UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Propuesta de una planta piloto de producción de bioetanol a partir de harina de maíz de rechazo de una empresa manufacturera de alimentos

Trabajo de graduación presentado por José Javier Avila Godoy para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Química Industrial

Guatemala,

2023

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Propuesta de una planta piloto de producción de bioetanol a partir de harina de maíz de rechazo de una empresa manufacturera de alimentos

Trabajo de graduación presentado por José Javier Avila Godoy para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Química Industrial

Guatemala,

2023

Vo.Bo.

(Ing. Alejandro Köng)

Tribunal Examinador (Ing. Ganzalie) Zambrano, M. Sc.)

(Ing. Alejandro Köng)

501 (Ing. José Lan, M.A.)

Fecha de aprobación: Guatemala, 10 de enero de 2023

PREFACIO

Durante mis años de estudio de Ingeniería Química Industrial, la innovación y mejora de procesos fueron unas de las competencias que más se nos inculcó. Es común que en cualquier industria existan problemas relacionados a los residuos, al ambiente, a ineficiencias del proceso y/o a los aspectos económicos de este. Como ingenieros químicos, nos vemos obligados a encontrar soluciones creativas y viables a estas problemáticas.

La idea central de esta investigación se me ocurrió durante mis prácticas profesionales (en 2021) en una empresa manufacturera de alimentos, a quien se hace referencia a lo largo de este trabajo. En un momento dado, apoyé a la empresa con el descarte de varias bolsas y sacos que habían sido apartados como subproductos. Mientras veía las bolsas vaciarse, me pregunté a mí mismo si estos productos rechazados se podrían aprovechar de otra forma distinta a su venta como subproducto. De inmediato pensé en el proceso de producción de bioetanol y, tras unos días de investigación, se me autorizó iniciar la experimentación al finalizar mis prácticas.

Como toda experimentación científica implica, la prueba y error fue necesaria para afinar los detalles y procedimientos que me llevaron a obtener mis resultados. Me retiré de la empresa seis meses después, una vez concluida la experimentación, para enfocarme en los cálculos ingenieriles relacionados a la planta piloto de producción de bioetanol, los cuales también presentaron sus propios retos. Este informe es la culminación de las largas horas de investigación y trabajo que realicé durante dos años. También lo considero como una síntesis de los conocimientos y competencias que he adquirido a lo largo de los seis largos años de estudio de esta carrera. Este trabajo no habría sido posible realizarlo sin la ayuda de la Licenciada Indra Flores, quien mostró entusiasmo por este proyecto y apoyó con la adquisición de los recursos necesarios para realizarlo. También quiero agradecer a la empresa en la que realicé este estudio, a Mendavia S.A. y a los colaboradores de ambas por brindarme el acceso a sus instalaciones y equipos para la medición de mis resultados experimentales.

Al Ing. Alejandro Köng, quien me asesoró y aportó sus invaluables conocimientos y experiencias al desarrollo de este trabajo.

A los docentes del Departamento de Ingeniería Química, Química Industrial y Biotecnología Industrial de la Universidad del Valle de Guatemala, quienes en varias ocasiones apoyaron con ideas y recomendaciones para la mejora de este trabajo.

A Isabella, por acompañarme y apoyarme en todo momento, por escuchar mis ideas y aportar a ellas.

Finalmente, a mis padres, por su apoyo durante todo el trayecto de mi formación profesional.

CONTENIDO

i
iii
v
. vii
ix
1
3
5
7
11
53
67
77
95
97
99
107
107
110
117
139
143
148

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros utilizados y concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis enzimática de la
harina
Tabla 2. Rendimientos y porcentajes de etanol promedio obtenido en fermentaciones a partir de corridas de
hidrólisis ácida
Tabla 3. Análisis granulométrico promedio de harina de maíz de rechazo 69
Tabla 4. Contenido de glucosa y humedad promedio de la harina de maíz de rechazo (en base húmeda)70
Tabla 5. Listado de equipos propuestos, sus características y requerimientos (para lotes de 750 kg de
harina)
Tabla 6. Costos de inversión de los equipos propuestos
Tabla 7. Costos de producción de bioetanol al 89.4% en volumen (20 °C) por lote (sin IVA)
Tabla 8. Productividad, rendimientos, utilidades y ahorros anuales de la planta piloto de producción de
bioetanol
Tabla 9. Indicadores financieros calculados para la adquisición de los equipos primarios y auxiliares de la
planta piloto de bioetanol
Tabla 10. Datos de placa del analizador bioquímico 107
Tabla 11. Datos de placa del analizador viscoamilográfico
Tabla 12. Datos de placa de la termobalanza
Tabla 13. Datos de placa de balanzas analíticas 108
Tabla 14. Datos de placa de la centrifugadora de laboratorio
Tabla 15. Datos de placa del potenciómetro de pH 109
Tabla 16. Datos de placa de la estufa con agitador magnético 109
Tabla 17. Masas y humedades de harina medidas para determinación de tiempo de reacción y temperatura
óptimas de hidrólisis ácida
Tabla 18. Volúmenes finales de hidrólisis y concentraciones de sacarosa leídas en el equipo YSI 2900D.
Tabla 19. Masas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas en el equipo YSI 2900D para
la hidrólisis ácida, variando la concentración de harina111
Tabla 20. Masas de harina y enzimas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas en el
equipo YSI 2900D para la hidrólisis enzimática
Tabla 21. Masas y humedades de harina, gravedades específicas y concentraciones de sacarosa leídas en
corridas de fermentación

Tabla 22. pH de fermentación, masas de levadura y de nutrientes agregados al medio fermentativo 112
Tabla 23. Masas del sistema de fermentación vacío, previo a fermentar y después de fermentar
Tabla 24. Masas de harina retenidas por malla en el análisis granulométrico
Tabla 25. Masas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas para la determinación de
contenido de glucosa en la harina
Tabla 26. Contenidos de humedad de la harina determinados con una termobalanza automática OHaus
MB120
Tabla 27. Datos de equilibrio para el etanol y agua a 85 kPa, calculados con el método de Wilson
Tabla 28. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina en función de la
temperatura y el tiempo de reacción
Tabla 29. Concentraciones de glucosa y conversiones obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina en
función de su proporción en la mezcla139
Tabla 30. Concentraciones de glucosa y conversiones obtenidas en la hidrólisis enzimática de la harina 140
Tabla 31. Concentraciones de glucosa antes y después de fermentar y diferencia de densidades del
fermentado 140
Tabla 32. Concentraciones de etanol (ABV), rendimientos de fermentación y rendimientos de bioetanol
obtenidos por corrida
Tabla 33. Masas del medio fermentativo antes y después de la fermentación
Tabla 34. Porcentajes de harina retenida y tamizada en cada malla en el análisis granulométrico
Tabla 35. Contenidos de glucosa en la harina 142
Tabla 36. Iteraciones para cada línea de operación de destilación

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Matriz energética de Guatemala del año 2021	
Figura 2. Micrografía de gránulos de almidón de maíz	13
Figura 3. Estructura de la amilosa	14
Figura 4. Estructura de la amilopectina	14
Figura 5. Esquema de estructura de la amilopectina	15
Figura 6. Diagrama de la estructura del grano de maíz	
Figura 7. Distribución acumulativa de tamaños de partículas	
Figura 8. Micrografía de gránulos de almidón de maíz con un grado de hidrólisis del 15%	
Figura 9. Esquema de sensor y membrana enzimática	
Figura 10. Diagrama de agitador de cintas helicoidales (izquierda) y de ancla (derecha)	
Figura 11. Diagrama de un tanque con agitador de ancla y sus dimensiones	
Figura 12. Correlaciones entre el número de Reynolds y número de potencia para tanques con agit	tador de
ancla	
Figura 13. Coeficientes b y n para cálculos de convección natural	
Figura 14. Coeficientes de rozamiento	41
Figura 15. Correlación para el exponente n de sedimentación impedida	
Figura 16. Diagrama de composición molar del sistema etanol-agua a 85 kPa	
Figura 17. Esquema de un destilador discontinuo con columna rectificadora y reflujo	
Figura 18. Diagrama McCabe-Thiele para un sistema con reflujo variable	
Figura 19. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina, en función de	la
temperatura y el tiempo de reacción	67
Figura 20. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina, en función de	la
proporción de harina seca en la mezcla (por 120 minutos a 95 °C)	
Figura 21. Distribución acumulativa de tamaños de partícula de la harina de maíz de rechazo	
Figura 22. Perfil viscoamilográfico de una mezcla al 25% en masa de harina seca en agua destilad	a71
Figura 23. Perfil viscoamilográfico de una mezcla al 25% en masa de harina seca en una solución	al 9% en
masa de H ₂ SO ₄ .	71
Figura 24. Relación entre la concentración de α -amilasa y la concentración de glucosa obtenida de	espués de
la licuefacción y sacarificación (3 horas cada una)	
Figura 25. Tubos de ensayo con harina centrifugada después de la hidrólisis ácida	
-	

Figura 26. Sistema de fermentación utilizado	144
Figura 27. Apariencia del medio fermentativo durante la fermentación	144
Figura 28. Apariencia de la harina de maíz retenida en los tamices ASTM No. 20 (a), 35 (b), 40 (c) y 50	(d)
	145
Figura 29. Comparación de lotes producidos basado en el número de fermentadores	146
Figura 30. Diagrama de proceso de la planta piloto propuesta	147

RESUMEN

En el presente trabajo de graduación, se realizó una propuesta de los equipos necesarios para iniciar una planta piloto de producción de bioetanol a partir de harina de maíz de rechazo de una empresa manufacturera de alimentos en Guatemala. La propuesta está acompañada por una evaluación técnica del proceso y una económica de la adquisición de los equipos. El dimensionamiento de los equipos se realizó basado en la información obtenida en la experimentación. Esta consistió en la hidrólisis ácida y enzimática de la harina, su caracterización fisicoquímica y la fermentación del hidrolizado. Se escogió el método de hidrólisis ácida para la propuesta, ya que se alcanzaron conversiones másicas de harina a glucosa de hasta 57.9% en 2 horas; mientras que, con el enzimático, de 8.1% en 6 horas. Esto quizá se debió al uso de una α-amilasa no termoestable, de Aspergillus oryzae. La fermentación del hidrolizado obtenido con el método ácido produjo en promedio 138.7 ± 12.9 mL bioetanol/kg harina seca. Los equipos principales propuestos fueron: Un reactor de hidrólisis enchaquetado (2,650 L) con agitador de ancla (1.40 m x 1.40 m), tres biorreactores de fermentación (4,732 L) y un alambique para la destilación (2,270 L con 4 platos). El costo de inversión estimado de los equipos principales fue de Q. 1,515,756, con un período de retorno simple de 10.65 años y una TIR del 4.63% a 15 años, con una producción anual de 20,260 L de bioetanol al 89.4% (v/v a 20° C) y un precio de venta de Q. 30.67/L.

I. INTRODUCCIÓN

Una parte importante del proceso productivo de una empresa manufacturera de alimentos de Guatemala es la molienda de granos, a partir de la cual se obtienen harinas. Estas se utilizan como materia prima de la gran mayoría de productos que dicha empresa ofrece en su portafolio. El tipo de harina que más se requiere en esta empresa es la de maíz, alcanzando producciones diarias de hasta decenas de toneladas. Desafortunadamente, también se rechazan fracciones considerables de harina de maíz, específicamente la que se obtiene después del primer proceso de molienda (harina intermediaria). Estos rechazos se deben principalmente a las diferencias entre la demanda pronosticada y la demanda real. En este trabajo se explican los procedimientos, conceptos y cálculos realizados con el fin de proponer una planta piloto que permita convertir dicha harina de maíz en bioetanol.

En las secciones de Justificación y Antecedentes, se explica el contexto e importancia del bioetanol en el mercado mundial y en Guatemala. En el Marco teórico se establecen los conceptos, definiciones, ecuaciones y técnicas necesarios para la comprensión de los procedimientos y cálculos realizados. El procedimiento experimental se explica paso a paso en la sección de Metodología, pero no incluye el procedimiento para el dimensionamiento de los equipos de la planta piloto (esto se encuentran en Cálculos de Muestra). Los resultados obtenidos (tablas, figuras y valores puntuales) se resumen en la sección de Resultados, y son explicados con mayor detalle en la Discusión. Finalmente, la sección de Anexos contiene información adicional, tales como datos de placa de los equipos de laboratorio utilizados, los datos experimentales, cálculos de muestra y un glosario de conceptos. Aunque en este trabajo se da un fuerte enfoque al bioetanol como biocombustible, el proceso que se propone no alcanza un grado de pureza apto para este propósito. Para una planta piloto, la purificación y deshidratación completa del bioetanol producido representaría un costo significativo. Sin embargo, la concentración propuesta (89.4% en volumen a 20 °C) es satisfactoria para su uso como un desinfectante industrial, farmacéutico o de uso general. Esta concentración se asemeja a otras presentaciones encontradas comúnmente en el mercado, las cuales suelen estar entre el 70% y 95% en volumen.

II. OBJETIVOS

• General:

Proponer los equipos para la producción de bioetanol a partir de harina de maíz de rechazo, basado en experimentaciones a nivel laboratorio, haciendo un análisis técnico y económico del proceso.

• Específicos:

- Realizar la hidrólisis de la harina de maíz a escala laboratorio con el método ácido y el enzimático, con el fin de producir un mosto concentrado en glucosa para su posterior fermentación alcohólica.
- Cuantificar el volumen de bioetanol obtenido con un densímetro y con el método Dujardin-Salleron, para determinar el rendimiento de la harina.
- Caracterizar la harina de maíz de rechazo y sus suspensiones en agua, por medio de la medición de granulometría, contenido de glucosa, humedad y análisis viscoamilográfico para servir de base en el dimensionamiento de los equipos.
- Dimensionar los equipos de la planta piloto basado en la caracterización de la harina, el procedimiento experimental y las técnicas de dimensionamiento correspondientes.
- Hacer una evaluación económica de la adquisición de los equipos primarios y auxiliares de la planta piloto, a partir de los indicadores financieros de tasa interna de retorno (TIR) y período de recuperación de la inversión (NPER).

III. JUSTIFICACIÓN

El mercado de los combustibles es considerablemente uno de los más grandes e importantes del mundo. Estos son utilizados a diario para mover vehículos, en sistemas de calefacción, para generar electricidad y en prácticamente cualquier proceso industrial. Los combustibles más utilizados para estos fines son aquellos derivados del petróleo, el carbón y el gas combustible. Según datos del 2020, el consumo mundial de estos tres combustibles fue suficiente para producir una cantidad de energía equivalente a 128,548 TWh. Se espera que esto aumente cada año, puesto que la demanda energética cada vez es mayor (Ritchie y Roser, 2020).

Aunque estos combustibles son esenciales para el sostenimiento de la vida moderna, recientemente se han señalado las consecuencias e impactos de su uso. Las principales son de carácter ambiental, dadas tanto en el proceso de extracción del petróleo, su transformación y el uso de los combustibles obtenidos. Entre los impactos principales se encuentra el calentamiento global, causado por la emisión de gases de efecto invernadero durante la quema de los combustibles. Otros impactos que provocan son el daño a los ecosistemas durante su explotación y en derrames accidentales.

Hoy en día, otro tipo de combustibles están ganando relevancia: Los biocombustibles. Estos son aquellos producidos a partir de fuentes renovables. Los biocombustibles líquidos de mayor interés son el biodiésel y el bioetanol. Principalmente, las materias primas utilizadas para su producción son de origen agrícola, tales como partes de plantas, raíces, madera o granos. Los desechos forestales, municipales e industriales también son una fuente importante de material con potencial para ser transformado en biocombustibles (Monteiro *et al.*, 2016; Wyman, 2018). Aún falta

mucho para sustituir a los combustibles fósiles, por lo que la investigación e implementación de procesos que aprovechen estos desechos es sumamente importante.

El presente trabajo de graduación busca adentrarse en el proceso de producción de bioetanol a partir de un desecho de una de las empresas manufactureras de alimentos más grandes de Guatemala. Esto sirve dos propósitos principales: Ser una fuente adicional de ingresos para la empresa; y fomentar la producción de biocombustibles en otras empresas del país a partir de sus propios desechos. Debido a que el volumen de harina de maíz descartada es significativo para la empresa, existe un gran potencial para explorar el proceso productivo de bioetanol a partir de ella. Además de que su descarte generalmente representa un costo adicional para la empresa, la descomposición de los lotes de subproductos también tiene un impacto ambiental negativo, puesto que se desaprovechan estas materias primas alimenticias. En el caso de la harina de maíz, su descomposición se da rápidamente debido a su alto contenido de humedad, por lo cual es necesario aprovecharla de forma inmediata.

IV. ANTECEDENTES

En Guatemala, aún hay relativamente poco esfuerzo para luchar contra los combustibles fósiles, pero hay potencial para hacerlo. Actualmente, hay cinco destilarías con capacidad instalada total de 65 millones de galones de etanol al año. Sin embargo, el 90% de esta cantidad se exporta. Ninguna fracción de lo producido es utilizada localmente como combustible. De acuerdo con los consumos de gasolina del 2017, se habría necesitado 54 millones de galones de etanol para producir gasolina con un 10% de etanol en volumen (E10) por todo el año (ACR, 2018). Comparativamente, Estados Unidos produjo un total de 15,000 millones de galones de etanol combustible en el 2021, representando el 55% de la producción mundial de 27,310 millones de galones (RFA, 2021).

A pesar de que Guatemala goza de una producción de energía mayoritariamente renovable (70.89% para el 2021), la participación de los biocombustibles distintos a la biomasa es muy baja. En la Figura 1 se muestra la matriz energética de Guatemala para ese año. De los 7,016.98 GWh generados con energía renovable, 5,081.41 GWh fueron aportados por la generación hidroeléctrica. Esto corresponde a un 72.4% de toda la energía renovable. El biogás constituye tan sólo el 0.33% de la energía renovable. Como se muestra, el bioetanol y el biodiésel no constituyen parte de esta matriz. Por lo tanto, los biocombustibles como el bioetanol aún tienen amplio espacio para crecer y ser incorporados al mercado.



Figura 1. Matriz energética de Guatemala del año 2021

Fuente: MEM (2022)

Dos de los países con las producciones más grandes de bioetanol son Brasil y Estados Unidos. En el primero, la mayoría se produce a partir de caña de azúcar. En el 2019, Brasil produjo un total de 37.38 mil millones de litros de bioetanol; 96% de esto se obtuvo de la caña de azúcar. Se espera que la cantidad de bioetanol producida en Brasil aumente junto con las cosechas anuales de maíz (USDA, 2020). Por otro lado, en Estados Unidos, la mayoría del bioetanol producido proviene del maíz. Aproximadamente el 67% del maíz se convierte en etanol, mientras que el otro 33% se vende como DDGS (por sus siglas en inglés: Granos secos de la destilería con solubles. Es el maíz sobrante después de los procesos de hidrólisis y fermentación). Según Mosier e Ileleji (2006), cada kg de maíz genera cerca de 400 mL de etanol. En el 2021, se consumieron 15.8 mil millones de galones de bioetanol como combustible en Estados Unidos (Iowa Corn Growers Association, 2021)

La pandemia del COVID-19 afectó la demanda y el precio del etanol. Dependiendo de la aplicación del etanol, el efecto fue tanto positivo como negativo. En el 2020, los mandatos de cuarentena que se establecieron a nivel mundial causaron una reducción significativa en la demanda de los combustibles, incluyendo a los combustibles alternativos tales como el bioetanol. Según datos de consumo de Estados Unidos, la demanda de etanol como combustible fue de 14.55 mil millones de galones en el 2019. En el 2020, decayó en un 12.9%, equivalente a 12.68 mil millones de galones consumidos. El año siguiente se observó un aumento en el consumo de etanol combustible a 13.94 mil millones de galones (U.S. Energy Information Administration, 2022).

Los precios del etanol combustible sufrieron cambios drásticos a raíz de la pandemia del COVID-19. De acuerdo con la información del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, cada galón de etanol combustible previo al 2020 costaba cerca de \$1.45. En abril del 2020, su precio llegó a ser tan bajo como \$0.78 por galón. Curiosamente, el precio actual del etanol combustible es significativamente mayor al valor promedio previo a la pandemia, alcanzando \$3.24/galón a finales del 2021. Es interesante notar que, aunque la demanda del etanol combustible no se ha recuperado completamente, su precio sí ha crecido significativa y rápidamente.

Por otro lado, el mercado del etanol como desinfectante se ha visto altamente favorecido desde el inicio de la pandemia. Esto se debe a que el etanol es uno de los componentes importantes de los desinfectantes de manos, tales como el alcohol en gel y el alcohol en aerosol. Globalmente, el uso de desinfectantes de manos se volvió una práctica diaria, e incluso un requisito para el ingreso a tiendas, centros comerciales u otros espacios cerrados. A causa de los mandatos de cuarentena, las ventas en línea de desinfectantes de manos aumentaron en un 817% entre enero y febrero del 2020, comparado con el 2019. Debido al aumento de conciencia sobre higiene personal durante la pandemia, el consumo de estos desinfectantes no ha desacelerado. En 2021, el mercado global de estos desinfectantes se valuó en USD 2.8 mil millones, y se espera que aumente anualmente en un 3.7% hasta el 2028. Para ese año, se espera que el mercado esté valorado en USD 3.6 mil millones (BlueWeave Consulting, 2022).

V. MARCO TEÓRICO

5.1 Biocombustibles y bioetanol

Los combustibles que se obtienen a partir de fuentes renovables se denominan biocombustibles. Estos son producidos mediante la modificación fisicoquímica de materiales biológicos (biomasa), y la separación y purificación posterior del combustible de interés. Aunque las fuentes de biomasa son muchas, entre las más recurrentes se encuentran los desechos forestales, agrícolas, municipales o industriales. Estos se caracterizan por tener un alto contenido de lignocelulosa, uno de los polímeros de mayor relevancia en la producción de biocombustibles. También se suele utilizar materiales ricos en azúcares, como las melazas de caña de azúcar o las remolachas (Wyman, 2018).

Existen biocombustibles en fase sólida, líquida y gaseosa. Entre los sólidos, se suele utilizar biomasa seca; y entre los gaseosos, el biogás, cuyo principal componente es el metano (CH₄). En cuanto a los líquidos, los más comunes y demandados hoy en día son: El biodiésel y el bioetanol. El último es un líquido incoloro y altamente inflamable, obtenido a partir de la fermentación alcohólica de la biomasa, en la cual se produce etanol (C₂H₆O). Comúnmente, el etanol se utiliza como componente en las bebidas alcohólicas y como solvente. También se agrega en productos como cosméticos, perfumes y pinturas, entre otros (Monteiro *et al.*, 2016; Bajpai, 2013).

El bioetanol posee varias cualidades y propiedades que hacen atractivo su uso como combustible. Primeramente, su octanaje es mayor al de la gasolina comercial, por lo que tiene una mayor capacidad antidetonante. Bajpai (2013) indica que el RON (*Research Octane Number*) y MON (*Motor Octane Number*) del etanol son de 109 y 90, respectivamente. En la gasolina comercial, estos valores se encuentran en los rangos de 91-98 y 83-90, respectivamente. En cuanto a los productos de combustión,

11

el bioetanol tiende a producir menores cantidades de monóxido de carbono (CO) que la gasolina debido a la presencia de oxígeno en su estructura. Esto ayuda a favorecer la reacción de combustión completa, aumentando la eficiencia energética hasta un 15% más comparada con la que se obtiene con la gasolina en motores de combustión interna (Wyman, 2018).

Comparado con la gasolina, el calor de combustión del bioetanol es menor. Wyman (2018) indica que cada volumen quemado de este biocombustible tiende a liberar aproximadamente entre el 75% y 80% de la energía de un mismo volumen de gasolina. Según Bajpai (2013), el bioetanol y la gasolina tienen un contenido energético de 23.5 MJ/L y 34.8 MJ/L, respectivamente. Esta diferencia de valores causa que el precio del etanol como combustible sea menor al de la gasolina, puesto que la distancia teórica que un automóvil puede recorrer con él es menor.

Por las razones mencionadas con anterioridad, el etanol es comúnmente utilizado como un aditivo en la gasolina. Se utiliza una nomenclatura específica para las mezclas de ambos líquidos. Por ejemplo, una mezcla con un 10% en volumen de etanol se especifica como E10. Los motores convencionales son capaces de tolerar mezclas con concentraciones bajas y medianas de etanol. Para mezclas de altas concentraciones, generalmente E85 o más, se requieren modificaciones del motor, o la utilización de uno específico para este combustible (Bajpai, 2013).

Hoy en día, dichas mezclas se usan ampliamente en varios países. En Estados Unidos, la más utilizada es la E10 (denominada *gasohol*), pero en algunos estados se pueden encontrar entre E75 y E85. En Brasil, las mezclas son obligatorias dentro del rango de E20 y E25. Sin embargo, es muy común encontrar unas con altas concentraciones de etanol, incluso al 100% (E100). Debido a esto, Brasil ha destacado por ser el país líder en la utilización de bioetanol como combustible de transporte (Bajpai, 2013; Monteiro *et al.*, 2016).

5.2 El almidón como biomasa

Una ventaja de las fuentes de biomasa mencionadas anteriormente (lignocelulósicas) es que el costo de adquisición es relativamente bajo. La razón de esto

es que estos materiales son entre los más abundantes en el planeta, y se encuentran en altas cantidades en efluentes industriales y municipales (Sarkar *et al.*, 2011). Por otro lado, estos recursos presentan inconvenientes en cuanto a su estructura molecular, lo cual dificulta y encarece el proceso para la producción de biocombustibles. Esto se debe principalmente a la presencia de lignina, un polímero fenilpropílico insoluble; y a la rigidez estructural de la celulosa (Wyman, 2018).

Entre los materiales alternativos a los lignocelulósicos más utilizados son aquellos ricos en almidón. Este es un polisacárido formado por largas cadenas de moléculas de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) unidas entre sí por enlaces α -glucosídicos. En los tejidos vegetales, el almidón es almacenado en forma de gránulos, con el fin de actuar como una reserva de energía. Se puede encontrar en una gran variedad de plantas, pero su ubicación de almacenamiento es específica para cada una. En cultivos como el maíz, arroz y trigo, el almidón se ubica dentro de las semillas (granos). También se puede encontrar en partes como raíces como la yuca y el camote, o tubérculos como la papa (Birch *et al.*, 1995).

Figura 2. Micrografía de gránulos de almidón de maíz



Fuente: Szymanowska-Powalowska (2012)

Así como su ubicación de almacenamiento, la composición del almidón varía de acuerdo con el cultivo del que se obtiene. Las diferencias se deben a las distintas proporciones que existen entre los dos polímeros constituyentes del almidón: Amilosa y amilopectina. Aunque la unidad monomérica de ambos polímeros es la glucosa, se distinguen por su estructura molecular; específicamente, por la posición de los enlaces glucosídicos. Estructuralmente, la amilosa es lineal, formada por unidades de glucosa unidas en serie mediante enlaces α -1,4-glucosídicos. Por otro lado, la amilopectina presenta una estructura ramificada, a consecuencia de enlaces α -1,6-glucosídicos que recurren entre cada 10 a 12 moléculas de glucosa (Bednarska, 2015; Buléon *et al.*, 1998).

Figura 3. Estructura de la amilosa



Fuente: Birch et al. (1995)





Fuente: Birch et al. (1995)

Evidentemente, los enlaces α -1,6-glucosídicos característicos de la amilopectina son los causantes de la complejidad de la estructura general del almidón. Como se ha mencionado, la relación entre ambos polímeros es dependiente del cultivo del que se obtiene. Adicionalmente, las condiciones de crecimiento o variedades de un mismo cultivo pueden provocar diferencias en dicha relación. Esto ha impedido determinar la estructura general del almidón, puesto que las configuraciones entre la amilosa y amilopectina son muchas. Algunos autores han propuesto esquemas de la estructura de la amilopectina. La Figura 5 muestra la propuesta por Hizukuri y Maehara en 1990. Las cadenas A son las más externas, y se unen por enlaces α -1,6-glucosídicos a las cadenas B, las cuales son cadenas intermedias. La cadena C es la principal de la molécula de amilopectina, y en su lado terminal, contiene una molécula de glucosa reductora (no enlazada a otra molécula).



Figura 5. Esquema de estructura de la amilopectina

Fuente: Bednarska (2015)

Generalmente, el almidón obtenido de granos tiene una mayor proporción de amilopectina que de amilosa, la última variando entre el 14% y 27%. Actualmente, se puede encontrar variedades comerciales de almidón altas en amilosa (hasta un 70%) y otras altas en amilopectina (hasta un 99%). Sin embargo, estas variedades tienen un costo alto, y no son utilizadas en la industria de manufactura (Bednarska, 2015).

5.3 Gelatinización del almidón

En su estado natural, el almidón no es soluble en agua. Su degradación a glucosa (hidrólisis) no es posible si no se encuentra disuelto. Para lograr esto, las reacciones de hidrólisis son precedidas por una etapa llamada gelatinización. Este proceso ocurre cuando se calienta una suspensión de almidón en agua y se alcanza el punto de gelatinización, el cual depende del tipo de almidón utilizado. Durante este calentamiento, los gránulos de almidón absorben agua rápidamente. Como consecuencia, estos aumentan

su volumen, causando su ruptura y la exposición de las cadenas de amilosa y amilopectina al medio (Birch *et al.*, 1995; Bednarska, 2015; Ratnayake y Jackson, 2008). La disolución del almidón en el medio lo vuelve susceptible a la acción de las enzimas o de ácidos, causando la hidrólisis de los enlaces glucosídicos (Szymanowska-Powalowska *et al.*, 2012).

Uno de los parámetros más importantes para la gelatinización es el tamaño de partícula. Si estas son grandes, se impide la gelatinización completa de todo el almidón disponible. A mayor fineza de las partículas, mayor almidón podrá ser disuelto en el medio acuoso. A la larga, esto tiene repercusiones en la eficiencia de la hidrólisis, ya que la cantidad de glucosa obtenida se relaciona directamente con la cantidad de almidón disponible en el medio (Naidu *et al.*, 2007).

