%*m/v* y 0.484%*m/v* respectivamente para cada tamaño de inóculo inicial, siendo valores que no muestran una tendencia con respecto al tamaño de inóculo inicial, lo cual sugiere el consumo de azúcares no se ve únicamente influenciado por el tamaño de inóculo inicial, si no también se puede ver influenciado por otros factores, como la acumulación de etanol que actúa como inhibidor afectando el consumo de azúcares (Wardani, *et al.*, 2023).

De igual manera en las figuras 8 a la 12, se puede observar las curvas de cambio de concentración de biomasa con respecto al tiempo de fermentación, para la cepa de levadura común. En todas las curvas con distintos tamaños de inóculo inicial, se observa que la concentración de biomasa aumenta de manera más lenta durante las primeras 6 horas de fermentación, en comparación con el crecimiento observado en las horas posteriores. Esto

es consistente con estudios previos sobre procesos de fermentación, que indican que, al introducir las células de levadura en un medio de fermentación, estas entran en una breve fase de latencia en la que son bioquímicamente activas, pero su ciclo de división es más lento, lo que resulta en una generación de biomasa reducida. Esta fase de latencia se vuelve menos evidente a medida que aumenta el tamaño del inóculo inicial, debido al mayor número de células de levadura presentes en el medio de fermentación, que probablemente generó una mayor actividad metabólica de las células de levadura (Ginovart, *et al.*, 2011).

Otro aspecto que se puede observar en las curvas de cambio de concentración de biomasa es la diferencia en el tiempo de estabilización. Para el tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*, la concentración de biomasa se estabilizó a partir de las 12h; a diferencia para un tamaño de inóculo inicial del 3%, 7% y 10% *m/v* se observó que la biomasa se estabilizó a partir de las 18h. No obstante, para el tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v* no se observó una estabilización de la concentración de biomasa en las 30h de fermentación, dado que continuó presentando un aumento en la concentración de biomasa.

El hecho de que el tamaño de inóculo inicial más pequeño, que fue del 1%*m/v*, alcanzará una estabilización de concentración de biomasa más rápido, a comparación de los tamaños de inóculo inicial de 3%, 7% y 10%*m/v*, sugiere que la concentración inicial de células de levadura sí tuvo un impacto en la dinámica de crecimiento celular y la velocidad en la cual se alcanzó la fase de crecimiento estacionaria. Alcanzando concentraciones finales de biomasa a las 30h de fermentación del 0.0346g/mL para inóculo del 1%*m/v*, 0.0584g/mL para 3%*m/v*, 0.121g/mL para 5%*m/v*, 0.134g/mL para 7%*m/v* y 0.115g/mL para 10%*m/v*, presentando un aumento a medida que aumentó el tamaño del inóculo inicial, lo cual concuerda con lo esperado, dado a que un mayor tamaño de inóculo inicial aumentó la cantidad de microorganismos capaces de producir biomasa. Sin embargo, la disminución observada para el 10%*m/v* puede indicar una inhibición del crecimiento ligeramente más rápido (Ginovart, *et al.*, 2011).

Sin embargo, el comportamiento del inóculo del 5% *m/v*, que no mostró una fase clara de estabilización en las 30 horas, podría indicar que el inóculo del 5%*m/v* requiere un tiempo adicional para alcanzar un equilibrio en el uso de los nutrientes disponibles. Sin embargo, dado a que para este mismo tamaño de inóculo inicial sí se obtuvo una estabilización de la concentración de sustrato a las 18h, el comportamiento obtenido para la biomasa fue inusual, debido a que se esperaba que, al detenerse el consumo de sustrato, la generación de biomasa también se viera interrumpida. Esto se debe a que la producción de biomasa depende directamente de la disponibilidad de nutrientes, y una vez agotado el sustrato, los microorganismos pierden la fuente de carbono y energía necesaria para su crecimiento y replicación. Por lo tanto, el comportamiento obtenido podría deberse a posibles cambios en el metabolismo de levadura a este tamaño de inóculo inicial, ralentizando la generación de biomasa aun cuando el sustrato presentó una estabilización (López, *et al.*, 2011).

Del mismo modo, en las figuras 8 a la 12, se observa las curvas de concentración de etanol con respecto al tiempo de fermentación para cada tamaño de inóculo, para la cepa

de levadura común. Se pudo observar que, la concentración de etanol obtenida a las 30h de fermentación para cada tamaño de inóculo inicial si presentó variaciones. Siendo estos valores de 10.33%*m/v* para un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*, 12.75%*m/v* para el inóculo 3%*m/v*, 12.66%*m/v* para el inóculo 5%*m/v*, 11.82%*m/v* para el inóculo 7%*m/v* y 9.19%*m/v* para el tamaño de inóculo del 10%*m/v*.

Esta diferencia obtenida en la concentración de etanol para cada tamaño de inóculo inicial indica que, para un tamaño de inóculo inicial más grande (10%*m/v*) se obtuvo la menor concentración de etanol generado, seguido por un tamaño de inóculo inicial más pequeño (1%*m/v*); a diferencia para tamaños de inóculo inicial del 3%, 5% y 7% la variación en la concentración de etanol obtenida fue menor y fue la mayor concentración de etanol generada a las 30h de fermentación. Este comportamiento podría sugerir que un tamaño de inóculo inicial pequeño (1%*m/v*) pudo no proporcionar suficientes células activas para maximizar la generación de etanol, mientras que un tamaño de inóculo inicial más grande (10%*m/v*) pudo conllevar a una competencia excesiva por los nutrientes o a un mayor estrés metabólico en las células debido a la alta densidad celular, lo que pudo generar una menor eficiencia en la producción de etanol y por consiguiente disminuyendo la concentración de etanol generada durante el proceso de fermentación.

Comparando la concentración de etanol alcanzada a las 30h de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial con valores teóricos, según estudios anteriores, la concentración de etanol utilizando melaza de caña de azúcar a una concentración del 15%*m/v* de azúcares fermentables puede llegar a valores típicos entre 8-10%*m/v* de etanol. Sin embargo, al aumentar la concentración de azúcares al 20%*m/v* y manteniendo las condiciones de fermentación favorables para el crecimiento de la levadura *S. cerevisiae*, el contenido de etanol puede aumentar de un 3.5-5%*m/v*. Esto sugiere que las condiciones experimentales fueron adecuadas para la producción de etanol, la concentración de azúcares fermentables disponibles permitió que la levadura metabolizara eficientemente, generando etanol en concentraciones cercanas a las esperadas (Raharja, et al., 2019).

Al comparar las curvas de concentración de biomasa y etanol en el tiempo de fermentación, para todos los tamaños de inóculo inicial para esta cepa de levadura común, se pudo observar un comportamiento asociado; es decir a medida que aumentaba la concentración de biomasa también aumentaba la concentración de etanol, llegando al mismo tiempo a una estabilización. Se puede inferir que este comportamiento se dio debido a la ruta metabólica de las levaduras, dado a que se ha establecido según estudios anteriores que su crecimiento y generación de producto van de la mano, cuando la levadura crece, fermenta los azúcares para generar energía y a su vez genera subproductos como el etanol y dióxido de carbono. Se mantiene esta relación hasta que el crecimiento de las levaduras se detiene debido a la acumulación del etanol, lo que detiene el crecimiento de las levaduras dado a que la generación de producto es asociada a su metabolismo (Castañeda, 2019).

En las figuras de la 10 a la 14 se pueden observar las curvas de concentración de azúcares, biomasa y etanol en función del tiempo de fermentación para los distintos tamaños de inóculo inicial para la cepa de levadura SA-1. Se observó la misma

tendencia de disminución de la concentración de los azúcares y aumento de la concentración de biomasa y etanol que se observó con la cepa de levadura común. A diferencia, se pudo observar que para esta cepa el cambio de concentración de azúcares durante las primeras 6h de fermentación fue menos abrupto a comparación de la cepa de levadura común, este resultado podría indicar que esta cepa de levadura le costó más tiempo adaptarse a las condiciones del medio de fermentación, que su tiempo de activación fue más lento a comparación de la cepa de levadura común o incluso que tiene una mayor dificultad en convertir los azúcares presentes en la melaza en etanol. Llegando a concentraciones finales de azúcares fermentables del 1.149g/mL para inóculo inicial del 1%*m/v*, 1.379g/mL para 3%*m/v*, 1.136g/mL para 5%*m/v*, 0.772g/mL para 7%*m/v* y 0.727g/mL para 10%*m/v*.

De igual manera en las figuras de la 10 a la 14, se puede observar que la biomasa fue aumentando de manera más lenta durante las primeras 6h de fermentación presentando el mismo comportamiento de generación de biomasa asociado a la generación de etanol, siendo el mismo comportamiento observado para la cepa de levadura común. A diferencia para esta cepa de levadura, tanto la concentración de biomasa y etanol se estabilizó en tiempos no tan distintos para los diferentes tamaños de inóculo inicial, siendo estos tiempos de 18h para los tamaños de inóculo inicial de 1%, 3% 5% y 10%*m/v*, y para un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v* fue a las 12h.

Esto indica que para esta cepa de levadura, la concentración inicial de células de levadura no influyó notablemente en la dinámica de crecimiento, por lo tanto, se puede inferir que el metabolismo de esta cepa de levadura tiene una capacidad de regulación metabólica que le permite mantener un consumo de azúcares, producción de biomasa y etanol relativamente constante sin depender de la cantidad inicial de células. Llegando a concentraciones finales de biomasa del 0.035g/mL para un inóculo inicial del 1%*m/v*, 0.0498g/mL para 3%*m/v*, 0.0778g/mL para 5%*m/v*, 0.124g/mL para 7%*m/v* y 0.168g/mL para 10%*m/v*, mostrando un comportamiento de aumento de la concentración de biomasa generada al final del proceso de fermentación con el aumento del tamaño de inóculo inicial, esto debido a al aumento de la cantidad de células presentes en la fermentación que tuvieron la capacidad de crecer y generar mayor cantidad de biomasa (Ginovart, *et al.*, 2011).

Otro aspecto que se puede comparar es la concentración de etanol alcanzado a las 30h de fermentación para la cepa SA-1 según los diferentes tamaños de inóculo inicial estudiados, las cuales fueron de 11.57%*m/v* para un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*, 11.75%*m/v* para inóculo inicial del 3%*m/v*, 11.92%*m/v* para un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*, 10.32%*m/v* para inóculo inicial de 7%*m/v* y 12.22%*m/v* para inóculo inicial del 10%*m/v*. En base a estos resultados se puede observar que la concentración de etanol para esta cepa si presentó el comportamiento de aumentar a medida que aumentaba el tamaño de inóculo inicial, a excepción del tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v* para el cual se obtuvo la menor concentración de etanol. No obstante, la concentración de etanol se mantuvo en un rango de 11.57%*m/v* a 12.22%*m/v* siendo una diferencia baja de 0.65%*m/v*, esto indica que la cepa SA-1, un mayor tamaño de inóculo inicial permite generar mayores concentraciones de etanol.

Sin embargo, la concentración de etanol no fue tan distinta a la obtenida con la cepa de levadura común, para la cual la mayor concentración de etanol obtenida fue de 12.66%*m/v*. Lo que sugiere que ambas cepas de levadura tienen una capacidad similar para fermentar los azúcares presentes en el medio de fermentación de melaza. No obstante, la cepa SA-1 permitió mantener una generación de etanol más consistente, sin importar el tamaño de inóculo inicial y tarda más tiempo en llegar a las mismas concentraciones de etanol a comparación con la otra cepa. Esto también podría indicar que la cepa SA-1 podría tener una mayor dificultad para procesar los azúcares.

En un estudio realizado por Contreras et al., 2022, en el que también compararon la cepa de levadura común y SA-1 para la producción de etanol utilizando melaza de caña de azúcar, encontraron que la cepa de levadura común tuvo una mayor producción de etanol en comparación con la cepa SA-1. Es importante destacar, que, en el estudio citado, los valores de etanol reportados fueron después del proceso de destilación, pero mencionan que la diferencia en la producción de etanol entre ambas cepas fue del 5%*m/v*.

Comparando con los resultados obtenidos para este estudio, la diferencia para la producción más alta de etanol obtenida con ambas cepas fue del 0.44%, siendo de igual manera la cepa de levadura común la que mostró la mayor concentración de etanol producido (12.66%*m/v*) a comparación de la cepa SA-1 (12.22%*m/v*). Esta diferencia obtenida con el estudio anterior se pudo haber generado por diferencias en las condiciones de fermentación, como la temperatura en donde para el estudio se mantuvo en 35°C y el tamaño de inóculo inicial del estudio que fue del 5%*m/v* e incluso la calidad de la melaza de caña de azúcar podrían ser factores que generaron esa mayor diferencia entre ambas cepas en el estudio previo y las condiciones experimentales utilizadas en este experimento favorecieron el crecimiento y producción de etanol de mejor manera para ambas cepas de levadura.

En los Cuadros 6 al 10 se pueden observar las ecuaciones de generación de biomasa, consumo de sustrato y generación de producto propuestas para modelar la cinética del proceso de fermentación de la cepa de levadura común y en los cuadros del 11 al 15 para la cepa SA-1, a los distintos tamaños de inóculo inicial (1%, 3%, 5%, 7% y 10%*m/v* respectivamente). Se propusieron distintas ecuaciones para la generación de biomasa, entre ellas se propuso la ecuación de Monod modificada para inhibición por generación de producto para cierto intervalo de tiempo y la ecuación de LuedeKing Pirete para otro intervalo de tiempo que fue variando según el tamaño de inóculo inicial, esto para poder ajustar de mejor manera el modelo matemático a los datos experimentales. El uso de dos modelos cinéticos para ajustar el comportamiento de la concentración de biomasa a lo largo del tiempo de fermentación permitió obtener un enfoque más completo para describir tanto el crecimiento celular como la producción de etanol.

Estudios como el de Garnier & Gaillet en 2015, en el cual se realizó una investigación sobre fermentaciones, han demostrado que una combinación entre modelos cinéticos de Monod y LuedeKing Pirete, para relacionar el crecimiento microbiano y la síntesis de bioproductos, permitió un análisis más completo del proceso fermentativo. Esto debido a

las debilidades del modelo de Monod para poder predecir la complejidad dinámica del sistema fermentativo, dado que al ser sistemas biológicos se ven influenciados por las condiciones de fermentación y el tipo de microorganismo. Además, esto sugiere que el proceso de fermentación para ambas cepas de levadura, en todos los tamaños de inóculo inicial, la producción de biomasa y metabolitos por parte de las células de levadura no fue de manera estrictamente proporcional a lo largo de todo el proceso fermentativo.

De igual manera en los cuadros indicados anteriormente de 6 al 10 para la cepa de levadura común y 11 al 15 para la cepa SA-1, se puede observar que se propuso las ecuaciones del modelo de Monod para describir el cambio de concentración de azúcares durante el proceso de fermentación. Sin embargo, se agregó un ajuste para mejorar la precisión del modelo para describir el consumo de sustrato bajo las condiciones experimentales. Añadir este término adicional distinto para cada cepa y tamaño de inóculo inicial, sugiere que los factores relacionados con el metabolismo de los azúcares y generación de etanol fueron distintos para cada cepa y tamaños de inóculo inicial, esto posiblemente por sus diferencias metabólicas.

Igualmente, en los mismos cuadros mencionados en el párrafo anterior, se puede observar las ecuaciones utilizadas para describir el cambio de concentración de etanol en función del tiempo de fermentación, para lo cual también se utilizaron las ecuaciones del modelo de Monod, para un intervalo de tiempo, de igual manera con ajustes para mejorar la precisión del modelo. A diferencia, para estas ecuaciones, para un intervalo de tiempo se indicó una constante que fue variando según la cepa y el tamaño de inóculo inicial, lo cual indicaba el tiempo en el cual la producción de etanol alcanzó una fase estable o estacionaria, y por lo tanto la concentración de etanol ya no dependía de la concentración de sustrato o crecimiento celular, sino que seguía una velocidad constante. El hecho de que este parámetro constante variará entre 0 y 0.31 con distintos intervalos de tiempo para cada cepa y tamaño de inóculo inicial, sugiere un comportamiento de producción de etanol entre cepas y tamaños de inóculo inicial variable, lo que se puede relacionar con la capacidad de adaptación distinta de las células de cada cepa al medio de cultivo y resistencia al aumento de la concentración de etanol.

Por último, en cuanto a la ecuación propuesta para la velocidad de crecimiento, también se estableció basada en el modelo de Monod ajustando la concentración de sustrato según la concentración final de azúcares obtenida para cada cepa, a cada tamaño de inóculo inicial. Dichos valores obtenidos fueron variados, los cuales comparando con las gráficas de concentración de azúcares en el tiempo, se pudo observar que la relación de concentración final de azúcares con respecto al tamaño de inóculo inicial no siguió un comportamiento lineal, es decir, a medida que aumenta el tamaño de inóculo inicial la concentración final de azúcares no fue menor indicando que se consumió menor cantidad de azúcares, esto solo para inóculos de 1, 3 y 5%*m/v*; a diferencia para tamaños de inóculos iniciales mayores del (7% y 10%*m/v*) el consumo de azúcares fue mayor, siendo el inóculo del 10%*m/v* la que presentó el mayor consumo de azúcares para ambas cepas de levadura.

Este comportamiento sugiere que el aumento del tamaño de inóculo inicial no generó un consumo más eficiente del sustrato posiblemente por competencia de nutrientes o estrés celular y por lo tanto, existe una relación compleja entre el tamaño de inóculo inicial y la cinética de consumo de sustrato (Liu, 2013). Siendo estos valores de concentración final de azúcares de para la cepa de levadura común de 0.946g/mL para inóculo 1%*m/v*, 1.042g/mL para 3%*m/v*, 1.528 g/mL para 5%*m/v*, 0.943 g/mL para 7%*m/v* y 0.484g/mL para 10%*m/v*; para la cepa SA-1 1.1g/mL, 1.38g/mL, 1.14 g/mL, 0.776g/mL y 0.682g/mL respectivamente para cada tamaño de inóculo inicial.

Además del comportamiento observado en las figuras de la 8 a la 17, es importante mencionar que, aunque las gráficas de consumo de sustrato, generación de etanol y biomasa muestran una relación clara entre estos parámetros, dado que la cantidad de sustrato consumida no corresponde al total de biomasa y etanol generado en cada punto de la fermentación analizado a las distintas horas. Este comportamiento observado se pudo deber a que una parte del sustrato es utilizado para el mantenimiento celular de las levaduras, principalmente para producir energía para funciones metabólicas esenciales, respiración celular y bombeo de iones, siendo funciones que no se convierten en biomasa o producto. Además, otra parte del sustrato también pudo ser utilizada por las células de levadura para la generación de subproductos, los cuales posiblemente pudieron formarse como ácidos orgánicos, glicerol, entre otros (Boshagh, *et al.*, 2022; Guerrero, 2013). Cabe destacar que la variabilidad en el método de cuantificación de biomasa, específicamente mediante peso seco, pudo haber introducido incertidumbre experimental, lo que a su vez pudo contribuir a las diferencias observadas en la relación entre biomasa generada y sustrato consumido.

