EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL PARTIENDO DE LA FERMENTACIÓN DE LOS AZÚCARES CONCENTRADOS EN LAS BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS VENCIDAS POR MEDIO DE Saccharomyces cerevisiae.

IVAN ALEXANDER SALAZAR VARGAS JORGE ROQUE VILLAMIZAR SÁNCHEZ

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA FACULTAD DE INGENIERÍAS PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA BOGOTÁ D.C. 2019 EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL PARTIENDO DE LA FERMENTACIÓN DE LOS AZÚCARES CONCENTRADOS EN LAS BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS VENCIDAS POR MEDIO DE Saccharomyces cerevisiae.

IVAN ALEXANDER SALAZAR VARGAS JORGE ROQUE VILLAMIZAR SÁNCHEZ

Proyecto integral de grado para optar al título de: INGENIERO QUÍMICO

> Director JEISON ALFREDO SOLER CARO Ingeniero Químico

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA FACULTAD DE INGENIERÍAS PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA BOGOTÁ D.C. 2019

Nota de aceptación:

Ingeniera Elizabeth Torres Gámez Presidente del Jurado

Microbióloga Diana Morales Fonseca Jurado 1

Ingeniero Oscar González Peña Jurado 2

Bogotá D.C., febrero de 2019

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del claustro

Dr. Jaime Posada Díaz

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Decano Facultad de Ingenierías

Ing. Julio César Fuentes Arismendi

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. Leonardo De Jesús Herrera Gutiérrez 4

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

Primordialmente este trabajo de grado va dedicado a mis padres Martha Lucia Vargas Cubides e Ivan Salazar Martínez, que con su apoyo incondicional y su gran amor estuvieron a mi lado desde el comienzo de mi carrera hasta convertirme en profesional. Los amo.

A mis abuelas materna y paterna, que siempre me apoyaron en las situaciones difíciles y que hoy son gran causa de mi éxito.

A mis amigos Jeison Soler, David Rodríguez, Daniel Velásquez, Sergio Paredes, Diana López, Jhon Herrera, Andrés León y Diana Garzón por su amistad, apoyo incondicional y experiencias vividas durante mi carrera profesional que siempre llevare presente en mi corazón.

A los profesores Jayerth Guerra, Oscar González, Felipe Correa, Yovanny Morales y Elizabeth Torres, que dejaron en mí, conocimientos invaluables que me servirán a lo largo de mi vida académica y laboral.

DEDICATORIA

Este trabajo de grado es dedicado a mis padres no solo por sus bendiciones, alentarme en salud y darme sabiduría para poder culminar mi carrera. Gracias por apoyarme incondicionalmente a seguir adelante a pesar de las dificultades, gracias por sus consejos que me permitieron crecer día a día como persona, gracias por ensenarme a luchar por mis metas y gracias por implantarme constantemente excelentes valores morales.

A mi hermano por ayuda y apoyo condicional a lo largo del trabajo de grado.

A mi amigo y compañero de trabajo, gracias por su paciencia, constancia, dedicación, esfuerzo y su labor excelsa para poder acabar en su totalidad este proyecto de investigación.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto de grado se lo dedicamos a nuestros padres y familiares, que estuvieron presentes desde el inicio de esta hermosa aventura, hasta este punto crucial de nuestra carrera y aún más de nuestras vidas. Gracias por inculcarnos todos los valores necesarios como lo fueron el respeto, honestidad, responsabilidad y sobre todo amor por el estudio, los cuales fueron nuestras bases para alcanzar esta meta.

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos al ingeniero y director del proyecto Jeison Alfredo Soler Caro, por sus conocimientos otorgados y por el tiempo dedicado, tanto en la parte experimental como en la parte investigativa del proyecto. Por su excelente orientación y motivación, con la cual hemos podido culminar satisfactoriamente este trabajo de grado. A la profesora y asesora Elizabeth Torres por su enriquecedora orientación en la elaboración y el énfasis del documento.

A los profesores María Angélica Parra, Oscar González y Felipe Correa por su orientación y aporte de su conocimiento en el desarrollo de este proyecto de grado.

A nuestra amiga y compañera Karen Guerrero López por su colaboración, su apoyo incondicional y el tiempo otorgado en el desarrollo investigativo y experimental del proyecto.

Y a todas aquellas personas que hicieron que este proyecto fuera posible.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	33
OBJETIVOS	34
 MARCO TEORICO 1.1 BIOETANOL 1.1.1 Aplicaciones 2 OBTENCIÓN DE ETANOL 1.2.1.1 Vía química 1.2.2 Vía biotecnológica 1.2.2.1 Microorganismos productores de etanol 1.2.2.2 Rutas metabólicas 1.3 NUTRIENTES 1.4 BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS 1.4.1 Materias primas utilizadas en la elaboración 1.4.1.1 Agua carbonatada 1.4.1.2 Gas carbónico 1.4.1.3 Sacarosa 1.4.1.4 Acidulantes 1.4.1.5 Conservadores 	35 35 37 39 40 41 42 44 45 46 46 46 46 46 46
1.4.1.6 Edulcorantes	47
 1.4.1.7 Colorantes 1.4.2 Proceso de elaboración de la bebida carbonatada 1.4.2.1 Tratamiento de agua 1.4.2.2 Desarrollo del jarabe 	47 47 48 48
 1.5 REACCIÓN DE BENZOATO DE SODIO Y ÁCIDO ASCÓRBICO 1.6 DETERMINACIÓN DE ETANOL 1.6.1 Método volumétrico 1.6.2 Cromatografía de gases 	50 52 52 53
 1.6.2.1 Componentes del cromatografo de gases 1.6.2.2 Principios básicos de la cromatografía de gases 1.7 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES 1.7 Determinación de azúceres reductores par el método del DNS 	53 54 55
 1.7.1 Determinación de azucares reductores por el metodo del DNS 1.7.2 Hidrólisis ácida 1.7.2.1 Hidrólisis ácida para la sacarosa con ácido sulfúrico 1.2.1 EDMINACIÓN DE DIOMACA 	55 56 56
1.8 DETERMINACIÓN DE BIOMASA 1.8.1 Método por turbidimetría 1.8.1.1 Propiedades de la luz	57 57 57

1.8.1.2 Absorción de la luz	58
1.8.2 Método por filtración de membrana	58
1.8.2.1 Filtración	58
1.8.2.2 Microfiltración y ultrafiltración	59
1.9 DETERMINACIÓN DE BENZOATO DE SODIO	60
1.9.1 Cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC)	60
1.9.2 Componentes de la cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC)	60
1.9.2.1 Adquisición de datos y sistemas de control	61
1.9.2.2 Bomba	61
1.9.2.3 Columna	61
1.9.2.4 Depósito de disolvente	61
1.9.2.5 Detectores	61
1.9.2.6 Fase móvil	61
1.9.2.7 Horno de columna	62
1.9.2.8 Inyectora	62
1.9.3 Principios básicos de la cromatografía liquida de alta eficiencia	62
2. MATERIALES Y METODOLOGIA	64
2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	64
2.2 MATERIALES Y EQUIPOS	64
2.2.1 Obtencion de etanol por termentacion.	64
2.2.1.1 Bebida gaseosa carbonatada vencida	64
	65
	65
2.2.1.4 Equipos y materiales utilizados en la experimentación	66
2.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	/1
2.3.1 Diseño de experimentos	71
2.3.1.2 Identificación de las variables independientes	70
2.3.1.2 Identificación de las variables independientes	72
2.3.1.5 Selección de la valiable respuesia	73
2.3.1.4 Selección de diseña de experimentos	73
2.3.1.5 Selección del diseño de experimentos	74
2.3.2 Obtención por rermentación de bioetanoi en el diseño de	76
2 3 2 1 Activación de la cena	70
2.3.2.2 Prenaración de los nutrientes	78
2.3.2.3 Preparación de medios de cultivo	80
2.3.2.4 Fermentación	83
2.3.3 Obtención por fermentación de bioetanol para el análisis cinético	84
2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS VENCIDAS	85

2.4.1 Determinación de benzoato de sodio por cromatografía HPLC	85
2.4.2 Determinación de grados Brix (ºBx)	87
2.4.3 Determinación del volumen de carbonatación	88
2.4.4 Determinación de la densidad	89
2.4.5 Determinación del potencial de hidrógeno (pH)	90
2.5 CARACTERIZACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS	91
2.5.1 Determinación de acido ascorbico por cromatografia HPLC	91
2.5.2 Determinación de azucares reduciores DNS	93
2.5.2. Determinación de creatimiente microbiano por turbidimetría	90
2.5.3 Determinación de las cinéticas de crecimiento microbiano	90
2.5.4 Determinación de etanol por método volumétrico	08
2.5.4 Determinación de alcoholes por cromatografía de gases	100
2.5.5.1 Determinación de etanol por cromatografía de gases	100
2.5.5.2 Determinación de metanol por cromatografía de gases	102
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	104
3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA BEBIDA GASEOSA CARBONATADA	
VENCIDA	104
3.1.1 Determinación de benzoato de sodio por HPLC	104
3.1.2 Determinación de grados Brix (ºBx)	107
3.1.3 Determinación del volumen de carbonatación	108
3.1.4 Determinación de la densidad	109
3.2 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	110
3.2.1 Obtención de etanol	111
3.2.1.1 Hipótesis	111
3.2.1.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol	112
3.2.1.3 Análisis estadístico de los datos	112
3.2.1.4 Conclusiones v recomendaciones	115
3.2.2 Aiuste de las variables independientes en el proceso para la	_
obtención de bioetanol	116
3.2.2.1 Hipótesis	116
3.2.2.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol	118
3.2.2.3 Análisis de datos	118
3.2.2.4 Conclusiones y recomendaciones	119
3.2.3 Concentración de sustrato final	119
3.2.3.1 Hipótesis	119
3.2.3.2 Datos experimentales de la concentración de sustrato final	120
3.2.3.3 Análisis estadístico de los datos	121
3.2.3.4 Conclusiones y recomendaciones	123
3.2.4 Potencial de hidrógeno (pH) final	124

3.2.4.1 Hipótesis	125
3.2.4.2 Datos experimentales del potencial de hidrogeno (pH) final	125
3.2.4.3 Análisis estadístico de los datos	126
3.2.4.4 Conclusiones y recomendaciones	128
3.2.5 Obtención de bioetanol	130
3.2.5.1 Hipótesis	130
3.2.5.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol	131
3.2.5.3 Análisis estadístico de los datos	131
3.2.5.4 Conclusiones y recomendaciones	133
3.3 ANÁLISIS ESTEQUIOMETRICO DE LA REACCIÓN DEL BENZOATO	
DE SODIO Y EL ÁCIDO ASCÓRBICO	135
3.3.1 Determinación de benzoato de sodio y ácido ascórbico por HPLC	138
3.4 ANALISIS CINETICO 2.4.1 Anéliais ainético del crocimiento de la Sacebaramycon acrovision	140
3.4.1.1 Analisis cinello del crecimiento de la Saccharomyces cerevisiae	140
3 4 1 2 Cinética del crecimiento de la Saccharomyces cerevisiae	143
3 4 2 Análisis cinético del consumo de azúcares	140
3.4.2.1 Curva de calibra.	149
3.4.2.2 Cinética del consumo de azúcares	150
3.4.3 Análisis cinético de la obtención de bioetanol	158
3.4.3.1 Cinética de la obtención de alcoholes.	158
4. INGENERIA CONCEPTUAL DEL PROYECTO	167
4.1 DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO	167
4.1.1 Tanque de almacenamiento de gaseosa carbonatada vencida	168
4.1.1.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento de gaseosa	400
carbonatada vencida	168
4.1.1.2 Requerimientos tecnicos del tanque de almacenamiento de bebida	470
gaseosa carbonatada vencida	170
4.1.2 Silo del almacenamiento del acido ascorbico	172
	170
ascorpico	173
4.1.2.2 Requerimientos tecnicos del silo para almacenamiento del acido	470
	176
4.1.3 Reactor Batch 4.1.2 1 Dimensionemiente del reseter Batch	1//
4.1.3.1 Dimensionamiento del reactor Batch	101
4.1.3.2 Requerimientos techicos del Reactor Batch	100
	109
4.1.4 FIIIIU. 1.1.4 1 Recomendaciones de rendimiento	190
4.1.4.2 Balance de materia para al filtro	100
4. 1.4.2 Dalance de materia para el milo	192

4.1.5 Tanque de almacenamiento del producto después de la reacción	193 193
4.1.5.2 Requerimientos tácnicos del tanque de almacenamiento del	190
nroducto después de su reacción	105
A 1.6 Torre de destilación para la concentración de azúcares	107
4 1 6 1 Tipos de platos	198
4 1 6 2 Simulación de la torre de destilación	199
4 1 6 3 Método cortó	199
4.1.6.4 Método de fraccionamiento riguroso	200
4.1.6.5 Dimensionamiento de la torre de destilación para la concentración	
de azúcares	202
4.1.6.6 Requerimientos técnicos de la torre de destilación para la	
concentración de azúcares	206
4.1.6.7 Balance de energía para la torre de destilación	209
4.1.7 Tanque de almacenamiento del destilado	210
4.1.7.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento del destilado	210
4.1.7.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento del	
destilado	212
4.1.8 Bioreactor Batch	214
4.1.8.1 Dimensionamiento del bioreactor Batch	215
4.1.8.2 Requerimientos técnicos del bioreactor Batch	221
4.1.8.3 Especificaciones del aislante térmico para el bioreactor batch	222
4.1.8.4 Balance de energía del bioreactor Batch	224
4.1.9 Tanque de almacenamiento de la fermentación	224
4.1.9.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento de la	
termentación	225
4.1.9.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento de la	~~-
termentación	227
	220
5.1 COSTOS DE FOUIPOS	229
5.1.1 Costo del tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa	220
carbonatada vencida	229
5.1.2 Costos del silo del almacenamiento del ácido ascórbico	230
5.1.3.1 Costo del tanque del reactor Batch	231
5.1.3.2 Costo del agitador del reactor Batch	232
5.1.3.3 Costos energéticos del reactor Batch.	233
5.1.4 Costo del filtro	234
5.1.6 Costos de la torre de destilación	235
5. 1.0.2 Costos del tengue de elegenemiente del destilado	230
5.1.7 Costos del tanque de almacenamiento del destilado	231

5 1 8 Costo del hioreactor Batch	228
5.1.0 Costo del tangue del reactor Batch	200
	230
5.1.8.2 Costo del agitador del bioreactor Batch	239
5.1.8.3 Costos del aislante térmico	240
5.1.8.4 Costos energéticos del bioreactor Batch	241
5.1.9 Costos del tanque de almacenamiento de la fermentación	241
5.2 COSTO TOTAL	243
5.3 ANÁLISIS DE COSTOS DE AMORTIZACIÓN	244
6. CONCLUSIONES	245
7 RECOMENDACIONES	247
	217
BIBLIOGRAFÍA	248
ANEXOS	252
ANEXOS	252

LISTA DE CUADROS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades del etanol	36
Tabla 2. Especificaciones de calidad del etanol	37
Tabla 3. Interrelación de los niveles y rangos.	74
Tabla 4. Diseño factorial 3 ²	75
Tabla 5. Tabla de análisis de varianza ANOVA	75
Tabla 6. Nitrógeno amoniacal	79
Tabla 7. Nitrógeno nítrico	79
Tabla 8. Sacarosa	80
Tabla 9. Cantidad de carbono presentes en los medios de cultivo	80
Tabla 10. Preparación de cultivos	97
Tabla 11. Condiciones cromatográficas	102
Tabla 12. Tabla de resultados del benzoato de sodio por cromatografía	
HPLC	104
Tabla 13. Resultados de la determinación de azúcares por grados Brix	
(°Bx)	107
Tabla 14. Resultado de la determinación del volumen de	
carbonatación	108
Tabla 15. Resultados de la determinación de la densidad	110
Tabla 16. Resultados del de la determinación de potencial de	
hidrógeno (pH)	110
Tabla 17. Tabla de datos de la obtención de bioetanol	112
Tabla 18. Análisis de varianza ANOVA	114
Tabla 19. Preparación de cultivos	117
Tabla 20. Tabla de datos de la obtención de bioetanol	118
Tabla 21. Tabla de datos de la concentración de sustrato final	121
Tabla 22. Análisis de varianza ANOVA	122
Tabla 23. Tabla de datos del potencial de hidrógeno (pH) final	126
Tabla 24. Análisis de varianza ANOVA	128
Tabla 25. Tabla de datos de la obtención de bioetanol	131
Tabla 26. Análisis de varianza ANOVA	133
Tabla 27. Estequiometria de la reacción	136
Tabla 28. Moles de entrada y salida del reactor	137
Tabla 29. Entradas y salidas finales del reactor	138
Tabla 30. Tabla de datos de las cromatografías HPLC	139
Tabla 31. Cuantificación de células por cama de Neubauer	141
Tabla 32. Datos de la concentración microorganismos para la curva de	
calibración del medio de cultivo C1	141
Tabla 33. Datos de la concentración microorganismos para la curva de	
calibración del medio de cultivo C2	142

Tabla 34. Datos experimentales de la concentración microorganismos	
para el medio de cultivo C1	143
Tabla 35. Datos experimentales de la concentración microorganismos	
para el medio de cultivo C2	146
Tabla 36. Datos de la curva de calibración	149
Tabla 37. Datos de azúcares reductores totales para el medio de	
cultivo C1	151
Tabla 38. Datos de azúcares reductores totales para el medio de	
cultivo C2	151
Tabla 39. Datos experimentales de la concentración de sustrato del	
medio de cultivo C1	154
Tabla 40. Datos experimentales de la concentración de sustrato del	
medio cultivo C2	156
Tabla 41. Datos experimentales de la concentración de bioetanol del	
medio cultivo C1	158
Tabla 42. Tabla de datos de las cromatografías de gases de etanol y	
metanol	161
Tabla 43. Datos experimentales del cultivo C2	162
Tabla 44. Tabla de datos de las cromatografías de gases de etanol y	
metanol	165
Tabla 45. Características específicas del AISI	171
Tabla 46. Características específicas del AISI	176
Tabla 47. Estequiometria de la reacción	179
Tabla 48. Moles de entrada y salida del reactor Batch	180
Tabla 49. Entradas y salidas finales del reactor Batch	181
Tabla 50. Características específicas del AISI	188
l abla 51. Especificaciones técnicas y de dimensiones del producto del	
filtro	191
Tabla 52. Parametros de opresion del filtro	191
Tabla 53. Especificaciones de rendimiento	192
Tabla 54. Características específicas del AISI	196
Tabla 55. Datos obtenidos del metodo corto	200
Tabla 56. Condiciones finales de operación total	201
Tabla 57. Composiciones resultantes de la destilación para cada	000
	202
Tabla 58. Características específicas del AISI	207
Tabla 59. Características específicas del AISI	213
Tabla 60. Características específicas del AISI	221
Tabla 61. Especificaciones tecnicas del alsiante termico	223
Tabla 62. Características específicas del AISI	227
Tabla 03. Datos de los costos de la lamina AISI 304	229
i abia 64. Datos de los costos de ensamble del tanque de	000
amacenamiento	230
Tabla 66. Datas da las sestas da assembla dal sila	230
i adia od. Datos de los costos de ensamble del SIIO	231

Tabla 67. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	232
Tabla 68. Datos de los costos de ensamble del reactor Batch	232
Tabla 69 Datos de los costos de la lámina AISI 316L	233
Tabla 70. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	233
Tabla 71. Consumo de energía del reactor Batch para el año 2018	234
Tabla 72. Cotización del filtro	234
Tabla 73. Datos de los costos de la lámina AISI 304	235
Tabla 74. Datos de los costos de ensamble del tanque de	
almacenamiento	235
Tabla 75. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	236
Tabla 76. Datos de los costos de ensamble de la torre de destilación	236
Tabla 77. Consumo de energía del reactor Batch para el año 2018	237
Tabla 78. Datos de los costos de la lámina AISI 304	237
Tabla 79. Datos de los costos de ensamble	238
Tabla 80. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	239
Tabla 81. Datos de los costos de ensamble	239
Tabla 82. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	240
Tabla 83. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	240
Tabla 84. Datos de los costos de la lámina AISI 316L	241
Tabla 85. Consumo de energía del bioreactor Batch para el año 2018	241
Tabla 86. Datos de los costos de la lámina AISI 304	242
Tabla 87. Datos de los costos de ensamble	242
Tabla 88. Costos totales de diseño y ensamble de quipos	243
Tabla 89. Costos energéticos totales mensuales	243
Tabla 90. Tabla de datos de amortización	244
Tabla 91. Costo mensual del proyecto	244
Tabla 92: Solución DNS para 250mL	262
Tabla 93. Soluciones a distintas concentraciones de azúcar	263
Tabla 94. Preparación de los cultivos para la curva de calibración de	
azúcares de 200 g*L ⁻¹	269
Tabla 95. Preparación de los cultivos para la curva de calibración de	
azúcares de 250 g*L ⁻¹	269
Tabla 96. Datos para la linealización de la cinética de crecimiento del	
microorganismo del cultivo C1	282
Tabla 97. Datos para la linealización de la cinética de crecimiento del	
microorganismo del cultivo C2	282
Tabla 98. Datos para la linealización de la cinética de consumo de	
sustrato del cultivo C1	283
Tabla 99. Datos para la linealización de la cinética de consumo de	
sustrato del cultivo C2	283
Tabla 100. Datos para la linealización de la cinética de obtención de	
bioetanol del cultivo C1	284
Tabla 101. Datos para la linealización de la cinética de obtención de	
bioetanol del cultivo C2	284

Tabla 102. Datos del potencial de hidrógeno (pH) para el medio de	
cultivo C1	285
Tabla 103. Datos del potencial de hidrógeno (pH) para el medio de	
cultivo C2	285
Tabla 104. Tabla de amortización para los costos de diseño	322

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular del etanol	35
Figura 2. Reacciones del proceso indirecto para la producción de	
etanol por medio de síntesis química del etileno	39
Figura 3. Reacción del proceso para la producción de etanol por medio	
de síntesis química del etileno por hidratación	40
Figura 4. Producción de biocombustible a base de biomasa	40
Figura 5. Ruta metabólica del piruvato	43
Figura 6. Ruta metabólica de la glucolisis	43
Figura 7. Reacción de benzoato de sodio y ácido ascórbico.	51
Figura 8. Reacción del ácido benzoico para la formación de benceno	51
Figura 9. Diagrama de destilación del sistema agua-etanol a 1 atm	52
Figura 10. Esquema de cromatografía de gases	53
Figura 11. Curvas de AEPT para tres gases portadores de uso	
habitual	54
Figura 12. Reacción redox entre el DNS Y azúcares reductores	55
Figura 13. Disociación ácida del ácido acético	56
Figura 14: Hidrólisis ácida de la sacarosa por medio de H ₂ SO ₄	57
Figura 15. Radiación electromagnética	57
Figura 16. Absorción de la luz	58
Figura 17. Geometría de poros en función de la estructura de la	
membrana	59
Figura 18. Proceso detallado de cromatografía HPLC	63
Figura 19. Tanque de almacenamiento de gaseosa carbonatada	
vencida	168
Figura 20. Silo de almacenamiento del ácido ascórbico	173
Figura 21. Reactor Batch	178
Figura 22. Tipos de agitadores	184
Figura 23. Agitador de turbina	185
Figura 24. Grafica de número de potencia en función de Reynolds	187
Figura 25. Filtro	190
Figura 26. Polipropileno	191
Figura 27. Tanque de almacenamiento del producto después de su	
reacción	193
Figura 28. Torre de destilación	198
Figura 29. Tipos de platos	199
Figura 30. Datos iniciales del método cortó	199
Figura 31. Especificaciones iniciales del Alimento	200
Figura 32. Condiciones v dimensiones generales recomendadas para	
las distancia de los platos.	203
Figura 33. Espesor para el cilindro según ASME	206

Figura 34. Plato perforado (sieve tray)	207
Figura 35. Tensión admisible en función de la temperatura del acero	
inoxidable	209
Figura 36. Valores de rendimiento del calor del condensador	209
Figura 37. Valor de rendimiento del calor del rehervidor	209
Figura 38. Tanque de almacenamiento del destilado	210
Figura 39. Bioreactor Batch	214
Figura 40. Tipos de agitadores	217
Figura 41. Agitador de turbina	218
Figura 42. Grafica de número de potencia en función de Reynolds	220
Figura 43. Aislante térmico	223
Figura 44. Tanque de almacenamiento de la fermentación	224

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Bebida gaseosa carbonatada vencida	64
Ilustracion 2. Fecha de vencimiento	65
Ilustración 3. Levadura activa seca liofilizada E491 Safbrew BE-256 de	
la empresa francesa Fermentis®	65
Ilustración 4. Nutrientes Nutri-ponic	66
Ilustración 5. Hidratación de la cepa	77
Ilustración 6. Disolución de la cepa a 1,72*10^6, 1,72*10^7 y	
1,72*10^8 Celulas/ml	77
Ilustración 7. Preparación del medio de cultivo	81
Ilustración 8. Ácido ascórbico	82
Ilustración 9. Concentración de azúcares por destilación	82
Ilustración 10. Medios de cultivo	83
Ilustración 11. Bioreactor	84
Ilustración 12: Bioreactor con capacidad de 4 L	85
Ilustración 13. Hidrólisis ácida	94
Ilustración 14. Preparación de las muestras para la determinación de	-
azúcares reductores por DNS	95
Ilustración 15. Destilación tipo Graham	99
Ilustración 16. Determinación de grados Brix (^o Bx)	107
Ilustración 17. Determinación del volumen de carbonatación	108
Ilustración 18. Determinación de la densidad	100
Ilustración 10. Hidrólisis ácida	264
Ilustración 20. Preparación de las muestras para la determinación de	204
azúcaros por DNS	265
azucales pol DNS	200
IUSTRUIUT 21. DATO SELUIOUUCO	205
ilustración 22. Nuestras después de entriarse	200
IIUSTRACION 23. ACIDO ASCORDICO	267

LISTA DE GRAFICAS

Gráfica 1. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra	105
Gráfica 2. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra	100
Gráfica 3. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra	100
Gráfica 4. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra	100
M4 Gráfica 5. Superficie de respuesta estimada de bioetanol	106 116
Gráfica 6. Superficie de respuesta estimada de la concentración de sustrato final	124
Gráfica 16: Superficie de respuesta estimada del potencial de hidrógeno (pH) final	129
Gráfica 20. Superficie de respuesta estimada de bioetanol	134
Gráfica 22. Cromatográma HPLC de ácido ascórbico de la muestra M1 Gráfica 11. Curva do calibración concontración microorganismos para	139
el medio de cultivo C1 Cráfica 12, Curva de calibración concentración microorganismos para	142
el medio de cultivo C2 Cráfica 12. Medela signatoda para las resultadas experimentales del	143
medio de cultivo C1	144
microorganismos del cultivo C1	146
Gráfica 15. Modelo ajustado para los resultados experimentales del cultivo C2	147
Gráfica 16. Linealización de la cinética de la concentración microorganismos del cultivo C1	148
Gráfica 17. Curva de calibración de sacarosa Gráfica 18. Cinéticas de los azúcares reductores totales para el medio	150
de cultivo C1 Gráfica 19. Cinéticas de los azúcares reductores totales para el medio	152
de cultivo C2 Créfice 20. Detencial de hidrégene (nU) pare el medio de cultivo C1	152
Gráfica 21. Potencial de hidrógeno (pH) para el medio de cultivo C1 Gráfica 21. Potencial de hidrógeno (pH) para el medio de cultivo C2	153
Grafica 22. Modelo ajustado para los resultados experimentales de la concentración de sustrato del cultivo C1	155
Gráfica 23. Linealización de la cinética de consumo de sustrato del medio cultivo C1	156
Gráfica 24: Modelo ajustado para los resultados experimentales del cultivo C2	157

Gráfica 25. Linealización de la cinética de consumo de sustrato del	
medio cultivo C2	158
Gráfica 26. Comportamiento de la concentración de bioetanol con	
respecto al tiempo de fermentación para el cultivo C1	159
Gráfica 27. Modelo ajustado para los resultados experimentales del	
cultivo C1	160
Gráfica 28. Linealización de la cinética de obtención de bioetanol del	
medio cultivo C1	160
Gráfica 29. Cromatográma de gases del etanol del medio de cultivo C1	161
Gráfica 30. Cromatográma de gases del metanol del medio de cultivo	
C1	162
Gráfica 31. Comportamiento de la concentración de bioetanol con	
respecto al tiempo de fermentación para el cultivo C2	163
Gráfica 32. Modelo ajustado para los resultados experimentales del	
cultivo C2	164
Gráfica 33. Linealización de la cinética de obtención de bioetanol del	
medio cultivo C2	164
Gráfica 34. Cromatográma de gases del etanol del medio de cultivo C2	165
Gráfica 35. Cromatográma de gases del metanol del medio de cultivo	
C2	166
Gráfica 36: Grafica de correlación de inundación por arrastre de Fair	203
Gráfica 37. Distribución F para el factor A	271
Gráfica 38. Distribución F para el factor B	272
Gráfica 39. Distribución F para la interacción de los factores A Y B	272
Gráfica 40. Distribución F para el factor A	274
Gráfica 41. Distribución F para el factor B	275
Gráfica 42. Distribución F para la interacción de los factores A Y B	275
Gráfica 43. Distribución F para el factor A	277
Gráfica 44. Distribución F para el factor B	278
Gráfica 45. Distribución F para la interacción de los factores A Y B	278
Gráfica 46. Distribución F para el factor A	280
Gráfica 47. Distribución F para el factor B	281
Gráfica 48. Distribución F para la interacción de los factores A Y B	281

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Proceso para la obtención de bioetanol para el diseño de	
experimentos planteado	76
Diagrama 2. Activación de la cepa	78
Diagrama 3. Determinación de benzoato de sodio	87
Diagrama 4. Determinación de grados Brix (ºBx)	88
Diagrama 5: Determinación del volumen de carbonatación	89
Diagrama 6. Determinación de la densidad	90
Diagrama 7. Potencial de hidrógeno (pH)	91
Diagrama 8. Determinación de ácido ascórbico	93
Diagrama 9. Determinación de azúcar reductores DNS	96
Diagrama 10. Cinética de crecimiento del microrganismo	98
Diagrama 11. Determinación de etanol por método volumétrico	100
Diagrama 12. Determinación de etanol por cromatografía de gases	101
Diagrama 13. Determinación de metanol por cromatografía de gases	103
Diagrama 14. Diagrama de flujo del proceso (PFD)	167
Diagrama 15. Hidrólisis ácida	264
Diagrama 16. Determinación de azúcares reductores DNS para la	
curva de calibración	266
Diagrama 17. Elaboración de las curvas de calibración	268

LISTA DE ANEXOS

Anexo1. Ficha técnica de Saccharomyces cerevisiae Safbrew BE-256	253
Anexo 2 Tabla de corrección por temperatura de hidrómetro Brix (^o Bx)	254
Anexo 3. Ficha técnicas potenciómetro Ohaus Starter 2100 pH Bench	255
Anexo 4. Tabla de corrección de la densidad según la temperatura	257
Anexo 4. Tabla de conección de la densidad seguir la temperatura	201
Anexo 5. Ficha lechica de los humentes Num-Ponic	200
Anexo 6. Tablas distribución F	259
Anexo 7. Reactivo DNS	262
Anexo 8. Elaboración de las curvas de calibración de los azúcares	
reductores totales	263
Anexo 9. Elaboración de las curvas de calibración del crecimiento de la	
levadura	267
Anexo 10. Bases de cálculo del análisis de varianza ANOVA para el	
diseño de obtención de bioetanol	270
Anexo 11. Bases de cálculo del análisis de varianza ANOVA para el	
diseño de la concentración de sustrato final	273
Anexo 12. Bases de cálculo del análisis de varianza ANOVA para el	
diseño del potencial de hidrógeno (ph) final	276
Anexo 13. Bases de cálculo del análisis de varianza ANOVA para el	
diseño de obtención de bioetanol	279
Anexo 14. Datos para la linealización la cinética de crecimiento del	
microorganismo	282
Anexo 15. Datos para la linealización la cinética de consumo de sustrato	283
Anexo 16. Datos para la linealización de la cinética de obtención de	200
hioetanol	284
Anovo 17. Datos del notoncial de hidrógene (nH)	207
Anexo 17. Datos del potencial de hidrogeno (pri) Anexo 19. Eicho técnico del acero inevideble AISI 204	200
Anexo 10. Ficha técnica del acero inoxidable AISI 504	200
Anexo 19. Ficha techica del acero inoxidable AISI 316L	287
Anexo 20. Ficha técnica del filtro ZTEC-WB	288
Anexo 21. Ficha técnica del aislante térmico	291
Anexo 22. Base de cálculo del dimensionamiento del tanque de	
almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada vencida	293
Anexo 23. Base de cálculo del dimensionamiento del silo de	
almacenamiento del ácido ascórbico	296
Anexo 24. Base de cálculo del dimensionamiento de reactor Batch	299
Anexo 25 Base de cálculo del dimensionamiento del tanque de	_00
almacenamiento del producto después de la reacción	304
Anovo 26 Baso do cálculo para ol dimonsionamiento do la torro do	504
Anexo 20. Dase de calculo para el dimensionamiento de la torre de	207
Apovo 27 Papo do cóloulo dol dimensionemiento dol tensue do	307
Allexo 21. dase de calculo del dimensionamiento del tanque de	244
amacenamiento del destilado	311
Anexo 28. Base de calculo del dimensionamiento del bioreactor Batch	314

Anexo 29. Base de cálculo del dimensionamiento del tanque de la	
fermentación	319
Anexo 30. Tabla de amortización	322
Anexo 31. Cotizaciones de la lámina de acero inoxidable y ensamble de	
equipos	326

GLOSARIO

ADSORCIÓN: es una operación de transferencia de masa, en el que las sustancias presentes en una fase líquida son adsorbidos o acumulados sobre una fase sólida y por lo tanto se eliminan del líquido. Este tipo de procesos se usan en agua potable para la eliminación de compuestos que generan sabor y olor en ella, como lo son; los productos químicos orgánicos sintéticos, compuestos orgánicos de formación de color, y de subproductos de desinfección, componentes inorgánicos, incluyendo algunos que representan peligro para la salud, tales como perclorato, arsénico y algunos metales pesados también son eliminados por medio de este método¹.

BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS VENCIDAS: son bebidas carbonatadas sin alcohol que pasaron la fecha de vencimiento indicada en el envase la cual puede ser de 3 meses después de la fecha de expiración, pasada la caducidad la bebida le cambiará el sabor y los refrescos perderán el gas².

BENZOATO DE SODIO: se utilizan sobre todo como aditivo alimenticio y preservante en usos de los alimentos y de las bebidas para reducir o para inhibir la actividad de microorganismos³.

BIOETANOL: es un biocombustible que se produce a partir de la fermentación de monosacáridos, disacárido y polisacáridos como fructosa, glucosa, sacarosa, maltosa, almidón, entre otros. Se utiliza en motores de explosión como aditivo o sustituto de la gasolina. La producción se basa en la fermentación alcohólica donde se parte en el almidón o celulosa. Una vez hidrolizados para obtener azúcar, esta se somete a fermentación donde se obtiene etanol⁴.

BIORREACCIÓN: término fermentación fue acuñado por Louis Pasteur y se refería exclusivamente a la reacción anaerobia de la glucosa para formar etanol y CO₂, empleando levaduras del género *Saccharomyces*. Con la llegada de la biotecnología, los investigadores empezaron a llamar fermentación a cualquier reacción bioquímica. Sin embargo, desde la década de los 80 del siglo XX se ha

¹ WEISSERMEL Klauss and HANS Jurgen Arpe. *Quimica Organica Industrial.* Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978.

² CACHA RIOS Lucio, COLLACCI LLANOS Anggela. *PROCESO DE BEBIDAS CARBONATADAS Y SU IMPACTO AMBIENTAL.* Huacho, Perú:, 2012..

³. VARNAM Alan H, SUTHERLAND Jane P. *Bebidas: tecnología, química y microbiología.* 2da ed., 1997.

⁴ WALKER and GRAEME.M. *Bioethanol science and technology of fuel alcohol graeme* 1st ed. escocia: BookBoon, 2010.

tratado de modificar ese uso y emplear el término biorreacción o biotransformación en lugar de fermentación⁵.

CINETICA DE CRECIMIENTO: es un conjunto de operaciones aplicadas para entender los distintos mecanismos de crecimiento, cuantificación y formas de aplicación de microorganismos en métodos indirectos y directos⁶.

DESTILACÓN: es uno de los métodos más utilizados para separar y purificar líquidos donde este proceso es aprovechar las diferentes volatilidades de los componentes presentes en una mezcla y separar los volátiles de los no volátiles. La efectividad de esta operación unitaria depende de la cantidad de la muestra, el equipo de destilación que se utilice, la formación de azeótropos, entre otros⁷.

ESTERILIZACIÓN: es la eliminación o muerte de todos los microorganismos que contiene un objeto o sustancia, y que se encuentran acondicionados de tal forma que no pueden contaminarse nuevamente⁸.

FERMENTACIÓN: es un proceso que se lleva a cabo en un fermentador o en un biorreactor mediante el cual determinados sustratos que componen el medio de cultivo son transformados por acción microbiana en metabolitos y biomasa⁹.

HIDRÓLISIS: la finalidad de este proceso es convertir las moléculas de gran tamaño en moléculas fácilmente degradables, rompiendo sus enlaces en presencia de un medio acuoso¹⁰.

INCUBACIÓN DE MICROORGANISMOS: consta de un proceso que permite controlar temperatura, humedad y condiciones necesarias para el desarrollo de un cultivo microbiológico. Esto se da a través de incubadoras de diferentes clases y tamaños, según la capacidad y control de temperatura¹¹.

⁵G. L. MILLER. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar." *Analytical Chemistry* 31.3 (1959): 426-8. *CrossRef.*

⁶ ANGULO VALENCIA, Alexandra E, Efectividad de microorganismos nativos en relación a Aspergillus niger, Clostridium thermocellum ATCC 27405 y Zymomonas Mobilis para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía "citrullus lanatus" a escala piloto, Escuela politécnica del ejército, 2010, 40-44.

⁷ BELLO Andres. DESTILACIÓN. DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO DEL VINO. Guayana:, 2011.

⁸WEISSERMEL Klauss and HANS, Jurgen Arpe. *Quimica Organica Industrial.* Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978.

⁹BADUI Salvador. *Química De Los Alimentos.* Pearson Educación de México S.A. de C.V, 2011.

¹⁰ DORINA Chambré, CORNELIA Idiţoiu, SZABO Maria Raluca. "The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 88.3 (2007): 681-6. *CrossRef.* Web.

¹¹ VALENCIA Angulo. Efectividad de microorganismos nativos en relación a Aspergillus niger, Clostridium thermocellum ATCC 27405 y Zymomonas Mobilis para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía "citrullus lanatus" a escala piloto, pag 40-44, 2010.

MACRONUTRIENTES: son aquellos nutrientes que proporcionan gran cantidad de energía metabólica al organismo. Estos suministran la energía y los materiales de construcción para las sustancias esenciales para el crecimiento y supervivencia de los seres vivos¹².

MICRONUTRIENTES: son aquellos nutrientes que son indispensables para los múltiples procesos metabólicos de los seres vivos, no aportan energía pero son primordiales para el funcionamiento de nuestro organismo¹³.

LEVADURA: las levaduras son organismos eucariotas y heterotróficos por el hecho de que solo pueden alimentarse de materia ya preformada (como nosotros los mamíferos), al contrario que las plantas, que son organismos autotróficos y que al estar dotadas de clorofila pueden utilizar la energía del sol juntamente con el aire y el agua para obtener todos los nutrientes¹⁴.

¹² BADUI Salvador. *Química De Los Alimentos.* Pearson Educación de México S.A. de C.V, 2011.

¹³ .VARNAM Alan H, SUTHERLAND Jane P. *Bebidas: tecnología, química y microbiología.* 2da ed., 1997.

¹⁴ VANDA Renata Reis, GUARNIERI BASSI Ana Paula, GOMES DA SILVA Jessica Carolina, CECCATO ANTONINI Sandra Regina. "Characteristics of Saccharomyces cerevisiae yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation." *Brazilian Journal of Microbiology* (2014): 7-9.

RESUMEN

El presente proyecto tiene como propósito la obtención de bioetanol partiendo de la fermentación de los azúcares concentrados en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de *Saccharomyces cerevisiae*, el cual se lleva a cabo a través de una investigación experimental. Se selecciona como materias prima nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio y calcio), ácido ascórbico (vitamina C) y bebida gaseosa carbonatada vencida.

Antes de realizar el proceso de fermentación, se hace una caracterización a la bebida gaseosa carbonatada vencida, donde se cuantifica la contracción de preservante (benzoato de sodio) por medio de cromatografía HPLC, la cantidad de azúcares presentes por medio de grados Brix (°Bx), el volumen de carbonatación, la densidad y el potencial de hidrógeno (pH).

El benzoato de sodio presente en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, evita el crecimiento de mohos y levaduras, afectando el proceso de fermentación de bioetanol. Para el acondicionamiento de la materia prima, se hace reaccionar el benzoato de sodio con ácido ascórbico, produciendo ascorbato de sodio, benceno y dióxido de carbono, por medio de una destilación simple se retira el benceno eliminado el grupo funcional aromático presente en la materia prima.

Para el desarrollo experimental se plantea un diseño de experimentos factorial 3² con 3 réplicas para un total de 27 medios de cultivo, evaluando los factores de la concentración de microorganismos, la concentración de sustrato y la interacción en la variable respuesta de la obtención de bioetanol. La fermentación alcohólica fue realizada utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a concentraciones de 1,72*10⁶, 1,72*10⁷ y 1,72*10⁸ Células/ml con una inoculación del 10% del volumen del medio de cultivo, una concentración de sustrato de 180, 200 y 250 g/L de azúcar, una concentración de nitrógeno de 505 mg/l y con un potencial de hidrógeno de 5,0 pH. Después del proceso de fermentación se realiza una destilación simple y se toman la lectura registrada por medio de un hidrómetro con escala Gay Lussac.

Después de analizar los resultados del diseño de experimentos por medio de un análisis de varianza ANOVA, se procede a hacer una réplica de los dos mejores cultivos, pero esta vez con un volumen de 4 litros, donde se analizaran las cinéticas de crecimiento del microorganismo, utilizando el método de cuantificación de microorganismos por turbidimetría, el consumo de sustrato utilizando el método de determinación de azúcares reductores totales con hidrólisis ácida y la obtención de bioetanol por el método volumétrico y cromatografía de gases.

Se realizan los requerimientos técnicos a partir de los datos obtenidos del medio de cultivo con más producción de bioetanol, realizando un diseño conceptual de equipos donde se especifican sus dimensiones y sus requerimientos energéticos. Por último se realizan los costos totales de los requerimientos técnicos, analizando los costos de amortización y los costos energéticos del proceso de fermentación para la obtención de bioetanol.

INTRODUCCIÓN

En Colombia según el informe del estudio catalogado por el DANE para el año 2014 el cual consta de la producción, ventas de artículos y existencias de productos terminados hasta 31 de diciembre, se muestra la información para la parte de bebidas no alcohólicas (gaseosas, maltas, etc.), se catalogó la producción de 3182'344.476 litros anuales y posteriormente la venta de 2549'953.269 litros anuales. De acuerdo con estas estadísticas de producción y venta de bebidas no alcohólicas, se puede detallar que hay un porcentaje de bebidas no vendidas que equivale 19,87% de la producción anual que corresponde a 632'391,207 litros anuales¹⁵.

Las bebidas gaseosas carbonatadas tienen un periodo de consumo de tres meses aproximadamente, pasado este tiempo las bebidas caducan y pueden ser perjudiciales para la salud del consumidor. Se evidencian dos tipos de circunstancias donde se produce el vencimiento de bebidas, la primera causa se da en las empresas, en donde el producto no vendido es almacenado y pasado a un control de inventario, a pesar de que puedan tener una buena rotación del producto este puede llegar a vencerse, la segunda causa se da cuando el cliente después de comprar el producto lo deja vencer, las empresas fabricadoras de gaseosas la recogen y es cambiado por uno nuevo. La cantidad de producto vencido tanto en bodegas de almacenamiento como el recogido a los clientes es procedido a realizarle un proceso de destrucción y vertimiento. Por ello se decide trabajar con este producto vencido sabiendo que las bebidas gaseosas carbonatadas denotan una alta concentración rica en azúcares.

Por tanto, hemos desarrollado el estudio de la obtención de bioetanol a partir del proyecto titulado: "Evaluación de la obtención de bioetanol partiendo de la fermentación de los azúcares concentrados en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de *Saccharomyces cerevisiae*".

¹⁵ DANE, "Encuesta Anual Manufacturera EAM". http://www.dane.gov.co/index.php/estadisticaspor-tema/industria/encuesta-anual-manufacturera-enam/eam-historicos

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la obtención de bioetanol partiendo de la fermentación de los azúcares concentrados en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de *Saccharomyces cerevisiae*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analizar las características generales de las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas.
- ✓ Seleccionar el proceso de fermentación sobre el sustrato de bebidas gaseosas carbonatadas vencidas con Saccharomyces cerevisiae por medio de un desarrollo experimental.
- ✓ Establecer los requerimientos técnicos del proceso seleccionado.
- ✓ Realizar el análisis de costos de los requerimientos técnicos.

