

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



“Fermentación por lotes del jugo de sorgo dulce para producción de etanol a nivel laboratorio”

Trabajo de graduación presentado por Anahí Amado Boesch para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química

Guatemala  
2012



“Fermentación por lotes del jugo de sorgo dulce para producción de etanol a nivel laboratorio”

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



“Fermentación por lotes del jugo de sorgo dulce para producción de etanol a nivel laboratorio”

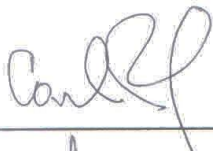
Trabajo de graduación presentado por Anahí Amado Boesch para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química


Guatemala  
2012


Vo. Bo. :

(f)   
Lic. Luis Roberto De León  
Asesor

Tribunal Examinador:

(f)   
Ing. Carlos Rolz

(f)   
Ing. Gamaliel Zambrano

(f)   
Lic. Luis Roberto De León

Fecha de aprobación: Guatemala, 7 de diciembre de 2012

# CONTENIDO

|  |      |
|--|------|
| CONTENIDO.....   | vi   |
| LISTA DE CUADROS.....  | viii |
| LISTA DE FIGURAS .....   | xi   |
| LISTA DE ILUSTRACIONES.....  | xii  |
| LISTA DE GRÁFICOS.....   | xiii |
| RESUMEN .....  | xiii |
| ABSTRACT .....   | xiv  |
| I. INTRODUCCIÓN.....   | 1    |
| II. ANTECEDENTES .....   | 2    |
| A. Sorgo dulce .....   | 2    |
| 1. Sorgo dulce para producción de etanol.....                              | 2    |
| 2. Grano de sorgo dulce como alimento.....                                 | 3    |
| 3. Cultivo de sorgo dulce. ....  | 4    |
| B. Bioetanol .....   | 6    |
| 1. Características principales del bioetanol.....                          | 6    |
| 2. Bioetanol como combustible.....   | 7    |
| C. Proceso de fermentación de jugo de sorgo dulce .....                    | 10   |
| 1. Medio de cultivo.....   | 10   |
| 2. Fermentación utilizando levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . .... | 11   |
| 3. Producción de etanol. ....  | 11   |
| D. Tipos de fermentación .....   | 14   |
| 1. Fermentación discontinua ( <i>batch</i> ).....                          | 14   |
| 2. Fermentación por lote alimentado ( <i>fed-batch</i> ).....              | 15   |
| 3. Fermentación continua. ....   | 16   |
| E. Análisis de producción de bioetanol.....                                | 16   |
| 1. Rendimiento de producción de etanol.....                                | 16   |
| 2. Análisis cuantitativo de azúcares. ....                                 | 17   |
| 3. Análisis cuantitativo de alcoholes.....                                 | 17   |
| 4. Análisis de cinética de fermentación .....                              | 18   |
| III. JUSTIFICACIÓN .....   | 19   |
| IV. OBJETIVOS.....   | 20   |
| A. GENERAL .....   | 20   |
| B. ESPECÍFICOS.....  | 20   |
| V. METODOLOGÍA.....  | 21   |
| VI. RESULTADOS EXPERIMENTALES .....  | 23   |
| VII. DISCUSIÓN .....   | 29   |
| A. Aprovechamiento de la levadura.....                                     | 29   |
| B. Consumo de azúcares totales .....                                       | 29   |
| C. Porcentaje de eficiencia de conversión.....                             | 30   |
| D. Productividad volumétrica de etanol y rendimiento .....                 | 30   |
| E. Cinética de fermentación .....  | 31   |

|  |    |
|--|----|
| F. Diseño de proceso de fermentación ..... | 31 |
| VIII. CONCLUSIONES .....                   | 33 |
| IX. RECOMENDACIONES.....                   | 34 |
| X. BIBLIOGRAFÍA .....                      | 35 |
| XI. APÉNDICE .....                         | 37 |
| A. PROCEDIMIENTO .....                     | 37 |
| B. DATOS ORIGINALES .....                  | 48 |
| C. CALCULOS DE MUESTRA .....               | 53 |
| D. DATOS CALCULADOS .....                  | 58 |
| E. GRÁFICAS.....                           | 66 |
| F. ILUSTRACIONES .....                     | 69 |

## LISTA DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| Cuadro No.1: Contenido nutricional de trigo, maíz y sorgo, por cada 100 g. ....   | 4  |
| Cuadro No.2: Producción anual de <i>commodity</i> sorgo, aproximado para año 2012.....  | 5  |
| Cuadro No.3: Propiedades físico-químicas del etanol .....   | 6  |
| Cuadro No.4: Mezclas típicas de bioetanol-gasolina empleadas en diferentes países ....  | 7  |
| Cuadro No.5: Contenido energético de bioetanol comparado con combustibles fósiles. .  | 8  |
| Cuadro No.6: Especificación para combustible Etanol E95 con diesel, de DDC.....   | 9  |
| Cuadro No.7: Especificación para combustible Etanol E85 con gasolina, de GM.....  | 9  |
| Cuadro No.8: Utilización de levadura .....  | 23 |
| Cuadro No.9: Producción de etanol y consumo de glucosa para las diferentes estrategias de fermentación por lote alimentado de jugo de sorgo dulce .....   | 23 |
| Cuadro No.10: Productividad volumétrica, rendimiento de etanol y eficiencia de conversión de glucosa a etanol, para las diferentes estrategias de fermentación por lote alimentado de jugo de sorgo dulce. .... | 24 |
| Cuadro No.11: Especificaciones de los equipos a utilizar en prueba a nivel laboratorio  | 46 |
| Cuadro No.12: Especificaciones de los equipos a utilizar en prueba a nivel laboratorio .....  | 47 |
| Cuadro No.13: Condiciones de operación cromatografía de capa líquida de alta resolución.....  | 48 |
| Cuadro No.14: Condiciones de operación cromatografía de gases .....   | 48 |
| Cuadro No.15: Datos para curva patrón de glucosa leída a longitud de onda de 490 nm .....   | 48 |
| Cuadro No.16: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de capa líquida de alta resolución para análisis de azúcares en cuatro concentraciones diferentes, primer análisis. ....                         | 49 |
| Cuadro No.17: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de capa líquida de alta resolución para análisis de azúcares en cuatro concentraciones diferentes, segundo análisis. ....                        | 49 |

|   |    |
|---|----|
| Cuadro No.18: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de gases para análisis de alcohol en cinco concentraciones diferentes de estándar interno isopropanol, primer análisis.....  | 50 |
| Cuadro No.19: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de gases para análisis de alcohol en cinco concentraciones diferentes de estándar interno isopropanol, segundo análisis con muestras diluidas. ....                                    | 50 |
| Cuadro No.20: Datos para curva patrón de concentración de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> contra absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. ....  | 50 |
| Cuadro No.21: Peso seco de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> utilizada para la fermentación y absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm. ....  | 50 |
| Cuadro No.22: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.....   | 51 |
| Cuadro No.23: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50 .....   | 51 |
| Cuadro No.24: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50 .....  | 52 |
| Cuadro No.25: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25 .....   | 52 |
| Cuadro No.26: Análisis de contenido de alcohol para el jugo de sorgo dulce antes y después de dilución 10:3.....  | 53 |
| Cuadro No.27: Ecuación y factor de correlación para curva patrón de concentración de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> contra absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. ....   | 58 |
| Cuadro No.28: Concentración de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> según la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm, a partir de la ecuación de la curva patrón. ....  | 58 |
| Cuadro No.29: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, , consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.....                              | 59 |
| Cuadro No.30: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50..... | 60 |

|   |    |
|---|----|
| Cuadro No.31: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50 ..... | 60 |
| Cuadro No.32: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25 .....    | 61 |
| Cuadro No.33: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple. ...  | 61 |
| Cuadro No.34: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50 .....  | 62 |
| Cuadro No.35: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50 .....   | 62 |
| Cuadro No.36: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25 .....  | 63 |
| Cuadro No.37: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple. ....  | 63 |
| Cuadro No.38: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50. ....   | 64 |
| Cuadro No.39: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50. ....  | 64 |
| Cuadro No.40: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25. ....   | 65 |

# LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura No.1: Diagrama de procesos alternativos para la conversión de sorgo dulce en combustible para producir energía. (Chiaramonti, 2004). ....                    | 3  |
| Figura No.2: Fórmula estructural de etanol .....  | 6  |
| Figura No.3: Análisis de ciclo para motor de ignición por compresión con diesel y etanol. (Hoja Técnica No. 930376, Sociedad de Ingenieros Automotrices, 1993)..... | 10 |
| Figura No.4: Fermentación de glucosa para producción de etanol por medio de levadura (Drapcho, 2008: 26).....   | 13 |
| Figura No.5: Esquema de (a) Fermentación por lote alimentado (b) Fermentación por lotes (c) Fermentación continua. ....   | 16 |
| Figura No.6: Modelo de crecimiento Monod. ....  | 18 |
| Figura No. 7: Diseño de proceso de fermentación por lote alimentado que mejora el rendimiento de producción de etanol, comparado con una fermentación simple. ....  | 28 |
| Figura No. 8: Procedimiento experimental.....   | 37 |
| Figura No. 9: Procedimiento experimental de fermentación simple, escala 1000 mL ....  | 38 |
| Figura No. 10 : Procedimiento experimental de fermentación simple, escala 200 mL ...  | 39 |
| Figura No. 11 : Procedimiento experimental de fermentación de lote alimentado estrategia 50:50:00, escala 1000 mL.....  | 40 |
| Figura No. 12 : Procedimiento experimental de fermentación de lote alimentado estrategia 50:50:00, escala 200 mL.....   | 41 |
| Figura No.13: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 25:25:50, escala 1000 mL .....   | 42 |
| Figura No.14: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 25:25:50, escala 200 mL .....  | 43 |
| Figura No.15: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 75:25:00, escala 200 mL .....  | 44 |
| Figura No.16: Diagrama de entradas y salidas para la fermentación de jugo de sorgo dulce .....  | 45 |

# LISTA DE ILUSTRACIONES

|  |    |
|--|----|
| Ilustración No.1: Cañas de sorgo dulce de Campus Sur de la Universidad del Valle de Guatemala, ubicado en Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla.....              | 69 |
| Ilustración No.2: Extracción de jugo de caña de sorgo dulce en trapiche en el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala..... | 69 |
| Ilustración No.3: Extracción de jugo de caña de sorgo dulce en trapiche en el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala..... | 70 |
| Ilustración No.4: Jugo de caña de sorgo dulce recién extraído.....   | 70 |
| Ilustración No.5: Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> crecida en caldo glucosa Sabouraud al 2%.....   | 71 |
| Ilustración No.6: Esterilización de jugo de sorgo dulce en autoclave.....  | 71 |
| Ilustración No.7: Fermentación de jugo de sorgo dulce en fermentador de 5 L. ....  | 72 |
| Ilustración No.8: Muestras de jugo de sorgo dulce para inyectar en cromatógrafo de capa líquida de alta resolución .....   | 72 |
| Ilustración No.9: Inyección de muestra de jugo de sorgo dulce fermentado en cromatógrafo de gases.....   | 73 |

# LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| Gráfica No. 1: Consumo de azúcar en la fermentación del jugo de sorgo dulce por diferentes estrategias de lote alimentado. ....                                    | 25 |
| Gráfica No. 2: Producción de etanol en la fermentación del jugo de sorgo dulce por diferentes estrategias de lote alimentado. ....                                 | 26 |
| Gráfica No. 3: Cinética de fermentación del jugo de sorgo dulce por diferentes estrategias de lote alimentado. ....  | 27 |
| Gráfica No. 3: Curva patrón de concentración de glucosa a una longitud de onda de 490 nm. ....   | 66 |
| Gráfica No. 5: Curva de relación entre grados Brix y contenido total de azúcares solubles para el jugo de sorgo dulce. ....  | 67 |
| Gráfica No. 6: Curva de patrón para concentración de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> según la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm ..... | 68 |

## RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación es mejorar el rendimiento de producción de etanol a partir del jugo de sorgo dulce por medio de fermentación por lote alimentado, utilizando tres estrategias diferentes en lotes de 24 horas. En la primera estrategia se inició con 25% del volumen total de sustrato, se alimentó 25% del volumen a las 24 horas y alimentación del 50% del volumen a las 48 horas (25:25:50). Del mismo modo se trabajó con la estrategia 50:50, iniciando con 50% del volumen total de sustrato y se alimentó 50% del volumen total a las 24 horas. La estrategia 75:25 se inició con 75% del volumen total de sustrato y se alimentó 25% del volumen total a las 24 horas. También se trabajó con una fermentación simple para comparación.

Se trabajó con una mezcla de jugo de sorgo dulce de las variedades Top 76-6, Umbrella, Dale, Della, Sugar Drip y M 81 E, a la cual se le agregó como nutrientes peptona, fosfato dibásico de potasio, sulfato de magnesio heptahidratado y extracto de levadura. Se agregó 10%v/v de levadura *Saccharomyces cerevisiae* 2 g/L al jugo.

Se realizaron experiencias de fermentación por 72 horas, tomando 10 mL de muestra del jugo de sorgo inicial y luego cada 24 horas. Se trabajó inicialmente con una escala de 1000 mL y luego se prosiguió a trabajar con escala de 200 mL, para ambos casos se trabajó a una temperatura de 30°C y sin agitación.

Se analizó grados Brix, concentración de azúcares, concentración de alcoholes y acidez. La concentración inicial de glucosa, fructosa y sacarosa se sumó y se consideró como azúcares solubles totales. La concentración de azúcares totales disminuyó cada 24 horas dando un consumo de azúcar porcentual entre 92.530% y 99.105%. Se realizó la cuantificación de alcoholes por cromatografía de gases y se calculó el rendimiento de producción de etanol, el cual después de 72 horas fue 13.42%, 10.88% y 13.37% para las estrategias de 25:25:50, 50:50 y 75:25, respectivamente. El rendimiento de etanol en la fermentación simple después de 72 horas fue 12.51%. La estrategia con mejor rendimiento de producción de etanol fue la 25:25:50. Los valores de pH se encontraron en el rango de 4.55 a 5.35, los cuales varían en cada muestra por lo que a pesar de no tener relación tampoco fueron constantes.

## ABSTRACT

The main objective of this research is to improve the production yield of ethanol from sweet sorghum juice by fed-batch fermentation, using three different strategies in batches of 24 hours. The first strategy was started with 25% of the total volume of substrate, 25% of the volume was fed after 24 hours and 50% of the volume was fed after 48 hours (25:25:50). Similarly, the 50:50 strategy started with the 50% of the total volume of the substrate and after 24 hours, the remaining 50% of volume was fed. The 75:25 strategy, started with 75% of the total volume of the substrate and after 24 hours the 25% remaining was fed. A simple fermentation was also carried out for comparison purposes.

The juice of sweet sorghum was a mix of the varieties Top 76-6, Umbrella, Dale, Della, Sugar Drip and M 81 E, to which the following nutrients was added: peptone, potassium phosphate dibasic, magnesium sulfate heptahydrate and yeast extract. 10% v/v of yeast *Saccharomyces cerevisiae* 2 g/L was added to the juice.

Fermentation experiments were carried out for 72 hours, taking 10 mL samples of the initial sorghum juice and then every 24 hours. Initially worked with a scale of 1000 mL and then continued to work with a 200 mL scale; for both cases working at a temperature of 30°C without agitation.

Brix, concentration of sugars, concentration of alcohols and acidity were analyzed. The initial concentration, given by high performance liquid chromatography, of glucose, fructose and sucrose were taken as total soluble sugars. The concentration of total sugars per 24 hours decreased giving a percentage of consumption of sugar between 92.530% and 99.105%. Quantitation of alcohols was performed by gas chromatography and the ethanol yield was calculated, which after 72 hours was 13.42%, 10.88% and 13.37% for strategies 25:25:50, 50:50 and 75:25, respectively. The ethanol yield in single fermentation after 72 hours was 12.51%. The best fed-batch strategy was 25:25:50 due to its ethanol yield. The pH values were in the range of 4.55 to 5.35, which vary in each sample, so despite having no relation they were constant.

# I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la producción de biocombustibles ha crecido a nivel mundial como consecuencia de los altos costos del petróleo así como la producción en altos niveles de gases de efecto invernadero en su combustión. La investigación en el campo de biocombustibles ha aumentado en los últimos años debido a la necesidad de nuevas fuentes energéticas.

La producción de bioetanol tuvo sus inicios a partir de maíz y caña de azúcar pero hay una constante búsqueda por nuevas fuentes de azúcar como lo es el sorgo dulce. El contenido de azúcar en el sorgo dulce es similar al del maíz por lo que se obtienen rendimientos de etanol similares. Una ventaja del sorgo es su resistencia a sequías y tolerancia a altas temperaturas.

Con el propósito de producir etanol como un biocombustible económicamente viable y competitivo frente a los combustibles fósiles, se requiere mejorar el proceso de fermentación para incrementar la productividad de etanol. En este proyecto se realizan pruebas con tres diferentes estrategias de fermentación de jugo de sorgo dulce por lote alimentado con el objetivo de encontrar aquella que presente un rendimiento de producción de etanol mayor. Se trabajó en triplicado, en períodos de 72 horas de fermentación.

Se espera que este trabajo sirva como base para la producción de etanol utilizando el jugo del sorgo dulce, cultivo viable en las regiones áridas de Guatemala, así mismo que se aproveche el resto de la planta como alimento y forraje.

## II. ANTECEDENTES

### A. Sorgo dulce

El sorgo, o maicillo, es una gramínea (del grupo del maíz) de la cual se puede aprovechar el tallo y el follaje para alimentación animal y el grano para consumo humano y animal. El sorgo dulce (*Sorghum bicolor M.*) es una variedad de sorgo introducida de África, con la característica de alto contenido de azúcares en su tallo (FAO, 2007).

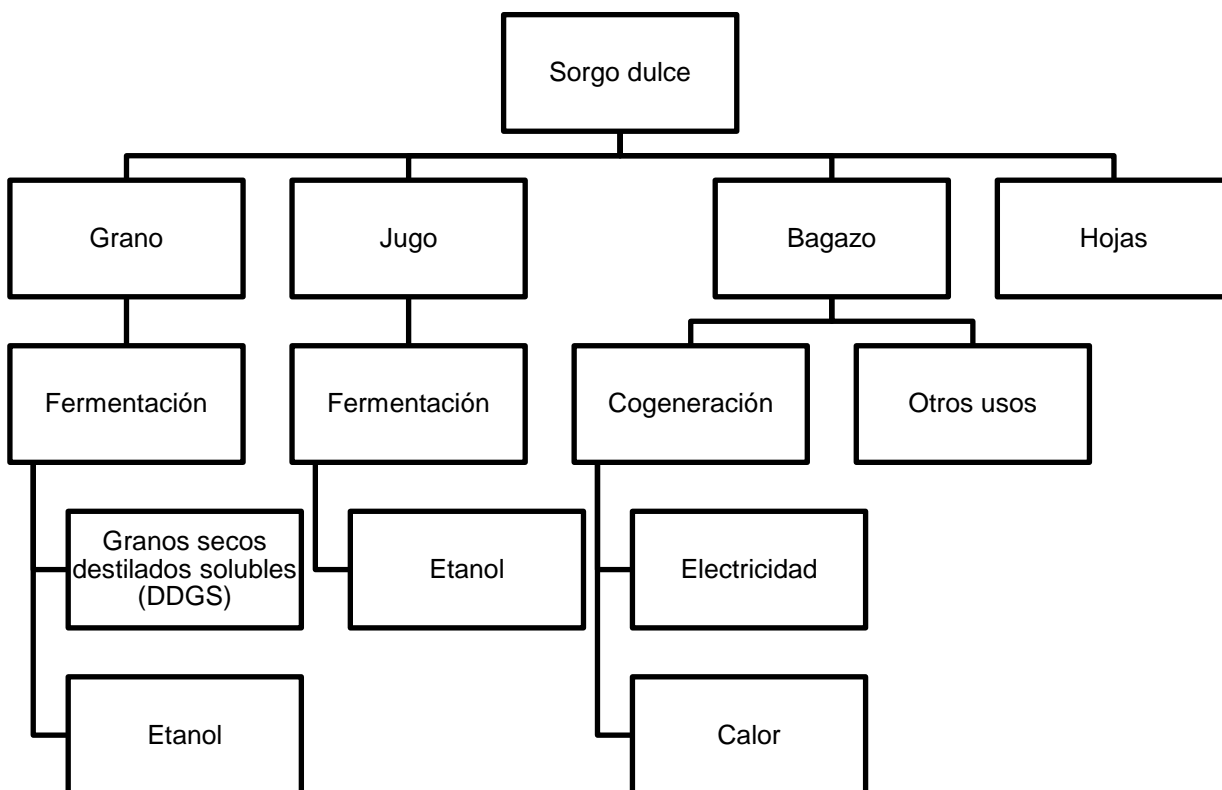
1. Sorgo dulce para producción de etanol. A partir de la década de 1970, debido al aumento de los precios del petróleo, se empezó a investigar fuentes de azúcares fermentables para la producción de etanol combustible. (Grassi, 1992)

Se han realizado trabajos de investigación para la producción de etanol a partir de cereales como maíz, trigo, cebada, sorgo, avena, arroz y algunos tubérculos tal como camote; también se ha profundizado en la producción de etanol a partir de caña de azúcar y remolacha azucarera. Esta investigación se centrará alrededor de la producción de etanol utilizando sorgo dulce como materia prima. (Drapcho, 2008: 69)

La ventaja del sorgo es que se puede procesar de forma intercalada con maíz en una planta de etanol con molienda en seco, muchas plantas de etanol en Estados Unidos usan ambas materias primas. Los rendimientos de etanol para el sorgo y el maíz son prácticamente iguales, y la composición de granos secos destilados solubles (DDGS, por sus siglas en inglés) es muy similar. Las principales ventajas del sorgo es su resistencia a la sequías y tolerancia al calor, probablemente su recubrimiento de cera en hojas y tallos, lo que mantiene el agua en la planta por períodos de calor intenso, por lo que es una materia prima adecuada para la producción de etanol en regiones áridas. (Drapcho, 2008)

A continuación se presenta un diagrama de procesos alternativos para el aprovechamiento en la conversión de sorgo dulce a combustible para producir energía.

Figura No.1: Diagrama de procesos alternativos para la conversión de sorgo dulce en combustible para producir energía.



(Chiaramonti, 2004)

2. Grano de sorgo dulce como alimento. El sorgo dulce se utiliza principalmente como alimento para ganado. Debido a su intensa fotosíntesis, los tallos son frondosos y pueden alcanzar hasta cinco metros de altura por lo que constituyen un excelente forraje. El sorgo dulce también puede ser utilizado para consumo humano. A nivel mundial, es el principal cereal secundario, después de arroz, maíz, trigo y cebada. Como alimento para consumo humano, se utiliza en forma de cereal, golosina, para producir pan y para la industria cervecera (FAO, 2002).