Los parámetros cinéticos obtenidos para cada tamaño de inóculo inicial para la cepa de levadura común se pueden observar en el Cuadro 16 y para la cepa SA-1 se pueden observar en el Cuadro 17. El primer parámetro que se puede observar es la velocidad máxima de crecimiento específica (μ_{max}), en donde para la cepa de levadura común se obtuvo una disminución de la velocidad máxima de crecimiento a medida que aumentaba el tamaño de inóculo inicial siendo la mayor velocidad máxima de crecimiento de 0.56 h⁻¹ para un tamaño de inóculo del 1%*m/v* y la menor obtenida de 0.35 h⁻¹ para 7 y 10%*m/v*. Este comportamiento podría relacionarse con el tiempo de duplicación de las células de levadura, siendo este tiempo menor a medida que aumentó el tamaño de inóculo inicial, posiblemente por la mayor cantidad de células activas presentes; volviéndose indiferente para tamaños de inóculo inicial mayores al 7%*m/v* donde ya no se observó un cambio en este parámetro (Castañeda, 2019).

A diferencia, para la cepa SA-1 no se observó el mismo comportamiento, la menor velocidad máxima de crecimiento fue de 0.241 h⁻¹ para el inóculo del 1%*m/v* y la mayor de 0.359 h⁻¹ para 7%*m/v* y 10%*m/v*, pero para 3% y 5%*m/v* si fue menor en relación al 1%*m/v*, siendo de 0.221 h⁻¹. Esta variación en el comportamiento del parámetro cinético para la cepa de levadura sugiere que su metabolismo puede ser más complejo. A tamaños de inóculo inicial más grandes, la velocidad de crecimiento disminuye hasta cierto punto, pero a partir de un tamaño de inóculo del 5% *m/v*, la velocidad de crecimiento vuelve a aumentar.

Sin embargo, no se observa un incremento significativo en la velocidad de crecimiento entre los inóculos del 7%*m/v* y el 10%*m/v*, lo que podría indicar que la capacidad de crecimiento de la cepa alcanza su límite en esos tamaños de inóculo.

Comparando los valores de velocidad máxima de crecimiento obtenidos para ambas cepas de levadura en todos los tamaños de inóculo inicial, con datos teóricos, se ha establecido que valores típicos para este parámetro cinético pueden variar entre 0.2-0.6 h⁻¹. Siendo valores dentro de los cuales se encuentran los obtenidos de manera experimental en este estudio (Castañeda, 2019).

De igual manera en los cuadros 16 y 17 se pueden observar las constantes de afinidad al sustrato (K_s) obtenidas para cada cepa, a cada tamaño de inóculo inicial, siendo estos valores de 8.08-8.90g/mL; a diferencia para la cepa SA-1 se obtuvieron valores entre 6.92-7.81g/mL. Se obtuvieron valores menores de constante de afinidad para la cepa SA-1, lo cual indica que esta cepa de levadura presentó una mayor afinidad a los azúcares presentes en la melaza de caña de azúcar a comparación de la cepa de levadura común, para la cual se obtuvieron valores de K_s mayores. Sin embargo, al comparar con valores teóricos de estudios previos realizados sobre fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando *S. cerevisiae*, los valores obtenidos son variados, siendo estos de 79g/L, 0.0032g/L, 6.88g/L según distintos estudios realizados por Sulaiman, et al., 2022; Putra & Abasaeed en 2018. Siendo valores distintos a los obtenidos en este estudio. Por lo que es importante destacar que, este parámetro cinético no se pudo comparar directamente con valores teóricos de estudios previos, debido a que este se puede ver influenciado por la composición variable de la melaza de caña de azúcar, así como por las variaciones en las condiciones de fermentación (Castañeda, 2019).

Comparando el parámetro de rendimiento instantáneo de biomasa en relación al sustrato, se puede en el Cuadro 16 que los valores obtenidos para los distintos tamaños de inóculo inicial para la cepa de levadura común fueron variados, siendo el más alto de 0.832g/g para un tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v* y el más bajo de 0.206g/g para los tamaños de inóculo inicial del 7% y 10%*m/v*, lo cual indica que para los dos tamaños de inóculo inicial mayores el 7%*m/v* el rendimiento de biomasa no se ve influenciado por el tamaño de inóculo inicial.

Sin embargo, el mayor rendimiento para el inóculo inicial del 3%*m/v* sugiere que, a este tamaño de inóculo inicial, el consumo del sustrato se utilizó en mayor proporción para la generación de biomasa a comparación de los tamaños de inóculo mayores, donde la mayor densidad de células pudo generar una saturación de las condiciones de cultivo disminuyendo el rendimiento instantáneo de biomasa. Además, el hecho de que el rendimiento fuera mayor en una concentración intermedia de inóculo inicial sugiere que el equilibrio entre la cantidad de células y nutrientes disponibles fue más favorable para la generación de biomasa, mientras que un inóculo demasiado alto pudo haber inducido estrés por exceso de biomasa y productos inhibitorios, en este caso el etanol.

A diferencia para la cepa SA-1, el rendimiento instantáneo de biomasa con relación al sustrato (Y_{XS}), los cuales se pueden observar en el Cuadro 17, el mayor obtenido fue de 0.223 g/g para un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v* posteriormente el rendimiento fue disminuyendo a medida que aumentó el tamaño de inóculo inicial, siendo el menor obtenido de 0.164g/g para 5%, 7% y 10%*m/v*. Este comportamiento distinto para esta cepa sugiere que esta cepa pudo presentar una respuesta metabólica distinta comparada con la cepa de levadura común, disminuyendo el rendimiento de uso del sustrato para la generación de biomasa a mayor densidad celular, posiblemente por una mayor competencia de nutrientes. Esto es coherente con estudios que han demostrado que, en ciertos casos, tamaños de inóculo muy altos pueden llevar a la reducción del rendimiento, ya que el ambiente se vuelve menos favorable para el crecimiento celular debido a la acumulación de productos de desecho y la disminución de nutrientes clave de manera más rápida (Alvarez, *et al.*, 2010).

Según estudios previos realizado por Ghorbani & Youseni en 2013, el rendimiento teórico de biomasa con respecto al sustrato, para la producción de etanol a partir de melaza de caña de azúcar suele estar entre 0.2-0.50 g de biomasa/g de sustrato consumido, siendo valores dentro de los cuales se encuentran los obtenidos para la cepa de levadura común; No obstante, los obtenidos para la cepa SA-1 fueron menores, lo cual se puede deber a que, este parámetro depende de la cepa y las condiciones de fermentación.

El rendimiento instantáneo de producto con relación a la biomasa (Y_{PX}) obtenido para la cepa de levadura común fueron valores cercanos entre sí independientemente del tamaño de inóculo inicial, siendo estos valores entre 0.606g/g a 0.746g/g, siendo el mayor rendimiento obtenido para el tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*. Por lo tanto, el tamaño de inóculo del 7%*m/v* parece haber permitido un equilibrio más efectivo entre el crecimiento celular y la producción de etanol, maximizando el rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al producto, aunque no generó la mayor cantidad de etanol.

El menor rendimiento instantáneo de biomasa en relación al rendimiento instantáneo de sustrato sugiere que, en ese tamaño de inóculo, una mayor proporción del sustrato fue utilizada para la síntesis de producto, en este caso etanol, en lugar de para generar más biomasa. Esto indica que las células priorizaron la producción de etanol sobre su propio crecimiento. A diferencia, para la cepa SA-1 los valores de rendimiento instantáneo de biomasa en relación al producto fueron más dispersos, siendo el mayor obtenido de 0.96g/g para un inóculo inicial de 10%*m/v* y el menor de 0.101 para 3%*m/v*, sin seguir una tendencia con respecto al tamaño de inóculo inicial. Esto indica que para la cepa SA-1 el inóculo del 10%*m/v* permitió maximizar el rendimiento instantáneo de biomasa con relación al producto, y de igual manera que la cepa de levadura común, su menor rendimiento de biomasa con respecto al sustrato sugiere que posiblemente esta cepa, a este tamaño de inóculo inicial también priorizó la generación de producto en lugar de biomasa.

Comparando estos valores obtenidos con experimentos previos realizado por Muñiz, *et al.*, en 2013, el rendimiento instantáneo de biomasa en relación al producto puede variar entre 0.16g/g a 1.5g/g, siendo de igual manera valores dentro de los cuales se encuentran

los obtenidos de manera experimental, indicando que las condiciones experimentales fueron adecuadas y las variaciones se deben a diferencias en las condiciones de fermentación como temperatura y cepas de levadura, así como diferencias en la composición de la melaza.

Dentro de los parámetros cinéticos también se determinó la constante de inhibición por generación de producto (K_p), siendo estos valores variados para ambas cepas. Para la cepa de levadura común, como se puede observar en el Cuadro 16, el menor valor de K_p obtenido fue de 0.024g/g para un inóculo inicial del 1%*m/v* y el mayor valor de 1.596g/g para un tamaño de inóculo del 3%*m/v*, lo que indica que a mayor tamaño de inóculo inicial se inhibido más rápido el crecimiento por la generación del etanol; lo cual no es consistente con lo observado en las gráficas, dado a que el inóculo del 1%*m/v* para ambas cepas, presentó una fase estacionaria en menor tiempo, por lo que este parámetro también se pudo ver influenciado por otros factores de crecimiento celular (Liu, 2013).

A diferencia para la cepa SA-1, los valores de constante de inhibición por generación de producto fueron mayores, siendo estos entre 0.2g/g a 0.464g/g, como se pueden observar en el Cuadro 17, lo que indica que está cepa de levadura presenta una menor tolerancia a la generación de etanol a comparación de la cepa de levadura común. Sin embargo, los valores obtenidos son mayores al rango de 0.05g/g - 0.15g/g indicados en la teoría como valores típicos al cual se genera la inhibición del crecimiento de las levaduras por generación de etanol. Lo que sugiere que posiblemente ambas cepas de levaduras son más sensibles a la generación de etanol, pero es importante considerar que las variaciones también se pueden deber a las diferencias en las condiciones de fermentación y características de la melaza utilizada (Liu, 2013).

Por último, en los cuadros 16 y 17, se puede observar el coeficiente asociado a la producción no asociada al crecimiento (β) y coeficiente asociado a la producción asociada al crecimiento (α) para cada cepa de levadura respectivamente, siendo estos valores muy variados entre cepas y entre tamaños de inóculo inicial. Sin embargo, los valores obtenidos para el coeficiente asociado a la producción asociada al crecimiento (α), para ambas cepas en todos los tamaños de inóculo inicial fueron mayores a cero y los valores del coeficiente asociado a la producción no asociada al crecimiento, cercanos a cero. Indicando que la generación de etanol está principalmente asociada al crecimiento. Un coeficiente asociado a la producción no asociada al crecimiento negativo, obtenido para algunos tamaños de inóculo inicial para ambas cepas de levadura, indica que la producción de etanol está ligada al crecimiento celular, lo cual concuerda con lo observado en las gráficas de comportamiento de concentración de biomasa y etanol en función del tiempo de fermentación (Liu, 2013).

En las figuras de la 15 a la 19 se pueden observar el ajuste del modelo cinético a los datos experimentales para la cepa de levadura común, para cada tamaño de inóculo inicial del 1%, 3%, 5%, 7% y 10%*m/v* respectivamente. Como se puede observar en las gráficas, las ecuaciones propuestas para modelar el cambio de concentración de biomasa, sustrato y etanol en el tiempo de fermentación permitieron un ajuste adecuado para la mayoría de los

datos experimentales, obteniendo coeficientes de determinación (R^2) cercanos a uno que varían entre 0.849 a 0.996, lo que indica una adecuada predicción del modelo matemático establecido a los datos experimentales (Chico, *et al.*, 2021).

Para la cepa SA-1, el ajuste del modelo cinético a los datos experimentales para cada tamaño de inóculo inicial se puede observar en las figuras de la 20 a 24. De igual manera se puede observar que las ecuaciones propuestas para modelar el cambio de concentración de biomasa, sustrato y etanol en el tiempo de fermentación permitieron un ajuste adecuado para la mayoría de los datos experimentales. Sin embargo, se obtuvieron coeficientes de determinación (R^2) más lejanos a 1 para algunos ajustes cinéticos para esta cepa, principalmente para biomasa, siendo estos valores entre 0.85 a 0.89, lo que indica una menor precisión del modelo matemático establecido para todos los tamaños de inóculo inicial para esta cepa. Estas discrepancias obtenidas entre los datos experimentales y el ajuste del modelo sugiere una limitación del modelo matemático para describir ciertos fenómenos complejos, como la fase de adaptación de la levaduras, siendo la fase en donde se observó menor ajuste entre los datos experimentales y el modelo matemático (figuras de la 15 a la 24), principalmente para la cepa SA-1 (Chico, *et al.*, 2021).

Además del coeficiente de determinación, se determinó el error medio cuadrático entre los datos experimentales y los predichos por el modelo cinético, siendo valores variados obtenidos entre cepas y tamaños de inóculo inicial. Sin embargo, se puede observar que los mayores errores obtenidos fueron para la concentración de sustrato para la cepa de levadura común y para la concentración de biomasa para la cepa SA-1. Siendo los valores más altos obtenidos de 0.851 para concentración de sustrato para la cepa de levadura común a un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v* y 2.09 para concentración de biomasa para la cepa SA-1 a un tamaño de inóculo inicial de igual manera del 7%*m/v*.

El error obtenido pudo estar influenciado por varios factores, incluyendo las variaciones en las mediciones experimentales, como las imprecisiones y la variabilidad inherente del proceso experimental. Principalmente por la dificultad de retirar la biomasa de los botes de la centrífuga debido a la alta viscosidad por la melaza de caña de azúcar y posibles imprecisiones del HPLC. Además, el modelo matemático se basa en suposiciones simplificadoras que no reflejan completamente la realidad del sistema estudiado, lo que pudo causar diferencias. Dado que se trata de un sistema biológico, la variabilidad y el ruido en los datos experimentales son inevitables y estas variabilidades no son capturadas por completo por el modelo matemático (Frost, 2022).

En el Cuadro 18, se pueden observar los rendimientos globales de etanol por biomasa, rendimiento de biomasa por sustrato, rendimiento de producto por sustrato y las productividades para la cepa de levadura común a los distintos tamaños de inóculo inicial. Se puede observar que todos los rendimientos y productividades fueron aumentando a medida que aumentaba el tamaño de inóculo inicial hasta el tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*, luego volvió a disminuir para un tamaño de inóculo inicial mayor, siendo del 10%*m/v*. Esto indica que un aumento en el tamaño de inóculo inicial si puede favorecer hasta cierto punto la actividad metabólica y el crecimiento celular, probablemente debido a

la mayor cantidad de células disponibles que permitió mejorar el rendimiento de fermentación.

Sin embargo, a concentraciones iniciales de inóculo mayores, como 10%*m/v* para esta cepa, la densidad celular generó efectos negativos, probablemente por la mayor competencia de nutrientes, generando menores rendimientos y productividades. Siendo el menor rendimiento de biomasa por sustrato, rendimiento de producto por sustrato y productividad obtenidas de 0.00166g/g, 0.000831g/g, 0.501g/g y 2.11%*m/v h*⁻¹ respectivamente para el tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v* y los mayores obtenidos de 0.00546g/g, 0.00361g/g, 0.661g/g y 2.224 %*m/v h*⁻¹ respectivamente para el tamaño de inóculo del 7%*m/v*, indicando que este tamaño de inóculo inicial permite maximizar los rendimientos y productividades de generación de etanol a partir de melaza de caña de azúcar utilizando esta cepa de levadura, alcanzando una concentración final de etanol del 11.82%*m/v*, pudiendo considerar de igual manera el tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v* dado a que presentó rendimientos y productividades similares a las obtenidas con inóculo del 7%*m/v* pero con mayor generación de etanol (12.66%*m/v*) (Kaur, *et al.*, 2020).

Los rendimientos de etanol por biomasa, biomasa por sustrato, producto por sustrato y productividades globales obtenidas para la cepa SA-1 se pueden observar en el Cuadro 19. Para esta cepa si se obtuvo un aumento de los rendimientos y productividades a medida que aumentaba el tamaño de inóculo inicial, con una variación distinta para el tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v* donde se presentó una disminución de estos parámetros. Este comportamiento distinto a la cepa de levadura común indica que la cepa SA-1 se ve mayormente afectada por el tamaño de inóculo inicial, probablemente para este tamaño de inóculo inicial el aumento de la concentración de células aumentó la actividad de las células de levadura generando un aumento en los rendimientos y productividades sin verse afectada negativamente por competencia de nutrientes a mayores concentraciones iniciales de inóculo.

Siendo el menor rendimiento de biomasa por sustrato, producto por sustrato y productividad obtenida de 0.00216g/g, 0.00143g/g, 0.663g/g y 0.816 %*m/v h*⁻¹ respectivamente para el menor tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*; y los mayores obtenidos de 0.00554g/g, 0.0038g/g, 0.686g/g y 1.112%*m/v h*⁻¹ respectivamente para el mayor tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*. Lo cual indica que para la cepa SA-1 el tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v* permite maximizar los rendimientos y productividad del proceso de fermentación, generando una concentración de etanol del 12.22%*m/v*. Otro aspecto que se puede observar es el menor rendimiento de biomasa con respecto a producto comparado con los rendimientos de producto con respecto al sustrato, lo cual es indicativo que durante el proceso fermentativo se priorizó la generación de etanol en lugar de la generación de biomasa (Kaur, *et al.*, 2020).

Como se puede observar según los resultados del análisis ANOVA en el Cuadro 20, se estableció como hipótesis nula que no existe una diferencia significativa entre los dos ensayos realizados por tamaño de inóculo y cepa de levadura, y como hipótesis alterna que si existe una diferencia significativa. La variación por replicación del experimento no fue

significativa, debido a que se obtuvo un valor F de 4.789E.6, con un valor P de 1, lo que indica que no se obtuvo una diferencia relevante entre las corridas experimentales para este rendimiento y, por lo tanto, la variabilidad entre los resultados de cada corrida no influyó de manera significativa en los resultados, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula.

A diferencia, la variación por tratamientos (tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura) si fue altamente significativa, debido a que se obtuvo un valor F de 44.889 y un valor P de 4.66E-7, siendo menor al nivel de significancia (0.05). Lo cual indica que los distintos tamaños de inóculo inicial y cepas de levadura evaluadas si tuvieron un impacto significativo para el rendimiento de etanol por biomasa.

Además, el valor crítico para los tratamientos obtenidos fue de 3.682, siendo menor al valor F, lo cual confirma la diferencia observada es estadísticamente significativa, aceptando la hipótesis alterna. Por lo tanto, el análisis sugiere que las condiciones experimentales de tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura si tiene un impacto significativo en la producción de etanol, mientras que la variación por réplicas fue mínima. Destacando seleccionar el tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura es importante para maximizar el rendimiento de etanol (Kim, 2017).