Otro de los factores a considerar durante este proceso es el aumento de viscosidad causado por la disolución del almidón en el agua. La ruptura de los gránulos y la liberación de su contenido causa que se forme una suspensión coloidal con viscosidad elevada (Ratnayake y Jackson, 2008). Este aumento de viscosidad puede causar un impedimento en el mezclado, especialmente cuando la proporción de materia seca en la mezcla es alta. En la hidrólisis, también puede dificultar el acceso de las enzimas al almidón, así como limitar los procesos de transferencia de masa que ocurren en la reacción (Bednarska, 2015).

Se han desarrollado métodos y enzimas que permiten la hidrólisis de los gránulos del almidón sin haber sido gelatinizados anteriormente. Esto facilita el proceso y reduce sus costos, ya que el calentamiento inicial no es necesario. Además, es posible realizar la hidrólisis enzimática y la fermentación de forma simultánea. Sin embargo, estos métodos aún están siendo estudiados para encontrar condiciones de reacción favorables, tanto para las enzimas, como para las levaduras en la fermentación (Gray, Zhao y Emptage, 2006; Szymanowska-Powalowska *et al.*, 2012). También es posible tratar el gránulo de almidón de forma que se vuelva soluble y así ser vendido como "almidón soluble". Lin, Lee y Chang (2003) exploran esto tratando almidón de maíz en una solución de HCl al 0.36% (m/v) disuelto en metanol, evaluando el grado de degradación de los gránulos con el tiempo.

5.4 El maíz: Composición y usos

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cultivos más íntimamente ligados a la historia de la humanidad. Desde la antigüedad, este cereal ha formado parte de la dieta de los humanos. En la actualidad, el maíz conserva su importancia, siendo el segundo grano más cultivado a nivel mundial después del trigo. Debido a esto, ha sido uno de los cultivos de mayor enfoque en estudios biotecnológicos y genéticos. Hoy en día, es posible cultivarlo en más condiciones que cualquier otro, y se pueden encontrar plantaciones desde el hemisferio norte hasta el sur. Esto se ha justificado por su importancia en la economía, ya que se utiliza ampliamente en la alimentación humana, animal; e incluso, en proceso industriales (Paliwal y Granados, 2001).

El grano del maíz consiste en tres partes principales: Pericarpio, germen y endospermo. El primero está formado por las capas que recubren al grano, como la cáscara y la epidermis. En relación con el grano entero, esta sección constituye tan sólo entre el 5% y 6% en masa de él. El germen, o embrión, es la sección que contiene la mayoría de las grasas, proteínas y azúcares simples del grano. Su masa relativa al grano se encuentra entre el 10% y 12% (FAO, 1992; Paliwal y Granados, 2001).

La tercera sección del grano de maíz, el endospermo, generalmente representa alrededor del 84% de su masa, pero puede variar entre el 80% y 85% (FAO, 1992). Dentro de él, se almacenan la mayoría de los carbohidratos y proteínas que la planta genera como productos de su metabolismo. El mayor componente del endospermo es el almidón, y representa un 87.6% de la masa de este (Paliwal y Granados, 2001). En relación con el resto del grano, el almidón tiene una composición en masa de entre 59.9% y 64.8%, con una base de 15% de humedad (International Starch Institute, s.f.). Birch *et al.* (1995) establecen que el almidón de este cereal tiene una relación amilosa/amilopectina promedio de 27% / 73%.

17



Figura 6. Diagrama de la estructura del grano de maíz

(Facilitado por el Wheat Flour Institute, Chicago, Illinois, 1964)

Fuente: FAO (1992)

A nivel mundial, el maíz es el cultivo más utilizado para la producción de almidón. Además de ser una materia prima importante para la industria alimenticia, es un recurso con aplicaciones biotecnológicas importantes, en las cuales el almidón es un precursor. Algunos de los productos derivados del maíz más importantes en la alimentación humana son los cereales, harinas, frituras y tortillas. Sin embargo, también se suele producir jarabes concentrados (típicamente de fructosa y/o glucosa) a partir del almidón del maíz (Paliwal y Granados, 2001).

5.5 Molienda, producción y tamizado de harinas de maíz

Antes de poder utilizar los contenidos del grano del maíz, es necesario hacer una reducción de su tamaño. Esto se hace mediante la operación unitaria de la molienda. Dicha operación rompe el pericarpio y el endospermo del grano, causando que el almidón contenido en él se libere. Esta se lleva a cabo con el uso de molinos, los cuales disminuyen considerablemente el tamaño inicial de los granos introducidos. Los mecanismos con los cuales funcionan los molinos son: Por compresión, impacto, rozamiento o corte (McCabe, Smith y Harriot, 2007).

El tipo de molino utilizado depende de los requerimientos específicos de la industria, pero son comunes los de martillos y los de bolas cuando el sólido en cuestión es el maíz. Ambos tipos de molinos reducen el tamaño por impacto, pero el último se ajusta mejor a los procesos de molienda en húmedo. Este tipo de proceso generalmente resulta en tamaños de partícula más pequeños que la molienda en seco. Se utiliza principalmente cuando el producto de interés de la molienda es el almidón del maíz, ya que resulta en un mayor grado de pureza de este (McCabe *et al.*, 2007; Paliwal y Granados, 2001; Perry y Green, 2008).

Los procesos de molienda en seco favorecen un tamaño de partícula mayor al húmedo. Como se ha mencionado, el molino comúnmente utilizado para la molienda en seco del maíz es el de martillos. Este consta de un eje rotatorio al cual se unen martillos que golpean y pulverizan el maíz. Los tamaños de partícula resultantes pueden ser regulados con parámetros tales como la velocidad de rotación, la separación entre martillos, la forma de los martillos y el gasto másico de maíz de entrada. Estos molinos también cuentan con una malla interna con la cual se controla el tamaño mínimo deseado de la salida (Perry y Green, 2008).

El producto resultante de la molienda del maíz es una mezcla de harinas con partículas de distinto grosor. Esto depende de los parámetros mencionados anteriormente, de la eficiencia del molino y de los requerimientos del proceso. Típicamente, estas mezclas luego se someten a procesos de separación tales como el cribado o tamizado. En estos, se elimina el germen y la cascarilla, y se aíslan las partículas más finas (provenientes del endospermo del grano) para su uso posterior en la producción de harinas y cereales (Paliwal y Granados, 2001).

La distribución de los tamaños de partícula presentes en las harinas es determinada, en la mayoría de las industrias, con un análisis granulométrico por tamizado. El método consiste en pasar la mezcla por una serie de mallas, o tamices, con diámetros de abertura distintos. Las mallas son construidas regularmente con alambre, y estandarizadas de acuerdo con las escalas de Tyler o ASTM (American Society for

Testing and Materials). Estas son identificadas con el número de malla, el cual indica cuántas aperturas o mallas hay por pulgada. Por ejemplo, un tamiz No. 20 tiene 20 mallas/pulgada. Por lo tanto, un mayor número implica un diámetro de abertura menor (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007).

Al pasar por cada malla, las partículas de la harina pueden ser retenidas o tamizadas a través de ella. Esto depende del tamaño de cada partícula porque, para ser retenida, debe ser más grande que la abertura de la malla con la cual tiene contacto. La finalidad del análisis por tamizado es obtener las fracciones másicas de la harina que corresponden a un diámetro determinado. Esto se hace pesando las fracciones que son retenidas en cada malla, y calculando el porcentaje que representan de la masa total de harina tamizada. Generalmente, se construyen gráficas para mostrar la distribución de tamaños en la muestra, como se muestra en la siguiente figura:

Figura 7. Distribución acumulativa de tamaños de partículas



Fuente: McCabe et al. (2007)

5.6 Hidrólisis del almidón

Para poder usar el almidón del maíz para la producción de bioetanol, primero es necesario someterlo a una reacción química de hidrólisis en un medio acuoso. Esto se debe a que el almidón como tal no es fermentable. Dada su compleja estructura, las levaduras utilizadas para la fermentación no son capaces de metabolizarlo. El objetivo de
esta reacción es convertir la mayor cantidad de almidón en azúcares simples (glucosa), los cuales son fermentables.

Como se ha mostrado anteriormente, el almidón es un polímero compuesto por unidades de glucosa. Durante esta reacción, los enlaces α -glucosídicos son separados, formando cadenas más cortas con el paso del tiempo, como maltotriosa, maltosa y otras maltodextrinas. Esto causa una reducción del tamaño y un desgaste de los gránulos de almidón. Eventualmente, las cadenas son hidrolizadas hasta formar unidades individuales de glucosa (Bednarska, 2015). Cuando se utilizan otras fuentes de biomasa, como las lignocelulósicas, se obtiene una mezcla de azúcares como glucosa y algunas pentosas, principalmente xilosa (Wyman, 2018).

Figura 8. Micrografía de gránulos de almidón de maíz con un grado de hidrólisis del 15%



Fuente: Buléon et al. (1998)

Las dos formas más comunes de llevar a cabo las reacciones de hidrólisis son los métodos ácidos y enzimáticos. Ambas formas han sido estudiadas extensivamente, pero el enzimático es actualmente el de mayor enfoque y el más investigado. El tipo de enzima utilizado depende de la fuente de biomasa, puesto que son altamente específicas. Por ejemplo, el uso de materiales lignocelulósicos requiere la adición de celulasas; un conjunto de enzimas que hidrolizan la celulosa y liberan moléculas de glucosa (Bajpai, 2013). En el caso del almidón, se utilizan las enzimas amilasas. Por otro lado, las hidrólisis ácidas aplican para cualquier fuente de biomasa, pero su efectividad depende de

las condiciones de reacción tales como la concentración de ácido, el tiempo de reacción y la temperatura (Bajpai, 2013; Wyman, 2018).

5.7 Hidrólisis ácida

Típicamente, la hidrólisis ácida del almidón se realiza sometiéndolo a soluciones acuosas de ácidos inorgánicos. Entre los más comunes se encuentran los ácidos: Sulfúrico (H₂SO₄), clorhídrico (HCl), fosfórico (H₃PO₄) y nítrico (HNO₃). La acidez de la solución favorece la hidrólisis de los enlaces α -glucosídicos, catalizada por los iones hidronio (H⁺) provenientes del ácido. El grado de conversión del almidón a cadenas cortas (maltodextrinas) y glucosa aumenta con el tiempo de reacción (Chavan, Saxena y Tigote, 2015; Pratiwi, Faridah y Lioe, 2017).

Las hidrólisis ácidas del almidón se pueden distinguir según la concentración del ácido. Cuando se usan concentraciones bajas de ácido, la reacción se realiza a temperaturas altas, y generalmente a presiones superiores a la atmosférica. Las temperaturas requeridas son mayores a los 100 °C, incluso pudiendo superar los 200 °C. Los tiempos de reacción para este método son formidables, siendo de segundos o pocos minutos. Sin embargo, las condiciones severas de este método pueden causar la degradación la glucosa formada, reduciendo la eficiencia del proceso y aumentando su costo (Bajpai, 2013; Wyman, 2018)

Por otro lado, los métodos con ácido concentrado implican tiempos de reacción más largos, generalmente de horas. Las temperaturas utilizadas son relativamente bajas, menores a los 100 °C. La presión utilizada en estos procesos es igual o menor a la atmosférica. Comúnmente, estos métodos resultan en una conversión mayor de almidón a glucosa en comparación con los de baja concentración de ácido (Bajpai, 2013; Wyman, 2018).

Ambas formas de hidrólisis ácida tienen desventajas. Se ha determinado que algunos de los azúcares producidos pueden reaccionar y formar compuestos furánicos y ácidos carboxílicos, tales como ácido acético. Esto ocurre con mayor frecuencia cuando se hidroliza la hemicelulosa, y las cantidades formadas aumentan con la temperatura y el tiempo de reacción. Estos compuestos pueden inhibir el proceso de fermentación, por lo

que su concentración debe ser mínima (< 0.1%); o ser removidos con métodos biológicos o químicos (Bajpai, 2013; Kim y Hamdy, 1985; Sarkar *et al.*, 2011). Posterior a la hidrólisis, el ácido debe ser neutralizado o recuperado. La neutralización del ácido genera una cantidad considerable de sales en el medio a fermentar, cuyas implicaciones se discuten más adelante. En los métodos de hidrólisis con ácido concentrado, es especialmente importante su recuperación. Sin embargo, esto genera un costo adicional significativo, ya que los métodos existentes son altamente complejos (Wyman, 2018).

5.8 Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática del almidón se realiza con el uso de amilasas. Estas funcionan específicamente para hidrolizar los enlaces α -glucosídicos presentes que unen a las moléculas de glucosa que componen el almidón (Kosaric, Vardar-Sukan y Pieper, 2001; Mojović *et al.*, 2006). La liberación de glucosa con este tipo de procesos regularmente se hace en dos etapas: Licuefacción y sacarificación. Las condiciones a las que se realizan ambos procesos difieren, ya que cada uno requiere una enzima distinta. Adicionalmente, dependen de las especificaciones de las enzimas utilizadas (como temperatura máxima.

En la licuefacción se utilizan enzimas llamadas α -amilasas. Para que sean capaces de actuar sobre el almidón, debe estar completamente disuelto en el medio. Debido a esto, el proceso de gelatinización explicado con anterioridad es importante. Una vez esto se cumple, las α -amilasas tienen acceso al almidón, y actúan sobre los enlaces α -1,4glucosídicos. La hidrólisis de estos enlaces da como producto principal una mezcla de maltodextrinas, cadenas de glucosa relativamente cortas. La formación de estas cadenas de longitudes más cortas causa una disminución en la viscosidad de la suspensión, lo cual explica el término *licuefacción* (Kosaric *et al.*, 2001; Bednarska, 2015; Mojović *et al.*, 2006).

Como se ha mencionado, las condiciones a las que se lleva a cabo la licuefacción dependen de la α -amilasa utilizada. La temperatura y el pH óptimo dependen de la fuente de la que se obtienen. Una de las más comunes es la α -amilasa termoestable que se obtiene de la bacteria *Bacillus licheniformis* (abreviada TBA). Estas enzimas funcionan

en rangos de temperaturas de 80 °C a 90 °C, y pH de aproximadamente entre 6 y 7. La ventaja es que su resistencia a estas temperaturas permite que la gelatinización se realice de forma paralela a la licuefacción. Por otro lado, también se utilizan α -amilasas cultivadas del hongo *Aspergillus oryzae* (abreviadas FAA). A diferencia de las TBA, su temperatura óptima se ha reportado entre los 40 °C y 57 °C, y los pH entre 5 y 6 (Bednarska, 2015; Kosaric *et al.*, 2001).

Dado que la licuefacción produce principalmente maltodextrinas, es necesario hidrolizarlas para finalmente liberar las moléculas de glucosa. Esto se hace por medio de la sacarificación, llevada a cabo por enzimas llamadas glucoamilasas o amiloglucosidasas. A diferencia de las α -amilasas, estas enzimas son capaces de hidrolizar tanto los enlaces α -1,4-glucosídicos, como los α -1,6-glucosídicos característicos de la amilopectina (Mojović *et al.*, 2006). Con esto se da la liberación de la glucosa, generando una suspensión o solución rica en ella. La glucoamilasa más utilizada es la cultivada del hongo *Aspergillus niger* (abreviada GAA). Las temperaturas óptimas de funcionamiento se encuentran entre los 50 °C y 65 °C, en un rango de pH entre 4 y 5 (Kosaric *et al.*, 2001).

A diferencia de la hidrólisis ácida, la enzimática presenta la ventaja de ser más limpia y segura, dado que no hay riesgos por corrosión de ácidos. Además, este método evita la formación de compuestos inhibidores de la fermentación. Esto porque las enzimas reaccionan exclusivamente con el almidón y las maltodextrinas; y las condiciones de reacción no son lo suficientemente severas como para causar la formación de compuestos indeseados. Sin embargo, tanto el costo de las enzimas, como los tiempos de reacción son considerablemente mayores a los requeridos para la hidrólisis ácida (Sarkar *et al.*, 2011; Taherzadeh y Karimi, 2007).

5.9 Cuantificación de glucosa

Existen diversos métodos para la cuantificación analítica de glucosa. La mayoría de ellos son colorimétricos, en los cuales se da una reacción de oxidación-reducción en la que la glucosa reduce otra molécula. La reducción de la molécula utilizada da como resultado la formación de un color cuantificable por espectrofotometría ultravioleta (UV)

-visible (VIS). Entre los reactivos más utilizados se encuentra el ácido 3,5 – dinitrosalicílico (Negrulescu *et al.*, 2012). Otro de los métodos más utilizados para su detección es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en el cual la glucosa es separada físicamente en una columna específica para esto, y posteriormente cuantificada (Skoog *et al.*, 2015). En los estudios realizados por Naidu *et al.* (2007), Wang *et al.* (1999) y Zhang *et al.* (2015), se utiliza este método para la detección de la glucosa en los procesos de hidrólisis y/o fermentación.

También hay equipos cuyo método de detección de analitos es con una reacción enzimática. La glucosa puede ser cuantificada con este método al utilizar la enzima glucosa oxidasa. En el sensor de estos equipos, las enzimas se encuentran inmovilizadas sobre una membrana. Cuando la glucosa entra en contacto con la oxidasa, se produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como resultado de su oxidación. Un electrodo de plataplatino adyacente detecta el flujo de peróxido de hidrógeno. La cuantificación se hace sabiendo que el flujo de H_2O_2 es proporcional a la concentración de glucosa. Estos sensores han demostrado ser altamente convenientes, puesto que tienen una alta precisión, exactitud y velocidad de medición (Skoog *et al.*, 2015; YSI, 2014).



Figura 9. Esquema de sensor y membrana enzimática

Fuente: YSI (2014), traducida al español.

Como se muestra en la figura anterior, la membrana enzimática está cubierta por una membrana de policarbonato y una de acetato de celulosa. Ambas tienen como función la filtración de la muestra para remover partículas sólidas e interferentes como proteínas. La reacción también es llevada a cabo en una solución amortiguadora que regula el pH, a manera de evitar la inactivación de las enzimas (YSI, 2014).

Los aparatos que contienen sensores de este tipo pueden ser equipados con una gran cantidad de módulos (combinación de sensor, oxidasas y soluciones amortiguadoras), los cuales permiten la cuantificación de otros analitos. Algunos de estos son etanol, metanol, amonio, sacarosa, y otros azúcares reductores. En el presente estudio, se disponía únicamente de un módulo de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) y no de glucosa. Sin embargo, las enzimas utilizadas para cuantificar este disacárido hidrolizan el enlace glucosídico, de tal forma que se libera una molécula de fructosa y una de glucosa. Entonces, el sensor detecta la concentración de la glucosa liberada a partir de su oxidación por la glucosa oxidasa. La computadora del equipo convierte esta concentración de glucosa a su equivalente de sacarosa y la reporta así. Por lo tanto, la glucosa puede ser cuantificada de esta forma, pero el valor dado por el equipo debe ser corregido de concentración de sacarosa (C_{Sac} , g/L) a glucosa como porcentaje de masa/volumen (C_G , % m/v). Esto se hace de la siguiente forma:

Ecuación 1
$$C_G = \frac{C_{Sac}}{1.9 \cdot 10}$$

El factor de 1.9 está dado por la relación entre las masas moleculares de la sacarosa y la glucosa. Las reacciones químicas llevadas a cabo cuando se usa el módulo de sacarosa son las siguientes:

Ecuación A	Sacarosa + H_2O Invertasa $\alpha - D - Glucosa + Fructosa$
Ecuación B	$\alpha - D - Glucosa$ Mutarrotasa $\beta - D - Glucosa$
Ecuación C	$\beta - D - Glucosa + O_2$ $\overline{Glucosa \ oxidasa}$ $H_2O_2 + D - Glucono - \delta - Lactona$

También es conveniente definir un grado de conversión de harina a glucosa. Este valor indica qué porcentaje de la masa inicial de la harina se logró convertir en glucosa en

la hidrólisis. Por lo tanto, mientras más alto sea, la efectividad del método es mejor. Con este valor, se puede hacer comparaciones directas entre los métodos ácido y enzimático. La conversión como porcentaje (C_H) se define así:

Ecuación 2
$$C_H = \left(\frac{C_G \cdot V}{M_{H,i}} - \bar{x}_{G,i}\right) \cdot 100$$

Donde *V* es el volumen final obtenido después de la hidrólisis, $M_{H, i}$, la masa de harina utilizada para la reacción y $\bar{x}_{G,i}$, el contenido promedio de glucosa en la harina (en masa y base húmeda).

5.10 Fermentación alcohólica

La producción del etanol se hace mediante un proceso de fermentación. En esta, la glucosa obtenida en la reacción de hidrólisis es transformada a etanol. Este es un producto del metabolismo primario de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. La reacción química general es la siguiente:

Ecuación D
$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$$

Las levaduras son microorganismos que se clasifican como hongos; y aunque se han descubierto más de 2500 especies, se estima que la cantidad total se aproxima a los 150,000. A pesar de que se han explorado otros microorganismos para la producción de etanol, las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* continúan dominando en la industria. Su uso resulta altamente económico, ya que los rendimientos de etanol obtenidos con ellas son altos. Además, la versatilidad de estas levaduras hace su uso conveniente, puesto que toleran un amplio rango de pH y concentraciones de etanol (Azhar *et al.*, 2017; Bai, Anderson y Moo-Young, 2007).

Como se muestra en la Ecuación química D, la reacción general en la fermentación alcohólica carece de oxígeno. Por lo tanto, estas se llevan en condiciones anaeróbicas. El proceso metabólico correspondiente a la fermentación alcohólica es la glucólisis, específicamente la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). En esta, cada molécula de glucosa es convertida en dos piruvatos, los cuales son posteriormente

reducidos para producir dióxido de carbono y etanol (Bai *et al.*, 2007). El rendimiento teórico de etanol, con base en la reacción A, es de 0.511 g / g de glucosa. El rendimiento de fermentación práctico (R_E) generalmente se calcula como un porcentaje sobre el teórico, con la siguiente ecuación:

Ecuación 3
$$\%R_E = \frac{\%ABV \cdot 1000 \cdot \rho_E}{C_{Gi} \cdot 0.511} \cdot 100$$

Donde ABV es la concentración volumétrica de etanol; ρ_E , la densidad del etanol puro (g/mL) y C_{Gi} , la concentración de glucosa previo a fermentar (g/L).

Se deben considerar cuidadosamente las condiciones a las que se realiza la fermentación. El no hacerlo puede causar la muerte de las levaduras o una disminución en el rendimiento de etanol. Entre las más importantes se encuentran la concentración inicial de glucosa, los tiempos de fermentación, temperaturas, pH, agitación, cantidad de inóculo y gravedad específica del medio.

Aunque se obtenga una buena combinación de los parámetros de fermentación, los rendimientos máximos en la práctica suelen tener valores de entre 90% y 93% del teórico. Esto se debe a que, además del etanol y CO₂, se forman otros subproductos durante la fermentación, tales como el glicerol, algunos ácidos orgánicos y alcoholes superiores. Adicionalmente, la fermentación primaria es acompañada por la reproducción de las levaduras, por lo que parte de la masa de glucosa es utilizada para este fin (Bai *et al.*, 2007).

A pesar de que las levaduras *S. cerevisiae* son organismos versátiles, existen ciertas condiciones y componentes que pueden inhibir su funcionamiento. Algunos de estos ya se han discutido en la sección de hidrólisis ácida. Bai *et al.* (2008) proveen otros ejemplos de condiciones inhibidoras de las levaduras. Entre ellos, destacan los pH menores a 3.5, así como la presencia de altas cantidades de etanol (15% v/v o mayor). La presencia de iones como sodio (>500 mg/L) y sulfitos (>100 mg/L) también puede ser causa de inhibición. Finalmente, una presión osmótica elevada debido concentraciones altas de solutos y sustratos puede ser un obstáculo para el metabolismo de las levaduras.

5.11 Parámetros y nutrientes de fermentación

Las levaduras *S. cervisiae* fermentan de forma óptima en un rango de temperaturas de entre 20 y 35 °C, y pH de 4.0-5.0. Sin embargo, son capaces de tolerar pH de hasta 2.75. Típicamente, las temperaturas entre 28 y 30 °C favorecen una fermentación más rápida (Kosaric *et al.*, 2001). Las temperaturas por encima de 35 °C causan la disminución de la actividad de las levaduras, y aumentan la toxicidad del etanol hacia ellas. Los pH superiores a 5.0 generan una reducción del rendimiento de la fermentación, mientras que los menores a 4.0 causan que la adaptación de las levaduras al medio sea más lenta (Azhar *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 1999).

El tiempo de fermentación también es importante, ya que de esto depende el grado de conversión del sustrato a etanol. Usualmente, los tiempos de fermentación suelen ser de entre 48 a 72 horas, pero en ocasiones pueden ser mayores. Esto depende de factores como la concentración de sustrato, el tipo de levadura utilizada y la concentración de etanol deseada. Los tiempos de fermentación cortos evitan que las levaduras se reproduzcan y metabolicen completamente el sustrato (Azhar *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 1999).

La concentración inicial de glucosa en el medio es uno de los parámetros más importantes. La razón es que de ella depende la concentración final de etanol, pero especialmente, porque puede ser uno de los mayores causantes de la inhibición de las levaduras. Zhang *et al.* (2015) determinaron que una concentración de glucosa de aproximadamente de 80 g/L resulta en el mayor rendimiento de fermentación (en 96 horas). A partir de 160 g/L la tasa de crecimiento de las levaduras se tornó considerablemente más lenta, por lo que la velocidad de fermentación fue menor. Esto lo sustentan Azhar *et al.* (2017), ya que indican que las fermentaciones por lotes con concentraciones altas de azúcares requieren mayor tiempo de fermentación para ser completadas. Adicionalmente, un contenido elevado de glucosa resulta en una concentración de etanol mayor, la cual tiene un efecto inhibidor que aumenta con el tiempo.

Aunque su efecto no es tan significativo, la agitación también se debe considerar. En las fermentaciones a escala laboratorio se suele emplear velocidades de agitación de entre 150 y 200 rpm. Esto ayuda a acelerar los procesos de difusión y transferencia de solutos a través de las membranas celulares de las levaduras, así como a remover el etanol desde las células hacia el medio. La agitación también asegura que la concentración celular sea homogénea, lo cual mejora la velocidad de la fermentación. Al igual que la agitación, la cantidad de inóculo suele tener poco efecto en la concentración final de etanol. A mayor cantidad de células, la tasa de consumo de glucosa será mayor, por lo que el tiempo de fermentación podría disminuir (Azhar *et al.*, 2017).

Finalmente, se debe considerar la adición de nutrientes adicionales al mosto previo a su fermentación. Siendo seres vivientes, las levaduras requieren de componentes adicionales a la glucosa para reproducirse y mantener su actividad metabólica. Akers *et al.* (2014) establecen que los elementos de mayor importancia para las fermentaciones son: Carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre. Los primeros tres son los mayores componentes de la célula, por lo que son utilizados para su crecimiento y reproducción. El nitrógeno se encuentra en las proteínas y ácidos nucleicos de la célula, mientras que el fósforo es importante para la formación de la capa fosfolípida y de los ácidos nucleidos. Finalmente, el azufre está presente en algunos aminoácidos, proteínas y coenzimas.

Dado que la glucosa obtenida de la hidrólisis del almidón es el sustrato principal, es la fuente más abundante de carbono e hidrógeno. En la mayoría de los casos, el oxígeno se encuentra disuelto en el agua utilizada para la fermentación (como O₂). El nitrógeno es agregado típicamente en la forma de sales de amonio, principalmente el sulfato de amonio (NH₄)₂SO₄, el cual sirve también como fuente de azufre (Akers *et al.*, 2014). Un estudio hecho por Arrizon y Gschaedler (2007) demostró que la velocidad de la fermentación primaria aumenta considerablemente con la adición de sulfato de amonio (con 1.0 g/L). En los experimentos realizados por Naidu *et al.* (2007), se utilizó una concentración de 300 ppm de nitrógeno en forma de sulfato de amonio. El fósforo es asimilado en forma de fosfatos, por lo que se adicionan sales inorgánicas que contengan este ion. El requerimiento de este mineral es notoriamente bajo; y en algunos casos, el agua utilizada puede contener la cantidad suficiente de fósforo para hacer una fermentación exitosa. Zhang *et al.* (2015) utilizaron KH₂PO₄ con una concentración de 0.70 g/L en sus estudios.

5.12 Cuantificación del etanol producido en la fermentación

Al igual que la glucosa, el etanol puede ser medido con varios métodos analíticos. Entre los más comunes se encuentra nuevamente el HPLC, el cual también es utilizado en algunos de los estudios mencionados anteriormente. También se pueden utilizar sensores enzimáticos, como se ha discutido. Sin embargo, es posible utilizar instrumentos tan simples como un densímetro. Este es un tubo de vidrio cuidadosamente calibrado para indicar la gravedad específica de la solución en la que se sumerge. La lectura se hace al nivel de la solución, y la profundidad a la que el densímetro flote dependerá de su gravedad específica. Para estimar la concentración volumétrica del etanol (ABV por sus siglas en inglés: *Alcohol By Volume*), es necesario determinar la gravedad específica antes de fermentar (GE_1) y posterior a la fermentación (GE_2). Conforme la fermentación avanza, la densidad del medio se reduce por la formación del etanol. La ecuación para calcular el ABV como porcentaje es la siguiente:

Ecuación 4 %ABV
$$(v/v) = \frac{GE_1 - GE_2}{0.776} \cdot 100$$

Otro método utilizado para la medición del contenido de alcohol es el de Dujardin-Salleron. Este es un método antiguo utilizado comúnmente en la industria vinícola. La forma clásica de hacerlo consiste en evaporar la solución que contiene alcohol en un aparato llamado ebullómetro. El vapor se condensa y se regresa al ebullómetro como un reflujo. La determinación del porcentaje de alcohol se hace con base en la diferencia de la temperatura ebullición del alcohol y del agua. La temperatura de ebullición de la solución deberá estar entre este rango. A mayor concentración de etanol, más cercana es la temperatura de ebullición a la del etanol puro. Entonces, la concentración se puede medir insertando un termómetro en el aparato y midiendo la temperatura a la que ebulle la solución (Jacobson, 2006).