Los factores genéticos y los factores ambientales afectan en la composición de los granos, pero existen datos promedio del contenido de nutrientes en los mismos. El sorgo tiene valores nutricionales similares al trigo y al maíz. A continuación se presenta la composición de nutrientes del sorgo comparado con trigo y maíz, con el objetivo de determinar similitudes y diferencias de valor nutricional de los mismos. (FAO, 1995)

Cuadro No.1: Contenido nutricional de trigo, maíz y sorgo, por cada 100 g.

| Cereal | Proteína | Grasa | Carbohidratos (g) | Energía (kcal) | Calcio (mg) | Hierro (mg) |
|--------|----------|-------|-------------------|----------------|-------------|-------------|
| Trigo  | 11.6     | 2.0   | 71.0              | 348            | 30          | 3.5         |
| Maíz   | 9.2      | 4.6   | 73.0              | 358            | 26          | 2.7         |
| Sorgo  | 10.4     | 3.1   | 70.7              | 329            | 25          | 5.4         |

(FAO, 1995)

3. Cultivo de sorgo dulce. El sorgo dulce tiene gran capacidad de adaptación y es un cultivo resistente a la sequía, suelos salino-alcálinos y es tolerante a inundaciones. Además su cultivo requiere aproximadamente un tercio del agua que consume la caña de azúcar, con períodos de crecimiento cortos que permiten dos cosechas anuales. (FAO, 2002)

Dentro de las ventajas del cultivo del sorgo se encuentra su período de crecimiento de alrededor de cuatro meses, y el requerimiento de agua (800 m<sup>3</sup> para dos siembras) es cuatro veces menor que los requerimientos para caña de azúcar. El costo de cultivar sorgo dulce es aproximadamente tres veces menor que el de caña de azúcar. Otra ventaja es que la semilla se puede propagar. Las diferentes variedades de sorgo, producto de investigación por más de 15 años, presentan mejores rendimientos de cantidad de azúcar, tamaño de la caña y resistencia a sequía y plagas. (ICRISAT, 2006: 6)

El cultivo de sorgo dulce se puede realizar en las áreas áridas del territorio guatemalteco, como el corredor seco, definido por las Naciones Unidas como aquellos municipios con amenaza de sequía extremadamente alta, muy alta y alta (Zacapa, El Progreso, Chiquimula, Jutiapa, Jalapa y Baja Verapaz). El cultivo de éste, proporcionaría alimento a las comunidades del sector, las cuales tienen poco acceso a recursos hídricos. La falta de desarrollo agrícola en esta región ha incrementado la pobreza y desnutrición. Es posible trabajar con un programa de desarrollo de cultivo de sorgo dulce dentro del programa de las Naciones Unidas en Guatemala, Fortalecimiento de la Gobernabilidad Ambiental ante los Riesgos Climáticos en Guatemala.

La producción de sorgo dulce en Guatemala ha alcanzado un área de 26,000-32,000 hectáreas en el último año, con un rendimiento promedio de 1.428 toneladas métricas de grano por hectárea. En el siguiente cuadro se muestra la producción anual de sorgo dulce, ubicando a Guatemala en el puesto 43. (Instituto Nacional de Estadística de Guatemala, INE)

Cuadro No.2: Producción anual de *commodity* sorgo, aproximado para año 2012

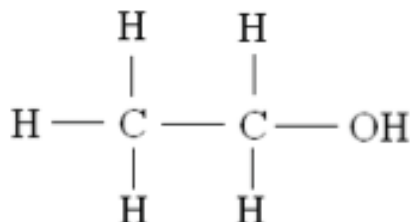
| Puesto | País            | Producción (1000TM) |
|--------|-----------------|---------------------|
| 1      | Nigeria         | 6,900.00            |
| 2      | Mexico          | 6,800.00            |
| 3      | Estados Unidos  | 6,249.00            |
| 4      | India           | 6,000.00            |
| 5      | Argentina       | 4,800.00            |
| 6      | Sudan           | 3,800.00            |
| 7      | Etiopía         | 3,550.00            |
| 8      | Brasil          | 2,800.00            |
| 9      | China           | 2,650.00            |
| 10     | Australia       | 2,500.00            |
| 11     | Burkina Faso    | 1,800.00            |
| 12     | Nigeria         | 1,000.00            |
| 13     | Egipto          | 900.00              |
| 14     | Mali            | 850.00              |
| 15     | Tanzania        | 740.00              |
| 16     | Chad            | 650.00              |
| 17     | Camerun         | 600.00              |
| 18     | UE-27           | 592.00              |
| 19     | Uganda          | 500.00              |
| 20     | Mozambique      | 410.00              |
| 21     | Yemen           | 350.00              |
| 22     | Gana            | 325.00              |
| 23     | Arabia Saudita  | 265.00              |
| 24     | Togo            | 225.00              |
| 25     | Uruguay         | 220.00              |
| 26     | Senegal         | 188.00              |
| 27     | Kenia           | 175.00              |
| 28     | Colombia        | 160.00              |
| 29     | Ruanda          | 152.00              |
| 30     | El Salvador     | 150.00              |
| 31     | Benin           | 150.00              |
| 32     | Bolivia         | 150.00              |
| 33     | Pakistan        | 145.00              |
| 34     | Somalia         | 130.00              |
| 35     | Sudáfrica       | 125.00              |
| 36     | Eritrea         | 115.00              |
| 37     | Venezuela       | 100.00              |
| 38     | Zimbabwe        | 95.00               |
| 39     | Haiti           | 90.00               |
| 40     | Burundi         | 87.00               |
| 41     | Nicaragua       | 80.00               |
| 42     | Mauritania      | 75.00               |
| 43     | Guatemala       | 53.00               |
| 44     | Costa de Marfil | 50.00               |
| 45     | Tailandia       | 50.00               |

(Index Mundi, 2012)

## B. Bioetanol

1. Características principales del bioetanol. Bioetanol es un alcohol producto de un proceso de fermentación microbiana. Se produce a través de la destilación del lavado etanólico, producto de una fermentación de azúcares derivadas de biomasa. (Walker 2010: 8)

Figura No.2: Fórmula estructural de etanol



Cuadro No.3: Propiedades físico-químicas del etanol

| Propiedad                 | Valor                            |
|---------------------------|----------------------------------|
| Fórmula molecular         | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH |
| Masa molecular            | 0.046 kg/mol                     |
| Apariencia                | Líquido incoloro                 |
| Solubilidad en agua       | Miscible                         |
| Densidad                  | 0.789 kg/L                       |
| Temperatura de ebullición | 78.5°C                           |
| Temperatura de fusión     | -117°C                           |
| Acidez (pKa)              | 15.9                             |
| Viscosidad (20°C)         | 1.200 mPa.s                      |
| Calor de vaporización     | 900 kJ/kg                        |
| Temperatura de llama      | 1930°C                           |
| Energía específica        | 3.00                             |
| Octanaje                  | 96-113                           |

El etanol tiene un gran número de propiedades favorables para su utilización como combustible. Tiene alto calor de vaporización mucho mayor que la gasolina, lo que aumenta la potencia producida del motor y reduce la temperatura máxima de combustión. Tiene una baja temperatura de llama, menor a la del diesel (2054°C) y gasolina (1977°C), lo que reduce las pérdidas por calor de un motor y aumenta la eficiencia térmica. Tiene una energía específica alta, la cual representa la energía del combustible entregada a la cámara de combustión por unidad de masa de aire inducido; ésta es mayor que la de la gasolina (2.92). Tiene un alto octanaje, lo que se traduce a proporciones mayores de compresión para un motor con ciclo de Otto equivalente a mayores eficiencias de motor.

2. Bioetanol como combustible. El bioetanol puede ser utilizado como combustible líquido de alta calidad en motores de combustión interna. Se puede usar en mezclas con gasolina (E10) en vehículos diseñados para trabajar con gasolina, o se pueden usar mezclas con mayor concentración (E85, E95) o incluso puro (E100) en vehículos de combustible flexible (FFV, por sus siglas en inglés). En motores creados para funcionar con etanol, se pueden alcanzar eficiencias mayores de combustión utilizando bioetanol puro, compensando de esta forma su menor contenido energético. (Wyman, 1996: 3)

Tiene ventajas respecto a los combustibles convencionales como diesel o gasolina debido a sus ventajas de eficiencia energética y emisiones reducidas de hidrocarburos no quemados. Como una fuente de energía renovable, se espera que el etanol reduzca las emisiones de dióxido de carbono cuando se considera el ciclo completo del combustible. (Wyman, 1996: 37)

Actualmente, se utiliza como combustible para vehículos en varios países del mundo. El primer vehículo que funcionó con etanol producido a gran escala, fue diseñado en 1920 por Henry Ford, el modelo T-Ford. Hoy en día, más del 20% de los carros en Brasil son capaces de trabajar con etanol puro como combustible. En el Cuadro No. 4 se presentan los porcentajes de etanol en gasolina utilizados en algunos países. (Walker, 2010: 9)

La producción y consumo de bioetanol requiere una tasa de energía neta (NER, por sus siglas en inglés) positiva. Esta tasa se define como la proporción de energía del combustible por la energía usada para producirlo. Un parámetro similar es el Balance de Energía Neta (NEB, por sus siglas en inglés) el cual relaciona la energía del etanol con la energía total consumida, la cual debe ser también positiva para que sea una producción viable energéticamente. (Walker, 2010: 13).

Cuadro No.4: Mezclas típicas de bioetanol-gasolina empleadas en diferentes países

| País           | Mezcla<br>(E = %etanol en gasolina) | Comentario   |
|----------------|-------------------------------------|--|
| Estados Unidos | E10<br>E70 – E85                    | 10% etanol en gasolina.<br>La mezcla depende del Estado.                 |
| Brasil         | E25 – E75<br>E100                   | Se pueden mezclas mayores en<br>vehículos de combustible flexible (FFV). |
| Europa         | E5<br>E85                           | Común en gasolina sin plomo.<br>Actualmente poco común.                  |

(Walker 2010: 9)

El bioetanol presenta ciertas desventajas energéticas frente a otros combustibles fósiles. A continuación se presenta una tabla con el contenido energético del bioetanol puro, mezclas con gasolina y combustibles fósiles.

Cuadro No.5: Contenido energético de bioetanol comparado con combustibles fósiles.

| Combustible | Contenido energético (MJ/L) |
|-------------|-----------------------------|
| E100        | 23.5                        |
| E85         | 25.2                        |
| E10         | 33.7                        |
| Gasolina    | 34.8                        |
| Diesel      | 36-40                       |

(Walker 2010: 9)

Dentro de las ventajas principales del bioetanol es ser un combustible renovable y tiene emisiones de gases de efecto invernadero menores a las de combustibles fósiles en aproximadamente 65%. En las desventajas se encuentra un menor contenido energético comparado con combustibles fósiles y que la biomasa utilizada para la fermentación puede competir como fuente de alimento humano si no se aprovecha de manera adecuada. (Walker, 2010: 10)

Se han desarrollado especificaciones para el etanol desnaturalizado como mezcla con diesel E95 y para mezcla con gasolina E85. Los requerimientos de estas especificaciones incluyen límites de ácido acético, iones de cloruro, cloro total, conductividad, fósforo, azufre, agua, entre otros. En los siguientes cuadros se presentan las especificaciones que desarrolló Detroit Diesel Corporation (DDC) y General Motors Corporation (GM) con sus respectivos métodos de prueba estándar de la Asociación Americana de Pruebas y Materiales (ASTM). (Wyman, 1996: 38)

Cuadro No.6: Especificación para combustible Etanol E95 con diesel, de DDC.

| Especificación                   | Valor  | Método de prueba |
|----------------------------------|--|------------------|
| Etanol                           | 92 %v (mín.)                                       | ASTM D 3545-90   |
| Otros alcoholes y éteres         | 98 %v (máx.)                                       | ASTM D 4806-88   |
| Hidrocarburos, gasolina o diesel | 2 %m (máx.)  | ASTM D 4815-89   |
| Acidez como ácido acético        | 5 %m (máx.)  | ASTM D 1613-85   |
| Cloro total como cloruros        | 0.007 %m (máx.)                                    | ASTM D 3120-87   |
| Cobre                            | 0.0004 %m (máx.)                                   | ASTM D 1688-90   |
| Plomo                            | 0.07 mg/L (máx.)                                   | ASTM D 3237-90   |
| Fósforo                          | 2 mg/L (máx.)                                      | ASTM D 3231-89   |
| Azufre                           | 0.01 %m (máx.)                                     | ASTM D 3120-87   |
| Goma, lavada con heptano         | 5 mg/L (máx.)                                      | ASTM D 381-86    |
| Partículas totales               | 5 mg/L (máx.)                                      | ASTM D 2276-89   |
| Contenido de agua                | 0.5 %m (máx.)                                      | ASTM E 203-75    |
| Apariencia                       | Libre de turbidez, materia suspendida y sedimentos | ASTM D 4176-86   |

(Wyman, 1996: 39)

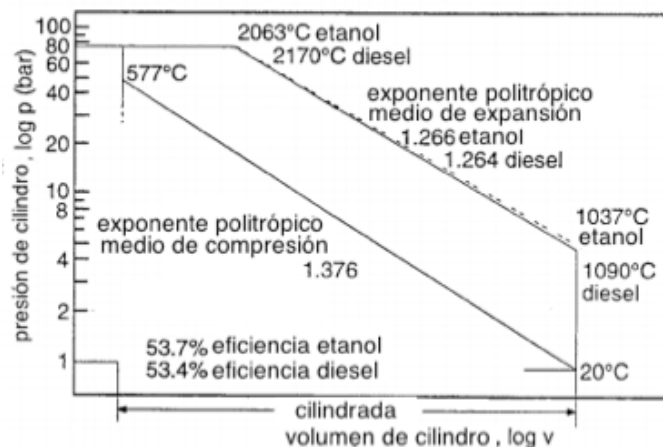
Cuadro No.7: Especificación para combustible Etanol E85 con gasolina, de GM.

| Especificación            | Valor   | Método de prueba        |
|---------------------------|---|-------------------------|
| Acidez como ácido acético | 0.005 %m (máx.)                                   | ASTM D 1613             |
| Cloro total como cloruros | 0.0002 %m (máx.)                                  | ASTM D 3120/ASTM D 2988 |
| Plomo                     | 0.002 g/L (máx.)                                  | ASTM D 5059             |
| Fósforo                   | 0.0002 g/L (máx.)                                 | ASTM D 3231             |
| Azufre                    | 0.01 %m (máx.)                                    | ASTM D 3120-87          |
| Goma, lavada              | 5.0 mg/100 mL (máx.)                              | ASTM D 381              |
| Goma, sin lavar           | 100.0 mg/100 mL (máx.)                            | ASTM D 381              |
| Partículas totales        | 0.0001 g/L (máx.)                                 | ASTM D 2276             |
| Contenido de agua         | 1.0 %m (máx.)                                     | ASTM E 203              |
| Conductividad             | 300.0 micro S/m (máx.)                            | ASTM D 1125             |
| Apariencia                | Libre de contaminantes suspendidos o precipitados |                         |

(Wyman, 1996: 41)

El ciclo de Otto es un ciclo termodinámico teórico asociado con los vehículos de ignición por chispa con motor de gasolina. Consiste en una fase de compresión isotrópica y una fase de trabajo isotrópico entre dos fases de volumen constante. Para vehículos de ignición por compresión se utiliza un ciclo de diesel, donde el combustible es inyectado lentamente y se quema durante la fase de combustión a presión constante. En la siguiente figura se muestra un ciclo de trabajo teórico, mostrando las mismas presiones medias y eficiencias para diesel y etanol en un ciclo ideal de diesel. (Wyman, 1996: 44)

Figura No.3: Análisis de ciclo para motor de ignición por compresión con diesel y etanol.



(Hoja Técnica No. 930376, Sociedad de Ingenieros Automotrices, 1993)

### C. Proceso de fermentación de jugo de sorgo dulce

1. Medio de cultivo. Los microorganismos obtienen energía para la biosíntesis y crecimiento de su ambiente a partir de una fuente de energía y una fuente de carbono. La fuente de carbono principal son carbohidratos ya sean simples como glucosa, sacarosa y lactosa o polisacáridos. También requieren nitrógeno para la síntesis celular anabólica de aminoácidos, proteínas, DNA y RNA. (Vogel, 1983: 50) Otros requerimientos del medio son compuestos orgánicos que contengan P, S, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y vitaminas. (Vogel, 1983: 51)

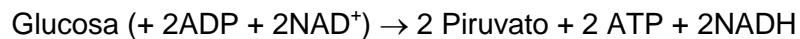
La concentración de etanol es mayor en aquellas fermentaciones que se llevaron a cabo con fuentes de nitrógeno adicionales como urea y sales de amonio, fuente de fósforo como fosfato dibásico de potasio y sales como Mg<sup>2+</sup>. (Yu, 2009: 521).

Para el cultivo de levadura se utiliza caldo Sabouraud - 2% glucosa. La composición típica es 40 g/L dextrosa, 10 g/L peptona (5 g/L peptona de carne y 5 g/L peptona de caseína), 15 g/L agar. La dextrosa sirve como fuente de carbono mientras que la peptona es la principal fuente de nitrógeno para el cultivo de levadura. (Vogel, 1983: 51)

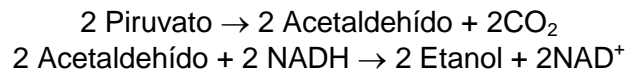
2. Fermentación utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La fermentación es un proceso metabólico que consiste en la oxidación de un azúcar simple bajo condiciones anaerobias involucrando la oxidación de la glucosa y metabolismo del piruvato. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo comúnmente utilizado para la fermentación de azúcares como glucosa, fructosa, manosa, galactosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa; los dos sustratos preferidos por *S. cerevisiae* entre los azúcares metabolizados son glucosa y sacarosa. Cuando hay varios azúcares presentes, la presencia de glucosa y fructosa causa la represión en el consumo y metabolismo de los demás azúcares, esta represión en la utilización de otros azúcares puede causar efectos negativos en las tasas de fermentación en producción industrial de etanol. *S. cerevisiae* es inhibida por su propio producto, etanol, ya que aumenta la fluidez y permeabilidad de la membrana celular y causa fugas de iones y pequeños metabolitos. (Drapcho, 2008:107)

3. Producción de etanol. La producción de etanol a partir de *S. cerevisiae* se lleva a cabo por la vía glicolítica, el resumen de las reacciones para la fermentación de glucosa utilizando levadura se presentan a continuación: (Drapcho, 2008: 25)

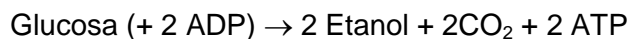
Glucólisis:



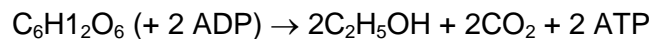
Fermentación:



De forma simplificada, la producción de etanol a partir de glucosa se puede expresar como:



o



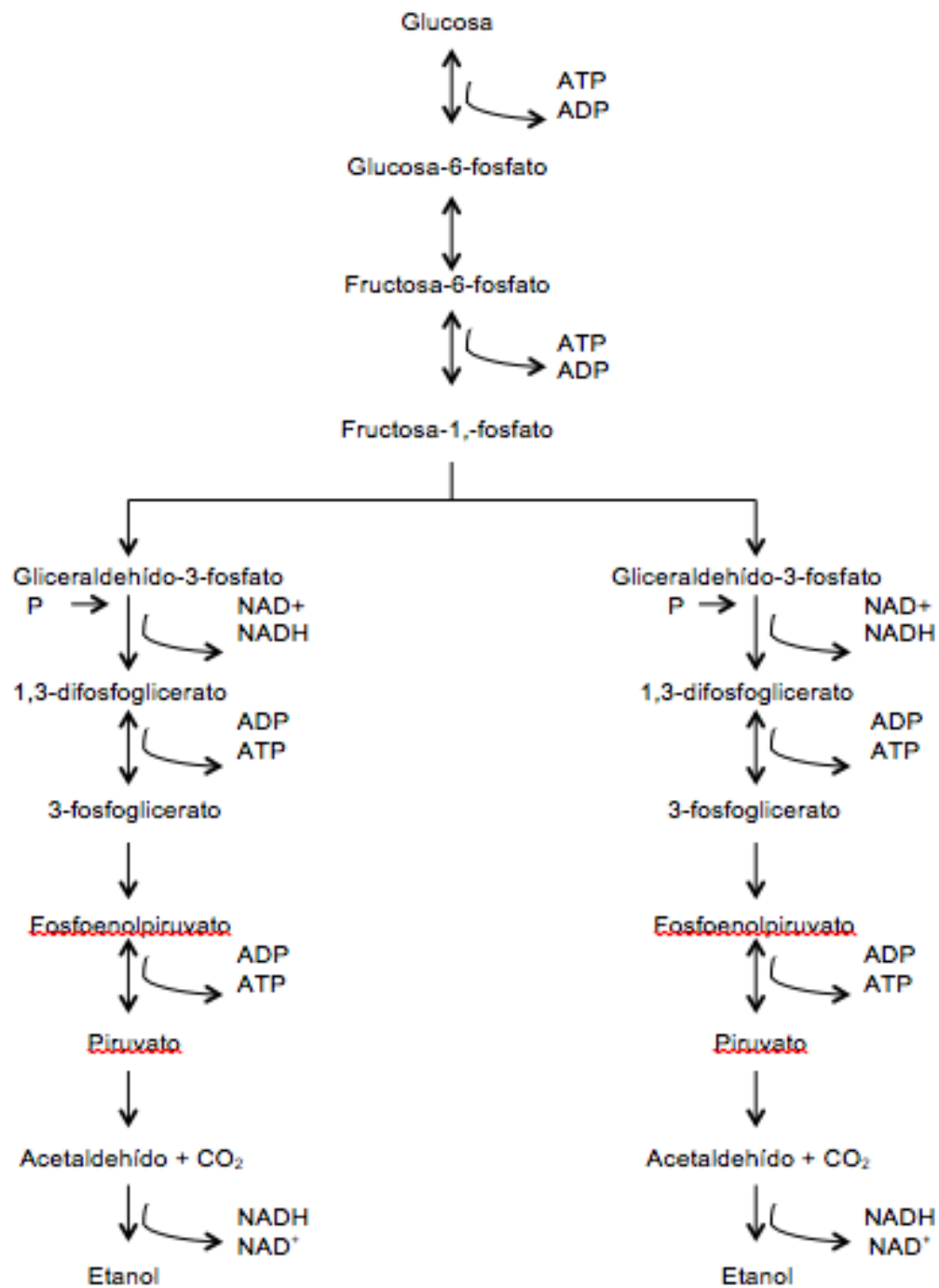
Por lo tanto, el rendimiento neto de energía utilizando levadura es 2 ATP por mol de glucosa, como resultado de la fosforilación de 2 moles de ADP. NAD<sup>+</sup> y NADH son coenzimas de nicotinamida adenina dinucleótido oxidadas o reducidas, respectivamente, de una reacción metabólica. (Drapcho, 2008: 26)

La producción teórica máxima de etanol se calcula de la siguiente forma:

$$y = \frac{2 \text{ mol etanol} \times \frac{46 \text{ g etanol}}{1 \text{ mol etanol}}}{1 \text{ mol glucosa} \times \frac{180 \text{ g glucosa}}{1 \text{ mol glucosa}}} = \frac{92 \text{ g etanol}}{180 \text{ g glucosa}} = 0.511$$

Sin embargo, es casi imposible obtener este rendimiento; en condiciones ideales se puede alcanzar hasta 90-95% de eficiencia. (Drapcho, 2008: 105)

Figura No.4: Fermentación de glucosa para producción de etanol por medio de levadura



(Drapcho, 2008: 26)

## D. Tipos de fermentación

1. Fermentación discontinua (*batch*). Una fermentación discontinua es un sistema cerrado sin entradas a excepción de aire como fuente de oxígeno, un agente antiespumante y ácidos o bases para controlar el pH. La composición del medio de cultivo, la concentración de la biomasa y la concentración de metabolitos cambia en forma continua como resultado del metabolismo de las células presentes. El proceso de fermentación se lleva a cabo en cuatro fases de crecimiento: fase de latencia, fase logarítmica, fase estacionaria y fase de muerte. (Vogel, 1983: 26)

El balance de masa con respecto a la biomasa para un reactor *batch*, asumiendo sólo el crecimiento y decaimiento son las únicas reacciones, está dado por:

Ecuación No.1

$$\mu X_B - bX_B = \frac{dX_B}{dt}$$

(Drapcho, 2008: 50)

donde  $\mu$  es el coeficiente de tasa de crecimiento específico,  $X_B$  es la concentración de biomasa.