De igual manera en el en el Cuadro 20, se puede observar que el análisis de varianza para el rendimiento de biomasa por sustrato se obtuvo una tendencia similar a los observados con el rendimiento de etanol por biomasa. La variación por replicación no fue significativa, con un valor F de 1.347E-5, un valor P de 1 y un valor crítico de F de 3.056, lo que indica nuevamente que no se tuvo diferencias relevantes entre las corridas experimentales, aceptando la hipótesis nula. De igual manera para la variación por tratamientos (tamaños de inóculo inicial y cepa de levadura), con un valor F de 44.805, un valor P de 4.17E-7 y un valor crítico de F de 3.682. Indicando de igual manera que los distintos tamaños de inóculo y las cepas de levadura tuvieron un efecto significativo en el rendimiento de biomasa por sustrato, similar al impacto observado en el rendimiento de etanol (Kim, 2017).

También se obtuvo el mismo comportamiento para el rendimiento de producto por sustrato para la variación por replicación, con un valor F de 0.00596 menor al valor crítico de F de 3.056 indicando poca diferencia entre los resultados obtenidos por replicación; y el mismo comportamiento para la variación por tratamiento con un valor F de 15.185, mayor al valor crítico de F de 3.682 (Kim, 2017).

A diferencia, para la productividad el análisis de variación por tratamientos se obtuvo un valor F de 0.164 siendo menor al valor crítico de F que fue de 3.179 y el valor P de obtenido fue de 0.994, lo que indica que no hay diferencias estadísticamente significativas en productividad entre los tratamientos evaluados (es decir, entre los distintos tamaños de inóculo o cepas de levadura), aceptando la hipótesis nula. Esto podría sugerir que la productividad se mantiene estable frente a los cambios en tamaño de inóculo o tipo de cepa (Kim, 2017).

Para el tiempo de obtención de la concentración máxima de etanol, se estableció como hipótesis nula que no había diferencia significativa en la concentración de etanol a las 30h de fermentación entre los diferentes tamaños de inóculo inicial y cepa de levadura. Como hipótesis alternativa, se estableció que si había diferencia significativa en la concentración de etanol a las 30 horas dependiendo del tamaño de inóculo o la cepa de levadura. Se obtuvo un valor F de 0.993, siendo menor al valor crítico de F de 2.46 y un valor P de 0.479 siendo mayor que 0.05. Por lo tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula, lo que significa que ni el tamaño del inóculo inicial, ni la cepa de levadura generaron un efecto significativo en la concentración de etanol obtenida a las 30 horas de fermentación.

IX. CONCLUSIONES

1. Se formuló un medio de fermentación a base de melaza de caña de azúcar con concentraciones promedio de azúcares totales del $18.83 \pm 0.22\%$ m/v para la cepa de levadura común y $18.55 \pm 0.17\%$ m/v para SA-1, y urea como fuente de nitrógeno a concentraciones de $1.02 \pm 0.041\%$ m/v y $1.05 \pm 0.034\%$ m/v respectivamente para cada cepa. Los pH promedio fueron de 5.95 ± 0.01 y 5.97 ± 0.01 , respectivamente para cada cepa, condiciones que se encuentran dentro de los rangos de estudios previos y permitió obtener concentraciones de etanol del 10.33-12.75% m/v para cepa de levadura común y 11.57-12.22% m/v para la cepa SA-1, variando según el tamaño de inóculo inicial.
2. Se logró cuantificar la concentración de azúcares fermentables y biomasa a lo largo del proceso de fermentación para cada tamaño de inóculo y cepa de levadura. En el caso de la cepa de levadura común, las concentraciones finales de azúcares fermentables oscilaron entre 0.484-1.528 %m/v y las de biomasa entre 0.0346-0.115 g/mL, mostrando un incremento en biomasa con tamaños mayores de inóculo. Sin embargo, el consumo de azúcares no presentó una tendencia clara, sugiriendo que factores como la acumulación de productos inhibidores, como etanol, pueden influir más que el tamaño del inóculo inicial. Por otro lado, la cepa SA-1 mostró concentraciones finales de azúcares fermentables entre 0.727-1.149 %m/v y de biomasa entre 0.035-0.168 g/mL, evidenciando un comportamiento similar. Ambas cepas lograron concentraciones finales de etanol comparables, siendo las máximas 12.75 %m/v (inóculo 3 %m/v) para la cepa común y 12.22 %m/v (inóculo 10 %m/v) para SA-1. Finalmente, los tamaños de inóculo inicial de 7 %m/v para la cepa común y de 10 %m/v para SA-1 permitieron maximizar tanto los rendimientos, como las productividades globales, alcanzando valores de hasta 0.661 g etanol/g sustrato y $2.224 \text{ %m/v h}^{-1}$ para la cepa común, y 0.686 g etanol/g sustrato y $1.212 \text{ %m/v h}^{-1}$ para la cepa SA-1.
3. Se identificó que el tamaño de inóculo inicial no influyó en el tiempo en el cual se obtuvo la mayor producción de etanol, ya que se observó que la mayor concentración de etanol se alcanzó a las 30 horas de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial y para ambas cepas. El análisis estadístico realizado mediante ANOVA arrojó un valor F de 0.99, un p-valor de 0.50, y un valor crítico de F de 3.17, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tamaños de inóculo en relación con la concentración de etanol a las 30 horas. Esto sugiere que el tiempo necesario para la producción máxima de etanol puede depender más de las características metabólicas específicas de cada cepa y de las condiciones del medio de fermentación, en lugar de la cantidad inicial de microorganismos. Por lo tanto, el tamaño de inóculo inicial y cepa de levadura son variables independientes en cuanto al

tiempo de producción máxima de etanol. Sin embargo, aunque no se encontró una diferencia significativa en términos de concentración de etanol a las 30 horas, el tamaño de inóculo y la cepa sí influyeron en otros aspectos del rendimiento y productividad del proceso fermentativo.

X. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios adicionales para evaluar el efecto de distintas concentraciones de azúcares iniciales en el proceso fermentativo, utilizando ambas cepas de levadura y el tamaño de inóculo inicial identificado como el que brinda los mejores rendimientos y productividades, para evaluar si variaciones en los niveles de sustrato inicial generan cambios significativos en el rendimiento y productividad del proceso fermentativo.
2. Realizar un estudio comparativo del proceso de fermentación de melaza de caña de azúcar para ambas cepas a distintas temperaturas de fermentación, para identificar el efecto de la temperatura en el rendimiento y productividad del proceso para cada levadura. Abarcando un rango de temperaturas adecuadas para *S. cerevisiae*, para identificar la temperatura para cada cepa de levadura que permita maximizar la producción de etanol. Además, se sugiere investigar el impacto de la temperatura en la cinética de crecimiento y la producción de subproductos indeseados, como ácidos orgánicos, así como la estabilidad de las enzimas involucradas en el proceso.
3. Se sugiere llevar a cabo una caracterización más profunda de los elementos, como cenizas presentes en la melaza de caña de azúcar utilizada, incluyendo aminoácidos, vitaminas y minerales, con la finalidad de identificar si se requiere de añadir otro nutriente, aparte de una fuente de nitrógeno para el crecimiento eficiente de las levaduras que permita mejorar el rendimiento del proceso fermentativo para obtener etanol.
4. Se sugiere realizar un estudio comparativo de la fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando ambas cepas con el tamaño de inóculo inicial que presentó los mejores rendimientos y productividades a mayor escala, con la finalidad de identificar posibles cambios en la transferencia de masa que puedan influir en la cinética del proceso fermentativo y contrastar con los resultados obtenidos a pequeña escala para obtener un modelo cinético de mejor precisión.
5. Se sugiere realizar un estudio adicional sobre la purificación del etanol producido por ambas cepas de levadura, utilizando métodos de evaporación y destilación, para comparar la cantidad y concentración de etanol purificado obtenido con cada cepa de levadura y a cada tamaño de inóculo inicial.

6. Se recomienda agregar un factor en el modelo cinético que considere el consumo de sustrato utilizado para el mantenimiento celular, incorporándolo en las ecuaciones de cinética de crecimiento y consumo de sustrato, para representar de manera más precisa la distribución del sustrato entre la producción de biomasa y etanol. Asimismo, se sugiere incorporar la generación de metabolitos secundarios, como CO₂ y ácidos orgánicos, con el objetivo de ampliar el modelo cinético y obtener un conjunto de datos más completo. Esto permitirá una mejor comprensión del proceso fermentativo y contribuirá a su optimización.
7. Se sugiere llevar a cabo el proceso de fermentación con la misma metodología planteada, utilizando cepas de levadura genéticamente modificadas diseñadas para aumentar su tolerancia a altas concentraciones de etanol y sustrato. Esto para evaluar su impacto en el rendimiento y productividad del proceso fermentativo.
8. Se recomienda realizar un estudio económico del proceso de fermentación, iniciando con la recopilación de datos sobre el costo de la melaza de caña de azúcar en Guatemala, así como de los insumos requeridos, como la levadura y otros nutrientes. También analizar la demanda actual y proyectada del etanol, junto con su precio en el mercado, además de otros indicadores financieros que permitan evaluar la rentabilidad del proyecto.
9. Se sugiere llevar a cabo una investigación para evaluar el aprovechamiento de los subproductos generados durante la fermentación, como la vinaza, dióxido de carbono y la biomasa de levadura residual. La vinaza podría valorizarse mediante su uso como fertilizante o sustrato en digestión anaerobia para producción de biogás, la biomasa de levadura podría explorarse para aplicaciones en la industria alimentaria o producción de extracto de levadura y el dióxido de carbono se podría capturar para su cuantificación y aprovechamiento industrial.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, M., Aguirre, E., Ramírez, A., & Rodríguez, A. (2010). Kinetic analysis and mathematical modeling of growth and lactic acid production of *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* in milk whey. *Journal of Dairy Science*, 5552-5560.
- Andrade, R. R., Maugeri, F., Maciel, R., & Carvalho, A. (2013). Kinetics of ethanol production from sugarcane bagasse enzymatic hydrolysate concentrated with molasses under cell recycle. *Bioresource Technology*, 351-359.
- ASAZGUA. (2022). *Azúcar de Guatemala*. Obtenido de Azúcar de Guatemala: <https://www.azucar.com.gt/tag/exportacion/>
- Balat, M., Balar, H., & Oz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 551-573
<https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.00>.
- Basso, L. C., Amorim, H. V., Oliveira, A. J., & Lopes, M. L. (2008). Yeast selection for fuel ethanol production. *Federation of European Microbiological Societies. Biological Science Department*, 1555-1163. :10.1111/j.1567-1364.2008.00428.x.
- Bazúa, M. d. (2022). Aprovechamiento de los subproductos del procesamiento de la caña de azúcar: Bagazo, cachaza, vinazas, metano, polifenoles, aguas residuales tratadas, etc. *ICUAP*, 115-130.
- Boshagh, F., Rostami, K., & Niel, E. W. (2022). Application of kinetic models in dark fermentative hydrogen production—A critical review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 21952-21968.
- Castañeda, M. (2019). *Estequiometría y cinética del crecimiento*. Obtenido de Estequiometría y cinética del crecimiento: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/89651/Apunte_de_c%C3%A1tedra.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&form=MG0AV3
- Chicco, D., Warrens, M., & Jurman, G. (2021). The coefficient of determination R-squared is more informative than SMAPE, MAE, MAPE, MSE and RMSE in regression analysis evaluation. *Peer J. Computer Science*, 10.7717/peerj-cs.623.
- Contreras, C. N., Purihuan, R., Hernández, J., & Gamboa, é. (2022). Producción de etanol a partir de melaza de caña de azúcar y diferentes. *Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA*, 65-60. 10.17268/rev.cyt.2022.03.06.

- Durazo, R. (2016). *Propagación del error*. Obtenido de <http://rdurazo.ens.uabc.mx/educacion/labfis/sesion2.pdf>
- Escalante, W., Rychtera, M., & Quillama, E. (2012). Study of the fermentative activity of *Hansenula anomala* and production of chemical compounds of sensory importance. *Revista Peruana de Biología*, 325-335.
- Espinosa, R., & Ovando, C. (2015). *Producción de etanol*. Obtenido de Producción de etanol: <https://cengicana.org/files/20150902101644863.pdf>
- Fadel, M., Keera, A. A., Mouafi, F. E., & Kahil, T. (2013). High Level Ethanol from Sugar Cane Molasses by a New Thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* Strain in Industrial Scale. *Investigación Biotecnológica Internac*, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/253286>.
- Frost, J. (2022). *Statistics*. Obtenido de Statistics: <https://statisticsbyjim.com/regression/mean-squared-error-mse/>
- García, L. E. (2016). CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO. *CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS NO-Saccharomyces PARA LA PRODUCCIÓN DE TEQUILA CON UN PERFIL AROMÁTICO ESPECÍFICO*, 251.
- Garnier, A., & Gaillet, B. (2015). Analytical Solution of Luedeking–Piret Equation for a Batch Fermentation Obeying Monod Growth Kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 1-7.
- Gendy, N. S., Madian, H. R., & Abu, S. (2013). Design and Optimization of a Process for Sugarcane Molasses Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* Using Response Surface Methodology. *International Journal of Microbiology*, 10.1155/2013/815631.
- Ghorbani, F., & Younesi, H. (2013). The Kinetics of Ethanol Production from Cane Molasses by *Saccharomyces cerevisiae* in a Batch Bioreactor. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 1073-1083.
- Ginovart, M., Prats, C., Portell, X., & Silbert, M. (2011). Exploring the lag phase and growth initiation of a yeast culture by means of an individual-based model. *Food Microbiology*, 810-817. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.004>.
- González, R. (2018). Metodología matemática y simulación de procesos biológicos. En R. González, *Metodología matemática y simulación de procesos biológicos* (pág. 47). México .
- GrandI, T., Jenkins, D., A. M., & Zhuang, S. (2024). Valorización del dióxido de carbono de la fermentación en la elaboración artesanal de cerveza: tecnologías potenciales, entrevistas a cerveceros e implicaciones para un «sistema de valorización de tres niveles». *Revista de la Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros* , <https://doi.org/10.1080/03610470.2024.2417133>.

- Guerrero, S. (2013). *Carrera de especialización de Biotecnología Industrial*. Obtenido de https://biotecnologiaindustrial.fcen.uba.ar/wp-content/uploads/2010/04/E9_Unidad-4_2013.pdf
- Hernández, C., & Purihuaman, R. (2014). Evaluación de 3 cepas de levadura: Fleishmann, Red Star y Fermipan Brown, modificando el PH y Bactol Q (Bacteriostático) para obtener la óptima producción de alcohol etílico a partir de la melaza. *Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Facultad de Ingeniería Química e Industrial Alimentarias* , 87.
- Hibbert, D., Jiang, J., & Mulholland, M. (2001). Propagation of uncertainty in high-performance liquid chromatography with UV–VIS detection. *Analytica Chimica Acta*, 205-214.
- Jamir, L., Kumar, V., Kaur, J., Kumar, S., & HarminderSingh. (2021). Composition, valorization and therapeuticalpotential of molasses: a critical review. *Composition, valorization and therapeutical potential of molasses: a critical review*, 131-142 <https://doi.org/10.1080/21622515.2021.1892203>.
- Jayus, Nurhayatia, Mayzuhroha, A., Arindhania, S., & Caroenchai, C. (2016). Studies on Bioethanol Production of Commercial Baker’s and Alcohol Yeast under Aerated Culture Using Sugarcane Molasses as The Media. *Agriculture and Agricultural Science Procedia. Elsevier*, 493-499.
- Kartini, A. M., & Dhokhikah2, Y. (2018). Bioethanol Production from Sugarcane Molasses with Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Method using *Saccaromyces cerevisiae*-*Pichia stipitis*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 207-217.
- Kaur, S., Kaur, K., Bhushan, B., Kaur, M., & Han, M. (2020). Inoculum Size and Age Studies on Single and Mixed Strain Fermentation of Grape Juice. *J. Pure. Apple. Microbial* , 2137-2145.
- Kim, T. K. (2017). Understanding one-way ANOVA using conceptual figures. *Korean Journal of Anesthesiology*, 22-26.
- Li, E., & Osduña, M. (2009). A rapid method for the determination of microbial biomass. *Letters in Applied Microbiology I*, 283-299.
- Liu, S. (2013). *Bioprocess Engineering. Kinetics, Biosystems, Sustainability; and Reactor Design* . New York; USA: ELSEVIER .
- López, F., Sanchez, T., Cervantes, S., & García, M. (2011). Use of sugarcane molasses “B” as an alternative for ethanol. *Bioprocess Biosyst Eng*, 605-615.
- Łukaszewicz, M., Leszczyński, P., Jabłoński, S. J., & Kawa-Rygielska, J. (2019). Potential Applications of Yeast Biomass Derived from Small-Scale Breweries. *Bioprocessing and Fermentation Technology for Biomass Conversion*, <https://doi.org/10.3390/app14062529>.
- Maicas, S. (2020). The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms* , 1142 <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>.

- Mansi, E., Nielsen, J., Mousdale, D., Allman, T., & Carlson, R. (2019). Fermentation Microbiology and Biotechnology. En E. Mansi, J. Nielsen, D. Mousdale, T. Allman, & R. Carlson, *Fermentation Microbiology and Biotechnology* (pág. 413). New York : CRC Press.
- Market Research*. (2022). Obtenido de Bioethanol Market based on By Feedstock (Cereals & Starch, Wheat, Maize, Beet, Sugarcane, Others); By Industry; By Region; Segment Forecast – Trends & Forecast: 2022–2030: <https://www.marketresearch.com/Infoholic-Research-v4070/Bioethanol-based-Feedstock-Cereals-Starch-34747570/>
- MirandaCastilleja, D. E., E. O.-B., Pacheco, J. R., Tápia, J. A., & MartínezPeniche, R. Á. (2015). Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México. *Ciencia de los alimentos*, 1405-3195.
- Murphy, N. F. (1982). Fermentation of High Test Molasses. *JOURNAL OF AGRICULTURE OF UNIVERSITY OF PUERTO RICO*, 33-44.
- Ortiz, B., Zarrabal, O. C., Torrestiana, B., & Aguilas, M. (2010). Kinetic study on ethanol production using. *J Chem Technol Biotechnol*, 1361–1367.
- Párraga, M. A., Mero, M. L., Ochoa, S. J., & Geovanny, E. (2020). Evaluation of yeast for ethanol production from sugar cane molasses. *Revista Española de Ciencia para la Agro*, 115-119 <https://doi.org/10.51> .
- Patrignani, F., Siesto, G., Gottardi, D., Vigentini, I., Toffanin, A., Englezos, V., . . . Speranza, B. (2022). Impact of Two Commercial *S. cerevisiae* Strains on the Aroma Profiles of Different Regional Musts. *Beverages*, 59 <https://doi.org/10.3390/beverages8040059>.
- Peña, C., & Arango, R. (2009). Evaluation of ethanol production using recombinant strains of *saccharomyces cerevisiae* from sugar cane molasses. *Corporación para investigaciones Biológicas-CIB*, 153-162 .
- Permatasari, V. R., Mardiyah, A., Suprayogi, & Hidayat, N. (2023). Effect of inoculum size and agitation speed on bioethanol production by *Kluyveromyces marxianus* using sugarcane molasse. *Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering*, 205-214.
- Pimentel, A., Pérez, M., Guerra, H., León, G. d., Samayoa, O., Sosa, A., . . . Inccer, D. (2020). Reporte final de resultados proyecto pilar movilidad verde 2020. *Centro de Estudios Ambientales y Biodiversidad (CEAB) y Centro de Procesos Industriales (CPI) de la Universidad del Valle de Guatemala* , 1-57.
- Pistón, F., Pérez, A., Sanz, C., & Refoyo1., A. (2017). Relationship between sugar content and Brix degrees. *SHS Acta Horticulturae* , 491-496.
- Ptasinski, K. J. (2016). Efficiency of Biomass Energy: An Exergy Approach to Biofuels, Power, and Biorefineries. En K. J. Ptasinski, *Efficiency of Biomass Energy: An Exergy Approach to Biofuels, Power, and Biorefineries* (págs. 289-338). John Wiley & Sons, Inc.