1. MARCO TEORICO

1.1 BIOETANOL

El etanol o alcohol etílico es el producto químico orgánico sintético más antiguo usado por el hombre, se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78,4 °C. Al estar mezclado con agua a una concentración del 95% en peso se forma una mezcla azeotrópica. Su fórmula química es CH₃-CH₂OH (C₂H₆O) y su estructura molecular se muestra en la figura 1, siendo el componente activo esencial de las bebidas alcohólicas, además es una de las materias primas importantes para las síntesis. Puede obtenerse a través de dos procesos de elaboración como la fermentación o descomposición de los azúcares contenidos en distintas frutas y la destilación, la cual consiste en la depuración de las bebidas fermentadas¹⁶.





Fuente. Quices. Tomado el día 10 de octubre de 2017 [En línea] http://quices.com/blog/2016/05/17/el-alcohol-y-sus-efectos-sobre-el-organismo

El bioetanol es alcohol etílico producido por procesos de fermentación microbiana, en contraposición al etanol producido sintéticamente a partir de fuentes petroquímicas. Se produce a través de la destilación de la colada de etanol que se origina de la fermentación del derivado de biomasa de azúcares¹⁷.

¹⁶ LEVTONA, Fabiola. & nbsp; Energías "Alternativas": el Etanol. En: REVISTA CIENCIA Y TECNOLOGÍA. may 5,2006

¹⁷ GALLINAR TERCERO; Ana Gabriel, Control robusto de columnas de destilación para mezclas binarias ideales, Universidad veracruzana, 2015. p. 22

El bioetanol es un compuesto químico que en ámbitos lucrativos y comerciales se emplea como sustituto de la gasolina, pero antes debe ser deshidratado hasta alcanzar una pureza del 99,4%. Sin importar cuál de las dos vías sea la que se recorra, la elaboración del bioetanol tiene su centro de proceso en la fermentación a la que es sometida la materia prima. La diferencia de los métodos radica en los procesos previos a la fermentación, para obtener bioetanol de materias primas como la caña de azúcar o la remolacha azucarera, solo es necesario extraer el jugo de éstas para luego ser fermentado, mientras que en la descomposición de maíz y trigo primero se trituran, se realiza la licuefacción y sacarificación de los almidones presentes en ellos para obtener azúcares simples con los cuales se inicia el proceso fermentativo¹⁸.

En la tabla 1 se muestran algunas características generales del bioetanol:

Propiedad	Concentración	Temperatura/ presión	Valor/cualidad	Unidades
Estado Físico			Liquido	
Color			Incoloro	
Olor			Alcohólico	
Valor pH	10 g/l	(20 °C)	7,0	
Viscosidad Dinámica		(20 °C)	1,2	mPa
Punto De Fusión			-117	٥C
Punto De Ebullición		(1,013 hPa)	78	٥C
Temperatur a De Ignición			425	°C
Punto De Inflamación			17	°C
Presión De Vapor		(20 °C)	59	hPa
Densidad		(20 °C)	0,805-0,812	g/cm ³
Solubilidad En Agua		(20 C)	Soluble	

Fuente. Merck. Consultado el día 3 de octubre de 2017 [En línea] https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-JP-Site
La fermentación es el método más común para la producción de etanol carburante, en el cual se utilizan levadura que puedan metabolizar distintos azúcares presentes en materias primas como la papa, el maíz, la caña de azúcar y la remolacha azucarera. El maíz es el grano principal para la producción de bioetanol en los Estados Unidos debido a su abundancia y bajo precio. En Brasil, el segundo productor de bioetanol más grande del mundo, hace la mayor parte de su alcohol carburante de la caña de azúcar¹⁹.

1.1.1 Aplicaciones. En el transcurso del tiempo el etanol ha desarrollado nuevas aplicaciones y se utiliza en una amplia variedad en la industria, implantándose así una serie de especificaciones de calidad como se muestran en la tabla 2.

Característica	Unidades	Especificación
Aspecto		Limpio y exento de
		impurezas
Color		Incoloro
Acidez Total	Mg/I	30 máx.
Conductividad eléctrica	μS/m	500 máx.
Masa Especifica a 20	Kg/m ³	791.5 máx.
Grado Alcohólico	۹NPM	99.3 min
Grado De Hidrocarburos	%vol	3 máx.
Ion Cloruro	Mg/kg	1.1
Grado De Etanol	%vol	99.3 min
Ion Sulfato	Mg/kg	4.3 máx.
Hierro	Mg/kg	5.5 máx.
Sodio	Mg/kg	2.2 máx.
Cobre	Mg/kg	0.07 máx.

 Tabla 2. Especificaciones de calidad del etanol

Fuente. Brazil Agência nacional de petróleo, gás natural e biocombustibles, resolução ANP N 36,2005

Los distintos productos obtenidos a partir de etanol a nivel industrial se muestran en el cuadro 1.

¹⁹ CASTRO MARTÍNEZ, Claudia; BELTRÁN ARREDONDO, Laura Ivonne y ORTIZ OJEDA, Juan Carlos. PRODUCCIÓN DE BIODIESEL Y BIOETANOL: ¿UNA ALTERNATIVA SUSTENTABLE A LA CRISIS ENERGÉTICA? En: Ra Ximhai,Universidad Autónoma Indígena De México El Fuerte, México. septiembre-diciembre,. vol. vol. 8, no. núm. 3b, p. 93-100

Cuadro 1	. Aplicaciones	del etanol e	n la industria
----------	----------------	--------------	----------------

INDUSTRIA	APLICACIONES
Farmacéutica,	Para ello se requiere el alcohol de alta calidad donde
perfumería y	se puede utilizar la fermentación o el alcohol
cosméticos	sintético. Además se utiliza como excipiente de
	algunos medicamentos y cosméticos tales como el
	alcohol antiséptico a 70º GL y en la producción de
	perfumes y ambientadores.
Licores	En la industria del licor lo más importante es la
	termentacion de alta calidad. Los alcoholes se
	pueden basar segun su fuente de azucar, como el
	brandy, se deriva de la uva o el vodka, el alconol de
Manufactura química	La fabricación química es un mercado grando para
Manufactura química	el alcohol y los grandes volúmenes de etanol
	sintético de la nureza elevada, se utilizan en la
	fabricación de acrilato de etilo y de acetato de etilo
	Además se utiliza como compuesto inicial para la
	síntesis de distintos productos tales como disolvente
	de pinturas y pegamento como es el acetato de etilo
	y eterdietílico entre otros.
Combustibles	La mezcla de fermentación anhidra desnaturalizada
	de etanol con gasolina dará lugar a "biocombustible".
	Internacionalmente esta es la aplicación de más
	rápido crecimiento para etanol, es decir, combustible
	etanol donde su finalidad no solo es reducir costos
	económicos y energéticos sino también cumplir los
	requerimientos del protocolo de Kyoto.
Alimenticia	En la industria alimenticia el alconol es termentado
	por acelobacienas para producir el acido acetico natural o el vinagre. El vinagro o su voz so utilizo
	como acidulante en mostaza, salsa de tomato
	mayonesa aderezo nara ensaladas y productos
	similares
Alimenticia	En la industria alimenticia el alconol es fermentado por acetobacterias para producir el ácido acético natural o el vinagre. El vinagre a su vez se utiliza como acidulante en mostaza, salsa de tomate, mayonesa, aderezo para ensaladas y productos similares

Fuente. EPASA. Ethanol Producers Association Of Southern Africa. Consultado el día 21 de septiembre de 2017 [En línea] http://www.epasa.org.za/ethanol/applications.html

1.2 OBTENCIÓN DE ETANOL

El etanol o alcohol etílico puede ser obtenido por vía química o biotecnológica. Puede obtenerse por medio de fuentes petroquímicas o por medio de fermentación de azúcares a través de microorganismos.

En los últimos años la producción de etanol ha sido exitosamente investigada y desarrollada, a tal punto que ya se registra en la literatura gran cantidad de materias primas y de microorganismos involucrados en este proceso de fermentación.

1.2.1.1 Vía química. El etanol de síntesis por vía química se obtiene industrialmente partiendo del etileno aplicando dos distintos métodos los cuales consisten en la hidratación indirecta añadiendo ácido sulfúrico y luego hidrólisis del éster sulfúrico producido, y por hidratación directa catalítica como se representa en la figura 2^{20} .

En el proceso indirecto los gases que contienen etileno se hacen reaccionar en un sistema de torres de absorción con ácido sulfúrico del 98% a unos 60 C y 20 atm. Utilizando AgSO₄ como catalizador los esteres sulfúricos obtenidos se diluyen con agua y se calientan con vapor de agua, a unos 90 C, para hidrolizar el éster sulfúrico a etanol. La selectividad del proceso es del 86%. El etanol se purifica por destilación y el ácido se concentra para reutilizarlo. En este último paso se forman pequeñas cantidades de SO₂²¹.

Figura 2. Reacciones del proceso indirecto para la producción de etanol por medio de síntesis química del etileno



Fuente. Weissermel Klauss y Hans-Jurgen Arpe. Quimica Organica Industrial. Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978. p. 1862

En el proceso directo la hidratación se realiza en fase gaseosa sobre catalizadores ácidos, generalmente H_3PO_4 fijado sobre un soporte solido de SiO₂ o sobre una resina. Las condiciones de trabajo son 300 °C y 70 atm y tiempos cortos de reacción para evitar la formación de productos secundarios (éter dietílico y oligómeros). La conversión del etileno solo es de 5% y selectividad del 97% y su reacción se representa en la figura 3, el alcohol se condensa y los gases se reciclan múltiples veces para alcanzar su rendimiento económico (97%), para lo cual es necesario o una

²⁰ WEISSERMEL Klauss y HANS Jurgen Arpe. Química Orgánica Industrial. Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978. p. 1862

²¹ lbíd., p. 1863

alta pureza de etileno o una eliminación de gases para evitar un aumento de gases inertes en el reciclado²².

Figura 3. Reacción del proceso para la producción de etanol por medio de síntesis química del etileno por hidratación

 $H_2C=CH_2 + H_2O/H^+(cat) \longrightarrow C_2H_5OH; \Delta H = -46 \text{ kJ/mol}$

Fuente. WEISSERMEI Klauss y HANS Jurgen Arpe. Química Orgánica Industrial. Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978. p. 1863

1.2.2 Vía biotecnológica. Podemos entender por biotecnología la serie de procesos industriales que implican el uso de organismos vivos, bien sean plantas, animales o microorganismos. La idea que subyace en ella es por qué molestarse en fabricar un producto cuando un microbio, un animal o una planta pueden hacerlo por nosotros. Así, se pueden lograr desde combustibles a medicinas, pasando por plásticos, alimentos, vacunas y recursos minerales. Son capaces de comer petróleo, madera, plástico, e incluso rocas sólidas²³.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es el microorganismo más utilizado en la producción de etanol debido a su tolerancia a este producto, por ser un organismo ampliamente usado por la industria alimenticia y por poder operar en condiciones anaeróbicas y a pHs bajos. Las levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* se describen como etanogénicas en que tienen una propensión para convertir los azúcares (vía camino metabólico conocido como glucólisis) a piruvato y de allí por la fermentación al etanol, al dióxido de carbono, y otros productos secundarios producidos a partir de biomasa como se muestra en la figura 4²⁴.



Figura 4. Producción de biocombustible a base de biomasa

Fuente. WALKER Graeme M. Bioethanol Science and technology of fuel alcohol,2010, pág. 11

²² Ibíd., p. 1863

 ²³ ROMERO VÁZQUEZ, Gloria M^a. Biotecnología: generalidades, riesgos y beneficios.
 [0]: Venezuela: 1st, 2008. 3

²⁴ Walker y M. Graeme. Bioethanol Science and Technology of Fuel Alcohol Graeme 1 ed. escocia: BookBoon, 2010. p. 116-120

Otros biocarburantes microbianos son biogás (metano de la digestión anaerobia bacteriana), biobutanol (una tecnología reemergente usando *Clostridium* spp. de bacterias) y biohidrógeno (potencial a futuro), además que se ha demostrado que *Saccharomyces cerevisiae* puede ser genéticamente diseñada (usando los genes de *Clostridium* spp.) para producir n-butanol, y varias empresas trabajan los procesos de producción de butanol e isobutanol en base a la productividad con la levadura. Es importante notar que el butanol exhibe varias ventajas sobre etanol como combustible, además de su mejor combustibilidad, amenidad al almacenaje, transporte y miscibilidad con el diésel²⁵.

1.2.2.1 Microorganismos productores de etanol. Básicamente la levadura es el microorganismo más común a la hora de producir etanol, posteriormente puede hallarse bacterias y hongos que sintetizan las cantidades considerables de alcohol. A continuación, presentaremos las levaduras o bacterias más prácticas al momento de producir etanol.

➢ Pichia stipitis. Es una levadura del género Schefferomyces, también llamada Scheffersomyces stipitis. Este microorganismo tiene la capacidad de metabolizar glucosa en etanol, además de fermentar xilosa sin necesidad de adicionar complejos vitamínicos, cuenta con un amplio rango de azúcares como la celobiosa, lo que supone una mayor eficiencia para metabolizar los carbohidratos presentes en biomasa lignocelulósica hidrolizada. La Pichia Stipitis posee un tamaño de 3-5 µm de diámetro, crece a condiciones de temperatura de 25 a 37°C y de pH entre 5-6. Esta registra una producción de etanol basado por una cantidad máxima de 0,51g de etanol por cada gramo de xilosa o glucosa que se esté fermentando²⁶.

➤ Saccharomyces cerevisiae. A pesar de los esfuerzos por buscar nuevos microorganismos, esta levadura sigue siendo la más utilizada para la producción de etanol. Es una levadura robusta que es capaz de resistir condiciones estresantes y tiene alta eficacia de la fermentación, crecimiento rápido, uso eficaz del azúcar, la capacidad de producir y consumir etanol, tolerancia de altas concentraciones del etanol y niveles bajos de oxígeno, termotolerancia y actividad celular en ambientes ácidos²⁷.

²⁵ Ibid., p.11

²⁶ DÍEZ, S. B. Obtención De Bioetanol 2G a Partir De Hidrolizados De Paja De Trigo: Fermentación Conjunta De Los Penta Y Hexa Carbohidratos Con Pichia Stipitis. Universidad de Valladolid, 2013. p. 5-13

²⁷ VANDA Renata Reis, GUARNIERI BASSI Ana Paula, GOMES DA SILVA Jessica Carolina, Sandra Regina Ceccato-Antonini. Characteristics of Saccharomyces cerevisiae yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. En: Brazilian Journal of Microbiology. marzo 4 del. p. 7-9

> **Clostridium thermocellum.** Es una bacteria termófila anaerobia capaz de producir etanol directamente de la celulosa, se reproduce en un rango de temperatura entre 30-60°C y es la utilizada principalmente para fermentar biomasa lignocelulósica hidrolizada, debido a que es capaz de metabolizar celulosa, glucosa y productos intermedios que se adquieren en la hidrólisis de celulosa, como celobiosa y celodextrinas²⁸.

> **Zymomonas mobilis.** Es una bacteria Gram negativa, donde crece en un rango de temperaturas de 25 a 45°C. Es una opción muy utilizada para producir etanol a grandes escalas por su tolerancia a altas concentraciones de etanol; En las levaduras este factor es inhibitorio y frena obtener altos rendimiento, esta bacteria consigue concentraciones del 12% p/v en fermentaciones con glucosa. El percance que presenta es que se ve limitada por un corto rango de carbohidratos para ser fermentados, es decir, *Zymomonas mobilis* no transforma alguna otra fuente de carbono sólo fermenta la fructosa, la sacarosa y la glucosa²⁹.

1.2.2.2 Rutas metabólicas. La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico realizado por levaduras o bacterias. Donde el sustrato celular; mono y di-sacárido en su mayoría, son transformados principalmente en alcohol etílico y dióxido de carbono, con la generación de equivalentes de reducción de los compuestos NADH/NAD+ y NADHP/NADP+ y enlaces de alta energía de fosfato, ATP como se puede mostrar en la figura 6. Para realizarse la glucólisis y el metabolismo del piruvato, es ineludible que la molécula de glucosa o fructosa sean transformadas a glucosa-6- fosfato o la fructosa-6-fosfato respectivamente como se puede apreciar en la figura 5. A partir del piruvato que se ejecutaran las reacciones por las que se obtiene el alcohol, como las reacciones son anaeróbicas para el caso de fermentación alcohólica la reducción del piruvato a etanol es posible por la acción de la forma reducida de la coenzima NAD la cual realiza la oxidación³⁰.

²⁸ HANNAH Akinosho, KELSEY Yee, CLOSE Dan, RAGAUSKAS Arthur. The emergence of Clostridium thermocellum as a high utility candidate for consolidated bioprocessing applications. En: Frontiers of Chemistry. agosto 14 del. p. 5-6

²⁹ ANGULO VALENCIA Alexandra E. Efectividad De Microorganismos Nativos En Relación a Aspergillus Niger, Clostridium Thermocellum ATCC 27405 Y Zymomonas Mobilis Para La Producción De Bioetanol a Partir De Residuos De Sandía "citrullus Lanatus" a Escala Piloto. Escuela politécnica del ejército, 2010. p. 40-44

³⁰ ACOSTA ROMERO Carolina. Evaluación De La Fermentación Alcohólica Para La Producción De Hidromiel. Universidad Nacional de Colombia, 2012. p. 6.



Figura 5. Ruta metabólica del piruvato





Figura 6. Ruta metabólica de la glucolisis



Fuente. ACOSTA ROMERO Carolina. Evaluación De La Fermentación Alcohólica Para La Producción De Hidromiel. Universidad Nacional de Colombia, 2012.

1.3 NUTRIENTES

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* pertenece al phylum Ascomycota, y resalta por ser poco exigentes con los requerimientos nutricionales y condiciones ambientales para su crecimiento, además que necesita la presencia de macronutrientes, micronutrientes y algunos promotores de crecimiento como vitaminas. En el cuadro 2 se resumen los principales elementos requeridos por *S. cerevisiae* para su crecimiento, la forma de adicionarle al medio de cultivo y la función que cumple a nivel celular³¹.

Elemento	Forma De Adición En Medios De Cultivo	Principal Función
Carbono	Compuestos Orgánicos: ✓ Ácidos Orgánicos ✓ Carbohidratos: glucosa y sacarosa	Principal fuente de carbono y energía. Bajo condiciones aerobias el 50% se incorpora a biomasa y el 50% restante se utiliza como fuente de energía bajo procesos de oxidación. Bajo condiciones anaerobias sólo el 30% es incorporado a biomasa.
Nitrógeno	Compuestos Inorgánicos: ✓ Sulfato de Amonio ✓ Fosfato de Amonio Compuestos Orgánicos ✓ Peptona y Triptosa ✓ Extracto de Levadura ✓ Urea ✓ Aminoácidos	Constituye aproximadamente entre el 10 y el 14% en peso seco de la levadura. Se encuentra presente en proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos y enzimas.
Fosforo	 Compuestos Inorgánicos ✓ Fosfato monobásico de potasio ✓ Fosfato dibásico de potasio ✓ Fosfato de sodio Compuestos Orgánicos ✓ Extracto de levadura 	Constituye aproximadamente el 3% en peso seco de la levadura. Favorece la acumulación de energía, es constituyente de fosfolípidos, vitaminas, DNA y RNA y actúa en la transferencia de energía (ATP).
Potasio	 Compuestos Inorgánicos ✓ Fosfato monobásico de potasio ✓ Fosfato dibásico de potasio ✓ Fosfato de sodio Compuestos Orgánicos ✓ Extracto de levadura 	Actúa en los procesos de transporte celular y regulador del potencial osmótico, a su vez, es cofactor enzimático y se requiere en el metabolismo de carbohidratos.

Cuadro 2. Requerimientos tecnicos de la Saccharomyces cer
--

³¹ MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M. y DUNLAP, Paul V. Brock: Biología De Los Microorganismos (12a. Ed.). Madrid: Pearson Educación, 2009.

	Cuadro 2. (Continuación)
--	-------------	---------------

Elemento	Forma De Adición En Medios De Cultivo	Principal Función
Azufre	Compuestos Inorgánicos ✓ Sulfato de amonio ✓ Sulfato de magnesio Compuestos Orgánicos ✓ Aminoácidos azufrados	Constituye aproximadamente el 1% en peso seco de la levadura. Es componente de la cisteína, cistina y metionina (aminoácidos), algunas vitaminas y es cofactor enzimático.
Magnesio	Compuestos Inorgánicos ✓ Cloruro de magnesio ✓ Sulfato de magnesio	Es cofactor enzimático de las enzimas que actúan en los procesos de glucolisis y ciclo de Krebs, es componente estructural de membranas y los ribosomas requieren iones magnesio.
Calcio	Compuestos Inorgánicos ✓ Cloruro de calcio	Actúa como cofactor enzimático.

Fuente. MADIGAN Michael, MARTINKO J, DUNLAP P. D C. Brock Biología de los Microorganismos. 12 ed. Madrid, España. 2009. 1259 p.

1.4 BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS

Las bebidas carbonatadas son el resultado de los distintos ensayos para obtener aquas efervescentes similares a las naturales. Después de un tiempo se les añaden saborizantes; que son básicamente agua con dióxido de carbono el cual se le añadió azúcar y algún ácido, una materia colorante y un agente de sabor. Para que se conserve el gas, se envasa la bebida gaseosa recipiente herméticamente cerrado. La elaboración en de bebidas carbonatadas consiste en un proceso de filtración y formulación de jarabes de diversos sabores, donde la bebida atraviesa un proceso de carbonatación v finalmente es envasada para su comercialización y distribución. Debido al alto porcentaje de agua que se utiliza en la producción de las bebidas gaseosas, se debe tener en cuenta la selección adecuada de la fuente de origen acuífera. Básicamente las bebidas carbonatadas demandan que el agua emplear cumpla con unos estándares de calidad más rigurosos que los del agua potable en relación con los sólidos disueltos, turbidez, contenidos microbiológicos y alcalinidad. El segundo componente de relevancia de las bebidas son los edulcorantes, los cuales son aspartane y acesulfame k. Para finalizar se emplea dióxido de carbono para darle una calidad de efecto burbujeante³².

³² AGUILAR Wilber; GUZMÁN Ricardo MigueL. Estudio De Factibilidad Para La Producción Y Comercialización De Bebidas Biofortificadas a Partir De Maíz Y Sorgo". UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, 2015. p. 42-44

1.4.1 Materias primas utilizadas en la elaboración.

1.4.1.1 Aqua carbonatada. Aqua carbonatada es aquella aqua que contiene ácido carbónico (H_2CO_3) v se descompone sencillamente entre el agua v dióxido de carbono, donde este sale en burbujas cuando se despresuriza en la bebida³³.

En la producción industrial esta se realiza agregando ácido carbónico y dióxido de carbono, donde estas producen una reacción exotérmica manejada en tangues de almacenamiento a presión con el fin de que no se presente una despresurización y disociación de los minerales; finalmente se produce como residuo de resultado del proceso anterior carbonato de calcio³⁴.

1.4.1.2 Gas carbónico. Es un gas incoloro e inodoro, no inflamable. Se adquiere por medio de la combustión, fermentación o térmica de calizas entre otros, básicamente se está a una proporción de 325 ppm en la atmósfera. Se emplea en la industria de las bebidas carbonatadas con el fin de proporcionar efervescencia y utilizarla como conservante de la misma³⁵.

1.4.1.3 Sacarosa.

llamada "azúcar", (b-D-fructofuranosil-a-D-glucopiranosa) Comúnmente está compuesta por una glucosa cuvo carbono aldehídico se une al cetónico de la fructosa, estableciendo un enlace glucosídico b (1,2) que impide que este disacárido sea reductor por carecer de grupos aldehído o cetona libres; además, no exhibe muta rotación. La sacarosa es el químico orgánico más abundante en el mundo. Su hidrólisis parcial se aprovecha comercialmente en la elaboración de azúcar invertido usado en bebidas, donde se reduce el porcentaje de azúcar necesario para proporcionar un dulzor determinado³⁶.

1.4.1.4 Acidulantes. Estos realizan varias funciones las cuales son reducir y amortiguar el pH, saborizante, modificador de la viscosidad; coagulante de la leche, inhibidor de las reacciones de oscurecimiento, hidrolizante de la sacarosa entre otras. En las bebidas carbonatadas cumple la función específica de cambiar en su totalidad o levemente la sensación de dulzura característica de la sacarosa³⁷.

³³ Ibid,. p.44

³⁴ Ibid,. p.44 ³⁵ Ibid,. p.45

³⁶ BADUI Salvador. Química De Los Alimentos. Pearson Educación de México S.A. de C.V, 2011. p 47 ³⁷ Ibid,. p, 524

1.4.1.5 Conservadores. La función que cumplen estos aditivos es prevenir el crecimiento bacterias, levaduras y hongos. Alguno son específicos de acuerdo al tipo de alimento los cuales son: composición del alimento donde el pH, la fuerza iónica, la actividad del agua, la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos, especificidad de acción el cual en ocasiones tienen un espectro muy amplio de acción, mientras que otros son específicamente efectivos contra un determinado tipo de microorganismo. Nivel inicial de la contaminación: los productos altamente contaminados no pueden controlarse con la adición normal de conservantes y manejo adecuado de los mismos para evitar nuevas contaminaciones³⁸.

1.4.1.6 Edulcorantes. Es un aditivo que cumple con la función de dar una sensación de dulzor a los alimentos similar a la sacarosa obviando el rendimiento energético, además de amplificar o disminuir esta sensación. La sustitución de la sacarosa por los edulcorantes sintéticos no siempre es sencilla, este azúcar desempeña otras funciones en el alimento, como conservador y para conferir una textura y consistencia adecuadas³⁹.

1.4.1.7 Colorantes.

El color de los alimentos es muy importante para el cliente, es determinante para la aceptación o el rechazo de los mismos. Dentro de esta categoría de colorantes naturales más destacados en la industria de las bebidas carbonatadas está el color caramelo, empleado ampliamente (desde amarillo ligero hasta negro), la harina de algodón tostada y parcialmente desengrasada, la riboflavina y otros. El dióxido de titanio (TiO2) proveniente del mineral "rutilo", se usa para impartir un color blanco. Algunas personas son muy susceptibles y pueden presentar reacciones alérgicas con el consumo de este colorante; y en soluciones concentradas puede ser corrosivo para los metales⁴⁰.

1.4.2 Proceso de elaboración de la bebida carbonatada. Básicamente el desarrollo de este producto implica una serie de procesos intermedios ligados a una maquinaria determinada de acuerdo a la función a realizar con el fin de producir un producto de calidad y que cumpla todas las normas a seguir. A mediada del paso del tiempo el proceso no ha variado mucho solo principalmente la maquinaria empleada para el mismo con el fin de operar a grandes velocidades. El proceso tradicional en la producción de bebidas carbonatadas contiene lo siguiente⁴¹.

³⁸ Ibid,. p, 510

³⁹ Ibid,. p, 528

 ⁴⁰ BADUI Salvador. Química De Los Alimentos. Pearson Educación de México S.A. de C.V, 2011.
 p, 536
 ⁴¹ POMERO POLAS, Joing Alberta, El Lilla, Tatalante Data a la construcción de México S.A. de C.V, 2011.

⁴¹ ROMERO ROJAS Jairo Alberto. El Libro Tratamiento De Aguas Residuales. Teoría Y Principios De Diseño. 2004. P 115-120

1.4.2.1 Tratamiento de agua.

➤ Tratamiento físico. El agua puede contener elementos suspendidos, para tratar estas impurezas se hacen uso de tratamientos físicos para separarlas. Los elementos suspendidos pueden contaminar o hacer más difícil la reutilización del agua⁴².

➤ Tratamiento químico. Puede alterar ciertos factores, dependiendo de las características del agua que se necesita, estos factores son la corrección del pH, la reducción de dureza, la reducción o eliminación de fosfatos, reducción de la alcalinidad, es decir, eliminar cualquier impureza que pueda causar o repercutir en alguna deficiencia de la calidad del agua⁴³.

➤ Tratamiento primario. Es considerado un tratamiento primario a las operaciones unitarias que poseen la capacidad de extraer el material en suspensión como lo es la sedimentación; es así como esta remoción permite, reducir un 60% de sólidos suspendidos totales mejorando el proceso de potabilización y facilitando el tratamiento posterior⁴⁴.

➢ Tratamiento secundario. Es el tratamiento en el cual se tiene como objetivo remover la materia orgánica que no fue eliminada del proceso anterior, a través de procesos químicos o biológicos, el efecto de este tratamiento conlleva la aceleración de la descomposición de los contaminantes orgánicos donde se utilizan bacterias las cuales sirven como digestoras de materia orgánica presente en el agua. Las principales impurezas se eliminan del agua por sedimentación simple. Luego se somete a un proceso de clarificación donde comprende coagulación, floculación, sedimentación, filtración y después cloración⁴⁵.

1.4.2.2 Desarrollo del jarabe. La preparación de jarabe terminado, se utiliza una mezcla de jarabe simple de azúcar granulada y fructuosa en proporciones que varían de acuerdo al producto y a la carta de preparación de cada presentación de bebida. Estas proporciones se trabajan en kilogramos y se miden mediante un medidor de flujo másico. Por regla general, no deben pasar más de 4 horas entre el momento en que se agrega el azúcar al tanque de mezcla y el momento en que se agrega nos concentrados⁴⁶.

⁴² ROMERO ROJAS Jairo Alberto. El Libro Tratamiento De Aguas Residuales. Teoría Y Principios De Diseño. 2004. P 115

⁴³ Ibid,. p 116

⁴⁴ Ibid, p 116

⁴⁵ Ibid, p 115-120

⁴⁶. VARNAM Alan H, SUTHERLAND Jane P. Bebidas: Tecnología, Química Y Microbiología. 2da ed. 1997. P.116

➤ Jarabe simple. Se debe agregar cierta cantidad de agua tratada en un tanque de acero inoxidable, el cual se le añade azúcar y para lograr mayor disolución con un agitador que lleva en su parte inferior el mismo tanque. Luego, el jarabe es bombeado hacia un filtro de platos horizontales el cual a través de medios filtrantes y auxiliar filtrante de tierra de diatomáceas se elimina del azúcar la hilaza de sacos, polvo o cualquier material extraño que pueda tener en contacto con el azúcar o el envase⁴⁷.

En el proceso en frío se realiza diluyendo el azúcar a temperatura ambiente. Este proceso utiliza equipo más sencillo y un menor costo de energía, pero puede ser contraproducente, este no se calienta lo cual puede poseer microorganismos dañinos, en este proceso consiste en calentar la mezcla de agua, azúcar y ácido añadido anteriormente, para facilitar la disolución de carbohidratos y eliminar los microorganismos.⁴⁸

En la acidificada caliente también añade ácido el proceso de se al jarabe antes o durante el calentamiento. Con esta misma minimizamos cualquier crecimiento microbiano durante el proceso. Se recolecta en tangues de acero inoxidable, apropiados para realizar una homogeneización de los componentes e impedir la presencia de aire en muestra mezclada. Para verificar si va está listo se debe evaluar una muestra para calcular la relación º Brix / ácido, que tiene que ser constante para atestiguar si realmente hay un equilibrio de sabor.49

Los ingredientes utilizados para la producción de gaseosas carbonatadas se muestran en el cuadro 3.

Ingredientes	Tipos	
Agua		
Dióxido de carbono		
Jarabe		
aromatizantes	Zumo de fruta	
	Esencias	
	Extractos de hortalizas y nueces	
	Extractos de hierbas	
	Aromatizantes específicos como la quinina (agua tónica)	
Azúcares	Azúcar	
	Jarabe de glucosa	
	Jarabe de maíz con alto contenido en fructosa	
	Edulcorantes de alta intensidad como la sacarina, aspartamo	
	y acesulfama	
	Edulcorantes masivos como el sorbitol y el manitol.	

Cuadro 3.	Ingredientes	para la	producción	de bebidas	gaseosas	carbonatados
	3				J	

⁴⁷ Ibid,. p. 116

⁴⁸ Ibid,. p. 116

⁴⁹ Ibid, p, 116

Cuadro 3. (Continuación)

Ingredientes	Tipos
Acidulantes	Ácido ascórbico
	Ácido cítrico
	Ácido láctico
	Ácido málico
	Ácido tartárico
	Ácido acético
	Ácido fosfórico
Colorantes	Tartacina
	Amarillo quinolina
	Sunset yellow
Antioxidantes	Ácido ascórbico
	Hidroxianisol butilado
	Hidroxitolueno butilado
	Palmitato de ascorbilo y sus sales
	Tocoferoles naturales y sintéticos
Emulsionantes	Proteínas
	Esteres de la sacarosa
Estabilizantes	Extracto de quillay
	Goma de guar

Fuente. VARNAM Alan H., SUTHERLAND Jane P. Bebidas: Tecnología, Química Y Microbiología. 2da ed. 1997.

1.5 REACCIÓN DE BENZOATO DE SODIO Y ÁCIDO ASCÓRBICO

El benzoato de sodio es utilizado como preservante e inhibidor de crecimiento microbiano, utilizado principalmente en la industria alimenticia donde contribuyen considerablemente a la calidad de los productos, como ejemplo en zumos de fruta y bebidas gaseosas carbonatadas, centrándose naturalmente en un rango de pH ácido. Las concentraciones a nivel natural en varios alimentos no superan los valores promedio de 40 mg/kg. Las concentraciones máximas del mismo adicionado a alimentos con fines preservativos son de un rango de 1000 mg/kg de alimentos. Para el benzoato de sodio, el crecimiento bacteriano y fungicida es inhibido de una manera dependiente de un pH inferior a 4,5 y por concentraciones de 100 a 1000 mg/L.⁵⁰

Cabe resaltar que bastantes productos alimenticios contienen benzoato de sodio, además que es uno de los ingredientes más cuestionados dentro de la industria de alimentos, se puede afirmar que en fórmulas que contienen ácido ascórbico(vitamina C), el benzoato reacciona produciendo benceno lo cual es cancerígeno, como se demuestra en la reacción de la figura 7 a continuación.⁵¹

⁵⁰WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva. Benzoic sodium acid and benzoate. www.who.int Website. http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26 rev 1.pdf. Updated 2005.

⁵¹ Ibíd., p. 14



Figura 7. Reacción de benzoato de sodio y ácido ascórbico.

Fuente. Organización Mundial de la Salud, Ginebra. Ácido benzoico y benzoato de sodio Sitio.web .http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf. Actualizado en 2005.

En la figura 8 se puede observar el mecanismo de equilibrio que se presenta al hacer reaccionar el benzoato de sodio con el ácido L- ascórbico, obteniendo en una primera reacción, ácido benzoico y L-ascorbato de sodio. En la segunda reacción se presenta una descarboxilación para reducir el ácido benzoico en el benceno como se puede apreciar en la figura 8.





Fuente. World Health Organization, Geneva. Benzoic acid and sodium benzoate. <u>www.who.int</u> Website. http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf. Updated 2005

El ácido benzoico reacciona con el OH- grupo hidroxilo presente en el sodio Lascorbato para formar una molécula de agua y un benzoato de iones como reacción intermedia. Cabe recalcar que el ion del benzoato no es estable, los electrones fluyen del oxígeno al carbón primario para formar el dióxido de carbono junto con una molécula positiva ionizada del benceno. Finalmente el ion hidronio H+ en el primer carbono con otro grupo OH del sodio L-ascorbato para formar otra molécula de agua y una de benceno estabilizada⁵².

⁵²WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva. Benzoic acid and sodium benzoate. <u>www.who.int</u> Website. http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf. Updated 2005

1.6 DETERMINACIÓN DE ETANOL

1.6.1 Método volumétrico.

Los componentes principales de una fermentación son el etanol (alcohol etílico) y el agua. A presión atmosférica, el agua y el etanol forman una mezcla azeotrópica, que tiene aproximadamente un 95,6% (en volumen) de etanol y un 4,4% (en volumen de agua. El etanol se separa de los demás componentes junto con cierta cantidad de agua, mediante un proceso de destilación. La mezcla azeotrópica formada por el agua y el etanol tiene un punto de ebullición de 78,2°C, inferior al punto de ebullición del agua (100°C) y al del alcohol (78,3°C), de ahí que se llame mezcla de punto de ebullición mínimo. El proceso de destilación se puede seguir en los diagramas de equilibrio líquido-vapor (diagramas de destilación), representando la temperatura frente a la composición del líquido. La figura 9, muestra el diagrama correspondiente a una mezcla de punto de ebullición mínimo, como es la que nos ocupa⁵³.



Figura 9. Diagrama de destilación del sistema aguaetanol a 1 atm

Fuente. SIMPROCESS. Consultado el día 14 de noviembre de 2017 [En línea] /

El método volumétrico es una técnica de separación por condensación de aguaetanol de un cultivo o muestra fermentada, donde se separa el 75% del volumen total de la muestra y así poder determinar la cantidad de etanol por medio de un equipo o instrumento como alcoholímetro, refractómetro o espectrofotómetro.

⁵³ BELLO Andrés. Destilación. Determinación Del Grado Alcohólico Del Vino. Guayana: 2011. p. 1-10

1.6.2 Cromatografía de gases.

La cromatografía es una técnica de separación donde es tomada como técnica analítica por su capacidad de resolver e identificar muestras complejas. Su misma capacidad la conduce al desarrollo de una instrumentación que se utiliza siempre para la separación por elución, además de operar en continuo con mayor eficiencia de separación y con la finalidad de obtener un mayor control de las condiciones cromatográficas para aumentar la reproducibilidad de los mismos resultados a indagar⁵⁴.

La cromatografía de gases es probablemente la técnica más utilizada ya que como ninguna permite ofrecer una separación y sensibilidad al momento de analizar compuestos volátiles. Al utilizar esta técnica se debe tener en cuenta que al ser mezclas separadas en fase gaseosa, denotara un límite que está marcado por la estabilidad térmica de los compuestos a trabajar. Por lo general la cromatografía de gases está limitada a la separación de compuestos con un peso molecular menor a 1000, con una temperatura máxima de 400 C además de la estabilidad térmica de la muestra nombrada anteriormente⁵⁵.

1.6.2.1 Componentes del cromatógrafo de gases. Los componentes esenciales de un cromatógrafo de gases son los siguientes y se encuentran ilustrados en la figura 10.

- ✓ Fuente de gas.
- ✓ Horno y columna cromatografía.
- ✓ Sistema de detección.
- ✓ Sistema de inyección.
- ✓ Sistema de registro.



Figura 10. Esquema de cromatografía de gases

Fuente. MNCN. Consultado el día 16 de noviembre de 2017 [Enlínea]<http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/inve stigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf.>

 ⁵⁴[2013]CROMATOGRAFIA DE GASES. Disponible en: http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio /es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf
 ⁵⁵ Ibid,. p. 7

1.6.2.2 Principios básicos de la cromatografía de gases.

Para efectuar una separación de cromatografía de gases se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar una corriente de un gas inerte a elevada temperatura; dicha corriente atraviesa una columna cromatografía que separara los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición para fase líquidogas, de adsorción para gas-solido o una mezcla de ambos. Los componentes separados saldrán de la columna a intervalos discretos y transitaran a través de un sistema de detección adecuado o serán dirigidos hacia un dispositivo encargado de la recolección de muestras⁵⁶.

Los gases portadores empleados en la cromatografía no afectan la separación porque no tienen influencia sobre los procesos de absorción- desorción o partición que se provoquen en la columna, por lo que no intervienen en su selectividad y los términos de difusión en la fase móvil de la ecuación de Van Deemter. Si influye la naturaleza del gas portador, por lo que las curvas de AEPT mostrada en la figura 11 serán ligeramente distintas para cada tipo de gas, lo que intervendrá sobre la velocidad óptima de la fase móvil y además de su tiempo de análisis.⁵⁷



Figura 11. Curvas de AEPT para tres gases portadores de uso habitual

Fuente. mncn. Tomado el día 16 de noviembre de 2017 [En línea]<http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromat ografia/cromatografia_de_gases.pdf.>

⁵⁷[2013]CROMATOGRAFIA DE GASES. Disponible en:

⁵⁶ Ibid,. p. 8

http://www.MNCN.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_ga ses.pdf

El horno de un cromatógrafo de gases tiene como finalidad es mantener la columna termostatizada a una temperatura fijada con precisión (más o menos 1 C). Cabe resaltar que es necesario que le control de termostatización del horno permita incrementar la temperatura de este a una velocidad prefijada y constante con el fin de laborarla con técnicas previamente programadas. Para trabajar con temperatura programada el horno debe cumplir unos requisitos tales como tener escasa inercia térmica v tener un sistema de control de temperatura muy sofisticado que incluva la posibilidad de programar las posibles variaciones.58

1.7 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES

1.7.1 Determinación de azúcares reductores por el método del DNS. Es uno de los métodos más empleados al momento de cuantificar los azúcares presentes en una muestra. EL reactivo DNS, fue desarrollado por Sumner y está compuesto por ácido dinitrosalicílico y sal de rochelle, cumple la función de que el reactivo se disuelva con el oxígeno, el fenol que aumenta la cantidad de color, hidróxido de sodio que realiza la acción reductora de la glucosa en el ácido y bisulfito de sodio que le da la estabilidad al color obtenido en presencia del fenol⁵⁹.

El DNS es un método de colorimetría en el cual se da una reducción del ácido 3.5dinitrosalicílico en presencia de calor y de los azúcares reductores que entran en contacto con él, desarrollando un cambio de color visible de amarillo a rojo. Estos cambios se leen a través de un espectrofotómetro a una longitud de onda determinada. La concentración de azúcar presente en la muestra problema es determinada por la línea recta creada en la curva de calibración del azúcar patrón empleado, la gráfica lleva como coordenada "y" la absorbancia y en el eje "x" se lee la concentración de glucosa.60

A continuación en la figura 12 denotaremos la reacción de óxido-reducción ocurre porque el grupo OH libre que se presentan en los azúcares reductores, al calentar la muestra se produce la oxidación del azúcar mientras que el DNS se reduce.



Figura 12. Reacción redox entre el DNS Y azúcares reductores

Fuente: MILLER.G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. En: Analytical Chemistry. Mar 1, vol. 31, no. 3, p. 428

⁵⁸ Ibid,. p. 7

⁵⁹ MILLER,G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. En: Analytical Chemistry. Mar 1,. vol. 31, no. 3, p. 426-428 ⁶⁰ Ibid,. p.427

1.7.2 Hidrólisis ácida. Es un proceso por el cual un ácido protónico se encarga de catalizar una hendidura de un enlace químico en una reacción nucleófila de la sustitución con la adición de los elementos del agua. Un ejemplo claro es la conversión de almidón de glucosa o celulosa. Su finalidad es lograr una modificación química importante que puede cambiar perceptiblemente las características estructurales y funcionales de la sustancia sin interrumpir su morfología general.⁶¹

En la hidrólisis ácida el agua puede actuar como base o ácido basada en la teoría del ácido de Bronsted-Lowry, donde la molécula e agua donaría un protón (H+). Una reacción ácida de la hidrólisis es similar a una reacción ácida de disociación, podemos denotarlo claramente la figura 13 mostrada a continuación⁶².



$$CH_3COOH + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + CH_3COO^-$$

Fuente. CHAMBRÉ D, IDIŢOIU C, SZABO M. The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method. *J Therm Anal Calorim.* 2007;88(3):680-681

En la reacción anterior mostrada en la figura 13, el protón (H) del ácido acético se dona al agua, produciendo el ion hidronio (H_3O) y un CH_3COO^- . Los lazos entre estos se rompen por la adición de las moléculas de agua. Una reacción con ácido acético, un ácido débil es similar a una reacción de disociación del ácido, y el agua forma una base conjugada y un ion hidronio el cual se forma cuando se hidroliza un ácido débil.⁶³

1.7.2.1 Hidrólisis ácida para la sacarosa con ácido sulfúrico. Principalmente depende de la concentración de ácido sulfúrico recomendada en un 98% para que esta reaccione correctamente, además que la sacarosa es un disacárido y el ácido sulfúrico caliente diluido cataliza la hidrólisis de esta misma para producir una mezcla de fructosa y glucosa como puede representar en la reacción ilustrada en la figura 14.

⁶¹ Brown TL, Murphy CJ, Bursten BE. *Química: La ciencia central (11a. ed.).* Pretince Hall ed. Naucalpan de Juárez: Pearson Educación; 2009:614-.

⁶² Chambré D, Idiţoiu C, Szabo M. The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method. *J Therm Anal Calorim.* 2007;88(3):680-681
⁶³ Ibid. pag. 615, 617.

⁶³ Ibid; pag 615-617

Figura 14: Hidrólisis ácida de la sacarosa por medio de H_2SO_4

$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	$\xrightarrow{\text{Hot, dilute H2SO4}} C_6 H_{12} O_6$	$+ C_6 H_{12} O_6$
Sucrose	Glucose	Fructose

Fuente. CHAMBRÉ D, IDIŢOIU C, SZABO M. The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method. *J Therm Anal Calorim.* 2007;88(3):681-686

1.8 DETERMINACIÓN DE BIOMASA

1.8.1 Método por turbidimetría. En la turbidimetría la suspensión se coloca en la celda o cubeta de un espectrofotómetro y la "absorbancia" se mide con un espectrofotómetro ordinario. La luz no es realmente absorbida por la solución, sino que se dispersa en todas direcciones y no llega al detector. El termino espectrofotometría se refiere al uso de la luz para medir las concentraciones de sustancias químicas⁶⁴.