A pesar de que hay un equilibrio temporal del crecimiento y decaimiento de la biomasa en la fase estacionaria, los reactores *batch* nunca alcanzan condiciones de estado estacionario verdaderas. La integración de la ecuación y la sustitución de la definición de rendimiento de biomasa resulta en la ecuación de crecimiento logarítmico.

Ecuación No.2

$$(t - t_0)\hat{\mu} = \left( \frac{K_S Y_{X/S}}{X_{B0} + S_0 Y_{X/S}} + 1 \right) \ln \left( \frac{X_{Bt}}{X_{B0}} \right) + \frac{K_S Y_{X/S}}{X_{B0} + S_0 Y_{X/S}} \ln \frac{S_{S0}}{S_{St}}$$

(Drapcho, 2008: 50)

donde  $t$  y  $t_0$  son el tiempo y el tiempo inicial en horas,  $X_{Bt}$  y  $X_{B0}$  son las concentraciones de biomasa en el tiempo  $t$  y  $t_0$ ,  $S_{St}$  y  $S_{S0}$  son las concentraciones de sustrato soluble en el tiempo  $t$  y  $t_0$ .

La ecuación anterior describe el aumento de biomasa mientras que disminuye el sustrato a medida que avanza el tiempo durante el crecimiento exponencial. El tiempo de incubación en un reactor *batch* puede variar dependiendo de las cinéticas de crecimiento, acumulación de productos inhibitorios, y tipo de producto. La ecuación anterior también puede ser usada para determinar los parámetros cinéticos de Monod. (Drapcho, 2008: 50)

2. Fermentación por lote alimentado (*fed-batch*): Es una fermentación discontinua donde los sustratos se añaden escalonadamente a medida que progresa la fermentación. (Vogel, 1983: 27).

Es una técnica de producción intermedia entre fermentación por lote y fermentación continua. Su operación es similar a una fermentación por lote, con la diferencia que tiene tiempos de ciclo mayores pero con mayor productividad, lo que equivale a una reducción en los costos de producción. (Longobardi, 1994: 185)

Los dos principales parámetros que diferencia la fermentación por lote alimentado de otras técnicas es el tiempo de salida y el flujo de salida; el flujo de salida está limitado por la necesidad de mantener dentro del fermentador la concentración de biomasa producida para la producción mientras que el tiempo de salida debe ser fijado después de que las condiciones estándar de crecimiento del microorganismo hayan sido alcanzadas dentro del fermentador. (Longobardi, 1994: 185)

La principal diferencia entre los sistemas de lote alimentado y los de *batch* y tanque agitado (CSTR) es que la tasa de crecimiento específico disminuye con el tiempo debido al aumento de volumen a una tasa de alimentación constante. (Drapcho, 2008: 54)

Ecuación No.3

$$\frac{d\mu}{dt} = \frac{d}{dt} \left[ \frac{Q}{V_0 + Qt} \right] = \frac{-Q^2}{(V_0 + Qt)^2}$$

(Drapcho, 2008: 54)

Donde  $V_0$  es el volumen inicial, en litros y  $Q$  es la tasa de alimentación.

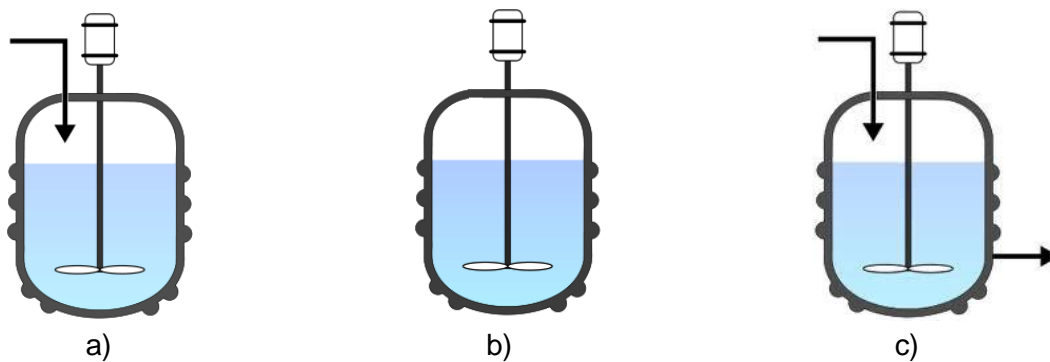
Dado que los microorganismos sólo pueden metabolizar cierta cantidad de sustrato a la vez, se deben considerar tiempos prolongados para alimentar el lote de fermentación. La ventaja de esta técnica es que se obtienen densidades celulares mayores debido a la extensión de tiempo de trabajo y al incremento secuencial de sustrato, de modo que la fase productiva se puede extender bajo condiciones controladas ya que el microorganismo cuenta siempre con fuentes de carbohidratos. La ventaja técnica de fermentación por lote alimentado es que se puede implementar en una producción por lote simple ya que no requiere equipo adicional, sólo el diseño de la operación de fermentación.

Dentro de las desventajas de una fermentación por lote alimentado es que requiere análisis previo del microorganismo para entender su cinética de crecimiento y productividad de etanol. Se debe diseñar la fermentación por lote alimentado de tal modo que no alcance niveles inhibitorios de etanol y asegurar que se agregue la cantidad de sustrato necesaria para continuar la fermentación, la producción de subproductos está relacionada con la presencia de altas concentraciones de sustrato, donde las células se sobrecargan ya que exceden su capacidad oxidativa y producen

subproductos, los cuales pueden contaminar el etanol por lo que es importante el diseño de la fermentación.

3. Fermentación continua. La fermentación continua es un sistema abierto donde la solución estéril se añade continuamente a un bioreactor mientras se extrae simultáneamente una cantidad equivalente de solución utilizada de los nutrientes con los microorganismos. La productividad máxima en este tipo de fermentación es igual a la productividad total debido a que el tiempo de establecimiento y la fase de latencia pueden ser despreciados. (Vogel, 1983: 27)

Figura No.5: Esquema de (a) Fermentación por lote alimentado (b) Fermentación por lotes (c) Fermentación continua.



## E. Análisis de producción de bioetanol

1. Rendimiento de producción de etanol. El rendimiento de un proceso microbiológico ( $Y$ ) es la relación entre la cantidad de células producidas o productos celulares y el sustrato consumido. En la producción de etanol, el rendimiento de etanol ( $Y_{ps}$ ) es calculado como etanol producido, expresado como gramos de etanol por gramos de azúcar consumida. Otro parámetro es la productividad volumétrica de etanol ( $Q_p$ ) y el porcentaje de eficiencia de conversión o rendimiento de eficiencia ( $E_y$ ). Los parámetros anteriores se relacionan con las siguientes ecuaciones (Laopaiboon, 2007: 1498):

Ecuación No.4:

$$Y_{ps} = \frac{\text{gramos etanol producido}}{\text{gramos azúcar utilizada}} \quad (\text{Laopaiboon, 2007: 1498})$$

Ecuación No.5:

$$Q_p = \frac{P}{t} \quad (\text{Laopaiboon, 2007: 1498})$$

Donde P es la concentración de etanol producida (g/L) y t es el tiempo de fermentación (h)

Ecuación No.6:

$$E_y = \frac{Y_{ps}}{0.51} \times 100$$

(Laopaiboon,2007: 1498)

Donde 0.51 es el rendimiento de etanol máximo teórico de consumo de glucosa.

2. Análisis cuantitativo de azúcares. El análisis cuantitativo de azúcares se realiza por medio de cromatografía de capa líquida de alta resolución. Se utilizan 4 estándares con una mezcla de glucosa, fructosa y sacarosa para realizar la curva de calibración de azúcares, dentro del rango de concentración esperado. En la cromatografía líquida la fase móvil es un disolvente líquido que contiene la muestra como mezcla de solutos y se utiliza una fase estacionaria muy finamente dividida. (Skoog, 2005: 985)

También se realiza un análisis de grados Brix para determinar la cantidad de azúcar disuelta en una solución acuosa. Un grado Brix (°Brix) es una unidad de medida de concentración de azúcar en una solución donde 1°Brix corresponde a 1 gramo de azúcar disuelto en 100 gramos de solución. La escala de °Brix sólo aproxima el contenido de sólidos disueltos, por lo que existe cierto margen de error si hay otros sólidos disueltos además de azúcar. (ICUMSA, 2011: GS5/7-1)

3. Análisis cuantitativo de alcoholes. La cuantificación de alcoholes se realiza por medio de cromatografía de gases (GC), donde los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia de su reparto entre una fase móvil gaseosa y otra fase estacionaria líquida mantenida en una columna. La elución se logra mediante el flujo de una fase móvil de gas inerte, la cual no interacciona con las moléculas del analito. Se utiliza un detector de ionización de llama (FID), el efluente de la columna se dirige hacia una pequeña llama de aire/hidrógeno, donde los compuestos orgánicos producen iones y electrones cuando se pirolizan a la temperatura de la llama. (Skoog, 2005: 959)

El estándar interno se adiciona a las muestras como referencia. La señal de respuesta de la cromatografía no es la del analito, sino la relación entre la señal del analito y la de la especie de referencia. Se elabora una curva de calibración donde el eje y es la relación e respuestas y el eje x es la concentración del analito en los estándares. (Skoog, 2005: 214)

4. Análisis de cinética de fermentación. El modelo cinético ilustra el consumo del sustrato contra la concentración de producto. El modelo de Monod describe la relación funcional entre la tasa de crecimiento específico  $\mu$  y la concentración de un compuesto esencial, asumiendo que la rapidez de asimilación del sustrato está limitada por la rapidez de reacción de las enzimas involucradas. Se debe determinar la cantidad de sustrato a utilizar, grandes cantidades de sustrato producen altas concentraciones de productos pero se debe evitar que las concentraciones de producto sea tan altas que limiten la fermentación. Los rangos de concentración que mejoran o inhiben la actividad de fermentación varían con cada microorganismo, especies químicas y condiciones de crecimiento. La ecuación de Monod es (Vogel, 1983: 50):

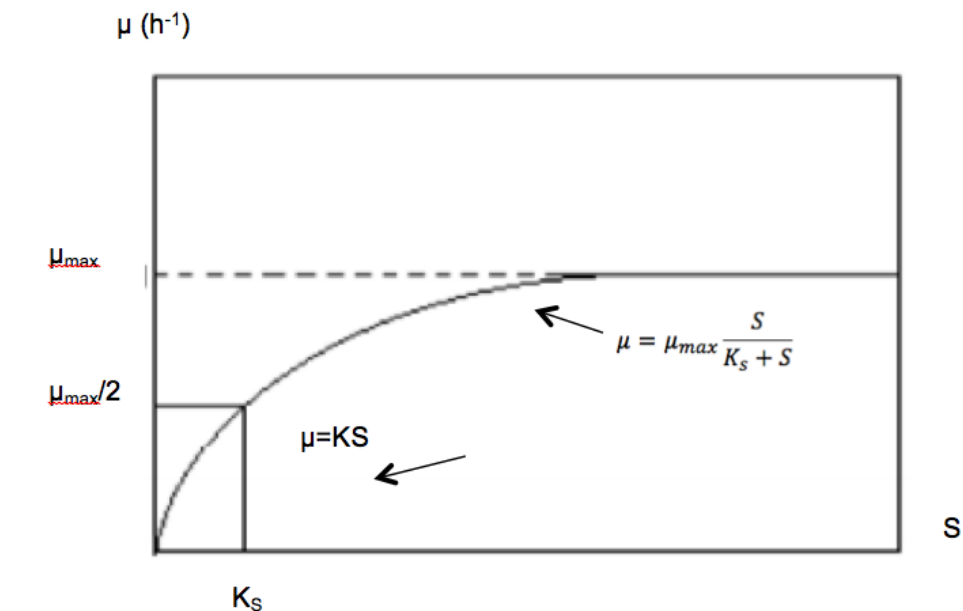
Ecuación No.7:

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

(Vogel, 1983: 50)

Donde  $\mu$  es la constante de rapidez de crecimiento ( $h^{-1}$ ),  $K_s$  es la constante media de saturación, siendo 25.0 mg/L para *Saccharomyces cerevisiae*.  $S$  es la concentración del sustrato en la solución (mg/L). (Vogel, 1983: 50)

Figura No.6: Modelo de crecimiento Monod.



Gráficamente, la cinética de fermentación durante la producción de etanol se ilustra graficando la concentración de azúcares totales (g/L) y la concentración de etanol (g/L) en el tiempo de fermentación (h). (Laopaiboon, 2007: 1497).

### III. JUSTIFICACIÓN

La Universidad del Valle de Guatemala y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos están trabajando en el proyecto *Food For Progress* (Alimentos para el progreso), parte del programa *Feed the Future* (Alimentar el futuro) con el objetivo de combatir la pobreza y la inseguridad alimentaria del Altiplano y la Costa Sur de Guatemala. Esta investigación forma parte del primer componente del programa, dedicado al desarrollo de productos alimenticios y biocombustibles.

El objetivo de este trabajo de investigación es diseñar un proceso de fermentación por lote alimentado que mejore el rendimiento de producción de etanol a partir del jugo de sorgo dulce. Además, se busca aprovechar la levadura en más de un lote de fermentación por medio de alimentación continua de sustrato.

Dentro de los alcances de esta investigación está mejorar el rendimiento de producción de etanol del sorgo dulce como una fuente alternativa para producción de biocombustible, siendo el sorgo dulce un cultivo viable para las regiones áridas de Guatemala. El estudio de métodos de fermentación de jugo de sorgo dulce que incrementen la producción de etanol es un punto de partida para lograr la competitividad frente a otras fuentes de biomasa.

## IV. OBJETIVOS

### A. GENERAL

1. Mejorar el rendimiento de producción de etanol a partir de jugo de sorgo dulce por medio de fermentación por lote alimentado.

### B. ESPECÍFICOS

1. Aprovechar la levadura en más de un lote, agregándola únicamente al inicio de la fermentación.
2. Determinar el consumo de azúcares totales en la fermentación por lote alimentado de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
3. Establecer el porcentaje de eficiencia de conversión de glucosa a etanol en la fermentación por lote alimentado.
4. Evaluar la productividad volumétrica de etanol y el rendimiento con estrategias de fermentación por lote alimentado de 25:25:50, 50:50 y 75:25, en porcentaje volumétrico.
5. Obtener la cinética de fermentación gráficamente para diferentes estrategias de lote alimentado.
6. Diseñar un proceso de fermentación por lote alimentado que mejore el rendimiento de producción de etanol.

## V. METODOLOGÍA

La primera etapa del proyecto consistió en la formulación de los objetivos y justificación del proyecto, donde se evaluó la importancia y trascendencia de la realización del mismo. Es en esta etapa se evaluaron las posibles aplicaciones de la fermentación del jugo de sorgo dulce, así como los beneficios que resultan del estudio de diferentes estrategias de fermentación por lote alimentado. Esta fase fue fundamental para la realización del proyecto porque se definieron los pasos a seguir para alcanzar los objetivos planteados.

En la segunda etapa se llevó a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos y libros referentes a la fermentación y producción de etanol, etanol como biocombustible, levadura a utilizar y fermentación por lotes. También se revisó información bibliográfica referente a las principales características del sorgo dulce, su cultivo y su aplicación en la alimentación, enmarcándolo en la situación actual de Guatemala. En esta etapa también se analizaron los resultados de estudios similares de producción de etanol a partir de jugo de sorgo dulce en fermentación por lotes, se evaluaron las ventajas y desventajas de los mismos, como métodos para mejorar el rendimiento de producción de etanol.

La tercera etapa del proyecto consistió en establecer las estrategias de fermentación a seguir, con el propósito de incrementar la producción de etanol a partir de jugo de sorgo dulce. Se optó por las estrategias de fermentación 50:50, 25:25:50 y 75:25, en porcentaje volumétrico.

La cuarta etapa consistió en la obtención de los recursos materiales necesarios para llevar a cabo el experimento. Dentro de estos se encuentra el jugo de sorgo dulce, la levadura, y nutrientes para el medio de cultivo tales como peptona como fuente de nitrógeno, fosfato dibásico de potasio como fuente de fósforo, sulfato de magnesio heptahidratado como fuente de azufre y de magnesio, el cual se utiliza como cofactor de enzima, y extracto de levadura como fuente de nitrógeno y de otros factores de crecimiento como vitaminas. También se requirió caldo Glucosa Sabouraud para el cultivo de la levadura. El jugo de sorgo dulce (*Sorghum bicolor* M.) es cultivado y extraído en las plantaciones del Campus Sur de la Universidad del Valle de Guatemala, ubicado en Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla. El jugo del sorgo fue extraído en un trapiche localizado en el laboratorio de operaciones unitarias de la sede central de la universidad antes mencionada; se mezcló el jugo obtenido de las variedades Top 76-6, Umbrella, Dale, Della, Sugar Drip y M 81 E. La levadura a utilizar es *Saccharomyces cerevisiae*, y fue proporcionada por el Centro de Ingeniería Bioquímica de la Universidad del Valle de Guatemala, al igual que los nutrientes utilizados.

La quinta etapa fue la experimentación donde se llevaron a cabo las experiencias de fermentación a escala de 200 mL y 1000 mL. Se realizó la fermentación del jugo de sorgo dulce utilizando una única vez la levadura y luego se procede a la fermentación por lote alimentado. Se realizó en triplicado cada estrategia de fermentación, además de una fermentación simple como control. Se cuantifican los azúcares y alcoholes producidos por medio de cromatografía de capa líquida de alta resolución y cromatografía de gases, respectivamente.

La sexta etapa consistió en analizar los resultados obtenidos en la experimentación, tales como °Brix, pH, cantidad de azúcares solubles y alcohol en muestras tomadas cada 24 horas hasta un total de 72 horas. A partir de los datos calculados se prosiguió a la elaboración del informe de resultados. En esta etapa también se determinaron las ventajas y desventajas del método empleado.