Hay otra forma alternativa de cuantificación de etanol con este método, en la cual el destilado se condensa y se recibe en un recipiente separado del ebullómetro. Esto se hace hasta que el volumen total del condensado (mezcla etanol-agua) es igual al volumen original ingresado al ebullómetro. Entonces, la concentración de etanol se determina sumergiendo un alcoholímetro en el volumen de condensado que se obtuvo. Esta concentración debe ser corregida por la temperatura utilizando tablas apropiadas, como las de Gay-Lussac (Jacobson, 2006).

Con el porcentaje de etanol calculado, es posible determinar el rendimiento de bioetanol (R_B). Con este indicador, se puede estimar la cantidad de bioetanol total que se produjo por unidad de masa de harina. La ecuación para su cálculo se presenta a continuación (rendimiento en mL de bioetanol/kg de harina seca):

Ecuación 5

$$R_B = \frac{\% ABV \cdot m_{ferm} \cdot 1000}{GE_2 \cdot m_{hs}}$$

Donde m_{ferm} es la masa total del líquido posterior a la fermentación (en gramos) y m_{hs} la masa de harina seca (en gramos) utilizada en la corrida.

5.13 Reactor de hidrólisis

Como se ha expuesto anteriormente, la hidrólisis de la harina de maíz presenta algunas dificultades técnicas. La agitación es una de ellas, debido a la gelatinización del almidón al aumentar la temperatura. Los aumentos de viscosidad súbitos causados por este proceso requieren de un agitador adecuado con suficiente potencia para poder vencer la resistencia del fluido. También se deben considerar las cualidades del reactor a utilizar de tal manera que sea resistente a las temperaturas elevadas y, en el caso de la hidrólisis ácida, a la solución de agua con ácido. Finalmente, es necesario determinar la forma en la que se proveerá el calor a la mezcla a manera de alcanzar la temperatura de reacción deseada.

Cuando se trata de operaciones de agitación y mezclado en tanques, los tipos de agitadores se pueden clasificar de acuerdo con la viscosidad del fluido. No obstante, la distinción entre baja y alta viscosidad es ambigua. McCabe *et al.* (2007) consideran que un fluido es altamente viscoso si su viscosidad supera los 20 Pa·s (20,000 cP), mientras que Perry y Green (2008) indican un valor de 10 Pa·s (10,000 cP). Si se trabaja con un fluido de baja viscosidad, los agitadores utilizados típicamente son pequeños en relación

con el diámetro del tanque, por lo que ocupan poco espacio dentro de este. También suelen utilizarse a velocidades relativamente altas. Por otro lado, los agitadores especiales para fluidos viscosos son de tamaño considerable, teniendo diámetros cercanos al diámetro interior del tanque. Naturalmente, la velocidad de rotación no puede ser elevada a causa de los tamaños grandes de estos equipos.

Debido a los aumentos de viscosidad causados por la gelatinización del almidón del maíz, es necesario emplear agitadores para viscosidades altas al llevar a cabo la hidrólisis a escalas de planta piloto o industriales. Estos agitadores promueven una agitación uniforme en toda la sección transversal del tanque, evitando la formación de zonas estancadas en donde no ocurre el mezclado (Perry y Green, 2008). Esto es importante, ya que la agitación uniforme y constante favorece el avance de la reacción. Los agitadores más utilizados para fluidos viscosos son los de cintas helicoidales y los de ancla, los cuales se muestran a continuación:

Figura 10. Diagrama de agitador de cintas helicoidales (izquierda) y de ancla (derecha)



Fuente: McCabe (2007)

Los agitadores de cintas helicoidales tienden a ser más versátiles que los de ancla, puesto que funcionan satisfactoriamente con fluidos o mezclas desde viscosidades bajas hasta extremadamente altas. La dirección de mezclado promovida por este agitador es vertical (flujo axial), moviendo el fluido desde arriba hacia abajo. Sin embargo, todas estas características favorables hacen a este tipo de agitador uno de los más caros (Perry y Green, 2008).

A diferencia de los de cintas helicoidales, los agitadores de ancla suelen ser más baratos ya que presentan menos ventajas. Adicionalmente, su construcción es más fácil, dada su geometría simple comparada con las cintas helicoidales. Estos son de los agitadores más utilizados para fluidos de viscosidades elevada. La dirección principal de la agitación cuando se utiliza un agitador de ancla es horizontal (flujo radial), por lo que el mezclado entre la parte superior e inferior del reactor suele ser lento. Algunos agitadores de ancla son equipados con cuchillas anguladas para promover un mezclado vertical. Además, también pueden equiparse con raspadores que evitan la acumulación de sólidos en las paredes internas del tanque (Perry y Green, 2008).

Debido a su menor costo y mayor accesibilidad, este tipo de agitador se justifica para aplicaciones de escala como la de una planta piloto. En el caso de la hidrólisis de la harina de maíz, un agitador de ancla es suficiente para vencer la viscosidad generada por la gelatinización de la harina. Para la selección y estimación de las dimensiones de un tanque con un agitador de ancla, es importante considerar ciertas variables y su relación entre ellas. También se debe hacer una estimación de la potencia requerida para llevar a cabo la agitación, lo cual está en función del número de Reynolds (N_{Re}) y del número de potencia (N_P). Las variables relevantes al dimensionamiento de un tanque con agitador de ancla se muestran a continuación:





Fuente: Perry y Green (2008)

En el diagrama anterior, se hace la distinción entre la altura del líquido (Z) y del agitador (H). También se diferencia el diámetro interno del tanque (T) del diámetro del agitador (D). Comúnmente, D representa entre el 90% y 95% del diámetro interno del

tanque (*T*). Esto crea un espacio de holgura entre las paredes internas del tanque y el agitador (*C*). Otra relación común es que la altura del agitador (*H*) es igual al diámetro del agitador. Finalmente, el ancho del agitador (*W*) típico es del 10% del diámetro del agitador (*D*) (Perry y Green, 2008).

Para poder estimar la potencia requerida para mover el agitador, se pueden utilizar las ecuaciones proporcionadas por Perry y Green (2008) para el número de Reynolds y de potencia para agitadores de ancla:

Ecuación 6
$$N_{Re} = \frac{10.4 \cdot D^2 \cdot N \cdot GE}{\mu}$$

Donde *D* es el diámetro del agitador en pulgadas; *N*, la velocidad de rotación en RPM; *GE*, la gravedad específica promedio de la mezcla; y μ , su viscosidad.

Ecuación 7
$$N_P = \frac{1.524 \times 10^{13} \cdot P}{GE \cdot N^3 \cdot D^5}$$

Donde *P* es la potencia requerida para llevar a cabo la agitación, en hp.

Las dos ecuaciones anteriores se pueden relacionar mediante las correlaciones mostradas en la Figura 12. En esta gráfica, se puede determinar el número de potencia en función del número de Reynolds para el sistema a agitar. También se muestran las correlaciones para agitadores de ancla de dos y tres brazos; y con diámetros del agitador de 90% o 95%. A partir del número de potencia estimado, es posible calcular la potencia al despejarla en la Ecuación 7.

Cabe notar que estas correlaciones aplican para situaciones en las que la altura del agitador (H) es igual a su diámetro (D). Para casos en los que la altura sea un porcentaje más pequeño que el diámetro, el número de potencia se corrige utilizando el mismo porcentaje. Por ejemplo, si la altura del agitador es un 80% del diámetro del agitador, el número de potencia correcto será el 80% del valor leído de la gráfica. Se aplica el mismo

procedimiento cuando la altura del líquido (Z) cubre un porcentaje menor al 100% del agitador (Perry y Green, 2008).



Figura 12. Correlaciones entre el número de Reynolds y número de potencia para tanques con agitador de ancla

Fuente: Perry y Green (2008), traducida al español

Para alcanzar y mantener la temperatura de reacción requerida, debe existir una fuente de energía térmica. En el caso de reactores, una de las fuentes más comunes es el vapor de agua saturado. El tanque debe estar equipado con una chaqueta, dentro de la cual se introduce el flujo de vapor proveniente de una caldera. Al ser un vapor saturado, este se condensa al entrar en contacto con la pared del tanque, entregando grandes cantidades de energía térmica. A esta energía se le conoce como calor latente de condensación (Perry y Green, 2008; Smith *et al.*, 2020).

Se debe estimar la cantidad de vapor requerida (m_v) para elevar la temperatura del reactor desde la inicial (T_o) , hasta la deseada (T_r) . Para esto se hace la suposición de que, al ser vapor saturado, toda la masa de vapor ingresada a la chaqueta entregará su calor latente de condensación (λ_c) al reactor. Típicamente, los reactores están fabricados de acero inoxidable, un material de alta conductividad térmica. Por lo tanto, es válido suponer que la resistencia térmica por conducción del tanque es despreciable. Con estas suposiciones, se puede utilizar el siguiente balance de energía para determinar la cantidad de vapor necesaria para elevar la temperatura:

Ecuación 8

$$m_m \cdot C_{p,m} \cdot (T_r - T_o) = -m_v \cdot \lambda_c$$

Donde m_m es la masa total de la mezcla de harina de maíz y su solución (agua y ácido o únicamente agua). La variable $C_{p,m}$ es el calor específico de dicha mezcla, el cual es una ponderación entre los calores específicos individuales de la harina de maíz y de la solución. Los valores para el agua y para soluciones acuosas de ácido sulfúrico se pueden encontrar fácilmente en publicaciones como la de Perry y Green (2008). El calor específico del maíz resulta más complejo, ya que depende tanto de su contenido de humedad como de la temperatura. Sin embargo, en el estudio hecho por Verma y Prasad (2000), se obtuvo una ecuación matemática empírica que predice satisfactoriamente el calor específico en función de ambas variables. El calor latente de condensación se puede extraer de tablas de vapor, en dependencia de la temperatura del vapor saturado.

También es necesario traducir la masa de vapor calculada a un flujo másico $(\dot{m_v})$. Este deberá ser proporcionado por la caldera de forma continua. Para calcularlo, se requiere establecer un tiempo deseado para hacer el calentamiento de la mezcla (t_c) , y utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 9

$$\dot{m}_v = \frac{m_v}{t_c}$$

Dado que se debe mantener la temperatura requerida durante la totalidad de la reacción, también es imperativo suministrar vapor para compensar las pérdidas de calor del tanque. La cantidad de vapor requerida para la compensación depende del tiempo total de la reacción y de las propiedades físicas del sistema, las cuales tienen un impacto en los procesos de transferencia de calor. Básicamente, las pérdidas de calor del reactor se pueden clasificar por radiación y convección natural.

La radiación es un mecanismo de transferencia de calor que se da simplemente por la temperatura de un objeto. Todo cuerpo con una temperatura superior a los 0 K emite radiación térmica a los alrededores. A mayor temperatura, mayor es la magnitud del calor emitido. Los cálculos de radiación se pueden volver complejos, especialmente cuando hay muchos objetos en los alrededores del de interés. Una simplificación para los cálculos es modelar los objetos como cuerpos negros. Estos son objetos ideales, los cuales absorben toda la radiación que reciben, y también emiten la cantidad máxima de radiación. Sin embargo, la cantidad absorbida y emitida por un cuerpo real (cuerpo gris) siempre será un porcentaje menor a la de un cuerpo negro. A este porcentaje de corrección se le conoce como emisividad (ε) (McCabe *et al.*, 2007). La potencia emisiva de un cuerpo gris en Watts (q_r) se puede calcular de la siguiente forma:

Ecuación 10
$$q_r = \sigma \cdot \varepsilon \cdot A \cdot T^4$$

Donde *A* es el área superficial del cuerpo en m² y *T*, su temperatura absoluta. La constante σ es la de Stefan-Boltzmann, y tiene un valor de 5.6697 ×10⁻⁸ W/m² · K⁴. Para los metales pulidos, el valor del factor de emisividad tiene un valor de alrededor de 0.05. Esta ecuación da como resultado la potencia máxima que el reactor podría llegar a perder debido a la radiación.

La convección es otro mecanismo de transferencia de calor que se da cuando un fluido transporta energía térmica. En la mayoría de las situaciones en la Tierra, todos los objetos están rodeados de aire. Por lo tanto, este gas es uno de los mayores responsables por las pérdidas de calor por convección. Al estar a una alta temperatura, el reactor de hidrólisis le cede energía al aire que lo rodea en la forma de convección natural.

Existen métodos para estimar las pérdidas por convección natural desde superficies verticales y horizontales, como el de McCabe *et al.* (2007). Este permite encontrar el coeficiente de transferencia de calor convectivo (h) del sistema en función de los números adimensionales de Grashof (N_{Gr}), Prandtl (N_{Pr}) y Nusselt (N_{Nu}). La ecuación 11 se puede expresar de las siguientes formas:

$$N_{Nu} = b \cdot (N_{Gr} \cdot N_{Pr})^n$$

Ecuación 11

$$\frac{hL}{k} = b \cdot \left[\frac{L^3 \cdot \rho^2 \cdot \beta \cdot g \cdot \Delta T}{\mu^2} \cdot \left(\frac{C_p \cdot \mu}{k}\right)\right]^n$$

Donde:

L: Longitud vertical del reactor

 ρ : Densidad del aire

- β : Coeficiente de expansión térmica del aire (1/*T*)
- g: Aceleración de la gravedad
- ΔT : Diferencia de temperaturas entre el aire y los alrededores
- μ : Viscosidad del aire
- C_p : Calor específico del aire
- k: Conductividad térmica del aire

Los coeficientes *b* y *n* dependen del tipo de superficie que se está analizando y del valor de $N_{Gr} \cdot N_{Pr}$, los cuales se muestran en la Figura 13. Para calcular las pérdidas del reactor por la superficie cilíndrica, se utiliza el primer caso de la Figura 13. Si se considera que las partes superior e inferior del tanque son láminas horizontales circulares, se utiliza el segundo y tercer caso, respectivamente.

Sistema	Intervalo de Gr Pr	b	п
Láminas verticales, cilindros verticales	10 ⁴ -10 ⁹	0.59	0.25
	10 ⁹ -10 ¹²	0.13	0.333
Láminas horizontales:			
Superficie de calentamiento dirigida hacia arriba	$10^{5}-2 \times 10^{7}$	0.54	0.25
o de enfriamiento dirigida hacia abajo	$2 \times 10^{7} - 3 \times 10^{10}$	0.14	0.333
Superficie de enfriamiento dirigida hacia arriba.			
o de calentamiento dirigida hacia abajo	$3 \times 10^{5} - 3 \times 10^{10}$	0.27	0.25

Figura 13. Coeficientes b y n para cálculos de convección natural

Fuente: Tomado con autorización del autor y editores W. H. McAdams, *Heat Transmission*, 3a. ed., pp. 172, 180. Derechos de autor, 1954, McGraw-Hill Book Company.

Fuente: McCabe et al. (2007)

Una vez determinado el coeficiente de transferencia de calor convectivo, se puede aplicar la Ley de Enfriamiento de Newton para encontrar las pérdidas de calor (q_c) de cada sección del tanque, en función de su área superficial externa (A) y la diferencia de temperatura entre el vapor y los alrededores (ΔT).

$$q_c = h \cdot A \cdot \Delta T$$

Entonces, las pérdidas totales de calor (q_t) se pueden determinar mediante la suma de las pérdidas por radiación y por convección:

Ecuación 13
$$q_t = q_r + q_c$$

5.14 Separación de harina por sedimentación

Cuando la reacción de hidrólisis ha terminado, es preciso separar la harina restante del líquido rico en glucosa para su posterior fermentación. Las operaciones más comunes de separación líquido-sólido son la centrifugación, el filtrado o la sedimentación. La primera de ellas logra la separación al someter la mezcla a un campo centrífugo causado por rotaciones sobre un eje a altas velocidades. El segundo utiliza una barrera física, como una membrana, que retiene los sólidos, pero permite el paso del líquido a través de ella. Ambos métodos pueden lograr separaciones en tiempos cortos (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007).

En el tercero, la sedimentación, se permite que la partícula sólida descienda por el medio líquido debido a la acción de la fuerza de gravedad. La velocidad a la que la partícula se asienta depende de la diferencia de densidades entre ella y el líquido, la viscosidad del líquido, y el diámetro de las partículas. A diferencia de la centrifugación y la filtración, la separación es significativamente más tardada. Si las condiciones son adecuadas, y el tiempo de espera no es crítico, la sedimentación es una buena alternativa para llevar a cabo la separación. Se puede estimar la velocidad máxima (o velocidad terminal) a la que una partícula sólida sedimentará en un líquido (u_t), y a partir de esto calcular el tiempo necesario para lograr la separación (McCabe *et al.*, 2007).

Para la sedimentación, se define el Número de Reynolds de partícula ($N_{Re,p}$) en función de la velocidad terminal de la partícula y su diámetro promedio (D_p). La densidad y la viscosidad corresponden a las de la fase líquida:

Ecuación 14
$$N_{Re,p} = \frac{D_p \cdot u_t \cdot \rho}{\mu}$$

La velocidad de sedimentación para partículas esféricas se puede aproximar utilizando la Ecuación 15. Esta introduce una constante, llamada el coeficiente de rozamiento C_D . Para esto, también es necesario conocer la densidad de la partícula sólida (ρ_p) y la del líquido (ρ) . Dado que sólo actúa la fuerza de la gravedad, el valor de g se puede tomar como 9.81 m/s²:

Ecuación 15
$$u_t = \sqrt{\frac{4 \cdot g(\rho_p - \rho) \cdot D_p}{3 \cdot C_D \cdot \rho}}$$

El coeficiente de rozamiento se puede obtener gráficamente con la siguiente figura:





Fuente: McCabe et al. (2007)

En los casos más comunes, no se puede calcular $N_{Re,p}$ porque no se conoce u_t . Para determinar si se puede utilizar la Ley de Stokes para el cálculo de la velocidad terminal, se define el criterio del régimen de sedimentación (K_s). Si este es 2.6 o menor, entonces se puede aplicar la Ley de Stokes. Si supera el valor de 2.6, el error por utilizar la Ley de Stokes aumentará considerablemente.

Ecuación 16

$$K_s = D_p \cdot \left[\frac{g \cdot \rho \cdot (\rho_p - \rho)}{\mu^2}\right]^{\frac{1}{3}}$$

Cuando la cantidad de sólidos es elevada, la velocidad terminal de las partículas es reducida debido a la cercanía entre las partículas. Este régimen se conoce como sedimentación impedida. La velocidad de sedimentación (u_s) se calcula a partir de la velocidad terminal, la porosidad del sólido (ε_s) y una constante n que depende del Número de Reynolds de partícula. La porosidad se refiere al porcentaje de espacios vacíos presentes en un volumen total de sólidos. En la sedimentación impedida, representa los espacios ocupados por el líquido. Esta propiedad puede determinarse a partir de la densidad aparente o de bulto del sólido (ρ_B) y la densidad de partícula (ρ_p) (McCabe *et al.*, 2007).

Ecuación 17
$$u_s = u_t \cdot \varepsilon_s^n = u_t \cdot \left(1 - \frac{\rho_B}{\rho_p}\right)^n$$

El exponente *n* se obtiene con la siguiente correlación:



Figura 15. Correlación para el exponente n de sedimentación impedida

Fuente: McCabe et al. (2007)

5.15 Biorreactor de fermentación

La fermentación de la solución rica en glucosa se debe llevar a cabo en un biorreactor. Tradicionalmente, los biorreactores se operan por lotes o de forma discontinua, en los cuales se agrega una cantidad de inóculo inicial a la solución rica en sustrato y se permite fermentar por el tiempo requerido. Este tipo de operación es común en industrias pequeñas o para procesos de escala de planta piloto, puesto que su diseño es relativamente sencillo e involucra pocas variables y puntos de control. Sin embargo, es necesario conocer los parámetros, condiciones y consideraciones relevantes al microorganismo que se utilizará para la fermentación y el producto que se obtendrá. Estos ya se han discutido anteriormente para la fermentación alcohólica de glucosa de *Saccharomyces cerevisiae*. También se han desarrollado biorreactores que operan de forma continua. Aunque estos tienen ventajas operativas sobre los discontinuos, los cálculos para su diseño son rigurosos. Estos son más aplicables para grandes industrias, en donde se puede asegurar flujos constantes y producciones continuas en todo momento (Scragg, 2009; Villadsen, Nielsen y Lidén, 2011)

A diferencia del reactor de hidrólisis, el biorreactor de fermentación debe ser cerrado. Como se ha explicado, la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico. Por lo tanto, el tanque utilizado no debe permitir el ingreso de aire mientras la fermentación está ocurriendo. Para evitar la acumulación de presión por los gases formados en la fermentación, estos deben ser liberados. Existen instrumentos que hacen esto, como las válvulas de alivio de presión (Perry y Green, 2008). Al igual que el reactor de hidrólisis, el material de construcción debe ser adecuado para evitar la contaminación del contenido del tanque (como el acero inoxidable).

Una de las consideraciones más importantes en el diseño y elección de un biorreactor es la agitación. Villadsen *et al.* (2011) establecen que esta es una de las razones principales por las cuales se obtiene menor eficiencia al escalar un proceso de fermentación. La instalación de agitadores como los de hélice marina o las turbinas Rushton, ayuda a mantener una concentración homogénea de microorganismos en el medio. Esto favorece altas velocidades de fermentación. Otra técnica utilizada para la homogenización de los microorganismos es la recirculación. Durante fermentaciones

como las alcohólicas, las levaduras tienden a sedimentar al fondo del tanque, restringiendo su acceso a la glucosa en las partes superiores del reactor. Al recircularlas a la parte superior del líquido, su concentración en el reactor se homogeniza, mejorando la velocidad de la fermentación. La turbulencia generada por el bombeo también favorece el proceso de mezclado (Scragg, 2009; Villadsen *et al.*, 2011).

5.16 Equilibrio vapor-líquido y destilación

La destilación es una operación de transferencia de masa en la cual se separa uno o más líquidos volátiles de una mezcla, debido a las diferencias de sus puntos de ebullición. Esto se logra a través de la adición de calor a la mezcla que se desea separar, causando la evaporación de los compuestos. El componente con menor punto de ebullición (ligero) estará más concentrado en la parte superior de la torre; y el de menor punto de ebullición (pesado), en la inferior. Generalmente, las operaciones de destilación requieren varias etapas para lograr la separación deseada. Esto se debe a las relaciones molares entre un vapor y un líquido cuando están en el equilibrio. Si se considera la evaporación de 1 mol de una mezcla binaria, el vapor generado siempre tendrá una combinación de y_A^* moles del compuesto ligero y y_B^* moles del compuesto pesado. Es prácticamente imposible obtener un vapor que esté compuesto únicamente por la sustancia *A*. Con cada etapa que se agrega, la separación sucede nuevamente, generando un vapor cada vez más rico en el compuesto ligero (*A*) (Treybal, 1988).

El equilibrio vapor-líquido (EVL) de los compuestos en una mezcla suele representarse con diagramas de composición. Existen varios métodos para obtener las fracciones molares de un sistema EVL, como el de Wilson, NRTL y UNIQUAC. En la Figura 16, se muestra el diagrama de composición del sistema etanol-agua a una presión de 85 kPa (presión aproximada según la altitud de la empresa en donde se produce la harina de maíz de este trabajo), calculado con el método de Wilson. Las composiciones se leen sobre la curva superior. Cada punto sobre la curva de equilibrio corresponde a una temperatura distinta (Smith *et al.*, 2020; Treybal, 1988).

Si se evapora una mezcla de etanol-agua cuya fracción molar de etanol es 0.40, el vapor generado tendría una fracción de etanol de 0.62. Esto se representa en el punto P, y

corresponde a una temperatura de 76.02 °C. La diagonal inferior tiene una pendiente de 1, en donde $x = y^*$. Cuando la curva de equilibrio toca la diagonal, se obtiene un azeótropo. Esta es una mezcla que genera un vapor con la misma concentración que la del líquido. Como se muestra en el punto A, cuando la fracción molar del etanol es de 0.90, el vapor generado también contiene etanol al 0.90. A partir de este punto, la separación es imposible, puesto que no habrá un cambio de composiciones en el líquido ni en el vapor (Smith *et al.*, 2020; Treybal, 1988).



Figura 16. Diagrama de composición molar del sistema etanol-agua a 85 kPa.

Fuente: Elaboración propia

5.17 Equipo para la destilación discontinua

En las grandes industrias, la destilación se lleva a cabo en columnas o torres de alturas considerables. Estas tienden a operar de forma continua y estacionaria, por lo que los flujos y composiciones de entrada y salida se mantienen constantes en el tiempo. En procesos de menor escala, como en una planta piloto, comúnmente se recurre a la destilación discontinua o por lotes. Los equipos más comunes que operan de esta forma se les conoce como alambiques, y son utilizados para la destilación de bebidas alcohólicas.

En la destilación discontinua sencilla, se alimenta al hervidor del equipo una cantidad conocida de la mezcla a separar (H_i) cuya composición del componente volátil es $x_{p, i}$. La mezcla inicial es calentada – generalmente con vapor – y se evapora con una cantidad de calor Q_R . Cuando la destilación ha terminado, se obtiene un destilado (D) rico en el componente ligero, de composición x_D . El vapor destilado se introduce a un condensador, en donde se condensa y se enfría al remover una cantidad de calor Q_C . En el hervidor queda una mezcla H_f pobre en el componente ligero, con una fracción $x_{p, f}$. Como se ha mencionado anteriormente, la destilación requiere de varias etapas para alcanzar el valor de x_D requerido. La destilación discontinua sencilla es poco eficiente, puesto que sólo se produce una etapa de evaporación. En consecuencia, el vapor no puede continuar enriqueciéndose en el componente ligero al no existir etapas subsiguientes (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007; Treybal, 1988; Van Winkle, 1967).

Para tener un mejor control sobre la concentración del destilado en una destilación discontinua, se puede agregar una columna rectificadora encima del hervidor. Esta columna puede contener platos o empaques que aumentan la cantidad de etapas disponibles para el enriquecimiento del vapor. También es necesario agregar un sistema de reflujo en la parte superior de la columna. El líquido que se retorna a la columna absorbe parte del componente pesado, pero dejando pasar al ligero. A esta parte de la columna se le conoce como la sección de enriquecimiento (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007; Treybal, 1988). A continuación, se muestra un esquema de uno de estos sistemas:

Figura 17. Esquema de un destilador discontinuo con columna rectificadora y reflujo



Fuente: Perry y Green (2008), traducida al español

Se acostumbra a describir el reflujo como una relación de flujos, denotada con la letra R. Esta tasa es la relación entre el flujo de condensado que se regresa a la columna (L) y el flujo de destilado (D). Si la relación de reflujo es igual a 2, entonces el flujo retornado es 2 veces mayor al que se obtiene como producto destilado. La suma del flujo retornado y el destilado es igual al flujo total de vapor producido dentro de la columna (V).

Los sistemas de destilación discontinua con reflujo se pueden operar de dos formas distintas: Fijando la tasa de reflujo, o variándola con el tiempo. Cuando la tasa de reflujo es constante, la composición del destilado varía con el tiempo, siendo mayor al iniciar la destilación y menor conforme avanza. La composición final del componente ligero en el destilado será un valor promedio entre la obtenida al inicia la destilación y al finalizarla. En cambio, si se desea mantener la composición del destilado constante, se debe manejar una tasa de reflujo variable. Conforme la composición del componente ligero en el hervidor disminuye, el vapor generado es cada vez menos rico en él. Para alcanzar el mismo grado de pureza se debe absorber una mayor cantidad del componente menos volátil, lo cual se hace con mayor reflujo (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007).

Los cálculos de destiladores discontinuos con reflujo variable se deben hacer con diagramas de McCabe-Thiele. En la Figura 18 se muestra un ejemplo de un diagrama aplicado a este tipo de sistema. En la figura, las líneas rectas L-1, L-2 y L-3 se les conoce como líneas de operación. La relación entre el intercepto y la pendiente de cada línea se explica con la Ecuación 21. La línea L-1 corresponde a una tasa de reflujo más baja. Con el paso del tiempo, la tasa se aumenta, formando una nueva línea de operación L-2 con una pendiente más pronunciada. Lo mismo sucede cuando se vuelve a aumentar y se obtiene L-3 (Perry y Green, 2008).

El número de etapas se puede determinar trazando escalones entre la línea de operación y la curva de equilibrio. En la línea L-1, se trazan 3 escalones completos hasta alcanzar una composición en el hervidor de x_{P1} . Dado que la columna mantiene la misma geometría y características, las etapas en todas las líneas de operación serán 3. Como se muestra, la concentración del componente más volátil en el hervidor (x_P) disminuye con cada línea de operación que se traza. Esto indica que, en la práctica, la composición en el hervidor es la propiedad que indica cuándo se debe aumentar el reflujo. Afortunadamente, la composición se puede monitorear con la temperatura del hervidor, puesto que ambos parámetros están relacionados entre sí (Perry y Green, 2008; McCabe *et al.*, 2007).

Figura 18. Diagrama McCabe-Thiele para un sistema con reflujo variable



Fuente: Perry y Green (2008)

Para dimensionar un sistema de destilación discontinuo de este tipo, es importante primero establecer el balance de materia global y el del componente ligero:

Ecuación 18
$$H_i = D + H_f$$

Ecuación 19
$$x_{p,i} H_i = x_D \cdot D + x_{p,f} \cdot H_f$$

Como se ha explicado anteriormente, la tasa de reflujo se define así:

Ecuación 20
$$R = \frac{L}{D}$$

Las líneas de operación se relacionan con la tasa de reflujo debido a que se describan con rectas de este tipo:

Ecuación 21
$$y(x) = \frac{R}{R+1} \cdot x + \frac{x_D}{R+1} = \frac{L}{V} \cdot x + \frac{x_D}{R+1}$$

La ecuación anterior explica el comportamiento de las líneas de operación con relación a los cambios de la tasa de reflujo. Al haber un aumento de R, el valor de R/R+1se hace más grande, por lo que la pendiente es más pronunciada. Por otro lado, $x_D/R+1$ se hace más pequeño, causando que el intercepto en el eje de las ordenadas tenga un valor menor.