1.8.1.1 Propiedades de la luz. Es conveniente describir la luz en términos tanto de partículas como de onda. Las ondas de luz están constituidas por campos eléctricos y magnéticos oscilantes, perpendiculares entre sí. En la figura 15, el campo eléctrico se sitúa en el plano *xy*, y el campo magnético en el plano xz^{65} .



Figura 15. Radiación electromagnética

Fuente. rpalomino. Tomado el día 19 de noviembre de 2017 [En línea]< https://rpalomino7.wordpress.com/>

⁶⁵ Ibid,. p. 495

⁶⁴ HARRIS, Daniel C. Análisis químico cuantitativo. 3^a ed. Barcelona: Grupo Editorial Iberoamericano, S.A. de C.V., 2016. ISBN 9706250034.
⁶⁵ Ibid. p. 405

La frecuencia *v*, es el número de oscilaciones completas de la onda cada segundo. La unidad de frecuencia es el segundo reciproco, s⁻¹. Una oscilación por segundo es igual a un herz (Hz). Por lo tanto se dice que una frecuencia de 10^6 s^{-1} es igual a un Hz, o sea un megahertz (MHz)⁶⁶.

1.8.1.2 Absorción de la luz. Cuando una molécula absorbe un fotón, la energía de la molécula se incrementa, se dice que la molécula pasa a un estado de excitación como se muestra en la figura 16. Si una molécula emite un fotón, su energía disminuye. El estado de menor energía de la molécula se le llama estado basal o fundamental⁶⁷.



Figura 16. Absorción de la luz

http://www.quimicaorganica.net/ley-de-lambert-beer.html > Cuando una muestra absorbe luz, la potencia radiante del haz de luz disminuye. La potencia radiante, se evalúa como energía por segundo por unidad de área del

1.8.2 Método por filtración de membrana.

1.8.2.1 Filtración. En el análisis gravimétrico se determina la masa de producto de una reacción a fin de conocer la cantidad de sustancia problema inicialmente presente. Los precipitados para el análisis gravimétrico se recoge por filtración, se lava y luego se seca⁶⁹.

haz de luz⁶⁸.

⁶⁶ Ibid,. p. 495

⁶⁷ Ibid,. p. p.497

⁶⁸ Ibid,. p. 497

⁶⁹ Ibid, p. 26

La separación de partículas o de objetos macroscópicos se obtiene por filtración frontal. Las técnicas de filtración tangencial que utilizan membranas artificiales empiezan con la separación de partículas microscópicas o de especies biológicas tales como las bacterias, en cuyo caso se trata de microfiltración. Para especies o fragmentos de materias más pequeñas como los coloides, las macromoléculas o los virus, se trata de la ultrafiltración. En cuanto a las pequeñas moléculas de masa molecular inferior a 1000 se separan por una técnica llamada nanofiltración⁷⁰.

1.8.2.2 Microfiltración y ultrafiltración.

La microfiltración y la ultrafiltración utilizan membranas porosas. Los materiales membranarios correspondientes se fabrican con polímeros orgánicos o con materiales inorgánicos y presentan geometrías de poros diferentes según su concepción. En general la membrana de microfiltración presenta una misma estructura en todo su espesor, mientras que en caso de la ultrafiltración la membrana presenta una estructura asimétrica. En el primer caso es la totalidad del espesor de la membrana que determina la resistencia a la transferencia. En el segundo caso es la capa superficial que tiene los poros más pequeños que presentan la mayor resistencia a la transferencia. Sin embargo la contribución de las otras capas o capa intermediaria no siempre puede despreciarse⁷¹.

Los tipos de poros y sus distintas geometrías de las membranas de filtración se pueden observar en la figura 17.



Figura 17. Geometría de poros en función de la estructura de la membrana

Fuente. GUIZARD Christian. TÉCNICAS MEMBRANARIAS de FILTRACIÓN de LÍQUIDOS & nbsp; & nbsp; 1st ed. Venezuela: 1999 p. 3

⁷⁰ GUIZARD Christian. TÉCNICAS MEMBRANARIAS de FILTRACIÓN de LÍQUIDOS & nbsp; & nbsp; 1st ed. Venezuela: 1999. p. 2

⁷¹ Ibid,. p. 3

La existencia de diferentes geometrías de poros ha generado el desarrollo de diferentes modelos para describir correctamente el transporte de materia a través de los poros. Estos modelos de transporte son particularmente interesantes porque permiten determinar cuáles son los parámetros estructurales que juegan un papel importante y como las prestaciones de las membranas pueden mejorarse mediante la modificación de algunas de sus características⁷².

1.9 DETERMINACIÓN DE BENZOATO DE SODIO

Los benzoatos son aditivos muy utilizados en la industria alimenticia para inhibir el crecimiento de microorganismos. Hay distintas metodologías de análisis para determinar el contenido de benzoatos en las bebidas y alimentos, entre las metodologías más recalcadas es el uso de la cromatografía liquida de alta resolución (HPLC) ya que reconoce cualquier aditivo presente de forma eficiente y excelsa⁷³.

1.9.1 Cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC).

Este método consiste en separar los compuestos de una solución los cuales poseen interacciones químicas entre las sustancias evaluadas y la misma columna cromatográfica. Esta técnica se considera la más precisa y eficaz a la hora de la determinación de sustancias liquidas además que es muy eficiente y exacta en la determinación cuantitativa y se manipula abundantemente para las sustancias que son de vital importancia en la ciencia, la medicina forense, la industria farmacéutica y alimentaria. Logra separar proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, aminoácidos, metales y compuestos orgánicos no metálicos. Se considera una técnica ágil ya que la sustancia es obligada a pasar a través de la columna de alta presión e incluye la ventaja de la reutilización de las columnas. Esta técnica es considerablemente utilizada en comparación de otros métodos cromatográficos porque la interacción entre soluto y el sistema se realiza a una mayor dificultad, esto se debe a que las interacciones son beneficiadas debido a las bajas temperaturas de la operación. Finalmente este método convida una extensa gama de fases móviles y estacionarias; al mismo tiempo las muestras logran recuperarse sin ser dañadas o alteradas⁷⁴.

1.9.2 Componentes de la cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC). A continuación presentaremos los componentes generales de un sistema de Cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC).

⁷² Ibid,. p. 4

⁷³ : CACHA RIOS,Lucio ; COLLACCI LLANOS,Anggela. Proceso De Bebidas Carbonatadas Y Su Impacto Ambiental. Huacho, Perú: 2012. p. 25

⁷⁴ [2013]CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA. 20 junio. Disponible en: http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/croma tografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf

1.9.2.1 Adquisición de datos y sistemas de control. Son los sistemas encontrados en el ordenador los cuales controlan todos los parámetros de los instrumentos del HPLC. Además adquiere los datos de los detectores y monitores de rendimiento del sistema⁷⁵.

1.9.2.2 Bomba.

Abastece un caudal constante y libre de pulsos de la fase móvil a través de la columna el cual no permite que la presión en cabezal de columna afecte el flujo porque este puede variar por obstrucción de las líneas de conducción y el filtro de cabeza de columna, etc. Este sistema de bombeo debe estar construido con materiales químicamente inertes frente a la fase móvil, debe trabajar a presiones elevadas proporcionando un flujo libre de pulsaciones que disminuyan la sensibilidad del proceso, además de entregar flujos adecuados dependiendo del tipo de columna a utilizar. El caudal entregado por la bomba debe ser constante a lo largo del tiempo para que este no cambie la reproducibilidad de los tiempos de retención⁷⁶.

1.9.2.3 Columna. Es aquella que produce la separación de un analito en la mezcla. Hay diferentes tipos de columnas por la variación de la composición del material de embalaje que pueden reproducir de diferente forma los resultados; por ello es preciso conocer la separación requerida para escoger correctamente el tipo de columna⁷⁷.

1.9.2.4 Depósito de disolvente. Se maneja para la acumulación de cantidades suficientes de muestra a analizar para la operación continua de la cromatografía. Esta puede incluir un sistema de desgasificación y filtros para conservar la muestra apartada de la influencia del ambiente⁷⁸.

1.9.2.5 Detectores. Se utilizan para evaluar una propiedad física del eluyente a la salida de la columna. Se utiliza para monitorear y registrar constantemente la absorbancia de UV en un rango de longitudes de onda. Una señal positiva es obtenida cuando el analito absorbe más que la fase móvil⁷⁹.

1.9.2.6 Fase móvil. Es el líquido escogido que fluye a través del sistema para la mejor separación de los componentes en la solución a analizar donde se selecciona en base a la polaridad de la muestra y la fase estacionaria⁸⁰.

⁷⁵ Ibid., p. 7

⁷⁶ Ibid., p. 7

⁷⁷ Ibid., p. 7

⁷⁸ Ibid., p. 7

⁷⁹ Ibid., p. 7

⁸⁰ Ibid., p. 7

1.9.2.7 Horno de columna. La temperatura de la columna juega un papel importante en la retención y en la selectividad ya que un laboratorio tiene un buen control en la temperatura, pero factores como la ventilación, calefacción o aire acondicionado causan fluctuaciones en el proceso en general⁸¹.

1.9.2.8 Inyectora. La mezcla del analito se introduce en la corriente de la fase móvil antes de entrar en la columna a través del inyector. El volumen máximo de inyección depende del bucle de muestra sobre la base de la válvula de inyección. Un mal sistema de inyección da lugar a ensanchamientos de la banda cromatográfica que deterioran la eficiencia del sistema. Existen dos tipos de inyectores los de jeringa y los de válvula⁸².

1.9.3 Principios básicos de la cromatografía liquida de alta eficiencia.

Básicamente esta práctica involucra la separación de una mezcla influida a través de una columna donde una velocidad de flujo constante aplicando una fase móvil liquida. El disolvente (fase móvil) se elabora a través de la bomba de alta presión que concibe y evalúa la velocidad de flujo de la fase móvil en mililitros por minuto. La muestra por analizar se implanta en el inyector donde esta es interpuesta en la corriente de la fase móvil a través de la columna compuesta de un material en específico antecedentemente seleccionado. Luego desde la columna se coordinan al detector y los componentes se indagan por medio del detector el cual imagen se observa en el software que controla las variables de todo el conjunto de equipos. El resultado de la cromatografía detalla el tiempo de retención y el área de pico del compuesto deseado. Cada compuesto tiene su tiempo de retención, sobre el cual la base de la naturaleza de la fase estacionaria y la velocidad de flujo de la fase móvil⁸³.

En la figura 18 podemos apreciar el proceso detallado de la cromatografía de alta eficiencia.

⁸¹ Ibid., p. 7

⁸²[2013]Vera Koester. What is HPLC. 20 junio. Disponible en: http://www.chemistryviews.org/details/education/9464911/.html

⁸³[2013]CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA. 20 junio. Disponible en: http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/croma tografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf



Figura 18. Proceso detallado de cromatografía HPLC



2. MATERIALES Y METODOLOGIA

2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realiza una investigación experimental, que se ha pensado con el fin de relacionar la causa y efecto entre variables dependientes e independientes con respecto a la producción de bioetanol. Se plantea una alternativa para la obtención de bioetanol a partir de la fermentación de los azúcares concentrados en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de *Saccharomyces cerevisiae*.

Esta investigación se llevó a cabo gracias a una problemática ambiental, donde se presenta la contaminación de aguas residuales a través del vertimiento de bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por parte de algunas empresas productoras de bebidas no alcohólicas.

2.2 MATERIALES Y EQUIPOS

2.2.1 Obtención de etanol por fermentación.

2.2.1.1 Bebida gaseosa carbonatada vencida. Se utiliza una bebida gaseosa carbonatada con un periodo de caducidad aproximado de 5 años, se obtiene de una de las BUSI (bodega urbana de servicio inmediato) de la empresa Postobon S.A. ubicada en el centro de la ciudad de Bogotá D.C. Las bebidas gaseosas carbonatadas tienen un periodo de consumo de tres meses aproximadamente, pasado este tiempo las bebidas caducan y pueden ser perjudiciales para la salud del consumidor.

La bebida gaseosa carbonatada vencida utilizada en el proyecto y su fecha de vencimiento se muestra en la ilustración 1 y 2



Fuente. Elaboración propia

Ilustración 2. Fecha de vencimiento



Fuente. Elaboración propia

2.2.1.2 Cepa. Se usa una levadura activa seca liofilizada de referencia *Saccharomyces cerevisiae*, con agente emulsionante E491 Safbrew BE-256 de la empresa francesa Fermentis®, con una cantidad de 11 gramos por sobre, con una concentración >6*10⁹ células viables/gramo. La levadura liofilizada a emplear se muestra en la ilustración 3. La ficha técnica de la cepa la podemos encontrar en el anexo 1.



Ilustración 3. Levadura activa seca liofilizada E491 Safbrew BE-256 de la empresa francesa Fermentis®

Fuente. Elaboración propia

2.2.1.3 Nutrientes. Para el proyecto se usa un producto previamente preparado llamada Nutri-Ponic de la empresa WALCO S.A., este producto consta de una solución rica en macronutrientes y micronutrientes requeridos para el crecimiento y metabolismo de la *Saccaromyces cerevisiae*. La fórmula del Nutri-Ponic esta cuidadosamente diseñada para suplir elementos a concentraciones isotónicas. La ficha técnica y las concentraciones de macronutrientes y micronutrientes y micronutrientes y micronutrientes y micronutrientes y micronutrientes y concentraciones de macronutrientes y micronutrientes y micronutri

En la ilustración 4 se muestra los nutrientes Nutri-ponic.



Ilustración 4. Nutrientes Nutri-ponic

Fuente. Elaboración propia

2.2.1.4 Equipos y materiales utilizados en la experimentación. A continuación, se presentan en el cuadro 4 los materiales y equipos necesarios para llevar a cabo cada uno de los métodos utilizados en el desarrollo experimental.

Guard F. Equipos y matchates utilizados en la experimentació	Cuadro 4. Equipo	os y materiales	utilizados en	la ex	perimentació	on
---	------------------	-----------------	---------------	-------	--------------	----

Materiales y equipos	Descripción
Baño serológico	Es un equipo de recirculación interna, donde se
	logra mantener la temperatura uniforme y funciona para la adecuación de cultivos microbiológicos.
Potenciómetro	Su función es determinar la concentración de
	iones hidronio [H+] en una disolución. Este equipo permite calcular mediciones de la acidez o la alcalinidad de una solución acuosa.

Cuadro 4. (Continuación)

Materiales y equipos	Descripción
Autoclave	Este equipo permite eliminar microorganismos patógenos o indeseados incluidas las esporas. Trabaja a presión y temperatura altas para esterilizar los medios de cultivos.
Fermentador	Es un recipiente en el que se lleva a cabo un
	proceso químico que involucia organismos y sustancias de los mismos, el cual debe mantener un sistema de ambiente biológicamente activo. Además debe poseer una alta resistencia química, un bajo coeficiente de expansión térmica, y mayor resistencia al choque térmico. Se emplea para que la temperatura y la aireación se mantengan constantes a medida que la fermentación avanza.
Balanza analítica	Balanza de alta precisión para el pesaje de las muestras a analizar.
Agitador magnético	Es un instrumento que utiliza un campo magnético rotatorio con el fin de accionar una agitación en un líquido empleando un conjunto de electroimanes estacionarios.

Cuadro 4.	(Continuación))
-----------	----------------	---

Materiales y equipos	Descripción
Condensador tipo Graham	Es un condensador que en su tubo interno tiene un forma de espirar cuya función es conducir el refrigerante y llevar a la condensación ya sea de manera interna o externa dependientemente el fluido a tratar.
Hidrómetro Gay Lussac	Instrumento graduado para medir la cantidad de
(°GL)	alcohol en una relación agua-etanol siguiendo el principio de flotabilidad.
Cromatógrafo de gases	La cromatografía gaseosa es una técnica de separación y análisis de mezclas de sustancias volátiles basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil. En cromatografía gaseosa, la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija.
	 Las columnas más recomendables para la determinación de etanol son las siguientes: ✓ Capilar ✓ Semicapilar ✓ Empacada: 182,88 cm (6 pies) x 0,3175 cm (1/8 de pulgada), en acero inoxidable o vidrio.
	 Las columnas más recomendable para la determinación de metanol son las siguientes: ✓ Columna en acero inoxidable con Carbowax 1500 al 0,2% sobre carbopack C (malla 80-100), de 1,83 m (6 pies) de longitud y 3,2 mm (1/8 de plugada) de diámetro. ✓ Columna con Carbowax 20M al 5% sobre Carbopack B (malla 80-120), de 2m de longitud y 2 mm de diámetro interno.

Cuadro 4. (Continuación)

Materiales y equipos	Descripción
Mecheros Fisher	Es un quemador cuya función es calentar recipientes, proporcionar calefacción, esterilización y combustión entre otros.
Espectrofotómetro	Es un instrumento que permite la determinación cuantitativa de compuestos absorbentes de radiación de un haz de luz en una solución.
Centrifugadora	Es un instrumento cuya función es crear movimientos rotativos a determinada velocidad para separar los componentes de una muestra.
Hidrómetro Brix (ºBx)	Instrumento graduado para medir la cantidad de azúcar en una relación agua-sacarosa siguiendo el principio de flotabilidad.

Cuadro 4.	(Continuación)
-----------	----------------

Materiales y equipos	Descripción
Reflujo	Es un método experimental que consiste en el calentamiento para reacciones que ocurren a temperaturas superiores a la ambiente, se debe conservar un volumen de reacción constante y mantenerse refrigerado.
Cromatógrafo HPLC	 El equipo está constituido por un desgasificador alimentado por una bomba, inyector automático, horno de la columna con tipo de circulación de aire forzado, detector de matriz de fotodiodos, detector de índice de refracción, controlador del sistema de HPLC. La columna más recomendables para la determinación de benzoato de sodio es las siguientes: ➢ Columna C18 (150 x 4,6mm x 0,45µm). La columna más recomendables para la determinación de ácido ascórbico es las siguientes: ➢ Columna intersil ODS-3 C18 con medidas de 5µm, 250 × 4.6 mm
Cámara de Neubauer	Es un instrumento de vidrio óptico especial de precisión cuya finalidad es detallar la cantidad de partículas o células en suspensión bajo un microscopio.

Cuadro 4. (Continuación)

Materiales y equipos	Descripción
Microscopio	Es un instrumento óptico en cual posee un lente
	de aumento o combinación de lentes para inspeccionar objetos demasiado pequeños para ser vistos de forma clara y detallada por el ojo humano.
Micro pipeta	Son utilizados para transferir pequeñas cantidades de líquido usualmente por debajo de 1 mm ³ , estas no solo difieren de su tamaño y volumen sino de sus aspectos particulares de acuerdo a las puntas de pipetas específicas.

Fuente. Elaboración propia

2.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Este proyecto busca evaluar la obtención de bioetanol partiendo de la fermentación de los azúcares concentrados en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de la cepa *Saccharomyces cerevisiae*.

Los métodos utilizados para llevar a cabo cada objetivo del presente proyecto son los siguientes.

2.3.1 Diseño de experimentos.

2.3.1.1 Identificación de las variables dependiente.

> **Concentración de bioetanol.** Esta variable se refiere a la concentración de bioetanol luego de la fermentación. El objetivo general es obtener la mayor cantidad de bioetanol después de la fermentación, modificando diferentes variables, niveles y rangos, como los son la concentración de microorganismos y de sustrato.

> **Concentración final de sustrato.** La concentración de sustrato después de iniciada la fermentación es consumida por el microorganismo a medida de que pasa el tiempo. Este consumo de sustrato es muy difícil de predecir y es una variable que no se puede controlar directamente.

> **Concentración final de microorganismos.** Los microorganismos después de su inoculación en el medio de cultivo es muy difícil predecir su crecimiento, es una variable que no se puede controlar directamente y depende de factores ideales para su crecimiento, metabolismo y producción de bioetanol.

> **Tiempo de fermentación.** Esta variable dependiente es afectada por la las condiciones iniciales del medio de cultivo como la concentración inicial de sustrato, concentración inicial de microorganismos, nutrientes, potencial de hidrógeno (pH), temperatura y aeración, influyendo en gran medida el tiempo de la fermentación.

Potencial de hidrógeno final. El potencial de hidrógeno (pH) se ve fuertemente afectada por la concentración de bioetanol durante el proceso de fermentación. La Saccharomyces cerevisiae en su proceso de metabolismo disminuye el potencial de hidrógeno (pH) para evitar competir por sustrato con otros microorganismos.

2.3.1.2 Identificación de las variables independientes. Las variables independientes son aquellas variables que el investigador puede modificar para afectar la variable respuesta del diseño de experimentos, con respecto a los niveles y rangos propuestos a evaluar. Las variables independientes estudiadas en el presente trabajo se presentan a continuación.

➢ Potencial de hidrógeno (pH). El pH inicial es una condición constate a la hora de la preparación del medio de cultivo. Esta variable tiene una relación directa con la temperatura, debe existir un rango óptimo que permitirá el inicio la fermentación y el crecimiento microbiano, permitiendo un mayor rendimiento en el proceso de inoculación el cual influye considerablemente en los productos finales de bioetanol. Esta variable se mantendrá constante al inicio de la fermentación.

➤ **Temperatura.** Relacionada con el potencial de hidrógeno (pH), debe existir un rango óptimo que permita el inicio de la fermentación. La adaptación de la temperatura en el medio de cultivo es fundamental para el crecimiento del microorganismo, en caso de que la temperatura este fuera del rango óptimo de crecimiento se producirá una inhibición o muerte del microrganismo. Esta variable se mantiene constante durante todo el periodo de fermentación.

Concentración inicial de nutrientes. Los nutrientes es un factor fundamental a la hora de la obtención de bioetanol por fermentación, brindando distintos macronutrientes y micronutrientes al microorganismo para su crecimiento y metabolismo. Esta variable se mantiene constate al inicio de la fermentación, diluida con respecto a la cantidad de nitrógeno.
➤ Concentración inicial de sustrato. La fermentación es una degradación aerobia o anaerobia de sustancias orgánicas a diversos productos. La cantidad de sustrato presente en una fermentación es fundamentar para el crecimiento y metabolismo de los microorganismos. Se pueden presentar inhibiciones en presencia de altas concentraciones de sustrato, ocasionando alta presión osmótica evitando el libre movimiento del microorganismo en el medio de cultivo.

> Concentración inicial de microorganismo. La concentración inicial de microorganismos inicial en el medio de cultivo es una variable que afecta en la obtención de bioetanol. Las concentraciones óptimas de microorganismos se encuentran en el rango de 10^6 a 10^8 Células/ml.

➢ Aireación. La levadura Saccharomyces cerevisiae es una microorganismo anaerobio facultativo y pueden utilizar o no el oxígeno para su crecimiento. de acuerdo al ambiente que se desarrolle, presenta diferencia en su crecimiento y producción de metabolitos. La aireación en una variable que se deja constante al inicio de la fermentación.

2.3.1.3 Selección de la variable respuesta. Al seleccionar la variable respuesta, el experimentador debe estar seguro de que esta variable realmente proporciona información útil sobre el proceso en estudio.

Las variables repuestas del proyecto se muestran a continuación:

> **Concentración de bioetanol**. Esta variable de estudio es la más importante del proyecto El objetivo general es obtener la mayor cantidad de bioetanol después de la fermentación, modificando diferentes variables, niveles y rangos, como los son la concentración de microorganismos y de sustrato.

> **Concentración de sustrato final.** La concentración de sustrato después de iniciada la fermentación es consumida por el microorganismo a medida de que pasa el tiempo. Esta es una variable respuesta del proyecto donde se analiza el consumo de sustrato durante la fermentación.

> Potencial de hidrógeno (pH) final. El potencial de hidrógeno (pH) se ve fuertemente afectada por la concentración de bioetanol durante el proceso de fermentación. Es una variable repuesta del proyecto y se emplea para estudiar el cambio de potencial de hidrógeno (pH) con respecto al tiempo en el proceso de fermentación.

2.3.1.4 Selección de niveles y rangos. Una vez que se ha seleccionado los factores de diseño, se debe elegir los rangos sobre los cuales estos factores serán variados y los niveles específicos en los que se realizará. También se debe pensar en cómo estos factores deben ser controlados a los valores deseados y cómo se van a medir.

En el proyecto se tendrá dos variables independientes a estudiar con sus respectivos niveles v rangos las cuales se muestra a continuación:

> Concentración inicial de sustrato. La concentración máxima optima de sustrato presente en medios de cultivos es de 250 g*L⁻¹. Se toma un rango de 180 a 250 g*L 1 v se toman 3 niveles correspondientes a 180. 200 v 250 g*L⁻¹.

> Concentración inicial de microorganismo. Las concentraciones óptimas de microorganismos se encuentran en el rango de 10^6 Células/ml a 10^8 Células/ml. Se toma un rango de 10⁶ a 10⁸ Células/ml y se toman 3 niveles correspondientes a 10^{6} . 10^{7} v 10^{8} Células/ml.

En la tabla 3 se muestra la interrelación de los niveles y rangos de las variables independientes a evaluar en el diseño de experimentos.

abla 3. Interrelación de los niveles y rangos.							
	Со	Concentración de microorganismos					
		(Cé	lulas/ml)				
		1,72E+06	1,72E+07	1,72E+08			
Ð		M1	M4	M7			
r J	180	M2	M5	M8			
iói lý		M3	M6	M9			
Concentrac sustrato (M10	M13	M16			
	200	M11	M14	M17			
		M12	M15	M18			
		M19	M22	M25			
	250	M20	M23	M26			
		M21	M24	M27			

Fabla 3. Inte	errelación de los	s niveles y rangos.
---------------	-------------------	---------------------

Fuente. Elaboración propia

2.3.1.5 Selección del diseño de experimentos. La elección del diseño implica la consideración del tamaño de la muestra (número de repeticiones), la selección de un orden de ejecución adecuado para los ensayos experimentales y la determinación de si hay o no bloqueo u otras restricciones de asignación al azar.

En el presente proyecto se escogió un diseño de experimentos factorial 3^k. Por tanto hay dos factores A y B con a niveles del factor A y b niveles del factor B, donde cada replica incluye todas las combinaciones de tratamiento ab. El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta que produce un cambio en el nivel del factor⁸⁴.

⁸⁴ MONTGOMERY, Runger. Probabilidad y estadística aplicada a la ingeniería& nbsp; segunda ed. México DF: Limusa Wiley, 2013. 618 p.

Tabla 4. Diseño factorial 3 ²					
		Fa	actor B		
		1	2	b	Y _i
		Y ₁₁₁	Y ₁₂₁	Y_{1b1}	
	1	Y ₁₁₂	Y ₁₂₂	Y_{1b2}	Y ₁
۲		Y _{11n}	Y _{12n}	Y _{1bn}	
2		Y ₂₁₁	Y ₂₂₁	Y_{2b1}	
ĨĊŢ	2	Y ₂₁₂	Y ₂₂₂	Y_{2b2}	Y ₂
ш		Y _{21n}	Y _{22n}	Y_{2bn}	
		Y _{a11}	Y _{a11}	Y_{ab1}	
	а	Y _{a12}	Y _{a12}	Y_{ab2}	Y _a
		Y _{a1n}	Y _{a1n}	Y_{abn}	
	Y.i.	Υ _{.1.}	Y _{.2.}	Υ _{.b.}	Y
Franke, Elekenezién prezie					

En la tabla 4 se muestra el desarrollo matemático del diseño factorial 3².

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza ANOVA es el más adecuado para el análisis los datos obtenidos en la preexperimentación se analiza el efecto del factor A, el efecto del factor B y el efecto de la interacción de los factores A y B en las variables respuestas. Las muestras aleatorias de tamaño *n* de las *k* diferentes se clasifican sobre la base de un solo criterio como tratamiento o grupos diferentes. El tratamiento se usa por lo generalmente para referirse a las diversas clasificaciones, ya sea de análisis diferentes o mezclas diferentes. Se debe derivar métodos apropiados para probar las hipótesis⁸⁵.

En la tabla 5 se muestra la estructura de análisis de varianza ANOVA.

ANOVA			
Fuentes variación	SC	gl	СМ
Entre factores A	SCEA	a-1	CME _A
Entre factores B	SCEB	b-1	CME _B
Interacción AB	SCE _{AB}	(a-1)(b-1)	
Dentro Trat Error	SCD _{ER}	ab(n-1)	CME _{ER}
Total	SCT	N-1	

 Tabla 5. Tabla de análisis de varianza ANOVA

Fuente. Elaboración propia

⁸⁵ WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

2.3.2 Obtención por fermentación de bioetanol en el diseño de experimentos.

La obtención por fermentación de bioetanol, es un proceso biológico generalmente en ausencia de oxigeno (O₂), donde se origina por la actividad de microorganismos que procesan los hidratos de carbón para la producción de bioetanol. Para que dicho procesos se efectué se tienen que presentar una serie de condiciones fisicoquímicas como lo son la activación de la cepa, la presencia de macronutrientes y micronutrientes, las condiciones de potencial de hidrógeno (pH), temperatura, concentración de sustrato entre otras. Estas condiciones afectan el crecimiento de microorganismos y la máxima obtención de bioetanol.

En el diagrama 1 se muestras las operaciones unitarias del proceso para la obtención de bioetanol para el diseño de experimentos planteado.





2.3.2.1 Activación de la cepa. Se toma un sobre de levadura seca liofilizada de referencia *Saccharomyces cerevisiae*, con agente emulsionante E491 Safbrew BE-256 de la empresa francesa Fermentis®, que contiene con una cantidad de 11 gramos por sobre, con una concentración >6*10⁹ células viables/gramo.

Para calcular la concentración de inicial de levadura, se utiliza el método de cuantificación de microorganismos por cama de Neubauer. Se pesa 0,1666 g de levadura liofilizada y se vierte en 10 ml de agua destilada dejando que se hidrate por si sola. Después de hidratada la levadura, con una pipeta se saca 1ml de inoculo y se le agregan 100 ml de agua destilada, realizando una disolución con una relación 1/100. Posteriormente con una micro pipeta se toman 20 µL de la disolución, poniéndolos en una

cámara de Neubauer. Finalmente con un microscopio se realiza el conteo de células por cuadrantes de la cama de Neubauer.

Para la activación de la cepa se toma un tubo de ensayo al cual se le añade 5 ml de agua destilada y la cantidad de levadura debidamente calculada y pesada sin agitar dejando que se hidrate por sí sola, para formar soluciones con una concentración de 1,72*10^6, 1,72*10^7 y 1,72*10^8 Celulas/ml dependiendo del tipo de cultivo del diseño de experimento. Las muestras de inoculación se introducen en un baño serológico por un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 35 °C para la activación de la levadura.

En la ilustración 5 y 6 se muestra el proceso de hidratación de la cepa a distintas concentraciones.



Ilustración 5. Hidratación de la cepa

Fuente. Elaboración propia

Ilustración 6. Disolución de la cepa a 1,72*10^6, 1,72*10^7 y 1,72*10^8 Celulas/ml



Fuente. Elaboración propia

En el diagrama 2 se muestra el correspondiente proceso para la activación de la cepa





Fuente. Elaboración propia

2.3.2.2 Preparación de los nutrientes. La *Saccaromyces cerevisiae* es una levadura perteneciente a Phylum Ascomycota, se caracteriza por no presentar exigentes requerimientos nutricionales y condiciones de ambientales para su crecimiento. Su crecimiento microbiano requiere de macronutrientes, micronutrientes y promotores de crecimiento.

La producción máxima de CO_2 y el máximo crecimiento microbiano de *Saccaromyces cerevisiae* en la fermentación alcohólica, se han relacionado fuertemente con la concentración inicial de nitrógeno asimilable en los mostos, factor que es considerado como el principal limitante de la cinética de la fermentación, pero está pobremente relacionado con este mismo parámetro al final de la fermentación⁸⁶.

⁸⁶ BORDEU, E. 1998. Niveles de amonio y nitrógeno fácilmente aprovechable para las levaduras. Algunas experiencias en Chile. *In*: Tópicos de actualización en vitivinicultura y enología. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Pp. 173 – 184.

Se determinó que la concentración promedio de nitrógeno total utilizado durante el catabolismo de 200 g^{-L-1} de glucosa cuando todos los aminoácidos se encuentran en exceso es de una concentración de nitrógeno de 400 mg*L^{-1.87}

Los niveles de concentración de nitrógeno, considerados óptimos para el máximo crecimiento microbiano y velocidad de fermentación se encuentran entre 500 a 800 mg·L⁻¹ de acuerdo a diferentes estudios⁸⁸.

Para el proyecto se usa un producto previamente preparado llamada Nutri-Ponic de la empresa WALCO S.A. que contiene nitrógeno amoniacal y nitrógeno nítrico con fuente nutricional de nitrógeno. La ficha técnica y las concentraciones de macronutrientes y micronutrientes presentes en el producto se pueden apreciar en el anexo 5.

El análisis de la relación carbono-nitrógeno para la preparación de los medias de cultivos se presenta en las tablas 6, 7, 8 y 9.

Compuesto	Formula Química	Peso Molecular (g/mol)	Porcentaje (%)	Peso (g)
Nitrógeno amoniacal	NH ₃ -N	31,0372	100	40,3
Hidrógeno	H_3	3,02382	9,7425	3,9
Nitrógeno	N ₂	28,0134	90,2574	36,4

Tabla 6. Nitrógeno amoniacal

Fuente. Elaboración propia

Tabla 7. Nitrógeno nítrico

Compuesto	Formula Química	Peso Molecular (g/mol)	Porcentaje (%)	Peso (g)
Nitrógeno nítrico	NHO ₃	63,0115	100	4,0
Hidrógeno	Н	1,00784	1,599	0,0639
Oxigeno	O ₃	47,997	76,1718	3,0468
Nitrógeno	N	14,0067	22,2287	0,8891

Fuente. Elaboración propia

⁸⁷ JIRANEK, V.,. LANGRIDGE P, y HENSCHKE A. 1995. Amino acid and ammonium utilization by Saccharomyces cerevisiae wine yeast from a chemically defined medium. Am. J. Enol. Vitic. 46 (1): 75 - 83.

 ⁸⁸ BORDEU, E. 1998. Niveles de amonio y nitrógeno fácilmente aprovechable para las levaduras.
 Algunas experiencias en Chile. *In*: Tópicos de actualización en vitivinicultura y enología. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Pp. 173 – 184.

Tabla 8. Sacarosa

Compuesto	Formula Química	Peso Molecular (g/mol)	Porcentaje (%)
Sacarosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	331,2036	100
Carbono	C ₁₂	144,1284	42,1071
Hidrógeno	H_{22}	22,1724	6,4776
Oxigeno	O ₁₁	175,989	51,4152

Fuente. Elaboración propia

Tabla 9. Cantidad de carbono	presentes en	los medios	de cultivo
------------------------------	--------------	------------	------------

Compuesto	Formula Química	Peso de azúcar 180g/L (g)	Peso de azúcar 200g/L (g)	Peso de azúcar 250g/L (g)
Sacarosa	$C_{12}H_{22}O_{11}$	45	50	62,5
Carbono	C ₁₂	18,9482	21,0535	26,3169
Hidrógeno	H_{22}	2,9149	3,2388	4,0485
Oxigeno	O ₁₁	23,1368	25,7076	32,1345

Fuente. Elaboración propia

Después de realizar los cálculos de la concentración de nitrógeno presente en los nutrientes y la cantidad de carbonos presente en la concentración de azúcares para la preparación de los medios de cultivos, se supone la relación carbononitrógeno. Para una concentración de azúcares de 180g/L corresponde a una relación de carbono-nitrógeno de 360/1, para una concentración de azúcares de 200g/L corresponde a una relación de carbono-nitrógeno de 400/1 y para una concentración de azúcares de 250g/L corresponde a una relación de carbono-nitrógeno de 500/1.

Para la preparación de los nutrientes, se hace una dilución de Nutri-Ponic con respecto a la concentración inicial de nitrógeno presente en el producto que corresponde a 37,28 gL⁻¹. Se toma una cantidad de 338,6mL de Nutri-Ponic y se le añaden 1911,4 ml de agua destilada, para un volumen total de 2250 ml de nutrientes diluidos a 505,04 mg·L⁻¹ de nitrógeno, para la preparación de 90 medios cultivos.

2.3.2.3 Preparación de medios de cultivo. Las concentraciones altas de azúcares afectan los procesos de ósmosis dentro de la membrana celular, el rango óptimo de concentración de azúcares es de 10 a 18%, puesto que a concentraciones de 22% las levaduras empiezan a tener problemas en su proceso de respiración celular. La concentración máxima de azúcares en medio de cultivo es de 250 g*L⁻¹ para que se presente el crecimiento, metabolismo y libre movimiento de la levadura *Saccaromyces cerevisiae*⁸⁹

⁸⁹ RÍOS DEL RISCO, Carlos, FAJARDO, Mario, PEREZ, Juan Carlos. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel Apis mellifera. Estacion experimental apícola Cuba p. 128

La bebida gaseosa carbonatada vencida provee la fuente de sustrato conocida como sacarosa proveniente de la caña de azúcar que es uno de sus materias primas para la elaboración de la bebida, y sirve como fuente de energía para el crecimiento y metabolismo de la cepa. Otra sustancia de interés presente en dichas bebidas es el benzoato de sodio, este preservante inhibe el crecimiento de mohos y levaduras, afectando al momento de la fermentación evitando la producción de bioetanol.

Para evitar que el benzoato de sodio inhiba el crecimiento de la cepa a utilizar en la fermentación, se adecua el sustrato haciéndolo reaccionar con ácido ascórbico. Se toman 20 L de bebida gaseosa carbonatada vencida y se vierten en un recipiente de acero inoxidable, posteriormente se le añade 20 g de ácido ascórbico previamente triturado agitando vigorosamente hasta homogenizar como se muestra en la ilustración 7.

Finalmente se procede a reaccionar el benzoato de sodio con el ácido ascórbico elevando la temperatura a unos 100 °C con una presión de 1atm durante 40 min después de alcanzar la temperatura de burbuja. Esto se hace con el fin de que el benzoato de sodio libere su grupo aromático y se genere ascorbato de sodio y el benceno generado se evapore.



Ilustración 7. Preparación del medio de cultivo

Fuente. Elaboración propia

El ácido ascórbico utilizado para la preparación de los medios de cultivos en el diseño de experimentos, es de la marca Natural Wellness de referencia Max C-500mg Plus, se caracteriza por traer tabletas de 500mg, contiene 90,3% de ácido ascórbico (vitamina C) y 9,6% de calcio. El producto utilizado se puede apreciar en la ilustración 8.

Ilustración 8. Ácido ascórbico



Fuente. Elaboración propia

Después de hacer reaccionar el benzoato de sodio con el ácido ascórbico, se procede a concentrar los azúcares por medio de una destilación por arrastre de vapor para poder llegar a las concentraciones 180, 200 y 250 g*L⁻¹ dependiendo del tipo de cultivo a preparar como se muestra en la ilustración 9.



Ilustración 9. Concentración de azúcares por destilación

Fuente. Elaboración propia

Para la preparación del medio se elige un volumen de 250 ml de solución, en una proporción de 80% de sustrato a concentraciones de 180, 200 y 250 g*L⁻¹, 10% de nutrientes a una concentración de nitrógeno de 505,04 mg*L⁻¹ y 10% de inoculo con concentraciones de 1,72*10⁶, 1,72*10⁷ y 1,72*10⁸ Células/ml con el fin de que la solución sea homogénea y la interacción entre el sustrato, los nutrientes y el microrganismo sea ideal y evite la alta presión osmóticas que evite el libre movimiento del microorganismo y se produzca una inhibición. La preparación de los medios de cultivos se muestra en la ilustración 10.

Ilustración 10. Medios de cultivo



Fuente. Elaboración propia

El potencial de hidrógeno (pH) es un factor limitante en el proceso de la fermentación debido a que las levaduras se ven afectadas por el ambiente en el cual se desarrollan, es decir alcalino o ácido. Las levaduras tienen rango óptimo de pH que va desde 3,5 hasta 5,5. En el proceso de fermentación, el pH tiende a disminuir debido a la producción de ácido, formando al tomar los nitrógenos de los aminoácidos perdiendo su carácter anfótero⁹⁰.

En el planteamiento del diseño de experimento la variable independiente del potencial de hidrógeno (pH) se dejó fija a todo la preparación de los cultivos con una pH de 5,0 establecido en el rango expuesto anteriormente. Las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas tienen rango promedio de pH que va desde 2,60 hasta 3,42 pH, rango de potencial de hidrógeno (pH) muy ácido paro la preparación del medio cultivo, por ende se pretende adecuar el pH con una solución de NaOH a una concentración 1N. Por medio de una pipeta Pasteur se añade gota a gota y se rectifica el pH por medio de un potenciómetro hasta alcanzar un pH de 5,0 óptimo para la preparación del medio de cultivo.

2.3.2.4 Fermentación. La fermentación se lleva a cabo en un bioreactor con una capacidad para soportar la incubación de 15 cultivos con un volumen de 250 ml cada uno, adaptando unos dispositivos que controlan y mantienen la temperatura y la aireación constante. Los cultivos traen una tapa en forma de campana para evitar que se contaminen y sea fácil la evacuación de gases de CO₂ producidos por el metabolismo de la levadura durante la fermentación. La temperatura se establece en 25 °C, temperatura que entra en el rango de las condiciones técnicas

⁹⁰ RÍOS DEL RISCO, Carlos, FAJARDO, Mario, PEREZ, Juan Carlos. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel Apis mellifera. Estacion experimental apícola Cuba p. 129

de la levadura seca liofilizada de referencia *Saccharomyces cerevisiae*, Safbrew BE-256 que se puede ver en el anexo 1, los microorganismos tiene un rango de crecimiento óptimo de 18 °C a 25 °C y la aireación con un punto de saturación de O_2 a 25°C es de 7,5 ppm. Estableciendo estas condiciones se evita que la temperatura y la aireación afecten negativamente la fermentación causados bajo rendimientos en el proceso.

El bioreactor utilizado en el proceso de fermentación en el diseño de experimentos se muestra en la ilustración 11.



Ilustración 11. Bioreactor

Fuente. Elaboración propia

2.3.3 Obtención por fermentación de bioetanol para el análisis cinético. Después de terminado el diseño de experimentos se escogen los dos mejores cultivos que produjeron la mayor cantidad de bioetanol, haciendo una réplica de cada uno con un volumen de 4 L, con el fin de analizar las cinéticas de obtención de bioetanol, consumo de sustrato y crecimiento microbiano.

Para la preparación de los dos mejores cultivos se acondiciona el bioreactor, adaptándolo con dos recipientes de 4000 ml con su respectivo control de temperatura y aireación, manteniendo las mismas condiciones que se plantearon en el diseño de experimentos. En la ilustración 12 se muestra el acondicionamiento del bioreactor para la fermentación de los cultivos de 4 L.

Ilustración 12: Bioreactor con capacidad de 4 L



Fuente: Elaboración propia

2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS BEBIDAS GASEOSAS CARBONATADAS VENCIDAS

Las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas a analizar, presenta diferentes factores fisicoquímicos que debe tenerse en cuenta en el momento de la selección del mejor proceso de obtención de bioetanol, a continuación, se enuncian los métodos realizados para la caracterización de dichas bebidas y el impacto que estas propiedades genera sobre la obtención de bioetanol.

2.4.1 Determinación de benzoato de sodio por cromatografía HPLC. Para la determinación de benzoato de sodio en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas es necesario realizar su correspondiente análisis con el propósito de cuantificar la concentración del preservante presente en dichas bebidas.

La cuantificación de la concentración de benzoato de sodio se determina por cromatografía liquida (HPLC), donde se emplea el siguiente método, procedimiento experimental

En primer lugar se prepara la disolución patrón de benzoato de sodio, para ello se pesa 100 mg de benzoato de sodio y se pasa a un matraz de 100 ml aforando con agua ultrapura, esta será la solución madre y a partir de ella se preparan disoluciones de benzoato de sodio a 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 y 100 mg^{*}L¹. Con estas disoluciones patrón se creara la curva de calibración.

Después de preparadas las muestras patrón se procede acondicionar la muestra a analizar. La muestra de gaseosa carbonatada vencida se procede a retirarle la cantidad de gas carbónico, manteniendo en agitación empleando un agitador magnético durante 10 minutos y se deja reposar durante 5 minutos. Posteriormente se pasa por un papel filtro con un diámetro de poro de 0,45 µm y se recoge en un erlenmeyer de 50 ml retirando las partículas sólidas presentes.

Por último se procede a inyectar las disoluciones patrón y las muestras, cada muestra a analizar se coloca en un vial de inyección y se introduce en el muestreador automático. Las condiciones y especificaciones cromatográficas se muestran en el cuadro 5.

Columna	C18 (150 x 4,6 mm x 0,45 μm)
Detector	UV-vis a 225 nm
Fase móvil	80% Tampón acetato de amonio (pH=4.2) y 20%
	acetonitrilo
Flujo	0,8 ml/min
Volumen de inyección	20 μL
Tiempo de retención	20 min

Cuadro 5: Condiciones y especificaciones cromatográficas

Fuente: FUENTES LÓPEZ Ana. Determinación de sorbato potásico y benzoato sódico en alimentos por HPLC. [0]: València, España: Universidad Politècnica de València

Para llevar a cabo el método de cromatografía liquida HPLC para la determinación de benzoato de sodio se debe seguir una serie de pasos que pueden ver en diagrama 3.