## VI. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Cuadro No.8: Utilización de levadura

| Estrategia          | Tiempo (h) | Levadura agregada (g/L) |
|---------------------|------------|-------------------------|
| Fermentación simple | 0          | 1.9325                  |
|                     | 24         | 0                       |
|                     | 48         | 0                       |
|                     | 72         | 0                       |
| 25:25:50            | 0          | 2.0874                  |
|                     | 24         | 0                       |
|                     | 48         | 0                       |
|                     | 72         | 0                       |
| 75:25               | 0          | 2.0909                  |
|                     | 24         | 0                       |
|                     | 48         | 0                       |
|                     | 72         | 0                       |
| 50:50               | 0          | 2.0943                  |
|                     | 24         | 0                       |
|                     | 48         | 0                       |
|                     | 72         | 0                       |

(Datos obtenidos en el laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No.9: Producción de etanol y consumo de glucosa para las diferentes estrategias de fermentación por lote alimentado de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas.

| Estrategia | Tiempo de fermentación (h) | Alcohol (%p/v) | Azúcar residual (%p/v) | Consumo de azúcar (%) |
|------------|----------------------------|----------------|------------------------|-----------------------|
| 25:25:50   | 0                          | 0              | 14.114                 | 0.00                  |
|            | 24                         | 17.751         | 0.533                  | 96.26                 |
|            | 48                         | 19.590         | 0.245                  | 98.25                 |
|            | 72                         | 21.349         | 0.343                  | 97.57                 |
| 100:0:0    | 0                          | 0.000          | 14.265                 | 0.00                  |
|            | 24                         | 16.909         | 0.750                  | 94.78                 |
|            | 48                         | 18.139         | 0.287                  | 97.97                 |
|            | 72                         | 19.984         | 0.315                  | 97.78                 |
| 50:50:0    | 0                          | 0.000          | 14.096                 | 0.00                  |
|            | 24                         | 17.672         | 0.512                  | 96.40                 |
|            | 48                         | 17.946         | 0.297                  | 97.88                 |
|            | 72                         | 15.176         | 0.338                  | 97.66                 |
| 75:25:0    | 0                          | 0.000          | 14.417                 | 0.00                  |
|            | 24                         | 16.067         | 0.966                  | 93.30                 |
|            | 48                         | 18.060         | 0.795                  | 94.49                 |
|            | 72                         | 20.586         | 0.926                  | 93.58                 |

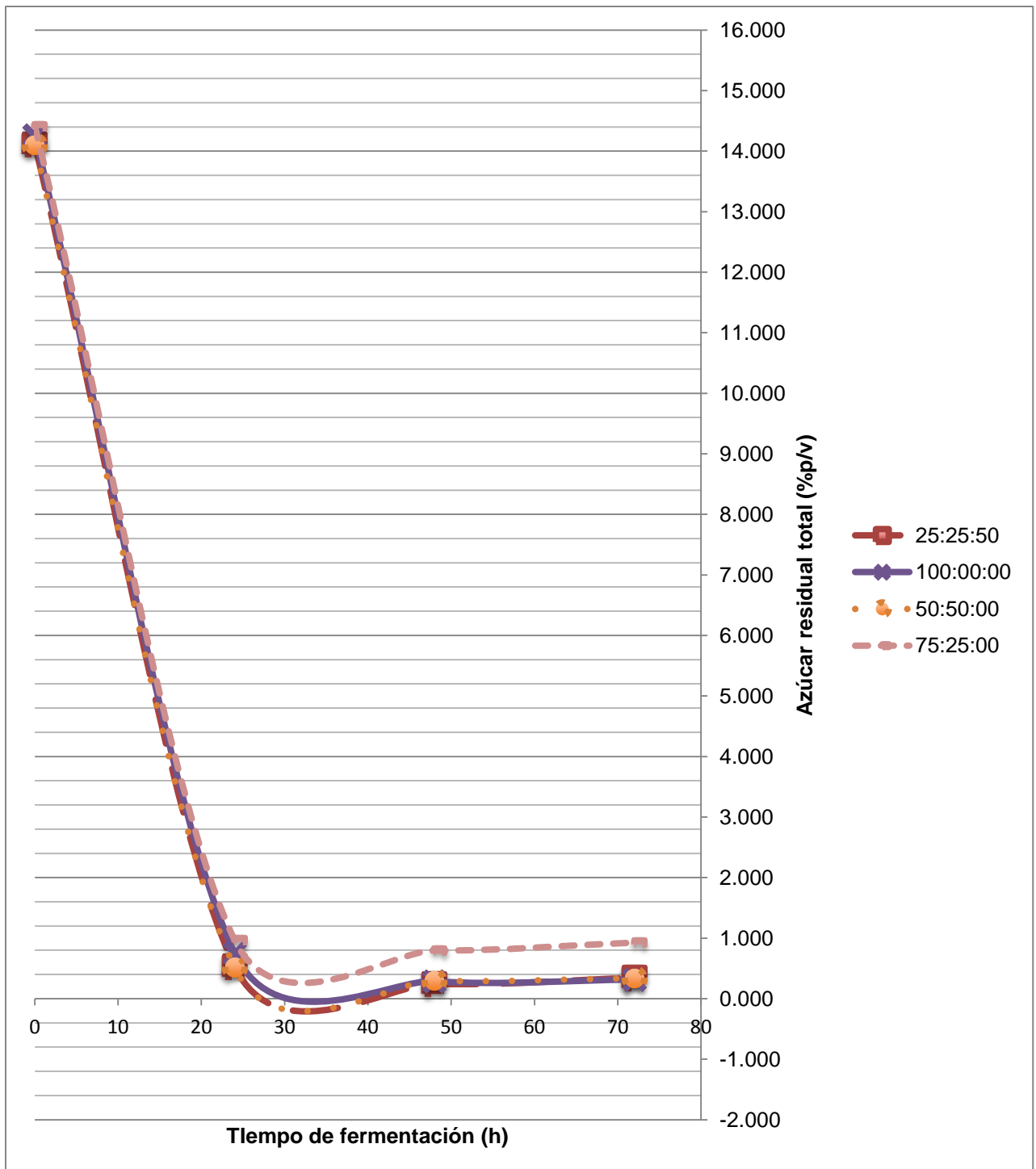
(Datos obtenidos en el laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No.10: Productividad volumétrica, rendimiento de etanol y eficiencia de conversión de glucosa a etanol, para las diferentes estrategias de fermentación por lote alimentado de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas.

| Estrategia | Tiempo de fermentación (h) | Parámetros de cinética                      |  |  |
|------------|----------------------------|---|--|--|
|            |                            | Productividad volumétrica ( $Q_p$ ) (g/L.h) | Rendimiento de etanol ( $Y_{ps}$ ) (g/g) | Eficiencia de conversión ( $E_y$ ) (%) |
| 25:25:50   | 0                          |   |  |  |
|            | 24                         | 0.074                                       | 1.259                                    | 24.69                                  |
|            | 48                         | 0.041                                       | 1.389                                    | 27.23                                  |
|            | 72                         | 0.030                                       | 1.514                                    | 29.68                                  |
|            | Promedio                   | 0.048                                       | 1.387                                    | 27.20                                  |
| 100:0:0    | 0                          |   |  |  |
|            | 24                         | 0.070                                       | 1.187                                    | 23.27                                  |
|            | 48                         | 0.038                                       | 1.272                                    | 24.95                                  |
|            | 72                         | 0.028                                       | 1.401                                    | 27.47                                  |
|            | Promedio                   | 0.045                                       | 1.287                                    | 25.23                                  |
| 50:50:0    | 0                          |   |  |  |
|            | 24                         | 0.074                                       | 1.255                                    | 24.61                                  |
|            | 48                         | 0.037                                       | 1.275                                    | 25.00                                  |
|            | 72                         | 0.021                                       | 1.053                                    | 20.64                                  |
|            | Promedio                   | 0.044                                       | 1.194                                    | 23.42                                  |
| 75:25:0    | 0                          |   |  |  |
|            | 24                         | 0.067                                       | 1.114                                    | 21.85                                  |
|            | 48                         | 0.038                                       | 1.253                                    | 24.56                                  |
|            | 72                         | 0.029                                       | 1.428                                    | 28.00                                  |
|            | Promedio                   | 0.044                                       | 1.265                                    | 24.80                                  |

(Datos obtenidos en el laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Gráfica No. 1: Consumo de azúcar en la fermentación del jugo de sorgo dulce por diferentes estrategias de lote alimentado.



Gráfica No. 2: Producción de etanol en la fermentación del jugo de sorgo dulce por diferentes estrategias de lote alimentado.

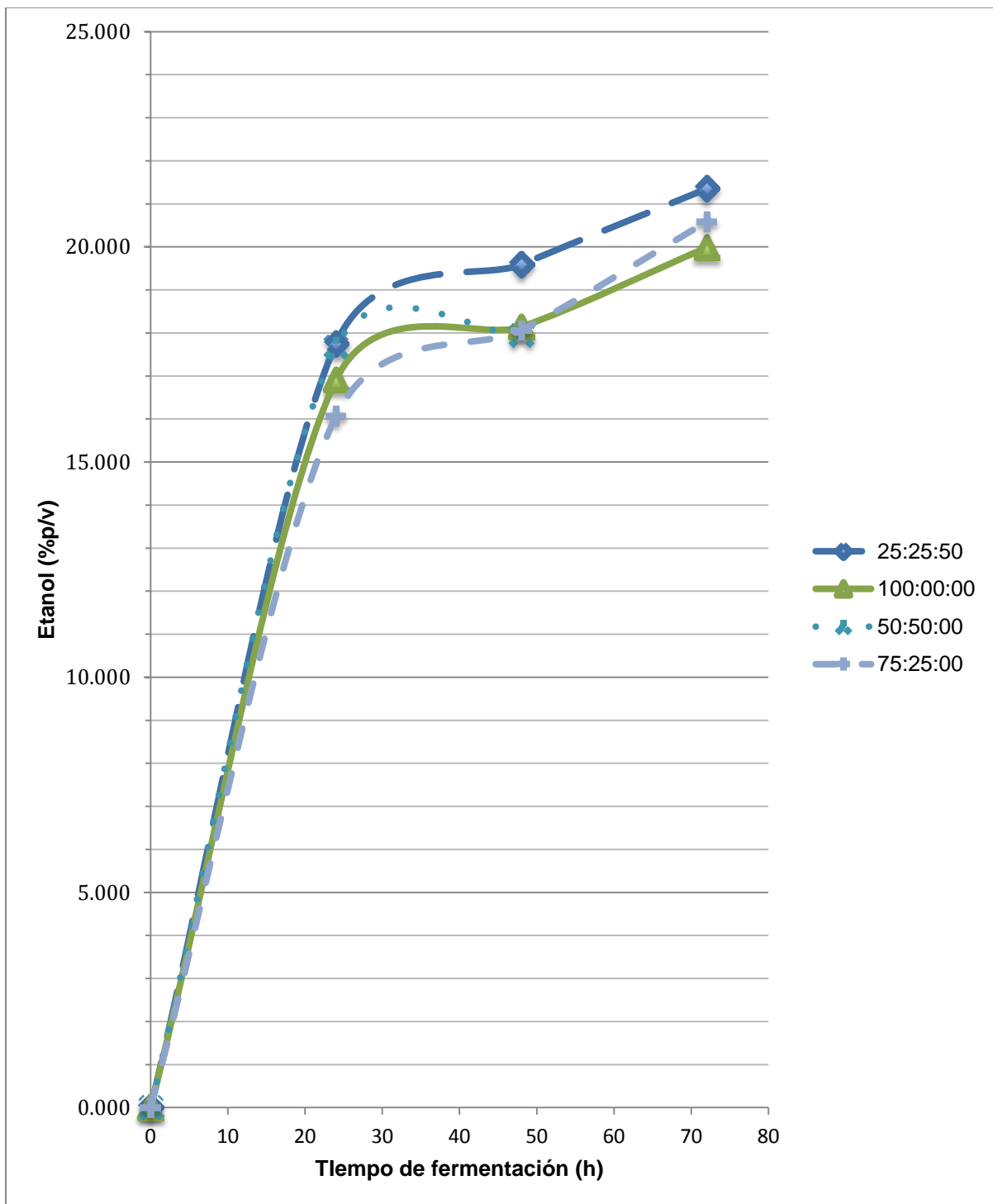
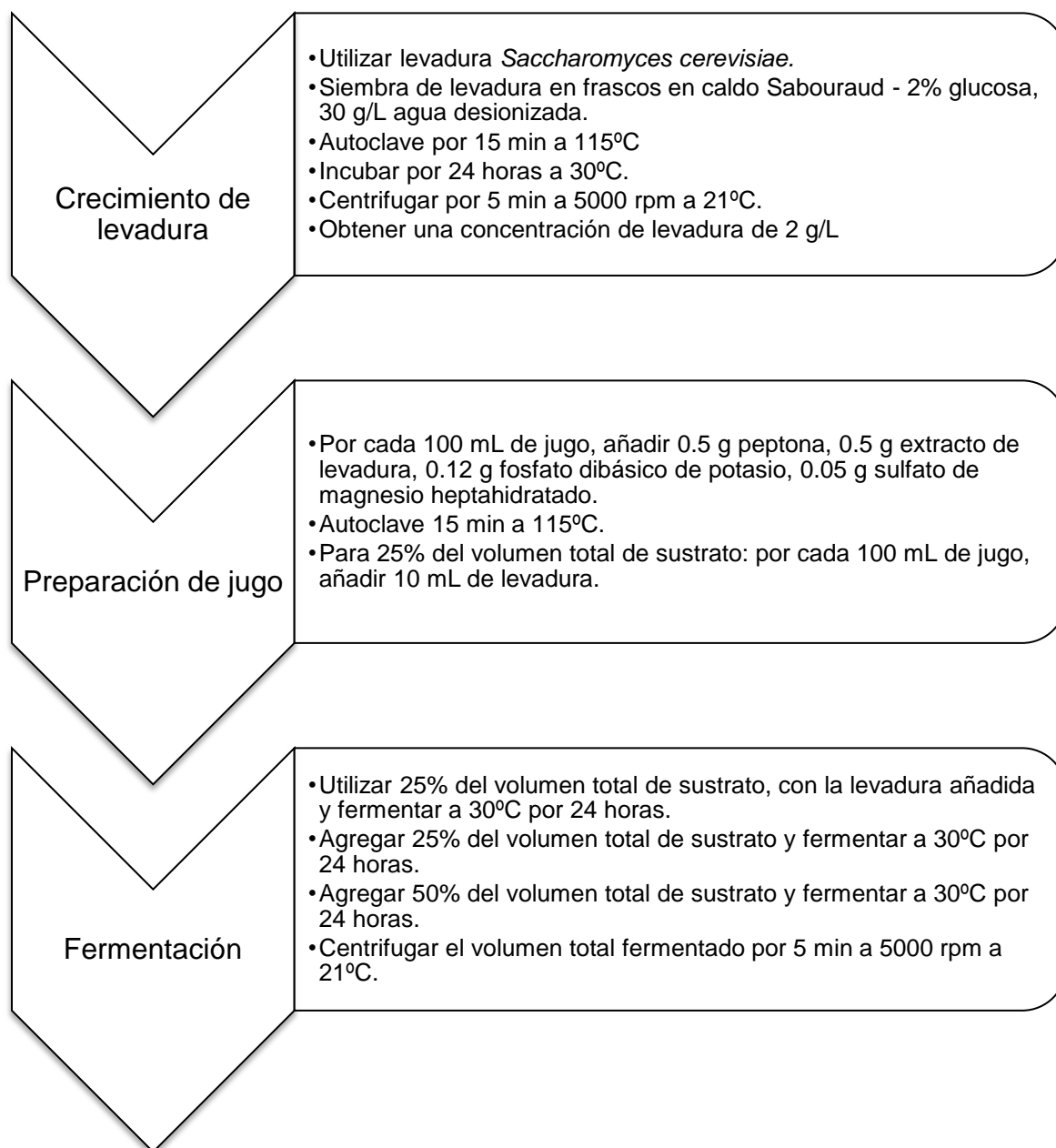




Figura No. 7: Diseño de proceso de fermentación por lote alimentado que mejora el rendimiento de producción de etanol, comparado con una fermentación simple.



## VII. DISCUSIÓN

### A. Aprovechamiento de la levadura

Se cultivó *Saccharomyces cerevisiae* en caldo de Glucosa Sabouraud 2% y se calculó el peso seco en la hora 0 de fermentación para revisar que la concentración inicial de levadura fuera suficiente para la cantidad de jugo a fermentar, alcanzando una concentración aproximada de 2 g/L. Para este propósito, se realizó análisis de absorbancia a una longitud de onda de 540 nm y se utilizó una curva patrón que relaciona absorbancia contra concentración (g/L) de levadura.

La levadura fue agregada al jugo de sorgo dulce en una concentración de 10% v/v en la hora 0 de fermentación y no se agregó más durante las 72 horas de fermentación. De esta forma se logró aprovechar la levadura en más de un lote de fermentación, donde la alimentación de sustrato cada 24 horas permitió que la levadura continuara obteniendo glucosa y produciendo etanol.

### B. Consumo de azúcares totales

La cuantificación de azúcares se realizó cada 24 horas por medio de dos métodos: por grados Brix y por cromatografía de capa líquida de alta resolución. Se realizó una correlación entre grados Brix y %p/v obtenido por cromatografía. La concentración inicial de glucosa, fructosa y sacarosa se sumó y se consideró como azúcares solubles totales.

Después de cada intervalo de 24 horas de fermentación, se consumió glucosa, fructosa y sacarosa dado que la levadura tiene la capacidad de consumir estas tres fuentes de carbohidratos. Se calculó el consumo de azúcares totales para determinar cuánto había consumido la levadura, éste se encontró entre 92.530% y 99.105%. A pesar de obtener altos porcentajes de consumo de azúcares totales, no significa que se convirtieran en etanol ya que la levadura también consume azúcares para su crecimiento y reproducción. Un análisis de porcentaje de eficiencia de conversión determinó qué cantidad de los azúcares consumidos se convirtió en etanol.

### C. Porcentaje de eficiencia de conversión

Se calculó la eficiencia de conversión como el rendimiento de etanol obtenido entre el rendimiento teórico de producción de etanol. Las eficiencias promedio de conversión de glucosa a etanol fueron 27.20%, 23.42% y 24.80% para las estrategias de lote alimentado de 25:25:50, 50:50 y 75:25:00, respectivamente. La eficiencia promedio de la fermentación simple fue 25.23%, por lo que la estrategia 25:25:50 es la que presenta mejores resultados para producción de etanol.

### D. Productividad volumétrica de etanol y rendimiento

Se llevó a cabo la cuantificación de alcoholes por cromatografía de gases. La cantidad de alcohol por muestra se realizó a partir de la concentración peso/volumen (%p/v) ya que se utilizaron diferentes volúmenes de fermentación.

Se realizó una curva de calibración con estándares de isopropanol al 10% en concentración de 0.8, 2.0, 2.4, 6.0 y 14.0 %p/v. Algunos porcentajes de alcohol obtenidos se encontraron por encima del 14.0 %p/v, por lo que se diluyeron las muestras 10:3 y se volvieron analizar por cromatografía de gases, utilizando estándares de isopropanol al 10% en concentración de 2.0, 6.0 y 14.0, 18.0, 22.0 %p/v. En el Cuadro No.26 se muestra el cambio en la cuantificación de alcoholes antes de diluir (análisis 1) y después de diluir (análisis 2).

Los resultados de la cromatografía de gases presentan la cuantificación de alcoholes como %p/v, por lo que se convirtió a %v/v utilizando la densidad teórica del etanol de 0.789 a 25°C, asumiendo que todos los alcoholes presentes eran etanol. Esto da un margen de error ya que no es la densidad real de los alcoholes en la muestra pero es una aproximación cercana.

Se calculó el rendimiento de producción de etanol después de 72 horas para la fermentación por lote alimentado, los cuales fueron 13.42%, 10.88% y 13.37% para las estrategias de 25:25:50, 50:50 y 75:25, respectivamente. El rendimiento de etanol en la fermentación simple después de 72 horas fue 12.51%. Esto muestra que con la fermentación por lote alimentado se obtienen mejores rendimientos que con fermentación simple. La estrategia con mejor rendimiento de producción de etanol fue la 25:25:50.

Además de buscar mejores rendimientos de etanol se busca mejorar la productividad para obtener altos rendimientos de producción por unidad de tiempo. Para esto se calculó la productividad volumétrica de etanol. La estrategia con mejor productividad fue por lote alimentado 25:25:50 con 0.074 g/L.h, 0.041 g/L.h y 0.030 g/L.h después de 24, 48 y 72 horas, respectivamente. El promedio de productividad volumétrica de etanol para esta estrategia fue 0.048 g/L.h, superior al promedio de 0.045 g/L.h de la fermentación simple.

## E. Cinética de fermentación

Se obtuvo la cinética de fermentación gráficamente para diferentes estrategias de lote alimentado (ver Gráfica No. 3). Después de 72 horas, los azúcares solubles habían sido consumidos casi por completo para las tres estrategias de lote alimentado y para la fermentación simple. La producción de etanol aumenta a medida que se alimenta más sustrato, a excepción de la estrategia 50:50.

La estrategia de fermentación de 50:50 muestra un comportamiento diferente ya que disminuye la producción de etanol, esto se puede deber a que sólo se trabajó una corrida a 72 horas mientras que se utilizó el promedio a 0, 24 y 48 horas de fermentación. No es posible concluir que esta fermentación tiene menor rendimiento dado que hicieron falta datos experimentales.

## F. Diseño de proceso de fermentación

Se diseñó un proceso de fermentación por lote alimentado que mejora el rendimiento de producción de etanol, en comparación con la fermentación simple. Se trabajó con tres estrategias de lote alimentado, 25:25:50, 75:25 y 50:50. La estrategia elegida para el diseño fue de 25:25:50. En la Figura No. 7 se explica de forma detallada el proceso de fermentación. A continuación se muestran los pasos del proceso.

1. Crecimiento de levadura: Se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* por ser una levadura común y de fácil obtención. Además cuenta con suficiente información histórica en la producción de etanol a partir de la fermentación de azúcares solubles.

2. Preparación de jugo: Se utilizó una mezcla de jugo de sorgo dulce (*Sorghum bicolor* M.) de las variedades Top 76-6, Umbrella, Dale, Della, Sugar Drip y M 81 E, por su disponibilidad en Guatemala y por sus altos contenidos de azúcares solubles. Se prefiere trabajar con jugo recién extraído para evitar la formación de gomas y polímeros. Al jugo de sorgo dulce se le agregaron nutrientes como peptona como fuente de nitrógeno, fosfato dibásico de potasio como fuente de fósforo, sulfato de magnesio heptahidratado como fuente de azufre y de magnesio el cual se utiliza como cofactor de enzima, y extracto de levadura como fuente de nitrógeno y de otros factores de crecimiento como vitaminas.

3. Fermentación: Se trabajó con la estrategia 25:25:50, donde se inicia con 25% del volumen total de sustrato, se alimenta 25% del volumen a las 24 horas y 50% del volumen a las 48 horas. De forma similar se trabajó con la estrategia 75:25 (75% del volumen total seguido por alimentación del 25% del volumen) y con la estrategia 50:50 (50% del volumen total seguido de alimentación de 50% del volumen). También se trabajó con una fermentación simple como control, para propósitos de comparación. La fermentación se realizó por 72 horas. Para evitar efectos de regulación metabólica de la levadura, se agregó poco a poco la glucosa en cada intervalo de 24 horas.

Las experiencias de fermentación se trabajaron inicialmente en un fermentador de 5 L, con temperatura controlada a 30°C sin agitación; se trabajó a una escala de volumen total de 1000 mL. Luego se decidió trabajar en Erlenmeyers de 250 mL a una escala de volumen total de 200 mL, los cuales fueron colocados en una incubadora a 30°C sin agitación. El cambio de escalas de fermentación dificultó la comparación entre las diferentes estrategias y entre las diferentes corridas, por lo que se analizaron según concentraciones másicas y volumétricas en lugar de cantidades netas.

Se tomaron muestras de 10 mL para cada estrategia cada 24 horas, para el análisis de cuantificación de azúcares por refractómetro y por cromatografía de capa líquida de alta resolución, cuantificación de alcoholes producidos por cromatografía de gases y acidez por análisis potenciométrico. Los resultados no muestran correlación entre la producción de etanol y la acidez del jugo, por lo que se asume que los ácidos producidos durante la fermentación son despreciables. Los valores de pH se encontraron en el rango de 4.55 a 5.35, los cuales varían en cada muestra por lo que a pesar de no tener relación tampoco fueron constantes.

## VIII. CONCLUSIONES

1. La estrategia de fermentación que obtuvo mayor productividad de etanol fue la fermentación por lote alimentado 25:25:50, con mejor productividad que la fermentación simple bajo las mismas condiciones.
2. El consumo de glucosa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* del jugo de sorgo dulce estuvo entre 93.30 y 99.11%.
3. El rendimiento de etanol para la fermentación por lote alimentado 25:25:50 fue 13.42% después de 72 horas.
4. El rendimiento de etanol para la fermentación por lote alimentado 50:50 fue 10.88% después de 48 horas.
5. El rendimiento de etanol para la fermentación por lote alimentado 75:25:00 fue 13.37% después de 72 horas.
6. La productividad volumétrica de etanol para la fermentación por lote alimentado 25:25:50 fue 0.074 g/L.h, 0.041 g/L.h y 0.030 g/L.h después de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.
7. La productividad volumétrica de etanol para la fermentación por lote alimentado 50:50:00 fue 0.074 g/L.h, 0.037 g/L.h y 0.021 g/L.h después de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.
8. La productividad volumétrica de etanol para la fermentación por lote alimentado 75:25:00 fue 0.067 g/L.h, 0.038 g/L.h y 0.029 g/L.h después de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.
9. La eficiencia promedio de conversión de glucosa a etanol por lote alimentado 25:25:50 fue 27.20%.
10. La eficiencia de conversión de glucosa a etanol por lote alimentado 50:50:00 fue en promedio 23.42%.
11. La eficiencia de conversión de glucosa a etanol por lote alimentado 75:25:00 fue en promedio 24.80%.