- Putra, M. D., & Abasaeed, A. (2018). A more generalized kinetic model for binary substrates fermentations. *Process Biochemistry*, 31-38.
- Rabbani, M., Momen, S., Akbarian-Saravi, N., Farrokhi-Asl, H., & Ghelichi, Z. (2020). Optimal design for sustainable bioethanol supply chain considering the bioethanol production strategies: A case study. *Computers & Chemical Engineering*, 1-19 <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2019.106720>.
- Raharja, R., Murdiyatmo, U., Sutrisno, A., & Wardani, A. (2019). Bioethanol production from sugarcane molasses. *Earth and Environmental Science*, 1-9. 10.1088/1755-1315/230/1/01207.
- Rodovanovic, M. (2023). Sustainable Energy Management. En M. Rodovanovic, *Sustainable Energy Management* (págs. 181-277). Academic Press <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821086-4.00004-0>.
- Sadapha, P., & Dhamak, K. (2022). High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method Development and Validation. *J. Pharm. Sci. R*, 23-29.
- Shiflet, A. B., & Shiflet, G. W. (2006). Berkeley Madonna Tutorial. Introduction to Computational Science: Modeling and Simulation for the Sciences. *Princeton University Press*, 1-18.
- Sood, S., Bhat, S., & Kumar, A. (2011). Preparación del inóculo. *Biotecnología integral* (, 151-164.
- Souza, G. M., Maciel, R., Horta, L., Cantarella, H., Rosseto, R., Islongo, N., . . . Silva, J. (2023). Biofuels in Emerging Markets. *IEA Bioenergy. Potential for sustainable and consumption*, 23 .
- Suárez, C., Garrido, N. A., & Guevara, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *Instituto Cubano de Investigaciones sobre los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)*, 20-28.
- Sulaiman, N., Refaat, M., Hafez, A., & Dodog, K. (2022). Kinetics of Bio-ethanol production. *Agric. Microbiology Dept.*, 10.21608/asajs.2022.228846.
- Vasconcelos, J. N. (2015). Sugarcane Ethanol Fermentation. En J. N. Vasconcelos, *Sugarcane Ethanol Fermentation* (págs. 311-340). Academic Press <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802239-9.00015-3>.
- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 249-259.
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>.
- Wardani, A. K., Utami, C. P., Hermanto, M. B., Sutrisno, A., & Nurtyastuti, F. (2023). Bioethanol Production from Sugarcane Molasses by Fed-Batch Fermentation Systems Using Instant Dry Yeast. *Fermentation Microbiology (FM)*, 184-190.

- Zabed, H., Faruq, G., Sahu, J. N., Azirun, M. S., Hashim, R., & Boyce, A. N. (2014). Bioethanol Production from Fermentable Sugar Juice. *1-11*.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2014/957102>,
<https://doi.org/10.1155/2014/957102>.
- Zentou, H., Zainal, Z., Yunus, R., Radiah, D., Zouanti, M., & Abdeljader. (2019). Modelling of Molasses Fermentation for Bioethanol Production: A Comparative Investigation of Monod and Andrews Models. *Biomolecules*,
<https://doi.org/10.3390/biom9080308>.

XII. ANEXOS

A. Datos originales

Cuadro 21. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.0001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	1.536	150	19.041	8.999	6.437	3.605	0.000
1	1.640	147	14.893	7.045	5.231	2.823	0.647
2	1.690	147	13.579	6.436	4.984	2.579	1.183
3	1.740	147	11.421	5.395	4.732	2.162	2.444
4	1.820	147	9.223	2.931	4.617	1.174	4.579
6	1.901	147	7.418	2.173	4.516	0.741	6.600
12	2.530	126	2.704	0.204	2.115	0.385	8.257
18	4.200	132	1.907	0.318	0.303	0.485	8.357
24	4.400	132	1.091	0.205	0.279	0.607	8.759
30	4.530	132	0.954	0.259	0.290	0.406	10.426

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 22. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	4.442	150	19.041	8.999	6.437	3.605	0.000
1	4.590	150	13.891	6.778	4.848	2.716	0.878
2	4.741	150	11.649	6.258	4.476	2.507	0.885
3	5.1303	147	9.673	5.499	3.934	2.203	1.366
4	5.820	147	8.376	3.540	2.533	1.418	3.422
6	6.150	140	6.952	0.879	1.501	1.572	4.213
12	6.430	135	3.565	0.817	1.065	1.683	11.918
18	7.120	130	1.581	0.467	1.113	0.000	17.403
24	7.310	132	1.755	0.513	0.971	0.272	15.052
30	8.240	130	0.975	0.277	0.243	0.455	12.671

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 23. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo con la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	7.5014	150	19.041	8.999	6.437	3.605	0.000
1	7.860	150	13.302	5.874	4.202	2.354	0.899
2	8.254	150	10.014	5.310	3.798	2.128	2.464
3	8.865	150	7.213	4.682	3.349	1.876	3.405
4	10.623	147	2.839	3.438	2.459	1.378	4.449
6	12.910	150	2.542	0.292	1.689	0.561	3.421
12	11.831	127	2.459	0.501	0.575	1.383	8.413
18	13.600	120	2.522	0.503	0.655	1.364	10.604
24	15.3	123	2.741	0.553	0.430	1.759	14.178
30	16.3	109	2.531	0.511	0.397	1.624	15.389

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 24. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	10.460	150	19.041	8.999	6.437	3.605	0.000
1	11.056	150	12.290	5.025	3.693	2.068	0.899
2	11.652	150	10.014	4.502	3.303	1.850	2.685
3	12.864	150	7.213	3.969	2.913	1.631	3.617
4	14.734	150	2.839	2.915	2.139	1.198	4.666
6	15.320	147	1.582	0.469	1.112	0.000	6.675
12	12.500	107	2.733	0.958	1.775	0.000	10.811
18	15.510	114	1.557	0.471	1.085	0.000	12.825
24	16.802	122	2.266	0.593	1.673	0.000	12.595
30	17.100	124	0.771	0.178	0.297	0.296	13.667

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 25. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	15.301	150	19.041	8.999	6.437	3.605	0.000
1	15.992	150	11.817	4.984	3.565	1.997	0.908
2	16.250	150	9.371	4.552	3.256	1.824	2.420
3	16.148	147	7.332	3.965	2.836	1.589	3.438
4	14.749	134	2.057	3.111	2.226	1.247	4.272
6	12.200	106	1.387	2.116	1.513	0.848	6.047
12	13.000	110	1.202	0.218	0.334	0.644	9.305
18	13.900	116	0.809	0.452	0.353	0.000	8.385
24	14.300	123	0.926	0.213	0.264	0.444	9.169
30	14.530	123	0.488	0.191	0.295	0.000	9.426

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 26. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	1.561	150	18.610	8.795	6.291	3.524	0.000
1	1.697	150	14.687	6.948	5.159	2.784	0.638
2	1.718	150	13.633	6.462	5.004	2.589	1.188
3	1.829	146	11.353	5.363	4.704	2.149	2.430
4	1.869	146	9.114	2.896	4.563	1.160	4.524
6	2.719	135	7.440	2.180	4.518	0.743	6.620
12							
18	4.236	133	1.905	0.318	0.303	0.485	8.349
24	4.327	133	1.118	0.210	0.286	0.621	8.974
30	4.642	133	0.938	0.254	0.285	0.399	10.252

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 27. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	4.110	150	18.610	8.795	6.291	3.524	0.000
1	4.201	150	13.699	6.684	4.781	2.678	0.864
2	4.318	150	11.695	6.283	4.494	2.517	1.614
3	4.350	146	9.615	5.466	3.910	2.190	2.487
4	4.820	147	8.276	3.498	2.502	1.402	3.564
6	5.200	141	6.484	0.364	1.951	0.670	4.298
12	6.400	121	1.057	0.289	0.298	0.470	6.454
18	6.400	127	0.950	0.333	0.248	0.369	8.112
24	6.450	127	1.145	0.234	0.324	0.586	7.662
30	5.620	124	1.110	0.764	0.345	0.000	7.924

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 28. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	7.500	150	18.610	8.795	6.291	3.524	0.000
1	7.948	150	13.144	5.805	4.152	2.326	0.886
2	8.616	150	10.710	5.607	4.011	2.247	2.232
3	9.172	150	7.030	4.654	3.329	1.865	3.225
4	9.823	147	2.791	3.397	2.430	1.361	4.112
6	8.801	125	2.574	0.751	1.010	0.813	6.229
12	9.341	125	1.190	0.850	0.341	0.000	8.049
18	10.521	136	1.294	0.238	0.312	0.744	8.220
24	10.200	126	1.160	0.248	0.308	0.604	8.586
30	11.500	125	0.525	0.223	0.302	0.000	9.932

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 29. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	10.490	150	18.610	8.573	6.291	3.524	0.000
1	10.623	150	12.144	4.973	3.649	2.044	0.886
2	11.716	150	10.710	4.754	3.488	1.954	2.432
3	12.923	150	7.030	3.946	2.895	1.622	3.425
4	13.823	147	2.791	2.880	2.114	1.184	4.312
6	9.605	126	1.108	0.523	0.234	0.351	8.835
12	13.803	120	0.605	0.258	0.347	0.000	8.409
18	15.120	126	1.233	0.286	0.321	0.626	8.197
24	15.631	129	1.335	0.453	0.296	0.586	9.107
30	16.500	126	1.115	0.191	0.326	0.597	9.981

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 30. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	15.015	150	18.610	8.795	6.291	3.524	0.000
1	15.207	150	11.677	4.925	3.523	1.973	0.886
2	15.402	150	10.023	4.807	3.439	1.926	2.232
3	15.600	150	7.146	3.942	2.820	1.579	3.225
4	15.376	146	2.023	3.075	2.199	1.232	3.912
6	15.584	146	1.364	2.091	1.496	0.838	5.975
12	14.704	136	1.182	0.216	0.330	0.637	9.105
18	15.666	143	0.795	0.447	0.348	0.000	9.094
24	15.866	143	0.910	0.210	0.261	0.439	8.799
30	16.069	143	0.480	0.189	0.291	0.000	8.960

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 31. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizado la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1%/m/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol (g/mL)
0	1.536	150	18.715	6.920	6.631	5.165	0.000
1	1.506	150	17.704	6.197	6.551	4.957	0.542
2	1.655	150	16.359	5.726	6.053	4.580	1.051
3	1.885	150	14.788	5.176	5.472	4.141	2.295
4	2.504	146	13.280	4.648	4.914	3.718	3.307
6	3.400	145	11.647	4.076	4.309	3.261	4.518
12	3.900	133	10.153	2.718	4.435	3.000	5.315
18	4.600	131	6.113	1.356	3.547	1.210	11.265
24	3.910	126	2.883	0.710	0.438	1.734	11.616
30	4.324	131	0.941	0.531	0.410	0.000	12.395

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 32. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3%/m/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	4.012	150	18.715	6.920	6.631	5.165	0.000
1	3.990	150	17.132	5.654	4.454	6.339	1.055
2	4.139	150	15.522	5.122	4.036	5.743	2.046
3	4.223	145	13.721	4.528	3.568	5.077	4.467
4	4.888	145	11.499	3.795	2.990	4.254	5.511
6	5.900	140	9.639	2.065	1.826	5.748	7.530
12	7.300	130	7.094	0.921	1.807	4.366	8.020
18	7.541	126	4.882	0.683	2.033	2.172	11.073
24	6.403	129	1.167	0.752	0.000	0.416	11.692
30	6.231	129	1.043	0.544	0.000	0.499	12.167

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 33. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizado la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	7.031	150	18.715	6.920	5.165	6.631	0
1	7.900	147	16.945	6.609	6.439	3.897	0.732
2	8.032	147	14.893	5.808	5.659	3.425	1.923
3	8.446	143	12.108	4.722	4.601	2.785	4.199
4	8.410	124	9.154	3.570	3.478	2.105	5.124
6	8.470	124	8.921	1.469	5.479	1.974	7.001
12	9.900	129	7.184	0.921	4.366	1.807	9.648
18	11.300	120	2.782	0.611	0.435	1.736	10.028
24	10.742	125	1.058	0.666	0.391	0.000	11.216
30	10.910	127	1.167	0.752	0.416	0.000	11.7357

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 34. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizado la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/mL$)
0	10.502	150	18.715	6.920	5.165	6.631	0.000
1	10.803	146	15.856	6.184	6.025	3.647	1.081
2	10.198	136	12.010	4.684	4.564	2.762	2.097
3	8.400	124	8.966	3.497	3.407	2.062	4.580
4	8.400	124	6.114	2.384	2.323	1.406	5.673
6	11.900	118	6.113	1.366	4.747	0.000	7.751
12	13.620	116	4.888	0.683	2.172	2.033	10.573
18	11.602	117	2.883	0.710	0.438	1.734	10.573
24	10.200	126	1.025	0.596	0.493	0.000	11.248
30	9.500	114	0.773	0.404	0.368	0.000	12.529

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 35. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el primer ensayo utilizado la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	15.113	150	18.715	6.920	5.165	6.631	0.000
1	16.884	136	18.932	7.270	7.194	5.017	1.289
2	17.019	136	15.531	5.964	5.902	4.116	2.499
3	15.943	124	11.519	4.423	4.377	3.053	5.458
4	14.363	110	7.742	2.973	2.942	2.052	6.938
6	15.100	100	6.351	2.439	2.413	1.683	7.554
12	15.300	100	5.531	2.124	2.102	1.466	9.243
18	16.600	110	2.672	1.026	1.015	0.708	11.763
24	14.200	76	1.914	0.735	0.727	0.507	12.356
30	16.200	83	0.682	0.262	0.259	0.181	12.862

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 36. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1%/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	1.502	150	18.715	6.920	6.631	5.165	0.000
1	1.649	150	17.704	6.197	6.551	4.957	0.542
2	1.799	150	16.359	5.726	6.053	4.580	1.051
3	2.028	146	14.788	5.176	5.472	4.141	2.295
4	3.081	146	13.280	4.648	4.914	3.718	3.307
6	3.00	142	11.647	4.076	4.309	3.261	4.518
12	3.402	131	10.153	2.718	4.435	3.000	5.315
18	4.490	133	6.113	1.356	3.547	1.210	11.265
24	4.610	126	2.883	0.710	0.438	1.734	11.616
30	4.901	131	0.941	0.531	0.410	0.000	12.395

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 37. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3%/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	4.001	150	18.386	9.637	4.593	4.155	0.000
1	5.149	120	17.363	8.855	3.994	4.514	0.889
2	5.269	120	15.939	8.129	3.666	4.144	1.754
3	5.452	120	13.883	7.080	3.193	3.610	3.758
4	6.362	120	11.634	5.933	2.676	3.025	4.534
6	6.400	116	9.324	1.826	2.065	5.748	6.087
12	6.730	126	7.315	1.902	2.414	2.706	7.252
18	6.230	112	5.540	1.440	1.828	2.050	10.395
24	6.300	129	2.068	0.000	0.000	2.068	10.842
30	6.501	126	1.717	0.000	0.000	1.717	11.263

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 38. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5%/m/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	7.110	150	18.386	9.637	4.593	4.155	0
1	8.064	120	16.647	8.490	3.829	4.328	0.732
2	8.183	120	14.631	7.670	3.365	3.804	1.923
3	8.088	116	11.895	6.067	2.733	3.093	4.199
4	8.736	113	8.993	4.586	2.068	2.338	5.124
6	8.901	112	9.421	2.167	3.674	3.580	7.001
12	9.500	112	7.353	1.691	2.868	2.794	9.648
18	9.102	121	1.842	0.424	0.718	0.700	10.028
24	6.501	116	1.729	0.398	0.674	0.657	11.216
30	8.800	126	1.106	0.254	0.432	0.420	11.7357

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 39. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7%/m/v

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	10.510	150	18.386	9.637	4.593	4.155	0.000
1	10.655	144	15.572	8.488	3.581	4.049	0.934
2	10.798	144	11.768	7.588	2.707	3.060	1.812
3	11.292	144	8.767	5.532	2.014	2.279	3.957
4	8.400	124	5.963	3.878	1.372	1.551	4.775
6	11.900	118	6.113	0.000	1.366	4.747	6.525
12	12.230	101	4.888	2.033	0.683	2.172	7.131
18	11.600	117	2.883	1.734	0.710	0.438	7.361
24	11.301	109	1.025	0.000	0.596	0.493	7.886
30	11.400	109	0.773	0.000	0.404	0.368	8.113

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 40. Datos de concentración de biomasa, azúcares y etanol para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Biomasa seca ($\pm 0.001g$)	Volumen final medio de fermentación ($\pm 0.001mL$)	Azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)	Etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6} g/100mL$)
0	15.022	150	18.386	9.637	4.593	4.155	0.000
1	15.189	150	14.372	8.642	3.305	3.737	1.238
2	15.3719	150	10.751	5.636	2.473	2.795	2.401
3	13.281	130	7.885	4.022	1.812	2.050	5.243
4	13.726	130	5.961	3.040	1.371	1.550	6.628
6	14.209	125	6.130	2.600	1.636	4.747	7.253
12	11.803	101	4.080	2.303	1.638	2.172	7.894
18	16.200	109	2.880	1.530	1.101	0.308	10.031
24	16.040	117	1.034	1.020	0.696	0.430	11.130
30	15.400	109	0.652	0.603	0.474	0.468	11.597

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa y etanol se obtuvieron utilizando cromatografía de alta afinidad (HPLC); los resultados se muestran ya corregidos para un factor de dilución 1:10. La concentración de biomasa se obtuvo a partir del método de peso seco.

Cuadro 41. Mediciones de pH y grados brix del medio de fermentación

Cepa	Corrida	pH	°Brix
Cepa de levadura común	1	5.60	20.8
	2	5.63	20.1
Cepa de levadura SA-1	1	5.67	20.6
	2	5.62	21.3

En el cuadro anterior se muestran los pH y grados brix del medio de fermentación utilizado para cada corrida realizada para cada cepa. Los resultados se obtuvieron utilizando un potenciómetro y refractómetro, las especificaciones del equipo se pueden encontrar en la sección de datos de reactivos y equipos.