Diagrama 3. Determinación de benzoato de sodio

Fuente. Elaboración propia

2.4.2 Determinación de grados Brix (°Bx). La determinación de grados Brix (°BX) en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, se realiza con el fin de determinar la relación agua-azúcar. Consiste en la medición de la densidad aparente dada por la concentración de azúcar disuelto, empleando un hidrómetro con una escala de grados Brix (°Bx), flotando en agua a una temperatura de 293 °K (20 °C) y con una tabla de corrección por temperatura que podemos encontrar en el anexo 2 en caso de que la medición de las muestras se encuentren a una temperatura diferente.

Se adquieren 30 bebidas gaseosas carbonatadas vencidas de distinto sabor, de cada una se toma 250 ml y se vierte en un beackers de 500 ml, se procede a retirarle el gas carbónico presente en la bebida agitando vigorosamente el recipiente o utilizar un agitador magnético por un periodo de 10 minutos con el fin de que el gas carbónico no afecte la medición.

Retirado el gas carbónico, se procede a verter la muestra en una probeta de 250 ml y se sumerge el hidrómetro Brix (^oBx) evitando que este tenga contacto con las paredes de la probeta y esperando a que quede en reposo absoluto. Finalmente se toma la medición dada por el hidrómetro y se realiza el mismo proceso a cada una de las 30 muestras de bebida.

Para llevar a cabo el método para la determinación de azúcar por grados Brix (^oBx) se debe seguir una serie de pasos que se pueden ver en diagrama 4.



Diagrama 4. Determinación de grados Brix (°Bx)

2.4.3 Determinación del volumen de carbonatación. El método utilizado para la determinación del volumen de carbonatación presente en bebidas gaseosas carbonatadas consiste en medir el volumen de CO_2 a una presión y temperatura constante. El contenido de CO_2 presente en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas en botellas tanto de vidrio como plásticas se basa en establecer un equilibrio entre los gases disueltos en el líquido.

Se toma un recipiente de 1000 ml con una altura de 10 cm y se llena con 500 ml de agua. Posteriormente se toma una probeta de 250 ml y se llena hasta que se desborde el agua y se tapa con una hoja de papel. Seguidamente se sumerge la probeta invertida en el recipiente de 1000 ml sin dejar que entre aire a la probeta y se introduce una manguera conectada a un corcho en la probeta sin dejar que entre aire. Por último se destapa una botella de gaseosa carbonatada vencida y se conecta con el corcho agitando la botella vigorosamente por un periodo de 15 min

Fuente. Elaboración propia

aproximadamente, esto se hace con el fin de que el gas presente en la botella al momento de agitarla salga por la manguera, y se dirija a la probeta desplazando el agua tomando así la lectura del volumen desplazado en ml de CO₂.

Para llevar a cabo el método de la determinación del volumen de carbonatación se debe seguir una serie de pasos que se pueden ver en diagrama 5.



Diagrama 5: Determinación del volumen de carbonatación

Fuente: Elaboración propia

2.4.4 Determinación de la densidad. En la medición de la densidad por hidrometría, se realiza con el fin de determinar la relación masa-volumen de una sustancia, consiste en la medición de la densidad aparente dada por la mezcla de una solución o sustancia pura, empleando un hidrómetro con una escala en gramos sobre centímetros cúbicos, flotando en agua a una temperatura de 293 °K (20 °C) y con una tabla de corrección por temperatura que podemos encontrar en el anexo 4 en caso de que la medición de las muestras se encuentren a una temperatura diferente.

Se adquieren 30 bebidas gaseosas carbonatadas vencidas de distinto sabor, de cada una se toma 250 ml y se vierte en un beackers de 500 ml, se procede a retirarle el gas carbónico presente en la bebida agitando vigorosamente el recipiente o utilizar un agitador magnético por un periodo de 10 minutos con el fin de que el gas carbónico no afecte la medición.

Retirado el gas carbónico, se procede a verter la muestra en una probeta de 250 ml y se sumerge el hidrómetro de densidad evitando que este tenga contacto con las paredes de la probeta y esperando a que este quede en reposo absoluto. Finalmente se toma la medición dada por el hidrómetro y se realiza el mismo proceso a cada una de las 30 muestras de bebida.

Para llevar a cabo el método de la determinación de la densidad, se debe seguir una serie de pasos que se pueden ver en diagrama 4.

Determinación de la densidad Tomar 250 ml de Beackers de muestra 500 ml Agitación Agitador Retirar el gas carbónico por 10 min magnetico Evitar que el Determinación de relación Probeta de hidrómetro toque agua-azucar 250 mL las paredes Hidrómetro Tom<u>a de la</u> Erlenmeyer de densidad de 100 ml lectura Fin

Diagrama 6. Determinación de la densidad

Fuente. Elaboración propia

2.4.5 Determinación del potencial de hidrógeno (pH). Uno de los parámetros a analizar en la caracterización de las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas es el potencial de hidrógeno, con el cual se determina en alimentos la acidez (cantidad iones hidronios), o alcalinidad (cantidad de iones hidroxilo). El método que se siguió para este parámetro empleado es el AOAC 945.27 con técnica electrométrica.

Se utiliza un potenciómetro Ohaus Starter 2100 pH Bench, sus especificaciones técnicas se muestran en el anexo 3. Se neutraliza el electrodo con abundante agua, posteriormente se calibra con 3 buffer diferentes de 4, 7 y 10 pH y se procede a purgar con una muestra de bebida. Finalmente se coloca la muestra en un erlenmeyer de 500 ml y a continuación se hace la toma de la lectura del pH.

Para llevar a cabo el método de determinación del potencial de hidrógeno (pH) se debe seguir una serie de pasos que se pueden ver en diagrama 5.



Diagrama 7. Potencial de hidrógeno (pH)

Fuente. Elaboración propia

2.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS

2.5.1 Determinación de ácido ascórbico por cromatografía HPLC. Para la determinación de ácido ascórbico después de hacerlo reaccionar con la bebida gaseosa carbonatada vencida es necesario realizar su correspondiente análisis con el propósito de cuantificar la concentración presente en dichas bebidas.

La cuantificación de la concentración de ácido ascórbico se determina por cromatografía liquida (HPLC), donde se emplea el siguiente método y procedimiento experimental.

Se hace la preparación de la disolución de potasio ortofosfato, tomando 20 ml de solución acuosa de ácido meta fosfórico, disolviéndolo en agua desionizada, y ajustanto el pH a 2,5, 3,0 y 4,0. El metanol y el acetonitrilo se utilizan directamente en fase orgánica. Todos los solventes se filtran a través de papel filtro de 0,45 µm y una desgasificación durante 20 minutos mediante un limpiador ultrasónico.

Para la preparación de la curva patrón de calibración de ácido ascórbico se prepara una solución con una concentración de 1 mg/ml y se diluye para formar concentraciones de 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 y 1,0 mg/ml, todas las soluciones se refrigeraron a 4 °C y se llevaron a la temperatura ambiente antes de hacer la corrido en el cromatógrafo HPLC.

Para la extracción de ácido ascórbico se mezcla un volumen de 5 ml de bebida después hacer reaccionar el benzoato de sodio, centrifugando la muestra a 5000 rpm durante 5 minutos y filtrándola a través de filtros de PVDF Millipore de 0,45 µm de diámetro de poro. Las muestras de 20ul se cargada al cromatógrafo HPLC para analizar el ácido ascórbico y se registran los datos obtenidos

La fase acuosa fue compuesta del ortofosfato del dihidrógeno del potasio y del ácido fosfórico, mientras que la fase orgánica se encuentra compuesta por metanol y acetonitrilo. Se ajustan los componentes de las fases móviles, el pH, el caudal y la longitud de onda de la absorbancia UV. La separación y la recuperación son hechas usando el metanol al 20%, el pH 3.0 y una longitud de onda de 300nm.

La corridas en el cromatógrafo HPLC de las soluciones de para la curva de calibración y las muestras a analizar se utiliza una bomba ajustada a una velocidad de flujo del 20% para el metanol. El caudal se fija a 1 ml/min, el volumen de la inyección es de 10µl para las muestras y las soluciones patrón, que se inyecta a la columna. La separación se alcanza usando el horno L-2300 de la columna en 40 °C, con una columna recomendada ODS-3 C18 (5um, 250 × 4.6 milímetros) y una longitud de onda de detección de 240 nm. La absorbancia UV del efluente fue escaneada por espectrofotómetro.

Para llevar a cabo el método de cromatografía liquida HPLC para la determinación de ácido ascórbico se debe seguir una serie de pasos que pueden ver en diagrama 8.



Diagrama 8. Determinación de ácido ascórbico

Fuente. Elaboración propia

2.5.2 Determinación de azúcares reductores DNS. Es uno de los métodos más empleados al momento de cuantificar los azúcares presentes en una muestra. El reactivo DNS, está compuesto por ácido dinitrosalicílico y sal de rochelle, cumple la función de que el reactivo se disuelva con el oxígeno, el fenol que aumenta la cantidad de color, hidróxido de sodio que realiza la acción reductora de la glucosa en el ácido y bisulfito de sodio que le da la estabilidad al color obtenido en presencia del fenol⁹¹.

2.5.2.1 Elaboración de las cinéticas de consumo de azúcares. Para la elaboración de la cinética de consumo de sustrato para los dos mejores cultivos realizados en el diseño de experimentos se realiza el siguiente procedimiento.

La realización de la curva de calibración de los azúcares reductores se utiliza el procedimiento que se especifica en el anexo 8.

⁹¹ MILLER,G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. En: Analytical Chemistry. Mar 1,. vol. 31, no. 3, p. 426-428

Durante el proceso de fermentación de bioetanol diariamente se saca del cultivo 200 ml de muestra para analizar. En una probeta de 100 ml se agrega 80 ml de muestra, se sumerge el hidrómetro Brix (°Bx) y se toma la medida del instrumento con el fin de calcular la cantidad de azúcares presentes en la muestra. Posteriormente la muestra es pasada por un papel filtro con diámetro de poro de 0,45 µm para retirar la cantidad de microorganismos presentes. Después de filtrada la muestra se toman 30 ml y se le añade por cada gramo de azúcar en el cultivo 4 ml de solución de H_2SO_4 con una concentración de 2N. Se hace el montaje del reflujo y se procede a realizar la hidrólisis ácida por un periodo de 20 minutos después de que se alcanza la temperatura de punto de burbuja.

En la ilustración 13 se muestra la hidrólisis ácida que se hacen a las muestras para la creación de la curva de cinética.



Ilustración 13. Hidrólisis ácida

Fuente. Elaboración propia

Después de realizada la hidrólisis ácida se procede a la determinación de azúcares reductores DNS. Para el primer paso se prepara el reactivo de fehling, la composición de este reactivo se muestra en el anexo 7.

Se preparan 2 tubos de ensayo con tapa debidamente rotulado y marcado, colocando 0,5 ml de muestra hidrolizada y se añade 2 ml de reactivo DNS. Para el blanco se toman 2 ml de reactivo DNS y 0,5 ml de agua destilada. Posteriormente se prepara el baño serológico a una temperatura de 40 °C y se introducen los 2 tubos de ensayo en el baño por un periodo de 10 minutos. Pasado este tiempo se toma un Beacker de 1000 ml, se le agrega agua con hielo y se sumergen los 2 tubos hasta que se enfríen. Finalmente se diluye cada muestra a una relación 1/30, añadiendo 60 ml de agua destilada a cada tubo y se pasa por el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

En la ilustración 14 se muestra la prelación de la muestra después de la hidrólisis ácida con el reactivo DNS.



Ilustración 14. Preparación de las muestras para la determinación de azúcares reductores por DNS

Fuente. Elaboración propia

En el diagrama 9 se muestra el correspondiente proceso para la determinación de azúcares reductores DNS.



Diagrama 9. Determinación de azúcar reductores DNS



2.5.3 Determinación de crecimiento microbiano por turbidimetría. En el proceso de fermentación uno de los factores de estudio es el crecimiento microbiológico de la *Saccharomyces cerevisiae* presente en los cultivos realizados en la preexperimentación, para el análisis de dicho factor se pretende elaborar la cinética de crecimiento de microorganismo utilizando el método de turbidimetría.

El desarrollo del método para la determinación de crecimiento microbiano por turbidimetría se realiza el siguiente procedimiento.

2.5.3.1 Elaboración de las cinéticas de crecimiento microbiano. La elaboración de las cinéticas para los dos mejores cultivos realizados en la diseño de experimentos se realiza el siguiente procedimiento.

La realización de la curva de calibración del crecimiento de la levadura se utiliza el procedimiento que se especifica en el anexo 9.

En dos recipientes de 4000 ml se añade 3200 ml de sustrato, uno con una concentración de 200 g/L y el otro con una concentración de 250 g/L, a cada uno se le añade 400 ml de nutrientes (Nutri-Ponic) anexo 5 como se muestra en la tabla 4. En dos Erlenmeyer de 500 ml, se vierten 400 ml de agua destila y se le añade a cada uno 6,6 g de levadura liofilizada hasta que se hidrate, posteriormente se introducen en un baño serológico y se procede a la activación de cepa durante un tiempo de 20 minutos con una temperatura de 35 °C. Pasado los 20 minutos de activación de la cepa se procede a inocular el 10% en volumen de los dos cultivos. Los dos recipiente con los medios de cultivos listos para el procesos de fermentación se introducen en el bioreactor, conectando la aireación y regulado su temperatura a 25 °C.

En la tabla 10 se muestra las preparaciones de los dos mejores cultivo del diseño de experimentos

Tabla 10. Preparación de cultivos				
Cultivo	Concentración de microorganismo (Células/ml)	Sustrato (g/L)		
C1	1,72*10 ⁸	200		
C2	1,72*10 ⁸	250		

Fuente. Elaboración propia

Después de iniciado el proceso de fermentación, se toman una lectura diaria de la cantidad de levadura presente por el método de turbidimetría durante un periodo de 20 días aproximadamente, los datos obtenidos, se utilizan para analizar el crecimiento microbiano de los medios de cultivo C1 y C2. Para la toma de datos, se realiza una dilución con una relación 1/60, se toman 1 ml de cada cultivo y se le añade 60 ml de agua destilada. Se vierten 5 ml de la disolución en una celda para espectrofotómetro y se toma la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 560 nm en el espectrofotómetro.

En el diagrama 10 se muestra el correspondiente proceso para la elaboración de las cinéticas de crecimiento microbiano.



Diagrama 10. Cinética de crecimiento del microrganismo

Fuente. Elaboración propia

2.5.4 Determinación de etanol por método volumétrico. Se toman exactamente 100 ml de muestra de cultivo en una probeta y se agrega en un balón con desprendimiento lateral de destilación, se agregan perlas de ebullición y a continuación se conecta al equipo de destilación tipo Graham previamente armando como se muestra en la ilustración 15.

Ilustración 15. Destilación tipo Graham



Fuente. Elaboración propia

Se dispone un Erlenmeyer de 100 ml para recibir la destilación, el Erlenmeyer recolector de la muestra se rodea de hielo o de una mezcla de hielo y agua. Se procede a destilar la muestra y se recogen alrededor de 75 ml de destilado con un flameado uniforme hasta alcanzar una temperatura no mayor a 92 °C con un tiempo estimado de 30 a 60 minutos. El destilado obtenido se agita y se pasa a una probeta de 100 ml, se ajusta la temperatura a 20 °C y se completa el volumen con agua destilada hasta los 100 ml. Posteriormente después de aforar hasta el volumen deseado con agua destilado y adecuar la temperatura se procede a sumergir un alcoholímetro evitando el contacto con las paredes de la probeta y se leen los grados de alcohol GL (Gay-Lussac)⁹².

En el diagrama 11 se muestra el correspondiente proceso para efectuar la determinación de etanol por método volumétrico.

⁹² Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, (ICONTEC). Cerveza métodos para determinar el contenido de alcohol etílico en cerveza. Bogota, Colombia: Icontec, 1996.



Diagrama 11. Determinación de etanol por método volumétrico

Fuente. Elaboración propia

2.5.5 Determinación de alcoholes por cromatografía de gases. El método de cromatografía de gases propuesto es un método preciso para evaluar el contenido de etanol y metanol, es un método fácilmente adaptable para el análisis de alcoholes.

2.5.5.1 Determinación de etanol por cromatografía de gases. En la cuantificación de la concentración de etanol presente en cultivos de fermentación se determina por cromatografía de gases, donde se emplea el siguiente método y procedimiento experimental.

Se prepara la disolución patrón de etanol con una concentración de 96 °GL, esta será la solución madre y a partir de ella se preparan disoluciones de etanol a 20 15, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 y 1 °GL. Con estas disoluciones se creara la curva de calibración.

Se realizar la separación del gas carbónico y la levadura presente en el cultivo de fermentación por medio de un papel filtro con un diámetro de poro de 0.45µm, se toma con la pipeta 5 ml y se introduce en el balón con tapón. Se adiciona 5 ml npropanol agitando vigorosamente v se invecta 0.2 ml en el cromatógrafo de dases⁹³.

El tiempo de análisis es aproximadamente de 2 minutos, con el etanol eluyendo a 1minuto y el n-propano aproximadamente 1.6 minutos. La temperatura de la columna se debe ajustar para obtener aproximadamente estos tiempos de retención. Se deben dejar al menos 3,5 minutos entre cada invección⁹⁴.

Para llevar a cabo el método de cromatografía gases para la determinación de etanol se debe seguir una serie de pasos que pueden ver en diagrama 12.



Diagrama 12. Determinación de etanol por cromatografía de gases

Fuente. Elaboración propia

⁹³ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, (ICONTEC). Cerveza métodos para determinar el contenido de alcohol etílico en cerveza. Bogota, Colombia: Icontec, 1996. ⁹⁴ Ibíd

2.5.5.2 Determinación de metanol por cromatografía de gases. En la cuantificación de la concentración de metanol presente en cultivos de fermentación se determina por cromatografía de gases, donde se emplea el siguiente método y procedimiento experimental.

Las condiciones cromatográficas utilizadas para la columna en acero inoxidable con Carbowax 1500 al 0,2% sobre carbopack C (malla 80-100), de 1,83 m (6 pies) de longitud y 3,2 mm (1/8 de pulgada) de diámetro se muestran en la tabla 11.

Gas de arrastre	Helio grado cromatográfico		
Gas de combustión	Hidrógeno con flujo de 30 ml*min⁻¹		
temperatura de inyección	150 a 330 ⁰C		
Temperatura de detección	180 a 330 ⁰C		
Tamaño de muestra de	0,1 a 5 µL		
inyección			

Tabla 11. Condiciones cromatográficas

Fuente. Elaboración propia

La solución A, se toma con una pipeta 2,0 ml de metanol grado cromatográfico y se lleva a un balón volumétrico de 100 ml con tapa. Se registra el peso y se lleva a volumen con etanol. Es importante que todas las soluciones y muestras se preparen y agiten simultáneamente⁹⁵.

La solución B, el stock estándar interno se toman con la pipeta 2,0 ml de n-butanol en un balón volumétrico de 100 ml y se ajusta con etanol a una concentración equivalente a la de la muestra⁹⁶.

La solución D, se toma con una pipeta 1,0 ml de solución A, 1,0 ml de la solución B y se ajusta con etanol hasta una concentración equivalente a la de la muestra empleado un balón volumétrico de 100 ml se lleva a volumen con agua destilada a 20 °C⁹⁷.

La solución C, se toman con la pipeta 10 ml de la solución B, se ajusta con etanol a una concentración equivalente a la de la muestra de un balón de 100 ml y se completa a volumen con agua destilada a 20 °C⁹⁸.

La solución E, se toma 1 ml en un balón volumétrico de 100 ml se ajusta con etanol a una concentración equivalente a la muestra y se completa con agua destilada a 20 °C⁹⁹.

⁹⁵ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, (ICONTEC).Cerveza. determinación del contenido de metanol en cervezas. Bogota, Colombia: Icontec, 1996.

⁹⁶ lbíd., p 3.

⁹⁷ Ibíd., p 3.

⁹⁸ lbíd., p 3.

La solución estándar de control de calidad (QC). Se toma con la pipeta 4,5 ml de la solución E y se adiciona 0,5 ml de la solución C, se tapa y agita. Esta se analiza y se compara el resultado con la concentración calculada de metanol¹⁰⁰.

Para la preparación de la muestra se toman con una pipeta 4,5 ml de cultivo fermentado previamente desgasificada y filtrar, se adiciona 0,5 ml del de solución C, en un tubo de ensayo, luego se tapa herméticamente y se agita. Se invecta respectivamente la solución D, QC y la muestra en las mismas condiciones. Cada análisis se realiza por duplicado¹⁰¹.

Para llevar a cabo el método de cromatografía gases para la determinación de metanol se debe seguir una serie de pasos que pueden ver en diagrama 13.



Diagrama 13. Determinación de metanol por cromatografía de gases

⁹⁹ lbíd., p 4.

¹⁰⁰ Ibíd., p 4. ¹⁰¹ Ibíd., p 4.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En este capítulo se evidencia los resultados y el análisis de la obtención de bioetanol de los medios de fermentación resultante del diseño de experimentos, al mismo tiempo se analiza la influencia de las variables enunciadas en el capítulo 2 sobre la concentración de bioetanol, el potencial de hidrógeno (pH) final y la concentración de sustrato final, así como el análisis de las curvas de cinética de obtención de bioetanol, crecimiento microbiano y consumo de sustrato en los dos mejores cultivos del diseño de experimentos

3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA BEBIDA GASEOSA CARBONATADA VENCIDA

La caracterización de las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, se realiza con el fin de analizar las propiedades más importantes que puedan influir en el desarrollo del proyecto, dando un punto de partida en el proceso de obtención de bioetanol. Las características más importantes se analizan y se reporta los resultados a continuación.

3.1.1 Determinación de benzoato de sodio por HPLC. Los resultados del análisis de las muestras, se observa el paso de cada sustancia por la columna de intercambio identificada por los detectores evidenciando y caracterizando cada sustancia dependiendo el tiempo de retención. Las cromatografías HPLC se realizaron a 4 distintos sabores, analizando la cantidad de preservante en cada sabor. En la tabla 12 se muestra los resultados de la determinación de la concentración de benzoato de sodio de las 4 muestras de bebida gaseosa carbonatada vencida.

Muestra	M1	M2	' M3	M4
Bebida	Manzana	Colombiana	Naranja	Limonada
Tiempo de retención (min)	3,273	3,273	3,273	3,273
Área (mAU*min)	34,237	33,871	34,309	34,047
Altura (mAU)	239,761	238,356	239,511	238,568
Área relativa (%)	100	100	100	100
Altura relativa (%)	100	100	100	100
Cantidad(mg*kg)	842,15	833,43	845,18	836,87

Tabla 12. Tabla de resultados del benzoato de sodio por cromatografía HPLC

Fuente. Elaboración propia

Los datos obtenidos a partir de las cromatografías de las distintas muestras se puede apreciar que el tiempo de retención es de 3,273 minutos y la concentración de benzoato de sodio de las 4 muestras de diferente sabor no varían significativamente teniendo un promedio de 839,40 mg/kg, encontrándose en el rango permitidos de un máximo de 1000 mg/kg según la norma NTC 1452.

En las gráficas 1, 2, 3 y 4 se muestras los cromatográmas de cada una de las muestras por sabores de las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, mostrando gráficamente la relación de absorbancia con respecto al tiempo de retención.



Gráfica 1. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra M1

Fuente. Elaboración propia





Fuente. Elaboración propia



Gráfica 3. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio de la muestra M3

Fuente. Elaboración propia





Fuente. Elaboración propia

Con estos resultados además de comprobarse la existencia de benzoato de sodio en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, se demuestra que el preservante sigue activo aun después de pasada su fecha de vencimiento, evitando el crecimiento de microorganismos y así generando un problema a la hora de hacer la fermentación para la producción de bioetanol. **3.1.2 Determinación de grados Brix (°Bx).** Para la determinación de azúcares presentes en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de grados Brix (°Bx), se tomaron 30 bebidas de diferentes sabores, sumergiendo el hidrómetro con escala Brix (°Bx) y se tomó su respectiva lectura del instrumento como se puede ver en la ilustración 16.



Ilustración 16. Determinación de grados Brix (°Bx)

Fuente. Elaboración propia

A continuación se muestra en la tabla 13 los resultados de los grados Brix (^oBx) a distintos sabores de bebida gaseosa carbonatada vencida.

Gaseosa	Brix (ºBx).	Gaseosa	Brix (ºBx).	Gaseosa	Brix (⁰Bx).
Sr toronjo 1	1	Piña 2	9,5	7 UP 3	3
Sr toronjo 2	1	Piña 3	10	Colombiana 1	7
Sr toronjo 3	1	Limonada 1	7	Colombiana 2	8
Pepsi 1	8	Limonada 2	8	Colombiana 3	7,5
Pepsi 2	7,5	Limonada 3	7	Manzana 1	7
Pepsi 3	7,5	Mountain Dew 1	12	Manzana 2	7,5
Naranja 1	5	Mountain Dew 2	12	Manzana 3	7
Naranja 2	5,5	Mountain Dew 3	11,5	Uva 1	7
Naranja 3	5	7 UP 1	2	Uva 2	7,5
Piña 1	10	7 UP 2	2	Uva 3	7,5

Tabla 13. Resultados de la determinación de azúcares por grados Brix (°Bx)

Fuente. Elaboración propia

Los resultados de la caracterización de la concentración de grados Brix (°Bx) en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, arrojan una serie de datos donde se puede apreciar que cada sabor y presentación de bebida contienen diferentes concentraciones de azúcar con un promedio de 6,716 °Bx.

Las bebidas con más concentración de azúcar son los sabores de Mountain Dew y Piña Postobon con una concentración de grados Brix de 12 y 10 (°Bx) respectivamente. Esta caracterización es muy importante en el momento del dimensionamiento de la torre de destilación en los requerimientos técnicos del proyecto, donde se concentra los azúcares presentes en las bebidas gaseosas carbonatadas para la preparación de los medios de cultivos

3.1.3 Determinación del volumen de carbonatación. Para la determinación del volumen de carbonatación en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio del desplazamiento del volumen de CO_2 a temperatura y presión constante, se toman 1 muestra de bebida con fecha optima de consuno y 5 muestras de bebida vencida con el fin de analizar la relación de la perdida de CO_2 durante el periodo de caducidad y el equilibrio entre los gases disueltos en el líquido. El montaje adecuado para la determinación de volumen de carbonatación se muestra en la ilustración 17



Ilustración 17. Determinación del volumen de carbonatación

Fuente. Elaboración propia

A continuación se muestra en la tabla 14 los resultados de la densidad a distintos sabores de bebida gaseosa carbonatada vencida.

Muestra	Volumen (ml)
MB	2640
M1	154
M2	162
M3	146
M4	172
M5	166
Promedio	160

Fuente. Elaboración propia
La medición de los datos se realiza con una temperatura de 16 °C y una presión de 1 atm. Los resultados de la caracterización del volumen de carbonatación en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, arrojan una serie de datos donde se puede apreciar que la muestra MB de bebida con fecha óptima de consuno con un volumen desplazado de CO₂ de 2640 ml contiene un equilibrio de gas disueltos en el líquido mayor a las muestras M1, M2, M3, M4 y M5 de bebida gaseosa carbonatada vencida con un promedio de 160 ml de volumen desplazado CO₂. El volumen de carbonatación se ve fuertemente relacionado con el periodo después de su fecha de caducidad, a medida que aumenta su tiempo después de la fecha de vencimiento el volumen de CO₂ va disminuyendo significativamente.

3.1.4 Determinación de la densidad. Para la determinación de la densidad en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de hidrometría, se toman 30 bebidas de diferentes sabores sumergiendo el hidrómetro por densidad con una escala en mg/ml y se toma su respectiva lectura del instrumento como se puede apreciar en la ilustración 18.



Ilustración 18. Determinación de la densidad

Fuente. Elaboración propia

A continuación se muestra en la tabla 15 los resultados de la densidad a distintos sabores de bebida gaseosa carbonatada vencida.

Gaseosa	ρ (mg/ml)	Gaseosa	ρ (mg/ml)	Gaseosa	ρ (mg/ml)
Sr toronjo 1	1,000	Piña 2	1,030	7 UP 3	1,010
Sr toronjo 2	1,010	Piña 3	1,040	Colombiana 1	1,030
Sr toronjo 3	1,000	Limonada 1	1,030	Colombiana 2	1,030
Pepsi 1	1,030	Limonada 2	1,030	Colombiana 3	1,030
Pepsi 2	1,030	Limonada 3	1,020	Manzana 1	1,030
Pepsi 3	1,020	Mountain Dew 1	1,060	Manzana 2	1,030
Naranja 1	1,020	Mountain Dew 2	1,050	Manzana 3	1,030
Naranja 2	1,020	Mountain Dew 3	1,060	Uva 1	1,020
Naranja 3	1,030	7 UP 1	1,000	Uva 2	1,030
Piña 1	1,040	7 UP 2	1,010	Uva 3	1,030

Fuente. Elaboración propia

Los resultados de la caracterización de la densidad en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, arrojan una serie de datos donde se puede apreciar que cada sabor y presentación de bebida contienen diferentes densidades con un promedio de 1,026 mg/ml. La bebida se ve fuertemente relacionada con la concentración de azúcar y agua, a medida que aumenta la concentración de azúcar aumenta la densidad. Esta caracterización es muy importante en el momento del dimensionamiento del tanque de almacenamiento de la bebida después de su recolección y se debe mantener a una temperatura de 16 °C y una presión de 1 atm

3.1.5 Determinación del potencial de hidrógeno (pH). Para la determinación del potencial de hidrógeno (pH) en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas por medio de una potenciómetro, se toman 30 bebidas de diferente sabor sumergiendo el electrodo del potenciómetro y se toma su respectiva lectura.

A continuación se muestra en la tabla 16 los resultados del potencial de hidrógeno (pH) a distintos sabores de bebida gaseosa carbonatada vencida.

Gaseosa	рН	Gaseosa	pН	Gaseosa	μ
Sr toronjo 1	2,91	Piña 2	3,35	7 UP 3	3,41
Sr toronjo 2	2,77	Piña 3	3,44	Colombiana 1	3,34
Sr toronjo 3	2,81	Limonada 1	3,01	Colombiana 2	3,28
Pepsi 1	2,60	Limonada 2	2,95	Colombiana 3	3,30
Pepsi 2	2,64	Limonada 3	2,97	Manzana 1	3,22
Pepsi 3	2,61	Mountain Dew 1	3,05	Manzana 2	3,17
Naranja 1	3,03	Mountain Dew 2	2,93	Manzana 3	3,21
Naranja 2	2,97	Mountain Dew 3	2,91	Uva 1	3,16
Naranja 3	2,99	7 UP 1	3,46	Uva 2	3,09
Piña 1	3,42	7 UP 2	3,39	Uva 3	3,04

Tabla 16. Resultados del de la determinación de potencial de hidrógeno (pH)

Fuente. Elaboración propia

Los resultados de la caracterización del potencial de hidrógeno (pH) en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas, arroja una serie de datos donde se puede apreciar que cada sabor y presentación de bebida contienen diferentes resultados con un promedio de 3,081 pH. La bebida gaseosa carbonatada vencida se caracterizan por tener un potencial de hidrógeno (pH) muy ácido con un rango de 2,96 a 3,44 pH. Esta caracterización es muy importante en el momento de la preparación de los medios de cultivo donde se tiene que regular el potencial de hidrógeno a un valor de 5,0 pH óptimos para el crecimiento y metabolismos de la levadura en el momento de la fermentación.

3.2 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

El diseño de experimentos tiene como objetivo analizar los efectos de la variancia de la concentración de sustrato y microrganismo sobre la variables respuestas de obtención de bioetanol, concentración de sustrato final y potencial de hidrógeno (pH) final, lo que permite identificar las condiciones de proceso y la planeación del desarrollo experimental, para determinar la configuración de los factores que optimizan los resultados.

3.2.1 Obtención de etanol. Para este diseño de experimentos se pretende analizar las varianza de la concentración de sustrato, concentración de microorganismos y la interacción para la obtención de bioetanol.

3.2.1.1 Hipótesis. Para el planteamiento del diseño experimental, se define previamente los factores, teniendo presente el objetivo del proyecto y la variable respuesta para la formulación de las hipótesis. A continuación se muestran las hipótesis plateadas en el diseño de experimentos.

Dónde:

Factor A: Concentración de sustrato **Factor B**: Concentración de microorganismos **Variable respuesta:** Obtención de bioetanol

Factor A.

 $H_o: \alpha = 0$: No hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\alpha \neq 0$: Hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

 $H_o: \beta = 0$: No hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\beta \neq 0$: Hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B.

 H_o : αβ = 0: No hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

 H_i : αβ ≠ 0: Hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microrganismos sobre la obtención de bioetanol.

3.2.1.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol. Los datos del diseño de experimentos planteado se muestran en la tabla 17, donde se presentan las concentraciones de microorganismos, la concentración de sustrato y la concentración de bioetanol obtenida para cada muestra.

Didetalioi									
	Co	Concentración de microorganismos							
		(Cé	lulas/ml)						
		1,72E+06	1,72E+07	1,72E+08					
e		0	0	1					
ión d g/L)	180	0	0	1					
		0	0	0					
0.00	200	0	0	1					
Concentr sustrat		0	0	0					
		0	0	0					
		0	0	1					
	250	0	1	2					
		0	0	1					

Tabla	17.	Tabla	de	datos	de	la	obtención	de
bioetar	nol							

Fuente. Elaboración propia

3.2.1.3 Análisis estadístico de los datos. En el presente proyecto se escogió un diseño de experimentos factorial 3^2 con 3 réplicas. Por tanto hay dos factores A y B con *a* niveles del factor A y *b* niveles del factor B, donde cada replica incluye todas las combinaciones de tratamiento *ab*.

Para probar la significancia estadística de las variables de concentración de sustrato (g*L⁻¹) y concentración de microorganismo (Células/ml), se realiza el correspondiente cálculo y análisis de varianza ANOVA.

Para el cálculo y desarrollo del análisis de varianza ANOVA se realiza la base de cálculos que se muestra en el anexo 10.

Ecuación 1. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Yaymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Se calcula la suma de cuadrados totales.

Ecuación 2. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{ijk} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 8$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 3. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum_{\substack{Y_{i...}^2 \\ SCE_A = 0,666}} Y_{i...}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 4. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = 4,222$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 5. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{SCE_{AB}} Y_{ij.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N} - SCE_A - SCE_B$$

 $SCE_{AB} = 0,444$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 6. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

 $SCD_{ER} = 2,666$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Calculada la suma de cuadras del factor A, del factor B y la interacción de AB, se construye la tabla de análisis de varianza ANOVA que se muestra en la tabla 13.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
A:Concentración de sustrato + bloque	0,666	2	0,333	2,25
B:Concentración de microorganismos + bloque	4,222	2	2,111	14,25
AB + bloque	0,444	4	0,111	0,75
bloques	2,666	18	0,148	
Total	8	26	0,333	

Tabla 18. Análisis de varianza ANOVA

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza ANOVA mostrado en la tabla 13, particiona la variabilidad de concentración de bioetanol en piezas separadas para cada uno de los efectos. Se prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 1 efectos tienen una valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado, explica 64,6064% de la variabilidad en concentración de bioetanol. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 56,1794%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0,367196. El error medio absoluto (MAE) de 0,216131 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson

(DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos del diseño. Puesto que el valor-P es mayor a 5,0%, no hay indicación de correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

3.2.1.4 Conclusiones y recomendaciones. Se desarrolla un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas, con un porcentaje de 95,0% de ajuste, apreciando los efectos de la concentración de sustrato y de microorganismos sobre la variable respuesta concentración de bioetanol. De acuerdo con las gráficas 1,2 y 3 se muestra el efecto de cada factor y su interacción en la obtención de bioetanol con respecto a la tabla de distribución F que se muestra en el anexo 6.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 2,25 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 5 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_0: \alpha = 0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 14,25 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 6 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 0,75 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 7 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_0:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

El diseño de experimentos planteado, arrojo una serie de resultados estadísticos, analizando que la concentración de microrganismos tiene un efecto en la obtención de bioetanol, mientras que la concentración de sustrato y la interacción de los factores estudiados no afectan la variable respuesta, obteniendo bajas e ineficientes concentraciones de bioetanol requeridas en el proyecto como ver en la gráfica 5 donde se analiza la superficie de respuesta estimada de los datos obtenidos de la concentración de bioetanol.





Fuente. Elaboración propia

Las bajas o nulas concentraciones dadas en el diseño de experimentos pueda que se deban a las inadecuadas condiciones iniciales de los factores independientes que se dejan fijos en el proceso o algún factor que no se tomó en cuenta en el momento del planteamiento del diseño de experimentos, afectando el crecimiento y metabolismo del microorganismos en el proceso de fermentación.

3.2.2 Ajuste de las variables independientes en el proceso para la obtención de bioetanol. Al ver que en el diseño de experimentos planteado anteriormente las concentraciones de bioetanol resultaron ser muy bajas, se procede a plantear un diseño de experimentos aleatorizado modificando y contemplando algunas variables que puedan afectar la obtención de bioetanol.

3.2.2.1 Hipótesis. Para el planteamiento del diseño experimental, se define previamente los factores, teniendo presente el objetivo del proyecto y la variable respuesta para la formulación de las hipótesis, realizando 15 cultivos combinando los factores que se creen que pueda afectar la obtención de bioetanol. A continuación se muestran las hipótesis plateadas en el diseño de experimentos. Los 6 primeros medios de cultivos se realizan sacarosa (azúcar de caña) a concentraciones de 180, 200 y 250 g*L⁻¹, dejando 3 medios de cultivos con nutrientes y los otros 3 sin nutrientes. Se considera que la concentración de nutrientes afecte la obtención de bioetanol planteando las siguientes hipótesis.

Concentración de nutrientes.

 $H_o: \alpha = 0$: No hay efecto de la concentración de nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\alpha \neq 0$: Hay efecto de la concentración de nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

Para el planteamiento de la siguiente hipótesis se cree que el preservante (benzoato de sodio) presente en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas pueda afectar el crecimiento y metabolismo del microorganismo evitando la obtención de bioetanol. La preparación de los siguientes 6 cultivos, a bebida gaseosa carbonatada vencida se le añade ácido ascórbico (vitamina C) con el fin de hacerla reaccionar con el benzoato de sodio y así poder eliminar el preservante y así planteando las siguientes hipótesis.

Preservante.

 $H_o: \beta = 0$: No hay efecto de la concentración de benzoato de sodio sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\beta \neq 0$: Hay efecto de la concentración de benzoato de sodio sobre la obtención de bioetanol.

Por último se pretende analizar la interacción de los factores estudiando anteriormente, preparando 3 cultivos donde la bebida gaseosa carbonatada vencida se le agrega ácido ascórbico (vitamina C) eliminado el preservante y sin nutrientes, generando las siguientes hipótesis.

Interacción de la concentración de benzoato de sodio y nutrientes

 H_o : αβ = 0: No hay efecto en la interacción de la concentración de benzoato de sodio y nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

 H_i : αβ ≠ 0: Hay efecto en la interacción de la concentración de benzoato de sodio y nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

En la tabla 19 se muestra la preparación de los 19 medios de cultivo para el desarrollo del diseño de experimentos.

Muestra	Sustrato	Concentración de sustrato (g*L ⁻¹)	Concentración de microorganismo (Células/ml)	Nutrientes
M1	Azúcar	180	1,72*10 ⁶	Si
M2	Azúcar	200	1,72*10 ⁷	Si
M3	Azúcar	250	1,72*10 ⁸	Si
M4	Azúcar	180	1,72*10 ⁶	No
M5	Azúcar	200	1,72*10 ⁷	No
M6	Azúcar	250	1,72*10 ⁸	No

Tabla 19. Preparación de cultivos

Muestra	Sustrato	Concentración de sustrato (g*L⁻¹)	Concentración de microorganismo (Células/ml)	Nutrientes
M7	Gaseosa	180	1,72*10 ⁷	Si
M8	Gaseosa	200	1,72*10 ⁷	Si
M9	Gaseosa	250	1,72*10 ⁷	Si
M10	Gaseosa	180	1,72*108	Si
M11	Gaseosa	200	1,72*108	Si
M12	Gaseosa	250	1,72*108	Si
M13	Gaseosa	180	1,72*106	No
M14	Gaseosa	200	1,72*107	No
M15	Gaseosa	250	1,72*108	No

Tabla 19. (Continuación)

Fuente. Elaboración propia

3.2.2.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol. Los datos del diseño de experimentos planteado se muestran en la tabla 20, donde se presentan los resultados del potencial de hidrógeno (pH) final, la concentración de sustrato final y la concentración de bioetanol obtenida para cada muestra.

Muestra	Grados GL	pH final	Grados Brix final
M1	3	2,7	13
M2	5	2,8	13
M3	9	2,7	9,5
M4	4	3,3	18
M5	5	3,1	19.5
M6	6	3,0	18
M7	7	4,0	5
M8	8	4,1	6,5
M9	5	4,1	14,5
M10	8	3,8	0
M11	10	3,9	0,5
M12	9	3,9	6
M13	0	5,0	17,5
M14	3	4,5	17
M15	8	4,3	6,5

Tabla 20. Tabla de datos de la obtención de bioetanol

Fuente. Elaboración propia

3.2.2.3 Análisis de datos. En el desarrollo del presente proyecto se escogió un diseño de experimentos aleatorio donde se busca modificar factores que puedan afectar la variable respuesta. Por tanto se preparan 15 cultivos aleatorios y analizando por ensayo-error, que factores afectan la obtención de bioetanol. Los datos son tomados en la preexperimentación y mostrados en la tabla 20.

En el diseño de experimentos aleatorio se tomaron los datos de unas nuevas variables repuestas que pueden ser afectadas en el proceso como lo son el potencial de hidrógeno (pH) final y la concentración de sustrato final.

3.2.2.4 Conclusiones y recomendaciones. Los datos obtenidos en este diseño de experimentos cumplen con los resultados esperados mejorando notoriamente la obtención de bioetanol. A continuación se muestra la aceptación o el rechazo de las hipótesis previamente plateadas.

La concentración de nutrientes presente en los cultivos de fermentación es indispensable para la producción de bioetanol, los cultivos que se prepararon con nutrientes arrojaros altas concentraciones de bioetanol con respecto a los cultivos que no tenían nutrientes, aceptando H_i : $\alpha \neq 0$: hay efecto de la concentración de nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

Por otro lado los resultados obtenidos de los cultivos donde la bebida gaseosa carbonatada vencida se hace reaccionar con el ácido ascórbico, produjeron los más altas concentraciones de bioetanol en el diseño de experimentos, aceptando H_i: $\beta \neq 0$: hay efecto de la concentración de benzoato de sodio sobre la obtención de bioetanol.

La interacción de la concentración de benzoato de sodio y de nutrientes de los últimos 3 medios de cultivo, arrojan uno resultados donde se obtienen bioetanol aceptando H_i : $\alpha\beta \neq 0$: hay efecto en la interacción de la concentración de benzoato de sodio y nutrientes sobre la obtención de bioetanol.

Se llega a la conclusión que la concentración del benzoato de sodio presente en bebidas gaseosas carbonatadas vencidas afectan notablemente el crecimiento y metabolismo del microorganismo en el proceso de fermentación para la obtención de bioetanol. Se encuentra una solución donde la bebida gaseosa carbonatada vencida se tiene que procesar antes de la preparación de los medios de cultivos, haciendo reaccionar el benzoato de sodio presente con ácido ascórbico, proporcionado así una solución al problema de obtención de bioetanol presentes en el anterior diseño de experimentos.

3.2.3 Concentración de sustrato final. Para este diseño de experimentos se pretende analizar las varianza de la concentración de sustrato inicial, concentración de microorganismos y la interacción para el consumo de sustrato durante la fermentación.

3.2.3.1 Hipótesis. Para el planteamiento del diseño experimental se define previamente los factores, teniendo presente el objetivo del proyecto y la variable respuesta para la formulación de las hipótesis. A continuación se muestran las hipótesis plateadas en el diseño de experimentos.

Dónde: **Factor A**: Concentración de sustrato inicial **Factor B**: Concentración de microorganismos **Variable respuesta**: Concentración de sustrato final

Factor A.

 $H_o: \alpha = 0$: No hay efecto de la concentración de sustrato inicial sobre la concentración de sustrato final.

H_i: $\alpha \neq 0$: Hay efecto de la concentración de sustrato sobre la concentración de sustrato final.

Factor B.

 $H_o: \beta = 0$: No hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la concentración de sustrato final.

H_i: $\beta \neq 0$: Hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la concentración de sustrato final.

Interacción de los factores A y B

 H_o : αβ = 0: No hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato inicial y microorganismos sobre la concentración de sustrato final.

 H_i : αβ ≠ 0: Hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato inicial y microrganismos sobre la concentración de sustrato final.

3.2.3.2 Datos experimentales de la concentración de sustrato final. Los datos del diseño de experimentos planteado se muestran en la tabla 21, donde se presentan las concentraciones de microorganismos, la concentración de sustrato y la concentración de sustrato final obtenida para cada muestra.

	Co	Concentración de microorganismos						
		(Cé	lulas/ml)					
		1,72E+06	1,72E+07	1,72E+08				
Ð		5	5	0				
ión d g/L)	180 200	7,5	3	0				
		7	3	0				
0 0		8	6,5	0,5				
ntr rat		7,5	6	1,5				
st List		8,5	5	0,5				
SL		12,5	14,5	6				
с С	250	13	12	9				
		14	12	10				

Tabla 21.	Tabla	de	datos	de	la	concentración
de sustrato	o final					

3.2.3.3 Análisis estadístico de los datos. En el presente proyecto se escogió un diseño de experimentos factorial 3^2 con 3 réplicas. Por tanto hay dos factores A y B con *a* niveles del factor A y *b* niveles del factor B, donde cada replica incluye todas las combinaciones de tratamiento *ab*.