## IX. RECOMENDACIONES

- Utilizar jugo de sorgo dulce con poco tiempo de extraído para evitar trabajar con gomas y polímeros que se forman después de varias semanas de extraído.
- Utilizar la variedad de sorgo dulce que presente mayor cantidad de azúcar.
- Utilizar una sola escala de fermentación para tener mejores parámetros de comparación entre las corridas y las estrategias.
- Emplear un fermentador como reactor en lugar de Erlenmeyer, para tener control de parámetros importantes tales como temperatura y agitación.
- Realizar pruebas con otras levaduras con el objetivo de buscar mayor producción de etanol.
- Experimentar con diferentes combinaciones de nutrientes como fuentes de nitrógeno, fósforo y azufre para mejorar rendimiento de producción de etanol.
- Medir densidad de etanol para calcular el %v/v a partir del %p/v, en lugar de obtenerlo de forma teórica en la literatura a partir de la temperatura de operación.
- Tomar muestras en intervalos menores de 24 horas para estudiar mejor el comportamiento de tasa de consumo de azúcar y producción de etanol.
- Realizar conteo de levaduras por lo menos cada 24 horas para analizar las fases de crecimiento durante la fermentación.
- Destilar el etanol producido y revisar si cumple con las especificaciones de combustible de Detroit Diesel Corporation (DDC) y General Motors Corporation (GM), con sus respectivos métodos de prueba estándar de la Asociación Americana de Pruebas y Materiales (ASTM).

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Chiaramonti, D., G. Grassi, A. Nardi, y H. P. Grimm. 2004. *Large Bio-Ethanol Project from Sweet Sorghum in China and Italy*. Energia Trasporti Agricoltura. Italia.
2. Departamento de Agricultura, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2002. *Sorgo dulce en China*. Italia.
3. Departamento de Agricultura, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1995. *El sorgo y el mijo en la nutrición humana*. Italia.
4. Departamento Económico y Social de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1997. *La economía del sorgo y del mijo en el mundo: hechos, tendencias y perspectivas*. Italia.  
Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w1808s/w1808s00.htm#Contents>
5. Dimple K. Kundiyana, Danielle D. Bellmer, Raymond L. Huhnke, Mark R. Wilkins, P.L. Claypool. 2008. *Influence of temperature, pH and yeast on in-field production of ethanol from unsterilized sweet sorghum juice*. Elsevier Academic Press. Estados Unidos. Páginas 1481-1486.
6. Drapcho, Caye M., Nghiem Phu Nhuan, Terry H. Walker. 2008. *Biofuels Engineering Process Technology*. McGraw-Hill, Estados Unidos.
7. Grassi, Giuliana et.al. 1992. *Sweet sorghum: promising industrial energy crop*. Commission of the European Communities. 69 páginas.
8. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 2011. *ICUMSA Methods Book*.
9. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT). 2006. *Sweet Sorghum*. India. 24 páginas.
10. Köppen, Susanne et. al. 2009. *Assessment of energy and greenhouse gas inventories of Sweet Sorghum for first and second generation bioethanol*. Environment and Natural Resources Service Series No. 30, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. Italia.
11. Laopaiboon, Lakkana, Pornthap Thanonkeo, Prasit Jaisil, Pattana laopaiboon. 2007. *Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations*. World J Microbiol Biotechnol. Volumen 23. Páginas 1497-1501.

12. Longobardi, G.P. 1994. *Bioprocess Engineering 10. Fed-batch versus batch fermentation*. Springer-Verlag. Italia.
13. Nan, Lu *et. al.* 1994. *Integrated energy systems in China – The cold Northeastern región experience*. Editorial Board. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Italia.  
Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/T4470E/t4470e00.htm#Contents>
14. Shigeru Chohnan, Megumi Nakane, M. Habibur Rahman, Youji Nitta, Takanori Yoshiura, Hiroyuki Ohta, y Yasurou Kurusu. 2010. *Fuel ethanol production from sweet sorghum using repeated-batch fermentation*. Revista, Journal of Bioscience and Bioengineering, Volumen 111 No. 4. Página 433.
15. Vogel, Henry. 1983. *Fermentation and biochemical engineering handbook: principles, process design and equipment*. Park Ridege.
16. Skoog, Douglas, *et.al.* 2005. *Fundamentos de química analítica*. 8a edición. México. Thomson. 1065 páginas.
17. Soetaert, Wim y Erick J. Vandamme. 2009. *Biofuels*. Wiley, Estados Unidos.
18. Walker, Graeme M. 2010. *Bioethanol: Science and technology of fuel alcohol*. Walker & Ventus Publishing.
19. Wyman, Charles E. 1996. *Handbook on bioethanol; Production and Utilization*. Taylor & Francis. Estados Unidos.
20. Yu, Jianliang, Xu Zhang y Tianwei Tan. 2009. *Optimization of media conditions for the production of ethanol from sweet sorghum juice by immobilized Saccharomyces cerevisiae*. Revista, Biomass and Bioenergy, edición 33 (2009). Páginas 521-526

# XI. APÉNDICE

## A. PROCEDIMIENTO

Figura No. 8: Procedimiento experimental

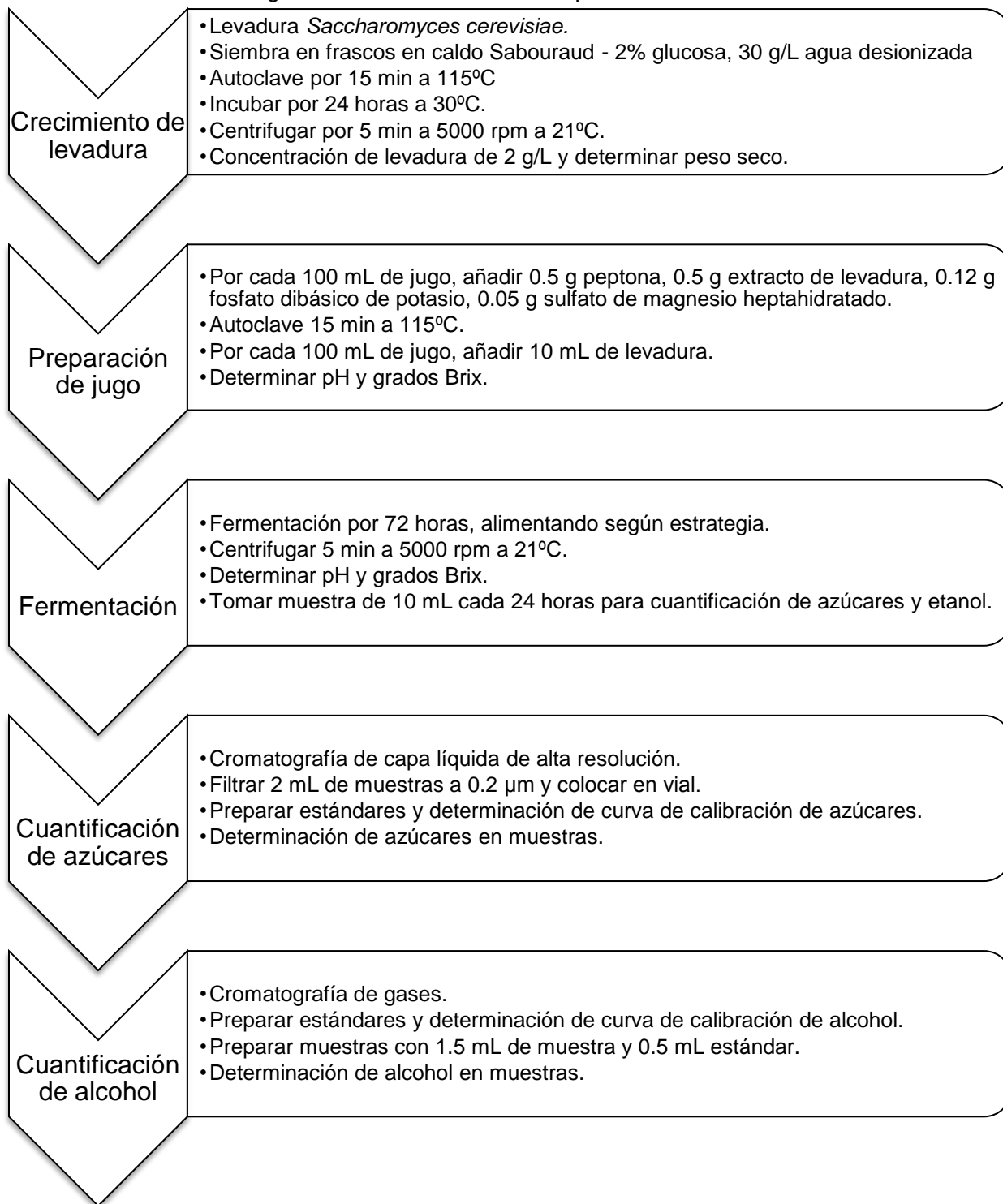


Figura No. 9: Procedimiento experimental de fermentación simple, escala 1000 mL

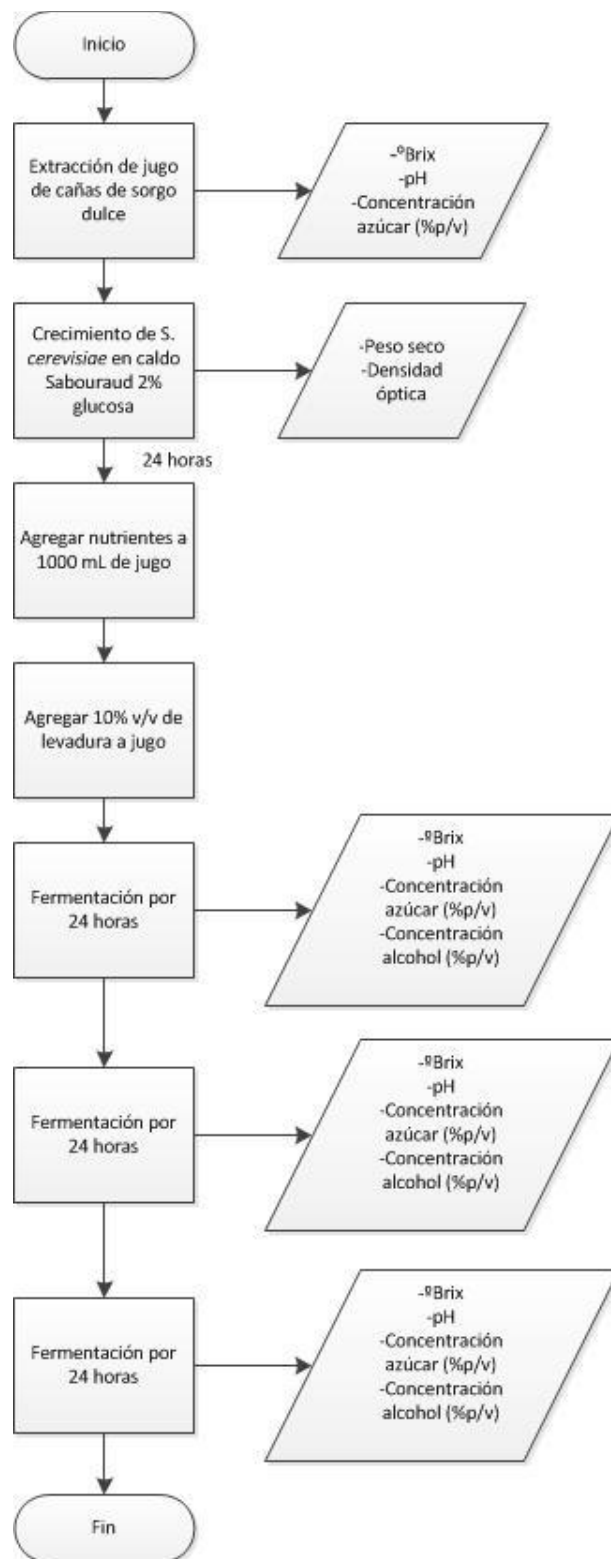


Figura No. 10 : Procedimiento experimental de fermentación simple, escala 200 mL

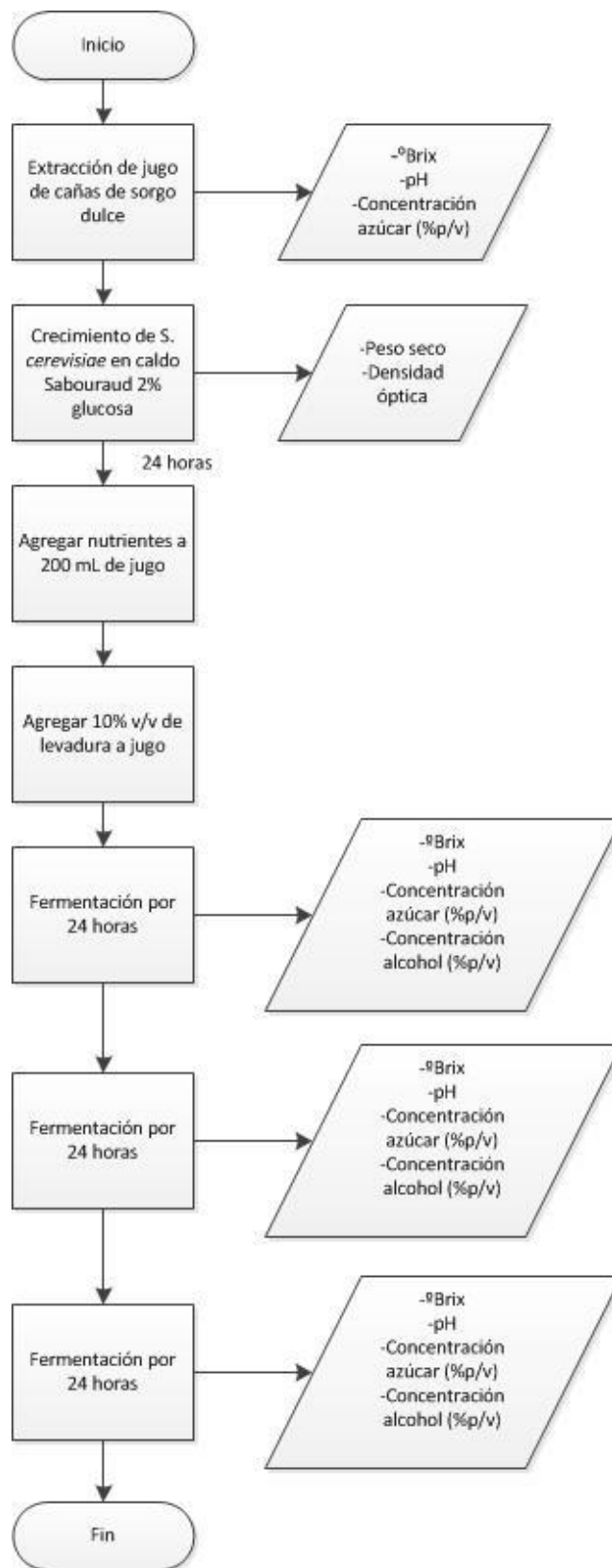


Figura No. 11 : Procedimiento experimental de fermentación de lote alimentado estrategia 50:50:00, escala 1000 mL

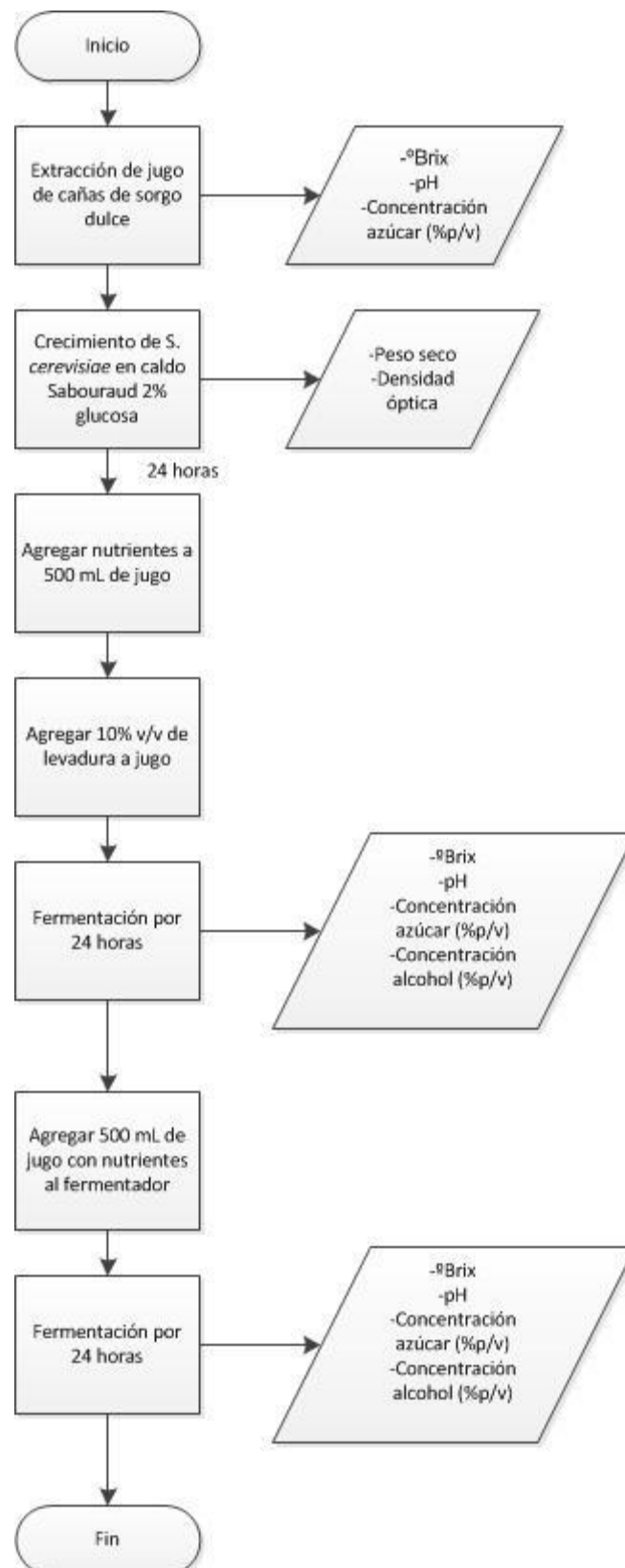


Figura No. 12 : Procedimiento experimental de fermentación de lote alimentado estrategia 50:50:00, escala 200 mL

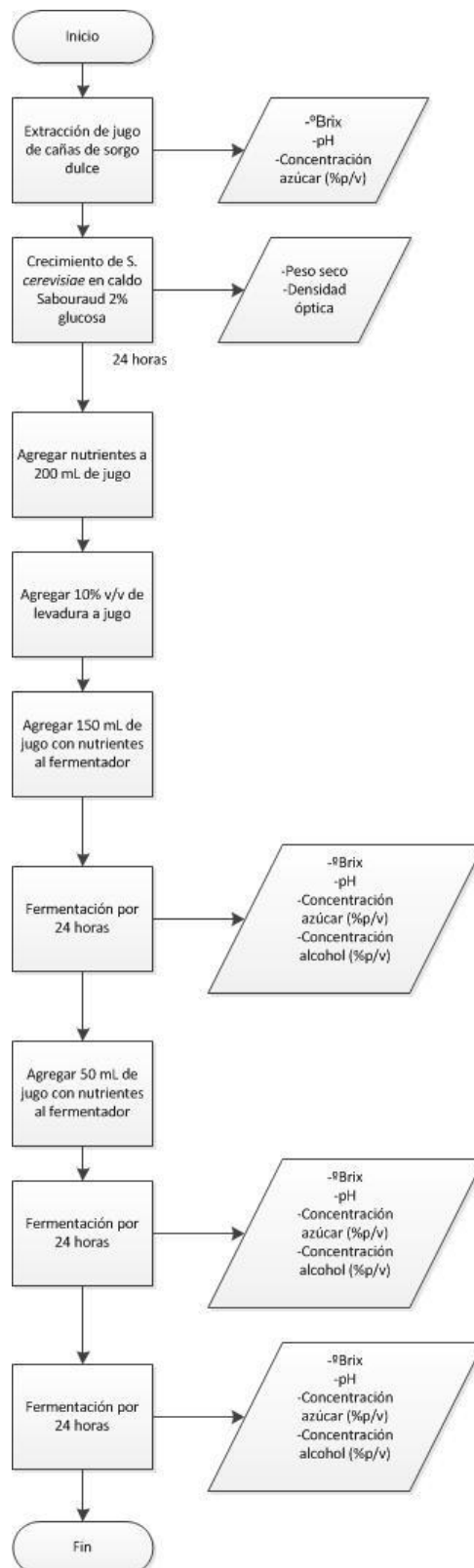


Figura No.13: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 25:25:50, escala 1000 mL

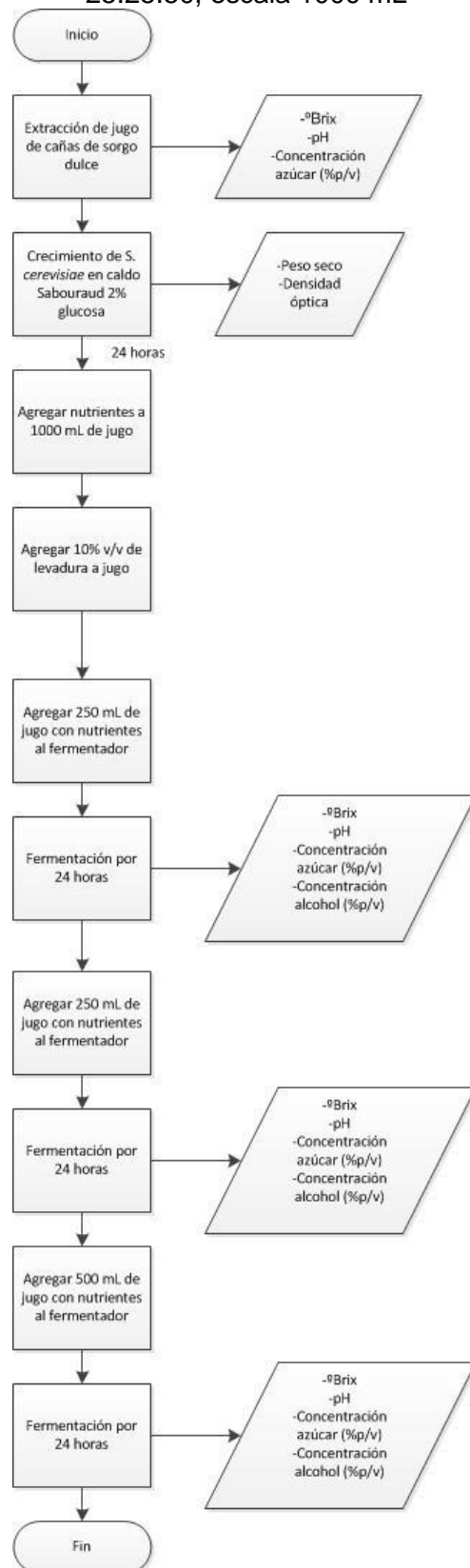


Figura No.14: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 25:25:50, escala 200 mL