Para estimar el tiempo necesario para completar la destilación (θ), es necesario hacer varias iteraciones de *R*, determinando en cada una el valor de *L/V* y de *x_P*. Si el valor de *V* es constante durante toda la destilación, entonces la ecuación para calcular el tiempo es la siguiente:

Ecuación 22
$$\theta = \frac{H_i \cdot (x_D - x_{p,i})}{V} \cdot \int_{x_{p,f}}^{x_{p,i}} \frac{dx_p}{\left(1 - \frac{L}{V}\right) \cdot (x_D - x_p)^2}$$

El calor agregado al hervidor (Q_R) y el removido en el condensador (Q_C) se determinan mediante balances de energía similares a los de la Ecuación 8. Para el hervidor, el requerimiento de vapor incluye el calentamiento de la mezcla inicial a su temperatura de ebullición (T_B) , más el calor requerido para evaporarla durante el tiempo total de destilación. En el condensador, se toma en cuenta el calor necesario únicamente para condensar el vapor. Los balances son los siguientes:

Ecuación 23
$$Q_R = H_i \cdot C_{p,Hi} \cdot (T_B - T_o) + \theta \cdot V \cdot \lambda_{vap,Hi}$$

Ecuación 24
$$Q_{c} = -\theta \cdot V \cdot \left[C_{p,V} \cdot (T_{burb} - T_{rocio}) + \lambda_{c,rocio}\right]$$

Donde $\lambda_{vap,Hi}$ es el calor latente de vaporización de la mezcla de alimentación; $C_{p,V}$, el calor específico del destilado condensado; y $\lambda_{c,rocio}$, el calor latente de condensación del vapor que sale de la columna en el punto de rocío. Las temperaturas T_{rocio} y T_{burb} son las del punto de rocío y burbuja de la mezcla etanol-agua con composición x_D .

5.18 Evaluación económica de los equipos de la planta piloto

La decisión que se toma sobre cualquier proyecto debe ser respaldada por una evaluación económica. En el diseño de procesos industriales o la implementación de proyectos de gran escala, esto es sumamente importante, ya que con la evaluación económica se puede determinar su rentabilidad. Aun cuando se trata de una planta piloto, se espera que eventualmente presente un beneficio para la entidad interesada. En el caso de este trabajo, los beneficios se manifiestan como utilidades debido a ventas del etanol producido y el ahorro del costo incurrido por descartar la harina (Blank y Tarquin, 2012; Towler y Sinnot, 2008).

Uno de los indicadores comunes que se utilizan para evaluar la rentabilidad de un proyecto es la Tasa Interna de Retorno (TIR). Como cualquier tasa de interés en la ingeniería económica, la TIR es el porcentaje de ganancia que se percibe una vez ha pasado un tiempo establecido desde la implementación del proyecto. Matemáticamente la TIR se explica como la tasa que hace que el valor de la inversión inicial (P) sea igual a cero después de que han transcurrido n períodos. Para cada período, hay un flujo de efectivo (F) que ingresa como beneficio del proyecto (Blank y Tarquin, 2012). La ecuación con la que se determina la TIR es:

Ecuación 25
$$-P + \sum_{i=1}^{n} \frac{F}{(1+TIR)^{n}} = 0$$

Para efectos de este estudio, el valor de P es el costo de adquisición total de los equipos dimensionados para la planta piloto de bioetanol. Los valores de F son los beneficios que se espera obtener en cada año que, como ya se mencionó, comprenden las utilidades por venta del bioetanol y el ahorro por no descartar la harina.

Una vez se ha calculado la TIR, se compara con otra tasa de interés denominada Tasa Mínima Atractiva de Rendimiento (TMAR). Esta es la tasa de rendimiento mínima que la entidad interesada en el proyecto desea obtener en un determinado tiempo por implementar el proyecto. Por lo tanto, su valor depende de la estrategia de la empresa y sus proyecciones de crecimiento. En el caso que la TIR sea mayor o igual a la TMAR (TIR \geq TMAR), se considera que el proyecto es rentable (Blank y Tarquin, 2012). Otro indicador de alta importancia para la evaluación económica de un proyecto es el período de recuperación de la inversión (NPER). A diferencia de la TIR, su significado es más simple. El NPER establece la cantidad de períodos – generalmente años – que deben transcurrir para que se recupere el dinero desembolsado para poner en marcha el proyecto (o inversión inicial, *P*). Existen dos métodos para calcular este indicador: Simple (i = 0%), y descontado (i > 0%) (Blank y Tarquin, 2012).

En el primer método – el simple – no se considera el cambio del valor del dinero con el tiempo, por lo que el NPER calculado es el necesario para recuperar exactamente el valor de P. En el descontado, se establece una tasa de rendimiento deseada para el proyecto, por lo que el NPER debe cubrir tanto la inversión inicial como la ganancia por el rendimiento (Blank y Tarquin, 2012). Si se estima que los flujos de caja (F) de cada período son iguales siempre, el método simple es:

Ecuación 26
$$NPER = \frac{P}{F}$$

En el caso del método descontado, la ecuación para su cálculo es:

Ecuación 27
$$0 = -P + F \frac{(1+i)^{NPER} - 1}{i(1+i)^{NPER}}$$

Al igual que la comparación de la TIR con la TMAR, el período de recuperación de la inversión se debe comparar con los deseos del interesado en el proyecto. Por ejemplo, si se considera que el proyecto se debe pagar en no más de 5 años, y al estimar NPER se obtiene un valor mayor a 5, entonces el proyecto no se considera rentable.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Determinación de humedad de la harina

Se utilizó una termobalanza OHaus MB120 para la cuantificación del contenido de humedad de la harina en base húmeda.

- Pesar 10.0 g de harina sobre el plato de la termobalanza y cerrar la tapa del equipo. Se somete a una temperatura de 126 °C durante un tiempo de 8:00 minutos.

- Los valores de humedad como porcentajes másicos son reportados automáticamente por la termobalanza en la pantalla.

- Todos los valores de humedad reportados en este trabajo son en base húmeda.

6.2 Análisis granulométrico

Se utilizaron tamices ASTM con números de malla de 20, 35, 40, 50, 60 y 70 y se colocaron en este orden, de modo que la malla superior era la No. 20.

- Colocar dos arandelas de plástico en las mallas No. 35 y 40 para facilitar el tamizaje.

Con una balanza analítica (se utilizó una OHaus AG204), pesar entre 100.0 y
 100.1 g de la harina de maíz de rechazo, y posteriormente colocarlos dentro de la malla
 No.

53

- El sistema de mallas se somete a un tamizaje constante durante 5 minutos.

- Una vez transcurrido este tiempo, se debe pesar y anotar el contenido de harina en cada una de las mallas, asegurando de tarar la balanza antes de cada medición.

6.3 Viscoamilografía de suspensiones de harina

Se utilizó el Rapid Visco Analyzer 4500 (RVA 4500) de Perten Instruments para hacer el análisis viscoamilográfico de suspensiones de la harina en agua y en agua ácida. En ambos casos, las proporciones utilizadas fueron tales para tener una suspensión al 25% (m/m) de harina seca.

- Para hacer la suspensión en agua, se mezcla en la celda viscoamilográfica 20.0 g de agua con 8.0 gramos de harina (humedad de 12.5%).

- Para la corrida con agua ácida, se prepara 50 mL de una solución al 9% en masa de ácido sulfúrico, mezclando 2.5 mL de ácido al 96% en 45 mL de agua. La suspensión se forma mezclando 20.0 g de la solución ácida con 8.0 gramos de la harina.

- Se selecciona el método de harinas de maíz del equipo, y se ingresa las masas de líquido y de harina en el equipo.

- Se debe asegurar el agitador dentro de la celda, y luego dejar correr el equipo por 13 minutos.

- Para ambos casos, se obtiene una gráfica de viscosidad, temperatura y velocidad de agitación en función del tiempo.

6.4 Cuantificación de glucosa inicial en la harina

- Pesar entre 2.00 y 2.08 gramos de harina en una balanza analítica (se utilizó una OHaus PX3202/E).

- Esta harina se agrega dentro de un balón de 100 mL, junto con un agitador magnético pequeño.

- El balón se afora a la marca con agua destilada, y se agita por 10 minutos utilizando una estufa con agitación.

- Una vez pasados los 10 minutos, se debe tomar una muestra con un gotero, y se introduce en la placa de muestras del analizador YSI 2900D. Se selecciona el método de sacarosa, y se inicia la corrida.

- El valor mostrado por el equipo se corrige utilizando la Ecuación 1, y se corrige adicionalmente por el volumen del balón.

- Finalmente, la cantidad de glucosa se divide dentro de la masa de harina para calcular su contenido en base húmeda.

6.5 Hidrólisis enzimática

6.5.1 Gelatinización de suspensión de harina

Se realizaron tres corridas de hidrólisis enzimática con suspensiones de harina con concentraciones entre 10% y 12% en masa.

- Para esto, se pesa entre 31.0 y 37.5 g de la harina de maíz (con humedad de 10.30%), y se suspenden en 250 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 500 mL.

- Antes de iniciar las reacciones enzimáticas, se debe llevar a cabo la gelatinización de la suspensión de harina en agua. Esto se logra calentando la suspensión en una estufa con agitador magnético, permitiendo que la temperatura alcance cerca de 75 °C.

- Cuando la temperatura se acerca a este valor, se observa un aumento súbito de la viscosidad de la suspensión, causando el estancamiento del agitador. En este punto, la velocidad de agitación se debe aumentar hasta superar el estancamiento.

- Se permite que la temperatura suba hasta 90-95 °C, y se debe mantener en este rango por 1 hora.

- Con una piseta, agregar pequeñas cantidades de agua destilada periódicamente para reponer las pérdidas por evaporación.

- Cuando transcurra la hora, el matraz con la suspensión se debe enfriar sumergiéndolo en una cubeta con agua.

6.5.2 Licuefacción

La licuefacción se hizo con α -amilasa de Aspergillus oryzae (actividad de 35.9 U/mg), adquirida de Merck. Para la primera corrida, se tomó como referencia la cantidad recomendada por Naidu et al. (2007). En la segunda, se utilizó el doble; y en la tercera, el triple. Las cantidades utilizadas en miligramos, en orden, fueron: 33.7, 84.1, 103.6.

- La suspensión gelatinizada de harina se acidifica con una solución de HCl al 1.5 M, hasta llegar a un pH de 5.5 (medido con un potenciómetro Ionode IJ44C).

- La suspensión se lleva a una temperatura de 45 °C utilizando la estufa.

- La α -amilasa se disuelve en 5 mL de agua destilada, y se agrega a la suspensión.

- Se permite reaccionar, con agitación lenta, por 3 horas.
6.5.3 Sacarificación

Para esta reacción se utilizó glucoamilasa de Aspergillus niger (actividad promedio de 45 U/mg de proteína, composición de 80% de proteína en masa), adquirida de Merck. El valor de referencia se volvió a tomar del estudio de Naidu et al. (2007). Las cantidades utilizadas en las tres corridas, en miligramos, fueron: 0.4, 1.3 y 0.6.

- Al terminar la licuefacción, la suspensión se debe acidificar nuevamente con una solución HCl 1.5 M, hasta alcanzar un pH de 4.5. La temperatura para esta reacción es de 55 °C.

- Al igual que en la licuefacción, las enzimas se disuelven en 5 mL de agua destilada y luego se agregan al medio.

- Se deja reaccionar durante otras 3 horas.

- Una vez transcurrido el tiempo, se toma una muestra de la suspensión con un gotero, y se mide directamente su contenido de glucosa en el equipo YSI 2900D. El valor mostrado por el equipo se transforma con la Ecuación 1, pero no requiere corrección de volumen, debido a que no hay una dilución.

6.6 Hidrólisis ácida

6.6.1 Determinación de parámetros de la hidrólisis (temperatura y tiempo de reacción)

Para cada corrida, se preparó 100 mL de una solución de ácido sulfúrico al 5% v/v en un matraz Erlenmeyer de 250 mL (equivalente a un porcentaje en masa de 9%). La concentración de ácido se basa en los experimentos de Chavan et al. (2015).

- A esta solución se le agrega aproximadamente entre 2.00 y 2.01 gramos de la harina de maíz, y se agita a manera de homogenizar la suspensión.

- Los matraces se introducen en un baño térmico con agitación constante. Las temperaturas de reacción son de 90 y 95 °C, y tiempos de reacción de entre 15 a 135 minutos.

- En cada corrida, se aumenta el tiempo de reacción por 15 minutos.

- Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se toma una alícuota de 25.00 mL de la suspensión hidrolizada, y se transfiere a un matraz de 50.00 mL.

- Se debe neutralizar la mayoría del ácido agregando 5.0 mL de una solución 5.0 N de hidróxido de sodio (NaOH). No es necesario neutralizar la totalidad del ácido, puesto que el analizador enzimático YSI contiene una solución amortiguadora que regula el pH durante la lectura.

- El matraz se afora a la marca utilizando agua destilada y se agita para homogenizar la solución.

- La muestra se introduce al analizador YSI, y se selecciona una lectura de sacarosa.

- Nuevamente, la concentración se corrige a glucosa con la Ecuación 1, y por el volumen de la alícuota y del matraz.

- Usando Excel u otro software, se genera una gráfica para comparar la concentración de glucosa obtenida en función de la temperatura y el tiempo de reacción.

6.6.2 Determinación de parámetros de la hidrólisis (concentración de harina)

El procedimiento para esta determinación es muy similar a la de la sección 6.6.1. Los cambios con respecto a dicha sección se mencionan a continuación.

- Se varía la cantidad de harina utilizada (desde 21.2 hasta 40.5 gramos). Esto se hizo para obtener concentraciones distintas de harina seca en la mezcla (desde 13.5% hasta 26.1%).

- Para cada corrida, la temperatura se fija en 95 °C, y todas se dejan reaccionar por 120 minutos.

- La alícuota tomada al finalizar la reacción es de 5.00 mL, y se afora en un balón volumétrico de 100.00 mL.

- La solución resultante se ingresa al equipo YSI. La concentración de glucosa se obtiene con la Ecuación 1, y se corrige por la dilución.

6.6.3 Hidrólisis de suspensiones para fermentación

- Se preparan 200 mL de solución de ácido sulfúrico al 9% en masa y se agrega a un matraz Erlenmeyer de 500 mL, junto con un agitador magnético.

- Se agrega harina de maíz a modo de obtener una mezcla al 25% en masa de harina seca. Dependiendo de la humedad de la harina, la cantidad de harina se varía entre 78 y 85 gramos.

- La mezcla es homogenizada con el agitador magnético y se introduce un termómetro de mercurio.

- Se adiciona calor con la estufa hasta alcanzar una temperatura de 95 °C.

- Una vez alcanzada esta temperatura, se debe permitir que la mezcla reaccione por 120 minutos. La temperatura se debe regular de tal forma que se mantenga cercana a 95 °C.

- Se debe agregar pequeñas cantidades de agua destilada de forma periódica para mantener el volumen de la mezcla constante (debido a las pérdidas por evaporación).

- Al terminar la reacción, el matraz se debe quitar de la estufa y se sumerge en una cubeta para enfriar la mezcla hasta una temperatura de entre 35 a 40 °C.

- La suspensión se recolecta en tubos de centrifugación desinfectados de 50 mL, y se someten a una centrifugación por 10 minutos a 4,000 RPM.

- Se debe anotar el peso de un matraz Erlenmeyer nuevo y desinfectado de 500 mL, junto con un agitador magnético. El sobrenadante se transfiere a este matraz.

6.7 Fermentación

6.7.1 Preparación del medio de fermentación

Todo equipo y cristalería que se utiliza de aquí en adelante se debe desinfectar previamente (se utilizó una solución al 70% de alcohol etílico). Luego de ser desinfectados, se lavan con agua destilada para eliminar las gotas de solución de alcohol etílico restantes.

- El sobrenadante obtenido de la centrifugación en la sección 6.6.3 se diluye con 150 mL de agua destilada.

- Esto se neutraliza con una solución de NaOH 5 M hasta alcanzar un pH de 4.1-4.4. Para esto, se utilizan aproximadamente entre 41 y 43 mL de la solución de NaOH.

- Seguido de esto, se prepara el mosto de fermentación mediante la adición de nutrientes. Para esto, se debe pesar la cantidad suficiente de sulfato de amonio [(NH4)2SO4] para que la concentración de nitrógeno en la solución sea de 300 ppm (mg/kg), el valor recomendado por Naidu et al. (2007).

- Dependiendo de la masa de la solución, la cantidad de sulfato de amonio agregada puede variar entre 0.50 y 0.65 g.

- Adicionalmente, se pesan aproximadamente 0.06-0.07 g de fosfato dipotásico (K2HPO4), para obtener una concentración de 30 ppm de fósforo.

- En la fermentación No. 5, se utilizó 0.10 g de fosfato dibásico de amonio [(NH4)2HPO4], sustituyendo tanto el sulfato de amonio como el fosfato dipotásico.

- La solución se agita con el agitador magnético para disolver las sales agregadas.

- Se toma una alícuota de 5.00 mL de la solución, y luego se afora a 100 mL con agua destilada en un balón volumétrico.

- Se mide y se corrige la concentración de glucosa de la solución aforada para obtener la concentración inicial de glucosa en el mosto a fermentar.

6.7.2 Activación de levadura

Las cantidades de levadura a utilizar se tomaron nuevamente del estudio hecho por Naidu et al. (2007), donde se recomienda utilizar 0.002 g de levadura / kg de harina seca.

- En un beaker seco de 100 mL, se pesa alrededor 0.15 g de levadura Lalvin V1116 (K1).

- En la corrida 4, se utilizó el doble (0.30 g) de levadura para evaluar si había efecto sobre la fermentación.

- A la levadura seca se le adiciona cerca de 10 mL de agua purificada sin cloro con un 2% (m/m) de azúcar de mesa a 35-37 °C. Esto se agita suavemente, y se permite la hidratación por 20 minutos para la activación de la levadura.

6.7.3 Lectura de gravedad específica

- La gravedad específica del mosto se mide con un densímetro (se utilizó uno marca Soligt con rango de medición de 0.980 a 1.160). La probeta del kit del densímetro se llena aproximadamente en un 75% con el mosto.

- El densímetro se introduce cuidadosamente, y se hace rotar para eliminar burbujas de dióxido de carbono. Una vez se detiene, se debe leer por debajo del menisco la lectura de gravedad específica.

- Se debe verificar que la temperatura del mosto esté cerca de 25 °C. Al valor anotado se le suma 0.002 para corregir por la temperatura, según el manual del densímetro. Si la temperatura es significativamente distinta, se debe corregir con el factor apropiado proporcionado en el manual.

6.7.4 Inicio de la fermentación

- Pasados los 20 minutos, la levadura activada se transfiere al mosto.

- El matraz se sella con un tapón de hule con mangueras integradas. Las puntas de las mangueras se sumergen en un beaker de 1000 mL lleno de agua, el cual funciona como trampa de gas.

- Se permite la fermentación por alrededor de 120 horas, con una agitación suave y constante.

6.8.1 Densímetro

- Después de las 120 horas de fermentación, se debe aumentar la velocidad de la agitación significativamente. Esto se hace para liberar rápidamente las burbujas de dióxido de carbono (CO2) restantes en el medio.

- El sistema se pesa y, por diferencia, se obtiene la masa final del líquido fermentado.

- Luego, la solución obtenida es trasvasada nuevamente a tubos de centrifugación de 50 mL.

- Estos se someten a centrifugación por 10 minutos a 4,000 RPM para sedimentar la levadura suspendida.

- La probeta del kit del densímetro se llena al 75% con la solución fermentada.

- La lectura de gravedad específica se obtiene de la misma forma que en el inciso G.c. Si se observan burbujas pequeñas en el líquido, se debe volver a rotar el densímetro hasta removerlas todas.

- El porcentaje de etanol se calcula con la Ecuación 4.

6.8.2 Método Dujardin-Salleron

Las corridas de fermentación 3, 4 y 5 se analizaron tanto con el densímetro, como con el método Dujardin-Salleron. En cada corrida, se tomó una muestra de 200 mL de la solución fermentada, medidos con un balón volumétrico.

- Estos 200 mL se transfieren al recipiente de evaporación del sistema.

- Luego, se agregan 190 mL de agua destilada y el recipiente se coloca sobre un mechero y se sella.

- Se enciende el mechero para proveer una llama suave a la parte inferior del evaporador.

- En la salida de la manguera del condensador, se coloca un balón volumétrico de 200 mL.

- Se permite la destilación de la solución hasta que el nivel en el balón receptor se acerque a la marca de aforo. Este se retira y se afora con agua destilada.

- El contenido del balón se transfiere a una probeta y se introduce en un alcoholímetro con rango de 0% a 10%. Se hace girar el alcoholímetro, y cuando se detiene, se lee el porcentaje de alcohol en su escala.

- La temperatura del destilado se lee y se corrige el porcentaje de alcohol con las tablas Gay Lussac. Este valor corregido indica el porcentaje de etanol en la solución inicial.

Reactivo	Fórmula	Pureza	Marca	Otras propiedades	Etapa
Hidróxido de sodio	NaOH	Grado analítico	Merck	-	6.6.1 6.7.1
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	98% (m/m)	Emsure	-	6.3 6.6
Ácido clorhídrico	HCl	36% (m/m)	Emsure	-	6.5.2 6.5.3
Sulfato de amonio	(NH ₄) ₂ SO ₄	Grado analítico	Merck	-	6.7.1
Fosfato dipotásico	K ₂ HPO ₄	Grado analítico	Merck	-	6.7.1
Fosfato dibásico de amonio	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Grado analítico	Merck	-	6.7.1
Levadura Saccharomyces cerevisiae	-	-	Lalvin	Levadura V1116 (K1)	6.7.2 6.7.4
α – amilasa de Aspergillus oryzae	-	Grado analítico	Merck	Actividad: 35.9 U/mg	6.5.2
Glucoamilasa de Aspergillus niger	-	Al menos 80% de proteína	Merck	Actividad: 45 U/mg de proteína	6.5.3

6.10 Listado de equipos utilizados

Los datos de placa de cada equipo se describen en la sección correspondiente de Anexos.

- Analizador bioquímico con módulo de sacarosa
- Analizador viscoamilográfico
- Termobalanza
- Balanza analítica
- Centrifugadora de laboratorio
- Potenciómetro de pH
- Estufa con agitador magnético

VII. RESULTADOS

Figura 19. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina, en función de la temperatura y el tiempo de reacción (a 85 kPa).



Nota: Las corridas a 90 °C se detuvieron en los 135 minutos porque la concentración de glucosa se acercó al valor máximo obtenido a 95 °C.

Figura 20. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina, en función de la proporción de harina seca en la mezcla (por 120 minutos a 95 °C y 85 kPa)



Nota: Los porcentajes adyacentes a los puntos indican la conversión de harina a glucosa. Las corridas se detuvieron en 26.1% de harina seca, al observar una disminución en la concentración de glucosa y la conversión de harina.

Tabla 1. Parámetros utilizados y concentraciones de glucosa obtenidas en la
hidrólisis enzimática de la harina (a 85 kPa).

Corrida No.	α-amilasa (mg/g harina seca)	Glucoamilasa (× 10 ⁻² mg/g harina seca)	Concentración de glucosa (C _G , m/v)	Conversión de harina a glucosa (m/m)
1	1.195	1.42	0.85%	5.44%
2	2.499	3.86	1.37%	7.82%
3	3.660	2.12	1.54%	10.90%
Promedio ± Desv.	Est.		1.28 ± 0.36 %	8.05 ± 2.73%

Método	ABV (a 20 °C)	Rendimiento de fermentación (R _E)	Rendimiento de bioetanol (<i>R_B</i> , mL/kg harina seca)
Densímetro	2.86 ± 0.25 %	54.5 ± 2.8 %	147.9 ± 9.5
Dujardin-Salleron	2.43 ± 0.32 %	$48.8\pm7.4~\%$	129.5 ± 9.1
Promedio	2.65 ± 0.34 %	51.6 ± 9.6 %	138.7 ± 12.9

Tabla 2. Rendimientos y porcentajes de etanol promedio obtenido en fermentacionesa partir de corridas de hidrólisis ácida

Tabla 3. Análisis granulométrico promedio de harina de maíz de rechazo

No. Malla ASTM	Tamaño de partícula (µm)	Fracción másica de harina retenida
20	850	15.80%
35	500	31.28%
40	425	44.87 %
50	297	5.17%
60	250	0.11%
70	210	0.18%
< 70	< 210	0.80%
Tamaño promedio ± Desv. Est.	497 ± 19	

Figura 21. Distribución acumulativa de tamaños de partícula de la harina de maíz de rechazo



Tabla 4. Contenido de glucosa y humedad promedio de la harina de maíz derechazo (en base húmeda)

Análisis	Contenido (m/m)	Desviación estándar (m/m)	Coeficiente de variación
Glucosa	1.33%	$\pm 0.23\%$	17.3%
Humedad	10.65%	$\pm 1.02\%$	9.6%

Nota: Los contenidos de humedad y glucosa de cada corrida se muestran en Anexos, Datos Originales y

Calculados, Tablas 26 y 35 respectivamente.



Figura 22. Perfil viscoamilográfico de una mezcla al 25% en masa de harina seca en agua destilada

Figura 23. Perfil viscoamilográfico de una mezcla al 25% en masa de harina seca en una solución al 9% en masa de H_2SO_4 .



Tabla 5. Listado de equipos propuestos, sus características y requerimientos (paralotes de 750 kg de harina y presión atmosférica de 85 kPa)

Equipos primarios y auxiliares (Código) [*]	Características y requerimientos
Tanque de hidrólisis (H-1)	 Material: SS316 interior / SS304 exterior Capacidad nominal: 2,650 L (700 gal) Diámetro x Altura: 1.47 x 1.63 m Sin tapadera, con soporte para agitador. Fondo semiesférico Chaqueta convencional Flujos de vapor: Calentamiento: 180 kg/h Reposición de pérdidas de calor: 25.9 kg/h Unión hembra de 2" en el fondo y 1" en el cuerpo del tanque. Tiempo de sedimentación de harina de 79 minutos
Agitador de ancla (H-2)	 Material: SS316 Diámetro x Altura: 1.40 x 1.40 m Velocidad de agitación: 50 RPM
Motor de agitador con caja reductora (H-3)	- Potencia: 3 hp
Bomba centrífuga para solución ácida (H-4)	Potencia: 1 hpMaterial: SS316
Fermentador (F-1)	 Material: SS316 interior / SS304 exterior Capacidad nominal: 4,732 L (1,250 gal) Diámetro x Altura: 1.73 x 2.11 m Tapadera cónica soldada, con entrada de 12" Fondo cónico de 45° Unión hembra de 1" en el fondo y en el cuerpo
Bomba de impulsor flexible	- Potencia: 2 hp
(F-2) Bomba centrífuga para solución de NaOH (F-3)	 Material: SS316 Potencia: 1 hp Material: SS316
Alambique (D-1) Bomba centrífuga para agua de	 Material: Cobre y SS304 Capacidad: 2270 L (600 gal) Agitador incluido Número de platos: 4 Tasa de reflujo variable desde 3.5 hasta 13.2 Flujos de vapor: Calentamiento: 302.6 kg/h Destilación: 285.1 kg/h
enfriamiento (D-2)	- Potencia: 1 hp

Nomenclatura de códigos: H = Hidrólisis ácida F = Fermentación D = Destilación

*El diagrama de proceso, con sus equipos y códigos, se muestra en la Figura 30 en los Anexos.

Código	Equipos principales y auxiliares		Inversión [*]	
H-1	Tanque de hidrólisis ^[1]	Q.	88,978.37	
H-2	Agitador de ancla	Q.	30,000.00	
Н-3	Motor de agitador	Q.	3,060.00	
Н-3	Caja reductora	Q.	25,000.00	
H-4	Bomba centrífuga SS316	Q.	10,000.00	
F-1	Fermentadores ^[I] (3)	Q.	653,325.00	
F-2	Bomba de impulsor flexible ^[1]	Q.	22,436.25	
F-3	Bomba centrífuga SS316	Q.	10,000.00	
D-1	Alambique ^[1]	Q.	389,615.60	
D-2	Bomba centrífuga para agua	Q.	1,100.00	
N.A.	Fletes internacionales, internos y seguros	Q.	58,125.00	
N.A.	IVA de equipos importados	Q.	144,567.63	
N.A.	Instalación eléctrica ^{**}	Q.	14,444.84	
N.A.	Tuberías de vapor	Q.	65,103.33	
	Total	Q. 1	,515,756.02	

Tabla 6. Costos de inversión de los equipos propuestos

*Con una tasa de cambio de 7.75 GTQ/USD

** Se recomienda una instalación eléctrica trifásica de 240 VAC

^[I] Cotizado con empresas extranjeras

Recurso (unidades)	Co unit (Q/ur	sto ario* nidad)	Consumo	Cost	o total
Hidró	ólisis á	cida			
Agua (kg)	Q.	0.01	1,840.58	Q.	19.07
Ácido sulfúrico (kg)	Q.	4.65	173.37	Q.	806.16
Vapor (kg)	Q.	0.33	411.87	Q.	136.23
Energía para agitación (kWh)	Q.	1.01	8.95	Q.	9.04
Energía para bombeo (kWh)	Q.	1.01	0.37	Q.	0.38
Mano de obra ^{**} (horas-hombre)	Q.	18.78	6.00	Q.	112.68
			<u>Subtotal</u>	<u>Q. 1</u> ,	<u>083.55</u>
Fern	nentac	ión			
Agua (kg)	Q.	0.01	1,992.87	Q.	20.65
Hidróxido de sodio (kg, al 50%)	Q.	3.88	156.38	Q.	605.97
Fosfato de amonio (g)	Q. (0.0105	890.09	Q.	9.31
Levadura (g)	Q.	0.44	10.00	Q.	4.40
Energía para bombeo (kWh)	Q.	1.01	7.47	Q.	7.54
Mano de obra (horas-hombre)	Q.	18.78	3.00	Q.	56.34
			<u>Subtotal</u>	<u>Q</u> .	704.22
Destilación					
Agua de enfriamiento (kg)	Q.	0.01	4,118.47	Q.	42.67
Vapor (kg)	Q.	0.33	1,244.92	Q.	411.76
Energía para bombeo (kWh)	Q.	1.01	1.67	Q.	1.69
Mano de obra (horas-hombre)	Q.	18.78	6.00	Q.	112.68
			<u>Subtotal</u>	<u>Q</u> .	<u>568.80</u>
Costo total por lote				<u>Q. 2</u> ,	356.57
Costo por litro (86.58 L por lote)				Q.	27.22
Costo de envase por litro ^o				Q.	0.661
	<u>C</u>	Costo to	tal por litro	Q.	27.88

Tabla 7. Costos de producción de bioetanol al 89.4% en volumen (20 °C) por lote (sin IVA)

*Tasa de cambio de 7.75 GTQ/USD. Aproximados a la centésima más cercana.