Para probar la significancia estadística de las variables de concentración de sustrato (g*L⁻¹) y concentración de microorganismo (Células/ml), se realiza el correspondiente cálculo y análisis de varianza ANOVA.

Para el cálculo y desarrollo del análisis de varianza ANOVA se realiza la base de cálculos que se muestra en el anexo 11.

Ecuación 7. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Se calcula la suma de cuadrados totales.

Ecuación 8. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 541,351$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 9. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_{A} = \frac{1}{bn} \sum_{A} Y_{i..}^{2} - \frac{Y_{..}^{2}}{N}$$
$$SCE_{A} = 330,351$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 10. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = 181,351$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 11. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{SCE_{AB}} Y_{ij.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N} - SCE_A - SCE_B$$

 $SCE_{AB} = 7.148$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 12. Suma de cuadrados dentro de tratamiento $SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$

$$SCD_{ER} = 22,5$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Calculada la suma de cuadras del factor A, del factor B y la interacción de AB, se construye la tabla de análisis de varianza ANOVA que se muestra en la tabla 22.

Tabla 22. Análisis de varianza ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
A:Concentración de sustrato + bloque	330,351	2	165,175	132,140
B:Concentración de microorganismos + bloque	181,351	2	90,675	72,540
AB + bloque	7,14814	4	1,787	1,4296
bloques	22,5	18	1,25	
Total	541,351	26		

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza ANOVA mostrado en la tabla 17, particiona la variabilidad de concentración de sustrato final en piezas separadas para cada uno de los efectos. Se prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen una valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado, explica 92,7111% de la variabilidad de la concentración de sustrato final. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 90,9756%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1,37076. El error medio absoluto (MAE) de 1,02301 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos del diseño. Puesto que el valor-P es mayor a 5,0%, no hay indicación de correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

3.2.3.4 Conclusiones y recomendaciones. Se desarrolla un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas, con un porcentaje de 95,0% de ajuste, apreciando los efectos de la concentración de sustrato y de microorganismos sobre la variable respuesta concentración de sustrato final. De acuerdo con las gráficas 5,6 y 7 se muestra el efecto de cada factor y su interacción en la concentración de sustrato final con respecto a la tabla de distribución F que se muestra en el anexo 6.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 132,140 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 9 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato inicial sobre la concentración de sustrato final.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 72,540 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 10 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la concentración de sustrato final.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 1,4296y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 11 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_0:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato inicial y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

El diseño de experimentos planteado, arrojo una serie de resultados estadísticos, analizando que la concentración de sustrato y microrganismos tiene un efecto en la concentración de sustrato final, mientras que la interacción de los factores estudiados no afecta la variable respuesta. En la gráfica 6 se muestra la superficie de respuesta estimada con los datos obtenidos.



Gráfica 6. Superficie de respuesta estimada de la concentración de sustrato final

Fuente. Elaboración propia

El consumo de sustrato durante la fermentación se ve fuertemente relacionado con la concentración de microorganismos. Los microorganismos a medida que crecen van metabolizando el sustrato y produciendo bioetanol hasta llegar a un punto de inhibición. El análisis de la concentración de sustrato final es muy importante, indicando la concentración de sustrato inicial utilizada en la proceso de fermentación optimizando la relación de sustrato inicial con la máxima concentración de bioetanol obtenida.

3.2.4 Potencial de hidrógeno (pH) final. Para este diseño de experimentos se pretende analizar las varianza de la concentración de sustrato, concentración de microorganismos y la interacción con respecto al potencial de hidrógeno (pH) final.

3.2.4.1 Hipótesis. Para el planteamiento del diseño experimental se define previamente los factores, teniendo presente el objetivo del proyecto y la variable respuesta para la formulación de las hipótesis. A continuación se muestran las hipótesis plateadas en el diseño de experimentos.

Dónde:

Factor A: Concentración de sustratoFactor B: Concentración de microorganismosVariable respuesta: Potencial de hidrógeno (pH) final

Factor A.

 $H_o: \alpha = 0$: No hay efecto de la concentración de sustrato sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

H_i: $\alpha \neq 0$: Hay efecto de la concentración de sustrato sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Factor B.

 H_o : β = 0: No hay efecto de la concentración de microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final

H_i: $\beta \neq 0$: Hay efecto de la concentración de microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final

Interacción de los factores A y B

 H_o : αβ = 0: No hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

 H_i : αβ ≠ 0: Hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microrganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

3.2.4.2 Datos experimentales del potencial de hidrógeno (pH) final. Los datos del diseño de experimentos planteado se muestran en la tabla 23, donde se presentan las concentraciones de microorganismos, la concentración de sustrato y el potencial de hidrógeno (pH) final obtenido para cada muestra.

	Со	Concentración de microorganismos				
		(Ce	iuias/iiii)			
		1,72E+06	1,72E+07	1,72E+08		
e		3,9	4	3,8		
ر ت ا	180	3,8	4	3,8		
iór g/l		3,9	4	4		
io o		4,2	4,1	3,9		
ntr raf	200	4,2	4,2	4,1		
lst		4,3	4,3	4		
SL		4,3	4,1	3,9		
U 2	250	4,3	4,3	4		
		4,2	4,3	4,1		
Fuente, Eleberación prenie						

Tabla	23.	Tabla	de	datos	del	potencial	de
hidróg	eno (pH) fin	al				

Fuente. Elaboración propia

3.2.4.3 Análisis estadístico de los datos. En el presente proyecto se escogió un diseño de experimentos factorial 3^2 con 3 réplicas. Por tanto hay dos factores A y B con *a* niveles del factor A y *b* niveles del factor B, donde cada replica incluye todas las combinaciones de tratamiento *ab*.

Para probar la significancia estadística de las variables de concentración de sustrato (g*L⁻¹) y concentración de microorganismo (Células/ml), se realiza el correspondiente cálculo y análisis de varianza ANOVA.

Para el cálculo y desarrollo del análisis de varianza ANOVA se realiza la base de cálculos que se muestra en el anexo 12.

Ecuación 13. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Se calcula la suma de cuadrados totales.

Ecuación 14. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 0,751$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 15. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum_{\substack{Y_{i..}^2 \\ SCE_A = 0,36}} Y_{i..}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 16. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$$
$$SCE_B = 0,191$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 17. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{SCE_{AB}} Y_{ij.}^{2} - \frac{Y_{...}^{2}}{N} - SCE_{A} - SCE_{B}$$

$$SCE_{AB} = 0,065$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 18. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

 $SCD_{ER} = 0,133$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Calculada la suma de cuadras del factor A, del factor B y la interacción de AB, se construye la tabla de análisis de varianza ANOVA que se muestra en la tabla 24.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
A:Concentración de sustrato + bloque	0,36074	2	0,18037	24,35
B:Concentración de				
microorganismos +	0,19185	2	0,09592	12,95
bloque				
AB + bloque	0,06592	4	0,01648	2,225
bloques	0,13333	18	0,00740	
Total	0,75185	26		

Tabla 24.	Análisis	de varianza	ANOVA
-----------	----------	-------------	--------------

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza ANOVA mostrado en la tabla 19, particiona la variabilidad del potencial de hidrógeno (pH) final en piezas separadas para cada uno de los efectos. Se prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen una valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado, explica 63,163 % de la variabilidad en el potencial de hidrógeno (pH) final. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 54,3922 %. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0,114842. El error medio absoluto (MAE) de 0,0812838 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos del diseño. Puesto que el valor-P es mayor a 5,0%, no hay indicación de correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

3.2.4.4 Conclusiones y recomendaciones. Se desarrolla un diseño factorial 3² con 3 réplicas, con un porcentaje de 95,0% de ajuste, apreciando los efectos de la concentración de sustrato y de microorganismos sobre la variable respuesta del potencial de hidrógeno (pH) final. De acuerdo con las gráficas 9,10 y 11 se muestra el efecto de cada factor y su interacción en la obtención de bioetanol con respecto a la tabla de distribución F que se muestra en el anexo 6.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 24,35 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 13 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_0:\alpha=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato inicial sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 12,95 y un valor F de tablas de 3.55. Con estos resultados se construye la gráfica 14 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_{\alpha}: \alpha = 0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 2,225 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 15 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_{o}:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

El diseño de experimentos planteado, arrojo una serie de resultados estadísticos, analizando que la concentración de sustrato y microrganismos tiene un efecto en el potencial de hidrógeno (pH) final, mientras que la interacción de los factores estudiados no afecta la variable respuesta. En la gráfica 16 se muestra la superficie de respuesta estimada con los datos obtenidos.





Fuente: Elaboración propia

El potencial de hidrógeno (pH) final después de la fermentación se ve fuertemente relacionado con la concentración sustrato y de microorganismos. Los microorganismos a medida que crecen van metabolizando el sustrato volviendo en medio de cultivo más ácido con el fin de evitar competir por alimento con otro microorganismo.

3.2.5 Obtención de bioetanol. Para este diseño de experimentos se pretende analizar las varianza de la concentración de sustrato, concentración de microorganismos y la interacción para la obtención de bioetanol.

3.2.5.1 Hipótesis. Para el planteamiento del diseño experimental se define previamente los factores, teniendo presente el objetivo del proyecto y la variable respuesta para la formulación de las hipótesis. A continuación se muestran las hipótesis plateadas en el diseño de experimentos.

Dónde:

Factor A: Concentración de sustratoFactor B: Concentración de microorganismosVariable respuesta: Obtención de bioetanol

Factor A.

 $H_o: \alpha = 0$: No hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\alpha \neq 0$: Hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

 $H_o: \beta = 0$: No hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

H_i: $\beta \neq 0$: Hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B

 H_o : αβ = 0: No hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

 H_i : αβ ≠ 0: Hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microrganismos sobre la obtención de bioetanol.

3.2.5.2 Datos experimentales de la obtención de bioetanol. Los datos del diseño de experimentos planteado se muestran en la tabla 20, donde se presentan las concentraciones de microorganismos, la concentración de sustrato y la concentración de bioetanol obtenida para cada muestra.

01000	biodalioi					
	Co	Concentración de microorganismos (Células/ml)				
		1,72E+06	1,72E+07	1,72E+08		
Ð		7	7	8		
ر م	180	6	7	8		
iór g/l		6	8	8		
io C		5	8	10		
ntı Tal	200	6	8	10		
lst		5	8	10		
SI		7	5	9		
U 250	6	6	8			
		6	6	9		

Tabla 2	5.	Tabla	de	datos	de	la	obtención	de
bioetano	bl							

Fuente. Elaboración propia

3.2.5.3 Análisis estadístico de los datos. En el presente proyecto se escogió un diseño de experimentos factorial 3^2 con 3 réplicas. Por tanto hay dos factores A y B con *a* niveles del factor A y *b* niveles del factor B, donde cada replica incluye todas las combinaciones de tratamiento *ab*.

Para probar la significancia estadística de las variables de concentración de sustrato (g*L⁻¹) y concentración de microorganismo (Células/ml), se realiza el correspondiente cálculo y análisis de varianza ANOVA.

Para el cálculo y desarrollo del análisis de varianza ANOVA se realiza la base de cálculos que se muestra en el anexo 13.

Ecuación 19. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Se calcula la suma de cuadrados totales.

Ecuación 20. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 59,629$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 21. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_{A} = \frac{1}{bn} \sum_{i...} Y_{i...}^{2} - \frac{Y_{...}^{2}}{N}$$

 $SCE_{A} = 3,629$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 22. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = 38,740$$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 23. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{SCE_{AB}} Y_{ij.}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N} - SCE_A - SCE_B$$

 $SCE_{AB} = 13,259$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 24. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

 $SCD_{ER} = 4$

Fuente. WALPOLE,Ronald; MYERS,Raymond and MYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Calculada la suma de cuadras del factor A, del factor B y la interacción de AB, se construye la tabla de análisis de varianza ANOVA que se muestra en la tabla 21.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
A:Concentración de sustrato + bloque	3,629	2	1,814	8,166
B:Concentración de				
microorganismos +	38,740	2	19,370	87,166
bloque				
AB + bloque	13,259	4	3,314	14,916
bloques	4	18	0,222	
Total	59,629	26		

Tabla 26.	Análisis	de varianza	ANOVA
-----------	----------	-------------	--------------

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza ANOVA mostrado en la tabla 21, particiona la variabilidad de concentración de bioetanol en piezas separadas para cada uno de los efectos. Se prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 1 efectos tienen una valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado, explica 64,0349% de la variabilidad en concentración de bioetanol. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 55,47%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1,0105. El error medio absoluto (MAE) de 0,736899 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos del diseño. Puesto que el valor-P es mayor a 5,0%, no hay indicación de correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

3.2.5.4 Conclusiones y recomendaciones. Se desarrolla un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas, con un porcentaje de 95,0% de ajuste, apreciando los efectos de la concentración de sustrato y de microorganismos sobre la variable respuesta concentración de bioetanol. De acuerdo con las gráficas 13,14 y 15 se muestra el efecto de cada factor y su interacción en la obtención de bioetanol con respecto a la tabla de distribución F que se muestra en el anexo 6.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 8,166 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 17 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 87,166 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 18 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_0:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 14,916 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 19 que se muestra a continuación.

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha\beta=$ **0** se llega a la conclusión que hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

El diseño de experimentos planteado arrojo una serie de resultados estadísticos, analizando que la concentración de sustrato inicial, laconcentración de microrganismos y la interacción de los factores estudiados tiene un efecto en la obtención de bioetanol, obteniendo altas concentraciones de bioetanol requeridas en el proyecto como ver en la gráfica 20 donde se analiza la superficie de respuesta estimada de los datos obtenidos de la concentración de bioetanol.





Fuente. Elaboración propia

La concentración de bioetanol presente durante la fermentación se ve fuertemente relacionada con la concentración de sustrato, la concentración de microrganismos y la interacción de estos dos. Al platear de nuevo el diseño de experimento, se acondiciono la bebida gaseosa carbonatada vencida, eliminándole la concentración de benzoato de sodio presente, obteniendo una buena cantidad de bioetanol en el proceso de fermentación, satisfaciendo los objetivos del proyecto.

3.3 ANÁLISIS ESTEQUIOMETRICO DE LA REACCIÓN DEL BENZOATO DE SODIO Y EL ÁCIDO ASCÓRBICO

El análisis de la reacción del benzoato de sodio presente en las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas y el ácido ascórbico, se realiza con el fin de adecuar el sustrato para la preparación de los medios de cultivos eliminando el preservante y saber cuál es su porcentaje de conversión después de la reacción.

Se debe contemplar el balance de materia, donde por estequiometria se calcula las concentraciones iniciales y finales después de que ocurran las dos reacciones en la experimentación. Para iniciar el balance se debe tener en cuenta la masa molecular, la densidad y el volumen de los reactivos agregado y los productos presentes en el transcurso de la reacción.

Se toma como equivalencia que por cada litro de bebida gaseosa carbonatada vencida se le añade un gramo de ácido ascórbico. Para el experimentación se utiliza 6 Kg de bebida gaseosa carbonatada vencida, sabiendo que en la caracterización de benzoato de sodio presente en las bebidas gaseosas carbonatadas arrojo un promedio de 839,40 mg/kg, como valor de masa se toma 5,036g de benzoato de sodio y luego se calcula los respectivos volúmenes.

Ecuación 25. Volumen del benzoato de sodio

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{5,036 \ g}{1,44 \ g/ml}$$
$$V = 3,497 \ ml$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 26. Volumen del ácido ascórbico

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{5,036 \ g}{1,65 \ g/ml}$$
$$V = 3,052 \ ml$$

Fuente. Elaboración propia

Con los calculas anteriores se procede a denotar los datos de la estequiometria a tener en cuenta como se muestra en la tabla 27.

Compuesto	Peso Molecular(g/mol)	Densidad (g/ml)	Volumen (ml)
Benzoato de sodio	144,11	1,44	3,497
Ácido ascórbico	176,12	1,65	3,052
Ácido benzoico	122,12	1,32	
Ascorbato de sodio	198,11	1,66	
Benceno	78,11	0,8786	
Dióxido de carbono	44,01	1,972	
	. • .		

Tabla 27. Estequiometria de la reacción

Fuente. Elaboración propia

A partir de estos datos se calculan las moles que reaccionan, teniendo en cuenta la estequiometria de las reacciones 1 y 2 mostradas a continuación.

Moles de benzoato de sodio: 0,02426 moles Moles de ácido ascórbico: 0,01732 moles

Ecuación 27: Cálculo de moles

$$n_i = n_{io} + v_i * \varepsilon$$

Fuente: MANUAL DE CÁLCULOS. VAN INDUSTRY. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA EN ASOCIACION CON VAN INDUSTRY. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Dónde:

ni: son las moles totales del compuesto *i nio*: son las moles iniciales del compuesto *i vi*: coeficiente estequiométricos del compuesto *i* ε : es el grado de avance de la reacción

REACCION 1 Benzoato de sodio con ácido ascórbico

R1 = C₇H₅NaO₂ + C₆H₈O₆ ↔ C₇H₆O₂ + C₆H₇O₆Na = R₂ Benzoato De Sodio + Ácido Ascórbico ↔ Ácido Benzoico + Ascorbato De Sodio

REACCION 2 Subproductos finales de la Reacción 1

 $\mathbf{R}_3 = \mathbf{C}_7 \mathbf{H}_6 \mathbf{O}_2 \rightarrow \mathbf{C}_6 \mathbf{H}_{6+} \mathbf{C} \mathbf{O}_2$

Ácido Benzoico \longrightarrow Benceno + Dióxido De Carbono

$$\begin{pmatrix} -1 & -1 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 1 & 1 \end{pmatrix} R2 = R2 + R1$$

Con las matrices se determina realmente que reacciones ocurren y cuáles no, además nos ayuda a hallar el reactivo limitante para los avances de reacción en un t=0. A continuación se procede a calcular los avances de reacción respectivamente.

Ecuación 28: Grados de avance de las reacciones

$$0 = 0,02426 - (1 * \varepsilon)$$

 $\varepsilon = 0,02426$ para el benzoato de sodio

 $0 = 0,01732 + (-1) * \varepsilon$

 $\varepsilon = 0,01732$ para el acido ascorbico

Fuente: FOGLER H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

Con los cálculos anteriores se puede reemplazar en la ecuación 28 para hallar las moles de todos los compuestos de interés de manera concisa en la tabla 28 presentada a continuación.

Compuesto	Coeficientes Estequiométricos	Moles de entrada	Moles de salida
Benzoato de sodio	-1	0,02426	0
Ácido ascórbico	-1	0,01732	0
Ácido benzoico	1	0	0,02426
Ascorbato de sodio	1	0	0,01732
Ácido benzoico	-1	0,02426	0
Benceno	1	0	0,02426
Dióxido de carbono	1	0	0,02426

Tabla 28. Moles de entrada y salida del reactor

Fuente. Elaboración propia

A partir de las moles se calcula el balance de materia en el reacción de la siguiente manera y presentado en la tabla 29.

Ecuación 29: Calculo de masa por componentes

$$m_i = n_i * P_{mi}$$

Dónde:

 m_i : Es la masa del compuesto i en Kg. Pm_i : Es el peso molecular del compuesto i en gr/mol.

Fuente: Fogler H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

Compuesto	Entrada (Kg)	Salida (Kg)
Benzoato de sodio	3,496	0
Ácido ascórbico	3,050	0
Ácido benzoico	0	3,496
Ascorbato de sodio	0	3,050
Ácido benzoico	3,496	0
Benceno	0	2,962
Dióxido de carbono	0	1,067
Total	10,042	10,042
Eucente Eleboración propio		

Tabla 29. Entradas y salidas finales del reactor

Fuente. Elaboración propia

Analizando la estequiometria de la reacción entre el benzoato de sodio y el ácido ascórbico, donde arrojo los resultados teóricos de las cantidades iniciales y finales de cada componente de la reacción, se procede hacer una cuantificación de benzoato de sodio y ácido ascórbico por cromatografía HPLC para poder calcular el porcentaje de conversión real de la reacción.

3.3.1 Determinación de benzoato de sodio y ácido ascórbico por HPLC. El resultado del análisis de las muestra, se observa el paso de cada sustancia por la columna de intercambio identificada por los detectores evidenciando y caracterizando cada sustancia dependiendo el tiempo de retención. La cromatografía HPLC se realizó a una muestra después de la reacción entre el benzoato de sodio y el ácido ascórbico, analizando las concentraciones presentes de cada sustancia. En la tabla 30 se muestra los resultados de la determinación de la concentración de benzoato de sodio y ácido ascórbico después de su reacción.

Sustancia	Benzoato de sodio	Ácido ascórbico
Tiempo de retención (min)	3,873	3,842
Área (mAÚ*min)	7,849	144,813
Altura (mAU) (52,421	1016,449
Área relativa (%)	100	100
Altura relativa (%)	100	100
Cantidad(mg*kg)	18,2	0,3539

Tabla 30.	Tabla de	datos de	las cromat	tografías HPLC
-----------	----------	----------	------------	----------------

Fuente. Elaboración propia

En los graficas 9 y 10 se muestras los cromatográmas de las corridas del benzoato de sodio y el ácido ascórbico después de su reacción, mostrando gráficamente la relación de absorbancia con respecto al tiempo de retención



Gráfica 9. Cromatográma HPLC del benzoato de sodio

Fuente. Elaboración propia

Gráfica 10. Cromatográma HPLC de ácido ascórbico de la muestra M1



Fuente. Elaboración propia

Los datos obtenidos a partir de las cromatografías, se puede determinar el porcentaje de rendimiento de la reacción de la siguiente forma.

Ecuación 30. Porcentaje de conversión

$$\%R_{Total \ de \ Benzoato \ de \ sodio} = \frac{Rendimiento \ real}{Rendimiento \ teorico} * 100$$
$$\%R_{Total \ de \ Benzoato \ de \ sodio} = \frac{821,2g}{839,40g} * 100$$
$$R_{Total \ de \ Benzoato \ de \ sodio} = 97,83\%$$

Fuente. FOGLER H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

El porcentaje de conversión de la reacción es del 97,83%, concluyendo que el benzoato de sodio reacciono casi por completo con el ácido ascórbico y produciendo benceno que más adelante se retira por destilación para la adecuación del sustrato.

3.4 ANÁLISIS CINÉTICO

Para el análisis cinético de crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae*, el consumo de sustrato y la obtención de bioetanol, se hace la preparación de dos medios de cultivos C1y C2 con una concentración de sustrato de 200 y 250 g/L respectivamente, estos medios de cultivos tiene un volumen de 4 litros, donde diariamente durante 20 días se sacar muestras para los distintos tipos de análisis.

3.4.1 Análisis cinético del crecimiento de la Saccharomyces cerevisiae. Para el análisis de la cinética de crecimiento del microorganismo utilizado en el proceso de fermentación se realiza la preparación de cultivos de fermentación a distinta concentración de microrganismos entre un rango de 1*10⁸ a 1*10⁹ Células/ml, construyendo una curva de calibración y así poder hacer las interpolaciones para la creación de la curva de crecimiento del microorganismo durante el tiempo de fermentación.

3.4.1.1 Curva de calibración. La curva de calibración de *Saccharomyces cerevisiae*, se le realiza a 2 medios de cultivo C1 y C2 con una concentración de sustrato de 200 y 250 g/L respectivamente. Para calcular la concentración de inicial de levadura, se utiliza el método de cuantificación de microorganismos por cama de Neubauer. Se pesa 0,1666 g de levadura liofilizada y se vierte en 10 ml de agua destilada dejando que se hidrate por si sola. Después de que se hidrate la levadura se le agregan 100 ml de agua destilada, realizando una disolución con una relación 1/100. Con un microscopio se realiza el conteo de células a 4 cuadrantes de la camara de Neubauer arrojando una serie de resultados que se muestran en la tabla 31.

	aldo por ourna do rioubador
Cuadrante	Nº de células
L1	662
L2	641
L3	779
L4	671
Promedio	688.25

Tabla 31 Cuantificación de células por cama de Neubauer

Fuente. Elaboración propia

Obteniendo el promedio del conteo de células, con la ecuación 31 se calcula la cantidad de Células/ml que se muestra a continiacion.

Ecuación 31. Células por mililitro $\frac{Celulas}{ml} = \frac{Celulas * 10000}{N^{\circ}cuadrantes} * N^{\circ} de diluciones$ $\frac{Celulas}{ml} = \frac{688,25 * 10000}{4} * 100 = 172062500$

Fuente. DIAZ BAEZ maria consuelo, Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aquas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Ed. Gabriela Castillo Morles: Universidad del exterior de Colombia 2006.

Después de determinar la concentración inicial de microorganismo, se toman los datos de absorbancia utilizando un espectrofotómetro con una longitud de onda a de 560nm a 10 cultivos con una concentración de microorganismo diferentes como se muestra en la tabla 32 y 33. Cabe resaltar que para la toma de datos, los medios de cultivos no se realizaron por duplicado.

Tabla 32. Datos de la concentración microorganismos para la curva de calibración del medio de cultivo C1

Cultivo	Concentración de microorganismos (Células/ml)	Absorbancia (λ=560nm)
Blanco	0	0
M1	1,72E+08	0,023
M2	5,16E+08	0,085
M3	1,03E+09	0,183
M4	1,55E+09	0,231
M5	2,07E+09	0,311
M6	2,58E+09	0,412
M7	3,10E+09	0,493
M8	3,61E+09	0,553
M9	4,30E+09	0,626
M10	5,16E+09	0,739

Fuente. Elaboración propia

Cultivo	Concentración de microorganismos (Células/ml)	Absorbancia (λ=560nm)
Blanco	0	0
M1	1,72E+08	0,038
M2	5,16E+08	0,094
M3	1,03E+09	0,182
M4	1,55E+09	0,271
M5	2,07E+09	0,336
M6	2,58E+09	0,411
M7	3,10E+09	0,445
M8	3,61E+09	0,526
M9	4,30E+09	0,611
M10	5,16E+09	0,747

Tabla 33. Datos de la concentración microorganismos para la curva de calibración del medio de cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

Mediante la técnica por recuento de cámara de Neubauer se determina que la concentración inicial del inoculo de *Saccharomyces cerevisiae* fue de 1,72*10⁸ Células/ml y a partir de este se obtuvo la curva de calibración donde se evalúa la absorbancia con respecto a la concentración de microorganismos. Se realiza una regresión lineal, donde el coeficiente de correlación es igual a 0,9948 para el cultivo C1 y 0,9944 para el cultivo C2 como se muestra en la gráfica 11y 12.





Fuente. Elaboración propia



Gráfica 12. Curva de calibración concentración microorganismos para el medio de cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

El las gráficas se muestran las ecuaciones lineales de los datos de la curva de calibración, donde los valores de los experimentos posteriores se remplazan para la interpolación de las absorbancias.

3.4.1.2 Cinética del crecimiento de la Saccharomyces cerevisiae. Para el análisis del crecimiento del microorganismo en el proceso de fermentación, se utiliza el modelo matemático de Gompertz, utilizando los datos experimentales obtenidos para los cultivos C1y C2.

Modelo matemático de Gompertz para el cultivo C1. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de las unidades formadoras de colonias de la levadura (Log Células/ml) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 34.

Día	Concentración de microorganismos (Células/ml)	Log(N/No)
0	1,72E+08	0
1	1,72E+08	0
2	2,16E+08	0,099685354
3	2,39E+08	0,142797685
4	2,77E+08	0,206319709
5	3,44E+08	0,30146397
8	3,52E+08	0,310855405
9	3,60E+08	0,320048045

 Tabla 34. Datos experimentales de la concentración microorganismos para el medio de cultivo C1

Tabla 24. (Continuación)

Día	Concentración de microorganismos (Células/ml)	Log(N/No)
10	3,67E+08	0,329050132
11	3,75E+08	0,337869406
12	3,82E+08	0,346513145
16	3,90E+08	0,3549882
17	3,82E+08	0,346513145

Fuente. Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación de Gompertz.

Ecuación 32. Ecuación de Gompertz

$$Y = a * Exp(-Exp(b - c * t))$$

Fuente. RUBINSON, Judith F.; RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación Gompertz, para modelar los datos. Donde a= 0,340072, b= 1,673591y c= 0,635477.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 32 y se optime la gráfica 13.



Gráfica 13. Modelo ajustado para los resultados experimentales del medio de cultivo C1

Fuente. Elaboración propia
Se procede a calcular la velocidad específica de crecimiento, la duración de la fase de latencia y el tiempo de generación.

Ecuación 33. Velocidad especifica de crecimiento

$$\mu_{Max} = a * c$$

$$\mu_{Max} = 0,2161 \ h^{-1}$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Ecuación 34. Duración de la fase de latencia

$$\Lambda = \frac{(b-1)}{c}$$
$$\Lambda = 1.0599 \ h$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Ecuación 35. Tiempo de generación

$$G = Log(2)/\mu_{Max}$$
$$G = 3.2074 h$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

En el anexo 14 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de la levadura en medio de cultivo C1, donde el inoculo tiene una concentración inicial de 1,72E+08 Células/ml. En la gráfica 13 se observa la fase de adaptación durante los 2 primeros días, posteriormente entre los días 3 al 5 se presenta la fase exponencial, cuyo punto máximo se logra en el día 5 en donde el valor de la concentración es de 3,44E+08 Células/ml, finalmente la fase estacionaria se alcanza en los días 8 al 17. En la gráfica 14 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R² de 0,9867.



Gráfica 14. Linealización de la cinética de la concentración microorganismos del cultivo C1

Fuente. Elaboración propia

Modelo matemático de Gompertz para el cultivo C2. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de las unidades formadoras de colonias de la levadura (Log Células/ml) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 35.

Día	Concentración de microorganismos (Células/ml)	Log(N/No)
0	1,72E+08	0
1	1,72E+08	0
2	2,28E+08	0,121476608
3	2,28E+08	0,121476608
4	2,37E+08	0,138422086
5	2,68E+08	0,193010042
8	2,77E+08	0,207424343
9	2,82E+08	0,21445597
10	2,86E+08	0,22137556
11	2,96E+08	0,234892524
12	3,00E+08	0,241496447
16	3,05E+08	0,248001453
17	3,00E+08	0,241496447

Tabla 35. Datos experimentales de la concentración microorganismos para el medio de cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación de Gompertz.

Ecuación 36. Ecuación de Gompertz

$$Y = a * Exp(-Exp(b - c * t))$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación Gompertz, para modelar los datos. Donde a= 0,233988, b= 1,151316 y c= 0,521834.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 31 y se optime la gráfica 15.





Fuente. Elaboración propia

Se procede a calcular la velocidad específica de crecimiento, la duración de la fase de latencia y el tiempo de generación.

Ecuación 37. Velocidad especifica de crecimiento

$$\mu_{Max} = a * c$$

$$\mu_{Max} = 0,1221 \ h^{-1}$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Ecuación 38. Duración de la fase de latencia

$$\Lambda = \frac{(b-1)}{c}$$
$$\Lambda = 0,2899 h$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Ecuación 39. Tiempo de generación

 $G = Log(2)/\mu_{Max}$ G = 5,6767 h

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

En el anexo 14 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de la levadura en medio de cultivo C2, donde el inoculo tiene una concentración inicial de 1,72E+08 Células/ml. En la gráfica 15 se observa la fase de adaptación durante los 2 primeros días, posteriormente entre los días 3 al 5 se presenta la fase exponencial, cuyo punto máximo se logra en el día 5 en donde el valor de la concentración es de 2,68E+08 Células/ml, finalmente la fase estacionaria se alcanza en los días 8 al 17. En la gráfica 16 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R² de 0,9915.





Fuente. Elaboración propia

3.4.2 Análisis cinético del consumo de azúcares. En el análisis de la cinética de consumo de sustrato en los medios de cultivo, se observa que la concentración de azúcar disminuye con respecto al tiempo. En esta fase se realiza un monitoreo de la fermentación alcohólica de los azúcares adecuados de las bebidas gaseosas carbonatadas vencidas a escala laboratorio con un volumen de 4 litros, bajo las concentraciones iniciales de azúcar de 200 y 250 g/L que corresponde a los medios de cultivos C1 y C2 respectivamente, a lo largo del proceso de fermentación se monitorea el potencial de hidrógeno (pH) y los azúcares reductores totales.

3.4.2.1 Curva de calibra. La curva de calibración de los azúcares, se le realiza una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico a una concentración de 2N, a medios de cultivos con distintas concentraciones de sacarosa como se observa en la tabla 36 respectivamente. Se toman los datos de absorbancia utilizando un espectrofotómetro con una longitud de onda a de 540nm.

Muestra	Concentración de azúcar (g/L)	Absorbancia(λ=540 nm)
Blanco	0	0
A1	30	0,076
A2	60	0,145
A3	90	0,189
A4	120	0,245
A5	150	0,313
A6	180	0,361
A7	210	0,398
A8	240	0,446
A9	270	0,506
A10	300	0,546

Tabla 36. Datos de la curva de calibración

Fuente. Elaboración propia

Mediante la técnica de determinación de azúcares reductores DNS se determinó que la concentración inicial de sustrato el cual fue de 200 y 250 g/L, a partir de este se obtuvo la curva de calibración donde se evaluó la absorbancia con respecto a la concentración de azúcares. Se realiza una regresión lineal, donde el coeficiente de correlación es igual a 0,9945 como se muestra en la gráfica 17.



Gráfica 17. Curva de calibración de sacarosa

Fuente. Elaboración propia

El las gráficas se muestran la ecuación lineal de los datos de la curva de calibración de sacarosa, donde los valores de los experimentos posteriores se remplazan para la interpolación de las absorbancias.

3.4.2.2 Cinética del consumo de azúcares. En la cinética de consumo de azúcar en las cultivos C1 y C2, se aplica el método para la determinación de azúcares reductores por DNS a muestras previamente hidrolizadas para la cuantificación de azúcares reductores totales. La hidrólisis ácida se realiza con ácido sulfúrico a una concentración de 2N. Se toman los datos de absorbancia utilizando un espectrofotómetro con una longitud de onda a de 540nm. Por otra parte con un potenciómetro se mide el potencial de hidrógeno (pH) durante el proceso de fermentación.

En los medios de cultivo C1 y C2, tienen una concentración inicial de azúcares de 200 y 250 g/L respectivamente, se presentan los datos de azúcares reductores totales obtenidos durante el proceso de fermentación, estos datos de absorbancia y concentración de azúcares se presentan en la tabla 37 y 38.

Día	Absorbancia (λ=540 nm)	Concentración (g/L)
0	0,382	200
1	0,345	179,047
2	0,212	104,492
3	0,196	95,524
4	0,181	87,115
5	0,155	72,541
8	0,131	59,087
9	0,128	57,406
10	0,101	42,271
11	0,092	37,226
12	0,082	31,62
16	0,062	20,583
17	0,052	15,065
E t		

Tabla	37.	Datos	de	azúcares	reductores
totales	para	el medi	io de	e cultivo C1	

Fuente. Elaboración propia

totales para el medio de cultivo C2			
Día	Absorbancia (λ=540 nm)	Concentración (g/L)	
0	0,471	250	
1	0,452	239,026	
2	0,429	226,133	
3	0,416	218,846	
4	0,291	148,776	
5	0,209	102,811	
8	0,187	90,479	
9	0,175	83,752	
10	0,164	77,586	
11	0,148	68,617	
12	0,135	61,33	
16	0,134	60,769	
17	0,131	59,087	

Tabla 38. Datos de azúcares reductores

Fuente. Elaboración propia

En las gráficas 18 y 19 se presentan las cinéticas de los azúcares reductores totales.



Gráfica 18. Cinéticas de los azúcares reductores totales para el medio de cultivo C1

Fuente. Elaboración propia

Gráfica 19. Cinéticas de los azúcares reductores totales para el medio de cultivo C2



Fuente. Elaboración propia

Como se observa en la gráfica 30 y 31, la concentración de azúcares disminuve con respecto al tiempo, en la fase de adaptación en medio C1 va desde el día 0 hasta el día 2 con una concentración de azúcares de 177,36 g/L y en el medio C2 va desde el día 0 hasta el día 3 con una concentración de azúcares de 218.84 g/L. la levadura no ha metabolizado grandes cantidades de azúcar por el número de microrganismos presente. La fase exponencial para el medio C1 se extiende desde el día 2 hasta el día 8 con una concentración de azúcares de 59,08 g/L y el medio C2 se extiende desde el día 3 hasta el día 10 con una concentración de azúcares de 77,58 g/L, en este punto el número de microorganismo aumentan puesto que va han entrado en fase exponencial por lo cual se observa una rápida degradación del azúcar presente en el medio. Por último la fase estacionaria para el medio C1 se prolonga desde el día 9 hasta el día 17 con una concentración de azúcares de 15.06 g/L y el medio C2 se prolonga desde el día 11 hasta el día 17 con una concentración de azúcares de 59,08 g/L, el microorganismo entra en fase estacionaria y posterior muerte, puesto que los azúcares empieza a disminuir notablemente, por lo cual en este punto se da por terminada el proceso de fermentación.

El proceso finalizo para el medio C1 hasta una concentración de azúcar de 15,06 g/L y para el medio C2 hasta una concentración de azúcar de 59,08 g/L, en este punto se detuvo la fermentación debido a que el medio de cultivo no presento burbujeo ni espuma tomando este parámetro para la determinación del tiempo de fermentación.

En el anexo 17 se muestran los resultados del potencial de hidrógeno (pH) durante el proceso de fermentación, con estos datos obtenidos se grafica la relación del potencial de hidrógeno (pH) con respecto al tiempo. En las gráficas 20 y 21 se muestra dicha relación para los medios de cultivos C1 y C2.





Fuente. Elaboración propia





Fuente. Elaboración propia

A medida que el tiempo transcurre el potencial de hidrógeno (pH), comienza a disminuir debido a un aumento en la producción de ácidos formados durante el proceso, debido a que la levaduras toman el nitrógeno de los aminoácidos y estos pierden así su carácter anfótero, teniendo como consecuencia una disminución de potencial de hidrógeno (pH). El potencial de hidrógeno (pH) final de los medios de cultivos C1 y C2 corresponde a 3,91 y 4,01 respectivamente.

➢ Modelo matemático logístico para el medio de cultivo C1. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de sustrato (Log g/L) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 39.

Día	Concentración de azúcar (g/L)	Log(N/No)
0	200.00	0
1	190,25	-0,0216
2	177,36	-0,0521
3	95,52	-0,3209
4	87,11	-0,3609
5	72,54	-0,4404
8	59,08	-0,5295
9	57,40	-0,5420
10	42,27	-0,6749
11	37,22	-0,7301
12	31,62	-0,8010
16	20,58	-0,9875
17	15,06	-1,1230

Tabla 39. Datos experimentales de la concentración de sustrato del medio de cultivo C1

Fuente. Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación del modelo logístico.

Ecuación 40: Ecuación del modelo logístico

$$Y = \frac{a}{(1+b*\exp(-c*t))}$$

Fuente: RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación del modelo logístico, para modelar los datos. Donde a= -1,2017, b= 9,9164 y c= 0,2545.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 39 y se optime la gráfica 22.



En el anexo 15 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de la concentración de sustrato presente en medio de cultivo C1. En la gráfica 23 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R^2 de 0,9456.



Gráfica 23. Linealización de la cinética de consumo de sustrato del medio cultivo C1

Modelo matemático logístico para el medio de cultivo C2. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de sustrato (Log g/L) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 40.

Día	Concentración de azúcar (g/L)	Log(N/No)
0	250	0
1	239,02	-0,0194
2	226,13	-0,0435
3	218,84	-0,0578
4	148,77	-0,2254
5	102,81	-0,3859
8	90,47	-0,4413
9	83,75	-0,4749
10	77,58	-0,5081
11	68,61	-0,5615
12	61,33	-0,6102
16	60,76	-0,6142
17	59,08	-0,6264

Tabla 40. Datos experimentales de la concentración de sustrato del medio cultivo

 C2

Fuente: Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación del modelo logístico.

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 41. Ecuación del modelo logístico

$$Y = \frac{a}{(1+b*\exp(-c*t))}$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación del modelo logístico, para modelar los datos. Donde a= -0,5903, b= 19,1361y c= 0,5624.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 39 y se optime la gráfica 24.





Fuente: Elaboración propia

En el anexo 15 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de la concentración de sustrato presente en medio de cultivo C2. En la gráfica 25 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R² de 0,9596.



Gráfica 25. Linealización de la cinética de

Fuente. Elaboración propia

3.4.3 Análisis cinético de la obtención de bioetanol. Se realiza un análisis cinético de la concentración de alcoholes presentes durante el proceso de fermentación con respecto al tiempo, utilizando el modelo matemático logístico y determinando la concentración de etanol y metanol presente después del proceso de fermentación por medio de cromatografías de gases.

3.4.3.1 Cinética de la obtención de alcoholes. Para el análisis del crecimiento de obtención de bioetanol en el proceso de fermentación, se utiliza el modelo matemático logístico, utilizando los datos experimentales obtenidos para los cultivos C1y C2.

➢ Modelo matemático logístico para el cultivo C1. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de grados Gay Lussac (⁰GL) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 41.

Día	Concentración de bioetanol (ºGL)	Log(N/No)
0	0	0
1	0	0
2	1	0
3	2	0,301029996
4	2	0,301029996
5	3	0,477121255
8	5	0,698970004
9	6	0,77815125

Tabla 41. Datos experimentales de la concentración de bioetanol del medio cultivoC1

Día	Concentración de bioetanol (ºGL)	Log(N/No)		
10	7	0,84509804		
11	8	0,903089987		
12	9	0,954242509		
16	10	1		
17	10	1		

Tabla 41. (Continuación)

Fuente, Elaboración propia

En la gráfica 26 se muestra el comportamiento de la concentración de bioetanol en grados Gay Lussac (°GL) con respecto al tiempo de fermentación en (días), para el cultivo C1.

Gráfica 26. Comportamiento de la concentración de bioetanol con respecto al tiempo de fermentación para el cultivo C1



Fuente. Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación del modelo logístico.

Ecuación 42. Ecuación del modelo logístico

$$Y = \frac{a}{(1+b*\exp(-c*t))}$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación del modelo matemático logístico, para modelar los datos. Donde a= 0,9829, b= 17,3166y c= 0,4917.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 42 y se optime la gráfica 27.



Gráfica 27. Modelo ajustado para los resultados experimentales del cultivo C1

i dente. L'aboración propia

En el anexo 16 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de los alcoholes en medio de cultivo C1. En la gráfica 27 se observa la fase de adaptación durante los 4 primeros días, posteriormente entre los días 5 al 12 se presenta la fase exponencial, cuyo punto máximo se logra en el día 12 en donde el valor de la concentración es de 9 °GL, finalmente la fase estacionaria se alcanza en los días 12 al 17 con una concentración de bioetanol de 10 °GL. En la gráfica 28 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R² de 0,9759.





Fuente. Elaboración propia

Analizado el comportamiento de la obtención de bioetanol con respecto al tiempo de fermentación por el modelo matemático elegido, se procede a cuantificar la cantidad de alcoholes obtenidos después del proceso de fermentación, determina el contenido de etanol y metanol por cromatografía de gases. Los resultados del análisis de la muestra, se observa el paso de cada sustancia por la columna de intercambio identificada por los detectores evidenciando y caracterizando cada sustancia dependiendo el tiempo de retención. Las cromatografías de gases se realizaron a una muestra del medio de cultivo C1 donde su proceso de fermentación ha finalizado. En la tabla 42 se muestra los resultados de la determinación de la concentración de metanol y etanol de la muestra.

Sustancia	Etanol	Metanol
Tiempo de retención (min)	1,324	0,593
Área (mAÚ*min)	4,269	0,097
Altura (mAU)	28,513	0,651
Área relativa (%)	100	100
Altura relativa (%)	100	100
Cantidad(mg/ml)	8,479	0,2539

 Tabla 42. Tabla de datos de las cromatografías de gases de etanol y metanol

Fuente. Elaboración propia

Los datos obtenidos a partir de las cromatografías de gases del medio de cultivo C1, se puede apreciar que el tiempo de retención para el etanol corresponde a 1,324 min con una concentración de 8,479 mg/ml y para el metanol es de 0,593 min con una concentración de 0,2539 mg/ml.

En las gráficas 29 y 30 se muestras los cromatográmas de la muestra de alcoholes, mostrando gráficamente la relación de absorbancia con respecto al tiempo de retención.





Fuente. Elaboración propia



Gráfica 30. Cromatográma de gases del metanol del medio de cultivo C1

Fuente. Elaboración propia

Modelo matemático logístico para el cultivo C2. Se lleva a cabo la correlación de logaritmo de la concentración de grados Gay Lussac (°GL) en función del tiempo de fermentación a partir de los resultados experimentales como se muestra en la tabla 43.

Día	Concentración de bioetanol (ºGL)	Log(N/No)
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	1	0
4	1	0
5	2	0,3010
8	4	0,6020
9	5	0,6989
10	6	0,7781
11	7	0,8450
12	8	0,9030
16	9	0,9542
17	9	0,9542

Tabla 43. Datos experimentales del cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

En la gráfica 31 se muestra el comportamiento de la concentración de bioetanol en grados Gay Lussac (°GL) con respecto al tiempo de fermentación en (días), para el cultivo C2.



Fuente. Elaboración propia

Se remplazan los datos en la ecuación del modelo logístico.