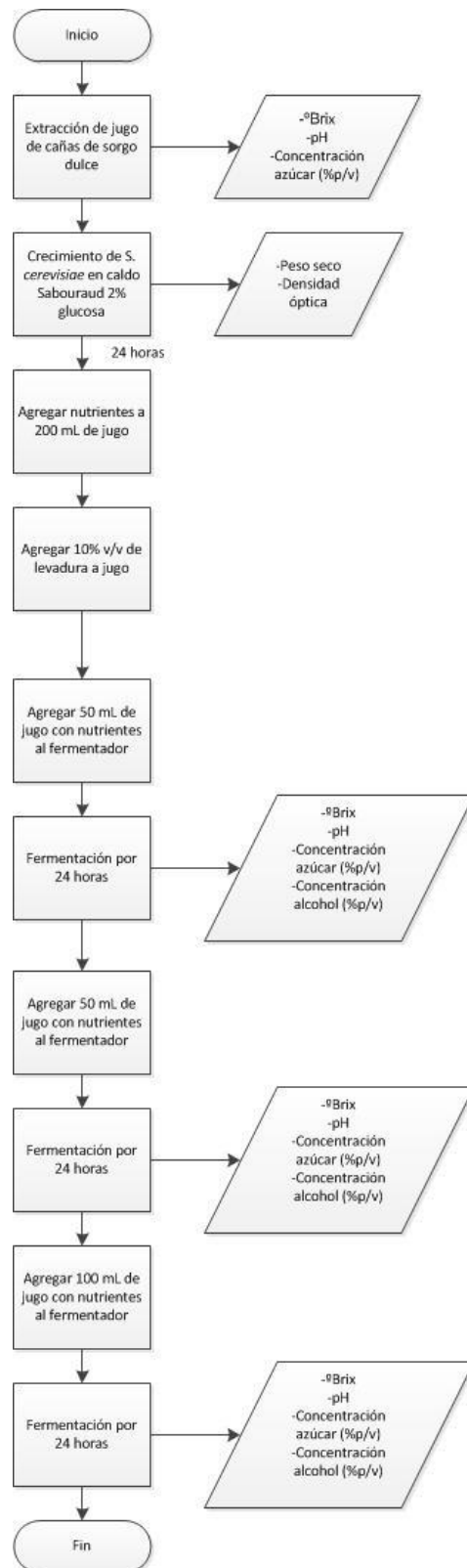


Figura No.15: Procedimiento experimental de fermentación alimentada estrategia 75:25:00, escala 200 mL

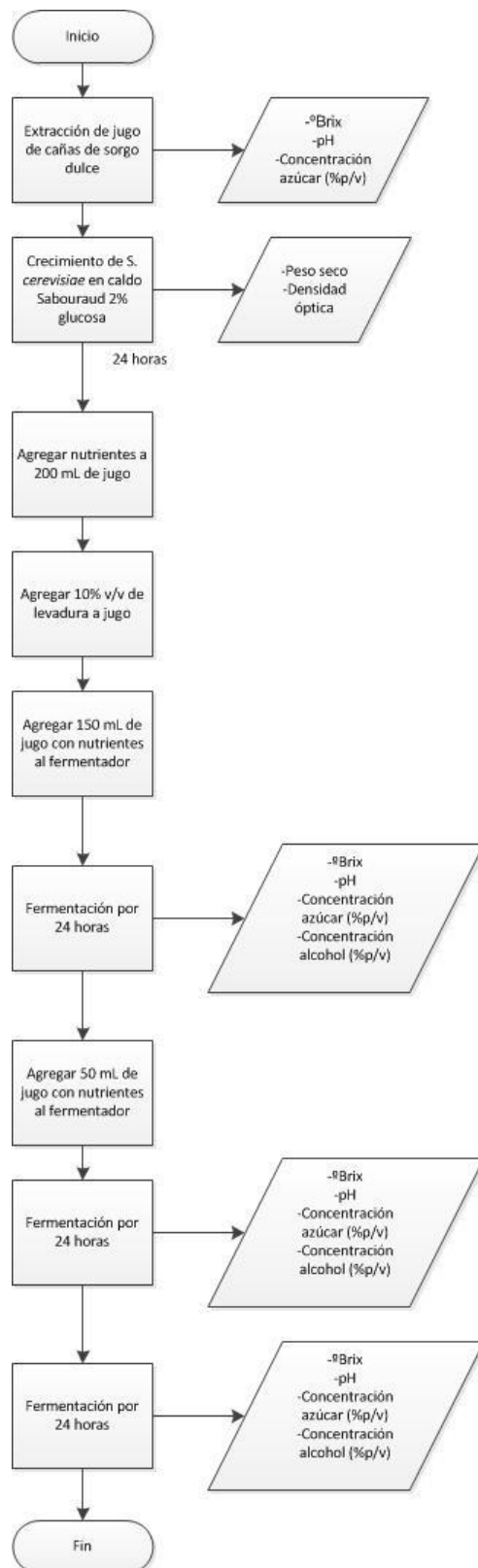
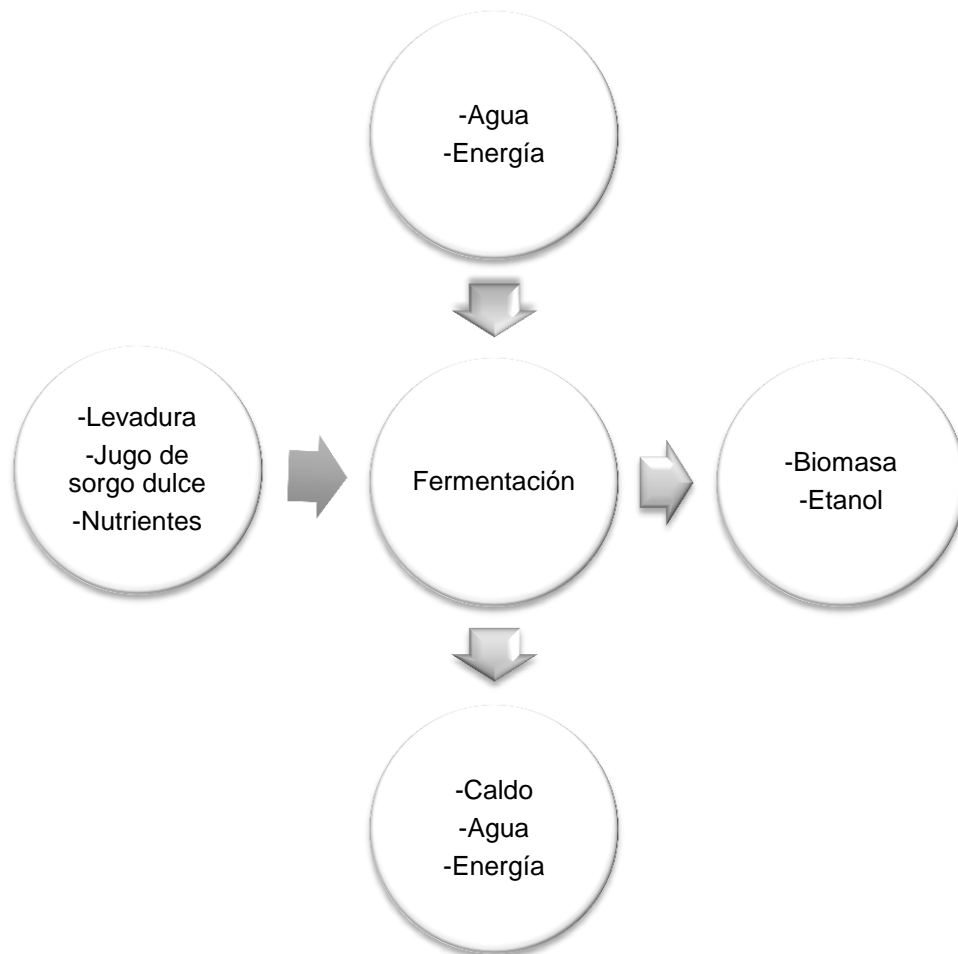


Figura No.16: Diagrama de entradas y salidas para la fermentación de jugo de sorgo dulce



Cuadro No.11: Especificaciones de los equipos a utilizar en prueba a nivel laboratorio

| Nombre del equipo        | Especificaciones |                            |
|--------------------------|------------------|----------------------------|
| Fermentador              | Marca            | New Brunswick Scientific   |
|                          | Modelo           | Bioflo 200                 |
|                          | Potencia         | 1200 W                     |
|                          | Voltaje          | 120 V                      |
|                          | Corriente        | 10 A                       |
|                          | Frecuencia       | 50/60 Hz                   |
|                          | Capacidad        | 5 L                        |
| Incubadora con agitación | Marca            | New Brunswick Scientific   |
|                          | Modelo           | G-25                       |
|                          | Potencia         | 1200 W                     |
|                          | Voltaje          | 120 V                      |
|                          | Corriente        | 10 A                       |
|                          | Frecuencia       | 50/60 Hz                   |
| Incubadora               | Marca            | Lab-Line Instruments, Inc. |
|                          | Modelo           | Imperial III (310)         |
|                          | Potencia         | 600 W                      |
|                          | Voltaje          | 120 V                      |
|                          | Corriente        | 500 A                      |
|                          | Frecuencia       | 50/60 Hz                   |
| Centrífuga               | Marca            | Eppendorf AG               |
|                          | Modelo           | 5804R                      |
|                          | Potencia         | 1300 W                     |
|                          | Voltaje          | 120 V                      |
|                          | Corriente        | 12 A                       |
|                          | Frecuencia       | 60 Hz                      |
|                          | Capacidad        | 14,000 rpm                 |
| Centrífuga               | Marca            | Fisher Scientific          |
|                          | Modelo           | 228                        |
|                          | Voltaje          | 115 V                      |
|                          | Corriente        | 2.1 A                      |
|                          | Frecuencia       | 60 Hz                      |
|                          | Capacidad        | 3,300 rpm                  |
| Balanza                  | Marca            | Ohaus                      |
|                          | Modelo           | Pioneer                    |
|                          | Potencia         | 4 W                        |
|                          | Voltaje          | 20 V                       |
|                          | Corriente        | 5 A                        |
|                          | Capacidad        | 110 g                      |
|                          | Incertidumbre    | ±0.0001 g                  |
| Autoclave                | Marca            | Napco                      |
|                          | Modelo           | 8000-DSE                   |
|                          | Potencia         | 1750 W                     |
|                          | Frecuencia       | 60 Hz                      |

(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No. 11: Especificaciones de los equipos a utilizar en prueba a nivel laboratorio (continuación)

| Nombre del equipo        | Especificaciones          |   |
|--------------------------|---------------------------|---|
| Refractómetro digital    | Marca                     | Sper Scientific 30034                                 |
|                          | Modelo                    | 30034   |
|                          | Voltaje                   | 9 V (batería)   |
|                          | Rango                     | 0-95 % Brix<br>1.330-1.5318 índice de refracción (nD) |
|                          | Incertidumbre             | ±0.2 % Brix<br>±0.001 índice de refracción (nD)       |
| Espectrofotómetro UV-VIS | Marca                     | Shimadzu  |
|                          | Modelo                    | Mini 1240   |
|                          | Potencia                  | 20 W  |
|                          | Voltaje                   | 100-120 o 220-240 V                                   |
|                          | Frecuencia                | 50/60 Hz  |
|                          | Rango de longitud de onda | 190.0-1100.0 nm                                       |
|                          | Incertidumbre             | ±1.0 nm   |
| Potenciómetro            | Marca                     | ICM   |
|                          | Voltaje                   | +900 a -900 mV  |
|                          | Escala                    | 0-14 pH   |
|                          | Incertidumbre             | ±0.05 pH  |

(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No.12: Especificaciones de los equipos a utilizar en prueba a nivel laboratorio

| Nombre del equipo                               | Especificaciones           |                           |
|---|----------------------------|---------------------------|
| Cromatógrafo de gases (GC)                      | Marca                      | Agilent                   |
|   | Modelo                     | 6890                      |
|   | Voltaje                    | 200 V                     |
|   | Corriente                  | 15 A                      |
|   | Detector                   | Ionización de llama (FID) |
|   | Tiempo máximo de corrida   | 999.99 min                |
|   | Estándar interno           | Isopropanol               |
|   | Gas acarreador             | N <sub>2</sub>            |
| Cromatógrafo de capa líquida de alta resolución | Marca                      | Agilent                   |
|   | Modelo                     | 1200                      |
|   | Potencia                   | 55 W                      |
|   | Voltaje                    | 100-120 o 220-240 V       |
|   | Frecuencia                 | 50/60 Hz                  |
|   | Columna                    | C18<br>300 x 7.87 mm      |
|   | Fase móvil                 | Agua                      |
| Detector  | Índice de Refracción (RID) |                           |

(Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No.13: Condiciones de operación cromatografía de capa líquida de alta resolución

|                   |                |
|-------------------|----------------|
| Fase móvil        | Agua           |
| Columna           | C18 300x7.87mm |
| Flujo             | 1.3 mL/min     |
| Inyección         | 20 µL          |
| Temp. Columna     | 60°C           |
| Temp. Detector    | 50°C           |
| Detector          | RID            |
| Curva calibración | Origen forzado |
| Acondicionamiento | 10 min         |

(Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado, Universidad del Valle de Guatemala)

Cuadro No.14: Condiciones de operación cromatografía de gases

|   |                             |
|---|-----------------------------|
| Estándar interno                          | Isopropanol (ISP) 10%       |
| Gas acarreador                            | N <sub>2</sub>              |
| Tiempo retención total                    | 7 min                       |
| Tiempo retención etanol                   | 4.688 min (4.566-4.907 min) |
| Tiempo retención ISP                      | 6.201 min (6.044-6.610 min) |
| Inyección (manual)                        | 1 µL                        |
| Detector                                  | Ionización de llama         |
| Muestra                                   | Filtrada a 0.22 µm          |
| *1.5 mL muestra + 0.5 mL estándar interno |                             |

(Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado, Universidad del Valle de Guatemala)

## B. DATOS ORIGINALES

Cuadro No.15: Datos para curva patrón de glucosa leída a longitud de onda de 490 nm.

| Tubo No. | Solución glucosa 0.1% (± 0.05 mL) | Agua desionizada (± 0.05 mL) | Fenol 5% (± 0.05 mL) | Ácido sulfúrico 95% (± 0.05 mL) | Absorbancia (± 0.001) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------|
| 0        | 0                                 | 1                            | 1                    | 5                               | 0.010                 |
| 1        | 0.1                               | 0.9                          | 1                    | 5                               | 0.104                 |
| 2        | 0.2                               | 0.8                          | 1                    | 5                               | 0.191                 |
| 3        | 0.3                               | 0.7                          | 1                    | 5                               | 0.214                 |
| 4        | 0.4                               | 0.6                          | 1                    | 5                               | 0.280                 |
| 5        | 0.5                               | 0.5                          | 1                    | 5                               | 0.349                 |
| 6        | 0.6                               | 0.4                          | 1                    | 5                               | 0.548                 |
| 7        | 0.7                               | 0.3                          | 1                    | 5                               | 0.614                 |

Cuadro No.16: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de capa líquida de alta resolución para análisis de azúcares en cuatro concentraciones diferentes, primer análisis.

| Tiempo de retención | Nivel | Concentración (%) |
|---------------------|-------|-------------------|
| 4.015 Fructosa      | 1     | 0.995282          |
|                     | 2     | 1.99056           |
|                     | 3     | 2.4882            |
|                     | 4     | 3.483487          |
| 4.246 Glucosa       | 1     | 1.00677           |
|                     | 2     | 2.01354           |
|                     | 3     | 2.51692           |
|                     | 4     | 3.523695          |
| 5.499 Sacarosa      | 1     | 3.98594           |
|                     | 2     | 7.97188           |
|                     | 3     | 9.96485           |
|                     | 4     | 13.95079          |

Cuadro No.17: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de capa líquida de alta resolución para análisis de azúcares en cuatro concentraciones diferentes, segundo análisis.

| Tiempo de retención | Nivel | Concentración (%) |
|---------------------|-------|-------------------|
| 4.104 Fructosa      | 1     | 0.99528           |
|                     | 2     | 1.99056           |
|                     | 3     | 2.48820           |
|                     | 4     | 3.48348           |
| 4.365 Glucosa       | 1     | 1.00677           |
|                     | 2     | 2.01354           |
|                     | 3     | 2.51692           |
|                     | 4     | 3.52369           |
| 5.709 Sacarosa      | 1     | 3.98594           |
|                     | 2     | 7.97188           |
|                     | 3     | 9.96485           |
|                     | 4     | 13.95079          |

Cuadro No.18: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de gases para análisis de alcohol en cinco concentraciones diferentes de estándar interno isopropanol, primer análisis.

| Concentración (%) | Área (UA)  |
|-------------------|------------|
| 0.8               | 405.1098   |
| 2.0               | 1299.16199 |
| 2.4               | 1810.45715 |
| 6.0               | 5726.74561 |
| 14.0              | 23661.7    |

Cuadro No.19: Datos para curva de calibración del cromatógrafo de gases para análisis de alcohol en cinco concentraciones diferentes de estándar interno isopropanol, segundo análisis con muestras diluidas.

| Concentración (%) | Área (UA) |
|-------------------|-----------|
| 2.0               | 9074.2793 |
| 6.0               | 28935.6   |
| 14.0              | 68973.8   |
| 18.0              | 50892.2   |
| 22.0              | 174421    |

Cuadro No.20: Datos para curva patrón de concentración de levadura *Saccharomyces cerevisiae* contra absorbancia a una longitud de onda de 540 nm.

| Concentración (g/L) | Absorbancia ( $\pm 0.001$ ) |
|---------------------|-----------------------------|
| 4.04                | 2.094                       |
| 0.404               | 0.948                       |
| 0.202               | 0.465                       |
| 0.101               | 0.264                       |

Cuadro No.21: Peso seco de levadura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada para la fermentación y absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm.

| Estrategia          | Peso seco ( $\pm 0.0001$ g) | Absorbancia ( $\pm 0.001$ ) |
|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Fermentación simple | 0.0137                      | 1.577                       |
| 25:25:50            | 0.0132                      | 1.623                       |
| 75:25               | 0.0170                      | 1.624                       |
| 50:50               | 0.0123                      | 1.625                       |

Cuadro No.22: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Glucosa (%p/v) | Fructosa (%p/v) | Sacarosa (%p/v) | °Brix ( $\pm 0.2$ ) | pH ( $\pm 0.05$ ) | Alcohol (%p/v) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|
| 1       | 0                          | 1000               | 2.171          | 1.199           | 10.592          | 14.7                | 5.30              | 0.000          |
|         | 24                         | 1000               | 0.007          | 0.000           | 0.309           | 5.3                 | 5.20              | 18.593         |
|         | 48                         | 990                | 0.042          | 0.163           | 0.304           | 5.0                 | 4.55              | 18.617         |
|         | 72                         | 980                | 0.032          | 0.000           | 0.357           | 5.6                 | 5.10              | 19.811         |
| 2       | 0                          | 200                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 200                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.076          | 0.000           | 0.148           | 6.1                 | 4.95              | 18.715         |
|         | 72                         | 180                | 0.022          | 0.000           | 0.248           | 6.2                 | 5.07              | 21.994         |
| 3       | 0                          | 200                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 200                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.084          | 0.000           | 0.045           | 6.2                 | 4.95              | 17.086         |
|         | 72                         | 180                | 0.021          | 0.000           | 0.266           | 6.5                 | 5.05              | 18.147         |

Cuadro No.23: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Glucosa (%p/v) | Fructosa (%p/v) | Sacarosa (%p/v) | °Brix ( $\pm 0.2$ ) | pH ( $\pm 0.05$ ) | Alcohol (%p/v) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|
| 1       | 0                          | 500                | 1.357          | 0.901           | 11.677          | 14.2                | 5.25              | 0.000          |
|         | 24                         | 500                | 0.116          | 0.069           | 0.078           | 4.7                 | 4.75              | 19.398         |
|         | 48                         | 990                | 0.029          | 0.068           | 0.457           | 4.6                 | 5.05              | 19.836         |
|         | 72                         |                    |                |                 |                 |                     |                   |                |
| 2       | 0                          | 500                | 1.357          | 0.901           | 11.677          | 14.2                | 5.25              | 0.000          |
|         | 24                         | 500                | 0.021          | 0.098           | 0.189           | 4.6                 | 5.10              | 17.551         |
|         | 48                         | 990                | 0.025          | 0.07            | 0.106           | 4.8                 | 5.05              | 17.645         |
|         | 72                         |                    |                |                 |                 |                     |                   |                |
| 3       | 0                          | 100                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 100                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.093          | 0.000           | 0.042           | 6.0                 | 4.92              | 16.357         |
|         | 72                         | 180                | 0.024          | 0.019           | 0.295           | 6.0                 | 5.00              | 15.176         |

Cuadro No.24: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Glucosa (%p/v) | Fructosa (%p/v) | Sacarosa (%p/v) | °Brix ( $\pm 0.2$ ) | pH ( $\pm 0.05$ ) | Alcohol (%p/v) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|
| 1       | 0                          | 250                | 2.171          | 1.199           | 10.592          | 14.7                | 5.30              | 0.000          |
|         | 24                         | 250                | 0.007          | 0.000           | 0.309           | 5.3                 | 5.20              | 18.593         |
|         | 48                         | 490                | 0.063          | 0.012           | 0.091           | 5.1                 | 5.20              | 20.67          |
|         | 72                         | 980                | 0.019          | 0.000           | 0.288           | 6.8                 | 4.98              | 21.900         |
| 2       | 0                          | 250                | 2.171          | 1.199           | 10.592          | 14.7                | 5.30              | 0.000          |
|         | 24                         | 250                | 0.007          | 0.000           | 0.309           | 5.3                 | 5.20              | 18.593         |
|         | 48                         | 490                | 0.04           | 0.029           | 0.36            | 4.9                 | 5.05              | 19.301         |
|         | 72                         | 980                | 0.007          | 0.000           | 0.322           | 5.7                 | 5.00              | 21.817         |
| 3       | 0                          | 50                 | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 50                 | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 90                 | 0.051          | 0.000           | 0.09            | 6.4                 | 4.80              | 18.799         |
|         | 72                         | 180                | 0.048          | 0.000           | 0.346           | 6.5                 | 4.89              | 20.331         |