B. Datos calculados

Cuadro 42. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el primer ensayo con cepa de levadura común

Tiempo (h)	Biomasa inóculo inicial 1% <i>m/v</i> (g/mL)	Biomasa inóculo inicial 3% <i>m/v</i> (g/mL)	Biomasa inóculo inicial 5% <i>m/v</i> (g/mL)	Biomasa inóculo inicial 7% <i>m/v</i> (g/mL)	Biomasa inóculo inicial 10% <i>m/v</i> (g/mL)
0	0.0102±1.204*10 ⁻⁴	0.0296±2.961*10 ⁻⁴	0.0500±5.001*10 ⁻⁴	0.0697±6.974*10 ⁻⁴	0.101±1.009*10 ⁻⁴
1	0.0112±1.116*10 ⁻⁴	0.0306±3.062*10 ⁻⁴	0.0524±5.236*10 ⁻⁴	0.0737±7.731*10 ⁻⁴	0.107±1.006*10 ⁻⁴
2	0.0115±1.150*10 ⁻⁴	0.0316±3.157*10 ⁻⁴	0.0550±5.501*10 ⁻⁴	0.0777±7.769*10 ⁻⁴	0.108±1.083*10 ⁻⁴
3	0.0118±1.184*10 ⁻⁴	0.0349±3.488*10 ⁻⁴	0.0591±5.908*10 ⁻⁴	0.0858±8.577*10 ⁻⁴	0.110±1.099*10 ⁻⁴
4	0.0124±1.238*10 ⁻⁴	0.0396±3.959*10 ⁻⁴	0.0722±7.225*10 ⁻⁴	0.0982±9.823*10 ⁻⁴	0.110±1.100*10 ⁻⁴
6	0.0129±1.293*10 ⁻⁴	0.0439±4.393*10 ⁻⁴	0.0860±8.600*10 ⁻⁴	0.1042±1.042*10 ⁻⁴	0.115±1.151*10 ⁻⁴
12	0.0198±1.984*10 ⁻⁴	0.0476±4.763*10 ⁻⁴	0.0929±9.292*10 ⁻⁴	0.1168±1.168*10 ⁻⁴	0.118±1.181*10 ⁻⁴
18	0.0318±3.182*10 ⁻⁴	0.0548±5.477*10 ⁻⁴	0.1142±1.147*10 ⁻⁴	0.1360±1.259*10 ⁻⁴	0.120±1.199*10 ⁻⁴
24	0.0333±3.333*10 ⁻⁴	0.0554±5.538*10 ⁻⁴	0.1244±1.244*10 ⁻⁴	0.1377±1.377*10 ⁻⁴	0.116±1.163*10 ⁻⁴
30	0.0343±3.343*10 ⁻⁴	0.0634±6.339*10 ⁻⁴	0.1495±1.496*10 ⁻⁴	0.1379±1.379*10 ⁻⁴	0.118±1.181*10 ⁻⁴

En el cuadro anterior se muestran los resultados del cambio de concentración de biomasa con respecto al tiempo de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial con la cepa de levadura común. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de biomasa seca y volumen final del medio de fermentación que se muestran en los cuadros 21 al 40, como se muestra en el cálculo 4

Cuadro 43. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el primer ensayo con cepa de levadura SA-1

Tiempo (h)	Biomasa inóculo inicial 1% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 3% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 5% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 7% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 10% <i>m/v</i>
0	0.0102±1.024*10 ⁻⁴	0.0267±2.674*10 ⁻⁴	0.0469±4.688*10 ⁻⁴	0.0701±7.001*10 ⁻⁴	0.101±1.008*10 ⁻⁴
1	0.0100±1.00*10 ⁻⁴	0.0266±2.661*10 ⁻⁴	0.0537±5.375*10 ⁻⁴	0.0939±7.399*10 ⁻⁴	0.124±1.241*10 ⁻⁴
2	0.0110±1.101*10 ⁻⁴	0.0276±2.759*10 ⁻⁴	0.0546±5.454*10 ⁻⁴	0.0942±7.499*10 ⁻⁴	0.125±1.251*10 ⁻⁴
3	0.0126±1.256*10 ⁻⁴	0.0291±2.129*10 ⁻⁴	0.0591±5.907*10 ⁻⁴	0.0949±7.842*10 ⁻⁴	0.129±1.286*10 ⁻⁴
4	0.0171±1.715*10 ⁻⁴	0.0337±3.371*10 ⁻⁴	0.0677±6.776*10 ⁻⁴	0.0984±6.775*10 ⁻⁴	0.131±1.306*10 ⁻⁴
6	0.0256±2.558*10 ⁻⁴	0.0421±4.214*10 ⁻⁴	0.0683±6.815*10 ⁻⁴	0.1186±1.009*10 ⁻⁴	0.151±1.510*10 ⁻⁴
12	0.0293±2.932*10 ⁻⁴	0.0562±5.616*10 ⁻⁴	0.0767±7.675*10 ⁻⁴	0.1208±1.172*10 ⁻⁴	0.153±1.530*10 ⁻⁴
18	0.0351±3.151*10 ⁻⁴	0.0595±5.953*10 ⁻⁴	0.0942±9.417*10 ⁻⁴	0.1491±9.915*10 ⁻⁴	0.151±1.509*10 ⁻⁴
24	0.0310±3.095*10 ⁻⁴	0.0496±4.962*10 ⁻⁴	0.0856±8.560*10 ⁻⁴	0.1037±8.096*10 ⁻⁴	0.187±1.869*10 ⁻⁴
30	0.0328±3.283*10 ⁻⁴	0.0481±4.801*10 ⁻⁴	0.0858±8.583*10 ⁻⁴	0.1046±8.333*10 ⁻⁴	0.195±1.952*10 ⁻⁴

En el cuadro anterior se muestran los resultados del cambio de concentración de biomasa con respecto al tiempo de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial con la cepa de levadura SA-1. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de biomasa seca y volumen final del medio de fermentación que se muestran en los cuadros 21 al 40, como se muestra en el cálculo 4.

Cuadro 44. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el segundo ensayo con la cepa de levadura común

Tiempo (h)	Biomasa inóculo inicial 1% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 3% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 5% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 7% <i>m/v</i>	Biomasa inóculo inicial 10% <i>m/v</i>
0	0.0104±1.041*10 ⁻⁴	0.0274±2.740*10 ⁻⁴	0.0500±5.00*10 ⁻³	0.0699±6.994*10 ⁻⁴	0.100±1.001*10 ⁻⁴
1	0.0113±1.113*10 ⁻⁴	0.0281±2.806*10 ⁻⁴	0.0530±5.299*10 ⁻⁴	0.0708±7.082*10 ⁻⁴	0.101±1.014*10 ⁻⁴
2	0.0115±1.145*10 ⁻⁴	0.0288±2.879*10 ⁻⁴	0.0574±5.744*10 ⁻⁴	0.0781±7.811*10 ⁻⁴	0.103±1.027*10 ⁻⁴
3	0.0119±1.191*10 ⁻⁴	0.0298±2.980*10 ⁻⁴	0.0611±6.115*10 ⁻⁴	0.0862±8.616*10 ⁻⁴	0.104±1.040*10 ⁻⁴
4	0.0125±1.253*10 ⁻⁴	0.0328±3.279*10 ⁻⁴	0.0668±6.683*10 ⁻⁴	0.0940±9.404*10 ⁻⁴	0.107±1.053*10 ⁻⁴
6	0.0129±1.289*10 ⁻⁴	0.0369±3.688*10 ⁻⁴	0.0704±7.040*10 ⁻⁴	0.762±7.619*10 ⁻⁴	0.107±1.067*10 ⁻⁴
12	0.0201±2.014*10 ⁻⁴	0.0529±5.290*10 ⁻⁴	0.0736±7.360*10 ⁻⁴	0.115±1.150*10 ⁻⁴	0.108±1.081*10 ⁻⁴
18	0.0319±3.185*10 ⁻⁴	0.0504±5.040*10 ⁻⁴	0.0772±7.721*10 ⁻⁴	0.1198±1.199*10 ⁻⁴	0.110±1.096*10 ⁻⁴
24	0.0325±3.253*10 ⁻⁴	0.0508±5.079*10 ⁻⁴	0.0810±8.096*10 ⁻⁴	0.1209±1.121*10 ⁻⁴	0.113±1.111*10 ⁻⁴
30	0.0349±3.349*10 ⁻⁴	0.0453±4.312*10 ⁻⁴	0.0920±9.200*10 ⁻⁴	0.1310±1.309*10 ⁻⁴	0.112±1.112*10 ⁻⁴

En el cuadro anterior se muestran los resultados del cambio de concentración de biomasa con respecto al tiempo de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial con la cepa de levadura común. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de biomasa seca y volumen final del medio de fermentación que se muestran en los cuadros 21 al 40, como se muestra en el cálculo 4.

Cuadro 45. Cambio de concentración de biomasa en el tiempo de fermentación para el segundo ensayo utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Biomasa inóculo inicial 1%/m/v	Biomasa inóculo inicial 3%/m/v	Biomasa inóculo inicial 5%/m/v	Biomasa inóculo inicial 7%/m/v	Biomasa inóculo inicial 10%/m/v
0	0.0100±1.001*10 ⁻⁴	0.0267±2.667*10 ⁻⁴	0.0474±4.742*10 ⁻⁴	0.070±7.001*10 ⁻⁴	0.100±1.008*10 ⁻⁴
1	0.0110±1.009*10 ⁻⁴	0.0429±4.291*10 ⁻⁴	0.0672±6.721*10 ⁻⁴	0.0740±9.394*10 ⁻⁴	0.101±1.013*10 ⁻⁴
2	0.0120±1.200*10 ⁻⁴	0.0439±4.391*10 ⁻⁴	0.0682±6.820*10 ⁻⁴	0.0750±9.422*10 ⁻⁴	0.102±1.02*10 ⁻⁴
3	0.0135±1.352*10 ⁻⁴	0.0454±4.544*10 ⁻⁴	0.0697±6.973*10 ⁻⁴	0.0784±9.494*10 ⁻⁴	0.102±1.022*10 ⁻⁴
4	0.0211±2.111*10 ⁻⁴	0.0530±5.302*10 ⁻⁴	0.0773±7.732*10 ⁻⁴	0.0677±9.837*10 ⁻⁴	0.106±1.056*10 ⁻⁴
6	0.0233±2.326*10 ⁻⁴	0.0552±5.518*10 ⁻⁴	0.0795±7.947*10 ⁻⁴	0.1008±1.186*10 ⁻⁴	0.114±1.137*10 ⁻⁴
12	0.0260±2.596*10 ⁻⁴	0.0532±5.318*10 ⁻⁴	0.0848±8.482*10 ⁻⁴	0.1172±1.121*10 ⁻⁴	0.117±1.168*10 ⁻⁴
18	0.0338±3.377*10 ⁻⁴	0.0554±5.536*10 ⁻⁴	0.0752±7.521*10 ⁻⁴	0.0991±1.491*10 ⁻⁴	0.149±1.486*10 ⁻⁴
24	0.0365±3.651*10 ⁻⁴	0.0500±5.000*10 ⁻⁴	0.0560±7.604*10 ⁻⁴	0.0810±1.037*10 ⁻⁴	0.137±1.371*10 ⁻⁴
30	0.0374±3.741*10 ⁻⁴	0.0516±5.159*10 ⁻⁴	0.0698±6.985*10 ⁻⁴	0.0833±1.046*10 ⁻⁴	0.141±1.413*10 ⁻⁴

En el cuadro anterior se muestran los resultados del cambio de concentración de biomasa con respecto al tiempo de fermentación para todos los tamaños de inóculo inicial con la cepa SA-1. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de biomasa seca y volumen final del medio de fermentación que se muestran en los cuadros 21 al 40, como se muestra en el cálculo 4.

Cuadro 46. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 1%/m/v

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.0103	18.826	8.897	6.364	3.565	0.000
1	0.0112	14.790	6.997	5.195	2.803	0.642
2	0.0115	13.606	6.449	4.994	2.584	1.185
3	0.0119	11.387	5.379	4.718	2.155	2.437
4	0.0125	9.169	2.913	4.590	1.167	4.551
6	0.0129	7.429	2.177	4.517	0.742	6.610
12	0.0200	2.684	0.203	2.099	0.382	8.196
18	0.0318	1.906	0.318	0.303	0.485	8.353
24	0.0329	1.104	0.208	0.282	0.614	8.866
30	0.0346	0.946	0.257	0.287	0.402	10.339

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 47. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.0285	18.826	8.897	6.364	3.565	0.000
1	0.0293	13.795	6.731	4.815	2.697	0.871
2	0.0322	11.672	6.271	4.485	2.512	1.250
3	0.0343	9.644	5.483	3.922	2.197	2.126
4	0.0362	8.326	3.519	2.518	1.410	3.493
6	0.0404	6.718	0.621	1.726	1.121	4.255
12	0.0503	2.311	0.553	0.681	1.077	9.186
18	0.0526	1.265	0.400	0.681	0.184	12.757
24	0.0531	1.450	0.373	0.647	0.429	11.357
30	0.0544	1.042	0.521	0.294	0.227	10.298

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 48. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.050	18.826	8.897	6.364	3.565	0.000
1	0.053	13.223	5.839	4.177	2.340	0.893
2	0.056	10.362	5.459	3.905	2.187	2.348
3	0.060	7.121	4.668	3.339	1.870	3.315
4	0.070	2.815	3.418	2.445	1.369	4.281
6	0.078	2.558	0.522	1.350	0.687	4.825
12	0.083	1.825	0.675	0.458	0.691	8.231
18	0.096	1.908	0.371	0.483	1.054	9.412
24	0.103	1.951	0.400	0.369	1.181	11.382
30	0.121	1.528	0.367	0.350	0.812	12.660

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 49. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.070	18.826	6.364	6.364	3.565	0.000
1	0.072	12.217	5.195	3.671	2.056	0.893
2	0.078	10.362	4.994	3.396	1.902	2.559
3	0.086	7.121	4.718	2.904	1.627	3.521
4	0.096	2.815	4.590	2.126	1.191	4.489
6	0.090	1.345	4.517	0.673	0.176	7.755
12	0.116	1.669	2.099	1.061	0.000	9.610
18	0.128	1.395	0.303	0.703	0.313	10.511
24	0.129	1.800	0.282	0.984	0.293	10.851
30	0.134	0.943	0.287	0.312	0.446	11.824

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 50. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa de levadura común con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/100mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.100	18.826	8.897	6.364	3.565	0.000
1	0.104	11.747	4.955	3.544	1.985	0.897
2	0.106	9.697	4.680	3.347	1.875	2.326
3	0.107	7.239	3.954	2.828	1.584	3.331
4	0.108	2.040	3.093	2.212	1.239	4.092
6	0.111	1.375	2.103	1.504	0.843	6.011
12	0.113	1.192	0.217	0.332	0.640	9.205
18	0.115	0.802	0.449	0.351	0.000	8.739
24	0.114	0.918	0.212	0.263	0.442	8.984
30	0.115	0.484	0.190	0.293	0.000	9.193

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 51. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 1%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.010	18.550	8.768	6.596	6.680	0.000
1	0.011	17.457	7.829	5.236	5.651	0.360
2	0.012	16.044	7.189	4.823	5.205	0.809
3	0.013	14.504	6.496	4.360	4.705	1.940
4	0.019	11.531	4.992	3.652	3.926	3.665
6	0.024	9.966	4.296	3.177	3.414	5.443
12	0.028	8.254	3.294	1.920	2.853	5.869
18	0.034	5.367	1.910	1.086	2.235	10.984
24	0.034	2.705	1.581	0.578	0.769	11.161
30	0.035	1.111	0.211	0.529	0.483	11.570

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas para cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 52. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 3%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.0267	18.550	8.768	6.596	6.680	0.000
1	0.0348	17.248	7.858	5.731	6.447	0.972
2	0.0358	15.731	7.181	5.220	5.872	1.900
3	0.0373	13.802	6.286	4.587	5.160	4.113
4	0.0434	11.566	5.268	3.844	4.324	5.022
6	0.0487	9.482	1.826	2.065	5.748	6.808
12	0.0547	7.204	1.854	1.668	3.536	7.636
18	0.0574	5.211	1.737	1.256	2.111	10.734
24	0.0498	1.618	0.000	0.376	1.242	11.267
30	0.0498	1.380	0.000	0.272	1.108	11.715

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas por cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 53. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 5%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.0471	18.550	8.134	5.757	4.660	0.000
1	0.0605	16.796	6.194	5.219	5.384	0.823
2	0.0614	14.762	5.548	4.587	4.732	1.848
3	0.0644	12.002	4.426	3.728	3.847	4.035
4	0.0725	9.073	3.346	2.819	2.908	4.888
6	0.0739	9.171	2.070	2.571	4.529	6.678
12	0.0808	7.268	1.749	1.894	3.580	9.341
18	0.0847	2.312	1.080	0.665	0.568	10.713
24	0.0708	1.394	0.199	0.670	0.524	11.474
30	0.0778	1.137	0.127	0.592	0.418	11.925

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas para cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 54. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 7%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.0700	18.550	8.134	5.757	4.660	0.000
1	0.0831	15.714	6.068	4.883	5.037	1.008
2	0.0840	11.889	5.175	3.695	3.812	1.955
3	0.0846	8.866	3.797	2.755	2.843	4.269
4	0.0867	6.039	2.642	1.878	1.937	5.224
6	0.0923	6.113	0.000	1.366	4.747	7.138
12	0.0940	4.888	2.033	0.683	2.172	8.852
18	0.1097	2.883	1.734	0.710	0.438	8.967
24	0.1190	1.025	0.000	0.596	0.493	9.567
30	0.1241	0.773	0.000	0.404	0.368	10.321

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas para cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 55. Datos promedio de concentración de biomasa, azúcares y etanol de los dos ensayos realizados utilizando la cepa SA-1 con un tamaño de inóculo inicial del 10%*m/v*

Tiempo (h)	Concentración promedio de biomasa (g/mL)	Concentración promedio azúcares totales ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio sacarosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio glucosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio fructosa ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)	Concentración promedio etanol ($\pm 1 \cdot 10^{-6}$ g/100mL)
0	0.100	18.550	8.134	5.757	4.660	0.000
1	0.113	16.652	6.830	5.288	5.465	1.263
2	0.114	13.141	4.876	4.218	4.349	2.450
3	0.115	9.702	3.537	3.117	3.214	5.350
4	0.118	6.852	2.546	2.172	2.246	6.783
6	0.132	6.232	0.842	1.903	3.580	7.404
12	0.135	4.806	1.749	1.404	2.137	8.568
18	0.150	2.778	1.221	0.868	0.727	10.897
24	0.162	1.470	0.254	0.666	0.610	11.743
30	0.168	0.727	0.090	0.333	0.314	12.230

Los datos de concentración de azúcares totales, sacarosa, glucosa, fructosa, etanol y biomasa se obtuvieron calculando el promedio entre los datos obtenidos para las dos corridas realizadas para cada tamaño de inóculo para cada cepa correspondiente.