Ecuación 43. Ecuación del modelo logístico

$$Y = \frac{a}{(1+b*\exp(-c*t))}$$

Fuente. RUBINSON, Judith F., RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

Con el programa STATISTICA, se hace las correspondientes iteraciones para calcular las constantes a, b y c de la ecuación del modelo matemático logístico, para modelar los datos. Donde a= 0.9408, b= 103.5274 y c= 0.6423.

Se remplazan los datos con las constantes obtenidas en la ecuación 39 y se optime la gráfica 32.



Gráfica 32. Modelo ajustado para los resultados experimentales del cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

En el anexo 16 se presentan los resultados obtenidos con respecto al comportamiento de los alcoholes en medio de cultivo C1. En la gráfica 32 se observa la fase de adaptación durante los 5 primeros días, posteriormente entre los días 5 al 12 se presenta la fase exponencial, cuyo punto máximo se logra en el día 12 en donde el valor de la concentración es de 8 °GL, finalmente la fase estacionaria se alcanza en los días 12 al 17 con una concentración de bioetanol de 9 °GL. En la gráfica 33 se presentan los resultados de cumplimiento a la cinética de orden 1 con un R^2 de 0,9857.



Gráfica 33. Linealización de la cinética de obtención de bioetanol del medio cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

Analizado el comportamiento de la obtención de bioetanol con respecto al tiempo de fermentación por el modelo matemático elegido, se procede a cuantificar la cantidad de alcoholes obtenidos después del proceso de fermentación, determina el contenido de etanol y metanol por cromatografía de gases. Los resultados del análisis de la muestra, se observa el paso de cada sustancia por la columna de intercambio identificada por los detectores evidenciando y caracterizando cada sustancia dependiendo el tiempo de retención. Las cromatografías de gases se realizaron a una muestra del medio de cultivo C2 donde su proceso de fermentación ha finalizado. En la tabla 44 se muestra los resultados de la determinación de la concentración de metanol y etanol de la muestra.

Sustancia	Etanol	Metanol
Tiempo de retención (min)	1,324	0,593
Área (mAÚ*min)	4,221	0,086
Altura (mAU)	28,197	0,577
Área relativa (%)	100	100
Altura relativa (%)	100	100
Cantidad(mg*ml)	7,528	0,232

 Tabla 44. Tabla de datos de las cromatografías de gases de etanol y metanol

Fuente. Elaboración propia

Los datos obtenidos a partir de las cromatografías de gases del medio de cultivo C2, se puede apreciar que el tiempo de retención para el etanol corresponde a 1,324 min con una concentración de 7,728 y para el metanol es de 0,593 min con una concentración de 0,232.

En las gráficas 34 y 35 se muestras los cromatográmas de la muestra de alcoholes, mostrando gráficamente la relación de absorbancia con respecto al tiempo de retención.



Gráfica 34. Cromatográma de gases del etanol del medio de cultivo C2

Fuente. Elaboración propia

Gráfica 35. Cromatográma de gases del metanol del medio de cultivo C2



Fuente. Elaboración propia

4. INGENERIA CONCEPTUAL DEL PROYECTO

En este capítulo se realiza la descripción de los requerimientos técnica para la obtención de bioetanol, tomando como referencia los análisis de resultados en el capítulo 3. De esta forma se realiza un estudio teórico con el fin de identificar los equipos y su dimensionamiento conceptual que son necesarios en el proceso de producción de bioetanol.

4.1 DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO

Para cada parámetro empleado a nivel de laboratorio, se realiza el estudio de los equipos industriales requeridos para cada operación unitaria del proceso. A continuación se presenta el diagrama para el proceso de obtención de bioetanol que se puede apreciar en el diagrama 14.





En el diagrama de flujo del proceso, podemos apreciar los distintos flujos de entrada y salida de cada equipo empleados a lo largo del proceso, debidamente titulados y enumerados respectivamente para facilitar su posterior explicación y dimensionamiento.

A continuación, se plantean el conjunto de equipos que se requieren para la obtención de bioetanol dando una breve descripción de cada equipo, su dimensionamiento y sus requerimientos técnicos de operación.

Fuente. Elaboración propia

4.1.1 Tanque de almacenamiento de gaseosa carbonatada vencida. Este tanque se usa para almacenar la gaseosa carbonatada vencida proveniente de las empresas productoras de bebidas no alcohólicas, con el fin de emplearla como materia prima de la producción de bioetanol. Las condiciones de diseño del tanque se realizan de acuerdo a los criterios y metodologías utilizadas en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

En la figura 19 se muestra el tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada vencida con su flujo de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.



Figura 19. Tanque de almacenamiento de gaseosa carbonatada vencida

En la corriente de flujo 1 entra la bebida gaseosa carbonatada vencida como materia prima al tanque de almacenamiento, con unas condiciones donde la temperatura se encuentra a 16 °C, una presión de 1 atm y con una concentración de 6,716 °Bx o 67,166 g*L⁻¹. La corriente de flujo 2 sale del tanque de almacenamiento con las mismas condiciones de operación de la corriente de flujo 1 al reactor Batch.

4.1.1.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento de gaseosa carbonatada vencida. Se recomienda tener en cuenta el tipo de compuesto que se va a almacenar en los tanques, para la bebida gaseosa carbonatada vencida se debe mantener una temperatura ambiente de aproximadamente 16 °C. A continuación se procede a dimensionar el tanque.

➢ Volumen. Partiendo de un volumen equivalente a lo que contiene un carro tanque correspondiente a 11000 galones, se amplía tres veces dicho valor con el fin de mantener un proceso continuo y a su vez tener una extensa reserva de la materia prima. El volumen a emplear es de 124918,58 L y la base de cálculo para el tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada vencida se muestra en el anexo 22

Fuente. Elaboración propia

Sobredimensionamiento. Se recomienda que los tanques deben tener un 20 % más de su llenado limite lo cual las dimensiones de los tanques se calculan como.

Ecuación 44. Sobredimensionamiento del tanque de almacenamiento

$$V_s = V * 1,2 = 124918,58L * 1,2$$

 $V_s = 149902,296 L$
 $V_s = 149.902296 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https: //ddd. uab. cat/ pub/ tfg/ 2016/148700/ TFG_ VamIndustry_v11.pdf

El parámetro a resaltar de los tanques, es que tiene que tener un 75% de su llenado máximo lo cual las dimensiones de los tanques se calcula como.

Ecuación 45. Diámetro interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

$$V_t = \pi * r^2 * h$$

$$r = 2,734 m$$

$$D_i = 2r = 5,468 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry.[En línea]. Disponible en: https: //ddd. uab. cat/ pub/ tfg/ 2016/ 148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 46. Altura del cilindro

$$h = 1,75 * D_i = 9,8424 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https:// ddd.uab. cat/ pub/tfg/2016/ 148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 47. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h$$

 $V_c = 231,1255 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https:// ddd.uab.cat/ pub/tfg/2016 /148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.

h: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Ecuación 48. Ocupación de la bebida gaseosa carbonatada vencida en el tanque

$$V_{ocupado} = \frac{V}{\frac{\# tanques}{V_c}} * 100 = 54,047 \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 49. Espesor del tanque de la bebida gaseosa carbonatada vencida

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 4.419977E^{-3}m = 4.4199 mm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Dónde:

 P_d : Presión de diseño (atm)

S: Tensión máxima admisible (Psi)

E: Factor de soldadura (0.85)

 C_1 : Sobre espesor de corrosión (mm)

 C_2 : Sobre espesor por fabricación (mm)

4.1.1.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento de bebida gaseosa carbonatada vencida. Para diseñar el tanque se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones del compuesto, por se elige el acero inoxidable AISI 304 donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 18, ofreciendo unas propiedades perfectas para el almacenamiento del producto. Los costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 45 se muestra las características y las específicas del material.

Tabla 45. Características es	specíficas del Als	SL
------------------------------	--------------------	----

MATERIAL	AISI 304	
Composición	18Cr-8Ni Spec No: SA-240	
Densidad (δ)	7930 kg/m ³	
Tensión máxima admisible(S)	85000 Psi	
Módulo de elasticidad (E)	200 GPa	
Sobre espesor de corrosión (C1)	0,001 mm	
Sobre espesor por fabricación (C2) 0,0018 mm		

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pears Educación; 2006. pag .46-48

Para establecer los requerimientos técnicos del tanque se retoma la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

Presión de diseño. Como parámetro de seguridad la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la presión de diseño.

Ecuación 50. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

➤ Temperatura de diseño. El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe estar a 19 C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallamos la temperatura de diseño.

Ecuación 51. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \ {}^{\circ}C = 39 \ {}^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Cabe resaltar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación de los tanques. Con ello se procede a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 52. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = 5,3196 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 53855,204 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,531509 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 53. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,531509 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 54. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,91123 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.2 Silo del almacenamiento del ácido ascórbico. Se utiliza para almacenar el ácido ascórbico cuya finalidad es hacerlo reaccionar con la materia prima (bebida gaseosa carbonatada vencida) en el reactor Batch. Las condiciones de diseño del silo se realizan de acuerdo a los criterios y metodologías utilizadas en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

En la figura 20 se muestra el silo de almacenamiento del ácido ascórbico con su flujo de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.



Figura 20. Silo de almacenamiento del

Fuente. Elaboración propia

En la corriente de flujo 3 entra el ácido ascórbico como materia prima al silo de almacenamiento, con unas condiciones donde la temperatura se encuentra a 16 °C, una presión de 1 atm, una concentración de 99,9% de pureza y en estado sólido. La corriente de flujo 4 sale del silo de almacenamiento con las mismas condiciones de operación de la corriente de flujo 3 al reactor Batch.

4.1.2.1 Dimensionamiento del silo para almacenamiento del ácido ascórbico

Se debe tener en cuenta que la finalidad del silo diseñado es para almacenar sólidos y materiales en granel, además que su forma de cono tornándose como torre permite mayor facilidad para manipular el material como lo es el ácido ascórbico, manteniendo su temperatura recomendada de almacenamiento entre 5 a 30 °C. A continuación procedemos a dimensionar el silo.

> Volumen. Como se trata de dimensionar un silo a condiciones de almacenamiento del ácido ascórbico se parte de su densidad y lo que se requiere del mismo por ello se calcula la cantidad a emplear de acuerdo a la siguiente equivalencia encontrada en la experimentación.

Para trabajar 1 litro de bebida gaseosa carbonatada vencida se debe emplear 8,394 gramo de ácido ascórbico, por ende para trabajar 41639,53 L de bebida gaseosa carbonatada vencida debemos emplear 35,86 Kilogramos de ácido ascórbico. La base de cálculo para el silo de almacenamiento del ácido ascórbico se muestra en el anexo 23.

Después calculados los datos anteriores y la densidad del ácido ascórbico se procede a dimensionar el silo con el doble de capacidad de contenido como se presenta a continuación.

Ecuación 55. Volumen del ácido ascórbico

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{71,72 \ kg}{1650 \ kg/m^3}$$
$$V = 0.0434 \ m^3$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Sobredimensionamiento. Se recomienda que los silos deben tener un 20% más de su llenado límite lo cual las dimensiones se calculan como.

Ecuación 56. Sobredimensionamiento

$$V_s = V * 1,2$$

 $V_s = 0,0521m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 57. Diámetro interno del silo

$$h \ge 1,75r$$

$$V_{sc} = \frac{\pi * r^2 * h}{3}$$

$$r = 0,28 m$$

$$D_i = 2r = 0,56 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 58. Altura del cilindro

$$h = 1,8 * D_i = 1,008 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Ecuación 59. Volumen del cono

$$V_{sc} = \frac{\pi * r^2 * h}{3}$$
$$V_{sc} = 0,082 m^3$$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.
h: La altura del tanque.
Di: Diámetro interno del tanque
Vsc: Volumen del Silo

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 60. Ocupación del ácido ascórbico en el silo

$$\%V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\frac{V_{sc}}{V_{sc}}} * 100 = 52,92 \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 61. Espesor del silo del ácido ascórbico

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 2.932E^{-3}m = 2.932 mm$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)

S: Tensión Máxima Admisible (Psi)

E: Factor De Soldadura (0,85)

 C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

C2: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf **4.1.2.2 Requerimientos técnicos del silo para almacenamiento del ácido ascórbico.** Para diseñar el silo se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones de nuestro compuesto, por ello se elige el acero inoxidable AISI 316L donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 19, este material ofrece unas buenas propiedades ante la corrosión. En la tabla 40 se presenta las características específicas.

MATERIAL	AISI 316L	
Composición	17Cr-12Ni	
Densidad (δ)	Spec No: SA-240 7936 kg/m ³	
Tensión máxima admisible(S)	85000 Psi	
Módulo de elasticidad (E)	193 GPa	
Sobre espesor de corrosión (C1)	0,001 mm	
Sobre espesor por fabricación (C2)	0,0018 mm	

Tabla 46. Características específicas del AISI

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pearson Educación;2006., pag .46-48

Cabe resaltar que para establecer los requerimientos técnicos del silo se basó en la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

Presión de diseño. Como parámetro de seguridad, la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación se halla la presión de diseño.

Ecuación 62. Presión de diseño del silo

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

> **Temperatura de diseño.** El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe quedar a una temperatura ambiente de 18 C respecto a la temperatura de trabajo.

Ecuación 63. Temperatura de diseño del silo

$$T_d = T_t + 20 \ {}^{\circ}C = 38 \ {}^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Cabe reiterar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación de los tanques. Con ello se procede a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 64. Presión del compuesto del silo

$$h_1 = \frac{\frac{V}{\# silo}}{\pi * \left(\frac{D_i}{2}\right)^2} = 0,176 m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_1 = 2852,17 \frac{kg}{m * s^2}$$
$$\Delta P = 0,028 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 65. Presión teórica de diseño del silo

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,028 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 66. Presión interna de diseño del silo

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,332 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.3 Reactor Batch. El reactor Batch básicamente es un tanque donde ocurre internamente una reacción cuya finalidad de diseño es aumentar la selectividad y conversión de dicha reacción con el menor costo posible con temperatura, presión y agitación controlada. Por ello se procede a hacer reaccionar el benzoato de sodio presente en la bebida gaseosa carbonatada vencida con el ácido ascórbico con el fin el poder generar benceno y ascorbato de sodio como producto.

En la figura 21 se muestra el reactor Batch con sus flujos de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.





Fuente. Elaboración propia

Se debe contemplar el balance de materia en los tres equipos los cuales son el reactor Batch, el tanque de gaseosa carbonatada vencida y el silo de ácido ascórbico, donde por estequiometria se calcula las cantidades que entran y salen después de que ocurran las dos reacciones en el reactor. Para iniciar el balance se debe tener en cuenta la masa molecular, la densidad y el volumen de los reactivos agregado al reactor y los productos presentes en el transcurso de la reacción. Se toma como equivalencia que por cada litro de bebida gaseosa carbonatada vencida se le añade un gramo de ácido ascórbico. Para el proceso se utiliza 49,967 Kg como valor de masa y luego se calcula los respectivos volúmenes y la base de cálculo para el reactor batch se muestra en el anexo 24.

Ecuación 67. Volumen del benzoato de sodio

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{35,86 \, kg}{1440 \, kg/m^3}$$
$$V = 0,0249 \, m^3$$
$$V = 24,9L$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 68. Volumen del ácido ascórbico

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{35,86 \ kg}{1650 \ kg/m^3}$$
$$V = 0,0217 \ m^3$$
$$V = 21,73 \ L$$

Fuente. Elaboración propia

Con los calculas anteriores se procede a denotar los datos de la estequiometria a tener en cuenta como se muestra en la tabla 47.

Compuesto	Masa Molecular(g/mol)	Densidad (g/ml)	Volumen (ml)
Benzoato de sodio	144,11	1,44	24900
Ácido ascórbico	176,12	1,65	21730
Ácido benzoico	122,12	1,32	
Ascorbato de sodio	198,11	1,66	
Benceno	78,11	0,8786	

Tabla 47. Estequiometria de la reacción

Fuente. Elaboración propia

A partir de estos datos se calculan las moles que reaccionan, teniendo en cuenta la estequiometria de las reacciones 1 y 2 mostradas a continuación.

Moles de Benzoato De Sodio: 248,83 moles Moles de Ácido Ascórbico: 203,57 moles

Ecuación 69. Cálculo de moles

$$n_i = n_{io} + v_i * \varepsilon$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Dónde:

ni: son las moles totales del compuesto *i nio*: son las moles iniciales del compuesto *i vi*: coeficiente estequiométricos del compuesto *i* ε : es el grado de avance de la reacción

REACCION 1 Benzoato De Sodio Con Ácido Ascórbico

 $\mathbf{R}_{1} = \mathbf{C}_{7}\mathbf{H}_{5}\mathbf{N}_{2}\mathbf{O}_{2} + \mathbf{C}_{6}\mathbf{H}_{8}\mathbf{O}_{6} \leftrightarrow \mathbf{C}_{7}\mathbf{H}_{6}\mathbf{O}_{2} + \mathbf{C}_{6}\mathbf{H}_{7}\mathbf{O}_{6}\mathbf{N}_{8} = \mathbf{R}_{2}$

Benzoato De Sodio + Ácido Ascórbico ↔ Ácido Benzoico + Ascorbato De Sodio

REACCION 2 Subproductos finales de la Reacción 1

 $\mathbf{R}_3 = \mathbf{C}_7 \mathbf{H}_6 \mathbf{O}_2 \rightarrow \mathbf{C}_6 \mathbf{H}_{6+} \mathbf{C} \mathbf{O}_2$

Ácido Benzoico — Benceno + Dióxido De Carbono

$$\begin{pmatrix} -1 & -1 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 1 & 1 \end{pmatrix} R2 = R2 + R1$$

Con las matrices se determina realmente que reacciones ocurren y cuáles no, además nos ayuda a hallar el reactivo limitante para los avances de reacción en un t=0. A continuación se procede a calcular los avances de reacción respectivamente.

Ecuación 70. Grados de avance de las reacciones

$$0 = 248,83 + (-1) * \varepsilon$$

 $\varepsilon = 248,83$ para el benzoato de sodio

 $0 = 203,57 + (-1) * \varepsilon$

 $\varepsilon = 203,57$ para el acido ascorbico

Fuente. FOGLER H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

Con los cálculos anteriores se puede reemplazar en la ecuación 60 para hallar las moles de todos los compuestos de interés de manera concisa en la tabla 48 presentada a continuación.

Compuesto	Coeficientes Estequiometricos	Moles de entrada	Moles de salida
Benzoato de sodio	-1	248,83	0
Ácido ascórbico	-1	203,57	0
Ácido benzoico	1	0	248,83
Ascorbato de sodio	1	0	203,57
Ácido benzoico	-1	248,83	0
Benceno	1	0	248,83
Dióxido de carbono	1	0	248,83

 Tabla 48. Moles de entrada y salida del reactor Batch

Fuente. Elaboración propia

A partir de las moles se calcula el balance de materia en el reactor de la siguiente manera y presentado en la tabla 49.
Ecuación 71. Calculo de masa por componentes

$$m_i = \frac{n_i * p_{mi}}{1000}$$

Dónde:

m; Es la masa del compuesto *i* en Kg.

ni.Es el peso molecular del compuesto *i* en gr/mol.

Fuente. FOGLER H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

Benzoato de sodio 35,85 0	Compuesto	Entrada (Kg)	Salida (Kg)
$\mathbf{\hat{A}}$ cido ascárbico 25.95 0	Benzoato de sodio	35,85	0
	Ácido ascórbico	35,85	0
Ácido benzoico 0 30,38	Ácido benzoico	0	30,38
Ascorbato de sodio 0 40,32	Ascorbato de sodio	0	40,32
Ácido benzoico 35,85 0	Ácido benzoico	35,85	0
Benceno 0 19,43	Benceno	0	19,43
Dióxido de carbono 0 10,95	Dióxido de carbono	0	10,95
Total 107,55 107,55	Total	107,55	107,55

Tabla 49. Entradas y salidas finales del reactor Batch

Fuente. Elaboración propia

4.1.3.1 Dimensionamiento del reactor Batch. En este caso como se trata de un proceso a partir de un reactor tipo Batch, el ácido ascórbico y la bebida gaseosa carbonatada vencida se deben mezclar garantizando que sean los más homogénea posible donde los compuestos proceden de distintas corrientes. La densidad de la mezcla es de 41,30 m³ equivalente a los volúmenes mezclados de la gaseosa carbonatada vencida, el ácido ascórbico y benzoato de sodio como se muestra a continuación.

Ecuación 72. Volumen total de reactor Batch $V = 4163953L = 41639m^3$ $V = 41.639 m^3 + 0.02173 m^3$ $V = 41.66 m^3$

Fuente. Elaboración propia

Debido a que es un reactor Batch cuenta con un agitador, por lo tanto el reactor no debe estar totalmente lleno debido a que el fluido cuando empieza a ser agitado genera un vórtice que ocasiona que en el centro el nivel del líquido se acorte y alrededor de las paredes donde acrecienta su altura. Por ello se necesita un sobredimensionamiento el 15% del volumen total con el fin de que no se produzca perdida de flujo o que la presión puede destrozar el mezclador. A continuación presentaremos los cálculos del sobre dimensionamiento del reactor Batch.

Ecuación 73. Volumen mínimo del reactor Batch

$$V_{R.Batch,Min} = \frac{V_{Mezcla}}{(1-0,15)} = 49,0132 \ m^3$$

Dónde:

 $V_{R.Batch,Min}$: Volumen mínimo del reactor Batch (m^3) V_{Mezcla} : Volumen de la mezcla en el reactor (m^3)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Debido a que se halla el valor mínimo del volumen del reactor se calcula las dimensiones del mismo y estará orientado en la parte cilíndrica del reactor teniendo en cuenta la siguiente ecuación.

Ecuación 74. Volumen final del reactor

$$V_{R.Batch,} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

Y como la relación entre altura (H) y diámetro (D).

$$\frac{H}{D} = 2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Por ello procedemos a calcular el diámetro:

Ecuación 75. Diámetro de reactor Batch

$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * V_{R.Batch}}{2 * \pi}}$$

D = 3,1482 m

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Y la altura del reactor será.

$$H = 6,296 m$$

182

Finalmente se halla los valores y el dimensionamiento del cuerpo cilíndrico del reactor, se procede a normalizar las medidas para que sean más económicamente viables y de fácil obtención, siendo para el diámetro 3,1482 m y la altura 6,296 m. estas medidas se presentan a continuación.

$$H = 6,3 m$$
 $D = 3,2 m$

A partir del dimensionamiento del reactor y las medidas estándar se vuelve a calcular el volumen del reactor, siendo este el volumen real al cual se diseñara.

Ecuación 76. Volumen real del reactor Batch

$$V_{REAL R.Batch} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$
$$V_{REAL R.Batch} = 50,667 m^3$$

Dónde:

 $V_{REAL R.CSTR}$: Volumen real del reactor (m^3) .

D: Diámetro del tanque (m).

H: Altura del tanque (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Luego se calcula el porcentaje de llenado de la mezcla en el reactor de la siguiente forma.

Ecuación 77. Volumen ocupado en el reactor Batch

$$\%V_{ocupado} = \frac{\frac{V_{Mezcla}}{\# tanques}}{V_{RFAL R Ratch}} * 100 = 82,22\%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Después calcular el volumen calculado en el reactor Batch se procede a calcular el espesor.

Ecuación 78. Espesor del reactor Batch

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 3.748 E^{-4}m = 3.748mm$$

Dónde:

P_d. Presión De Diseño (atm) *S*: Tensión Máxima Admisible (Psi) *E*: Factor De Soldadura (0,85) *C*₁: Sobreeespesor De Corrosión (mm) *C*₂: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Agitación. Debido a que se trata un reactor tipo Batch donde su composición permanece en estado líquido, posee un sistema de agitación que mantenga su contenido homogeneizado. Los principales tipos de agitadores que se utilizan en la industria son mostrados en la figura 22.





Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Se selecciona el agitador de turbina porque es el más acertado para nuestra mezcla y labora en un extenso rango de viscosidad, además es más beneficioso trabajar en una mezcla homogénea. El agitador de turbina trabaja entre 50-350 rpm y puede tener de 4-14 palas de mezcla. Para ello decidimos trabajar 320 rpm con 6 palas de mezcla, además que se colocan 4 placas deflectoras, siendo un valor estándar y ello prescinde posibles deformaciones.

Luego de escoger el agitador procedemos a calcular sus dimensiones teniendo en cuenta las relaciones geométricas de la figura 23 presentada a continuación.

Figura 23. Agitador de turbina



Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/ 148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 79. Relaciones geométricas

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{J}{D_t} = \frac{1}{12}$$
$$\frac{E}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5}$$
$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4}$$

Dónde:

*D*_a: Diámetro del agitador (m).

Dt: Diámetro interno del reactor (m).

J: Ancho de las placas deflectoras (m).

E: Altura desde la turbina hasta el fondo del reactor (m).

W: Altura de las palas de la turbina (m).

L: Ancho de las palas de la turbina (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd Se reemplazan los valores en las relaciones para el dimensionamiento del agitador de turbina.

$$D_a = 1,0666 m$$

$$J = 0,2666 m$$

$$E = 1,0666 m$$

$$W = 0,21333 m$$

$$L = 0,2666 m$$

A continuación se calcula el número de Reynolds.

Ecuación 80. Número de Reynolds

$$Re = \frac{\rho * n * D_a^3}{\mu}$$
$$Re = 77809.4$$

Dónde:

Re: Número de Reynolds ρ : Densidad de la mezcla (Kg/m3) *n*: Revoluciones del agitador, 320rpm (5.333 rps) *D_a*: Diámetro del agitador (m) μ : Viscosidad de la mezcla (Kg/m.s)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

Con un valor hallado de 77809,4 de Reynolds, el cual es régimen turbulento se puede hallar el valor de potencia gráficamente mediante la figura 24.



Figura 24. Grafica de número de potencia en función de Reynolds

Fuente. Manual James R. Couper [and Others. *Chemical process equipment - selection and design (revised 2nd edition).* Rev. 2nd ed. ed. US: Gulf Professional Publishing; 2012

El tipo de agitador corresponde a la curva de la figura 24, donde muestra que el Reynolds es mayor a 10⁴, considerándose un valor constante de Np=5, por ello se procede a calcular la potencia del agitador a partir de la siguiente forma.

Ecuación 81. Número de Reynolds

$$P = \frac{\operatorname{Np} * D_a{}^5 * n^3 * \rho}{g}$$
$$P = 109181,519 Kw$$

Dónde:

P: Potencia del agitador (kW)

 D_a : Diámetro del agitador (m)

n: Revoluciones del agitador, 320 rpm (5.333rps)

- ρ: Densidad de la mezcla (Kg/m3)
- g: Aceleración de la gravedad (m/s2)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd **4.1.3.2 Requerimientos técnicos del Reactor Batch.** Para diseñar el reactor Batch se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones de los compuesto, por ello se elige el acero inoxidable AISI 316L donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 19, un material que ofrece unas propiedades perfectas para la reacción entre la bebida gaseosa carbonatada vencida y el ácido ascórbico. Sus costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 44 se presenta las características específicas del material.

	-
MATERIAL	AISI 316L
Composición	17Cr-12Ni
Densidad (δ)	Spec No: SA-240 7936 kg/m ³
Tensión Máxima Admisible(S)	85000 Psi
Módulo De Elasticidad (E)	193 GPa
Sobreeespesor De Corrosión (C1)	0,001 mm
Sobreeespesor Por Fabricación (C2)	0,0018 mm

Tabla 50. Características específicas del AISI

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pearson Educación; 2006.pag 46-48

Cabe resaltar que para establecer los requerimientos técnicos del reactor Batch se retoma la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

Presión de diseño. Como parámetro de seguridad la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la presión de diseño.

Ecuación 82. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Temperatura de diseño. El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe quedar a 110 C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la temperatura de diseño.

Ecuación 83. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \ {}^{\underline{o}}C$$
$$T_d = 130 \ {}^{\underline{o}}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Cabe reiterar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación del reactor. Con estos datos se procede a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 84. Presión teórica de diseño

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{Di}{2}\right)^{2}} = 5,351 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 53866,79 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0.5316 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 85. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,5316 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 86. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,9113 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.3.3 Balance de energía del reactor Batch. El balance de energía se realiza con el fin de saber cuánto calor requiere el reactor para llegar a la temperatura de reacción del benzoato de sodio con el ácido ascórbico. Al no saber la capacidad calorífica de la mezcla y sabiendo que la bebida gaseosa carbonatada vencida tiene un 85% de agua aproximadamente, se decide tomar un Cp de 4,1813 KJ/kg^ok correspondiente al del agua. A continuación se calcula el calor requerido.

Ecuación 87. Balance térmico

$$Q = mCp\Delta T$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Dónde:

0: Calor Absorbido *m*: Masa de la mezcla. Cp: Capacidad calorífica del agua ΔT : Delta de temperatura

$$Q = 49,967 \ kg * 4,1813 \ \frac{Kj}{kg \ ^{\circ}C} * (110 - 19) \ ^{\circ}C = 19012,35 \ KJ$$

La energía requerida para que el reactor pueda llegar a la temperatura de reacción del benzoato de sodio con el ácido ascórbico es de 19012,35 KJ.

4.1.4 Filtro. Es un equipo cuya finalidad es retener todos los subproductos restantes de la mezcla procedente del reactor Batch, separando el producto reaccionado de las impurezas que se generan después de la reacción en el reactor Batch. Por ello se emplea el filtro con cartuchos ZTEC WB que utilizan una membrana asimétrica de polietersulfona (PES), que proporciona una eliminación consistente de los organismos en deterioro y partículas inorgánicas.

En la figura 25 se muestra el filtro con sus flujos de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.





Fuente. Elaboración propia

A continuación se presentas las especificaciones de acuerdo a los datos de la ficha técnica referenciados en el anexo 20. En la tabla 51 se muestra las especificaciones técnicas del producto empleado en el filtro.

Base interna, casquillos de extremo, capas de soporte y jaula	Polipropileno	
luntas/O anillas	Buna-N, EPDM, silicona, Viton teflón	
Juntas/O-aninos	encapsulada(solamente O-anillos)	
Clasificaciones del tamaño de poro	0.2. 0.45 y 0.65 µm	
Longitudes nominales	24.8, 25.4, 50.8, 76.2, 101.6 cm	
Diámetro externo	6.9 cm	
Diámetro interno	2.54 cm	
Área superficial	0.7 m ² por cada 25.4 cm de elemento	

Tabla 51. Especificaciones técnicas y de dimensiones del producto del filtro

Fuente. Catalogo Graver Technologies " ZTEC[™] WB Series Filter Cartridges" PleatedPolyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications paginas1-2 © 2017 Graver Technologies, LLC

En la figura 26 se muestra el material de filtración utilizado por el equipo.

Figura 26. Polipropileno



Fuente. Catalogo Graver Technologies " ZTEC™ WB Series Filter Cartridges" PleatedPolyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications paginas1-2 © 2017 Graver Technologies, LLC

Tabla 52. Parámetros de opresión del filtro

Temperatura máxima sostenida de operación	80 C a 1.38 bar			
Presión Diferencial máxima	2.8 bar @ 21 C y 4.14 bar @ 71 C			
Presión recomendada del Cambio- Salida	2.4 bar			

Fuente. CATALOGO GRAVER TECHNOLOGIES "ZTEC™ WB Series Filter Cartridges" PleatedPolyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications paginas1-2 © 2017 Graver Technologies, LLC

La membrana seleccionada es de 0,2 µm ajustada netamente el tamaño de los poros de proceso, seleccionado por los criterios y recomendaciones que se presenta en las especificaciones de rendimiento que se presentan en la tabla 47.

Tipo de filtro	ZTEC WB SERIES			
Rango de retención (µm)	0.2			
Longitud nominal (cm)	101.6 (-40'')			
Configuración final	propileno dieno			
Juntas o anillos	EPDM (caucho de etileno			
Opciones	QW (Rápido tratamiento húmedo)			

Tabla 53. Especificaciones de rendimiento

Fuente. Catalogo Graver Technologies "ZTEC[™] WB Series Filter Cartridges" PleatedPolyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications paginas1-2 © 2017 Graver Technologies, LLC

4.1.4.1 Recomendaciones de rendimiento. El cartucho del filtro soportara temperaturas de 85 C hasta por 30 minutos consecutivos. Para la limpieza y desinfección la mayoría de agentes químicos son compatibles tanto para la esterilización, higienización y con pH desde 1-14 yos cartuchos pueden ser esterilizados en autoclave por al menos de 30 a 50 min a 135 C.

Se selecciona el material de EPDM, material termo polímero que no solo tiene buena resistencia a la abrasión y desgate sino que también tiene buenas propiedades de aislamiento eléctrico y buena resistencia a agentes de ácidos y álcalis. La temperatura que trabaja esta entre -40 y 140 C., por ello es un material que se acopla a todo lo que se necesita en el proceso y permitiendo que se trabaje una filtración de manera eficiente y sin contratiempos.

4.1.4.2 Balance de materia para el filtro. La finalidad de realizar este balance es determinar la cantidad de subproducto que se retira de la mezcla saliente del reactor Batch como representamos en el siguiente cálculo.

Ecuación 88. Balance de materia para el filtro

m Mezcla R CSTR=*m*Subproductos +*m* Ácido Ascórbico

*m*Subproductos = 42,4742kg - 6,3638 kg

mSubproductos = 36,11 kg

Fuente. Elaboración propia

4.1.5 Tanque de almacenamiento del producto después de la reacción. Se usa para almacenar el producto proveniente de la reacción que se produce en el reactor Batch. Las condiciones de diseño del tanque se realizan de acuerdo a los criterios y metodologías utilizadas en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

En la figura 27 se muestra el tanque de almacenamiento del producto después de la reacción, con su flujo de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.



Figura 27. Tanque de almacenamiento del producto después de su reacción

Fuente. Elaboración propia

4.1.5.1 Dimensionamiento del tanque almacenamiento del producto después de su reacción. Siempre se recomienda tener en cuenta el tipo de compuesto que se va a almacenar en los tanques, para la este producto se debe mantener una temperatura ambiente de aproximadamente 16°C. A continuación se procede a dimensionar el tanque.

Como se trata de dimensionar un tanque a condiciones del producto partimos de un volumen a las condiciones inicio del proceso, añadiendo el volumen del ácido ascórbico que ingresan al reactor para su posterior reacción. A continuación procedemos a dimensionar el tanque como se presenta a continuación.

➢ Volumen del producto. Partiendo de un volumen equivalente al contenido de la reacción en el reactor Batch, se amplía tres veces dicho valor con el fin de mantener un proceso continuo y a su vez tener una extensa reserva de la materia prima. El volumen a emplear es de 83279,053 L y la base de cálculo para el tanque de almacenamiento del producto después de la reacción se muestra en el anexo 25. Ecuación 89. Volumen del producto

$$V = 83279,053 L = 83,27905 m^3$$

Fuente. Elaboración propia

Sobredimensionamiento. Se recomienda para los tanques se deben tener un 20 % más de su llenado límite lo cual las dimensiones se calculan como.

Ecuación 90. Sobredimensionamiento del tanque

$$V_s = V * 1,2$$

 $V_s = 99,9348 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Como parámetro a resaltar del tanque, debe tener un 75% de su llenado máximo lo cual las dimensiones de los tanques se calcula como.

Ecuación 91. Diámetro Interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

 $V_t = \pi * r^2 * h$
 $r = 2,388 m$
 $D_i = 2r = 4,776 m$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 92. Altura del cilindro

$$h = 8,358 * D_i = 4,776 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 93. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h$$

 $V_c = 149,734 m^3$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque. *h*: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 94. Ocupación de producto después de su reacción

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{V_c} * 100 = 55,61\%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 95. Espesor del tanque del producto después de su reacción

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 4,175E^{-3}m = 4,175mm$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)

S: Tensión Máxima Admisible (Psi)

E: Factor De Soldadura (0,85)

C1: Sobreeespesor De Corrosión (mm)

 C_2 : Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.5.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento del producto después de su reacción. Para diseñar el tanque se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones del compuesto, por ello elegimos el acero inoxidable AISI 304 donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 18, ofreciendo unas propiedades perfectas para el almacenamiento del producto después de reaccionar en el reactor Batch. Los costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 48 se muestra las características y las específicas del material.

Tabla 54. Características e	específicas	del AISI
-----------------------------	-------------	----------

MATERIAL	AISI 304
Composición	18Cr-8NiSpec No: SA-240
Densidad (δ)	7930 kg/m ³
Tensión Máxima Admisible(S)	85000 Psi
Módulo De Elasticidad (E)	200 GPa
Sobreeespesor De Corrosión (C1)	0,001 mm
Sobreeespesor Por Fabricación (C2)	0,0018 mm

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pearson Educación;2006., pag .46-48

Cabe resaltar que para establecer los requerimientos técnicos del tanque retomamos la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

➢ Presión de diseño. Como parámetro de seguridad la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la presión de diseño.

Ecuación 96. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

➤ Temperatura de diseño: El parámetro de seguridad en relación a la temperatura es de 19 C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la temperatura de diseño.

Ecuación 97. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \ {}^{\circ}C = 39 \ {}^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Cabe resaltar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación del tanque. Con ello se procede a calcula la presión del compuesto a emplear. Ecuación 98. Presión del compuesto

$$h_1 = \frac{\frac{V}{\# \text{ tanques}}}{\pi * \left(\frac{D_i}{2}\right)^2} = 4,648 \text{ m}$$
$$\Delta P = \delta * g * h_1 = 46782,3988 \frac{kg}{m * s^2}$$
$$\Delta P = 0.4617 \text{ atm}$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 99. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,4617 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 100. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,8309 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.6 Torre de destilación para la concentración de azúcares. Este equipo utiliza una técnica de separación que permite dividir las mezclas de compuestos que tienen diferente punto de ebullición. Se debe llevar la mezcla hasta el punto de ebullición donde el vapor entra en equilibrio con el líquido que se acumula del componente volátil. El diseño de la torre se compone de un rehervidor y condensador.

El rehervidor tiene la función de transferir calor al líquido que emerge de la etapa de equilibrio que corresponde a las fondos de la columna para vaporizarla parcialmente, de manera que este vapor se recircula a la columna manteniendo un flujo ascendente. El condensador enfría el vapor y mejora la eficiencia de la destilación, el líquido resultante se divide en dos fracciones, una es el producto que se extrae por la parte superior de la torre y la otra parte llamada reflujo, vuelve a la columna y se mantiene descendente a través de la recirculación. De esta manera se obtiene el contacto necesario con la fase de vapor que asciende.

Con la simple operación de unidad de separación no conlleva a la pureza deseada de un producto determinado por lo que se realiza una operación en múltiples etapas de equilibrio. El aumento de las etapas de equilibrio hace que la pureza del componente sea mayor aunque se obtenga en cantidades pequeñas.

En la figura 28 se muestra el esquema de la torre de destilación multicomponente.



Figura 28. Torre de destilación

Fuente. Elaboración propia

La torre de destilación multicomponente empleada, pretende principalmente concentrar los azúcares presentes en la bebida gaseosa carbonatada vencida y separar la cantidad de benceno que se genera a partir de la reacción del benzoato de sodio y el ácido ascórbico en el reactor Batch, acondicionando el sustrato que se utiliza en el proceso de fermentación en el bioreactor.

4.1.6.1 Tipos de platos. Las columnas de destilación pueden ser de platos o empacadas, cuyo objetivo es favorecer el contacto entre las fases líquido y vapor. Los tipos más comunes de columnas de platos son los de orificios (sieve), los de válvula (valve) y los circulares (bubble cap). A continuación se presenta los tipos de platos que se muestran en la figura 29.

Figura 29. Tipos de platos



Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https:/.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

Los platos tienen la capacidad de tratar grandes cantidades de líquido y vapor sin problemas de arrastre excesivo de líquido. También es relevante que la caída de la presión de un plato no sea muy alta y la instalación de estos no sea complicada. El número de platos viene determinado por la operación de la separación, al aumentar la cantidad de platos en la torre aumenta la concentración del producto deseado y mejora la eficiencia. El tipo de plato más utilizado es el plato de orificios debido a su buen rendimiento, funcionamiento y bajo costo.

4.1.6.2 Simulación de la torre de destilación. Para el diseño de la torre empleamos el simulador de procesos químicos aspen plus para obtener un diseño funcional aproximado con método corto y método riguroso.

4.1.6.3 Método cortó. Las condiciones que se introducen para el diseño, son las fracciones molares de os componentes clave pesado en el destilado correspondiente a 0,98 y del componente clave ligero en el residuo es de 0,333, con una presión de 1,01325 como se muestra en la figura 30.

Specific	ications	Calculation (Options	Co	nvergence	Information		
Column Numl Reflux	specificat ber of stag (ratio	ions jes 5	2		Pressure — Condenser Reboiler	1,01325 1,01325	bar bar	•
Key com Light key	ponent re /	coveries —			Condenser Total co	specifications ndenser		
Comp	BENZEN	IE	-		Partial c	ondenser with	all	
Recov	0,98				Partial c	ondoncor with	Vapor	
Heavy ke	⊧y				and liqu	id distillate	vapor	
Comp	WATER		-		Distillate va	por fraction	0	
Recov	0,333							

Figura 30. Datos iniciales del método cortó

Fuente. Elaboración propia

Al correr la simulación con los componentes y los datos iniciales, el programa arroja las condiciones para el diseño de la columna. En la tabla 55 se muestra los resultados obtenidos.

Cociente de reflujo mínimo (rmin)	0,1
Cociente actual real del reflujo (r)	0,157955833
Número mínimo de etapas	1,2036417
Total de etapas	5
Etapa de alimentación	2,21027809
Numero de etapas por encima de la alimentación	1,21027809
Calor del rehervidor requerido	177973,768 cal/sec
Enfriamiento del condensador requerido	132496,959 cal/sec
Temperatura del destilado	-2,51588 C
Temperatura del fondo	100,6532 C
Fracción destilada alimentada	0,31616

Tabla 55. Datos obtenidos del método cortó

Fuente. Elaboración propia

Para el diseño de la torre de destilación por el método corto, se necesita mínimo 2 platos, un número óptimo de platos de 5 y la entrada del flujo en la etapa 2. La temperatura de refrigeración del vapor de condensador de -2,51 °C y una temperatura para calentar el líquido en el rehevidor de 100,65 °C. Con los datos obtenidos en el método corto se procede a simular la torre de destilación por el método riguroso.

4.1.6.4 Método de fraccionamiento riguroso. Se procede a realizar el método de fraccionamiento riguroso en aspen plus, por ello debemos definir el caudal de entrada, la composición de cada componente, además de la temperatura y presión. A continuación se muestra las condiciones iniciales en la figura 31.

lash Type	Temperature	 Pressure 		Com	position	
- State variables				Mol	e-Frac 🔹	
Temperature	20	С	•		Component	Value
Pressure	1	atm	•	-	BENZENE	0,01
Vapor fraction				•	WATER	0.92
Total flow basis	Mole	-		-	SUCROSE	0.07
Total flow rate	120	kmol/hr	•	-	SOCIOSE	0,01

Figura 31. Especificaciones iniciales del Alimento

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la simulación, lo más óptimo para que converja la columna en el proceso son 5 etapas, donde el componente clave ligero es el benceno y el componente clave pesado es el agua respectivamente. Una vez definidas todas las condiciones anteriores se procede al diseñar la columna.

Después de correr la simulación en el programa se obtiene las condiciones finales de operación que se muestran en la tabla 56.

	Alimento	Destilado	Fondos
Benceno	1,2	1,2	7,89E-17
Agua	110,4	67,8	42,6
Sacarosa	8,4	1,76E-17	8,4
Total Flujo kmol/hr	120	69	51
Total Flujo kg/hr	4957,944	1315,172	3642,772
Total Flujo I/min	66,99	21,573	46,862
Temperatura C	20	81,615	100,653
Presión bar	1,01325	1,0132	1,013
Fracción de vapor	0	0	0
Fracción de liquido	1	1	1
Fracción de solido	0	0	0
Entalpia cal/mol	-96429,06	-67296,73	-133670
Entropía cal/mol-K	-65,646	-40,908	-92,869
Densidad mol/cc	0,029	0,0533	0,0181
Liq Vol 60F I/min	66,627	22,166	44,460
Entalpia molar CAL/MOL	-96429,06	-67296,73	-133670
Entalpia másica CAL/GM	-2333,929	-3530,696	-1871,424
Flujo entalpia CAL/SEC	-3214300	-1289900	-1893700
Entropía molar CAL/MOL-K	-65,646	-40,908	-92,869
Entropía másica CAL/GM-K	-1,588	-2,146	-1,3
Densidad molar MOL/CC	0,0298	0,053	0,0181

Tabla 56. Condiciones finales de operación total

Fuente. Elaboración propia

Se obtienen las composiciones de los componentes en cada corriente, como se muestra en la tabla 57 que se muestra a continuación.

Tabla 31. Composiciones resultantes de la destilación para cada caddal					
Componente	Alimento	Destilado	Fondos		
Benceno	0,01	1	0		
Agua	0,92	0,614	0,385		
Sacarosa	0,07	0	1		

Tabla 57. Composiciones resultantes de la destilación para cada caudal

Fuente. Elaboración propia

Finalmente, se obtiene una columna de 5 etapas de equilibrio, donde la etapa de alimento es la 2, separando el benceno del agua y la sacarosa y así poder adecuar el sustrato para el proceso de fermentación.