Cuadro No.25: Análisis de contenido de azúcares, grados Brix, pH y alcohol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Glucosa (%p/v) | Fructosa (%p/v) | Sacarosa (%p/v) | °Brix ( $\pm 0.2$ ) | pH ( $\pm 0.05$ ) | Alcohol (%p/v) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|
| 1       | 0                          | 150                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 150                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.18           | 0.000           | 0.802           | 6.3                 | 4.95              | 16.868         |
|         | 72                         | 180                | 0.356          | 0.000           | 0.558           | 6.4                 | 5.02              | 27.442         |
| 2       | 0                          | 150                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 150                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.291          | 0.000           | 0.786           | 6.2                 | 4.95              | 20.871         |
|         | 72                         | 180                | 0.314          | 0.000           | 0.652           | 6.2                 | 4.98              | 17.426         |
| 3       | 0                          | 150                | 2.321          | 1.801           | 10.295          | 15.0                | 5.35              | 0.000          |
|         | 24                         | 150                | 0.314          | 0.534           | 0.118           | 6.2                 | 4.87              | 16.067         |
|         | 48                         | 190                | 0.05           | 0.000           | 0.276           | 6.1                 | 4.95              | 16.443         |
|         | 72                         | 180                | 0.307          | 0.000           | 0.591           | 6.2                 | 4.98              | 16.889         |

Cuadro No.26: Análisis de contenido de alcohol para el jugo de sorgo dulce antes y después de dilución 10:3.

| Muestra | Estrategia | Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Concentración (g%) |            |                      |
|---------|------------|---------|----------------------------|--------------------|------------|----------------------|
|         |            |         |                            | Análisis 1         | Análisis 2 | Análisis 2 (diluido) |
| 3       | 50:50      | 3       | 24                         | 21.742             | 16.067     | 4.82016              |
| 4       | 50:50      | 3       | 48                         | 21.586             | 16.357     | 4.90699              |
| 5       | 25:25:50   | 3       | 48                         | 22.678             | 20.331     | 6.09934              |
| 6       | 100:0:0    | 2       | 48                         | 22.032             | 21.994     | 6.59808              |
| 7       | 100:0:0    | 3       | 48                         | 21.544             | 18.147     | 5.44413              |
| 8       | 75:25:00   | 1       | 48                         | 30.927             | 16.868     | 5.06033              |
| 9       | 75:25:00   | 2       | 48                         | 25.054             | 20.871     | 6.26120              |
| 10      | 75:25:00   | 3       | 48                         | 23.007             | 16.443     | 4.93290              |
| 11      | 50:50      | 3       | 72                         | 21.488             | 15.176     | 4.55285              |
| 12      | 25:25:50   | 3       | 72                         | 22.475             | 18.799     | 5.63971              |
| 13      | 100:0:0    | 2       | 72                         | 20.854             | 18.715     | 5.61458              |
| 14      | 100:0:0    | 3       | 72                         | 23.23              | 17.086     | 5.12585              |
| 15      | 75:25:00   | 1       | 72                         | 24.79              | 27.442     | 8.23272              |
| 16      | 75:25:00   | 2       | 72                         | 22.368             | 17.426     | 5.22785              |
| 17      | 75:25:00   | 3       | 72                         | 21.96              | 16.889     | 5.06678              |

### C. CÁLCULOS DE MUESTRA

#### 1. Cálculo de biomasa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* por volumen.

Se obtiene la ecuación de la curva patrón para absorbancia:

Ecuación No.8:

$$y = 1.4864x_2 - 1.3893x + 0.4269$$

Donde y es la concentración (g/L) y x es la absorbancia.

Ejemplo No.1: Cálculo de biomasa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* por volumen para una absorbancia obtenida de  $1.577 \pm 0.001$  a una longitud de onda de 540 nm

$$\text{Concentración} = 1.4864(1.577) - 1.3893(1.577) + 0.4269 = 1.9325 \text{ g/L}$$

## 2. Cálculo de porcentaje másico de azúcar soluble residual

Ecuación No.9:

$$\% \text{ azúcar soluble residual} = \% \text{ glucosa} + \% \text{ fructosa} + \% \text{ sacarosa}$$

Ejemplo No.2: Cálculo de porcentaje másico de azúcar soluble residual para 0 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\% \text{ azúcar soluble residual} = 2.171\% + 1.199\% + 10.592\%$$

$$\% \text{ azúcar soluble residual} = 13.962\% p/v = \frac{13.962g}{100mL}$$

## 3. Cálculo de masa de azúcar soluble residual

Ecuación No.10:

$$\text{masa de azúcar soluble residual} = \% \text{ azúcar soluble residual} \times \text{volumen}$$

Ejemplo No.3: Cálculo de porcentaje másico de azúcar soluble residual para 0 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\text{masa de azúcar soluble residual} = \frac{13.962g}{100mL} \times 250mL = 34.905g$$

## 4. Cálculo de consumo de azúcar

Ecuación No.11:

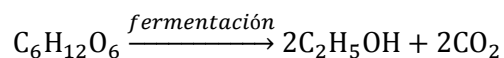
$$\% \text{ consumo de azúcar} = \frac{\text{azúcar inicial} - \text{azúcar final}}{\text{azúcar inicial}} \times 100$$

Ejemplo No.4: Cálculo de consumo de azúcar para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\% \text{ consumo de azúcar} = \frac{34.905g - 0.790g}{34.905g} \times 100 = 97.737\%$$

### 5. Cálculo de rendimiento porcentual de azúcar

Dado que la reacción de fermentación de azúcar para producir alcohol es la siguiente:



Por lo tanto, la producción teórica máxima de etanol se calcula de la siguiente forma:

$$y = \frac{2 \text{ mol etanol} \times \frac{46 \text{ g etanol}}{1 \text{ mol etanol}}}{1 \text{ mol glucosa} \times \frac{180 \text{ g glucosa}}{1 \text{ mol glucosa}}} = \frac{92 \text{ g etanol}}{180 \text{ g glucosa}} = 0.511$$

Entonces el rendimiento porcentual de azúcar se calcula de la siguiente manera:

Ecuación No.12:

$$\% \text{rendimiento azúcar} = \frac{(\text{alcohol final} - \text{alcohol inicial})}{\text{azúcar inicial}} \times \frac{180 \text{ g glucosa}}{92 \text{ g etanol}} \times 100$$

Ejemplo No.5: Cálculo de rendimiento de azúcar para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\% \text{rendimiento azúcar} = \frac{(0.465 - 0.000) \text{ g etanol}}{34.905 \text{ g glucosa}} \times \frac{180 \text{ g glucosa}}{92 \text{ g etanol}} \times 100 = 2.606\%$$

### 6. Cálculo de porcentaje volumétrico de etanol

Ecuación No.13:

$$\%v/v = \frac{\%p/v}{\rho} = \frac{\text{g etanol}}{100 \text{ mL jugo fermentado}} \times \frac{1 \text{ mL jugo fermentado}}{0.789 \text{ g etanol}} \times 100$$

Ejemplo No.6: Cálculo de porcentaje volumétrico de etanol para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\%v/v = \frac{18.593 \text{ g etanol}}{100 \text{ mL jugo fermentado}} \times \frac{1 \text{ mL etanol}}{0.789 \text{ g etanol}} \times 100 = 23.565\%v/v$$

## 7. Cálculo de producción teórica de etanol

Ecuación No.14:

$$\begin{aligned} & \textit{producción teórica de etanol} \\ & = \left[ (\%sacarosa \textit{ inicial} - \%sacarosa \textit{ final}) \left( \frac{\frac{360\text{g}}{\text{mol}} \textit{ glucosa}}{\frac{342\text{g}}{\text{mol}} \textit{ sacarosa}} \right) \right. \\ & \quad + (\%glucosa \textit{ inicial} - \%glucosa \textit{ final}) \\ & \quad \left. + (\%fructosa \textit{ inicial} - \%fructosa \textit{ final}) \right] \times \frac{92\text{g etanol}}{180\text{g glucosa}} \\ & \quad \times \frac{1 \text{ mL etanol}}{0.789\text{g etanol}} \end{aligned}$$

El peso molecular de la glucosa y de la fructosa son el mismo: 360 g/mol. 92/180 es la producción teórica de etanol máxima, tal como se observó en el Cálculo No. 5 y 0.789g/mL es la densidad del etanol.

Ejemplo No.7: Cálculo de producción teórica de etanol para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$\begin{aligned} & \textit{producción teórica de etanol} \\ & = \left[ (10.592 - 0.309) \frac{\text{g sacarosa}}{100 \text{ mL jugo}} \left( \frac{\frac{360\text{g}}{\text{mol}} \textit{ glucosa}}{\frac{342\text{g}}{\text{mol}} \textit{ sacarosa}} \right) + (2.171 \right. \\ & \quad \left. - 0.007) \frac{\text{g glucosa}}{100 \text{ mL jugo}} + (1.199 - 0.000) \frac{\text{g fructosa}}{100 \text{ mL jugo}} \times \frac{1 \text{ g glucosa}}{1 \text{ g fructosa}} \right] \\ & \quad \times \frac{92\text{g etanol}}{180\text{g glucosa}} \times \frac{1 \text{ mL etanol}}{0.789\text{g etanol}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\text{producción teórica de etanol} = \frac{15.897 \text{ mL etanol}}{\text{mL jugo}}$$

### 8. Cálculo de rendimiento de etanol

Ecuación No.7:

$$Y_{ps} = \frac{\text{etanol producido}}{\text{azúcar utilizada}}$$

Ejemplo No.8: Cálculo de rendimiento de etanol para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$Y_{ps} = \frac{18.593 \text{ g etanol}/100 \text{ mL}}{13.962 \text{ g azúcar}/100 \text{ mL}} = 1.332 \frac{\text{g etanol}}{\text{g azúcar}}$$

### 9. Cálculo de productividad volumétrica de etanol

Ecuación No.8:

$$Q_p = \frac{P}{t}$$

Donde P es la concentración de etanol producido (g/L) y t es el tiempo de fermentación (h).

Ejemplo No.9: Cálculo de productividad volumétrica de etanol para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$Q_p = \frac{1.859 \text{ g etanol}/\text{L jugo}}{24 \text{ h}} = \frac{0.077 \text{ g etanol}/\text{L jugo}}{\text{h}}$$

### 10. Cálculo de porcentaje de eficiencia de conversión

Ecuación No.9:

$$E_y = \frac{Y_{ps}}{\frac{92 \text{ g etanol}}{180 \text{ g glucosa}}} \times 100$$

Ejemplo No.10: Cálculo de porcentaje de eficiencia de conversión para 24 horas de fermentación por lote alimentado estrategia 25:25:50.

$$E_y = \frac{1.332 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ azúcar}}}{\frac{92g \text{ etanol}}{180g \text{ glucosa}}} \times 100 = 261.115$$

#### D. DATOS CALCULADOS

Cuadro No.27: Ecuación y factor de correlación para curva patrón de concentración de levadura *Saccharomyces cerevisiae* contra absorbancia a una longitud de onda de 540 nm.

|                |                                    |
|----------------|------------------------------------|
| Ecuación       | $y = 1.4864x^2 - 1.3893x + 0.4269$ |
| R <sup>2</sup> | 0.99857                            |

Cuadro No.28: Concentración de levadura *Saccharomyces cerevisiae* según la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm, a partir de la ecuación de la curva patrón.

| Estrategia          | Peso seco<br>(±0.0001 g) | Absorbancia<br>(± 0.001) | Concentración<br>(g/L) |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Fermentación simple | 0.0137                   | 1.577                    | 1.9325                 |
| 25:25:50            | 0.0132                   | 1.623                    | 2.0874                 |
| 75:25               | 0.0170                   | 1.624                    | 2.0909                 |
| 50:50               | 0.0123                   | 1.625                    | 2.0943                 |

Cuadro No.29: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Azúcares solubles residual (%) | Azúcares solubles residual (g) | Azúcares solubles inicial (%) | Azúcares solubles inicial (g) | Consumo azúcar (%) | Rendimiento azúcar (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 1000               | 13.962                         | 139.620                        | 13.962                        | 139.62                        |                    |                        |
|         | 24                         | 1000               | 0.316                          | 3.160                          | 13.962                        | 139.62                        | 97.737             | 2.606                  |
|         | 48                         | 990                | 0.509                          | 5.039                          | 13.962                        | 138.2238                      | 96.354             | -0.023                 |
|         | 72                         | 980                | 0.389                          | 3.812                          | 13.962                        | 136.8276                      | 97.214             | 0.139                  |
| 2       | 0                          | 200                | 14.417                         | 28.834                         | 14.417                        | 28.834                        |                    |                        |
|         | 24                         | 200                | 0.966                          | 1.933                          | 14.417                        | 28.834                        | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 190                | 0.224                          | 0.426                          | 14.417                        | 27.3923                       | 98.446             | 0.232                  |
|         | 72                         | 180                | 0.27                           | 0.486                          | 14.417                        | 25.9506                       | 98.127             | 0.288                  |
| 3       | 0                          | 200                | 14.417                         | 28.834                         | 14.417                        | 28.834                        |                    |                        |
|         | 24                         | 200                | 0.966                          | 1.933                          | 14.417                        | 28.834                        | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 190                | 0.129                          | 0.245                          | 14.417                        | 27.3923                       | 99.105             | 0.022                  |
|         | 72                         | 180                | 0.287                          | 0.517                          | 14.417                        | 25.9506                       | 98.009             | 0.014                  |

Cuadro No.30: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Azúcares solubles residual (%p/v) | Azúcares solubles residual (g) | Azúcares solubles inicial (%p/v) | Azúcares solubles inicial (g) | Consumo azúcar (%) | Rendimiento azúcar (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 500                | 13.935                            | 69.675                         | 13.935                           | 69.675                        |                    |                        |
|         | 24                         | 500                | 0.263                             | 1.315                          | 13.935                           | 69.675                        | 98.113             | 2.724                  |
|         | 48                         | 990                | 0.554                             | 5.485                          | 13.935                           | 137.9565                      | 96.024             | 2.791                  |
|         | 72                         |                    |                                   |                                |                                  |                               |                    |                        |
| 2       | 0                          | 500                | 13.935                            | 69.675                         | 13.935                           | 69.675                        |                    |                        |
|         | 24                         | 500                | 0.308                             | 1.540                          | 13.935                           | 69.675                        | 97.790             | 2.465                  |
|         | 48                         | 990                | 0.201                             | 1.990                          | 13.935                           | 137.9565                      | 98.558             | 2.442                  |
|         | 72                         |                    |                                   |                                |                                  |                               |                    |                        |
| 3       | 0                          | 100                | 14.417                            | 14.417                         | 14.417                           | 14.417                        |                    |                        |
|         | 24                         | 100                | 0.966                             | 0.966                          | 14.417                           | 14.417                        | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 190                | 0.135                             | 0.257                          | 14.417                           | 27.3923                       | 99.064             | 2.038                  |
|         | 72                         | 180                | 0.338                             | 0.608                          | 14.417                           | 25.9506                       | 97.656             | -0.269                 |

Cuadro No.31: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Azúcares solubles residual (%) | Azúcares solubles residual (g) | Azúcares solubles inicial (%) | Azúcares solubles inicial (g) | Consumo azúcar (%) | Rendimiento azúcar (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 250                | 13.962                         | 34.905                         | 13.962                        | 34.905                        |                    |                        |
|         | 24                         | 250                | 0.316                          | 0.790                          | 13.962                        | 34.905                        | 97.737             | 2.606                  |
|         | 48                         | 490                | 0.166                          | 0.813                          | 13.962                        | 68.414                        | 98.811             | 3.072                  |
|         | 72                         | 980                | 0.307                          | 3.009                          | 13.962                        | 136.828                       | 97.801             | 3.242                  |
| 2       | 0                          | 250                | 13.962                         | 34.905                         | 13.962                        | 34.905                        |                    |                        |
|         | 24                         | 250                | 0.316                          | 0.790                          | 13.962                        | 34.905                        | 97.737             | 2.606                  |
|         | 48                         | 490                | 0.429                          | 2.102                          | 13.962                        | 68.414                        | 96.927             | 2.696                  |
|         | 72                         | 980                | 0.329                          | 3.224                          | 13.962                        | 136.828                       | 97.644             | 3.411                  |
| 3       | 0                          | 50                 | 14.417                         | 7.209                          | 14.417                        | 7.209                         |                    |                        |
|         | 24                         | 50                 | 0.966                          | 0.483                          | 14.417                        | 7.209                         | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 90                 | 0.141                          | 0.127                          | 14.417                        | 12.975                        | 99.022             | 2.412                  |
|         | 72                         | 180                | 0.394                          | 0.709                          | 14.417                        | 25.951                        | 97.267             | 2.968                  |

Cuadro No.32: Cuantificación de azúcares solubles iniciales y azúcares solubles residuales, consumo de azúcares y rendimiento de azúcar para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Azúcares solubles residual (%) | Azúcares solubles residual (g) | Azúcares solubles inicial (%) | Azúcares solubles inicial (g) | Consumo azúcar (%) | Rendimiento azúcar (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 150                | 14.417                         | 21.626                         | 14.417                        | 21.6255                       |                    |                        |
|         | 24                         | 150                | 0.966                          | 1.450                          | 14.417                        | 21.6255                       | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 190                | 0.982                          | 1.866                          | 14.417                        | 27.3923                       | 93.189             | 0.719                  |
|         | 72                         | 180                | 0.914                          | 1.645                          | 14.417                        | 25.9506                       | 93.660             | 1.239                  |
| 2       | 0                          | 150                | 14.417                         | 21.626                         | 14.417                        | 21.6255                       |                    |                        |
|         | 24                         | 150                | 0.966                          | 1.450                          | 14.417                        | 21.6255                       | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 190                | 1.077                          | 2.046                          | 14.417                        | 27.3923                       | 92.530             | 1.407                  |
|         | 72                         | 180                | 0.966                          | 1.739                          | 14.417                        | 25.9506                       | 93.300             | -0.592                 |
| 3       | 0                          | 50                 | 14.417                         | 21.626                         | 14.417                        | 21.6255                       |                    |                        |
|         | 24                         | 50                 | 0.966                          | 1.450                          | 14.417                        | 21.6255                       | 93.297             | 2.181                  |
|         | 48                         | 90                 | 0.326                          | 0.619                          | 14.417                        | 27.3923                       | 97.739             | 0.646                  |
|         | 72                         | 180                | 0.898                          | 1.616                          | 14.417                        | 25.9506                       | 93.771             | -0.060                 |

Cuadro No.33: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Alcohol (%p/v) | Alcohol (g/L) | Alcohol (g) | Alcohol (%v/v) | Alcohol (mL) | Producción teórica etanol (%v/v) | Rendimiento etanol (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|---------------|-------------|----------------|--------------|----------------------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 1000               | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 1000               | 18.593         | 1.859         | 1.859       | 23.565         | 235.653      | 15.897                           | 11.696                 |
|         | 48                         | 990                | 18.617         | 1.862         | 1.843       | 23.596         | 233.597      | 15.776                           | 11.801                 |
|         | 72                         | 980                | 19.811         | 1.981         | 1.941       | 25.109         | 246.068      | 15.817                           | 12.525                 |
| 2       | 0                          | 200                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 200                | 16.067         | 1.607         | 0.321       | 20.364         | 40.728       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 18.715         | 1.872         | 0.356       | 23.720         | 45.068       | 16.158                           | 11.582                 |
|         | 72                         | 180                | 21.994         | 2.199         | 0.396       | 27.875         | 50.176       | 16.060                           | 13.695                 |
| 3       | 0                          | 200                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 200                | 16.067         | 1.607         | 0.321       | 20.364         | 40.728       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 17.086         | 1.709         | 0.325       | 21.655         | 41.145       | 16.291                           | 10.488                 |
|         | 72                         | 180                | 18.147         | 1.815         | 0.327       | 23.000         | 41.400       | 16.037                           | 11.316                 |

Cuadro No.34: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Alcohol (%p/v) | Alcohol (g/L) | Alcohol (g) | Alcohol (%v/v) | Alcohol (mL) | Producción teórica etanol (%v/v) | Rendimiento etanol (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|---------------|-------------|----------------|--------------|----------------------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 500                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 500                | 19.398         | 1.940         | 0.970       | 24.586         | 122.928      | 16.817                           | 11.534                 |
|         | 48                         | 990                | 19.836         | 1.984         | 1.964       | 25.141         | 248.893      | 16.369                           | 12.118                 |
|         | 72                         |                    |                |               |             |                |              |                                  |                        |
| 2       | 0                          | 500                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 500                | 17.551         | 1.755         | 0.878       | 22.245         | 111.223      | 16.712                           | 10.502                 |
|         | 48                         | 990                | 17.645         | 1.765         | 1.747       | 22.364         | 221.401      | 16.838                           | 10.479                 |
|         | 72                         |                    |                |               |             |                |              |                                  |                        |
| 3       | 0                          | 100                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 100                | 16.067         | 1.607         | 0.161       | 20.364         | 20.364       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 16.357         | 1.636         | 0.311       | 20.731         | 39.389       | 16.289                           | 10.042                 |
|         | 72                         | 180                | 15.176         | 1.518         | 0.273       | 19.234         | 34.622       | 15.984                           | 9.495                  |

Cuadro No.35: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Alcohol (%p/v) | Alcohol (g/L) | Alcohol (g) | Alcohol (%v/v) | Alcohol (mL) | Producción teórica etanol (%v/v) | Rendimiento etanol (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|---------------|-------------|----------------|--------------|----------------------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 250                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 250                | 18.593         | 1.859         | 0.465       | 23.565         | 58.913       | 15.897                           | 11.696                 |
|         | 48                         | 490                | 20.67          | 2.067         | 1.013       | 26.198         | 128.369      | 16.144                           | 12.803                 |
|         | 72                         | 980                | 21.900         | 2.190         | 2.146       | 27.757         | 272.015      | 15.918                           | 13.758                 |
| 2       | 0                          | 250                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 250                | 18.593         | 1.859         | 0.465       | 23.565         | 58.913       | 15.897                           | 11.696                 |
|         | 48                         | 490                | 19.301         | 1.930         | 0.946       | 24.463         | 119.867      | 15.789                           | 12.224                 |
|         | 72                         | 980                | 21.817         | 2.182         | 2.138       | 27.651         | 270.984      | 15.880                           | 13.739                 |
| 3       | 0                          | 50                 | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 50                 | 16.067         | 1.607         | 0.080       | 20.364         | 10.182       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 90                 | 18.799         | 1.880         | 0.169       | 23.826         | 21.444       | 16.252                           | 11.567                 |
|         | 72                         | 180                | 20.331         | 2.033         | 0.366       | 25.768         | 46.383       | 15.912                           | 12.777                 |

Cuadro No.36: Cuantificación de alcohol, producción teórica de etanol y rendimiento de etanol para el jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | Volumen total (mL) | Alcohol (%p/v) | Alcohol (g/L) | Alcohol (g) | Alcohol (%v/v) | Alcohol (mL) | Producción teórica etanol (%v/v) | Rendimiento etanol (%) |
|---------|----------------------------|--------------------|----------------|---------------|-------------|----------------|--------------|----------------------------------|------------------------|
| 1       | 0                          | 150                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 150                | 16.067         | 1.607         | 0.241       | 20.364         | 30.546       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 16.868         | 1.687         | 0.320       | 21.379         | 40.619       | 15.219                           | 11.084                 |
|         | 72                         | 180                | 27.442         | 2.744         | 0.494       | 34.781         | 62.606       | 15.430                           | 17.785                 |
| 2       | 0                          | 150                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 150                | 16.067         | 1.607         | 0.241       | 20.364         | 30.546       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 20.871         | 2.087         | 0.397       | 26.452         | 50.259       | 15.168                           | 13.760                 |
|         | 72                         | 180                | 17.426         | 1.743         | 0.314       | 22.086         | 39.756       | 15.332                           | 11.366                 |
| 3       | 0                          | 150                | 0.000          | 0.000         | 0.000       | 0.000          | 0.000        |                                  |                        |
|         | 24                         | 150                | 16.067         | 1.607         | 0.241       | 20.364         | 30.546       | 15.698                           | 10.235                 |
|         | 48                         | 190                | 16.443         | 1.644         | 0.312       | 20.840         | 39.597       | 16.005                           | 10.274                 |
|         | 72                         | 180                | 16.889         | 1.689         | 0.304       | 21.406         | 38.531       | 15.418                           | 10.954                 |

Cuadro No.37: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación simple.