** Con base en el salario mínimo del 2022, incluye prestaciones laborales.

◊ Costeado con base en un envase de 1 galón de polietileno, con tapa de polipropileno y etiqueta.

Indicador	Valor	
Lotes procesados por año (345 días)	234	
Bioetanol producido (89.4% v/v a 20°C)	20,260 L	
Rendimiento de bioetanol	115.5 mL bioetanol/kg harina seca	
Utilidades netas [*]	Q. 42,362.68	
Ahorros por no descartar la harina ^{**}	Q. 100,035.00	
Beneficio total	Q. 142,397.68	

Tabla 8. Productividad, rendimientos, utilidades y ahorros anuales de la plantapiloto de producción de bioetanol

*Después de impuestos y precio de venta de Q. 30.67/L sin IVA

**Considerando que cada kilogramo de harina descartado genera una pérdida de Q. 0.57. Esta pérdida ocurre debido a que la harina descartada se vende a un precio por debajo de su costo de producción.

Tabla 9. Indicadores financieros calculados para la adquisición de los equiposprimarios y auxiliares de la planta piloto de bioetanol

Indicador	Valor calculado	
TIR (a 15 años)	4.63%	
NPER $(i = 0\%)$	10.57 años	
NPER $(i = 5\%)$	15.65 años	

VIII. DISCUSIÓN

Las figuras y tablas mostradas en la sección de Resultados resumen las propiedades, parámetros y hallazgos obtenidos durante la experimentación y en el dimensionamiento de la planta piloto. El significado e implicaciones de cada uno de los resultados se explica a mayor detalle en esta sección. También se justifican las técnicas experimentales y de dimensionamiento utilizadas, así como el razonamiento y las suposiciones detrás de ellas.

8.1 Temperatura y tiempo de reacción de hidrólisis ácida

La Figura 19 de la sección de Resultados muestra las curvas obtenidas para la hidrólisis ácida de la harina de maíz en función del tiempo de reacción. Las pruebas se realizaron a dos temperaturas (90 y 95 °C). Aunque Bajpai (2013) y Wyman (2018) indican que las temperaturas de hidrólisis pueden superar los 100 °C, esto requiere de una presión superior a la atmosférica (mayor a 101.3 kPa). Dado que se utilizó un baño térmico para estas corridas, la elevación de la temperatura a valores cercanos de 100 °C causó la ebullición del agua del baño térmico y de la muestra. Por lo tanto, se evaluaron las temperaturas mencionadas con el objetivo de mantener el sistema por debajo de su punto de ebullición. La concentración de ácido sulfúrico fue del 9% en masa para ambos casos, siendo el valor sugerido por Chavan *et al.* (2015).

El objetivo de estas corridas de hidrólisis fue determinar la combinación de temperatura y tiempo de reacción que produjera la mayor cantidad posible de glucosa con las limitaciones del sistema mencionadas anteriormente. Por facilidad, la cantidad de harina utilizada fue relativamente poca (aproximadamente 2 gramos). Esto explica las concentraciones de glucosa bajas mostradas en la figura, las cuales difícilmente superaron el 1.50%.

Evidentemente, una temperatura de 95 °C favoreció la velocidad de la reacción de hidrólisis del almidón contenido en la harina. Esto se demuestra porque, en menos tiempo, se alcanzaron concentraciones de glucosa más elevadas en comparación a los 90 °C. Pasados 105 minutos, la concentración de glucosa obtenida a 90 °C fue de 1.60%, y de 1.68% a 95 °C. En la curva a 95 °C, se demuestra que la concentración tendió a un comportamiento asintótico a partir de los 75 minutos, indicando que se acercó a la cantidad máxima posible de glucosa. Por otro lado, la curva de las reacciones a 90 °C presentó un comportamiento lineal en todas las mediciones realizadas. Sin embargo, en la corrida de 135 minutos se obtuvo una concentración de glucosa cercana al valor máximo obtenido con 95 °C, por lo que se decidió no hacer más corridas.

A partir de estos datos, se decidió que la temperatura y los tiempos para las reacciones de hidrólisis ácida posteriores serían de 95 °C y 120 minutos. Adicional a la temperatura y el tiempo, también fue necesario determinar la proporción de harina/agua ácida que resultaría en la mayor producción de glucosa. Esto es especialmente importante cuando se trata de un proceso a una mayor escala, como una planta piloto. La optimización de estos parámetros permite la producción de la mayor cantidad posible de bioetanol por lote de harina procesada.

8.2 Fracción de harina para hidrólisis ácida

En la Figura 20, se muestran las corridas de hidrólisis ácida de la harina, pero en función del porcentaje de harina en la mezcla. También se muestra su grado de conversión a glucosa. La humedad de la harina es una propiedad variable, ya que depende del lote de maíz utilizado; y las condiciones ambientales, de almacenaje y del proceso con el que se obtiene la harina. Para representar adecuadamente la proporción de harina, los valores del eje de las abscisas se establecieron como porcentajes másicos de harina seca en la mezcla, a manera de eliminar el efecto de la humedad. Al aumentar la proporción de harina, la concentración de glucosa obtenida en la solución aumentó apreciablemente. El valor máximo obtenido fue de 18.3% (m/v) al tener una mezcla al 23.6% en masa de harina seca.

La gráfica demuestra que, cuando se utilizó una mezcla al 26.1% de harina seca en la mezcla, la concentración de glucosa obtenida fue menor en comparación a las corridas anteriores. Esto indica que la concentración máxima de glucosa que se puede obtener con este método se obtiene cuando la proporción de harina seca está entre un 23% y 26%. Al continuar aumentando la cantidad de harina, se esperaría que la cantidad de glucosa producida se reduzca.

Es posible que este comportamiento se deba a la viscosidad asociada con los aumentos de la cantidad de harina en la mezcla. Al haber una mayor cantidad de almidón presente, su gelatinización genera aumentos bruscos en la viscosidad. Si esta es excesiva, los procesos de difusión en la mezcla se podrían ver impedidos, causando una disminución en la velocidad de la reacción. Otro efecto de estos aumentos de viscosidad es la dificultad de la agitación. En el sistema utilizado (estufa con agitador magnético), vencer la viscosidad se volvió difícil al aumentar la cantidad de harina. Este fue un factor importante al considerar la selección del agitador para la planta piloto, como se explicará más adelante.

Con base en el rango de proporciones de harina seca mencionado anteriormente (23%-26%), se decidió que las futuras corridas de hidrólisis ácida se realizarían al 25% de harina seca. Aunque en el estudio hecho por Naidu *et al.* (2007) se realizó hidrólisis enzimática, también se determinó que una fracción de 25% provee los mejores resultados, el cual concuerda con el recomendado en este trabajo. En su estudio, la cantidad de glucosa producida se redujo al utilizar una proporción superior al 25%.

Por otro lado, los valores de conversión se mantuvieron en un rango de entre 40% y 58%. Un grado de conversión del 50% indica que, por cada gramo de harina, se obtuvo 0.5 g de glucosa. Considerando que el rango general del contenido de almidón del maíz (según el International Starch Institute) es del 59.9% y 64.8%, los grados de conversión obtenidos se acercan a la cantidad máxima de glucosa que se puede producir. Esto se debe a que no es posible generar más glucosa una vez todo el almidón se ha hidrolizado. En la última corrida (26.1% de harina seca), se observa que la conversión obtenida fue menor al resto, con un valor de 40.3%. Como ya se discutió, esto fue un indicador de la reducción en el rendimiento de la reacción debido al aumento de la cantidad de harina.

Ya se ha mencionado brevemente el efecto que podría tener la presión sobre los resultados de la hidrólisis. En el caso de esta experimentación, no fue posible trabajar a presiones superiores a la atmosférica del sitio (85 kPa). Sin embargo, convendría realizar experimentaciones a nivel laboratorio con presiones más altas. Por ejemplo, repetir las corridas realizadas en este trabajo en intervalos de 0.5 atmósferas (50.65 kPa), aumentando la presión en cada experimento. De esta forma, se esperaría que el tiempo de reacción o la cantidad de ácido sulfúrico necesarios para la hidrólisis sean menores.

8.3 Hidrólisis enzimática

Para comparar la efectividad del método de hidrólisis ácida con el enzimático, se realizaron tres corridas de hidrólisis enzimática. Nuevamente, se utilizó el estudio de Naidu *et al.* (2007) como referencia para esto, especialmente las cantidades de enzimas utilizadas. A diferencia de dicho estudio, la α-amilasa utilizada en este (de *Aspergillus oryzae*) no es termoestable, por lo que la temperatura de la licuefacción no podía ser elevada. Para que la enzima funcionara correctamente, el rango de temperatura debía ser entre los 40 y 57 °C, aproximadamente. Esto supone que la gelatinización del almidón debía llevarse a cabo antes de agregar las enzimas, puesto que la temperatura a la que ocurre esto supera el rango mencionado.

Como se explicará con mayor detalle más adelante, la viscosidad generada durante la gelatinización de las mezclas de harina con agua es significativamente mayor a la que se genera en las mezclas que contienen agua ácida. Si bien se ha determinado que una fracción del 25% de harina seca es lo más adecuado, se optó por utilizar una concentración menor – cercana a 10% – en estas corridas. Si se hubiera utilizado mezclas al 25%, la viscosidad generada habría resultado excesiva para el agitador magnético que se utilizó, impidiendo su movimiento.

Para hacer la gelatinización, la mezcla de harina y agua se calentó con agitación fuerte. Cuando la temperatura se acercó a los 80 °C, la consistencia de la mezcla se volvió considerablemente densa, semejante a un lodo pastoso. Aun estando al 10% de harina, la agitación a partir de este punto fue un reto para el agitador magnético. La velocidad de rotación se aumentó para que el agitador pudiera continuar operando sin estancarse. Para

asegurar un grado de gelatinización alto, la mezcla se dejó agitando a 95 °C por 1 hora. Una vez terminado, el recipiente se almacenó en un refrigerador para continuar posteriormente con la hidrólisis enzimática. Al enfriarse (a 4 °C), se observó que la consistencia de la mezcla era como la de una gelatina espesa. Al calentarse a temperatura ambiente, la mezcla retomó una consistencia líquida con viscosidad alta.

Para las reacciones de licuefacción, se ajustó el pH previamente a 5.5 con una solución de HCl al 1.5 M, y la temperatura a 45 °C. Aunque en el estudio de Naidu *et al.* (2007) se realizó la licuefacción por 90 minutos, se decidió realizarlas en un tiempo de 3 horas. Esto debido a las diferencias de temperaturas de operación de las enzimas entre su estudio y el presente. Se supuso que las α -amilasas utilizadas requerirían de más tiempo de reacción en comparación a las termoestables. Curiosamente, cuando se agregó la α -amilasa, se observó una disminución inmediata de la viscosidad de la mezcla. La agitación a partir de este punto no presentó problemas. Esto indicó que, efectivamente, la α -amilasa estaba licuando la mezcla mediante la hidrólisis de los enlaces α -1,4-glucosídicos del almidón.

Al terminar la licuefacción, la mezcla se ajustó a un pH de 4.5 y a una temperatura de 55 °C para iniciar la segunda reacción: La sacarificación. Se decidió darle una duración de 3 horas a esta reacción, al igual que la licuefacción. Esta difiere del estudio de Naidu *et al.* (2007), en el cual se realiza por 2 horas. No se observó cambios apreciables en la apariencia de la mezcla al agregar la glucoamilasa, ni durante la reacción.

En la Tabla 1 se muestran los porcentajes masa/volumen de glucosa que se obtuvo en las tres corridas de hidrólisis enzimática, así como los grados de conversión de harina a glucosa. Evidentemente, los valores obtenidos no son semejantes a los que se obtuvo en la hidrólisis ácida. En la corrida 1, las cantidades de α -amilasa y glucoamilasa utilizadas fueron los valores recomendados por Naidu *et al.* (2007). Para la primera, la cantidad fue de 42.8 U/g de harina seca y para la segunda, 0.6 U/g de harina seca. El pesaje de la glucoamilasa resultó ser difícil, ya que las cantidades requeridas eran de alrededor de 1 mg o menos. Esto corresponde al último dígito de la balanza analítica utilizada, por lo que no siempre fue posible pesar el valor exacto que se deseaba. Al observar que en la primera corrida se obtuvo tan solo una conversión del 5.44% de harina, se decidió utilizar múltiplos de los valores recomendados de cantidad de enzimas. Se supuso que esto se debió eminentemente a la diferencia entre las temperaturas de operación de la α -amilasa utilizada y la termoestable utilizada por Naidu *et al.* (2007). Para intentar superar esto, en la corrida 2, se utilizó el doble de la cantidad de α -amilasa y un poco más del doble de glucoamilasa en comparación a la primera. Aunque se observó un aumento en la conversión de harina (7.82%), aún no se acercó a las obtenidas en la hidrólisis ácida. Para la tercera corrida, la cantidad de α -amilasa se aumentó al triple de la cantidad recomendada, y la de glucoamilasa se redujo a 1.5 veces la recomendada. Finalmente, la conversión a glucosa obtenida fue casi el doble de la de la primera corrida (10.90%). Sin embargo, este valor sigue siendo muy bajo como para justificar las corridas de hidrólisis enzimática con el procedimiento utilizado.

Es prudente suponer que la baja efectividad de las reacciones de hidrólisis enzimática realizadas se deba a la α -amilasa utilizada en este trabajo. Es posible que las termoestables, como las provenientes de *Bacillus licheniformis*, sean más efectivas gracias al efecto de las temperaturas altas en las velocidades de reacción. Para generar concentraciones más altas de glucosa con la α -amilasa no termoestable, quizá se requiera de tiempos de reacción considerablemente mayores a 3 horas. Los aumentos en la concentración de glucoamilasa no parecieron afectar la concentración de glucosa obtenida; pero las de α -amilasa sí. Esto se infiere a partir de la corrida 3, en donde la concentración de glucosa aumentó a pesar de una disminución en la cantidad de glucoamilasa agregada. La Figura 24 muestra que hubo una relación positiva (R² = 0.9988) entre la cantidad de α -amilasa y la concentración final de glucosa.

Con base en los resultados obtenidos en ambos tipos de hidrólisis, se decidió que se utilizaría la ácida como el método propuesto para la planta piloto. A diferencia del enzimático, el método ácido logró generar concentraciones de glucosa significativamente mayores en menos tiempo. También es importante señalar el costo de las enzimas comparado con el del ácido. La adquisición de este tipo de enzimas – especialmente la glucoamilasa – es difícil debido a su costo elevado y la poca disponibilidad de ella debido a su especificidad.

8.4 Fermentación de soluciones de glucosa producidas con hidrólisis ácida

Para tener resultados más representativos de la cantidad de bioetanol producido durante las pruebas de fermentación, se utilizó más harina en comparación a las pruebas anteriores. Las condiciones de la hidrólisis ácida realizada fueron las determinadas anteriormente: Tiempo de reacción de 2 horas, temperatura de 95 °C, concentración de harina seca de 25% y de H₂SO₄ al 9% en masa.

Las pruebas iniciales de fermentación no fueron exitosas, ya que no se detectó un cambio en la densidad de la solución. Tampoco se observó actividad en la solución ni en la trampa de gas que se instaló en el sistema (como burbujeo). Esto indicó que la fermentación no se estaba llevando a cabo. Eventualmente, se supuso que la alta concentración de solutos en el medio era la causante de la inhibición o muerte de la levadura. Para verificar la validez de esto, se realizó una dilución del medio con agua destilada previa a la adición de estos microorganismos. El volumen de agua destilada utilizado fue 1.75 veces el volumen original de solución ácida usada en la hidrólisis (200 mL originales).

La suposición fue confirmada luego de hacer la dilución. Se empezó a observar actividad el día después de la inoculación de la levadura en el medio. El indicador principal de que la fermentación se estaba llevando a cabo fue un burbujeo constante en la trampa de gas. Con el tiempo, se observó un cambio en la coloración de la solución, volviéndose más clara y pálida. También se generó una capa amarilla sobre el líquido, cuyos componentes más probables eran los aceites naturales contenidos en el maíz (ver Figura 27). Al haber transcurrido cinco días, la actividad había bajado considerablemente. Para verificar que la fermentación estuviera completa, se determinó el contenido de glucosa de las soluciones fermentadas con el analizador YSI 2900D. En 4 de ellas, el valor leído fue de 0.00 g/L. En la corrida 2, el valor leído fue de 0.18 g/L. Esto comprobó que la cantidad de glucosa restante era insignificante, por lo que la fermentación se dio en su totalidad.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos de las fermentaciones el método densimétrico y ebullométrico de Dujardin-Salleron, así como el promedio global. El densímetro se utilizó para medir todas las corridas. Tres de ellas se analizaron con el

método de Dujardin-Salleron para compararlas con el densímetro. El ABV promedio de las soluciones fermentadas fue de 2.65 ± 0.34 % (a 20 °C). Esta concentración es baja, derivada de la dilución realizada antes de la fermentación, como se discutió anteriormente. Si la fermentación se pudiera llevar a cabo sin hacer una dilución, se esperaría una concentración de etanol más elevada. Aunque a escala laboratorio la concentración baja de etanol es irrelevante, existen implicaciones en el dimensionamiento del destilador, las cuales se discuten más adelante.

El rendimiento de fermentación promedio de 51.6 ± 9.6 % demuestra que aún se podría obtener un ABV considerablemente mayor. Esto porque, en la práctica, se puede alcanzar rendimientos de hasta 90% y 93% (Bai *et al.*, 2007). Es posible que la temperatura sea el factor con más influencia sobre este resultado. La levadura utilizada tiene un rango de funcionamiento óptimo de hasta 35 °C. No era posible controlar la temperatura en el sistema utilizado, por lo que las fermentaciones se realizaron a condiciones ambiente (20-23 °C). Se agregó sulfato de amonio y fosfato dibásico de potasio como fuentes de nitrógeno y potasio. No se observó diferencias en los resultados cuando se varió la cantidad de inóculo, ni cuando se utilizó fosfato de amonio dibásico como sustitución del sulfato de amonio y del fosfato dibásico de potasio. Por lo tanto, es posible suponer que los rendimientos se acercarían al máximo si se aumentara la temperatura del sistema al rango óptimo de esta cepa de levadura.

El rendimiento promedio de bioetanol fue de 138.7 ± 12.9 mL bioetanol/kg harina seca. Este indicador muestra la cantidad máxima de etanol que se podría obtener por kg de harina seca con el procedimiento realizado en este trabajo. Desafortunadamente, la cantidad de producto final (etanol con mayor pureza) sería menor, debido a las pérdidas e ineficiencias de cada etapa del proceso. Esta cantidad es aproximadamente tres veces menor a las que una industria específica a la conversión de maíz en etanol puede producir. Estas tienen rendimientos cercanos a los 400 mL de etanol por cada kg de maíz que se procesa (Mosier e Ileleji, 2006).

Una de las mayores causas del rendimiento de bioetanol bajo se podría deber al tamaño de partícula relativamente grande. Esta propiedad se discutirá enseguida. La harina utilizada en este trabajo aún se considera gruesa, puesto que es un producto

intermediario que aún debe pasar por procesos de molienda y refinación posteriores. Por otro lado, las industrias dedicadas a la producción de bioetanol a partir de maíz pueden reducir el tamaño de la harina considerablemente antes de iniciar la conversión. Como se estableció en el Marco Teórico, el tamaño de partícula influye en la cantidad de almidón gelatinizado y, por lo tanto, en la efectividad de la hidrólisis. La cantidad de bioetanol obtenida podría ser mayor si la harina se somete a un proceso de molienda posterior. También es posible que dichas industrias utilicen variedades de maíz con contenidos de almidón mayores a las variedades comunes.

8.5 Caracterización de la harina de maíz de rechazo

La Tabla 3 y Figura 21 resumen los análisis granulométricos realizados a la harina de maíz de rechazo. El promedio ponderado del tamaño de las partículas de esta harina fue de 497 \pm 16 µm. La distribución acumulativa (Figura 21) muestra visualmente las fracciones de harina que se tamizan a través de una malla con un tamaño de apertura dado. Por ejemplo, el primer punto a la derecha indica que el 84% de la harina pasó a través de la malla de 850 µm. A medida que el tamaño de apertura se reduce, la cantidad tamizada también lo hace. Eventualmente, las fracciones obtenidas son muy pequeñas, en la forma de polvos muy finos. Los tamices con la harina retenida se muestran en las Figura 28, en la sección de Anexos.

El tamaño de partícula promedio es muy cercano al más pequeño utilizado en el estudio realizado por Naidu *et al.* (2007), de 500 µm. En su estudio, este tamaño de partícula fue el que resultó en una mayor producción de etanol. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la harina utilizada en este trabajo aún no ha sido procesada en su totalidad. Esto implica que un tamaño de partícula menor podría mejorar aún la cantidad de bioetanol obtenida.

Los contenidos promedio de glucosa y humedad de la harina se muestran como porcentajes másicos en la Tabla 4. Se determinó que esta harina naturalmente contiene un 1.33 ± 0.23 % de glucosa. Este porcentaje bajo es esperado, puesto que la cantidad de azúcares simples contenidos en el pericarpio del maíz es pequeña. El contenido de glucosa fue de utilidad para calcular la conversión promedio de harina a glucosa después

de la hidrólisis. Por otro lado, la humedad promedio se calculó en un 10.65 ± 1.02 %. Este valor es importante para el cálculo de las cantidades de harina que se deben utilizar para hidrolizar un lote de harina en la planta piloto. A mayor humedad, mayor cantidad de harina se requiere para alcanzar un 25% de harina seca en la mezcla.

Finalmente, las Figuras 22 y 23 son las gráficas resultantes del análisis viscoamilográfico realizado a suspensiones de harina en agua y en una solución al 9% en masa de ácido sulfúrico. La diferencia entre ambas es clara; la viscosidad máxima alcanzada al utilizar una suspensión de harina en agua es casi 21 veces más grande que al utilizar la solución ácida (25,000 cP vs. 1,200 cP). Ambas gráficas dan una aproximación del punto de gelatinización de esta harina, la cual ocurre al haber un aumento brusco de viscosidad. En la muestra suspendida en agua, esto ocurrió cerca de los 75 °C, y en la suspendida en solución ácida, alrededor de los 80 °C.

También es interesante notar el comportamiento de la viscosidad después de alcanzar el máximo, y al empezar a enfriar la muestra. Después de alcanzar la temperatura máxima, la viscosidad de la suspensión en agua se redujo lentamente hasta un valor cerca de los 7,200 cP. Al empezar a enfriarla, esta aumentó considerablemente, nuevamente por encima de los 20,000 cP. Una vez terminado el análisis, la consistencia de esta muestra era espesa, con poca fluidez y semejante a una pasta. Contrariamente a esta, la suspensión en solución ácida disminuyó rápidamente su viscosidad hasta alcanzar cerca de los 200 cP. Al ser enfriada, aumentó únicamente hasta los 250 cP, y se mantuvo estable. La consistencia de esta muestra era líquida, con alta fluidez.

La diferencia de comportamientos entre ambas muestras se debe a la presencia del ácido sulfúrico. Al haber ácido en solución, la hidrólisis del almidón inició tan sólo ocurrió la gelatinización, reduciendo el tamaño de las partículas de almidón presentes en el medio. Esto explicaría por qué se obtuvo una viscosidad significativamente menor a la suspensión en agua, en la cual no ocurrió hidrólisis. Como se discutió en la sección de hidrólisis enzimática, la agitación de la mezcla fue uno de los mayores retos al hacer la gelatinización, ya que no había presencia de ningún componente que redujera la viscosidad. Esto se logró hasta que se inició la licuefacción con α -amilasa. El análisis viscoamilográfico demuestra una clara ventaja operativa de utilizar la hidrólisis ácida

sobre la enzimática, ya que la agitación de una mezcla a 1,200 cP es considerablemente más fácil que a 25,000 cP. Como ya se ha insinuado, la α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* podría reducir la viscosidad simultáneamente con la gelatinización, de la misma forma que el ácido lo hizo.

8.6 Equipos dimensionados y sus propiedades

El listado de equipos principales y auxiliares con sus características más importantes se muestra en la Tabla 5. Sus propiedades y dimensiones fueron estimadas para procesar lotes de 750 kg de harina. Esta es una cantidad fácilmente disponible para la empresa, ya que es una fracción de los volúmenes promedio que se descartan a diario. Algunas de las variables determinadas en el procedimiento experimental se utilizaron en los cálculos de dimensionamiento, tal como la viscosidad de la mezcla de harina, temperaturas, conversión, cantidades de ácido sulfúrico, hidróxido de sodio, etc. Cabe resaltar que algunos de los cálculos fueron sobreestimados, a manera de considerar los costos necesarios en el peor de los casos. Debido al manejo de flujos relativamente bajos, las bombas centrífugas escogidas fueron de 1 hp. Para la carga de las soluciones de H₂SO₄ y NaOH, las bombas deben ser de acero inoxidable 316 para evitar su deterioro por corrosión. La bomba de impulsor flexible de SS316 más pequeña que se encontró comercialmente fue de 2 hp.

El primero de los equipos listados en esta tabla es el reactor de hidrólisis ácida de la harina, con volumen nominal de 2,650 L, diámetro de 1.47 m y altura de 1.63 m. Este volumen es un 10.30% mayor al que ocuparía la mezcla de solución ácida y harina durante la reacción. Debido a la concentración de ácido sulfúrico que el tanque manejaría, el material del interior se escogió de acero inoxidable 316. El exterior se escogió de acero inoxidable 304, puesto que no estaría expuesto a sustancias corrosivas. Dado que la reacción no requiere presiones superiores a la atmosférica, la parte superior es abierta, pero cuenta con un soporte para el agitador de ancla. Para evitar la acumulación de sólidos en el fondo, se escogió un fondo semiesférico. El agitador se dimensionó de tal manera que su diámetro fuera el 95% del diámetro interno del tanque (1.40 m). Al ser un

agitador de gran tamaño, se escogió una velocidad de rotación moderada de 50 RPM, lo cual requiere un motor de 3 hp para su accionamiento.

El reactor también cuenta con una chaqueta convencional, a través de la cual fluiría vapor saturado a 180 °C para el calentamiento de la mezcla. Esta es la temperatura de vapor disponible en la empresa que produce la harina de maíz de este trabajo. El flujo de vapor requerido para lograr el calentamiento de la mezcla a 95 °C en 2 horas es de 180 kg/h. Este flujo incluye el calentamiento del agua que se debe reponer debido a las pérdidas por evaporación. Estas se estimaron como un 5% de la masa inicial de agua que se agrega al reactor. Debido a las pérdidas de calor por convección al aire y por radiación, se debe suministrar 25.9 kg/h de vapor para mantener la temperatura estable. La unión hembra de 1 pulgada sirve para el bombeo de agua y ácido hacia el reactor. En el fondo, se escogió una unión más grande (2 pulgadas) para la descarga de los sólidos después de la reacción, una vez han sedimentado al fondo. Es posible que, en la práctica, se requiera un tamaño incluso mayor a 2 pulgadas debido a la gran cantidad de harina residual. Si esto sucediera, se debería probar nuevamente con una tubería del doble de tamaño (4"). Se estimó que la harina tardaría 79 minutos para sedimentar al fondo del tanque. Este cálculo se hizo con el tamaño de partícula más pequeño trabajado en el análisis granulométrico (210 µm). Cualquier partícula más grande que esta sedimentará en menos tiempo.

Durante este tiempo de espera, se puede preparar los reactivos y materiales necesarios para la fermentación. También se permite que la mezcla se enfríe durante este tiempo. La temperatura debe ser menor a los 40 °C antes de iniciar la fermentación para evitar dañar a las levaduras. El enfriamiento final se puede hacer con la dilución con agua necesaria antes de la fermentación. Si la temperatura aún no es lo suficientemente baja, se puede circular agua en la chaqueta del reactor hasta que alcance un valor aceptable.

Este proceso de hidrólisis aún genera una cantidad significativa de residuos de harina de maíz no hidrolizada. Aunque el proceso propuesto no utiliza estos residuos para otro propósito, es posible utilizarlos para otro proceso de producción. En la sección de Antecedentes se mencionaron los DDGS (granos secos de la destilería con solubles), los cuales se producen y se comercializan como alimento para animales. Para producir estos,

la harina residual debe ser neutralizada y fermentada junto con la solución de glucosa generada en la hidrólisis. Posteriormente, la harina ya fermentada se debe secar para obtener los DDGS. Esto presenta otra vía de ingresos relacionada a la harina de maíz de rechazo de este trabajo.

El reactor de fermentación se dimensionó con un diámetro y altura de 1.73 m y 2.11 m, respectivamente, con un volumen nominal de 4,732 L (11.4% más que el líquido que contiene). Este es significativamente más grande que el reactor de hidrólisis, a causa del volumen de agua y de solución de NaOH que se deben adicionar. Los materiales de este son iguales al anterior, siendo de acero inoxidable 316 en el interior y 304 en el exterior. En contraste, este reactor debe contar con una tapadera soldada para evitar el ingreso de aire al reactor. La entrada de 12 pulgadas permite al operador la apertura del tanque cuando se requiera (como para limpieza y adición de reactivos). Al estar completamente cerrado, el reactor debe contar con una válvula de alivio de presión para liberar los gases generados en la fermentación, la cual puede ser instalada posterior a la adquisición del tanque. Tampoco cuenta con una chaqueta, puesto que la fermentación puede llevarse a cabo a temperatura ambiente, cuyas implicaciones ya se han discutido anteriormente.

El fondo cónico ayuda a recolectar las levaduras sedimentadas, las cuales se suspenderían nuevamente al hacerlas recircular con la bomba de impulsor flexible de 2 hp (ver Figura 30). De esta forma, la concentración de levaduras se puede mantener homogénea durante toda la fermentación sin necesidad de instalar un agitador. Dicha bomba es apta para el manejo de levaduras, ya que el impulsor flexible permite su bombeo sin dañarlas. La unión hembra de 1 pulgada del fondo se utilizaría para la descarga y bombeo del líquido. La unión del cuerpo se puede utilizar para la adición de las soluciones necesarias y para la recirculación durante la fermentación.