4.1.6.5 Dimensionamiento de la torre de destilación para la concentración de azúcares. Para el dimensionamiento de la torre de destilación, lo primero que se calcula es la correlación de inundación por arrastre de Fair de flujo cruzado.

Obtenidos los datos anteriores de la simulación por aspen plus se procede a realizar el dimensionamiento de la columna. Se calcula el diámetro de la columna de destilación mediante correlaciones empíricas de la figura 30, para ello primero se debe encontrar el valor del eje x de las abscisas calculándolo de la siguiente manera. La base de cálculo para la torre de destilación se muestra en el anexo 26.

Ecuación 101. Correlación de inundación

$$\frac{L}{G} \left(\frac{\rho G}{\rho L}\right)^{0.5} = 2,452$$

Dónde:

L: Caudal del líquido en la torre (lb/h). *G*: Caudal del gas en la torre (lb/h). ρ G: Densidad del gas (lb/pie³). ρ L : Densidad del líquido (lb/pie3).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Mediante la simulación se obtiene los caudales de líquido y gas, por lo tanto se determina L y G en las unidades correspondientes se calcula a continuación.

$$G = 2899,954 \ lb/h$$
$$L = 8032,312 \frac{lb}{h}$$

Se obtiene el valor de la abscisa de 2,452. A continuación se procede a seleccionar el espaciamiento entre platos en función de su mantenimiento, instalación y su costo. En la figura 32 se presenta los valores recomendados.

Figura 32. Condiciones y dimensiones generales recomendadas para las distancia de los platos.

1. Espaciamiento de los platos				
Diámetro d	e la torre, T	Espacia	miento de la torre, #	
m	ft	m	in	
		0.15	6 mínimo	
1 menos	4 menos	0.50	20	
1-3	4-10	0.60	24	
3-4	10-12	0.75	30	
4-8	12-24	0.90	36	

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Por lo tanto, se selecciona un espaciamiento entre platos de 24 in, distancia apropiada donde una persona pueda entrar a la torre para hacer el respectivo mantenimiento.

Después de calculada la correlación de inundación se procede a tomar el dato de del Kv' en la gráfica 36 que se muestra a continuación.





Fuente: Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/ 148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Luego se situar los valores en la gráfica de 48 y se obtiene un valor de Kv' correspondiente a 0.27. Cabe resaltar que la torre tiene suficiente sección transversal para manejar un vapor ascendente sin el transporte excesivo de líquido. La velocidad de vapor se calcula de la siguiente manera.

Ecuación 102. Velocidad máxima permisible del vapor en área activa

$$Vm' = Kv' \left(\frac{\rho L - \rho G}{\rho G}\right)^{0.5} \left(\frac{\sigma}{20}\right)^{0.2}$$
$$Vm' = 0,152324 \frac{pie}{s}$$

Dónde:

V'm: Velocidad máxima permisible para el vapor considerando el área activa de burbujeo del plato (Aa) y el área de vertedero (Ad) (pie/s).

K'V: Constante empírica obtenida por la *Figura 31* con error del ±10%.

 ρ G: Densidad del gas (lb/pie3).

- ρL: Densidad del líquido (lb/pie3).
- σ: Tensión superficial (Aspen plus: 28.8 dyn/cm).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

En el diseño real de la columna se utilizan valores menores de velocidad de operación. Para líquidos que no producen espuma, se utilizan un valor entre 80 y 85 % Vm'. Se elige un valor de 80 % para obtener un valor de V presentado a continuación:

$$V = 0,121859 \frac{pie}{s}$$

A continuación se calcula la sección transversal neta (A_n) que se utilizara en el cálculo del diámetro

Ecuación 103. Sección transversal neta

$$A_n = \frac{Wv}{V * \rho G} cc$$
$$A_n == 106,61997 \ pie^2$$

Dónde:

An: Sección transversal neta (pie2). *W_v*: Caudal másico del gas (lb/s). *V*: Velocidad de operación (pie/s). ρ G: Densidad del gas (lb/pie3).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

También es necesario calcular la sección transversal de la columna (A_t), teniendo en cuenta la aproximación: A_d = 10 -12% de A_t . Se decide un valor de 11%. Por lo tanto se calcula de la siguiente manera.

Ecuación 104. Área sección transversal

$$A_n = A_T - A_d$$
$$A_T = \frac{A_n}{0.89}$$
$$A_T = 119,7977 \ pie^2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Luego se procede a calcular el diámetro a partir del siguiente calculo.

Ecuación 105. Diámetro de la columna

$$D = \left(\frac{4 * A_T}{\pi}\right)^{0.5}$$

D = 12,35 pie = 3,7648 m

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Para el cálculo de la altura de la torre se hace el siguiente cálculo.

Ecuación 106. Altura de la torre de destilación

$$h = 24 in * N_{Platos}$$

 $h = 120 in = 3,048 m$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Para calcular el espesor del cilindro se utiliza la figura 33, donde se hace el respectivo cálculo que se muestra a continuación.



Figura 33. Espesor para el cilindro según ASME

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en:https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.p

Ecuación 107. Espesor de la columna de destilación

$$\tau_{c} = \frac{P_{c} * R_{int,c}}{S * E - 0.6 * P_{c}} + C.A$$

$$\tau_{c} = 8,672986 mm$$

Dónde:

 τ_c : Espesor de la columna (mm) P_c :Presion de la columna (atm) $R_{int,c}$: Radio de la columna (mm) S: Esfuerzo del material (bar) E: Factor De Soldadura (0,85) C.A: Tolerancia de corrosión (1 mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.6.6 Requerimientos técnicos de la torre de destilación para la concentración de azúcares. Para diseñar la columna se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones de nuestro compuesto, por ello elegimos el acero inoxidable AISI 316L donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 19, este material ofrece unas buenas propiedades ante la corrosión. En la tabla 58 se presenta las características específicas.

MATERIAL	AISI 316L			
Composición	17Cr-12Ni			
Densidad (δ)	Spec No: SA-240 7936 kg/m ³			
Tensión máxima admisible(S)	85000 Psi			
Módulo de elasticidad (E)	193 GPa			
Sobre espesor de corrosión (C1)	0.001 mm			
Sobre espesor por fabricación (C2)	0.0018 mm			
Tolerancia de corrosion (C.A)	1 mm			

Tabla 58. Características específicas del AISI

Fuente. MOTT RL. Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.). Naucalpan de Juárez: Pearson Educación;2006., pag.46-48

Debido a las condiciones de operación de la columna, se ha seleccionado un plato perforado con la finalidad de tener un funcionamiento estable en la columna. A continuación detallaremos las características generales del plato.

Plato perforado (Sieve tray). Su función es suministrar una mezcla óptima entre corrientes de líquido y vapor. Este tiene que poseer la capacidad de tratar cantidades adecuadas de líquido y vapor sin inundación, que resulte relativamente simple en cuanto a la instalación, mantenimiento y funcionamiento estable, además que es importante que la caída de presión en el plato sea mínima. Se escogió un plato perforado mostrado en la figura 34 ya que su construcción es más. sencilla, requiriendo la perforación de pequeños agujeros en la bandeja.



Figura 34. Plato perforado (sieve tray)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/ 2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf Para determinar el material adecuado para los platos, se tiene en cuenta las propiedades del fluido, ya que la corriente en su mayoría contiene azúcares. Se requiere un material levemente resistente por lo que se selecciona el acero inoxidable 316 L. Para ello es importante conocer su temperatura y presión.

> **Presión de diseño.** Para calcular esta presión se realizan los siguientes cálculos y se seleccionara el valor de presión más alto.

Ecuación 108. Presión de diseño

$$P_{diseno,1} = P_{operacion} * 1,1$$

 $P_{diseno,2} = P_{operacion} + 1 bar$

Dónde:

Poperación: 1,01325 bar

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$P_{diseño 1} = 1,114575 \ bar$$

 $P_{diseño 2} = 2,01325 \ bar$

La presión de diseño 2 es mayor por lo que se escoge una presión de 2,01325bar.

Temperatura de diseño. Se establece de 20 C por encima de la temperatura de operación de la columna. Esta posee dos temperaturas, la parte superior (81,61 C) y la parte inferior (100,65 C). A continuación presentaremos el cálculo de temperatura.

Ecuación 109. Temperatura de diseño

 $T_{diseno,sup} = T_{operacion} + 20 C$ $T_{diseno,inf} = T_{operacion} + 20 C$

Dónde:

T_{operacion}: Temperatura de operación de cada parte de la columna.

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$T_{diseno,sup} = 101,6154 \ ^{\circ}C$$
$$T_{diseno,inf} = 120,6532 \ ^{\circ}C$$

Se selecciona la temperatura mayor de diseño que es 120,6532 °C que es igual a 249.7 °F. Por lo que corresponde a que el esfuerzo del material tiene un valor de 1082,48 bar según la figura 35 que se muestra a continuación.

	MAXIMUM ALLOWABLE STRESS VALUES IN TENSION FOR HIGH-ALLOY STEEL (CAUTION: See UW-12 for vessels constructed under part UW													
Specif	fication				Max	kimum Allov f	vable Stres or Metal Te	s, ksi (Mult mp., °F, No	iply by 100 ot Exceedin	0 to Obtain Ig	psi),			
Number	Grade	-20 to 100	200	300	400	500	600	650	700	750	800	850	900	950
SA-240	304	18,8	17,8	16,6	16,2	15,9	15,9	15,9	15,9	15,5	15,2	14,9	14,7	14,4
SA-240 SA-240 SA-240	304L 316	15,7 18,8 15,7	15,7 18,8 15,7	15,3 18,4 15,7	14,7 18,1 15.5	14,4 18,0 14 4	14 17,0 13.5	13,7 16,7 13,2	13,5 16,3 12.9	13,3 16,1 12.6	13 15,9 12.4	15,7	15,5	15,4

Figura 35. Tensić	ón admisible er	n función de la	temperatura de	l acero inoxidable
-------------------	-----------------	-----------------	----------------	--------------------

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.6.7 Balance de energía para la torre de destilación. Para el cálculo del balance de energía general de la torre, se obtuvieron por medio de la simulación de aspen plus donde se indica la cantidad de calor requerido en el destilado y el rehervidor donde se muestras los resultados obtenidos en la figura 36 y 37.

Figura 36. Valores de rendimiento del calor del condensador

-Ce	Condenser / Top stage performance				
		Name	Value	Units	*
	ŀ	Temperature	-0,60048	с	Ξ
>		Subcooled temperature			
>		Heat duty	-9,26417e+06	cal/sec	
		Subcooled duty			-

Fuente. Elaboración propia

Figura 37. Valor de rendimiento del calor del rehervidor

Reb	oiler / Bottom stage performance			
	Name	Value	Units	*
	Temperature	100,653	с	
	Heat duty	9,29496e+06	cal/sec	-
	Bottoms rate	51	kmol/hr	ш
×	Boilup rate	3441,29	kmol/hr	Ŧ

Fuente. Elaboración propia

En el condensador se debe utilizar un liquida refrigerantes para retirar calor del flujo del destilado que debe estar a una temperatura de -0,6 °C, retirando 9,264*10⁶ cal/seg para que el vapor se pueda condensar. El rehervidor debe calentar el flujo de los fondos a una temperatura de 100,653 °C, añadiendo 9,294*10⁶ cal/seg para que el líquido se pueda evaporar.

4.1.7 Tanque de almacenamiento del destilado. Se usa para almacenar el producto obtenido a partir de la concentración de los azúcares presentes en las bebidas gaseosas carbonatadas de la torre de destilación. Las condiciones de diseño del tanque se realizan de acuerdo a los criterios y metodologías utilizadas en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

En la figura 38 se muestra el tanque de almacenamiento del destilado con su flujo de entrada y salida debidamente numeradas y etiquetadas según el proceso.





Fuente. Elaboración propia

4.1.7.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento del destilado. Siempre se recomienda tener en cuenta el tipo de compuesto que se va a almacenar en los tanques ya que este producto se debe mantener una temperatura ambiente de aproximadamente 19 C. A continuación se procede a dimensionar el tanque.

➢ Volumen. Como se trata de dimensionar un tanque a condiciones del producto destilado, se parte de un volumen equivalente a tres veces la capacidad de almacenamiento del reactor Batch para el proceso de fermentación. La base de cálculo para el tanque de almacenamiento del destilado se muestra en el anexo 27. Ecuación 110. Volumen del destilado

$$V = 83279,053 L = 83,27905 m^3$$

Fuente. Elaboración propia

Sobredimensionamiento. Se recomienda que los tanques deben tener un 20 % más de su llenado limite lo cual las dimensiones de los tanques se calculan como.

Ecuación 111. Sobredimensionamiento del tanque del destilado

$$V_s = V * 1,2$$

 $V_s = 99,93 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

El parámetro a resaltar de los tanques, es que tiene que tener un 75% de su llenado máximo lo cual las dimensiones de los tanques se calcula como.

Ecuación 112. Diámetro interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

 $V_t = \pi * r^2 * h$
 $r = 2,388 m$
 $D_i = 2r = 4,776 m$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 113. Altura del cilindro

$$h = 8,358 * D_i = 4,776 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 114. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h$$
$$V_c = 149,734 m^3$$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.*h*: La altura del tanque.*Di*: Diámetro interno del tanque*Vc*: Volumen del cilindro

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 115. Ocupación del destilado en el tanque

$$\%V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\frac{V_c}{V_c}} * 100 = 55,61\%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 116. Espesor tel tanque del destilado

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 4.7763E^{-3}m = 4.7763 mm$$

Dónde:

 P_d : Presión de diseño (atm)

S: Tensión máxima admisible (Psi)

E: Factor de soldadura (0.85)

 C_1 : Sobreeespesor de corrosión (mm)

 C_2 : Sobreeespesor por fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.7.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento del destilado. Para diseñar el tanque se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones del compuesto, por ello elegimos el acero inoxidable AISI 304 donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 18, ofreciendo unas propiedades perfectas para el almacenamiento del producto. Los costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 53 se muestra las características y las específicas del material.

Tabla 59. Características	específicas	del AISI
---------------------------	-------------	----------

MATERIAL	AISI 304
Composición	18Cr-8Nin Spec No: SA-240
Densidad (δ)	7930 kg/m ³
Tensión Máxima Admisible(S)	85000 Psi
Módulo De Elasticidad (E)	200 GPa
Sobreeespesor De Corrosión (C1)	0.001 mm
Sobreeespesor Por Fabricación (C2)	0.0018 mm

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pearson Educación; 2006.pag 46-48

Cabe resaltar que para establecer los requerimientos técnicos del tanque se retoma la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

> Presión de diseño: Como parámetro de seguridad la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la presión de diseño.

Ecuación 117. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

➤ Temperatura de diseño: El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe estar a 19 C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallamos la temperatura de diseño.

Ecuación 118: Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \ ^{\circ}C = 39 \ ^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Cabe reiterar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación de los tanques. Con ello procederemos a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 119. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = 4,6471 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 50147,77 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,4949 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 120. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,4949 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 121. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,8691 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.8 Bioreactor Batch. Este bioreactor se caracteriza por trabajar con un volumen constante, donde no se presenta entrada de materia prima ni salida de producto, presentándose reacciones metabólicas por medio de un microrganismo para la obtención de un producto por lotes, acondicionando la temperatura agitación y la aireación durante el proceso. En la figura 39 se muestra el diagrama del reactor Batch.



Fuente. Elaboración propia

En este equipo se realiza el proceso de fermentación de la bebida gaseosa carbonatada vencida por medio de la levadura Saccharomyces cerevisiae para la obtención de bioetanol.

4.1.8.1 Dimensionamiento del bioreactor Batch. Para el dimensionamiento del bioreactor, se debe calcular la cantidad de volumen con el que se va a trabajar para el proceso de fermentación, contemplando el volumen del agitador. El volumen de la mezcla óptimo es la mitad de la capacidad del tanque de almacenamiento del destilado que equivale a 125,009 m³, con el fin de dejar una reserva de materia prima en caso percances en el proceso.

$$V = 41639,53 = 41,63953m^{3}$$
$$V = 41,63953m^{3} * 1,15$$
$$V = 47.88m^{3}$$

El bioreactor no debe estar totalmente lleno debido a que el fluido cuando empieza a ser agitado genera un vórtice que ocasiona que el nivel el líquido aumente en las paredes y pueda desbordársete. Por ello cabe reiterar que se necesita un sobredimensionamiento el 15% del volumen total con el fin de que no se produzca perdida de flujo. La base de cálculo para el bioreactor Batch se muestra en el anexo 28.

Ecuación 122. Volumen mínimo del bioreactor Batch

$$V_{R.Batch,Min} = \frac{V_{Mezcla}}{(1-0,15)} = 56,335 \ m^3$$

Dónde:

 $V_{R.Batch,Min}$: Volumen mínimo del bioreactor Batch (m^3) V_{Mezcla} : Volumen de la mezcla en el reactor (m^3)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Debido a que se halla el valor mínimo del volumen del bioreactor se procede a calcular las dimensiones que estará orientado en la parte cilíndrica del bioreactor.

Ecuación 123. Volumen del bioreactor Batch

$$V_{R.Batch} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

Y como la relación entre altura (H) y diámetro (D):

$$\frac{H}{D} = 2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Por ello se procede a calcular el diámetro.

Ecuación 124. Diámetro de bioreactor Batch

$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * V_{R.Batch}}{2 * \pi}}$$
$$D = 3,297 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Y la altura del bioreactor será.

$$H = 6,595 m$$

Se halla los valores e dimensionamiento del tanque cilíndrico del bioreactor, normalizando las medidas para que sean económicamente viables y de fácil obtención, siendo para el diámetro 3,297m y la altura 6,597m.

$$H = 6,6 m \quad D = 3,3 m$$

A partir del dimensionamiento del reactor y las medidas estándar se vuelve a calcular el volumen del reactor, siendo este el volumen real al cual se diseñara.

Ecuación 125. Volumen real del bioreactor Batch

$$V_{REAL R.Batch,} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$
$$V_{REAL R.CSTR,} = 56,369 m^3$$

Dónde:

 $V_{REAL, R, BATCH}$: Volumen real del bioreactor (m^3) .

D: Diámetro del tanque (m).

H: Altura del tanque (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Posteriormente se calcula el porcentaje de llenado de la mezcla en el bioreactor de la siguiente forma.
Ecuación 126. Volumen ocupado en el bioreactor Batch

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V_{Mezcla}}{\# tanques}}{V_{REAL R.CSTR,}} * 100 = 99,92\%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG VamIndustry v11.pdf

Ecuación 127. Espesor del bioreactor Batch

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 3.82443 E^{-3}m = -3.82443 mm$$

Dónde:

P_d: Presión de diseño (atm)

S: Tensión máxima admisible (Psi)

E: Factor de soldadura (0.85)

 C_1 : Sobreeespesor de corrosión (mm)

C₂: Sobreeespesor por fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Disponible Van industrv. ſEn líneal. en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG VamIndustry v11.pdf

> Agitación. Debido a que se trata un reactor tipo Batch donde sus componentes permanece en estado líquido de manera estacionaria, posee un sistema de agitación incorporado que mantenga su contenido homogeneizado. Los principales tipos de agitadores que se utilizan en la industria se muestran en la figura 40.



Figura 40. Tipos de agitadores

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Van industry. Disponible Asociación con [En línea]. en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Se selecciona el agitador de turbina ya que es el más adecuado para la mezcla y labora en un extenso rango de viscosidad, además es más beneficioso trabajar en una mezcla homogénea. El agitador de turbina trabaja entre 50-300 rpm y puede tener de 4-14 palas de mezcla. Para ello se decide a trabajar con 50 rpm con 6 palas.

Luego de escoger el agitador, se procede a calcular sus dimensiones teniendo en cuenta las relaciones geométricas de la figura 41 presentada a continuación.



Figura 41. Agitador de turbina



Ecuación 128. Relaciones geométricas

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{J}{D_t} = \frac{1}{12}$$
$$\frac{E}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5}$$
$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4}$$

Dónde:

Da: Diámetro del agitador (m).
Dt: Diámetro interno del reactor (m).
J: Ancho de las placas deflectoras (m).
E: Altura desde la turbina hasta el fondo del reactor (m).
W: Altura de las palas de la turbina (m).
L: Ancho de las palas de la turbina (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

Se reemplazan los valores en las relaciones para el dimensionamiento del bioreactor.

$$D_a = 1,5333 m$$

$$J = 0,3833 m$$

$$E = 1,5333 m$$

$$W = 0,30666 m$$

$$L = 0,383333 m$$

A continuación se calcula el número de Reynolds.

Ecuación 129. Número de Reynolds

$$Re = \frac{\rho * n * D_a^{3}}{\mu}$$
$$Re = 21977,49233$$

Dónde:

Re: Número de Reynolds
ρ: Densidad de la mezcla (Kg/m3) *n*: Revoluciones del agitador, 50rpm (0.8333 rps) *D_a*: Diámetro del agitador (m) *μ*: Viscosidad de la mezcla (Kg/m.s)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

Con un valor hallado de 21977,49233, el cual es régimen turbulento se puede hallar el valor de potencia gráficamente mediante la figura 42.



Figura 42. Grafica de número de potencia en función de Reynolds

Fuente. Manual James R. Couper [and Others. *Chemical process equipment - selection and design (revised 2nd edition).* Rev. 2nd ed. ed. US: Gulf Professional Publishing; 2012

El tipo de agitador corresponde a la curva de la figura 39, donde muestra que el Reynolds es mayor a 103, considerándose un valor constante de Np=4,15, por ello se procede a calcular la potencia del agitador a partir de la siguiente forma.

Ecuación 130. Número de Reynolds

$$P = \frac{\operatorname{Np} * D_a{}^5 * n^3 * \rho}{g}$$
$$P = 2095,271 \, Kw$$

Dónde:

P: Potencia del agitador (kW)

 D_a : Diámetro del agitador (m)

n: Revoluciones del agitador, 50 rpm (0.8333rps)

ρ: Densidad de la mezcla (Kg/m3)

g: Aceleración de la gravedad (m/s2)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd **4.1.8.2 Requerimientos técnicos del bioreactor Batch.** Para diseñar el bioreactor Batch se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones de los compuesto, por ello se elige el acero inoxidable AISI 316 donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 19 ,este material ofrece unas propiedades perfectas para el proceso de fermentación. Sus costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 60 se presenta las características específicas del material.

	-	
MATERIAL	AISI 316L	
Composición	17Cr-12Ni	
Densidad (δ)	Spec No: SA-240 7936 kg/m ³	
Tensión Máxima Admisible(S)	85000 Psi	
Módulo De Elasticidad (E)	193 GPa	
Sobreeespesor De Corrosión (C1)	0,001 mm	
Sobreeespesor Por Fabricación (C2)	0,0018 mm	

Tabla 60. Características específicas del AISI

Fuente. MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pearson Educación; 2006.pag 46-48

Cabe resaltar que para establecer los requerimientos técnicos del bioreactor Batch se retoma la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

Presión de diseño. Como parámetro de seguridad la presión debe ser sobredimensionada a 115% del total a almacenar. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la presión de diseño.

Ecuación 131. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

➤ Temperatura de diseño. El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe quedar a 25 C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallaremos la temperatura de diseño.

Ecuación 132. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \ {}^{\circ}C$$
$$T_d = 45 \ {}^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf Cabe reiterar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación del reactor. Con estos datos se procede a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 133. Presión teórica de diseño

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\pi * \left(\frac{Di^{2}}{2}\right)} = 6,5978m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 66407,25\frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,655 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 134. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,655 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 135. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 3,0532 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

4.1.8.3 Especificaciones del aislante térmico para el bioreactor batch. En la figura 43 se presenta el aislante térmico escogido para el recubrimiento de bioreactor, las especificaciones técnicas del material se acoplan a los requerimientos energéticos en el proceso de fermentación. La ficha técnica se muestra en el anexo 21.

Figura 43. Aislante térmico



Fuente. Catalogo CALORCOL Expertos en ingeniería de aislamientos, ficha técnica manta aislante, paginas1-2 © 2018

Las especificaciones térmicas del aislante térmico se muestran en la tabla 61.

Descripción	Aislante térmico de lana de roca con malla en alambre calibre 23 galvanizado por ambos lados	
Densidad	100 kg/m ³	
Medidas presentación de los rollos	0.91m x 2.44 m de largo	
Conductividad térmica	0.24 BTU in/ft ² a temperatura media de 100 F (37.78 C)	
Contracción lineal	< 1% a 650 C	
Absorción de humedad	< 1%	
Combustibilidad	100% incombustible	
Norma	ASTM C592- Tipo 2	
Empaque	Bolsa polietileno reforzado	
Retención estándar	Malla hexagonal con ojo de 1" por el lado frio y 2 ½ " por el lado caliente	
Espesor	2" (5.08 cm)	

 Tabla 61. Especificaciones técnicas del aislante térmico

Fuente. Catalogo CALORCOL Expertos en ingeniería de aislamientos, ficha técnica manta aislante, paginas1-2 © 2018

4.1.8.4 Balance de energía del bioreactor Batch. El balance de energía se realiza con el fin de saber cuánto calor requiere el bioreactor para llegar a la temperatura requerida en el proceso de fermentación. Al no saber la capacidad calorífica de la mezcla y sabiendo que el medio de cultivo tiene un 85% de agua aproximadamente, se decide tomar un Cp de 4,1813 KJ/kg*^oK correspondiente al del agua. A continuación se calcula el calor reguerido

Ecuación 136. Balance térmico

$$Q = mCp\Delta T$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Disponible https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ Van industry. [En línea]. en: TFG VamIndustry v11.pdf Dónde:

0: Calor Absorbido m: Masa del agua. Cp: Capacidad calorífica del agua ΔT : Delta de temperatura

$$Q = 49,967 \, kg * 4,1813 \, \frac{KJ}{kg \, {}^{\circ}C} * (25 - 19)^{\circ}C = 1253,56 \, KJ$$

La energía requerida para que el reactor pueda llegar a la temperatura optima en el proceso fermentación es de 1253,56 KJ.

4.1.9 Tanque de almacenamiento de la fermentación. Se emplea para almacenar el producto final proveniente de la fermentación en el bioreactor Batchy se muestra en la figura 44. Las condiciones de diseño del tanque se realizan de acuerdo a los criterios y metodologías utilizadas en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.





²²⁴

4.1.9.1 Dimensionamiento del tanque de almacenamiento de la fermentación. Se recomienda tener en cuenta el tipo de compuesto que se va a almacenar en los tanques, el producto después de la fermentación se debe mantener una temperatura ambiente de aproximadamente 16 C. A continuación se procede a dimensionar el tanque.

Como se trata de dimensionar un tanque a condiciones del producto partimos de un volumen equivalente a lo que inicio el proceso. A continuación procedemos a dimensionar el tanque como presentaremos a continuación.

Volumen. Como se trata de dimensionar un tanque a condiciones del producto partimos de un volumen equivalente al que inicio del proceso, la base de cálculo se muestra en el anexo 29. A continuación procedemos a dimensionar el tanque como presentaremos a continuación.

$$V = 124918,58 L = 124,918 m^3$$

Sobredimensionamiento. Se recomienda para los tanques se deben tener un 20 % más de su llenado límite lo cual las dimensiones se calculan como.

Ecuación 137. Sobredimensionamiento del tanque de almacenamiento

$$V_s = V * 1,2$$

 $V_s = 149,902 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Además como parámetro a resaltar de lo máximo de los tanques tiene que tener un 75% de su llenado máximo lo cual las dimensiones de los tanques se calcula como.

Ecuación 138. Diámetro interno del tanque almacenamiento

$$h \ge 1,75r$$
$$V_t = \pi * r^2 * h$$
$$r = 2,734 m$$
$$D_i = 2r = 5,468 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 139. Altura del cilindro

$$h = 1,75 * D_i = 9,8424 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 140. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h$$

 $V_c = 231,1255 m^3$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque. *h*: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 141. Ocupación del fermento en el tanque

$$%V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\frac{V_c}{V_c}} * 100 = 54,047 \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 142. Espesor del tanque de almacenamiento de la fermentación

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

$$\tau = 4,4028E^{-3}m = -4,4028 mm$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)

S: Tensión Máxima Admisible (Psi)

E: Factor De Soldadura (0.85)

 C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

C₂: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf **4.1.9.2 Requerimientos técnicos del tanque de almacenamiento de la fermentación.** Para diseñar el tanque se ha seleccionado un material acorde a las especificaciones del compuesto, por ello elegimos el acero inoxidable AISI 304 donde su ficha técnica se puede apreciar en el anexo 18, ofreciendo unas propiedades perfectas para el almacenamiento del producto. Los costos son factibles y no tan elevados en comparación a otros materiales. En la tabla 62 se muestra las características y las específicas del material.

MATERIAL	AISI 304			
Composición	18Cr-8Ni Spec No: SA-240			
Densidad (δ)	7930 kg/m ³			
Tensión máxima admisible(S)	85000 Psi			
Módulo de elasticidad (E) 200 GPa				
Sobre espesor de corrosión (C1)	0.001 mm			
Sobre espesor por fabricación (C2)	0.0018 mm			

Tabla 62. Características específicas del AISI

Fuente: MOTT RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pears Educación; 2006. pag .46-48

Para establecer los requerimientos técnicos del tanque se retoma la metodología utilizada en el manual de cálculos de la Universidad Autónoma de Barcelona en asociación con la empresa Vam Industry.

Ecuación 143. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

➤ Temperatura de diseño. El parámetro de seguridad en relación a la temperatura debe estar a 25 °C respecto a la temperatura de trabajo. Mediante la siguiente ecuación hallamos la temperatura de diseño.

Ecuación 144. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 \,^{\text{o}}C = 45 \,^{\text{o}}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Cabe resaltar que P_t y T_t son la presión y temperatura de operación de los tanques. Con ello se procede a calcula la presión del compuesto a emplear.

Ecuación 145. Presión del compuesto

$$h_1 = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{D_i}{2}\right)^2} = 5,3196 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_1 = 51141,47 \ \frac{kg}{m * s^2}$$
$$\Delta P = 0,504727 \ atm$$

_ _

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 146. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = 2,504727 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 147. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,8804 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

5. EVALUACION DE COSTOS DEL PROYECTO

En el presente capítulo se analizan los costos del diseño conceptual de los equipos diseñados en el capítulo 4, teniendo en cuenta los costos de amortización, los costos de operación, los costos totales y la inversión que se necesita para lograr la ejecución del proyecto.

5.1 COSTOS DE EQUIPOS

5.1.1 Costo del tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada vencida. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 304 con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del tanque y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 148. Área de los tanques de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada vencida

$$A_T = A_L + A_B = 216,04m^2$$

$$A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 2,734m * 9,8424m = 169,07m^2$$

$$A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (2,734m)^2 = 46,96m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 149. Área de la lámina AISI 304

$$AL304 = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 150. Cantidad de lámina AISI 304 para el tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada

#Lamina =
$$\frac{A_T}{AL304} = \frac{216,04m^2}{3,125m^2} = 69,13 = 70$$
 unidades

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 149 se debe emplear 70 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento por tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 63.

Tabla 63. Datos de los costos de la lámina AISI 304

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 304	418,57	70	29.299,9	94.824.751,61
Evente Eleberación propio				

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 63.

Descripción	Precio (m ²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	216,04	345.664.000

Tabla 64. Datos de los costos de ensamble del tanque de almacenamiento

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.2 Costos del silo del almacenamiento del ácido ascórbico. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 316L con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del silo y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 151. Área del silo del almacenamiento del ácido ascórbico

$$A_T = A_L + A_B = 1,16m^2$$

$$A_L = \pi r * g = \pi * 0,28m * 1,046m = 0,92m^2$$

$$A_B = \pi r^2 = \pi * (0,28m)^2 = 0,24m^2$$

Fuente: Elaboración propia

Ecuación 152. Área de la lámina AISI 316L $AL316L = 1,25 \ m * 2,5 \ m = 3,125 \ m^2$ Fuente. Elaboración propia

Ecuación 153. Cantidad de lámina AISI 316L para el silo de almacenamiento del ácido ascórbico

$$#Lamina = \frac{A_T}{AL316L} = \frac{1,16m^2}{3,125m^2} = 0,37 = 1 \text{ unidades}$$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 152 se debe emplear una lámina aproximadamente para suplir el dimensionamiento del silo, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 65.

 Tabla 65. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 316L	568,25	1	568,25	1.839.056,28

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 66.

Descripción	Precio (m ²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	1,16	1.856.000
Fuente Eleboración propia			

Tabla 66. Datos de los costos de ensamble del silo

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.3 Costo del reactor Batch. Los costos del reactor Batch se dividen en tres partes, los costos del tanque, los costos del agitador y los costos energéticos.

5.1.3.1 Costo del tanque del reactor Batch. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 316L con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del silo y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 154. Área del tangue del reactor Batch

$$A_T = A_L + A_B = 80,42m^2$$

$$A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 1,6m * 6,4m = 64,33m^2$$

$$A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (1,6m)^2 = 16,08m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 155. Área de la lámina AISI 304 $AL316L = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$ Fuente. Elaboración propia

Ecuación 156. Cantidad de lámina AISI 316L para el tanque del reactor Batch

$$#Lamina = \frac{A_T}{AL316L} = \frac{80,42m^2}{3,125m^2} = 20,58 = 21 \text{ unidades}$$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 155 se debe emplear 21 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento del tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 67.

 Tabla 67. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

	Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
	AISI 316L	568,25	21	11.933,25	38.620.181,88
-					

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 68.

Tabla 68. Datos de los costos de ensamble del reactor Batch

Descripción	Precio (m²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	80,42	128.672.000

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.3.2 Costo del agitador del reactor Batch. El material que se selecciona para las palas de los agitadores del reactor Batch es acero inoxidable AISI 316L. Se debe calcular el área de las palas para saber cuánto material se requiere.

Ecuación 157. Área de las palas del agitador $A_{Pala} = W * L = 0,21333 m * 0,2666 m = 0,056873 m^2 * 6$ $A_{Palas} = 0,34m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 158. Área de la lámina AISI 304 $AL316L = 1,25 \ m * 2,5 \ m = 3,125 \ m^2$ Fuente. Elaboración propia

Ecuación 159. Cantidad de lámina AISI 316L para el tanque del reactor Batch

 $#Lamina = \frac{A_T}{AL316L} = \frac{0,34m^2}{3,125m^2} = 0,108 = 1 unidades$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 158 se debe emplear una lámina aproximadamente para suplir el dimensionamiento de las palas, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 69.

Tabla 69 Datos de los costos de la lámina AISI 316L

Material	Precio de lámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 316L	568,25	1	568,25	1.839.056,28

Fuente. Elaboración propia

Se calcula el largo del tubo y la cantidad de varilla del agitador.

Ecuación 160. Largo del tubo de agitador del reactor Batch

$$L_{tubo} = h - E$$

 $L_{tubo} = 6,4m - 1,0666m = 5,33m$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 161. Largo de la varilla de agitador del reactor Batch

$$D_a = \frac{D_T}{3} = 1,06m$$
$$L_{varilla} = 2\pi r = 3,33m$$

Fuente. Elaboración propia

A continuación se presenta los costos generales de tubo y la varilla del agitador del reactor Batch en COP en la tabla 70.

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
Tuvo AISI 316L	64,03	2	128,06	414.447,07
Varilla AISI 316L	19,26	2	38,52	124.664,23

Tabla 70. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

Fuente. Elaboración propia

5.1.3.3 Costos energéticos del reactor Batch. A partir del balance de energía que requiere el reactor Bathc para que genere la reacción y la energía que requiere el agitador realizado en los requerimientos técnicos del capítulo 4, se calculan los costos de operación.

El consumo energético del equipo se determina acorde a la cantidad de energía que estos consuman, teniendo en cuenta que el valor del kW/h en Bogotá para el sector industrial es de 447,2392 COP. Por ello se tendrá en cuenta la consideración de manejar un tiempo acorde al funcionamiento.

En la tabla 71 se muestran la energía requerida para el funcionamiento del reactor Batch.

Equipos	Cantidad(kWh)	Horas operadas al mes	Total (COP)
Reactor BATCH	528,12	2	472.391,93
Agitador	109.489,51	2	97.935.661,96
	., .		

Tabla 71. Consumo de energía del reactor Batch para el año 2018

Fuente. Elaboración propia

5.1.4 Costo del filtro. El filtro seleccionado es de tipo membrana marca Graver Technologies de referencia ZTECWB cuyo medio filtrante está en el rango de 0.2 µm. A continuación en la tabla 72 presentaremos el precio del equipo.

Tabla 72. Cotización del filtro

Equipo	Precio USD	Precio COP
Filtro-ZTECWB	2.000	6.472.701,38
Evente Elekenesión evenie		

Fuente. Elaboración propia

5.1.5 Costos del tanque de almacenamiento del producto después de la reacción. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 304 con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del tanque y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 162. Área de los tanques de almacenamiento del producto después de la reacción

 $A_T = A_L + A_B = 161, 23m^2$ $A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 2,388m * 8,358m = 125,4m^2$ $A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (2,388m)^2 = 35,83m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 163. Área de la lámina AISI 304

 $AL304 = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$

Fuente: Elaboración propia

Ecuación 164. Cantidad de lámina AISI 304 para el tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada

#Lamina = $\frac{A_T}{AL304} = \frac{161,23m^2}{3,125m^2} = 51,59 = 52$ unidades

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 163 se debe emplear 52 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento por tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 73.

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 304	418,57	52	21.765,64	70.441.244,05
Encoder Elektronic'				

 Tabla 73. Datos de los costos de la lámina AISI 304

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 74.

Tabla 74. Datos de los costos de ensamble del tanque de almacenamiento

Descripción	Precio (m²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	161,23	257.968.000

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.6 Costos de la torre de destilación. Los costos de la torre de destilación se dividen en tres partes, los costos de la torre, los costos de los platos y los costos energéticos.

5.1.6.1 Costos de la torre. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 316L con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área de la torre y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 165. Área de la torre

 $A_{T} = A_{L} + A_{B} + A_{P} = 91,71m^{2}$ $A_{L} = 2\pi r * h = 2\pi * 1,8824m * 3,048m = 36,05m^{2}$ $A_{B} = 2\pi r^{2} = 2\pi * (1,8824m)^{2} = 22,26m^{2}$ $A_{P} = 3\pi r^{2} = 3\pi * (1,8824m)^{2} = 33,39$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 166. Área de la lámina AISI 304

$$AL316L = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$$

Fuente: Elaboración propia

Ecuación 167. Cantidad de lámina AISI 316L para la torre

#Lamina =
$$\frac{A_T}{AL316L} = \frac{91,71m^2}{3,125m^2} = 29,34 = 30$$
 unidades

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 166 se debe emplear 30 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento de la torre, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 75.

Tabla 75. Datos de los costos de la lámina AISI 316L
--

Material	Precio de lámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 316L	568,25	30	17.047,5	55.171.688,40
Evente, Elaboración propia				

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 76.

Descripción	Precio (m ²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	91,71	146.576.000
Fuente, Elaboración propia			

Tabla 76. Datos de los costos de ensamble de la torre de destilación

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.6.2 Costos energéticos de la torre de destilación. A partir del balance de energía del condensador y el rehervidor de la torre de destilación realizado en los requerimientos técnicos del capítulo 4, se calculan los costos de operación.

El consumo energético del equipo se determina acorde a la cantidad de energía que estos consuman, teniendo en cuenta que el valor del kW/h en Bogotá para el sector industrial es de 447,2392 COP. Por ello se tendrá en cuenta la consideración de manejar un tiempo acorde al funcionamiento.

En la tabla 77 se muestran la energía requerida para el funcionamiento de la torre de destilación.

Equipos	Cantidad(kWh)	Horas operadas al mes	Total (COP)
Condensador	38.787,22	720	12.489.958.980
Rehervidor	38.916,13	720	12.531.469.570

Tabla 77. Consumo de energía del reactor Batch para el año 2018

Fuente. Elaboración propia

5.1.7 Costos del tanque de almacenamiento del destilado. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 304 con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del tanque y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 168. Área de los tanques de almacenamiento del producto después de la reacción

 $A_T = A_L + A_B = 161, 23m^2$ $A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 2,388m * 8,358m = 125,4m^2$ $A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (2,388m)^2 = 35,83m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 169. Área de la lámina AISI 304

 $AL304 = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 170. Cantidad de lámina AISI 304 para el tanque de almacenamiento de la bebida gaseosa carbonatada

 $#Lamina = \frac{A_T}{AL304} = \frac{161,23m^2}{3,125m^2} = 51,59 = 52 \text{ unidades}$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 169 se debe emplear 52 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento por tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 78.

Tabla 78. Datos de los costos de la lámina AISI 304

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 304	418,57	52	21765,64	70441244,05
Example Elster and	·			

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 79.

I abla 79. Datos de los costos de ensamble	Tabla	. Datos de los	s costos de ensamble
---	-------	----------------	----------------------

Descripción	Precio (m ²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	161,23	257.968.000

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.8 Costo del bioreactor Batch. Los costos del bioreactor Batch se dividen en cuatro partes, los costos del tanque, los costos del agitador, los costos del aislante termico y los costos energéticos.

5.1.8.1 Costo del tanque del reactor Batch. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 316L con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del silo y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 171. Área del tanque del bioreactor Batch

 $A_T = A_L + A_B = 85,52m^2$ $A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 1,65m * 6,6m = 68,42m^2$ $A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (1,65m)^2 = 17,1m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 172. Área de la lámina AISI 304 $AL316L = 1,25 \ m * 2,5 \ m = 3,125 \ m^2$ Fuente. Elaboración propia

Ecuación 173. Cantidad de lámina AISI 316L para el tanque del bioreactor Batch

$$#Lamina = \frac{A_T}{AL316L} = \frac{85,52m^2}{3,125m^2} = 21,89 = 22 \text{ unidades}$$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 172 se debe emplear 22 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento del tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 80.

Tabla 80. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 316L	568,25	22	12.501,5	40.459.238,16

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 81.

Tabla 81. Datos de los costos de ensamble

Descripción	Precio (m ²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	85,52	136.832.000

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.1.8.2 Costo del agitador del bioreactor Batch. El material que se selecciona para las palas de los agitadores del bioreactor Batch es acero inoxidable AISI 316L. Se debe calcular el área de las palas para saber cuánto material se requiere.

Ecuación 174. Área de las palas del agitador

$$A_{Pala} = W * L = 0,21333 m * 0,2666 m = 0,056873 m^2 * 6$$

$$A_{Palas} = 0,34m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 175. Área de la lámina AISI 304 $AL316L = 1,25 \ m * 2,5 \ m = 3,125 \ m^2$ Fuente. Elaboración propia

Ecuación 176. Cantidad de lámina AISI 316L para el tanque del reactor Batch

$$#Lamina = \frac{A_T}{AL316L} = \frac{0,34m^2}{3,125m^2} = 0,108 = 1 \text{ unidades}$$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 176 se debe emplear una lámina aproximadamente para suplir el dimensionamiento de las palas, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 82. Tabla 82. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

	Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
	AISI 316L	568,25	1	568,25	1.839.056,28
_					

Fuente. Elaboración propia

Se calcula el largo del tubo y la cantidad de varilla del agitador.

Ecuación 177. Largo del tubo de agitador del reactor Batch

$$L_{tubo} = h - E$$

 $L_{tubo} = 6,4m - 1,0666m = 5,33m$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 178. Largo de la varilla de agitador del bioreactor Batch

$$D_a = \frac{D_T}{3} = 1,1m$$
$$L_{varilla} = 2\pi r = 3,45m$$

Fuente. Elaboración propia

A continuación se presenta los costos generales de tubo y la varilla del agitador del reactor Batch en COP en la tabla 83.

Material	Precio de Iámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
Tuvo AISI 316L	64,03	2	128,06	414.447,07
Varilla AISI 316L	19,26	2	38,52	124.664,23

Tabla 83. Datos de los costos de la lámina AISI 316L

Fuente. Elaboración propia

5.1.8.3 Costos del aislante térmico. El aislante térmico que se selecciono es lana de roca con malla en alambre galvanizado, presentando por unidad de rollo con una medida de 0,91m x 2,44 m de largo.

Ecuación 179. Área del tanque del bioreactor Batch

 $A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 1,65m * 6,6m = 68,42m^2$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 180. Cantidad de aislante térmico para el bioreactor Batch

#Lamina =
$$\frac{A_T}{AL}$$
 = $\frac{68,42m^2}{2,22m^2}$ = 30,81 = 31 nidades

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 179 se debe emplear 31 rollos aproximadamente para suplir el dimensionamiento del bioreactor Batch, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 84.

Tabla 84. Datos de los costos de la lámina AISI 316L					
Material	Precio de lámina (COP)	Unidades totales	Precio total (COP)		
AISI 316L	60.585	22	1.332.870		
Evente Floharagián propio					

Fuente. Elaboración propia

5.1.8.4 Costos energéticos del bioreactor Batch. A partir del balance de energía que requiere el bioreactor Bathc para que mantenga la temperatura en el proceso de fermentación y la energía que requiere el agitador realizado en los requerimientos técnicos del capítulo 4, se calculan los costos de operación.

El consumo energético del equipo se determina acorde a la cantidad de energía que estos consuman, teniendo en cuenta que el valor del kW/h en Bogotá para el sector industrial es de 447,2392 COP. Por ello se tendrá en cuenta la consideración de manejar un tiempo acorde al funcionamiento.

En la tabla 85 se muestran la energía requerida para el funcionamiento del bioreactor Batch.