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | P (g/L) | Q <sub>p</sub> (G/L.h) | Y <sub>ps</sub> (g/g) | E <sub>y</sub> (%) |
|---------|----------------------------|---------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.859   | 0.077                  | 1.332                 | 261.115            |
|         | 48                         | 1.862   | 0.039                  | 1.333                 | 261.452            |
|         | 72                         | 1.981   | 0.028                  | 1.419                 | 278.220            |
| 2       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.872   | 0.039                  | 1.298                 | 254.537            |
|         | 72                         | 2.199   | 0.031                  | 1.526                 | 299.124            |
| 3       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.709   | 0.036                  | 1.185                 | 232.380            |
|         | 72                         | 1.815   | 0.025                  | 1.259                 | 246.810            |

Cuadro No.38: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 50:50.

| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | P (g/L) | Q <sub>p</sub> (G/L.h) | Y <sub>ps</sub> (g/g) | E <sub>y</sub> (%) |
|---------|----------------------------|---------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.940   | 0.081                  | 1.392                 | 272.948            |
|         | 48                         | 1.984   | 0.041                  | 1.423                 | 279.111            |
|         | 72                         |         |                        |                       |                    |
| 2       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.755   | 0.073                  | 1.259                 | 246.959            |
|         | 48                         | 1.765   | 0.037                  | 1.266                 | 248.282            |
|         | 72                         |         |                        |                       |                    |
| 3       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.636   | 0.034                  | 1.135                 | 222.463            |
|         | 72                         | 1.518   | 0.021                  | 1.053                 | 206.401            |

Cuadro No.39: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 25:25:50.

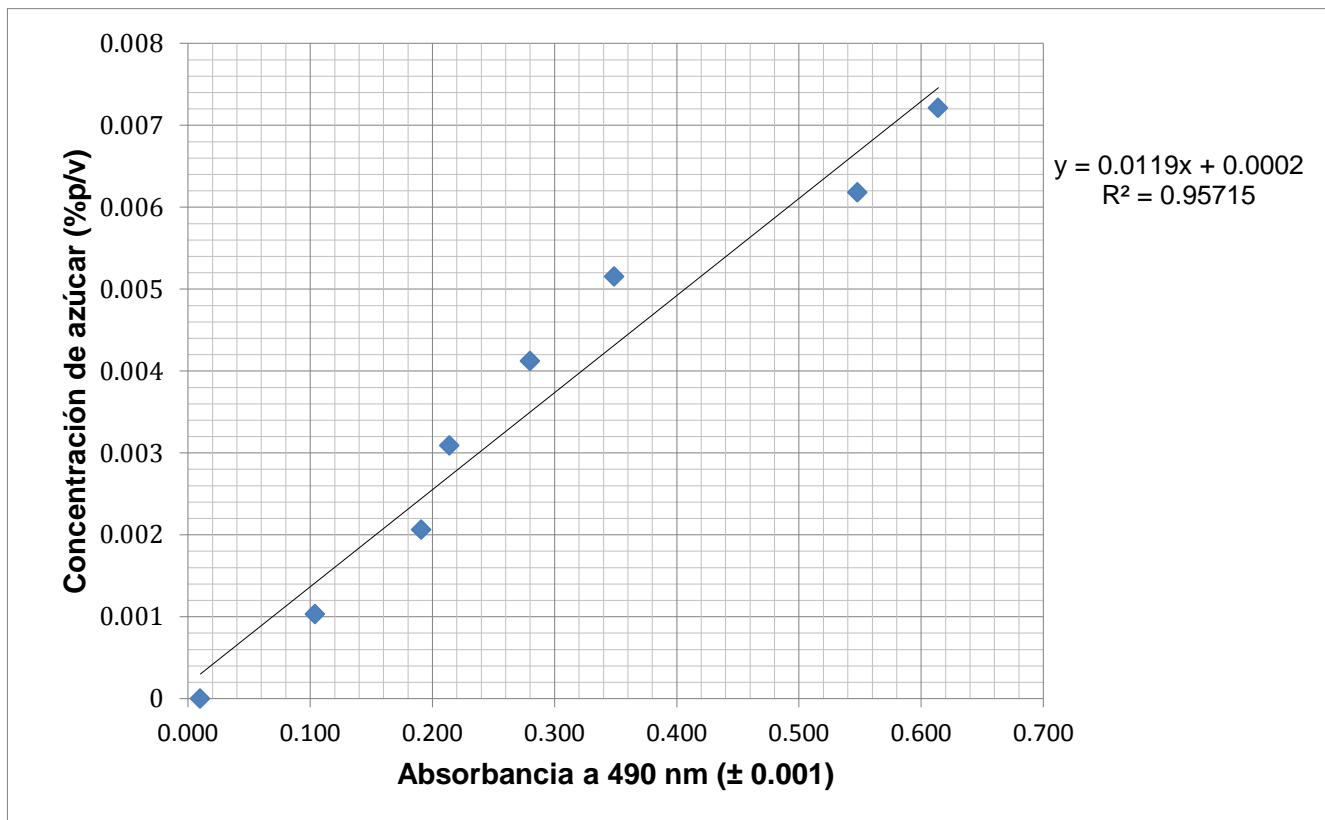
| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | P (g/L) | Q <sub>p</sub> (G/L.h) | Y <sub>ps</sub> (g/g) | E <sub>y</sub> (%) |
|---------|----------------------------|---------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.859   | 0.077                  | 1.332                 | 261.115            |
|         | 48                         | 2.067   | 0.043                  | 1.480                 | 290.284            |
|         | 72                         | 2.190   | 0.030                  | 1.569                 | 307.557            |
| 2       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.859   | 0.077                  | 1.332                 | 261.115            |
|         | 48                         | 1.930   | 0.040                  | 1.382                 | 271.058            |
|         | 72                         | 2.182   | 0.030                  | 1.563                 | 306.392            |
| 3       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.880   | 0.039                  | 1.304                 | 255.676            |
|         | 72                         | 2.033   | 0.028                  | 1.410                 | 276.514            |

Cuadro No.40: Parámetros de cinética para la fermentación de jugo de sorgo dulce a 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación por lote alimentado, estrategia 75:25.

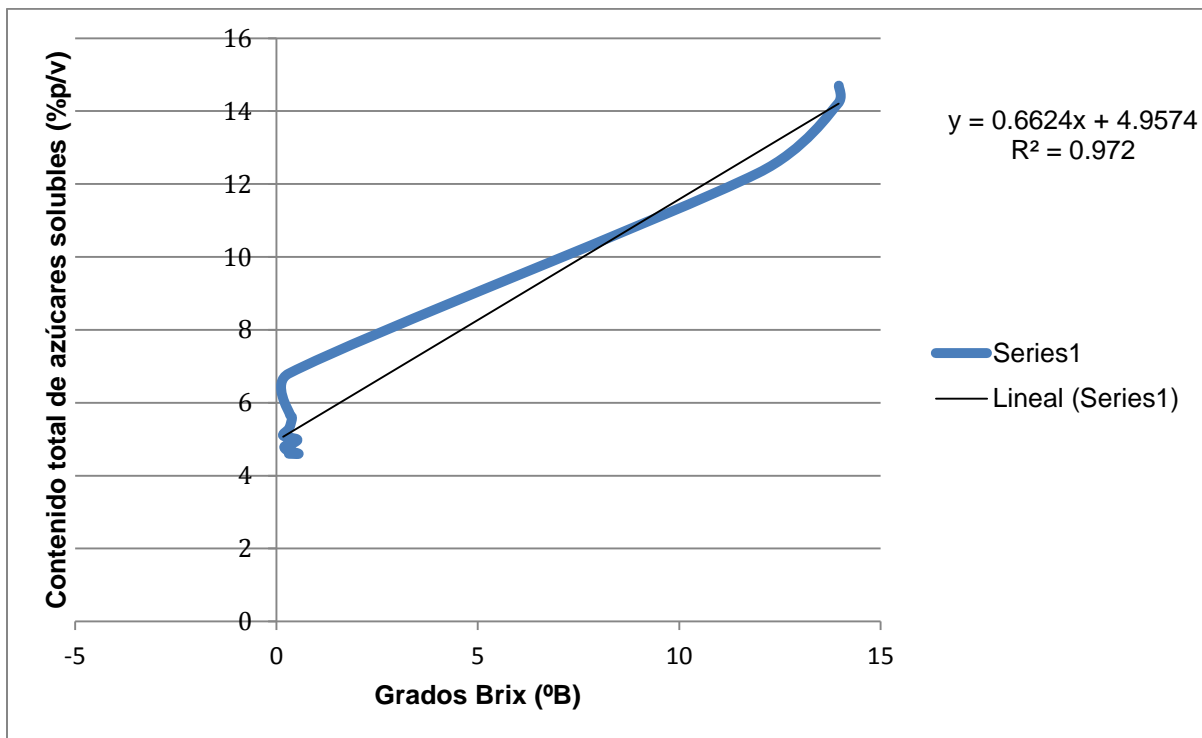
| Corrida | Tiempo de fermentación (h) | P (g/L) | Q <sub>p</sub> (G/L.h) | Y <sub>ps</sub> (g/g) | E <sub>y</sub> (%) |
|---------|----------------------------|---------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.687   | 0.035                  | 1.170                 | 229.410            |
|         | 72                         | 2.744   | 0.038                  | 1.903                 | 373.230            |
| 2       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 2.087   | 0.043                  | 1.448                 | 283.852            |
|         | 72                         | 1.743   | 0.024                  | 1.209                 | 237.005            |
| 3       | 0                          | 0.000   |                        |                       |                    |
|         | 24                         | 1.607   | 0.067                  | 1.114                 | 218.522            |
|         | 48                         | 1.644   | 0.034                  | 1.141                 | 223.633            |
|         | 72                         | 1.689   | 0.023                  | 1.171                 | 229.702            |

## E. GRÁFICAS

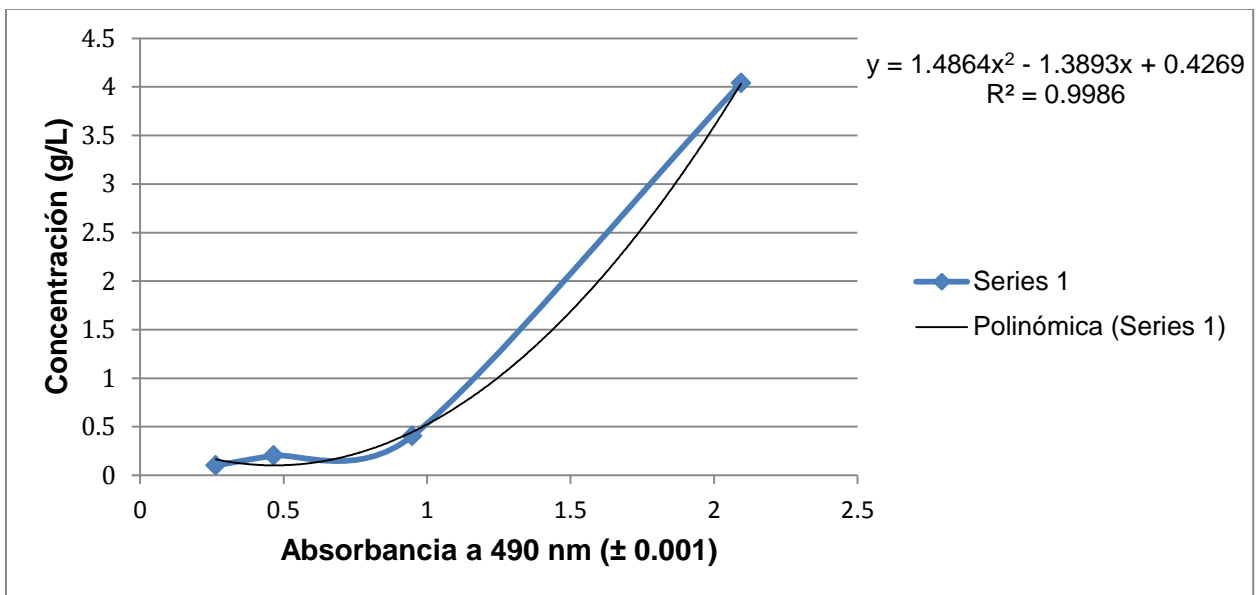
Gráfica No. 4: Curva patrón de concentración de glucosa a una longitud de onda de 490 nm.



Gráfica No. 5: Curva de relación entre grados Brix y contenido total de azúcares solubles para el jugo de sorgo dulce.



Gráfica No. 6: Curva de patrón para concentración de levadura *Saccharomyces cerevisiae* según la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 540 nm



## F. ILUSTRACIONES

Ilustración No.1: Cañas de sorgo dulce



(Campus Sur de la Universidad del Valle de Guatemala, ubicado en Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla)

Ilustración No.2: Extracción de jugo de caña de sorgo dulce en trapiche



(Laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.3: Caña de sorgo dulce después de extraer su jugo



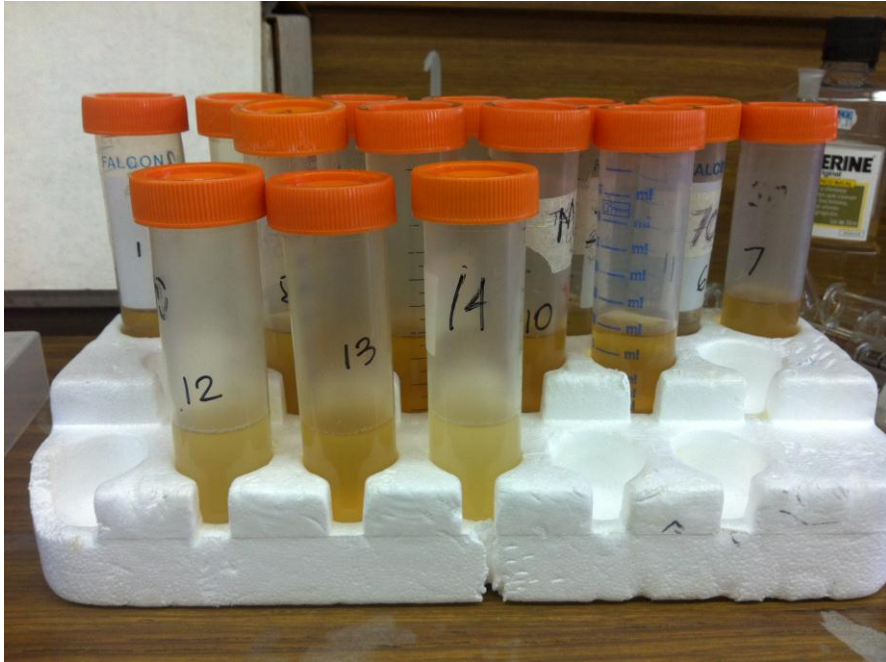
(Laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.4: Jugo de caña de sorgo dulce recién extraído.



(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.5: Levadura *Saccharomyces cerevisiae* crecida en caldo glucosa Sabouraud al 2%



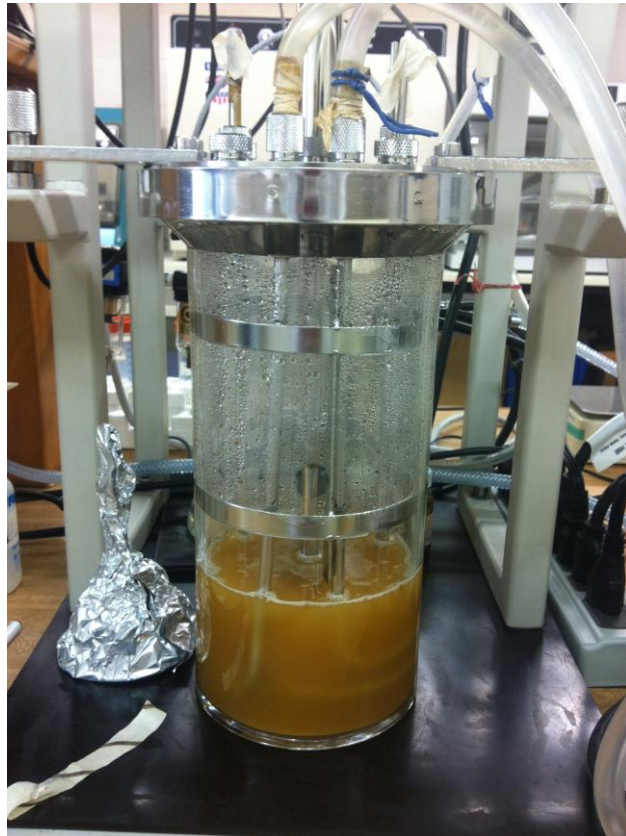
(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.6: Esterilización de jugo de sorgo dulce en autoclave.



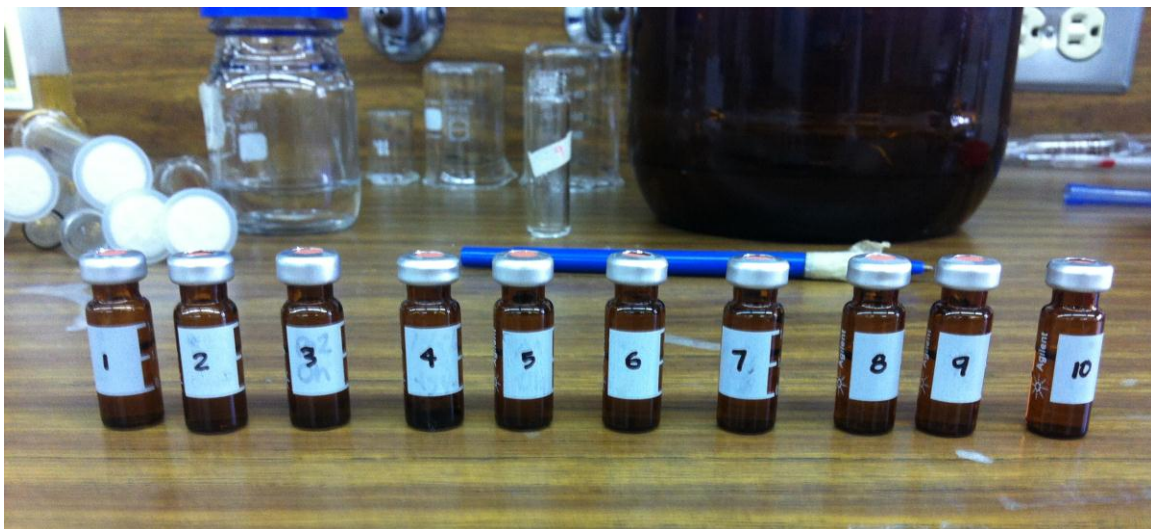
(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.7: Fermentación de jugo de sorgo dulce en fermentador de 5 L.



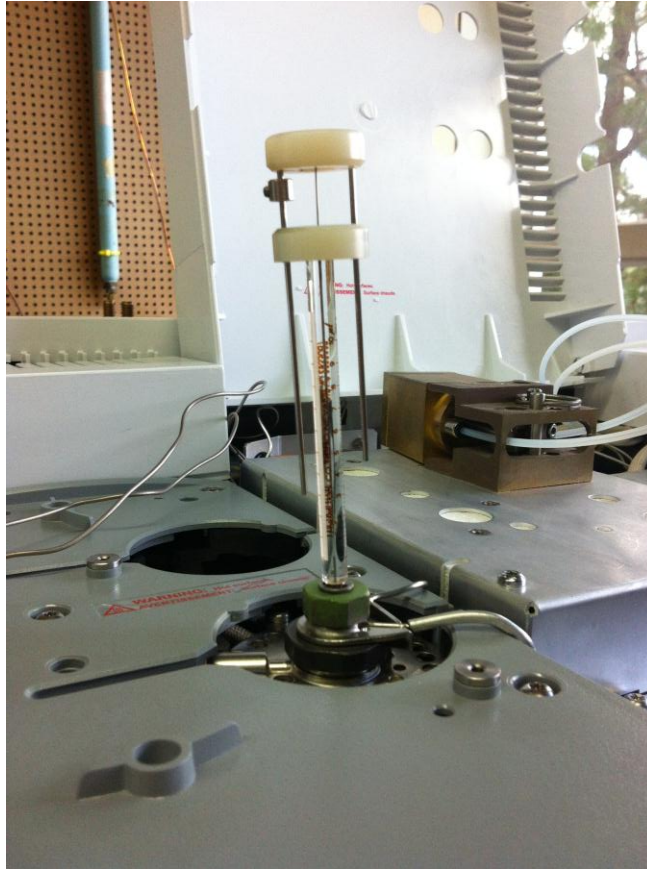
(Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.8: Muestras de jugo de sorgo dulce para inyectar en cromatógrafo de capa líquida de alta resolución



(Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado, Universidad del Valle de Guatemala)

Ilustración No.9: Inyección de muestra de jugo de sorgo dulce fermentado en cromatógrafo de gases



(Laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado, Universidad del Valle de Guatemala)