Finalmente, el alambique cotizado para el proceso de destilación tiene una capacidad de 2270 L y 4 platos. Partes de él están manufacturadas con acero inoxidable y otras con cobre, un material utilizado históricamente en los alambiques para producción de bebidas alcohólicas. Su capacidad es de aproximadamente la mitad del tamaño del lote total que se debe destilar (4,135 L). Por lo tanto, la destilación se debería realizar en dos

partes. Los flujos y condiciones utilizados en los cálculos se realizaron suponiendo que el lote se destila en una sola operación, ya que los flujos másicos son independientes del tiempo. Con la cantidad de platos disponibles, la tasa de reflujo se debe variar desde un 3.5 hasta 13.2 conforme la destilación avanza, las cuales son considerablemente altas. El requerimiento alto de reflujo se debe a la concentración baja de etanol obtenida en la fermentación. De esta forma, la composición del producto se puede mantener constante a un 85% en masa (89.4% v/v con referencia a 20 °C). Una bomba centrífuga de 1 hp se utilizaría para suministrar un flujo de agua de 30.7 L/min para la condensación del destilado. La concentración de bioetanol generada en esta etapa de destilación es adecuada para su uso como desinfectante, solvente, e incluso para farmaceútica. Dado que su concentración es alta, se puede diluir para alcanzar concentraciones menores, si es necesario.

El calentamiento de la mezcla total se fijó en 2 horas. Sin embargo, como el alambique cotizado puede procesar la mitad de un lote a la vez, el calentamiento de cada mitad se realizaría en 1 hora. Como ya se ha explicado, el flujo de vapor requerido para esto es el mismo que el que se calculó para el lote completo. Los flujos de vapor requeridos para el calentamiento y la destilación como tal son de 302.6 y 285.1 kg/h, respectivamente. El tiempo total para la destilación del lote es de 2.24 h (1.12 h por cada mitad destilada).

Los residuos de la destilación se componen principalmente de agua, levadura y etanol (al 0.60% m/m). Esta concentración es muy baja, y difícilmente aprovechable para una escala a planta piloto. No obstante, la levadura restante en el medio podría ser separada – por ejemplo, con centrifugación o sedimentación – y reutilizada como combustible (biomasa), o como fertilizante.

8.7 Evaluación económica

La Tabla 6 muestra los costos de inversión para la adquisición de los equipos principales y auxiliares requeridos para la planta piloto de producción de bioetanol. Se estimaron los costos involucrados en la importación de los equipos cotizados con empresas estadounidenses (marcados con ^[1]). Según el Capítulo 84 del Sistema

Arancelario de Centroamérica (SAC), los equipos tales como bombas, reactores y aparatos de destilación no pagan Derechos Arancelarios a la Importación (DAI). El costo de instalación eléctrica de las bombas y el motor para el agitador se calculó con el factor Guthrie (31% del precio) tabulado en Perry y Green (2008). Se estimó el costo de la tubería requerida para llevar vapor hacia el tanque de hidrólisis y hacia el alambique. Para ambos se supuso un tramo de 50 m de tubería de acero al carbón de 1" SCH40. Este rubro también incluye material aislante para la tubería, reguladores de presión y válvulas para vapor.

Los costos de producción por lote de harina se estimaron para cada etapa del proceso, y se muestran desglosados en la Tabla 7. Para la agitación por bombeo durante la fermentación, se estimó un tiempo total de 1 hora por día. Este se puede dividir en ciclos de 5 minutos cada 2 horas. De esta manera, se mantiene una alta homogeneidad dentro del reactor durante los 5 días requeridos para la fermentación.

Es evidente que el rubro de mayor costo es el ácido sulfúrico, cuyo precio se ha elevado considerablemente en los últimos 2 años, y probablemente continúe creciendo. En el lado de la fermentación, la solución de hidróxido de sodio al 50% en masa también presenta un costo alto. El uso de estos reactivos es una de las mayores desventajas del método de hidrólisis ácida, ya que representan un costo significativo, así como posibles riesgos a la salud de los operadores que lo manejan. Sin embargo, estos se encuentran con mayor disponibilidad en Guatemala en comparación con las enzimas α -amilasas y glucoamilasas. Una forma posible de reducir considerablemente estos costos es mediante un proceso de separación y recuperación del ácido sulfúrico. Esto eliminaría el uso del NaOH, y reduciría el volumen de agua necesario para la dilución. Sin embargo, al ser altamente soluble en agua y corrosivo, su separación es difícil y quizás requiere métodos altamente específicos y costosos.

Los costos por mano de obra se estimaron utilizando el salario mínimo para el año 2022, con un costo por hora de Q. 18.78, el cual incluye prestaciones laborales. Para la hidrólisis se estimó 6 horas-hombre: 4 de ellas para la operación como tal, y 2 adicionales para la preparación de reactivos, vaciado del tanque y limpieza. Dado que no se requiere intervención directa por operadores durante la fermentación, el costo estimado también

comprende las actividades de llenado del tanque, el vaciado y su limpieza. La destilación requiere un tiempo total de 4.24 horas, por lo cual se calculó el costo de mano de obra con 6 horas totales para las mismas actividades mencionadas anteriormente, así como el envasado del bioetanol. En esta etapa, el costo más alto lo genera el vapor, debido a la alta carga térmica necesaria para mantener ebullendo la alimentación. El costo total que se debe incurrir para procesar un lote es de Q. 2,356.57 (sin IVA ni envases). Como cada lote produce 86.6 litros de bioetanol al 89.4% en volumen (ver Cálculo 24), el costo de producción por litro sin envasar es de Q. 27.22. El costo por litro, incluyendo el envase, dio un valor de Q. 27.88.

La Tabla 8 muestra algunos indicadores de productividad, las utilidades y ahorros anuales que la planta piloto podría generar. El precio de venta por litro se estableció en un 10% sobre el costo de producción, resultando en un precio unitario de Q. 30.67 sin IVA. El margen de venta es bajo, y se escogió así para mantener el precio de venta en un valor razonable. Al aumentar el margen y el precio, la competitividad del producto en el mercado se reduce. Para efectos de este trabajo, se supuso que el bioetanol producido se vendería en su totalidad a este precio. La cantidad producida, costos, precio de venta y los ahorros por kg de harina se supusieron constantes para todos los años. Sin embargo, debido a la complejidad de los mercados y los factores que intervienen en ellos, se esperaría que la demanda de este bioetanol, sus costos y precio varíen cada año. Para poder incluir dichas variaciones en la evaluación económica, se requieren estudios rigurosos en los cuales se pronostican los cambios anuales de los factores mencionados.

Como la fermentación es el cuello de botella de este proceso, se recomendó la adquisición de tres reactores de fermentación (Tabla 6), con los cuales se podría procesar 234 lotes de 750 kg de harina al mes, suponiendo que hay 345 días disponibles al año. La comparación de la cantidad de lotes procesados según la cantidad de fermentadores se muestra en la Figura 29 en los Anexos. Con esta cantidad de lotes anuales, se estima que se puede producir 20,260 litros de bioetanol al 89.4% en volumen (20 °C). La utilidad neta de la venta de esta cantidad de bioetanol da una suma de Q. 42,362.68. El rendimiento de bioetanol calculado para la planta piloto es de 115.5 mL/kg de harina seca. Este es menor al calculado a nivel laboratorio, y se debe principalmente a las pérdidas existentes en el proceso de destilación.
La mayor cantidad de beneficios que la empresa obtiene se debe al hecho de no descartar la harina de maíz. Si la empresa genera 1 kilogramo de harina rechazada, sufre una pérdida de Q. 0.57. Por lo tanto, cada kilogramo de harina que se ingresa al proceso de producción de bioetanol evita dicha pérdida de 57 centavos. El ahorro anual percibido por utilizar la harina para este proceso es de Q. 100,035.00, el cual es significativo. Los beneficios totales anuales que provee esta planta piloto son de Q. 142,397.68 (sumando la utilidad neta y el ahorro de no descartar la harina). Esta suma de dinero es el flujo de caja que se utilizó para el cálculo de la TIR y NPER, los cuales discutirán más adelante.

Para procesar 234 lotes anuales se requeriría 175,500 kg de harina de rechazo, la cual es considerablemente menor a la cantidad que la empresa rechaza anualmente. Esto quiere decir que el potencial de producción de bioetanol es aún mayor. Sin embargo, se requeriría un estudio de escalamiento a planta industrial para evaluar la capacidad de producción total de bioetanol de la empresa, basándose en los resultados obtenidos luego de implementar la planta piloto. Al aumentar la escala, la cantidad de harina convertida a bioetanol es mayor, mejorando los beneficios y reduciendo los costos fijos de producción.

Finalmente, los indicadores financieros estimados para la inversión de los equipos se muestran en la Tabla 9. Como ya se ha mencionado, se supuso que los costos de producción y precios de venta del etanol se mantendrían constantes. Esto implica que el flujo de caja anual es el mismo. La tasa interna de retorno (TIR) evaluada a 15 años tiene un valor de 4.63%. Al momento de realizar este trabajo, la empresa anfitriona de este estudio no contaba con una TMAR para su comparación con la TIR. El período de retorno simple (no descontado) es de 10.65 años. Es decir, este es el tiempo que debe transcurrir para que los beneficios generados por la planta piloto sean exactamente iguales al valor de inversión inicial. En cambio, si se desea una ganancia de al menos 5% sobre la inversión, deben transcurrir al menos 15.57 años (método descontado). Como se demuestra, los retornos de este proyecto son relativamente lentos. Al ser una planta piloto, se espera que los retornos no sean rápidos, puesto que su función es experimentar con una escala semiindustrial, y así servir de base para el escalamiento a una planta industrial. Por economía de escala (ver Glosario), se esperaría que la rentabilidad sea mayor al escalar la producción de planta piloto a una planta industrial.

IX. CONCLUSIONES

• Se realizó y comparó la hidrólisis ácida y enzimática de la harina de maíz de rechazo para convertir el almidón contenido en ella a glucosa. Con el método ácido, se alcanzó conversiones de harina a glucosa en un rango aproximado de entre 40% y 58% al realizar la reacción por 2 horas a 95 °C, en una solución al 9% en masa de H₂SO₄. Se determinó que la concentración de harina seca que devuelve la mayor concentración de glucosa es de aproximadamente 25% (m/m). Con el método enzimático, la conversión máxima fue de tan sólo 10.90%, luego de 3 horas de licuefacción y 3 de sacarificación. La baja eficacia del método enzimático se debió a la baja velocidad de reacción de la α -amilasa utilizada (de *Aspergillus oryzae*), en comparación con la termoestable de *Bacillus licheniformis*. Por lo tanto, el método ácido se escogió para las experimentaciones de fermentación y el diseño del lote de producción de la planta piloto.

• Posterior a la hidrólisis ácida de la harina, se fermentó el mosto concentrado en glucosa que se produjo. Se obtuvo una concentración volumétrica de alcohol (ABV) promedio de $2.65 \pm 0.34\%$. La concentración obtenida fue relativamente baja, y se debió a la dilución necesaria previa a fermentar. El rendimiento promedio de bioetanol fue de 138.7 ± 12.9 mL bioetanol/kg harina seca. Este valor indica la cantidad máxima de etanol que se puede producir con el procedimiento realizado, y es aproximadamente tres veces menor a lo que una industria dedicada a la producción de bioetanol logra generar. Ambos resultados son el promedio entre los valores obtenidos con un densímetro y con el método Dujardin-Salleron.

• En la caracterización de la harina de maíz de rechazo, se determinó que el tamaño promedio de sus partículas es de 497 \pm 19 µm. Este es relativamente alto, dado que la harina utilizada es un producto intermediario que no pasa por moliendas posteriores. El contenido de glucosa y humedad en la harina en masa se midieron en 1.33 \pm 0.23 % y 10.65 \pm 1.02 %. En el análisis viscoamilográfico, se observó que las suspensiones en agua ácida generaron una viscosidad pico casi 21 veces menor que en suspensiones sin ácido (1,200 cP vs 25,000 cP). Esto reveló una ventaja operativa del método de hidrólisis ácida, ya que los requerimientos de agitación fueron menos exigentes que en el enzimático.

• Con base en técnicas de dimensionamiento, se generó el listado de los equipos principales y auxiliares requeridos para el proceso de producción de bioetanol a partir de harina de maíz de rechazo a escala de planta piloto. Se determinó un volumen requerido de 2,650 L para el reactor abierto y enchaquetado de hidrólisis ácida, con un agitador de ancla de 1.40 x 1.40 m y un motor de 3 hp de potencia. Los biorreactores de fermentación cerrados se dimensionaron con un volumen de 4,732 L, y se escogió una bomba de impulsor flexible de 2 hp para su agitación periódica. Con base en un alambique comercial de 2,270 L y 4 platos, se calculó que la tasa de reflujo debe variarse desde 3.5 hasta 13.2 para obtener un destilado con concentración constante de 89.4% (v/v a 20 °C) de etanol en volumen. Para el bombeo de agua y soluciones de H₂SO₄ y NaOH, se escogieron bombas centrífugas de 1 hp.

• La evaluación económica de la adquisición de los equipos se hizo con base en una producción anual de 20,260 L de bioetanol al 89.4% (v/v a 20°C), un precio de venta unitario de Q. 30.67/L y una inversión de Q. 1,515,756. La TIR calculada a 15 años es de 4.63%; el período de retorno simple de 10.65 años; y el descontado (i = 5%), de 15.57 años. Los rendimientos bajos y períodos de retorno largos son característicos de la economía de escala semiindustrial característica de una planta piloto, en la cual las utilidades son relativamente pequeñas debido a su capacidad de procesamiento relativamente baja.

X. RECOMENDACIONES

• Evaluar la hidrólisis enzimática utilizando la α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis*, a modo de determinar si la conversión de harina a glucosa alcanzada es mayor en comparación a la obtenida en este trabajo.

• Experimentar con las temperaturas de hidrólisis ácida de la harina en contenedores presurizados a nivel laboratorio, aumentándola en intervalos de 0.50 atmósferas (50.65 kPa). Al tener presiones superiores a la atmosférica, la temperatura de ebullición de la solución ácida aumenta, permitiendo realizar la hidrólisis a una mayor temperatura. Al trabajar a una mayor temperatura, la cantidad de ácido sulfúrico requerida podría ser menor, teniendo un efecto favorable sobre los costos.

• Encontrar el rendimiento de la fermentación de la solución de glucosa producida a temperaturas cercanas a 30-35 °C. Se esperaría que el rendimiento mejore, puesto que este es el rango óptimo de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* utilizada. También se recomienda experimentar con cepas de levadura cuyo rango óptimo de fermentación sea cercano a la temperatura ambiente.

• Determinar el rendimiento de la harina al reducir el tamaño de partícula promedio previo al proceso de hidrólisis (por ejemplo, con un molino de discos de laboratorio). Al tener partículas más finas (menores a 497 µm), se esperaría que la cantidad de glucosa generada sea mayor y, por lo tanto, la cantidad de bioetanol también.

• Estudiar y evaluar económicamente métodos de recuperación del ácido sulfúrico. De esta forma se podría reutilizar para el proceso de hidrólisis, potencialmente reduciendo los costos totales de producción y eliminando la necesidad de neutralizar con NaOH. También reduciría la cantidad de agua necesaria para la dilución del medio fermentativo.

• Determinar la viabilidad técnica y económica de los residuos del proceso propuesto; principalmente la harina no hidrolizada y los residuos de la destilación. La harina no hidrolizada se podría neutralizar y fermentar en conjunto con la solución de glucosa para la producción de DDGS. La levadura del residuo de la destilación se puede aprovechar como un combustible (biomasa).

• Determinar la variación anual de los costos de producción y precios de venta del bioetanol, a manera de pronosticar con mayor precisión los rendimientos y retornos de la inversión a largo plazo.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Akers, M. J., et al. (2014). Fermentation and Biochemical Engineering Handbook: Principles, Process Design, and Equipment. 3a edición. Waltham. Elsevier Inc.
- Arrizon, J. y Gschaedler, A. (2007). Effects of the addition of different nitrogen sources in the tequila fermentation process at high sugar concentration. *Journal of Applied Microbiology, Volumen 102*. Pp. 112-1131. <u>https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03142.x</u>
- Asociación de Combustibles Renovables [ACR] (2018). *Materias primas para producir etanol*. Recuperado de: <u>https://acrguatemala.com/etanol/</u>
- Azhar, S. H.; Abdulla, R., Jambo, S. A, Marbawi, H., Gansau, J. A., Faik, A. A. y Rodrigues, K. F. (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports, Volumen 10.* Pp. 52-61. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003
- Bai, F. W., Anderson, W. A. y Moo-Young, M. (2007). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances, Volumen 26*.
 Pp. 89-105. <u>https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.09.002</u>
- Bajpai, P. (2013). Advances in Bioethanol. Nueva Delhi. Springer.
- Bednarska, K. A. (2015). *Kinetic modelling of enzymatic starch hydrolysis*. University of Wageningen, Wageningen, NL.

- •Birch, G. G., et al. (1995). Handbook of Starch Hydrolysis Products and their Derivatives. Springer-Science + Business Media, B.V.
- •Blank, L. y Tarquin, A. (2012). *Ingeniería Económica*. 7^a edición. McGraw-Hill. Ciudad de México, México.
- BlueWeave Consulting (2022). Global Hand Sanitizer Market Poised for Sustained Growth: Forecast to Grow at a CAGR of 3.7% by 2028. Recuperado de: https://www.globenewswire.com/en/news-release/2022/01/13/2366672/0/en/Global-Hand-Sanitizer-Market-Poised-for-Sustained-Growth-Forecast-to-Grow-at-a-CAGRof-3-7-by-2028-BlueWeave.html
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V. y Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules, Volumen 23*. Pp. 85-112. https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3
- Chang, C. S. (1988). Measuring Density and Porosity of Grain Kernels Using a Gas Pycnometer. *Cereal Chemistry, Volumen* 65 (1). Pp. 13-15.
- Chavan, R., Saxena, K. y Tigote, D. (2015). Optimization of Acid Hydrolysis Process for Free Glucose Recovery from Starch. *International Journal of Innovative Science*, *Engineering & Technology, Volumen* 2 (12), pp. 55-58
- Gray, K. A., Zhao, L. y Emptage, M. (2006). Bioethanol. *Current Opinion in Chemical Biology, Volumen 10* (2). Pp. 141-146. <u>https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.035</u>
- International Starch Institute (2018). *International Starch: Maize*. Recuperado de: http://www.starch.dk/isi/starch/maize.asp
- Iowa Corn Growers Association (2021). *Ethanol Production*. Recuperado de: https://www.iowacorn.org/corn-uses/ethanol

- Jacobson, J. L. (2006). *Introduction to Wine Laboratory Practices and Procedures*. Springer. Estados Unidos.
- Kim, K. y Hamdy, M. K. (1985). Acid Hydrolysis of Sweet Potato for Ethanol Production. University of Georgia, *Biotechnology and Bioengineering, Volumen XXVII*. Pp. 316-320. <u>https://doi.org/10.1002/bit.260270316</u>
- Kosaric, N., Vardar-Sukan, F. y Pieper, H.J. (2001). *The Biotechnology of Ethanol.* Weinheim. Wiley-CVH.
- Lin, J., Lee, S. y Chang, Y. (2003). Effect of acid-alcohol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of maize and potato starches. *Carbohydrate Polymers, Volumen 53*. Pp. 475-482. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00145-0
- McCabe, W. L., Smith, J. C. y Harriot, P. (2007). Operaciones unitarias en ingeniería química. 7ª edición. Ciudad de México. McGrawHill.
- Ministerio de Energía y Minas [MEM] (2022). Informe General de la República 2021. Recuperado de: <u>https://mem.gob.gt/wp-content/uploads/2022/01/Informe-</u> General-de-la-Republica-2021.pdf
- Mixer Direct (2022). *Tank Designer*. Extraído de: <u>https://www.mixerdirect.com/pages/tank-designer</u>
- Mojović, L., Nikolić, S., Rakin, M. y Vukasinović, M. (2006). Production of bioethanol from corn meal hydrolysates. *Fuel, Volumen 85*. Pp. 1750-1755. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.01.018

- Monteiro, S. L., Barbosa, L.A., Ferreira, J. M., Trindade, S. y Derengowski, M. G. (2016). *Global Bioethanol: Evolution, Risks, and Uncertainties*. Londres. Academic Press.
- Mosier, N. S. e Ileleji, K. (2006). *How Fuel Ethanol Is Made from Corn*. Purdue University. Recuperado de: <u>https://www.extension.purdue.edu/extmedia/id/id-328.pdf</u>
- Naidu, K., Singh, V., Johnston, D.B., Rausch, K.D. y Tumbleson, M.E. (2007). Effects of Ground Corn Particle Size on Ethanol Yield and Thin Stillage Soluble Solids. *Cereal Chemistry, Volumen 84* (1). Pp. 6-9. <u>https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-1-0006</u>
- Negrulescu, A., Patrulea, V., Mincea, M. M., Ionascu, C., Vlad-Oros, B. A. y Ostafe, V. (2012). Adapting the reducing sugars method with dinistrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. *Journal of the Brazilian Chemical Society, Volumen 23*(12). Pp. 2176-2182. <u>https://doi.org/10.1590/S0103-50532013005000003</u>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] (1992). *El maíz en la nutrición humana*. Recuperado de: <u>https://www.fao.org/3/t0395s/T0395S00.htm#Contents</u>
- Paliwal, R. y Granados, G. (2001). El Maíz en Los Trópicos: Mejoramiento y Producción. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO. Roma.
- Perry, R. H. y Green, D. W. (2008). *Perry's Chemical Engineers' Handbook.* 8a edición. McGrawHill.

- Pratiwi, M., Faridah, D. N. y Lioe, H. N. (2017). Structural Changes to Starch after Acid Hydrolysis, Debranching, Autoclaving-Cooling Cycles, and Heat Moisture Treatment (HMT): A Review. West-Java. Bogor Agricultural University. https://doi.org/10.1002/star.201700028
- Ratnayake, W. S. y Jackson, D. S. (2008). Starch Gelatinization. Advances in Food and Nutrition Research, Volumen 55. Pp. 221-268. <u>https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00405-1</u>
- Renewable Fuels Association [RFA] (2021). *Annual Ethanol Production*. Recuperado de: https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production
- Ritchie, H. y Roser, M. (2020). *Fossil Fuels*. Recuperado de: <u>https://ourworldindata.org/fossil-fuels</u>
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S. y Aikat, K. (2011). Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy, Volumen 37*. Pp. 19-27. https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.045
- Scragg, A. H. (2009). *Biofuels: Production, Application and Development.* Cabi. Wallingford, Reino Unido.
- Secretaría de Integración Económica de Centroamérica (2022). Sistema Arancelario de Centroamérica. Recuperado de: <u>https://www.sieca.int/index.php/download/aic/?wpdmdl=10187&ind=U0FDIFZJSSBF</u> <u>Tk1JRU5EQSBKVU5JTyAyMDIyLnBkZg</u>
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, J. F. y Crouch, S. R. (2015). Fundamentos de Química Analítica. 9ª edición. Cengage Learning. Ciudad de México.

- Smith, J. M., Van Ness, H. C., Abbott, M. M. y Swihart, M. T. (2020). *Introducción a la termodinámica en ingeniería química*. 8ª edición. McGraw Hill. Ciudad de México.
- Szymanowska-Powalowska, D., Lewandowicz, G., Blaszczak,W. y Szwengeil. A. (2012). Structural changes of corn starch during fuel ethanol production from corn flour. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology, Volumen* 93(3). Pp. 333-341. <u>http://dx.doi.org/10.5114/bta.2012.46587</u>
- Taherzadeh, M. J. y Karimi, K. (2007). Enzyme-based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A review. *BioResources, Volumen 2* (4). Pp. 707-738. Recuperado de: <u>https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_2_4_707_738_Taherza</u> deh_Karimi_EnzymeBased_Hydrol_Ethanol_Review
- •Towler, G. y Sinnot, R. (2008). *Chemical Engineering Design: Principles, Practice and Economics of Plant Process Design.* Elsevier Inc. Londres, Reino Unido.
- Treybal, R. E. (1988). *Operaciones de transferencia de masa*. 2ª edición. McGraw-Hill. México.
- U.S. Department of Agriculture (2020). *Corn Ethanol Production Booms in Brazil.* Foreign Agricultural Service.
- •U.S. Department of Agriculture (2022). U.S. wholesale fuel prices rise above pre-COVID-19 levels. Recuperado de: <u>https://www.ers.usda.gov/data-products/chart-gallery/gallery/chart-detail/?chartId=102805</u>
- •U.S. Energy Information Administration (2022). *Biofuels explained*. Extraído de: https://www.eia.gov/energyexplained/biofuels/ethanol-use.php

- Van Winkle, M. (1967). Distillation. McGraw-Hill. Estados Unidos.
- Verma, R.C. y Prasad, S. (2000). Mechanical and Thermal Properties of Maize. *Journal of Food Science and Technology, Volumen 37* (5). Pp. 500-505.
- Villadsen, J., Nielsen, J. y Lidén, G. (2011). Bioreaction Engineering Principles. 3^a edición. Editorial Springer. Nueva York, Estados Unidos.
- Wang, S., Ingledew, W. M., Thomas, K. C., Sosulski, K. y Sosulski, F. W. (1999). Optimization of Fermentation Temperature and Mash Specific Gravity for Fuel Alcohol Production. *Cereal Chemistry, Volumen* 76(1). Pp. 82-86. https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.1.82
- Wyman, C. (2018). *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*. Taylor & Francis.
- YSI (2014). YSI 2900 Series Biochemistry Analyzers. Operations and Maintenance Manual.
- Zhang, Q., Wu, D., Lin, Y., Wang, X., Kong, H. y Tanaka, S. (2015). Substrate and Product Inhibition on Yeast Performance in Ethanol Fermentation. *Energy Fuels, Volumen 29*(2). Pp. 1019-1027. <u>https://doi.org/10.1021/ef502349v</u>

XII. ANEXOS

12.1 Datos de placa de equipos

Marca	YSI		
Modelo	2900D		
Voltaje	100-240 VAC		
Potencia/Frecuencia	35 W / 50-60 Hz		
No. Serie	17E000009		

 Tabla 10. Datos de placa del analizador bioquímico

Tabla 11. Datos de placa del analizador viscoamilográfico

Marca	Perten Instruments
Modelo	RVA 4500
Voltaje	110 VAC
Potencia/Frecuencia	500 W / 60 Hz
No. Serie	2174011-45A

Tabla 12.	Datos	de	placa	de	la	termobalanza

Marca	OHaus
Modelo	MB120
Voltaje	100-120 VAC
Frecuencia	50-60 Hz
No. Serie	B818791381

Marca	Mettler Toledo
Modelo	AG204
Voltaje	120 VAC
Corriente	0.5 A
No. Serie	B817750488
Rango	0-3200 g
Precisión	± 0.01 g
Marca	OHaus
Modelo	PX3202/E
Voltaje de entrada	12 VDC
Corriente	0.5 A
Rango	0-210 g
Precisión	± 0.1 mg

Tabla 13. Datos de placa de balanzas analíticas

Tabla 14. Datos de placa de la centrifugadora de laboratorio

Marca	Hettich
Modelo	Rotofix 32A
Voltaje	120-127 VAC
Corriente/Frecuencia	3.0 A / 50 - 60 Hz
No. Serie	0008303-05
Densidad máxima	1.2 kg/dm^3
Velocidad máxima	6000 RPM

Marca	Ionode
Modelo	IJ44C
Rango de pH	0-14
Rango de temperaturas	0-60 °C
No. Serie	1510-164187

Tabla 15. Datos de placa del potenciómetro de pH

Tabla 16. Datos de placa de la estufa con agitador magnético

Marca	Thermo Scientific
Modelo	SP195025
Voltaje	120 VAC
Corriente/Frecuencia	8.9 A / 60 Hz
No. Serie	C1950160304584

12.2 Datos originales

No.	Masa de harina (±0.0001 g)	Humedad de harina (±0.01%)	Tiempo de reacción (min)		
	Ι	$C = 90 \circ C$			
1	2.0300	9.91%	60		
2	2.0331	10.90%	60		
3	2.0196	10.11%	60		
4	2.0488	9.78%	60		
5	2.0214	9.78%	75		
6	2.0632	12.45%	75		
7	2.0675	12.45%	90		
8	2.0704	12.34%	105		
9	2.0388	12.34%	120		
10	2.0133	10.90%	135		
11	2.0188	10.90%	30		
12	2.0348	10.90%	15		
13	2.0572	10.90%	120		
14	2.0370	10.90%	45		
	T = 95 °C				
1	2.0336	10.90%	60		
2	2.0278	10.90%	75		
3	2.0707	10.90%	75		
4	2.0470	10.90%	90		
5	2.0314	10.90%	45		
6	2.0347	10.90%	105		
7	2.0379	10.90%	15		
8	2.0350	10.90%	30		

Tabla 17. Masas y humedades de harina medidas para determinación de tiempo dereacción y temperatura óptimas de hidrólisis ácida

Ne	Volumen final	Csac
INO.	(± 0.5 mL)	(g/L)
	T = 90 °C	
1	99.0	1.41
2	98.0	7.50
3	100.0	6.83
4	98.5	7.27
5	98.5	8.61
6	100.0	8.37
7	98.0	9.39
8	98.0	10.90
9	99.0	10.70
10	98.0	15.20
11	100.0	3.48
12	102.0	1.00
13	98.0	15.10
14	100.0	6.37
	T = 95 °C	
1	100.0	13.5
2	102.0	15.0
3	100.0	14.8
4	100.0	14.9
5	100.0	10.9
6	100.0	16.0
7	105.0	1.79
8	100.0	6.79

Tabla 18. Volúmenes finales de hidrólisis y concentraciones de sacarosa leídas en
el equipo YSI 2900D.