Cuadro 56. Datos promedio de dos ensayos para estimar parámetros cinéticos con 1% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (g ⁻¹)	Inverso de la velocidad de reacción (h ⁻¹)	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.000911	0.000226	0.0595	0.0811	0.159
2	0.000239	0.000202	0.0704	0.0208	0.458
3	0.000399	0.000180	0.0800	0.0337	0.564
4	0.000581	0.000262	0.0973	0.0467	0.953
6	0.000225	0.000259	0.1205	0.0175	1.183
12	0.00118	0.00149	0.1978	0.0591	0.334
18	0.00197	0.01522	0.4357	0.0620	0.201
24	0.000183	0.00137	0.6644	0.0056	0.640
30	0.000279	0.0106	0.9755	0.0081	9.316
PROMEDIO	---	0.00331	---	---	1.534

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21-40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 57. Datos promedio de dos ensayos para estimar parámetros cinéticos con 3% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa levadura común

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h ⁻¹)	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.000832	0.000165	0.0613	0.0283	0.173
2	0.00283	0.00133	0.0785	0.0882	0.178
3	0.00216	0.00106	0.0938	0.0629	0.432
4	0.00185	0.00140	0.111	0.0511	1.036
6	0.00210	0.00262	0.132	0.0521	0.474
12	0.00164	0.0022	0.221	0.0326	1.118
18	0.000386	0.0022	0.559	0.00735	3.415
24	8.3605E-05	0.00272	0.736	0.00157	7.593
30	0.000211	0.00311	0.802	0.00389	2.599
Promedio		0.001876			1.891

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 58. Datos promedio de los dos ensayos para estimar parámetros cinéticos con 5% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.003	0.000	0.062	0.051	0.159
2	0.004	0.001	0.085	0.063	0.509
3	0.004	0.001	0.114	0.065	0.298
4	0.009	0.002	0.201	0.135	0.224
6	0.004	0.034	0.372	0.055	2.123
12	0.001	0.007	0.456	0.010	4.641
18	0.002	0.149	0.536	0.022	14.136
24	0.001	0.164	0.518	0.011	46.364
30	0.003	0.043	0.575	0.025	3.028
Promedio	---	0.0446	---	---	7.942

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 59. Datos promedio de dos ensayos para estimar parámetros cinéticos con 7% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa levadura común

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.002	0.000	0.064	0.034	0.135
2	0.006	0.003	0.089	0.072	0.898
3	0.008	0.002	0.114	0.094	0.297
4	0.010	0.002	0.201	0.106	0.225
6	-0.003	0.004	0.481	-0.033	2.222
12	0.004	0.079	0.664	0.037	5.725
18	0.002	0.044	0.653	0.016	3.288
24	0.000	0.003	0.626	0.002	0.839
30	0.001	0.006	0.729	0.006	1.135
Promedio	---	0.016	---	---	1.640

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 60. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 10% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa de levadura común

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.004	0.001	0.065	0.038	0.127
2	0.002	0.001	0.093	0.014	0.697
3	0.001	0.001	0.118	0.013	0.409
4	0.001	0.000	0.216	0.007	0.146
6	0.002	0.005	0.586	0.015	2.886
12	0.000	0.012	0.779	0.003	17.468
18	0.000	0.004	1.003	0.002	1.192
24	0.000	0.009	1.163	-0.002	2.101
30	0.000	0.004	1.426	0.002	0.482
Promedio	---	0.004	---	--	2.834

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 61. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 1% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (ml/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.0004	0.0004	0.0555	0.0373	0.3296
2	0.0010	0.0007	0.0597	0.0864	0.3175
3	0.0015	0.0010	0.0655	0.1172	0.7343
4	0.0061	0.0020	0.0768	0.3181	0.5803
6	0.0026	0.0034	0.0930	0.1084	1.1359
12	0.0005	0.0019	0.1098	0.0194	0.2489
18	0.0011	0.0024	0.1468	0.0329	1.7714
24	-0.0001	0.0003	0.2478	-0.0035	0.0664
30	0.0002	0.0009	0.5241	0.0066	0.2570
Promedio	---	0.00143	---	---	0.605

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 62. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 3% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (ml/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.00805	0.00618	0.05587	0.23155	0.746
2	0.00099	0.00066	0.06065	0.02781	0.612
3	0.00153	0.00079	0.06772	0.04102	1.147
4	0.00608	0.00272	0.07884	0.14028	0.407
6	0.00265	0.00254	0.09502	0.05439	0.857
12	0.00100	0.00264	0.11986	0.01831	0.363
18	0.00046	0.00139	0.16110	0.00806	1.554
24	-0.00127	0.00212	0.29290	-0.02555	0.148
30	0.00000	0.00008	0.66719	0.00006	1.885
Promedio	---	0.00212	---	---	0.85773

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 63. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 5% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.01334	0.00760	0.0566	0.2206	0.4692
2	0.00094	0.00046	0.0634	0.0154	0.5037
3	0.00298	0.00108	0.0747	0.0463	0.7924
4	0.00813	0.00278	0.0949	0.1121	0.2911
6	0.00068	0.01394	0.1096	0.0092	18.3517
12	0.00115	0.00362	0.1217	0.0142	1.3997
18	0.00065	0.00079	0.2088	0.0077	0.2768
24	-0.00231	0.01510	0.5397	-0.0326	0.8283
30	0.00117	0.02734	0.7904	0.0150	1.7585
Promedio	---	0.00808	---	---	2.7413

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 64. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 7% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.0130	0.0046	0.0584	0.1567	0.3553
2	0.0009	0.0002	0.0725	0.0109	0.2475
3	0.0006	0.0002	0.0964	0.0075	0.7656
4	0.0021	0.0007	0.1342	0.0239	0.3379
6	0.0028	0.0757	0.1646	0.0305	25.7144
12	0.0003	0.0013	0.1818	0.0029	1.3991
18	0.0026	0.0079	0.2574	0.0240	0.0573
24	0.0015	0.0050	0.5117	0.0130	0.3231
30	0.0009	0.0202	1.1124	0.0069	2.9843
Promedio	---	0.0129	---	---	3.576

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 65. Datos promedio de dos ensayos realizados para estimar parámetros cinéticos con 10% m/v de inóculo inicial utilizando la cepa SA-1

Tiempo (h)	Cambio de concentración de sustrato con respecto al tiempo (g/mL h)	Rendimiento instantáneo de biomasa con respecto al sustrato $Y_{x/s}$ (g/g)	Inverso concentración de azúcares fermentables (mL/g)	Inverso de la velocidad de reacción (h^{-1})	Rendimiento instantáneo de producto con respecto al sustrato $Y_{p/s}$ (g/g)
1	0.0123	0.0065	0.0568	0.1088	0.665
2	0.0011	0.0003	0.0671	0.0097	0.338
3	0.0016	0.0005	0.0876	0.0135	0.843
4	0.0027	0.0010	0.1208	0.0230	0.503
6	0.0071	0.0230	0.1529	0.0539	1.002
12	0.0004	0.0018	0.1812	0.0032	0.816
18	0.0025	0.0073	0.2637	0.0165	1.148
24	0.0020	0.0093	0.4709	0.0126	0.647
30	0.0010	0.0084	0.9104	0.0062	0.656
Promedio	---	0.0065	---	---	0.735

En el cuadro anterior se muestran los cálculos realizados para estimar los parámetros cinéticos utilizados para simular el proceso de fermentación en el simulador Berkeley Madonna. Los resultados se obtuvieron utilizando los datos de los Cuadros del 21 al 40, como se muestran en los cálculos del 5 al 8.

Cuadro 66. Rendimientos globales de biomasa con respecto al sustrato

Tamaño de inóculo (%m/v)	Cepa de levadura	Rendimiento de biomasa con respecto al sustrato para la primera corrida $Y_{x/s}$ (g/g)	Rendimiento de biomasa con respecto al sustrato para la segunda corrida $Y_{x/s}$ (g/g)	Promedio
1%	Cepa de levadura común	0.00133	0.00139	0.00136
1%	Cepa SA-1	0.00127	0.00160	0.00143
3%	Cepa de levadura común	0.00186	0.00102	0.00144
3%	Cepa SA-1	0.00120	0.00149	0.00135
5%	Cepa de levadura común	0.00138	0.00135	0.00137
5%	Cepa SA-1	0.00221	0.00129	0.00175
7%	Cepa de levadura común	0.00373	0.00348	0.00360
7%	Cepa SA-1	0.000742	0.00195	0.00135
10%	Cepa de levadura común	0.000676	0.00139	0.00103
10%	Cepa SA-1	0.00523	0.00233	0.00378

En el cuadro anterior se muestran los resultados de rendimiento global de biomasa con respecto al sustrato para todos los tamaños de inóculo inicial para cada cepa de levadura evaluada. Los resultados se obtuvieron como se muestra en el cálculo 7 y 8.

Cuadro 67. Rendimientos globales de producto con respecto al sustrato

Tamaño de inóculo	Cepa de levadura	Rendimiento de producto con respecto al sustrato para la primera corrida Y_{P/S} (g/g)	Rendimiento de producto con respecto al sustrato para la segunda corrida Y_{P/S} (g/g)	Promedio
1%	Cepa de levadura común	0.576	0.5661	0.571
1%	Cepa SA-1	0.697	0.628	0.662
3%	Cepa de levadura común	0.701	0.452	0.577
3%	Cepa SA-1	0.688	0.675	0.682
5%	Cepa de levadura común	0.576	0.566	0.571
5%	Cepa SA-1	0.690	0.679	0.684
7%	Cepa de levadura común	0.748	0.570	0.659
7%	Cepa SA-1	0.6981	0.460	0.579
10%	Cepa de levadura común	0.508	0.445	0.476
10%	Cepa SA-1	0.713	0.658	0.685

En el cuadro anterior se muestran los resultados de rendimiento global de biomasa con respecto al sustrato para todos los tamaños de inóculo inicial para cada cepa de levadura evaluada. Los resultados se obtuvieron como se muestra en el cálculo 7 y 8.

Cuadro 68. Productividades globales de cada cepa evaluada

Tamaño de inóculo	Cepa de levadura	Productividad (%m/v h ⁻¹)
1%	Cepa de levadura común	1.261
1%	Cepa SA-1	0.816
3%	Cepa de levadura común	1.33
3%	Cepa SA-1	0.96
5%	Cepa de levadura común	1.503
5%	Cepa SA-1	1.115
7%	Cepa de levadura común	2.224
7%	Cepa SA-1	1.149
10%	Cepa de levadura común	2.111
10%	Cepa SA-1	1.212

En el cuadro anterior se muestran las productividades calculadas con el promedio de los datos para cada tamaño de inóculo con cada una de las cepas estudiadas, los datos se obtuvieron analizando el modelo cinético realizado en Berkeley Madonna.

C. Datos de reactivos y equipos

I. Datos de reactivos

Cuadro 69. Datos de urea utilizada como nutriente para el medio de fermentación

Reactivo	Urea
Marca	Productos químicos
Pureza	46%p/p
Temperatura de almacenamiento	25-30°C

II. Datos de equipo

Cuadro 70. Datos balanza analítica

Equipo	Balanza analítica
Marca	OHAUS
Modelo	T54000
Capacidad máxima (g)	5000
Incertidumbre (g)	±0.005

Cuadro 71. Datos refractómetro

Equipo	Refractómetro
Marca	ATAGO
Modelo	RX-5000
Rango (nD)	1.32700-1.58000
Incertidumbre (nD)	± 0.0002

Cuadro 72. Datos Potenciómetro

Equipo	Potenciómetro
Marca	OHAUS
Modelo	ST20
Rango (pH)	0.00-14
Incertidumbre (pH)	± 0.01

Cuadro 73. Datos equipo de cromatografía de alta resolución (HPLC)

Equipo	Detector de índice de refracción P-1200
Marca	Agilent
Modelo	P-1200
Clasificación	100-120/220-240 v- 50/60Hz

Cuadro 74. Datos balanza de laboratorio

Equipo	Balanza de laboratorio
Marca	OHAUS
Modelo	CS3000
Capacidad máxima (g)	3000
Incertidumbre (g)	± 0.1

Cuadro 75. Datos de esterilizador de autoclave

Equipo	Esterilizador de autoclave
Modelo	5075ELV-D
Volumen de la cámara (L)	160
Requisitos de voltaje	230V/50-60Hz, trifásico
Temperatura máxima (°C)	135

Cuadro 76. Datos incubadora con agitación

Equipo	Incubadora con agitación
Marca	New Brunswick scientific
Modelo	Series 25
Velocidad máxima (rpm)	500
Temperatura máxima (°C)	100
Clasificación	120V-60Hz 12kW

Cuadro 77. Datos incubadora con agitación

Equipo	Incubadora con agitación
Marca	SerProoma
Modelo	SI-600
Velocidad máxima (rpm)	400
Temperatura máxima (°C)	80
Clasificación	120V-60Hz 7.5A

Cuadro 78. Datos centrifuga

Equipo	Centrífuga
Marca	SORVALL
Modelo	RT7
Rango de temperatura (°C)	-20-40
Cubos	4
Velocidad de rotación máxima (rpm)	3800
Clasificación	220-240V, 50Hz

D. Cálculos de muestra

Cálculo 1. masa de melaza de caña de azúcar para preparar medio de fermentación a una concentración del 20%*m/v* de azúcares fermentables.

$$C_1 P_1 = C_2 P_2$$

$$\left(62.8864\% \frac{m}{v}\right) P_1 = \left(20\% \frac{m}{v}\right) (6729.75g)$$

$$P_1 = \frac{\left(20\% \frac{m}{v}\right) (6,729.75g)}{\left(62.8864\% \frac{m}{v}\right)} = 2,140.3g \text{ de melaza}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar el peso de la melaza requerida para obtener una concentración de azúcares fermentables del 20%*m/v*, donde C_1 representa la concentración inicial de azúcares fermentables presentes en la melaza, P_1 el peso de la melaza requerida para diluir, C_2 la concentración de azúcares a la que se busco llegar (20%*m/v*) y P_2 el peso de medio de fermentación requerido.

Cálculo 2. Volumen de agua requerido para preparar el medio de fermentación a una concentración del 20%*m/v*.

$$\begin{aligned} \text{volumen de agua} &= \text{masa medio de fermentación} - \text{masa melaza} = \\ &6,729.75g - 2,140.30g \text{ de melaza} = 4,589.45g \text{ agua} \\ 4,589.45g \text{ agua} * \frac{1mL}{0.997g} &= 4,603.26mL - (250 mL \text{ urea}) - 2000mL \text{ de inóculo} \\ &= 2,353.26 \text{ mL de agua} \end{aligned}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar la cantidad de agua necesaria para preparar el medio de fermentación a una concentración del 20%*m/v* de azúcares fermentables. Considerando el agua que se añadió luego de esterilizar para la urea e inóculo.

Cálculo 3. Masa de urea.

$$6729.75mL * \frac{1g}{100mL} = 67.3g \text{ de urea}$$

El cálculo se realizó para calcular la cantidad de urea requerida para los 7500mL de medio de fermentación preparados para cada corrida de cada una de las cepas estudiadas.

Cálculo 4. Masa de levadura según tamaño de inóculo inicial.

$$1500mL \text{ de medio de fermentación} * \frac{3g \text{ de levadura}}{100mL} = 45g \text{ de levadura}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar la masa de levadura necesaria para el medio de fermentación según el tamaño de inóculo inicial establecido. Se realizó este mismo cálculo con los tamaños de inóculo inicial del 1, 5, 7 y 10%*m/v*.

Cálculo 5. Cambio de concentración de biomasa con respecto al cambio de tiempo de fermentación (Velocidad de crecimiento específica (μ)).

$$\frac{dC_n}{d_t} = \frac{\Delta C_n}{\Delta t} = \frac{0.0346g/mL - 0.0329g/mL}{30h - 24h} = \frac{0.000279g}{mL h}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar el cambio de concentración de sustrato (azúcares fermentables) con respecto al cambio del tiempo de fermentación. Donde dC_n es el cambio de concentración de sustrato y d_t el cambio de tiempo de fermentación. Para ello se utilizaron los datos de los cuadros del 21 al 40, los resultados se pueden observar en los cuadros del 36 al 53.

Cálculo 6. Inverso de la concentración de sustrato para determinar parámetros cinéticos de K_S y μ_{max}

$$\frac{1}{[S]} = \frac{1}{\frac{14.79g}{100 mL} + \frac{13.605g}{100 mL}} = 0.000704 \text{ mL/g}$$

El cálculo anterior se realizó para calcular el inverso de promedio de concentración de sustrato (azúcares fermentables en el tiempo de fermentación), esto para estimar los parámetros cinéticos de constante de asociación (K_S) y velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}). Esto se realizó con los datos de los cuadros 21 al 40, los resultados se pueden observar en los cuadros del 35 al 53.

Cálculo 7. Rendimiento global de biomasa con respecto al sustrato

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta C_{biomasa}}{\Delta C_{Sustrato}} = \frac{(0.01030 - 0.0346)g/mL}{(0.00 - 9460.18825)g/mL} = 0.135 \frac{g \text{ biomasa}}{g \text{ sustrato}}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar el rendimiento global de generación de biomasa con respecto al consumo de sustrato. Para ellos se utilizaron los datos de los cuadros 21 al 40, los resultados se pueden observar en los cuadros del 35 al 53, para cada tamaño de inóculo inicial, por cada una de las cepas de levadura.