Tabla 19. Masas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas en el equipo YSI 2900D para la hidrólisis ácida, variando la concentración de harina

No	Masa de harina	Humedad	Csac
110.	(±0.01 g)	(± 0.01%)	(g/L)
1	21.18	10.10%	9.25
2	22.03	10.10%	19.90
3	22.54	10.10%	19.90
4	25.07	10.10%	14.10
5	25.30	10.10%	11.90
6	26.46	10.10%	12.70
7	30.10	10.10%	15.99
8	35.08	10.10%	16.80
9	35.31	9.49%	17.40
10	40.47	9.49%	16.00

No.	Masa de harina (± 0.01 g)	Humedad (± 0.01%)	Masa de α- amilasa (± 0.1 mg)	Masa de glucoamilasa (± 0.1 mg)	Csac (g/L)
1	31.45	10.30%	33.7	0.4	16.2
2	37.52	10.30%	84.1	1.3	26.1
3	31.56	10.30%	103.6	0.6	29.3

Tabla 20. Masas de harina y enzimas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas en el equipo YSI 2900D para la hidrólisis enzimática

Tabla 21. Masas y humedades de harina, gravedades específicas y concentracionesde sacarosa leídas en corridas de fermentación

No.	Masa de harina (± 0.01 g)	Humedad (±0.01%)	GE1	GE2	Csac, 1 (g/L)	Csac, 2 (g/L)
1	78.34	9.96%	1.062	1.042	7.37	0.00
2	83.81	10.30%	1.082	1.057	8.33	0.04
3*	83.60	10.30%	1.064	1.042	10.90^{*}	0.00
4	84.05	10.30%	1.076	1.053	7.56	0.00
5	85.55	10.30%	1.065	1.044	7.36	0.00

*Nota: La concentración inicial de azúcares en esta corrida no es confiable debido a la descalibración del equipo.

Tabla 22. pH de fermentación, masas de levadura y de nutrientes	s agregados al
medio fermentativo	

No.	pH (± 0.01)	Levadura (± 0.0001 g)	(NH4)2SO4 (± 0.0001 g)	K2HPO4 (±0.0001 g)	(NH4)2HPO4 (± 0.0001 g)
1	4.37	0.1557	0.5350	0.0696	-
2	4.25	0.1717	0.5662	0.0639	-
3	4.30	0.1495	0.6320	0.0788	-
4	4.35	0.3006	0.5710	0.0716	-
5	4.08	0.1542	-	-	0.1063

jernenter				
No.	Vacío (± 0.01 g)	Previo (± 0.01 g)	Después (± 0.0001 g)	
1	265.41	656.00	646.71	
2	174.99	558.96	548.95	
3	184.40	666.03	656.03	
4	184.40	585.94	576.78	
5	227.52	674.85	665.34	

Tabla 23. Masas del sistema de fermentación vacío, previo a fermentar y después defermentar

Tabla 24. Masas de harina retenidas por malla en el análisis granulométrico

No. Malla ASTM	Tamaño (µm)	Análisis 1 (± 0.01 g)	Análisis 2 (± 0.01 g)	Análisis 3 (± 0.01 g)
20	850	13.61	17.21	16.60
35	500	32.10	30.64	31.14
40	425	41.67	45.68	47.33
50	297	7.51	4.43	3.57
60	250	0.12	0.10	0.11
70	210	0.26	0.17	0.12
Pasa 70	< 210	1.38	0.69	0.34
	Masa inicial	100.12	100.04	100.00

	Maga da haring	Humadad da hanina	C
No.	Masa de narina	Humedad de narina	C sac
	$(\pm 0.0001 \text{ g})$	(± 0.01%)	(g/L)
1	5.0063	9.80%	0.202
2	1.0083	10.58%	0.278
3	1.0050	10.43%	0.213
4	2.0776	9.91%	0.506
5	2.0586	9.91%	0.460
6	2.0096	10.90%	0.521
7	2.0070	10.90%	0.572
8	2.0129	10.11%	0.591
9	2.0122	10.11%	0.588
10	2.0398	9.78%	0.625
11	2.0340	9.78%	0.557
12	2.0197	12.45%	0.567
13	2.0168	12.45%	0.582
14	2.0833	12.34%	0.598
15	2.0460	12.34%	0.589
16	2.0716	10.90%	0.509
17	2.0284	10.90%	0.477
18	2.0388	10.10%	0.350
19	2.0340	10.10%	0.313

Tabla 25. Masas, humedades de harina y concentraciones de sacarosa leídas parala determinación de contenido de glucosa en la harina

No.	Humedad (± 0.01%)
1	9.80%
2	10.58%
3	10.43%
4	9.91%
5	10.90%
6	10.11%
7	9.78%
8	12.45%
9	12.34%
10	12.34%
11	10.90%
12	10.10%
13	9.49%
14	9.96%
Promedio ± Desv. Est.	10.65 ± 1.02 %

Tabla 26. Contenidos de humedad de la harina determinados con una termobalanzaautomática OHaus MB120

Temperatura (°C)	Fracción másica de etanol en el	Fracción másica de etanol en el
0514	$\frac{11\text{quido}(x)}{0.000}$	vapor (y ⁺)
95.14	0.000	0.000
94.51	0.005	0.061
94.21	0.008	0.088
93.91	0.010	0.114
93.63	0.013	0.138
93.35	0.015	0.160
93.08	0.018	0.181
92.82	0.020	0.201
90.09	0.050	0.370
85.69	0.118	0.557
81.94	0.221	0.667
79.94	0.311	0.719
78.69	0.390	0.742
77.79	0.460	0.765
77.10	0.522	0.779
76.52	0.579	0.793
76.02	0.630	0.806
75.58	0.676	0.819
75.19	0.719	0.832
74.83	0.757	0.844
74.51	0.793	0.862
74.23	0.826	0.873
74.00	0.856	0.890
73.80	0.885	0.906
73.67	0.911	0.921
73.59	0.935	0.940
73.58	0.958	0.958
73.66	0.980	0.976
73.84	1.000	1.000

Tabla 27. Datos de equilibrio para el etanol y agua a 85 kPa, calculados con elmétodo de Wilson

Los parámetros de Wilson se obtuvieron a partir de los datos tabulados por Perry y Green (2008)

12.3 Cálculos de muestra

Cálculo 1. Corrección de concentración de sacarosa a glucosa

La Ecuación 1 se utilizó para todos los casos en los que fue necesario calcular concentración de glucosa (C_G) a partir de concentración de sacarosa reportada por el equipo YSI (C_{sac}). En los casos donde se hizo dilución antes de su medición, se corrige agregando un factor de volúmenes por la dilución. El siguiente cálculo corresponde a corrida No. 7 a 90 °C de la Tabla 18:

$$C_G = \frac{9.39 \frac{g}{L}}{1.9 \cdot 10} \cdot \left(\frac{50 \ mL}{25 \ mL}\right) = 0.99\% \ (g \ glucosa/100 \ mL)$$

Toda lectura obtenida con el equipo YSI se corrigió de esta manera. El factor de dilución varía dependiendo de los volúmenes utilizados.

Cálculo 2. Conversión de harina a glucosa

Para este cálculo se utilizó la Ecuación 2. La concentración de glucosa se obtuvo corrigiendo el valor leído con el equipo YSI, como se muestra en el cálculo anterior. Se muestra el cálculo para la conversión de la corrida No. 5 de la Tabla 19. La concentración de 11.90 g/L se corrigió por el aforo y a concentración de glucosa:

$$C_{H} = \left[\frac{\left(\frac{11.90 \ g/L}{1.9}\right) \cdot \left(\frac{100 \ mL}{5 \ mL}\right) \cdot (0.100 \ L)}{25.30 \ g} - 0.0133 \frac{g}{g}\right] \cdot 100$$
$$= 48.2\% \left(g \ glucosa/100 \ g \ harina\right)$$

Cálculo 3. Concentración de etanol obtenida en la fermentación (densímetro)

El siguiente cálculo muestra cómo se calculó el ABV obtenido después de fermentar las soluciones de glucosa con el densímetro. Se utiliza la Ecuación 4 para este cálculo. Para la corrida No. 1 de la Tabla 21, se calcula así:

$$\% ABV = \frac{1.062 - 1.042}{0.776} \cdot 100 = 2.58\% (mL \ etanol/100 \ mL)$$

Cálculo 4. Rendimiento de fermentación

El rendimiento de fermentación (R_E) se calculó con la Ecuación 3. La densidad del etanol puro se tomó como (0.784 g/mL). Tomando el ABV del cálculo anterior, el cálculo es el siguiente:

$$\%R_{E} = \frac{\left(\frac{2.58 \text{ mL etanol}}{100 \text{ mL}}\right) \cdot \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}}\right) \cdot \left(\frac{0.784 \text{ g etanol}}{1 \text{ mL etanol}}\right)}{\left(\frac{77.58 \text{ g glucosa}}{L}\right) \cdot \left(\frac{0.511 \text{ g etanol}}{1 \text{ g glucosa}}\right)} \cdot 100 = 51.0\%$$

Cálculo 5. Masas de medios fermentativos

Las masas de los líquidos antes (m_a) y después de fermentar (m_{ferm}) se determinaron por diferencia de masas. Para la corrida 1, el sistema vacío pesaba 265.41 g. Antes de fermentar, su masa fue de 656.00 g y al finalizar, 646.71 g. Las masas de los líquidos se calculan así:

$$m_a = 656.00 \ g - 265.41 \ g = 390.59 \ g$$

$$m_{ferm} = 646.71 \ g - 265.41 \ g = 381.30 \ g$$

Cálculo 6. Rendimiento de bioetanol

El rendimiento de bioetanol (R_B) se calculó con la Ecuación 5, utilizando los valores de m_{ferm} obtenidos con el cálculo anterior. La masa de harina seca m_{hs} se calcula multiplicando la masa de harina (78.34 g) por 1 – Humedad (1 - 9.96% = 90.04%):

$$R_B = \frac{\left(\frac{2.58 \text{ mL bioetanol}}{100 \text{ mL}}\right) \cdot (381.30 \text{ g}) \cdot 1000}{1.042 \cdot (78.34 \text{ g harina}) \cdot \left(\frac{0.9004 \text{ g harina seca}}{1 \text{ g harina}}\right)} = 133.71 \text{ mL bioetanol/kg harina seca}$$

Cálculo 7. Masa perdida por unidad de glucosa durante la fermentación

Este cálculo se realizó para obtener las pérdidas de masa debido a la liberación de gases en la fermentación. Dicho valor servirá cuando se calcule el lote de fermentación de la planta piloto. Tomando la corrida No. 1 de fermentación, la cantidad de glucosa total inicial se puede calcular así (m_a = masa de líquido antes de fermentar en gramos):

$$Glucosa\ inicial = \frac{C_{G,i} \cdot m_a}{GE_1 \cdot 1000} = \frac{\left(77.58\frac{g}{L}\right) \cdot (390.59\ g)}{1.062 \cdot 1000} = 28.53\ g\ glucosa$$

Entonces, si se conoce la masa del medio fermentativo antes y después de fermentar, se puede relacionar su diferencia con la cantidad inicial de glucosa así:

$$m_{perdida} = \frac{m_a - m_{ferm}}{Glucosa\ inicial} = \frac{390.59\ g - 381.30\ g}{28.53\ g\ glucosa} = 0.326\ g/g\ glucosa$$

Cálculo 8. Cálculo de porcentajes de harina retenida y tamizada en el análisis granulométrico

Tomando la masa de harina retenida en la malla No. 20 y la masa inicial del Análisis 1 (Tabla 24), el porcentaje retenido se calcula así:

$$\% Retenido = \frac{Retenido}{Inicial} \cdot 100 = \frac{13.61 \ g}{100.12 \ g} = 13.6\% \ (g/100 \ g)$$

El porcentaje tamizado se calculó acumulativamente. Es decir, al porcentaje de la malla anterior se toma como valor inicial. Debido a que la malla 20 es la primera, el valor inicial de harina tamizada es el 100%:

%Tamizado = %Retenido₁ - %Retenido₂ = 100% - 13.6% = 86.4% (g/100 g)

Para la siguiente malla (No. 35), el porcentaje tamizado se calcula así:

$$\%$$
Tamizado = 86.4% - 32.1% = 54.3%

Los porcentajes de tamizado se calculan sucesivamente hasta llegar a la última malla.

Cálculo 9. Contenido de glucosa en la harina de maíz

Tomando la última entrada de la Tabla 25, el valor de C_{sac} (0.313 g/L) se convierte a concentración de glucosa con la Ecuación 1, el cual es equivalente a 0.165 g/L. Conociendo el volumen con el cual se aforó la mezcla de harina y agua (*V*), el contenido de glucosa se calcula así:

$$x_{G,i} = \frac{C_G V}{M_{H,i}} = \frac{\left(0.1656\frac{g}{L}\right) \cdot (0.100 L)}{2.0340 g} \cdot 100 = 0.81\% (g \ glucosa/100g \ harina)$$

Cálculo 10. Estimación del volumen requerido para el reactor de hidrólisis

Para el diseño del lote de producción de la planta piloto, se escogió una masa de harina por lote de 750 kg, cuya humedad promedio es del 10.65%. La cantidad de solución de ácido (*S*) requerida para tener la harina seca al 25% se calculó con la siguiente ecuación:

$$\frac{750 \cdot (1 - 0.1065)}{750 + S} = 0.25$$

Despejando *S*, se obtiene un valor de 1,926.3 kg de solución acuosa de H₂SO₄. Dado que se escogió una concentración másica del 9% de ácido, la solución se compone de 173.4 kg de H₂SO₄ y 1,752.9 kg de agua.

La densidad de una solución acuosa de H₂SO₄ a 95 °C, según Perry y Green (2008), es de 1,017 kg/m³. La densidad del maíz, de acuerdo con Chang (1988), es de 1,452 kg/m³. El volumen total se calculó sumando el volumen que ocupa la harina con el que ocupa la solución:

$$V_{total} = \frac{750 \ kg}{1,452 \ kg/m^3} + \frac{1,926.3 \ kg}{1,017 \ kg/m^3} = 2.410 \ m^3$$

Entonces, el volumen mínimo que requiere el tanque es de 2.410 m³ (637 galones). El volumen nominal del tanque seleccionado fue de 700 galones en el diseñador de tanques en la página web de Mixer Direct. Su diámetro y altura son de 1.47 y 1.63 m (58 y 64 in).

Cálculo 11. Dimensiones del agitador de ancla

Se escogió una holgura (C) del 5% entre el diámetro del tanque (T) y el diámetro del agitador (D). El diámetro de diseño del agitador se calcula así:

$$D = T \cdot (1 - C) = (1.47m) \cdot (1 - 0.05) \approx 1.40 \ m \ (55.1 \ in)$$

Se desea que la altura del agitador (*H*) sea igual a la altura de la mezcla de harina y solución ácida (*Z*). Dado que se conoce el volumen que ocupa la mezcla (2.410 m³) y el diámetro del tanque, se puede calcular el nivel del líquido:

$$Z = \frac{4 \cdot V_{total}}{\pi \cdot T^2} = \frac{4 \cdot (2.410 \ m^3)}{\pi \cdot (1.47 \ m)^2} = 1.394 \ m \ (54.9 \ in) \approx 1.40 \ m$$

Por lo tanto, la altura del agitador es la misma que el Z de 1.40 m.

Cálculo 12. Potencia de agitación del agitador de ancla

La densidad promedio de la mezcla se calculó con la ponderación de las fracciones másicas y densidades individuales de la harina de maíz y la solución ácida:

$$\rho_{mezcla} = 0.25 \cdot \left(1,452 \frac{kg}{m^3}\right) + (1 - 0.25) \cdot \left(1,017 \frac{kg}{m^3}\right) = 1,126 \ kg/m^3$$

Entonces, la gravedad específica de la mezcla (*GE*) con referencia al agua a 4 °C es de 1.126. La viscosidad (μ) de la mezcla se tomó como 1,200 cP. Este es cercano al valor máximo de viscosidad obtenido en el análisis viscoamilográfico de la harina en la solución ácida (Figura 23). Al ser un agitador grande, se escogió una velocidad de rotación moderada (*N*) de 50 RPM. El número de Reynolds de la agitación se calcula con la Ecuación 6:

$$N_{Re} = \frac{10.4 \cdot D^2 \cdot N \cdot GE}{\mu} = \frac{10.4 \cdot (55.1 \text{ in})^2 \cdot (50 \text{ RPM}) \cdot 1.126}{1,200 \text{ cP}} = 1,481$$

Utilizando la Figura 12, se estima un número de Potencia (N_P) de 0.61:



Despejando la potencia (P) de la Ecuación 7, se obtiene:

$$P = \frac{N_P \cdot N^3 \cdot D^5 \cdot GE}{1.524 \times 10^{13}} = \frac{(0.61) \cdot (50 \text{ RPM})^3 \cdot (55.1 \text{ in})^5 \cdot (1.126)}{1.524 \times 10^{13}} = 2.86 \text{ hp}$$

Por lo tanto, el motor a adquirir debe ser de 3 hp.

Cálculo 13. Vapor de calentamiento de la mezcla de hidrólisis

Para calcular el calor específico de la mezcla se ponderó el calor específico individual de la solución de H₂SO₄ y del maíz. Según Perry y Green (2008), el calor específico de la solución de ácido al 9% es de 3.867 kJ/kg·°C. Utilizando los datos de Verma y Prasad (2000), el del maíz a 95 °C y 10.65% de humedad es de 3.331 kJ/kg·°C. La ponderación es la siguiente:

$$C_{p,m} = 0.25 \cdot \left(3.331 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) + (1 - 0.25) \cdot \left(3.867 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) = 3.733 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}$$

La Ecuación 8 fue despejada para encontrar la masa de vapor requerida para calentar la mezcla (m_v). La masa total de la mezcla (m_m) es la suma de la masa de la harina (750 kg) y de la solución (1,926.3 kg). Se tomó la temperatura inicial como 25 °C. El calor latente de condensación del vapor saturado disponible a 180 °C se obtuvo con el software Chemical Logic Steam Tab (-2,014.16 kJ/kg).

$$m_{v} = \frac{-m_{m} \cdot C_{p,m} \cdot (T_{r} - T_{o})}{\lambda_{c}} = -\frac{(750 + 1,926.3 \, kg) \cdot \left(3.733 \frac{kJ}{kg \cdot °C}\right) \cdot (95 - 25 \, °C)}{-2014.16 \frac{kJ}{kg}}$$
$$= 347.2 \, kg$$

Se supuso que las pérdidas de agua por evaporación son un 5% de la cantidad de agua agregada inicialmente (1,752.9 kg). Se calcula el requerimiento de vapor adicional para calentar esta cantidad, tomando el calor específico del agua como 4.184 kJ/kg·°C:

$$m_{\nu} = 347.2 \ kg + \frac{-(0.05) \cdot (1,752.9 \ kg) \cdot \left(4.184 \frac{kJ}{kg \cdot °C}\right) \cdot (95 - 25 \ °C)}{-2,014.16 \frac{kJ}{kg}} = 360.0 \ kg$$

Para un tiempo de calentamiento (t_C) de 2 horas, el flujo de vapor se calcula con la Ecuación 9:

$$\dot{m}_v = \frac{m_v}{t_c} = \frac{360.0 \ kg}{2 \ h} = 180.0 \ \frac{kg}{h}$$

Cálculo 14. Pérdidas de calor por radiación en el reactor de hidrólisis

El área de la parte cilíndrica del tanque se calculó con la altura del tanque (H_T) y el diámetro interno determinado anteriormente (T), agregándole 10 cm para considerar el diámetro de la chaqueta:

$$A = \pi \cdot (T + 0.1 m) \cdot (H_T) = \pi \cdot (1.47 + 0.1 m) \cdot (1.63 m) = 8.03 m^2$$

El área de la sección transversal horizontal del tanque se calcula como la de un círculo:

$$A_s = \frac{\pi}{4} \cdot T^2 = \frac{\pi}{4} \cdot (1.47 \ m)^2 = 1.70 \ m^2$$

Tomando la emisividad (ϵ) del acero inoxidable como 0.05, la temperatura del vapor de 180 °C y usando la Ecuación 10:

$$q_r = \sigma \cdot \varepsilon \cdot A \cdot T^4$$

$$= \left(5.6697 \times 10^{-8} \frac{W}{m^2 \cdot K^4}\right) \cdot (0.05) \cdot (8.03 + 1.70 \, m^2) \cdot (180 + 273.15 \, K)^4$$
$$= 1,163 \, W = 1.2 \, kW$$

Estas son las pérdidas de calor por radiación del fondo del tanque y de la parte cilíndrica. La parte superior no se tomó en cuenta, puesto que se supuso que la radiación emitida por el líquido expuesto al aire es pequeña en comparación a la emitida por las superficies metálicas.

Cálculo 15. Pérdidas de calor por convección al aire en el reactor de hidrólisis (parte cilíndrica)

Las propiedades del aire a 25 °C son las siguientes:

$$\rho = 1.168 \text{ kg/m}^3$$

 $\beta = 0.00336 \text{ K}^{-1}$
 $\mu = 1.78 \times 10^{-5} \text{ kg/m} + 8$

$$\mu = 1.78 \times 10^{-6} \text{ kg/m} \cdot \text{s}$$

$$k = 0.02624 \text{ W/m} \cdot \text{K}$$

$$C_p = 1,006 \text{ J/kg} \cdot \text{K}$$

Se supone que la temperatura de la pared del reactor será la del vapor saturado (180 °C), por lo que:

$$\Delta T = (180-25)$$
 °C = 155 °C = 155 K

Sustituyendo $L \operatorname{con} H_T$, se calcula $N_{Gr} \cdot N_{Pr}$:

$$N_{Gr} \cdot N_{Pr} = \frac{L^3 \cdot \rho^2 \cdot \beta \cdot g \cdot \Delta T}{\mu^2} \cdot \left(\frac{C_p \cdot \mu}{k}\right)$$

$$=\frac{(1.63 m)^{3} \cdot \left(1.168 \frac{kg}{m^{3}}\right)^{2} \cdot (0.00336 K^{-1}) \cdot \left(9.81 \frac{m}{s^{2}}\right) \cdot (155 K)}{\left(1.78 \times 10^{-5} \frac{kg}{m \cdot s}\right)} \left[\frac{\left(1.006 \frac{J}{kg \cdot K}\right) \cdot \left(1.78 \times 10^{-5} \frac{kg}{m \cdot s}\right)}{0.02624 \frac{W}{m \cdot K}}\right]$$

 $= 6.4406 \times 10^{10}$

Usando los datos de la Figura 13 para cilindros verticales, se toma b = 0.13 y n = 0.333. El coeficiente de transferencia de calor por convección se calcula con la Ecuación 11:

$$h = \frac{k}{L} \cdot b \cdot (N_{Gr} \cdot N_{Pr})^n = \frac{0.02624 \frac{W}{m \cdot K}}{1.63 m} \cdot (0.13) \cdot (6.4406 \times 10^{10})^{0.333} = 8.34 \frac{W}{m^2 \cdot K}$$

...

Finalmente, la tasa de calor perdida se calcula con la Ecuación 12:

$$q_{c,cilindro} = hA\Delta T = \left(8.34 \frac{W}{m^2 \cdot K}\right)(8.03 \ m^2)(180 - 25 \ K) = 10,380 \ W = 10.4 \ kW$$

Cálculo 16. Pérdidas de calor totales en el reactor de hidrólisis y vapor necesario para reponerlo

Las pérdidas de calor para la parte superior e inferior del tanque se calcularon con el mismo procedimiento, pero tomando *L* como el diámetro del cilindro y *A* como el área de la sección transversal horizontal. Las pérdidas calculadas fueron de 2.4 para la tapadera y 0.6 kW para el fondo. Entonces, las pérdidas de calor totales se pueden calcular con la Ecuación 13:

$$q_T = q_r + q_c = 1.2 \, kW + (10.4 + 2.4 + 0.6 \, kW) = 14.5 \, kW$$

Si la reacción se mantiene por 2 horas, se puede calcular la cantidad de vapor requerida para reponer las pérdidas de calor:

$$m_{v,r} = 2h \cdot \left(14.5 \frac{kJ}{s}\right) \cdot \left(\frac{3,600s}{1 h}\right) \cdot \left(\frac{1 kg}{-2,014.16 kJ}\right) = 51.9 kg \ de \ vapor$$

Cálculo 17. Criterio de régimen sedimentación de la harina después de la hidrólisis Para este cálculo, se toma el tamaño de partícula más pequeño utilizado en el análisis granulométrico (210 µm). Cualquier partícula más grande que este sedimentará antes. Aunque la mezcla estará a 95 °C después de la reacción, se utilizó la viscosidad a 25 °C, a manera de sobredimensionar el tiempo requerido para la sedimentación. Debido a la falta de datos de soluciones diluidas de ácido sulfúrico y glucosa, se tomó la viscosidad del agua pura (0.89 cP). La densidad del líquido es la que se utilizó en el Cálculo 10 (1,017 kg/m³). Se utiliza la Ecuación 16 para calcular *K*_s:

$$K_s = D_p \cdot \left[\frac{g \cdot \rho \cdot (\rho_p - \rho)}{\mu^2}\right]^{\frac{1}{3}}$$

$$K_{s} = (210 \times 10^{-6}m) \cdot \left[\frac{\left(9.81\frac{m}{s^{2}}\right) \cdot \left(1,017\frac{kg}{m^{3}}\right) \cdot \left(1,452 - 1,017\frac{kg}{m^{3}}\right)}{\left(0.00089\frac{kg}{m \cdot s}\right)^{2}}\right]^{\frac{1}{3}} = 3.702$$

Cálculo 18. Velocidad terminal de sedimentación

Dado que K_s es ligeramente mayor a 2.6, la velocidad terminal (u_t) se calculó con prueba y error, suponiendo un N_{Re,p} inicial de 2.0. El coeficiente de rozamiento se obtuvo a partir de la Figura 14, con un valor aproximado de 25:



Utilizando la Ecuación 15, se estima la velocidad de sedimentación:

$$u_{t} = \sqrt{\frac{4 \cdot g \cdot (\rho_{p} - \rho) \cdot D_{p}}{3 \cdot C_{D} \cdot \rho}}$$
$$u_{t} = \sqrt{\frac{4 \cdot \left(9.81 \frac{m}{s^{2}}\right) \cdot \left(1,452 - 1,017 \frac{kg}{m^{3}}\right) \cdot 210 \times 10^{-6} m}{3 \cdot 25 \cdot \left(1017 \frac{kg}{m^{3}}\right)}} = 0.00685 \, m/s$$

Para validar la suposición inicial del Número de Reynolds, se vuelve a calcular con la velocidad encontrada anteriormente ($N_{Re,p}$, Ecuación 14):

$$N_{Re,p} = \frac{D_p \cdot u_t \cdot \rho}{\mu} = \frac{(210 \times 10^{-6}m) \cdot \left(0.00685 \frac{m}{s}\right) \cdot \left(1,017 \frac{kg}{m^3}\right)}{0.00089 \frac{kg}{m \cdot s}} = 1.64$$

Como este valor difiere en más de 10% al valor inicial supuesto, se escoge un $N_{Re,p}$ menor y se repite el cálculo. Se hizo una suposición de Número de Reynolds de 1.5, con la cual C_D fue de 32.5:

$$u_t = \sqrt{\frac{4 \cdot \left(9.81 \frac{m}{s^2}\right) \cdot \left(1,452 - 1,017 \frac{kg}{m^3}\right) \cdot 210 \times 10^{-6} m}{3 \cdot 32.5 \cdot \left(1,017 \frac{kg}{m^3}\right)}} = 0.00601 \, m/s$$

Verificando nuevamente el Número de Reynolds:

$$N_{Re,p} = \frac{D_p \cdot u_t \cdot \rho}{\mu} = \frac{(210 \times 10^{-6}m) \cdot \left(0.00601\frac{m}{s}\right) \cdot \left(1,017\frac{kg}{m^3}\right)}{0.00089\frac{kg}{m \cdot s}} = 1.44$$

Este valor difiere en un 4% con respecto al N_{Re} supuesto de 1.5, por lo que se da por buena la velocidad terminal de 0.00601 m/s.

Cálculo 19. Velocidad de sedimentación impedida y tiempo de sedimentación Con el Número de Reynolds de partícula supuesto anteriormente (1.5), se obtiene el exponente n con la Figura 15 (n = 4.2):



Con la Ecuación 17, se calcula la velocidad de sedimentación (u_s). La densidad aparente se tomó como 730 kg/m³, según Perry y Green (2008):

$$u_s = u_t \cdot \left(1 - \frac{\rho_B}{\rho_p}\right)^n = (0.00601 \ m/s) \cdot \left(1 - \frac{730 \ \frac{kg}{m^3}}{1.452 \ \frac{kg}{m^3}}\right)^{4.2} = 2.95 \times 10^{-4} \ m/s$$

Como la altura del líquido se conoce (Z = 1.40 m), se puede estimar el tiempo máximo que le tomará a las partículas sedimentar al fondo (t_s):

$$t_s = \frac{Z}{u_s} = \frac{1.40 \ m}{2.95 \times 10^{-4} \ m/s} = 4746 \ s = 79 \ min$$

Cálculo 20. Estimación del volumen de NaOH, agua de dilución y volumen del tanque de fermentación

Tomando la conversión promedio de harina a glucosa de las corridas 1 a 9 de la Tabla 29 (50.52%), la cantidad de glucosa producida en el lote es:

$$m_{Glucosa} = 750 \ kg \ harina \cdot \left(\frac{0.5052 \ kg \ glucosa}{kg \ harina}\right) = 378.9 \ kg \ glucosa$$

Como se repone la cantidad de agua perdida por evaporación, se supone que la masa de solución ácida que sale es aproximadamente igual a la inicial (1,926.3 kg), más los 378.9 kg de glucosa producidos. La densidad de esta solución se aproximó a 1,100 kg/m³ (densidad de la solución de ácido a 25 °C de 1,057 kg/m³, más un aporte aproximado de 46 kg/m³ por la glucosa disuelta).

$$V_{solución} = \frac{1,926.3 \, kg + 378.9 \, kg}{1,100 \, kg/m^3} = 2.096 \, m^3$$

Según el procedimiento experimental, se requiere aproximadamente 0.451 kg de NaOH por kg de H₂SO₄ para llevar la solución al pH deseado. Se dispone de NaOH al 50% en masa, por lo que la cantidad agregada es:

$$173.37 \ kg \ H_2SO_4 \ \left(\frac{0.451 \ kg \ NaOH}{1 \ kg \ H_2SO_4}\right) \left(\frac{1 \ kg \ solución}{0.5 \ kg \ NaOH}\right) = 156.38 \ kg \ solución \ NaOH$$

La densidad de la solución de NaOH al 50% m/m es de 1,521.7 kg/m³, por lo que el volumen añadido es:

$$V_{NaOH} = \frac{156.4 \ kg}{1,521.7 \ kg/m^3} = 0.103 \ m^3$$
Según el procedimiento experimental, el volumen del medio fermentativo fue aproximadamente el doble del volumen de la solución original rica en glucosa. La cantidad de agua requerida para la dilución es:

$$V_{Total} = 2(2.096 \ m^3) = 4.191 \ m^3$$

 $V_{agua} = 4.191 \ m^3 - 2.096 \ m^3 - 0.103 \ m^3 = 1.993 \ m^3$

El volumen total es de 4.191 m³ (1,099 galones), por lo que se seleccionó un tanque con tamaño nominal de 1,250 galones en la página web de Mixer Direct.