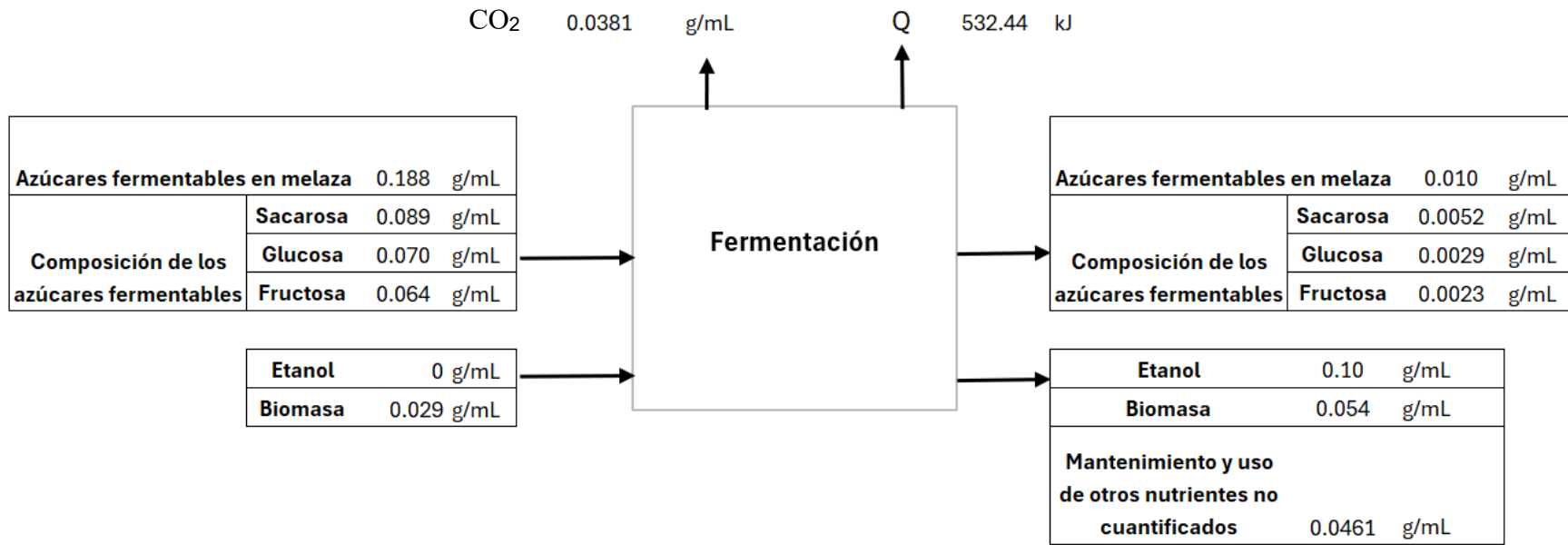
Cálculo 8. Rendimiento global de producto con respecto al sustrato

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta C_{Producto}}{\Delta C_{Sustrato}} = \frac{(10.330 - 0.00)g/100mL}{(18.825 - 0.946)g/100mL} = 0.578 \frac{g \text{ biomasa}}{g \text{ sustrato}}$$

El cálculo anterior se realizó para determinar el rendimiento global de generación de producto (etanol) con respecto al consumo de sustrato. Para ellos se utilizaron los datos de los cuadros 21 al 40, los resultados se pueden observar en los cuadros del 35 al 53, para cada tamaño de inóculo inicial, por cada una de las cepas de levadura.

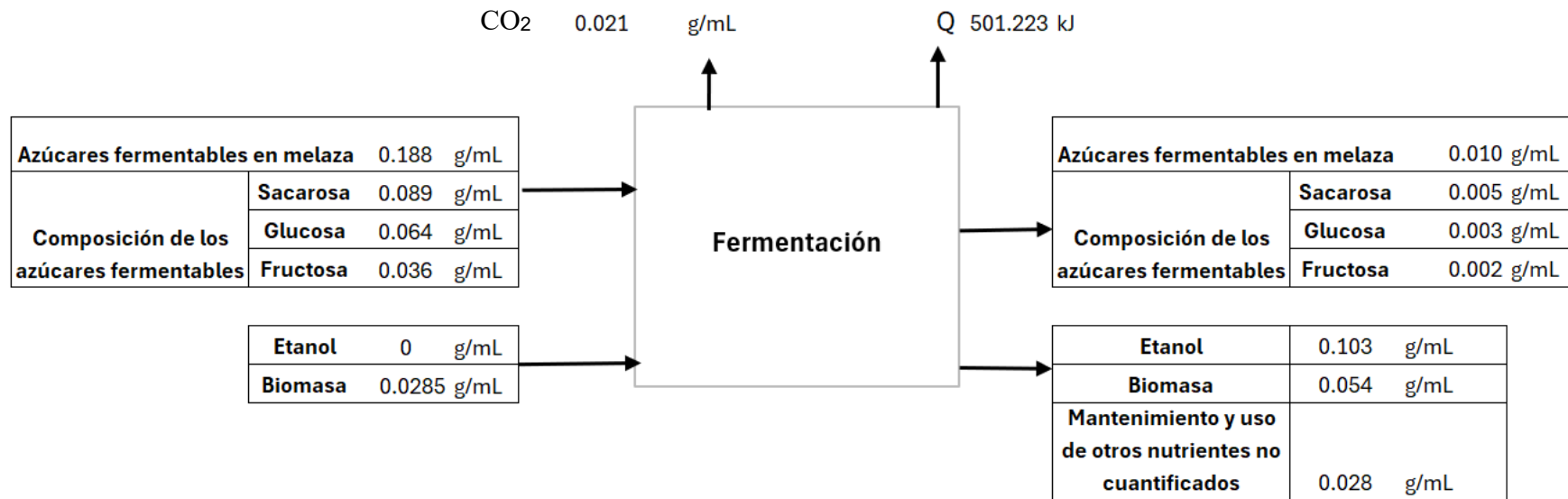
E. Balance de masa y energía

Figura 28. Balance de masa para inóculo inicial 1%*m/v* con cepa de levadura común después de 30h de fermentación



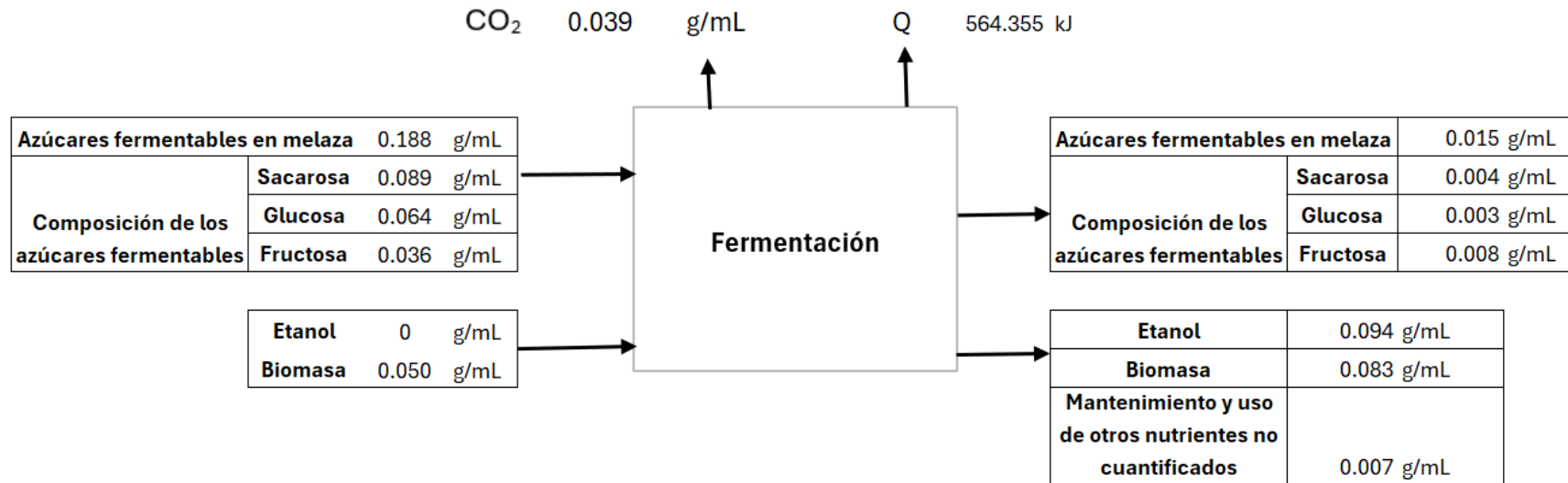
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h. El CO_2 generado y mantenimiento celular se cuantificaron de manera teórica.

Figura 29. Balance de masa para inóculo inicial 3%/m/v con cepa de levadura común después de 30h de fermentación



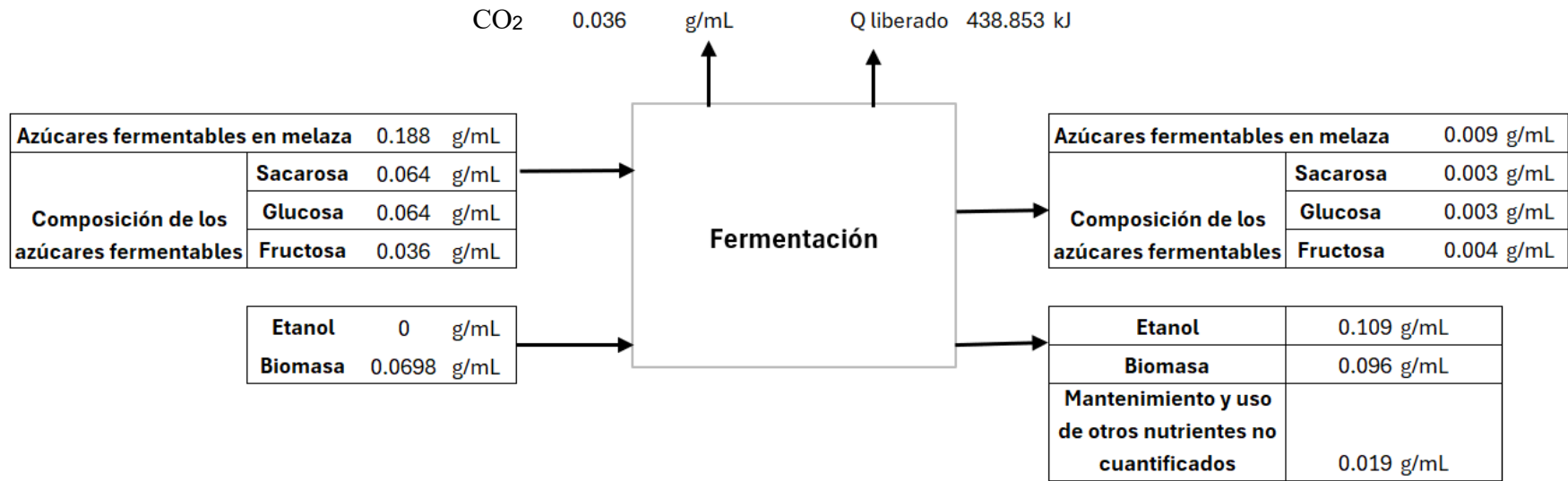
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h. El CO₂ generado y mantenimiento celular se cuantificaron de manera teórica.

Figura 30. Balance de masa para inóculo inicial 5%/m/v con cepa de levadura común después de 30h de fermentación



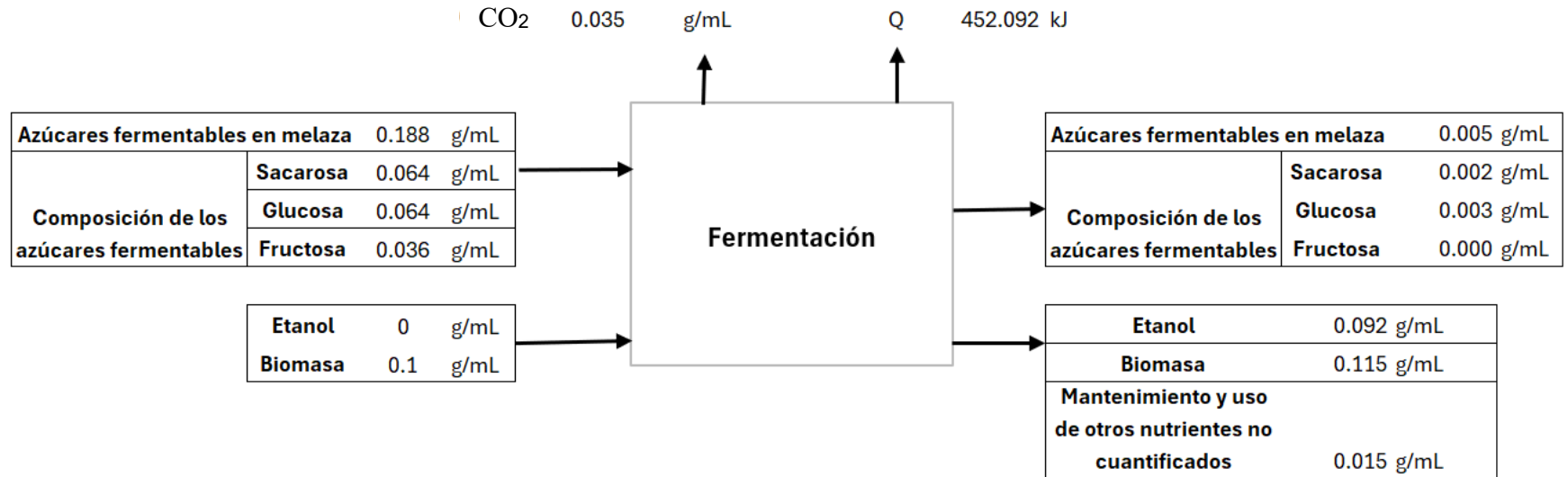
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 31. Balance de masa para inóculo inicial 7%*m/v* con cepa de levadura común después de 30h de fermentación



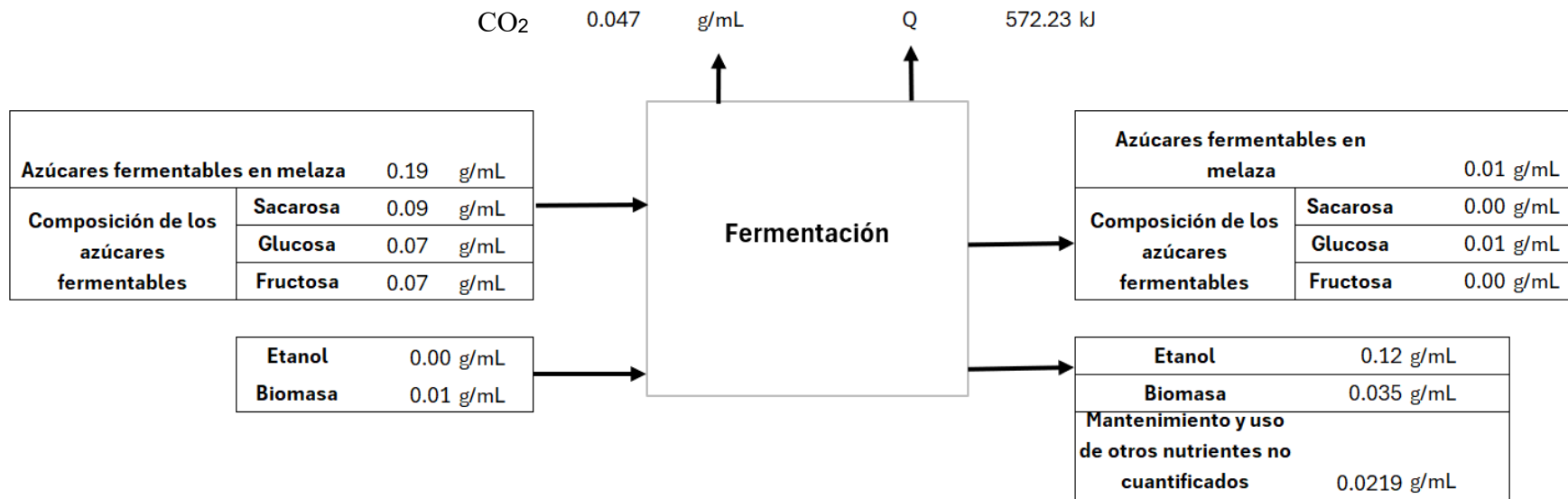
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 32. Balance de masa para inóculo inicial 10%*m/v* con cepa de levadura común después de 30h de fermentación



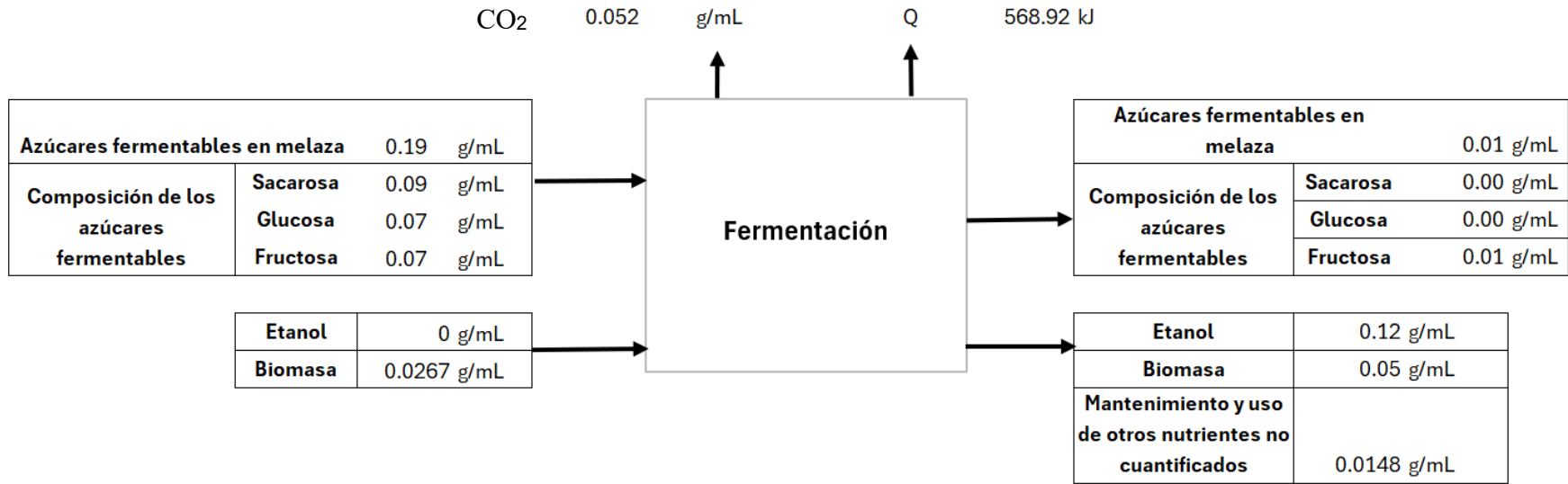
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 33. Balance de masa para inóculo inicial 1%*m/v* con cepa de levadura SA-1 después de 30h de fermentación



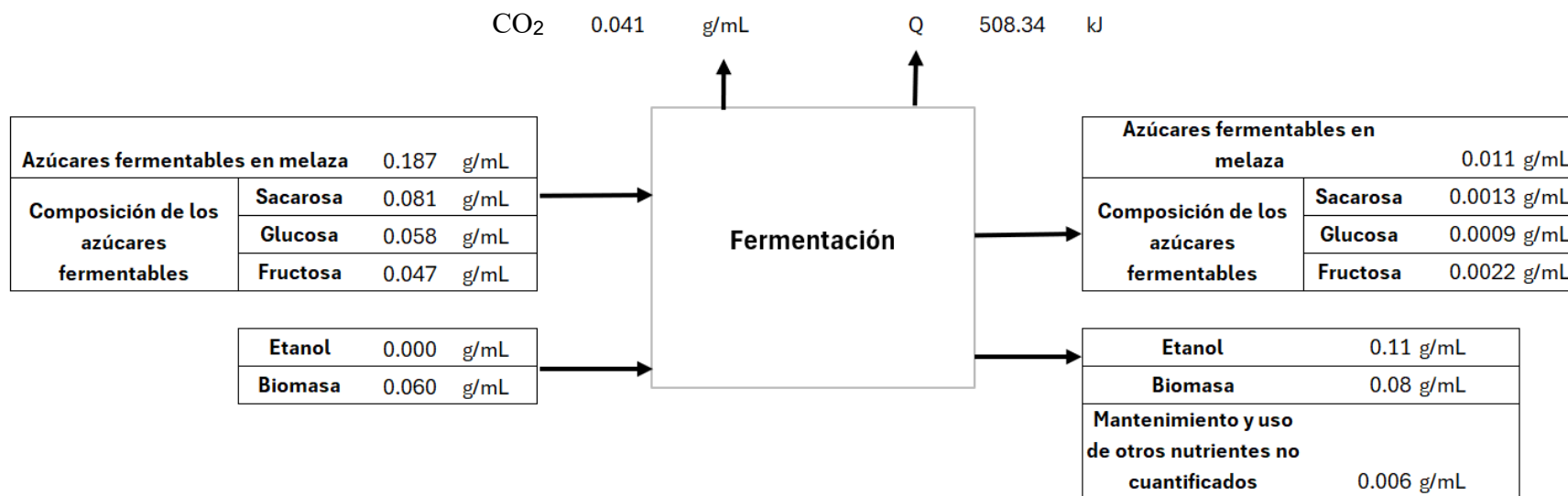
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 34. Balance de masa para inóculo inicial 3%*m/v* con cepa de levadura SA-1 después de 30h de fermentación



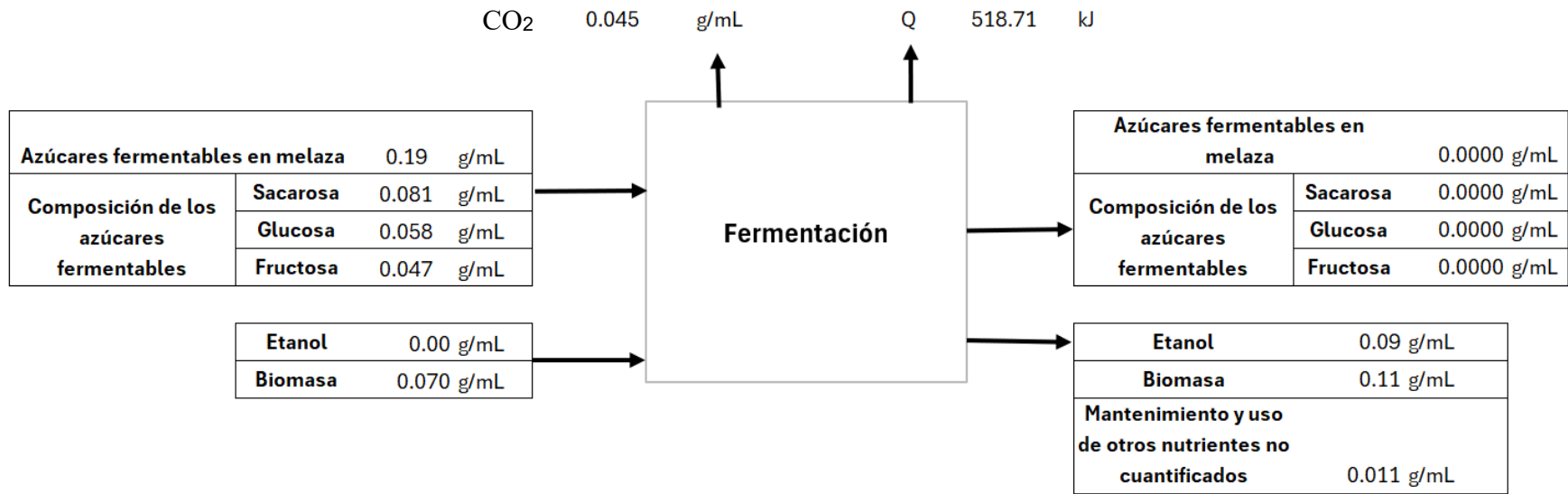
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 35. Balance de masa para inóculo inicial 5%*m/v* con cepa de levadura SA-1 después de 30h de fermentación



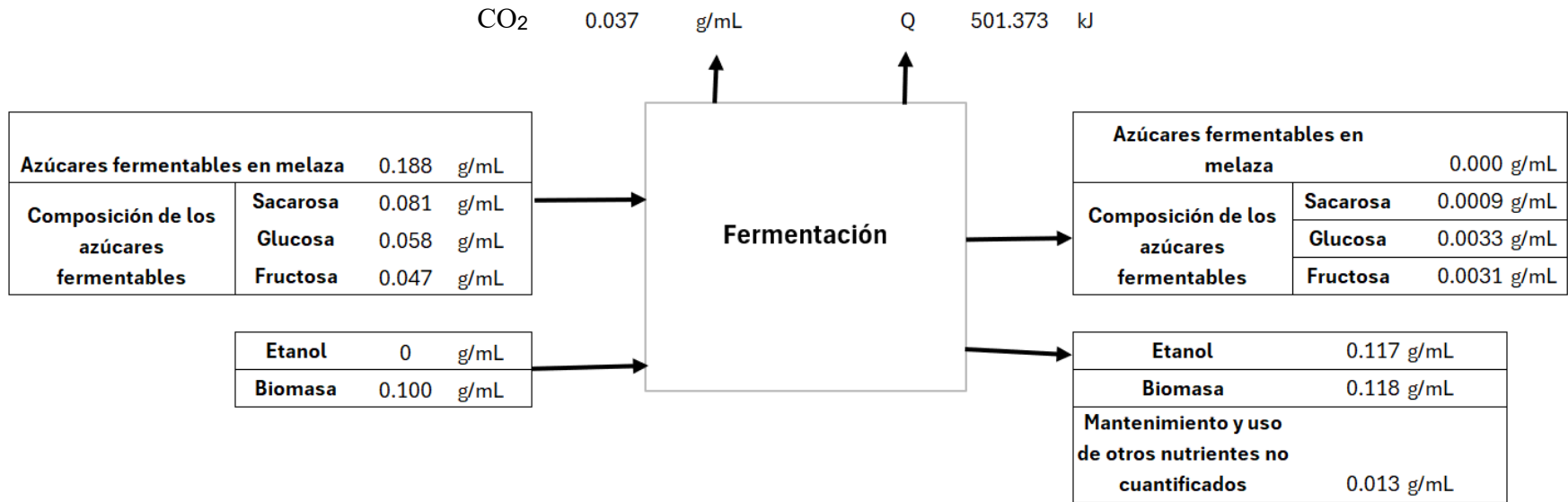
Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 36. Balance de masa para inóculo inicial 7%*m/v* con cepa de levadura SA-1 después de 30h de fermentación



Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

Figura 37. Balance de masa para inóculo inicial 10%*m/v* con cepa de levadura SA-1 después de 30h de fermentación



Se muestra el balance de masa y energía de la fermentación de melaza de caña de azúcar, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 34°C y 250rpm durante 30h.

F. Análisis de error

Cálculo 9. Cálculo de incertidumbre para operaciones con división y multiplicación

$$S_R = |R| * \sqrt{\left(\frac{S_X}{X}\right)^2 + \left(\frac{S_Y}{Y}\right)^2 + \left(\frac{S_Z}{Z}\right)^2} \dots = |19.4\%| * \sqrt{\left(\frac{\pm 37 \text{ g}}{567 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{\pm 34 \text{ g}}{2927 \text{ g}}\right)^2}$$

l. = $\pm 1.3\%$

Donde:

S_R = Incertidumbre del resultado (multiplicación/división)

R = Valor del resultado del cálculo

X, Y, Z... = Valor de cada cantidad

$S_{X,Y,Z,\dots}$ = Incertidumbre de cada cantidad X, Y, Z, (Durazo, 2016)

Cálculo 10. Cálculo de incertidumbre para operaciones con suma y diferencia

$$S_R = \sqrt{(S_X)^2 + (S_Y)^2 + (S_Z)^2} \dots = \sqrt{(\pm 0.1 \text{ kg})^2 + (\pm 0.1 \text{ kg})^2} = \pm 0.14 \text{ kg}$$

Donde:

S_R = Incertidumbre del resultado (suma/diferencia)

$S_X, S_Y, S_Z \dots$ = Incertidumbre de cada cantidad X, Y, Z (Durazo, 2016)

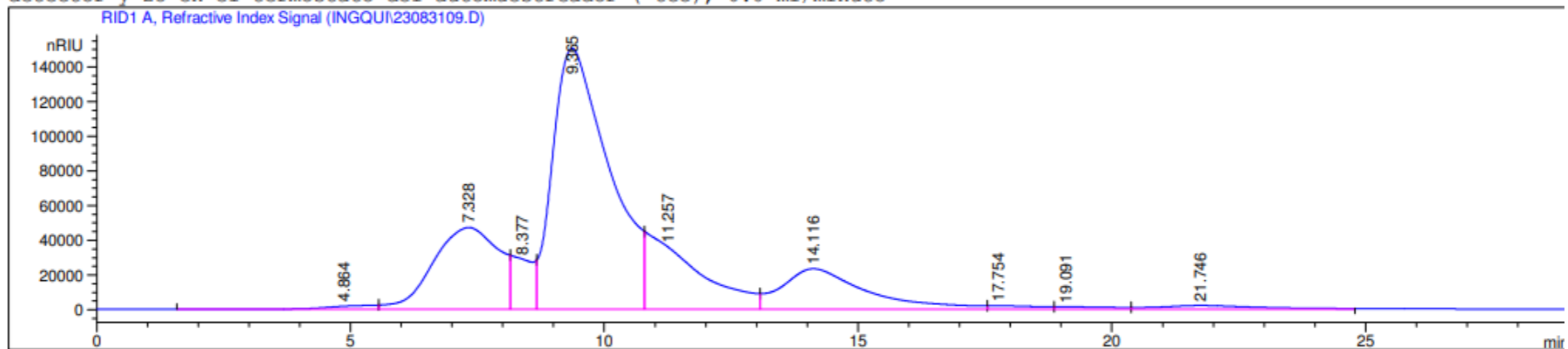
G. Cromatogramas

Figura 38. Resultado de HPLC para caracterización de azúcares fermentables de la melaza de caña de azúcar realizado en el Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la Universidad del Valle de Guatemala

```

=====
Injection Date   : 8/31/2023 6:40:38 PM           Seq. Line :    9
Sample Name     : MELAZA 1:10                   Location  : Vial 9
Acq. Operator   : AdeM                          Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                  Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZAGUA.M
Last changed    : 8/21/2023 11:15:14 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZHIPLCA.M
Last changed    : 9/1/2023 9:39:02 AM by AdeM
                (modified after loading)

Metodo para determinacion de azucares, columnas Agilent Hi Plex Ca 300x7.8mm , 5µm, fase movil Agua, temperatura de 75, 55 en el
detector y 25 en el termostato del automuestreador ( tcc), 0.6 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 9/1/2023 9:38:17 AM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

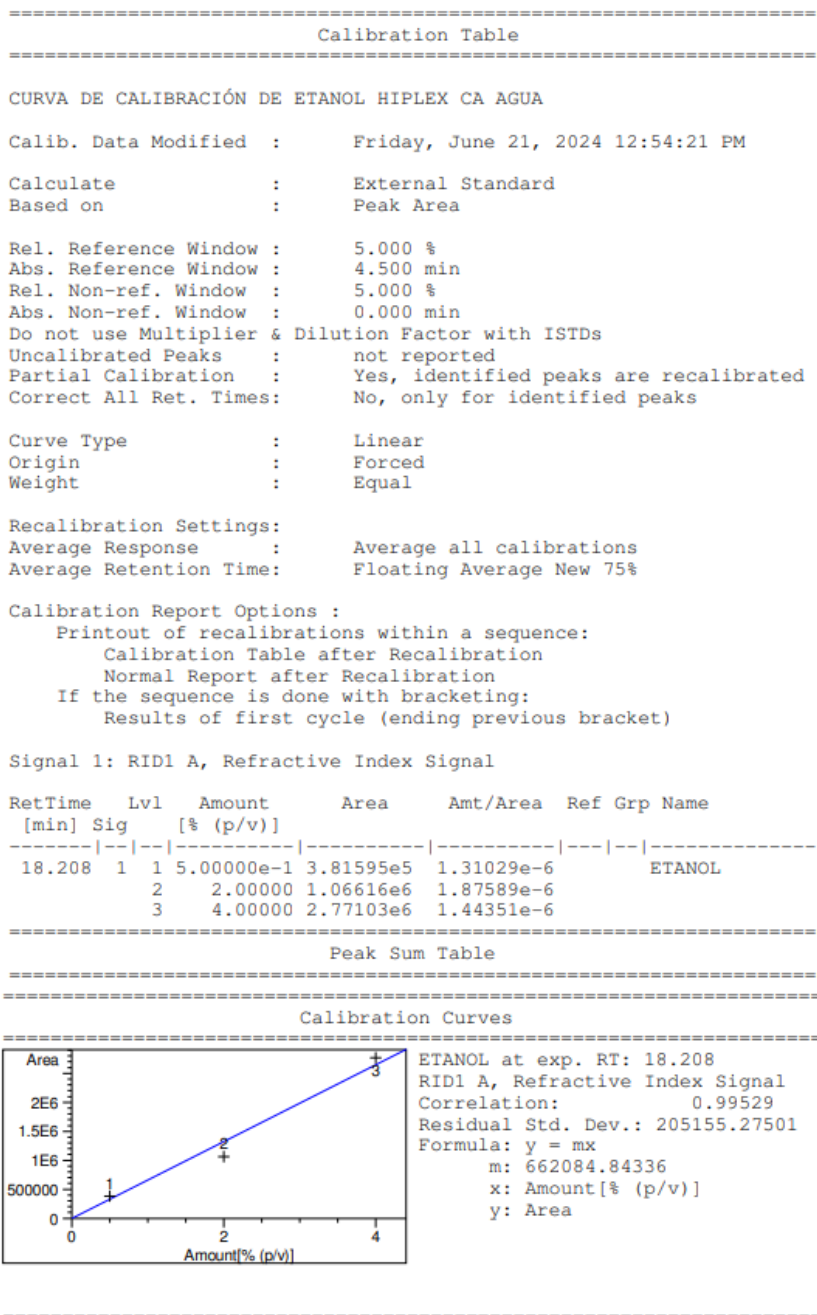
RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [% (p/v)]	Grp	Name
9.365	VV	1.16336e7	3.71062e-7	4.31680		SACAROSA
11.257	VV B	3.09681e6	3.28495e-7	1.01729		GLUCOSA
14.116	VV	2.71317e6	3.51818e-7	9.54544e-1		FRUCTOSA

Totals : 6.28864

Figura 39. Curva de calibración HPLC para sacarosa, glucosa y fructosa

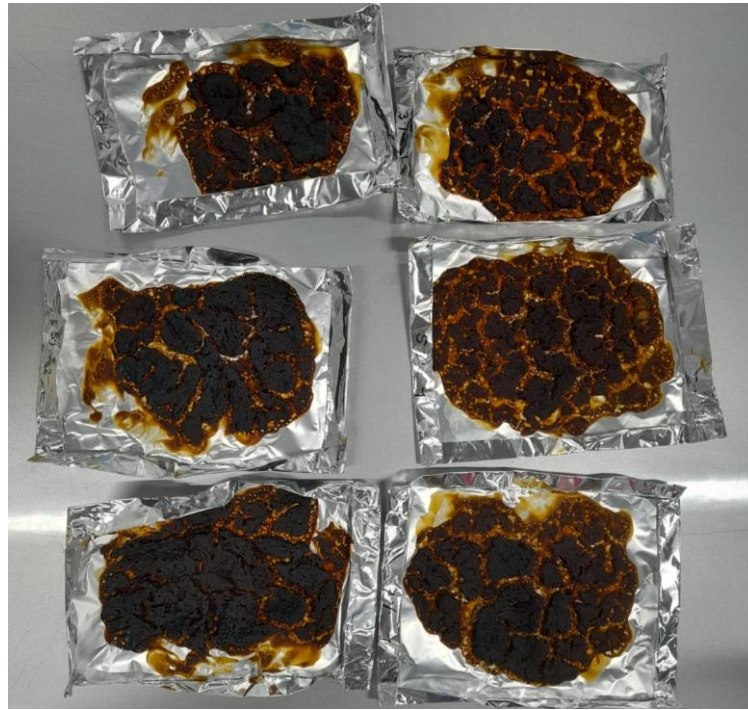


Figura 40. Curva de calibración HPLC para etanol



H. Ilustraciones

Figura 41. Biomasa seca



Fuente: Elaboración propia en Laboratorio de Bioprocesos industriales

Figura 42. Sistema de fermentación



Fuente: Elaboración propia en Laboratorio de Bioprocesos industriales

Figura 43. Cepa de levadura común



Fuente: Elaboración propia en Laboratorio de Bioprocesos industriales)

Figura 44. Cepa de levadura SA-1



Fuente: Elaboración propia en Laboratorio de Bioprocesos industriales

Figura 45. Ejemplo de código utilizado en Berkeley Madonna

```
METHOD RK4
STARTTIME = 0
STOPTIME = 30
DT = 0.002
{Type Equations Here.}
R1=(b+a*u)*(X)
R4=(((mx*S)/(Ks+S))*(exp(-P/Kp)))*(X)
R2=-u*(X+2)/Yxs
R3=u*(X+0.5)*Yxp
u=(mx*(S-0.946))/(Ks+(S-0.946))
mx=0.2267573696
Ks=6.2137868481
Yxs=0.088115
Yxp=0.9556
Kp=0.05
a=0.2
b=0.0025
INIT X=0.01012667
INIT S=18.8255
INIT P=0
d/dt(X)=IF TIME <18 THEN R1 ELSE R4
d/dt(S)=R2
d/dt(P)=IF TIME <24 THEN R3 ELSE 0.23
```

I. Glosario

Azúcares fermentables. Los azúcares fermentables son carbohidratos simples que los microorganismos, como las levaduras y bacterias, pueden metabolizar durante la fermentación. Ejemplos comunes incluyen la glucosa (dextrosa), la fructosa, la sacarosa (un disacárido de glucosa y fructosa). Durante la fermentación, estos azúcares se convierten en etanol, dióxido de carbono y otros subproductos.

Biomasa seca. La biomasa seca se refiere a la cantidad de microorganismos en un medio de fermentación después de haber sido completamente deshidratados. Este método de medición elimina el agua presente en las células y el medio, proporcionando un valor más preciso del contenido de biomasa sin la variabilidad introducida por la humedad (Phaff & Mraak, 1954).

Cepa de levadura. Una cepa de levadura es una subvariante genética de una especie de levadura que tiene características específicas que la diferencian de otras cepas dentro de la misma especie. Estas características pueden incluir su capacidad para fermentar diferentes tipos de azúcares, su tolerancia a condiciones como el pH y la temperatura, y su resistencia al alcohol y otros inhibidores (Catileja, et al., 2015).

Inóculo inicial. Preparación sólida o líquida que contiene una cantidad determinada de microorganismos como bacterias y hongos, que son introducidos a la fermentación (Sood, Bhat, & Kumar, 2011)