Cálculo 21. Pérdidas de masa durante la fermentación

Como se determinó experimentalmente (Tabla 23), se pierde 0.314 kg de masa por kg de glucosa inicial en la fermentación. La gravedad específica promedio de las soluciones antes de fermentar es de 1.0698 (1,069.8 kg/m³). La masa inicial de la solución a fermentar es:

$$m_{inicial} = 4.191 \ m^3 \left(\frac{1,069.8 \ kg}{1 \ m^3}\right) = 4,450.46 \ kg$$

A esto se le suma la masa de (NH₄)₂HPO₄ que se debe añadir (0.2 g/kg de solución):

$$m_{inicial} = 4,450.46 \ kg + 4,450.46 \ kg \left(\frac{0.0002 \ kg \ (NH_4)_2 HPO_4}{1 \ kg}\right) = 4,451.35 \ kg$$

La cantidad promedio de glucosa disponible es de 378.9 kg (calculada en el Cálculo 20), por lo que las pérdidas de masa por los gases producidos son:

$$P\acute{e}rdidas = 378.9 \ kg \ Glucosa \ \left(\frac{0.314 \ kg \ perdidos}{1 \ kg \ Glucosa}\right) = 119.07 \ kg \ perdidos$$

La masa final de la solución, después de fermentar, será:

$$m_{final} = 4,451.35 \ kg - 119.07 \ kg = 4,332.29 \ kg$$

Cálculo 22. Condiciones mínimas o iniciales de la destilación

Como no se conocen las composiciones molares, pero sí las densidades y concentraciones volumétricas de etanol, las composiciones y cantidades utilizadas son másicas. La masa

final de la fermentación es la cantidad inicial de mezcla de la destilación ($H_i = 4,332.29$ kg). Se escogió un flujo másico de vapores salientes de la columna de 250 kg/h (V). El ABV promedio después de fermentar es de 2.65% (promedio entre densímetro y Dujardin-Salleron), y la densidad promedio de la solución de 1,048 kg/m³. La densidad del etanol puro es 784 kg/m³. La composición promedio inicial de etanol ($x_{p,i}$) es:

$$\begin{aligned} x_{p,i} &= \left(\frac{0.0265 \ m^3 \ etanol}{1 \ m^3}\right) \cdot \left(\frac{1 \ m^3}{1048 \ kg}\right) \cdot \left(\frac{784 \ kg \ etanol}{1 \ m^3 \ etanol}\right) = 0.0198 \\ &= 1.98\% \ (m/m) \approx 2.00\% \ (m/m) \end{aligned}$$

El destilador cotizado produce 5 etapas de destilación (4 platos más el hervidor). A prueba y error, se trazaron las 5 etapas que van desde $x_{p,i}$ hasta una concentración de destilado aproximada de 85% en masa (equivalente a 89.4% en volumen a 20°C):



Nota: Diagrama de composición a 85 kPa

El intercepto en el eje Y de esta línea de operación es 0.190. A partir de la Ecuación 21, el intercepto se interpreta como:

$$0.190 = \frac{x_D}{R+1} = \frac{0.85}{R+1}$$

Por lo que la relación de reflujo mínima o inicial es:

$$R = \frac{0.85 - 0.190}{0.190} = 3.47$$

La pendiente de la curva de operación (L/V) es, según la Ecuación 21:

$$\frac{L}{V} = \frac{R}{R+1} = \frac{3.47}{3.47+1} = 0.776$$

El valor de la función de la integral de la Ecuación 22, para las condiciones iniciales es:

$$\frac{1}{\left(1-\frac{L}{V}\right)\cdot\left(x_{D}-x_{p,i}\right)^{2}}=\frac{1}{(1-0.776)\cdot(0.85-0.020)^{2}}=6.494$$

Cálculo 23. Tiempo de destilación

Se repite el mismo procedimiento que se hizo en el Cálculo 22. Sin embargo, cada vez se obtiene una línea de operación con una pendiente más pronunciada. Cada iteración se muestra en la Tabla 36. Se utilizará la 5ª iteración para este cálculo de muestra.

Al reducir el valor del intercepto de 0.190 a 0.100, y dibujando las 5 etapas de destilación, se obtiene la siguiente gráfica:



Nota: Diagrama de composición a 85 kPa

A partir de esta, se obtiene que x_p es 0.011. El valor de R es:

$$R = \frac{0.85 - 0.100}{0.100} = 7.500$$

La pendiente es:

$$\frac{L}{V} = \frac{7.500}{7.500 + 1} = 0.882$$

Y la función a integrar:

$$\frac{1}{(1 - 0.882) \cdot (0.850 - 0.011)^2} = 12.075$$

Se hizo 7 iteraciones, con un *R* final de 13.17 y $x_{p,f}$ de 0.006. El cálculo se detuvo aquí, ya que una iteración más aumenta *R* a valores superiores a 15, el cual es muy alto. Para obtener el valor de la integral, se hizo una gráfica de $1/(1 - L/V)(x_D - x_p)^2$ en función de x_p :



Se obtuvo una regresión potencial buena ($R^2 = 0.9923$), por lo que:

$$\int_{x_{p,f}}^{x_{p,i}} \frac{dx_p}{\left(1 - \frac{L}{V}\right) \cdot (x_D - x_P)^2} = \int_{x_{p,f}}^{x_{p,i}} 0.2270 \cdot x_p^{-0.8756} \cdot dx_p$$

$$\int_{0.006}^{0.02} 0.2270 \cdot x_p^{-0.87856} \cdot dx_p = 0.156$$

Finalmente, se puede resolver la Ecuación 22:

$$\theta = \frac{H_i \cdot \left(x_D - x_{p,i}\right)}{V} \int_{x_{p,f}}^{x_{p,i}} \frac{dx_p}{\left(1 - \frac{L}{V}\right) \cdot (x_D - x_P)^2}$$

$$\theta = \frac{(4,332.3 \, kg) \cdot (0.85 - 0.02)}{250 \, kg/h} \cdot (0.156) = 2.24 \, h$$

Cálculo 24. Cantidad de destilado y mezcla final en el hervidor

Tomando los balances de masa globales y de etanol (Ecuaciones 18 y 19):

$$H_i = D + H_f$$
$$H_f = H_i - D$$

$$x_{p,i} \cdot H_i = x_D \cdot D + x_{p,f} \cdot H_f$$
$$x_{p,i} \cdot H_i = x_D \cdot D + x_{p,f} \cdot (H_i - D)$$

Al despejar *D*, se obtiene:

$$D = H_i \cdot \frac{x_{p,i} - x_{p,f}}{x_D - x_{p,f}} = (4,332.3 \ kg) \cdot \frac{0.02 - 0.006}{85 - 0.006} = 71.86 \ kg$$

La cantidad de mezcla final (H_f) es:

$$H_f = 4,332.3 \ kg - 71.86 \ kg = 4,260.4 \ kg$$

La cantidad de destilado se convierte a volumen tomando la densidad promedio de una mezcla al 85% en masa de etanol en agua de 0.830 kg/L a 20 °C:

$$D = \frac{71.86 \ kg}{0.830 \ kg/L} = 86.58 \ L$$

La concentración de etanol en la mezcla final $(x_{p,f})$ es:

$$x_{p,f} = \frac{x_{p,i} \cdot H_i - x_D \cdot D}{H_f} = \frac{(0.02) \cdot (4,332.3 \, kg) - (0.85) \cdot (71.86 \, kg)}{4,260.4 \, kg}$$
$$= 0.0060 \, kg \, etanol/kg$$

Por lo tanto, la concentración de etanol en los residuos del alambique es del 0.60% en masa.

Cálculo 25. Vapor requerido para calentamiento y destilación del etanol

El calor requerido para calentar y destilar la mezcla se puede calcular con la Ecuación 23. El C_p y calor latente de la solución (agua con sales disueltas) se aproximó a los del agua pura. La temperatura de referencia (T_o) es de 25 °C. A esta temperatura, el C_p del agua y del etanol es de 4.183 kJ/kg·°C y 2.439 kJ/kg·°C (Perry y Green, 2008). El de la mezcla ($C_{p,Hi}$) es:

$$C_{p.H_i} = (0.02) \cdot \left(2.439 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) + (1 - 0.02) \cdot \left(4.183 \frac{kJ}{kg \, {}^{\circ}C}\right) = 4.148 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}$$

Según los datos de equilibrio (Tabla 27), la temperatura de ebullición de la mezcla (T_B) al 2% de etanol es de 92.82 °C. A esta temperatura, el calor latente de vaporización del agua y del etanol es de 2,282.47 kJ/kg y 820.67 kJ/kg, respectivamente (Perry y Green, 2008). Se calcula el calor latente de vaporización de la mezcla ($\lambda_{vap,Hi}$):

$$\lambda_{vap,H_i} = (0.02) \cdot \left(820.67 \frac{kJ}{kg}\right) + (1 - 0.02) \cdot \left(2,282.47 \frac{kJ}{kg}\right) = 2,276.45 \frac{kJ}{kg}$$

Se supone que la tasa a la que se evapora la solución en el hervidor es aproximadamente igual a la que sale de la columna (V). Aplicando la Ecuación 23, el calor total en el hervidor es:

$$Q_{R} = H_{i} \cdot C_{p,Hi} \cdot (T_{B} - T_{o}) + \theta \cdot V \cdot \lambda_{vap,Hi}$$

$$Q_{R} = (4,332.3 \, kg) \cdot \left(4.148 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) \cdot (92.82 - 25 \, {}^{\circ}C) + (2.24 \, h) \cdot \left(250 \frac{kg}{h}\right) \cdot \left(2,276.45 \frac{kJ}{kg}\right)$$

$$= 1.218 \dots \times 10^{6} \, kJ + 1.288 \dots \times 10^{6} \, kJ = 2.507 \dots \times 10^{6} \, kJ$$

Dado que el vapor proviene de la misma caldera y a las mismas condiciones, su calor latente de condensación es el mismo que en los cálculos anteriores (-2,014.16 kJ/kg). La cantidad de vapor para el hervidor ($m_{\nu,B}$) es:

$$m_{v,B} = \frac{2.507 \dots \times 10^6 \, kJ}{-\left(-2,014.16 \, \frac{kJ}{kg}\right)} = 1,244.9 \, kg \, vapor$$

Los flujos de vapor individuales para el calentamiento y la destilación se pueden calcular tomando el primer y el segundo término del cálculo de Q_R (1.218×10⁶ kJ y 1.288×10⁶ kJ, respectivamente) y convertirlos a masa de vapor con el mismo procedimiento.

Cálculo 26. Cantidad de agua de enfriamiento para el condensador

Dado que la composición del destilado se mantiene constante en $x_D = 0.85$, la temperatura a la que sale de la columna es aproximadamente 74.7 °C (Tabla 27). Este es el punto de rocío del vapor ($T_{rocío}$), ya que está saturado. A una composición en el líquido de 0.85, la temperatura de burbuja (T_{burb}) es 74.05 °C. El calor latente de condensación del etanol y del agua en el punto de rocío es de 850.80 kJ/kg y 2,326.68 kJ/kg, respectivamente (Perry y Green, 2008). El calor latente de la mezcla es:

$$\lambda_{c,rocio} = (0.85) \cdot \left(-850.80 \frac{kJ}{kg}\right) + (1 - 0.85) \cdot \left(-2,326.68 \frac{kJ}{kg}\right) = -1,072.18 \frac{kJ}{kg}$$

El calor específico de la mezcla ($C_{p,V}$) es:

$$C_{p,V} = (0.85) \cdot \left(2.439 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) + (1 - 0.85) \cdot \left(4.183 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) = 2.700 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}$$

Usando la Ecuación 24, el calor total que sale del condensador es:

$$Q_{C} = -\theta \cdot V \cdot \left[C_{p,V} \cdot (T_{burb} - T_{rocio}) + \lambda_{c,rocio}\right]$$
$$Q_{C} = -(2.24 h) \cdot \left(250 \frac{kg}{h}\right) \cdot \left[\left(2.700 \frac{kJ}{kg \cdot {}^{\circ}C}\right) \cdot (74.05 - 74.7 \,{}^{\circ}C) + \left(-1.072.18 \frac{kJ}{kg}\right)\right]$$
$$= 6.024 \dots \times 10^{5} kJ$$

Suponiendo que se dispone de agua a 20 °C, y que saldrá a 55 °C ($C_p = 4.18 \text{ kJ/kg} \cdot ^{\circ}\text{C}$), la cantidad requerida es:

$$m_{agua,c} = \frac{6.024 \dots \times 10^5 \ kJ}{\left(4.18 \frac{kJ}{kg \cdot °C}\right) \cdot (55 - 20 \ °C)} = 4,118.5 \ kg$$

El flujo másico de agua requerido durante las 2.24 horas es:

$$\dot{m}_{agua,c} = \frac{4,118.5 \ kg}{2.24 \ h} = 1,835.5 \ \frac{kg}{h}$$

El caudal de agua equivalente a esto (tomando su densidad como 0.998 kg/L) es:

$$Caudal = \left(1,835.5\frac{kg}{h}\right) \cdot \left(\frac{1\ L}{0.998\ kg}\right) \cdot \left(\frac{1\ h}{60\ min}\right) = 30.7\ L/min$$

Cálculo 27. Productividad anual de la planta piloto de bioetanol

A partir de la Figura 29, se determinó que se puede procesar 20.4 lotes en 30 días si se instalan tres fermentadores. Suponiendo que se disponen de 345 días al año para trabajar, se estimó la cantidad de lotes que se pueden producir:

$$\frac{\text{Lotes}}{a\|o} = \left(\frac{20.4 \text{ lotes}}{30 \text{ dias}}\right) \cdot \left(\frac{345 \text{ dias}}{1 \text{ a}\|o}\right) = 234.6 \text{ lotes}/a\|o\| \approx 234 \text{ lotes}/a\|o\|$$

Como cada lote produce 86.58 L de bioetanol al 89.4% en volumen (20 °C):

$$\frac{Litros}{a\tilde{n}o} = \left(\frac{234\ lotes}{a\tilde{n}o}\right) \cdot \left(\frac{86.58\ L}{lote}\right) = 20,260.04\ L/a\tilde{n}o$$

Cálculo 28. Costo y precio unitario de cada litro de etanol al 89.4% (v/v a 20°C) Sabiendo los subtotales de los costos de producción de la Tabla 7, se encuentra el costo total por lote:

$$\frac{Costo}{Lote} = Q.1,083.55 + Q.704.22 + Q.568.80 = \frac{Q.2,356.57}{lote}$$

Como se sabe que se producen 86.58 L del producto por lote, el costo unitario de producción, incluyendo envase (Q. 0.661/L), es:

$$\frac{Costo}{L} = \left(\frac{Q.2,356.57}{1 \ lote}\right) \cdot \left(\frac{1 \ lote}{86.58 \ L}\right) + \frac{Q.0.661}{L} = Q.27.879 \dots / L = Q.27.88 / L$$

Como se explicó en la sección de *Evaluación Económica* de la Discusión, el precio de venta para cada litro se estimó en un 10% sobre el costo unitario (sin IVA):

$$\frac{Precio}{L} = (1.10) \cdot (Q.27.879 \dots /L) = Q.30.67/L$$

Cálculo 29. Estimación del flujo de caja anual (Utilidades netas más ahorros por no descartar la harina)

Ya se ha calculado que, anualmente, se esperaría producir 20,260 L de bioetanol al 89.4% en volumen (20 °C). Los ingresos esperados por ventas son:

$$\frac{Ingresos}{a\tilde{n}o} = \left(\frac{20,260.04 L}{a\tilde{n}o}\right) \cdot \left(\frac{Q.30.67}{L}\right) = Q.621,319.30/a\tilde{n}o$$

Los costos de producción anuales:

$$\frac{Costos}{a\tilde{n}o} = \left(\frac{Q.27.879...}{1\,L}\right) \cdot \left(\frac{20,260.04\,L}{1\,a\tilde{n}o}\right) = Q.564,835.73/a\tilde{n}o$$

Los ahorros anuales por no descartar la harina:

$$\frac{Ahorros}{a\tilde{n}o} = \left(\frac{234 \ lotes}{1 \ a\tilde{n}o}\right) \cdot \left(\frac{750 \ kg \ harina}{1 \ lote}\right) \cdot \left(\frac{Q.\ 0.57 \ ahorrados}{1 \ kg \ harina}\right)$$
$$= Q.\ 100,035.00/a\tilde{n}o$$

Con estos datos, se estimó el flujo de caja que se esperaría para 1 año de producción. El Impuesto Sobre la Renta (ISR) se calculó como el 25% de la utilidad antes de impuestos:

(+) Ingresos por ventas	Q. 621,319.30
(-) Costos de producción	Q. 564,835.73
(=) Utilidad antes de impuestos	Q. 56,483.57
(-) ISR (25% utilidad)	Q. 14,120,89
(=) Utilidad neta	Q. 42,362.68
(+) Ahorros de harina	Q. 100,035.00
(=) Ganancias totales	Q. 142,397.68

Por lo tanto, el flujo de caja para cada año es de Q. 142,397.68.

Cálculo 30. Tasa interna de retorno de la inversión (TIR)

Suponiendo que el flujo de caja (F) es constante para cada año, y tomando un plazo n de 15 años, se utilizó la Ecuación 25 para el cálculo de la TIR. El valor de la inversión P es de Q. 1,515,756.02:

$$-P + \sum_{i=1}^{n} \frac{F}{(1+TIR)^{n}} = 0$$
$$-(Q.1,515,756.02) + \sum_{i=1}^{15} \frac{Q.142,397.68/año}{(1+TIR)^{15}} = 0$$

Para resolver esto, se utilizó la función =TASA(n, F, -P) en Excel. La TIR resultante fue de **4.63%**.

Cálculo 31. Período de retorno simple y descontado al 5% (NPER) El período de retorno simple se estimó con la Ecuación 26:

$$NPER = \frac{P}{F} = \frac{Q.1,515,756.02}{Q.142,397.68/año} = 10.65 \ anos$$

Para el método descontado, se calculó el período de retorno con una tasa de retorno del 5% (*i*). Sustituyendo las variables con los datos, la Ecuación 27 se ve así:

$$0 = -(Q.1,515,756.02) + (Q.142,397.68/ano) \frac{(1+5\%)^{NPER} - 1}{5\%(1+5\%)^{NPER}}$$

Esta ecuación se resolvió utilizando la función NPER(i, F, -P) de Excel. El NPER resultante fue de **15.57 años**.

12.4 Datos calculados

Tiempo de reacción	C_G		
(min)	(m/v)		
	90 °C	95 °C	
15	0.11%	0.19%	
30	0.37%	0.71%	
45	0.67%	1.15%	
60	0.77%	1.42%	
75	0.89%	1.57%	
90	0.99%	1.57%	
105	1.15%	1.68%	
120	1.36%	-	
135	1.60%	-	

Tabla 28. Concentraciones de glucosa obtenidas en la hidrólisis ácida de la harina
en función de la temperatura y el tiempo de reacción

Tabla 29.	Concentre	aciones de	glucosa y	conversiones	obtenidas	en la l	hidrólisis
	ácida de la	a harina ei	n función	de su proporci	ión en la m	nezcla	

No	C_G	Conversión
190.	(m / v)	(m / m)
1	9.74%	53.8%
2	10.47%	46.2%
3	10.47%	45.1%
4	14.84%	57.9%
5	12.53%	48.2%
6	13.37%	49.2%
7	16.84%	54.6%
8	17.68%	49.1%
9	18.32%	50.5%
10	16.84%	40.3%
Prom	edio 1-9*	50.5%

No se tomó en cuenta la No. 10, puesto que la conversión observada disminuye a partir de la concentración de harina utilizada en esa corrida.

No	C_G	Conversión
110.	(m / v)	(m/m)
1	0.85%	5.44%
2	1.37%	7.82%
3	1.57%	10.90%

Tabla 30. Concentraciones de glucosa y conversiones obtenidas en la hidrólisisenzimática de la harina

Tabla 31.	Concentraciones	de glucosa	antes y	después	de fermentar	y diferencia de
		densidades	s del fer	rmentado)	

No.	C _{G, 1} (g/L)	C _{g, 2} (g/L)	GE_1 - GE_2
1	77.58	0.00	0.020
2	87.68	0.18	0.025
3*	114.70*	0.00	0.022
4	79.58	0.00	0.023
5	77.47	0.00	0.021

*Nota: La concentración inicial de glucosa en esta corrida no es confiable debido a la descalibración del equipo.

Tabla 32. Concentraciones de etanol (ABV), rendimientos de fermentación yrendimientos de bioetanol obtenidos por corrida

Densímetro					Dujardin-Salle	eron
Corrida		Rendimiento de	Rendimiento de		Rendimiento de	Rendimiento de
No	ABV	fermentación	bioetanol	ABV	fermentación	bioetanol
110.		(\mathbf{R}_E)	$(R_B, mL/kg seco)$		(\mathbf{R}_E)	$(R_B, mL/kg seco)$
1	2.58%	51.0%	133.7	-	-	-
2	3.22%	56.4%	151.6	-	-	-
3*	2.84%	37.9%*	160.0	2.30%	30.8%*	129.8
4	2.96%	57.1%	146.5	2.80%	54.0%	138.4
5	2.71%	53.6%	147.9	2.20%	43.6%	120.2

*Nota: Los valores de R_E para esta corrida no son confiables debido a la descalibración del equipo.

No.	Masa inicial (± 0.01 g)	Masa final (± 0.01 g)	Masa perdida (g/g glucosa)
1	390.59	381.30	0.326
2	383.97	373.96	0.325
3	450.41	440.91	_*
4	401.54	392.38	0.313
5	447.33	437.82	0.293
	Promedio		0.314

Tabla 33. Masas del medio fermentativo antes y después de la fermentación

*Nota: La descalibración del equipo YSI causó que este dato no se pudiera calcular, ya que no se conoció la concentración de glucosa real.

Tabla 34. Porcentajes de harina retenida y tamizada en cada malla en el análisisgranulométrico

		Aná	Análisis 1		lisis 2	Análisis 3	
No. Malla ASTM	Tamaño (µm)	%Retenido	%Tamizado	%Retenido	%Tamizado	%Retenido	%Tamizado
20	850	13.6%	86.4%	17.2%	82.8%	16.6%	83.4%
35	500	32.1%	54.3%	30.6%	52.2%	31.1%	52.3%
40	425	41.6%	12.7%	45.7%	6.5%	47.3%	4.9%
50	297	7.5%	5.2%	4.4%	2.1%	3.6%	1.4%
60	250	0.1%	5.1%	0.1%	2.0%	0.1%	1.3%
70	210	0.3%	4.8%	0.2%	1.8%	0.1%	1.1%
Pasa 70	<210	1.4%	0.0%	0.7%	0.0%	0.3%	0.0%

	Contenido de
No.	glucosa
	$(\mathbf{x}_{G,i}, \mathbf{m}/\mathbf{m})$
1	1.06%
2	1.45%
3	1.12%
4	1.28%
5	1.18%
6	1.36%
7	1.50%
8	1.55%
9	1.54%
10	1.61%
11	1.44%
12	1.48%
13	1.52%
14	1.51%
15	1.52%
16	1.29%
17	1.24%
18	0.90%
19	0.81%
Promedio ± Desv. Est.	$1.33 \pm 0.23\%$

Tabla 35. Contenidos de glucosa en la harina

Tabla 36. Iteraciones para cada línea de operación de destilación

No.	Intercepto	L/V	R	XP	$1/(1-L/V)(x_D-x_P)^2$
1	0.190	0.776	3.474	0.020	6.494
2	0.160	0.812	4.313	0.018	7.675
3	0.140	0.835	5.071	0.016	8.729
4	0.120	0.859	6.083	0.014	10.135
5	0.100	0.882	7.500	0.011	12.075
6	0.080	0.906	9.625	0.008	14.987
7	0.060	0.929	13.167	0.006	19.888

12.5 Tablas y figuras adicionales

Figura 24. Relación entre la concentración de α -amilasa y la concentración de glucosa obtenida después de la licuefacción y sacarificación (3 horas cada una)



Figura 25. Tubos de ensayo con harina centrifugada después de la hidrólisis ácida



Figura 26. Sistema de fermentación utilizado



Figura 27. Apariencia del medio fermentativo durante la fermentación



Figura 28. Apariencia de la harina de maíz retenida en los tamices ASTM No. 20 (a), 35 (b), 40 (c) y 50 (d)









Figura 29. Comparación de lotes producidos basado en el número de fermentadores

• Cada cuadro de fermentación cuenta como 1/5 de un lote, puesto que se obtiene un lote nuevo cada 5 días. El lote se cuenta terminado cuando la destilación ocurre.

- La fermentación, al ser el proceso más tardado (cuello de botella), ocurre en todo momento.
- Como solo se propone 1 reactor de hidrólisis, este debe estar disponible para cada nuevo lote.
- El conteo de lotes se empezó desde el día 0, en el cual se obtiene el primer lote destilado de bioetanol. El arranque de la planta piloto ocurre entre los días -5 a 0.
 - Con un fermentador, se obtienen 7.0 lotes en 30 días (0.23 lotes/día)
 - Con dos fermentadores, 13.8 lotes (0.46 lotes/día)
 - Con tres fermentadores, 20.4 lotes (0.68 lotes/día). Por lo tanto, la planta piloto se propuso con esta cantidad de fermentadores.



condiciones de los flujos son las mismas, independientemente de cuál fermentador se use.

Figura 30. Diagrama de proceso de la planta piloto propuesta

12.6 Glosario

ABV (**Alcohol By Volume**): Concentración porcentual de etanol en unidades volumétricas (volúmenes de etanol / volumen total).

Almidón: Macromolécula polimérica compuesta por cadenas largas de moléculas de glucosa unidas en serie.

Bioetanol: Etanol obtenido a partir de fuentes renovables, tales como granos, plantas o desechos industriales.

Calor específico: Cantidad de energía que se debe aplicar o remover para que una masa de una sustancia aumente o disminuya su temperatura en 1 grado.

Calor latente de condensación: Cantidad de energía que una masa de una sustancia cede al pasar de estado gaseoso a líquido. Su valor es el mismo que el calor latente de vaporización, pero con el signo opuesto.

Conversión: Cantidad de sustrato o reactivo que ha reaccionado para formar los productos deseados. Generalmente se da como un porcentaje.

Densidad: Cantidad de masa que ocupa un volumen dado de una sustancia.

Destilación: Operación unitaria en la cual se separa una mezcla de dos o más compuestos volátiles, en la cual el producto tiene una alta concentración en el componente menos volátil.

Economía de escala: Efectos que ocurren sobre los costos y retornos de una empresa al variar las tasas de producción. Generalmente, un aumento de unidades producidas puede reducir los costos totales y mejora la rentabilidad.

Etanol: Alcohol de fórmula química (C_2H_6O) utilizado comúnmente en procesos de manufactura y farmacéuticos, como desinfectante y combustible.

Fermentación enzimática: Transformación de un sustrato a un producto a través una reacción química con una enzima que actúa específicamente con el sustrato.

Fermentación microbiana: Transformación de un sustrato a un producto a través del metabolismo de un microorganismo.

Glucosa: Monosacárido constituido de 6 carbonos ($C_6H_{12}O_6$). Es uno de los azúcares más simples y comunes en la naturaleza.

Granulometría: Estudio de los tamaños de partícula de los sólidos y su distribución de tamaños.

Hidrólisis: Reacción química en la cual se rompen enlaces mediante la adición de moléculas de agua. Esto causa una reducción del tamaño de la molécula hidrolizada.

Número de Reynolds (N_{Re}): Número adimensional con el cual se determina el régimen de flujo de un fluido. Los tres regímenes son laminar, transición y turbulento.

Período de recuperación de la inversión (NPER): Cantidad de tiempo que debe transcurrir para recuperar la inversión realizada para implementar un proyecto.

Planta piloto: Planta de tamaño o escala semiindustrial, utilizada para experimentar y determinar las propiedades de un proceso antes de su escalamiento a una planta industrial.

Punto de burbuja: Para una presión dada, es la temperatura en la cual un líquido o una mezcla ebulle.

Punto de rocío: Para una presión dada, es la temperatura en la cual un gas o una mezcla gaseosa se condensa.

Reflujo: En destilación, es el flujo de destilado que se retorna a la cabeza de la columna de destilación para obtener un producto de mayor concentración.

Sedimentación: Proceso de asentamiento de una partícula sólida suspendida en un medio líquido.

Tasa Interna de Retorno (TIR): Es la tasa de rendimiento porcentual de un proyecto *n* períodos después de haberse implementado.

Tasa Mínima Atractiva de Retorno (TMAR): Es la tasa de rendimiento porcentual mínima que un proyecto debe generar para ser aceptado. Su valor depende de las metas que la persona o empresa establece al evaluar el proyecto.

Unidades enzimáticas (U): Cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato a producto en 1 minuto.

149

Vapor saturado: Vapor, generalmente de agua, utilizado para el calentamiento de equipos o materiales en procesos industriales.

Viscoamilografía: Análisis en el cual se estudia el cambio de viscosidad debido al calentamiento del almidón contenido en una muestra.

Viscosidad: Propiedad física de los fluidos, que indica su resistencia a fluir.