Equipos	Cantidad(kWh)	Horas operadas al mes	Total (COP)
Reactor BATCH	528,12	480	113.374.063,8
Agitador	2.095,271	480	449.801.916,4

Tabla 85. Consumo de energía del bioreactor Batch para el año 2018

Fuente. Elaboración propia

5.1.9 Costos del tanque de almacenamiento de la fermentación. El material seleccionado es acero inoxidable AISI 304 con una dimensión de lámina de 1,25 m x 2,5 m con un espesor de 5 mm. Se calcula el área del tanque y se cotiza el precio de la lámina para saber cuánta de esta se debe utilizar.

Ecuación 181. Área de los tanques de almacenamiento de la fermentación

$$A_T = A_L + A_B = 216,04m^2$$

$$A_L = 2\pi r * h = 2\pi * 2,734m * 9,8424m = 169,07m^2$$

$$A_B = 2\pi r^2 = 2\pi * (2,734m)^2 = 46,96m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 182. Área de la lámina AISI 304

$$AL304 = 1,25 m * 2,5 m = 3,125 m^2$$

Fuente. Elaboración propia

Ecuación 183. Cantidad de lámina AISI 304 para el tanque de almacenamiento de la fermentación

 $#Lamina = \frac{A_T}{AL304} = \frac{216,04m^2}{3,125m^2} = 69,13 = 70 \text{ unidades}$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo a la ecuación 183 se debe emplear 70 láminas aproximadamente para suplir el dimensionamiento por tanque, a continuación se presenta los costos generales en COP en la tabla 86.

Tabla 86. Datos de los costos de la lámina AISI 304

Material	Precio de lámina (USD)	Unidades totales	Precio total (USD)	Precio total (COP)
AISI 304	418,57	70	29299,9	94.824.751,61
Example Elster and '				

Fuente. Elaboración propia

Para la construcción del equipo se hace una cotización de ensamble por metro cuadrado, que se puede apreciar en la tabla 86.

Tabla 87. Datos de los costos de ensambl	Tabla 87.	Datos de	e los costos	de	ensamble
---	-----------	----------	--------------	----	----------

Descripción	Precio (m²)	Unidades totales (m ²)	Precio total (COP)
Ensamble de equipos y tanques, diámetro 1m x 1m de alto calibre de 18 en acero inoxidable con proceso decapado y acabado para alimentos	1.600.000	216,04	345.664.000

Fuente. Elaboración propia

Las cotizaciones del precio de los tipos de láminas de acero inoxidable y de ensamble de equipos se muestran en el anexo 31.

5.2 COSTO TOTAL

A continuación se describe la totalidad de los costos generales de todos los equipos utilizados en el proceso de obtención de bioetanol que se mostraran en la tabla 88 y 89.

Equipo	Costo de diseño (COP)	Costo ensamble (COP)
Tanque almacenamiento BGCV	94.824.751,61	345.664.000
Silo almacenamiento ácido ascórbico	1.839.056,28	1.856.000
Reactor Batch	40.998.349,46	128.672.000
Filtro	6.472.701,38	
Tanque almacenamiento PDR	70.441.244,05	257.968.000
Torre de destilación Tanque	55.171.688,4	146.576.000
almacenamiento del destilado	70.441.244,05	257.968.000
Bioreactor Batch	44.170.275,74	136.832.000
almacenamiento del fermentado	94.824.751,61	345.664.000
COSTOS TOTALES	479.184.062,6	1.621.200.000

 Tabla 88. Costos totales de diseño y ensamble de quipos

Fuente. Elaboración propia

Tabla 89. Costos energéticos totales mensuales		
Equipo	Costo energético (COP)	
Tanque almacenamiento BGCV		
Silo almacenamiento ácido ascórbico		
Reactor Batch	98.408.053,89	
Filtro		
Tanque almacenamiento PDR		
Torre de destilación	12.489.958.980	
Tanque almacenamiento del destilado		
Bioreactor Batch	563.175.980,2	
Tanque almacenamiento		
del fermentado		
COSTOS TOTALES	25.683.012.584	

Fuente. Elaboración propia

5.3 ANÁLISIS DE COSTOS DE AMORTIZACIÓN

El análisis de costos de amortización, se determina la cantidad de cuotas a pagar con su respectivo interés y el periodo de tiempo para financiar el diseño de los equipos para la obtención de bioetanol. En la tabla 90 se muestra los datos para calcular la tabla de amortización que se muestra en el anexo 30.

Tabla 90. Tabla de datos de amonización		
Costos totales de diseño y ensamble	\$2.100.384.063	
interés efectivo mensual	0,05	
Cuota mensual a pagar	\$105.321.058,8	
Periodo de pago (meses)	120	

Tehle 00 Tehle de detes de emertización

Fuente. Elaboración propia

Luego de obtener la cuota mensual a pagar por el diseño de los equipos para la obtención de bioetanol, se determina el costo total mensual incluyendo los costos de amortización, los costos energéticos y de operación, en la tabla 91 se muestran los datos del costo mensual del proyecto.

Tabla 91. Costo mensual del provecto

Cuota mensual a pagar	\$105.321.058,8
Costo mensual operación	\$25.683.012.584,00
Costo mensual final	\$25.788.333.642,80

Fuente. Elaboración propia

La cuota mensual a pagar para suplir el financiamiento del proyecto para la obtención de bioetanol tiene un valor de \$25.788.333.642,80. Cabe resaltar que los costos de operación solo se contemplan costos energéticos.

6. CONCLUSIONES

- Se realiza una caracterización a la bebida gaseosa carbonatada vencida, analizando la concentración de benzoato de sodio, la concentración de azúcares, el potencial de hidrógeno (pH), la densidad y el volumen de carbonatación, con el fin de analizar las propiedades físico-químicas de la materia prima utilizada en el proyecto
- ✓ Se realiza un análisis teórico y experimental de la estequiometria de la reacción del benzoato de sodio con el ácido ascórbico, deduciendo un porcentaje de conversión de la reacción de un 97,83%.
- ✓ Se plantean 5 diseños de experimentos teniendo como objetivo analizar los efectos de las variables de la concentración de sustrato y microorganismos sobre las variables respuestas de la obtención de bioetanol, concentración de sustrato final y el potencial de hidrógeno (pH) final, lo que permite identificar las condiciones de proceso y la planeación del desarrollo experimental, para determinar la configuración de los factores que optimizan los resultados.
- ✓ En conclusión los resultados obtenidos para la concentración de levadura Saccharomyces cerevisiae con la que se obtuvo mejores rendimiento en el proceso de fermentación fue de 1,72*10⁸ Celulas/ml.
- ✓ Para la cuantificación de azúcares reductores totales por el método DNS, se realizó una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico a una concentración de 2N, obteniendo los mejores resultados a partir de la cinética de consumo de sustrato para el medio de cultivo C1 con una concentración inicial de 200 g/L de azúcar.
- ✓ Se realiza una cuantificación de la cantidad de bioetanol obtenida al momento de la destilación para el medio de cultivo C1 de 10 °GL y para el medio de cultivoC2 de 9 °GL, análisis por cromatografía de gases para el etanol y metanol, obteniendo para el medio de cultivo C1 una concentración de etanol de 8,479 mg/ml y una concentración de metanol de 0,2539 mg/ml, para el medido de cultivo C2 una concentración de etanol de 7,528 mg/ml y una concentración de metanol de 0,232 mg/ml. Se concluye que es factible la fermentación alcohólica de los resididos de la bebida gaseosa carbonatada vencida, debido a la obtención de bioetanol con un alto contenido de pureza en ambas muestras.
- Se plantean los requerimientos técnicos a partir de los datos obtenidos del medio de cultivo con más producción de bioetanol, realizando un diseño conceptual de equipos donde se especifican sus dimensiones y sus requerimientos energéticos.

- ✓ Se calculan los costos totales de los requerimientos técnicos, analizando los costos de amortización y los costos energéticos del proceso de fermentación para la obtención de bioetanol.
- Se propone una solución a la problemática del vertimiento de bebidas gaseosas carbonatas vencidas, desarrollando e incentivando el estudio de la obtención de bioetanol a partir de los azúcares concentrados presentes en dichas bebidas, generando así energías alternativas y limpias que contribuyan a la preservación del medio ambiente.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar los cálculos de la velocidad de reacción y la curva de cinética para la reacción entre el benzoato de sodio y el ácido ascórbico, mejorando el análisis y dimensionamiento del reactor Batch.
- Simular y dimensionar otras alternativas de reactores para optimizar el proceso de producción de bioetanol, buscando reducir los costos de amortización y los costos de operación
- Evaluar factores independientes como el potencial de hidrógeno, la aireación, la concentración de nutrientes y la agitación para la optimización de la producción de bioetanol.
- ✓ Implementar la activación enzimática de la invertasa en el proceso de obtención de bioetanol para disminuir el tiempo de fermentación.
- ✓ Realizar la simulación de la torre de destilación, variando flujos, concentraciones, presiones y temperaturas de entrada y salida de la torre para la optimización del equipo.
- Implementar la debida instrumentación de los equipos involucrados en el proceso de obtención de bioetanol.
- ✓ Evaluar el proceso de separación y purificación del bioetanol, después del proceso de fermentación.
- ✓ Buscar una fuente de energía alternativa para los equipos empleados para el proceso de obtención de bioetanol, con el fin de reducir los costos de operación.
- Calcular los costos para la construcción de los equipos, mano de obra y materias primas empleadas en el proceso de obtención de bioetanol.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA ROMERO Carolina. Evaluación De La Fermentación Alcohólica Para La Producción De Hidromiel. Universidad Nacional de Colombia, 2012. p. MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M. y DUNLAP, Paul V. Brock: Biología De Los Microorganismos (12a. Ed.). Madrid: Pearson Educación, 2009.

AGUILAR Wilber; GUZMÁN Ricardo MigueL. Estudio De Factibilidad Para La Producción Y Comercialización De Bebidas Biofortificadas a Partir De Maíz Y Sorgo". UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, 2015.

BADUI Salvador. *Química De Los Alimentos.* Pearson Educación de México S.A. de C.V, 2011.

BELLO Andrés. DESTILACIÓN. DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO DEL VINO. Guayana:, 2011.

BROWN TL, Murphy CJ, Bursten BE. *Química: La ciencia central (11a. ed.).* Pretince Hall ed. Naucalpan de Juárez: Pearson Educación; 2009:614-.

BORDEU, E. 1998. Niveles de amonio y nitrógeno fácilmente aprovechable para las levaduras. Algunas experiencias en Chile. *In*: Tópicos de actualización en vitivinicultura y enología. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile.

CACHA RIOS Lucio, COLLACCI LLANOS Anggela. *PROCESO DE BEBIDAS CARBONATADAS Y SU IMPACTO AMBIENTAL.* Huacho, Perú:, 2012.

Catalogo CALORCOL Expertos en ingeniería de aislamientos, ficha técnica manta aislante, paginas1-2 © 2018

Catalogo Graver Technologies " ZTEC[™] WB Series Filter Cartridges" PleatedPolyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications paginas1-2 © 2017 Graver Technologies, LLC

CASTRO MARTÍNEZ, Claudia; BELTRÁN ARREDONDO, Laura Ivonne y ORTIZ OJEDA, Juan Carlos. PRODUCCIÓN DE BIODIESEL Y BIOETANOL: ¿UNA ALTERNATIVA SUSTENTABLE A LA CRISIS ENERGÉTICA? En: Ra Ximhai,Universidad Autónoma Indígena De México El Fuerte, México. septiembrediciembre,. vol. vol. 8, no. núm. 3b.

CHAMBRÉ D, IDIŢOIU C, SZABO M. The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method. *J Therm Anal Calorim*. 2007.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA. 20 junio. Disponible en: http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/croma tografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf[2013]

DANE, "Encuesta Anual Manufacturera EAM".

http://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/industria/encuesta-anualmanufacturera-enam/eam-historicos

DORINA Chambré, CORNELIA Idiţoiu, SZABO Maria Raluca. "The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of DSC method." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 88.3 (2007): 681-6. *CrossRef.* Web.

DÍEZ, S. B. Obtención De Bioetanol 2G a Partir De Hidrolizados De Paja De Trigo: Fermentación Conjunta De Los Penta Y Hexa Carbohidratos Con Pichia Stipitis. Universidad de Valladolid, 2013.

FOGLER H. Elements of chemical reaction engineering, fifth edition. 5th ed. Prentice Hall; 2016

FUENTES LÓPEZ Ana. Determinación de sorbato potásico y benzoato sódico en alimentos por HPLC. [0]: València, España: Universidad Politècnica de València

GALLINAR TERCERO; Ana Gabriel, Control robusto de columnas de destilación para mezclas binarias ideales, Universidad veracruzana, 2015.

GUIZARD Christian. TÉCNICAS MEMBRANARIAS de FILTRACIÓN de LÍQUIDOS & nbsp; & nbsp; 1st ed. Venezuela: 1999.

HANNAH Akinosho, KELSEY Yee, CLOSE Dan, RAGAUSKAS Arthur. The emergence of Clostridium thermocellum as a high utility candidate for consolidated bioprocessing applications. En: Frontiers of Chemistry. Agosto 14 del 2006.

HARRIS, Daniel C. Análisis químico cuantitativo. 3ª ed. Barcelona: Grupo Editorial Iberoamericano, S.A. de C.V., 2016. ISBN 9706250034.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486- 6166.Bogotá D.C.: El instituto, 2018. ISBN 9789588585673 153 p.

_____. Cerveza. Métodos para determinar el contenido de alcohol etílico en cerveza. NTC-3952. Bogotá, Colombia: Icontec, 1996.

_____. Cerveza. Determinación del contenido de metanol en cervezas. NTC-4285 Bogotá, Colombia: Icontec, 1996. JIRANEK, V.; LANGRIDGE P, y HENSCHKE A. 1995. Amino acid and ammonium utilization by Saccharomyces cerevisiae wine yeast from a chemically defined medium. Am. J. Enol. Vitic. 46 (1):

Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd. uab. cat/ pub/ tfg/ 2016/148700/ TFG_ VamIndustry_v11.pdf

MILLER G. L.. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar." *Analytical Chemistry* 31.3 (1959): 426-8. *CrossRef.*

MONTGOMERY, Runger. Probabilidad y estadística aplicada a la ingeniería segunda ed. México DF: Limusa Wiley, 2013.

Mott RL. *Diseño de elementos de máquinas (4a. ed.).* Naucalpan de Juárez: Pears Educación; 2006.

LEVTONA, Fabiola. & nbsp; Energías "Alternativas": el Etanol. En: REVISTA CIENCIA Y TECNOLOGÍA. may 5,2006

RÍOS DEL RISCO, Carlos, FAJARDO, Mario, PEREZ, Juan Carlos. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel Apis mellifera. Estación experimental apícola Cuba 2008.

ROMERO ROJAS Jairo Alberto. El Libro Tratamiento De Aguas Residuales. Teoría Y Principios De Diseño. 2004.

ROMERO VÁZQUEZ, Gloria M^a. Biotecnología: generalidades, riesgos y beneficios. [0]:Venezuela: 1st, 2008.

RUBINSON, Judith F.; RUBINSON, Kenneth A.,. Química análitica contemporánea. Prentice Hall Hispanoamérica, 2000

VANDA Renata Reis, GUARNIERI BASSI Ana Paula, GOMES DA SILVA Jessica Carolina, Sandra Regina Ceccato-Antonini. Characteristics of Saccharomyces cerevisiae yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. En: Brazilian Journal of Microbiology. marzo 4 del 2009.

VALENCIA Angulo. Efectividad de microorganismos nativos en relación a Aspergillus niger, Clostridium thermocellum ATCC 27405 y Zymomonas Mobilis para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía "citrullus lanatus" a escala piloto, ´pag 40-44, 2010.

VARNAM Alan H, SUTHERLAND Jane P. Bebidas: tecnología, química y microbiología. 2da ed., 1997.

Vera Koester. What is HPLC. 20 junio. Disponible en: http://www.chemistryviews.org/details/education/9464911/.html[2013] WALKER and GRAEME.M. *Bioethanol science and technology of fuel alcohol graeme* 1st ed. escocia: BookBoon, 2010.

WALPOLE, Ronald; MYERS, Raymond and MYERS, Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros & nbsp; sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999.

WEISSERMEL Klauss and HANS Jurgen Arpe. *Quimica Organica Industrial.* Verlag chemie, Weinheim ed. Alemania: REVERTE S.A, 1978.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva. Benzoic acid and sodium benzoate. <u>www.who.int</u> Website. http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26 _rev_1.pdf. Updated 2005.

ANEXOS
ANEXO1 FICHA TÉCNICA DE Saccharomyces cerevisiae Safbrew BE-256



comparar nuestras cepas, hemos realizado ensayos en condiciones de laboratorio sobre mostos estándares y temperaturas típicas (Saflager: 12°C por 48h y luego a 14°C / Safale y Safbrew: 20°C). Hemos diseñado los ensayos para obtener datos de los siguientes parámetros: producción de alcohol, azúcares residuales, floculación y cinética fermentativa. Dado el impacto de la levadura en la calidad final de la cerveza, se recomienda seguir las instrucciones de fermentación. Recomendamos también realizar ensayos de fermentación antes de darle un uso comercial de cualquiera de nuestros productos.

TECHNICAL DATA SHEET - Safbrew™ BE-256 - Rev: OCT2015

The obvious choice for beverage fermentation 🐌 📍 🌹

Fermentis Division of S.I. Lesaffre - BP 3029 - 137 Rue Gabriel Péri - 59703 Marcq-en-Barceul Cedex - FRANCE - TeL +33 (0)3 20 81 62 75 - Fax. +33 (0)3 20 81 62 70 - www.fermentis.com

ANEXO 2 TABLA DE CORRECCIÓN POR TEMPERATURA DE HIDRÓMETRO Brix (ºBx)

		Lectura de la escala en °Brix																	
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85
	15	-0.29	-0.30	-0.32	-0.33	-0.34	-0.35	-0.36	-0.37	-0.37	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.37	-0.37
	16	-0.24	-0.25	-0.26	-0.27	-0.28	-0.28	-0.29	-0.30	-0.30	-0.30	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.30	-0.30	-0.30
	17	-0.18	-0.19	-0.20	-0.20	-0.21	-0.21	-0.22	-0.22	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.22
	18	-0.12	-0.13	-0.13	-0.14	-0.14	-0.14	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15
	19	-0.06	-0.06	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.07
	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	21	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	80.0	0.08	80.0	80.0	0.05	80.0	0.08	80.0	0.08	0.08	0.07
	22	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.15	0.15
	23	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0,24	0.24	0.24	0.24	0.23	0.23	0.23	0.23	0.22
	24	0.27	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32	0.31	0.31	0.31	0.30	0.30
\$	25	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.39	0.39	0.38	0.38	0.37
elsiu	26	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.47	0.47	0.46	0.46	0.45
a °C	27	0.50	0.51	0.52	0.53	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.55	0.55	0.54	0.53	0.52
atur	28	0.58	0.69	0.60	0.61	0.62	0.63	0.64	0.64	0.64	0.65	0.65	0.64	0.64	0.63	0.63	0.62	0.61	0.60
uper	29	0.66	0.67	0.68	0.70	0.71	0.71	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.71	0.70	0.69	0.67
Ter	30	0.74	0.76	0.77	0.78	0.79	0.80	0.81	0.81	0.82	0.82	0.81	0.81	0.80	0.80	0.79	0.78	0.76	0.75
	31	0.83	0.84	0.85	0.87	0.88	0.89	0.89	0.90	0.90	0.90	0.90	0.89	0.89	0.88	0.87	0.86	0.84	0.82
	32	0.92	0.93	0.94	0.96	0.97	0.98	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.97	0.96	0.95	0.93	0.92	0.90
	33	1.01	1.02	1.03	1.05	1.06	1.07	1.07	1.08	1.08	1.08	1.07	1.07	1.06	1.04	1.03	1.01	1.00	0.98
	34	1.10	1.11	1.13	1.14	1.15	1.16	1.16	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.14	1.13	1.11	1.09	1.07	1.05
	35	1.19	1.21	1.22	1.23	1.24	1.25	1.25	1.26	1.26	1.25	1.25	1.24	1.23	1.21	1.19	1.17	1.15	1.13
	36	1.29	1.30	1.31	1.33	1.34	1.34	1.35	1.35	1.35	1.34	1.34	1.33	1.31	1.29	1.28	1.25	1.23	1.20
	37	1.39	1.40	1.41	1.42	1.43	1.44	1.44	1.44	1.44	1.43	1.43	1.41	1.40	1.38	1.36	1.33	1.31	1.28
	38	1.49	1.50	1.51	1.52	1.53	1.53	1.54	1.54	1.53	1.53	1.52	1.50	1.48	1.46	1.44	1.42	1.39	1.36
	39	1.59	1.60	1.61	1.62	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.62	1.61	1.59	1.57	1.55	1.52	1.50	1.47	1.43
	40	1.69	1.70	1.71	1.72	1.73	1.73	1.73	1.73	1.72	1.71	1.70	1.68	1.66	1.63	1.61	1.58	1.54	1.51

ANEXO 3 FICHA TÉCNICAS POTENCIÓMETRO Ohaus Starter 2100 pH Bench

Starter Water Analysis Bench Meters

Sturdy and Accurate Bench Meters for Lab Applications

Whether it is a basic or advanced model that you are looking for, you can rely on Starter Series bench meters to meet your water analysis needs.

Starter 3100

Starter 3100 offers premium features at a cost-effective price point for reliable and convenient pH and ORP measurements.

- Starter 3100's intuitive software includes three point calibration, three buffer groups, automatic and manual endpoint functions, as well as a 99 item library.
- Among Starter 3100's user-friendly features that support ease-of-use are an adjustable stand-alone electrode holder and large backlit LCD display.
- Documenting measurement data is made simple through the R5232 which can be used to connect peripheral devices such as printers or computers to the meter.

Starter 2100

If you are looking for a cost-effective, reliable pH bench meter, Starter 2100 is the right choice for you.

- With the attached quick guide, five clearly marked keys and user-friendly software, novices can operate the meter with minimal training.
- The built-in electrode holder provides uncomplicated and convenient all-in-one operation while the large LCD display screen clearly displays results.
- Auto buffer recognition, electrode condition icon, automatic temperature compensation and reference input, all work together to ensure accurate results.

Starter 3100C

With many advanced intuitive features, Starter 3100C is the ideal meter for standard testing of conductivity, total dissolved solids (TDS) and salinity.

- Starter 3100C's intuitive software includes 1 point calibration, 4 pre-defined standards, automatic and manual endpoint functions, and one touch conversion between measurement modes.
- Among Starter 3100C's user-friendly features that support ease-of-use are an adjustable stand-alone electrode holder and large backlit LCD display.
- Documenting measurement data is made simple through the RS232 which can be used to connect peripheral devices such as printers or computers to the meter.



Specifications

Model	ST3100*	ST2100*	ST3100C*		
Measurement Range	-2.0016.00 pH -19991999 mV -5 ℃110 ℃	0.00…14.00 pH −1999…1999 mV 0 °C…100 °C	00.0 μS/cm199.9 mS/cm 0.1 mg/l199.9 g/l (TDS) 0.00 19.99 psu (Salinity) 0 °C100 °C		
Resolution	0.01 pH 1 mV 0.1 ℃	0.01 pH 1 mV 0.1 ℃	Automatic Range 0.1 ℃		
Error Limits	± 0.01 pH ± 1 mV ± 0.5 ℃	± 0.01 pH ± 1 mV ± 0.5 ℃	\pm 0.5 % of the Measured Value \pm 0.3 $^{\circ}\mathrm{C}$		
Calibration	Up to 3 Points 3 Predefined Buffer Groups	1 or 2 Points 1 Predefined Buffer Group (1.68, 4.01, 7.00, 10.01)	1 Point 4 Predefined Standards		
Memory	99 Measurements Last Calibration Data	Last Calibration Data	99 Measurements Last Calibration Data		
Power Supply	110-240V/50Hz, DC 12V	110-240V/50Hz, DC 12V	110-240V/50Hz, DC 12V		
Size/Weight	Approximately 220 W × 175 D × 78 H mm / 0.75 kg	Approximately 220 W × 175 D × 78 H mm / 0.75 kg	Approximately 220 W × 175 D × 78 H mm / 0.75 kg		
Display	Liquid Crystal Backlight	Liquid Crystal	Liquid Crystal Backlight		
Input	BNC, impedance > 10e+12 Ω Cinch, NTC 30 kΩ 2 mm	BNC, impedance > 10e+12 Ω Cinch, NTC 30 kΩ 2 mm	Mini-DIN		
Temperature Compensation	ATC & MTC	ATC & MTC	Linear: 0.00 %/°C10.00 %/°C Reference Temperature: 20 & 25 °C		
Housing	ABS	ABS	ABS		

*Bench meters are available in different packages:

Model	Description	Model	Description	Model	Description	
ST3100-B	3100 Meter With Stand-alone Electrode Holder	ST2100-B	Starter 2100 Meter With Built-In Electrode Holder	ST3100C-B	Starter 3100C Meter, Stand-Alone Electrode Holder, Conductivity Standards 1413 µS/cr and 12.88 mS/cm (20 mL Bottles) ST3100C-B, STCON3 Conductivity Probe (Range 70 µS/cm – 200 mS/cm), In-use Cover	
	(Electrode Not Included)	ST2100-E	ST2100-B, ST210 Electrode, pH Buffer Powder Set			
ST3100-F	ST3100-B, ST310 Electrode, pH Buffer Powder Set (4.01, 7.00, 10.01), In-use Cover	ST2100-F	ST2100-B, ST210 Electrode, STTEMP30 Temperature Probe, pH Buffer Powder Set (4.01, 7.00, 10.01)	- ST3100C-F		

ANEXO 4
TABLA DE CORRECCIÓN DE LA DENSIDAD SEGÚN LA TEMPERATURA

TAI	BLA DE CO	RRECCION	I DE LA DE	NSIDAD SE	GUN LA TI	EMPERATU	JRA
5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40.°
1,322	1,318	1,314	1,310	1,307	1,303	1,299	1,296
1,317	1,313	1,309	1,305	1,302	1,298	1,295	1,291
1,312	1,308	1,304	1,300	1,297	1,293	1,289	1,286
1,307	1,303	1,299	1,295	1,292	1,288	1,284	1,281
1,302	1,298	1,294	1,290	1,287	1,283	1,279	1,276
1,297	1,293	1,289	1,285	1,282	1,278	1,274	1,271
1,292	1,288	1,284	1,280	1,277	1,273	1,269	1,266
1,287	1,282	1,279	1,275	1,272	1,268	1,264	1,261
1,281	1,277	1,274	1,270	1,267	1,263	1,259	1,256
1,276	1,272	1,269	1,265	1,262	1,258	1,254	1,251
1,272	1,267	1,264	1,260	1,257	1,253	1,249	1,246
1,266	1,262	1,259	1,255	1,252	1,248	1,244	1,241
1,261	1,257	1,254	1,250	1,247	1,243	1,239	1,236
1,256	1,252	1,249	1,245	1,242	1,238	1,234	1,231
1,251	1,247	1,244	1,240	1,237	1,233	1,229	1,226
1,246	1,242	1,239	1,235	1,232	1,228	1,224	1,221
1,241	1,237	1,234	1,230	1,227	1,223	1,219	1,216
1,235	1,232	1,229	1,225	1,222	1,218	1,214	1,211
1,230	1,227	1,224	1,220	1,217	1,213	1,209	1,206
1,225	1,221	1,219	1,215	1,212	1,208	1,204	1,201
1,220	1,216	1,213	1,210	1,207	1,203	1,199	1,196
1,215	1,211	1,208	1,205	1,202	1,198	1,194	1,191
1,210	1,206	1,203	1,200	1,197	1,193	1,190	1,186
1,205	1,201	1,198	1,195	1,192	1,188	1,185	1,181
1,199	1,196	1,193	1,190	1,187	1,184	1,180	1,176
1,194	1,191	1,188	1,185	1,182	1,178	1,175	1,171
1,189	1,186	1,182	1,180	1,177	1,174	1,170	1,166
1,184	1,181	1,177	1,175	1,172	1,169	1,165	1,162
1,179	1,176	1,172	1,170	1,167	1,164	1,160	1,157
1,174	1,171	1,167	1,165	1,162	1,159	1,155	1,152
1,169	1,165	1,162	1,160	1,157	1,154	1,150	1,147
1,163	1,160	1,157	1,155	1,152	1,149	1,145	1,142
1,158	1,155	1,152	1,150	1,147	1,144	1,141	1,137

ANEXO 5 FICHA TÉCNICA DE LOS NUTRIENTES Nutri-Ponic

PRODUCTO: Nutri-Ponic

Registro de venta ICA No 3965

GENERALIDADES

La fórmula del Nutri-Ponic está cuidadosamente diseñada para suplir los elementos a concentración ISOTONICA. Esto evita el riesgo de peligrosas acumulaciones de los mismos a la vez que suple todos los elementos esenciales en cantidades ideales para el óptimo desarrollo de todos los cultivos. Las plantas tienen la capacidad de concentrar los elementos que absorben por la raíz entre 100 y 200 veces en el tejido seco, dependiendo de la tasa de transpiración. Por lo tanto las concentraciones de elementos y las dosificaciones sugeridas son aptas en la mayoría de los casos para suplir la totalidad de las necesidades nutricionales de las plantas.

COMPOSICIÓN GARANTIZADA

Nitrógeno Nítrico (N-NO3)	40.3 gr/lt
Nitrógeno Amoniacal (N-NH4)	4.0 gr/lt
Fósforo (P2O5)	20.4 gr/lt
Potasio (K2O)	50.6 gr/lt
Calcio (Ca)	28.8 gr/lt
Magnesio (Mg)	11.4 gr/lt
Azufre (S)	1.0 gr/lt
Hierro (Fe)	1120 mg/lt

Manganeso (Mn)	112 mg/lt
Cobre (Cu)	12.0 mg/lt
Zinc (Zn)	26.4 mg/lt
Boro (B)	106 mg/lt
Molibdeno (Mo)	1.2 mg/lt
Cobalto (Co)	0.36 mg/lt

NTW: 013WALCO S.A

BENEFICIOS

- Nutri-ponic proporciona elementos mayores y menores
- Nutri-ponic único con balance fisiológico para las plantas
- Nutri-ponic puede aplicarse tanto en cultivos hidropónicos como en suelo
- Nutri-ponic proporciona un rápido efecto en la recuperación de cultivos con deficiencias
- Nutri-ponic en mezcla con AMINOPLEX permite la recuperación de cultivos con toxicidades
- Nutri-ponic puede ser utilizado en todas las épocas y estados del cultivo

USOS

El Nutri-Ponic se puede utilizar para todo tipo de cultivo ya sea en sistemas hidropónicos (preparación de soluciones nutritivas para sustratos inertes) como de forma foliar, es un producto de balance fisiológico, el cual proporciona notables resultados en poco tiempo.

DOSIS Y APLICACIONES

Las dosis recomendadas para ser aplicadas por vía foliar en cultivos extensivos como Arroz son de 2 a 3 litros por hectárea y en cultivos hortícola, aplicar 1 litro por caneca de 200 litros. En otros cultivos Como Banano y Plátano aplicar de 5 cm³ por litro de agua en viveros y de 2 a 3 litros por hectárea en cultivos establecidos, el NUTRI-PONIC puede se aplicado en mezcla con AMINOPLEX-2 en dosis de 0,5 litros por hectárea potencializando el efecto del fertilizante. La dosis de Nutri-Ponic para sustratos altamente permeables y de baja capacidad de fijación de elementos como escoria de carbón, cascarilla de arroz, cenizas de cascarilla de arroz, arenas, gravillas, arcillas expandidas, aserrín, vermiculita, icopor, espumas sintéticas, suelos arenosos, etc., es de 5 c.c. por litro de agua, (Un Full Fisiológico, 1F), pudiéndose hacer la aplicación a través de inyectores de riego a una tasa de 1 en 200.

ANEXO 6 TABLAS DISTRIBUCIÓN F

DISTRIBUCIÓN F.

*υ*₁: Grados de libertad del numerador . *U*₂: Grados de libertad del denominador. Probabilidad (*α*) en el extremo superior de la distribución.



	de	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	00
U_{2}	unv_1	- 00	. 95.		*0		12	1.69			19000	Xeeping
1	0.8	39.86	49.50	53.59	55.83	57.24	58.20	58.91	59.44	59.86	60.19	63.33
	8.05	181.45	100.5	215 71	224 58	230 16	233.00	238 77	238 88	240 54	241 RR	254 31
-	0.025	647 79	799.50	864 16	899 58	921.85	937 11	948 22	956 66	963 28	968.63	1018 23
-	0.01	4052.2	4999 5	5403.4	5624 60	5763.6	5859.0	5928.4	5981 1	6022.5	6055.8	6365.8
5	8 t	8.53	9.00	9.16	9 54	9.29	9.33	9.35	9.37	9.38	9.39	9.49
*	0.05	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19 35	19.37	19.38	19.40	19.50
	0.025	38.51	39.00	39 17	39.25	39.30	39.33	39.38	39.37	39.39	39.40	39.50
	0.01	GR 5	99.0	99.17	99.25	99.30	99.33	99.36	99.37	99.39	99.40	99.50
3	0.1	5.54	5.46	5.39	5.34	5.31	5.28	5.27	5.25	5.24	5.23	5.13
-	0.05	10.13	0.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8 79	8 53
1	0.025	17.64	16.04	35.44	15.10	14 98	14 73	14.62	14.54	14.47	14.42	13.90
-	0.01	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27 49	27.35	27 23	26 13
4	0.1	4 54	4 32	4.19	4.11	4 05	4.01	3.98	3.95	3.94	3.92	3.76
-	0.05	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.63
-	0.025	12.22	10.65	9.98	9.60	9.36	9.20	9.07	8.98	8.90	8.84	8.26
-	0.01	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14,80	14.66	14.55	13.46
5	0.1	4.06	3.78	3.62	3.52	3.45	3.40	3.37	3.34	3.32	3.30	3.11
-	0.05	6.61	5 79	5.41	5.19	5.05	4.95	4 88	4.82	4 77 .	4 74	4 37
1	0.025	10.01	8.43	7.76	7.39	7.15	6.98	6.85	6.76	6.68	6.62	6.02
-	0.01	16.26	13.27	12.08	11.39	10.97	10.67	10.46	10.29	10.16	10.05	9.02
6	0.1	3.78	3.46	3.29	3.18	3.11	3.05	3.01	2.98	2.98	2.94	2.72
	0.05	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	3.67
	0.025	8.81	7.26	6.60	6.23	5.99	5.82	5.70	5.60	5.52	5.46	4.85
-	0.01	13.75	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98	7.87	6.88
7	0.1	3.59	3.26	3.07	2.96	2.88	2.83	2.78	2.75	2.72	2.70	2.47
	0.05	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.23
	0.025	8.07	6,54	5,89	5.52	5.29	5.12	4.99	4.90	4.82	4.76	4.14
-	0.01	12.25	9,55	8.45	7.85	7.46	7.19	6.99	6.84	6.72	6.62	5.65
8	0.1	3.46	3.11	2.92	2.81	2.73	2.67	2.62	2.59	2.56	2.54	2.29
-	0.05	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3,50	3.44	3.39	3.35	2.93
	0.025	7.57	6.06	5.42	5.05	4.82	4.65	4.53	4.43	4.36	4.30	3.67
	0.01	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.18	6.03	5.91	5.81	4.86
9	0.1	3.36	3.01	2.81	2.69	2.61	2.55	2.51	2.47	2.44	2.42	2.16
1	0.05	5.12	4.26	3,86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	2.71
	0.025	7.21	5.71	5.08	4.72	4.48	4.32	4.20	4.10	4.03	3.96	3.33
1	0.01	10.56	8.02	6,99	6.42	6.06	5.80	5.61	5.47	5.35	5.26	4.31
10	0.1	3.29	2.92	2.73	2.61	2.52	2.46	2.41	2.38	2.35	2.32	2.06
	0.05	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.54
	0.025	6.94	5.46	4.83	4.47	4.24	4.07	3.95	3.85	3.78	3.72	3.08
	0.01	10.04	7.56	6.55	5.99	5.64	5.39	5.20	5.06	4.94	4.85	3.91
11	0.1	3.23	2.86	2.66	2.54	2.45	2.39	2.34	2.30	2.27	2.25	1.97
	0.05	4.84	3.98	3.59	3.36 .	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.40
	0.025	6.72	5.26	4.63	4.28	4.04	3:88	3.76	3.66	3.59	3.53	2.88
-	0.01	9.65	7.21	R 22	5.67	6 30	5.07	4 80	A 7A	1 62	4.54	3.60

20	104	0.40	10.04	0.04	0.40	10.00	0.00	0.00	10.04	0.04	10.40	14.00
32	0,1	J. 18	2.81	2.01	2.48	2.39	2.33	2.28	2.24	2.21	12.19	1.90
	0.05	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.30
_	0.025	6,55	5.10	4.47	4.12	3.89	3.73	3.61	3.51	3.44	3.37	2.72
-	0.04	0.22	8.02	5.05	5.44	5.00	A 00	1.01	1.50	1 20	1 20	2.20
	0.03	0.00	0.00	0.00	0.41	0.00	9.02	4,04	9.00	4.35	4.30	3.30
13	0.1	3,14	2.76	2.56	2.43	2.35	2.28	2.23	2.20	2.16	2.14	1.85
	0.05	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.21
-	0.025	841	4 97	4 35	4.00	3 77	3.60	3.48	3 30	2.31	3.25	2.50
-	0.040	0.07	8 70	E 74	6.00	4.00	1.00	4.44	1.00	4.40	14.40	0.47
	0.01	9.07	0.70	D./4	5.21	4.86	4.62	4.44	4.30	4.19	4.10	3.17
14	0.1	3.10	2.73	2.52	2.39	2.31	2.24	2.19	2.15	2.12	2.10	1.80
	0.05	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2 13
-	0.000	2 20	4.0.0	4.74	2.00	2.00	0.00	2.20	3.00	2.00	0.45	0.40
-	0.025	0.30	4.00	4.24	5.69	3,00	3,50	3,36	3.23	3.21	3.10	2.48
-	0.01	8.86	6.51	5.56	5.04	4.69	4.46	4.28	4.14	4.03	3.94	3.00
15	01	3 07	2.70	2.49	2.36	2.27	221	2.16	2.12	2.09	2.06	1 76
18.96	0.05	1.51	3.68	3.20	3.08	2.00	2 70	2.74	2.64	2.50	2.54	2.07
-	0.05	9.04	0.00	0.20	3.00	2.90	12.18	2.11	2.04	2.09	2.34	2.01
	0.025	6.20	4.77	4.15	3.80	3.58	3.41	3.29	3.20	3,12	3.06	2.39
	0.01	8.68	6.36	5.42	4.89	4,56	4.32	4.14	4.00	3.89	3.80	2.87
16	0.1	3.05	2.67	2 46	1233	2.24	2.18	213	2.09	2.06	2.03	1 72
	0.0	4.40	2.62	2.24	2.04	2.05	0.74	2.00	0.50	0.54	2.00	10.04
	0.05	9,49	3.03	3.24	3.01	2.85	Z.74	2.00	2.09	2.54	2.49	2.01
	0.025	6.12	4.69	4.08	3.73	3.50	3.34	3.22	3.12	3.05	2.99	2.31
	0.01	8.53	6.23	5.29	4.77	4.44	4.20	4.03	3.89	3.78	3.69	2.75
17	0.4	2.02	2.64	244	2.31	2.22	2.15	2 10	2.08	2.02	2.00	1.60
34	O.F	0.00	2.04	2,44	2.01	2.26	2.10	2.10	2.00	2.00	2.00	1.09
-	0.05	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	1.96
	0.025	4.45	4.62	4.01	3.66	3.44	3.28	3.16	3.06	2.98	2.92	2.24
	0.01	B.40	6.11	5.18	4.67	4.34	4.10	3.93	3.79	3.68	3.59	2.65
40	0.4	2.04	2.62	2 40	2.00	2.00	2.40	2.00	2.04	2.00	1 00	1.00
10	Wat	3.01	2.02	2.42	6.29	2.20	2.13	2.08	2.04	2.00	1.98	1.00
1	0.05	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	1.92
	0.025	5.98	4.56	3.95	3.61	3.38	3.22	3.10	3.01	2.93	2.87	2.18
_	0.01	8.20	8.04	5.00	4 58	4.25	4.01	2.94	2.74	3.60	3.51	2.57
	0.01	0.20	0.01	0.00	4,00	4.20	4.01	0.04	0.11	3.00	0.01	2.07
19	0.1	2.99	2.61	2.40	2.27	2.18	2.11	2.06	2.02	1.98	1.96	1.63
	0.05	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	1.88
-	0.025	6.02	4.51	3.00	3.50	3.35	3 +7	3.05	0.56	2.88	2 82	233
	0.04	10.40	15.00	5.04	4.50	1.00	2.04	0.00	0.00	2.00	2.42	12.10
	0.01	10.10	0.00	0.01	4.00	9.1/	3.84	3.11	10.00	0.02	3.43	2.49
20	0.1	2.97	2.59	2.38	2.25	2.16	2.09	2.04	2.00	1.96	1.94	1.61
	0.05	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	1.84
	0.025	5.87	4 46	3.85	3.51	3 20	313	3.01	2.91	2.84	277	2.08
	0.020	0.07	5.05	14.00	1.42	0.20	0.10	0.01	2.01	2.04	0.07	2.00
	0.01	8.10	0.80	4.94	4.43	4.10	3.8/	3.70	3.56	3.40	3.31	2.42
21	0.1	2.96	2.57	2.36	2.23	2.14	2.08	2.02	1.98	1.95	1.92	1.59
	0.05	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.372	2.32	1.81
-	0.025	5.83	4 42	3.82	3.48	3.25	3.00	2.97	2.87	2.80	273	2.04
	0,020	0.00	9,92	1.02	0.40	0.20	0.00	2.01	2.01	2.00	2.10	2.04
	0.01	8.02	5.78	4.87	4.37	4.04	3.81	3.64	3.51	3.40	3.31	2.36
22	0.1	2.95	2.56	2.35	2.22	2.13	2.06	2.01	1.97	1.93	1.90	1.57
31222	0.05	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	246	2.40	2.34	230	1 78
	0.025	5 70	4 30	3 70	3.44	2.00	3.05	2.02	2.04	2.76	270	2.00
-	0.020	0.18	4,00	0.70	0.44	0.22	3.00	2.00	2.04	2.10	2.70	2.00
1	0.01	7.95	5.72	4.82	4.31	3.99	3.76	3.59	3.45	3.35	3.26	2.31
23	0.1	2.94*	2.55	2.34	2.21	2.11	2.05	1,99	1.95	1.92	1.89	1.55
	0.05	4.28	3:42	3.03	2.80	2.64	2.53	244	2.37	2.32	2 27	1.76
	0.025	E 7E	1 56	2.75	9.44	2.40	2.00	2.00	2.04	0.70	2.67	1.00
_	0.020	0.10	4.00	0.10	3.41	0.18	0.02	2.80	2.01	2.13	2.07	1.90
-	0.01	7.88	5.66	4.76	4.26	3.94	3.71	3.54	3.41	3.30	3.21	2.26
24	0.1	2.93	2.54	2.33	2.19	2.10	2.04	1.98	1.94	1,91	1.88	1.53
	0.05	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	242	2.38	230	2.25	173
	0.005	E 20	4.00	0.01	0.00	0.45	0.00	0.07	0.70	12.00	0.64	1.10
	0.025	0.72	4.52	3.12	3.38	3,15	2.99	2.87	2.78	12.70	2.64	1.93
	0.01	7.82	5.61	4.72	4.22	3.90	3.67	3.50	3.36	3.26	3.17	2.21
25	0.1	2.92	2.53	2.32	2.18	2.09	2.02	1.97	1.93	1.89	1.87	1.52
	0.05	4.94	3.30	2.00	0.75	2.00	2.40	3.40	2.24	10.00	2.24	4.74
	0.00	4.24	2.29	2.89	2.70	2.00	2.49	2.40	2.34	2.20	6.24	3.73
	0.025	5.69	4.29	3.69	3.35	3.13	2.97	2.85	2.75	2.68	2.61	1.90
	0.01	7.77	5.57	4.68	4.18	3.85	3.63	3.46	3.32	3.22	3.13	2.17
	0.4	2.04	2.62	0.24	2.17	2.08	2.04	1.06	1.02	1.00	1.86	1.50
2.6	W.T.	4.81	2.32	2.31	6.11	2.08	2.01	1.90	1.82	1.00	1,60	1.02
26	the second se	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	1.69
26	0.05	the second se	4 19.72	3.67	3.33	3.10	2.94	2.82	2.73	2.65	2.59	1.87
26	0.05	5,66	14.27	a state of the second sec					10.00			
26	0.05	5.66	4.27	1.64	1 14	3 83	3 60	2 42	1 3 20	13 10	2 00	10.10
26	0.05	5.66	5.53	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.18	3.09	2.13
26	0.05 0.025 0.01 0.1	5.66 7.72 2.90	4.27 5.53 2.51	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.18	3.09	1.49
26	0.05 0.025 0.01 0.1 0.05	5.66 7.72 2.90 4.21	4.27 5.53 2.51 3.35	4.64 2.30 2.96	4.14 2.17 2.73	3.82 2.07 2.57	3.59 2.00 2.46	3.42 1.95 2.37	3.29 1.91 2.31	3.18 1.87 2.25	3.09 1.85 2.20	2.13 1.49 1.67
26	0.05 0.025 0.01 0.1 0.05 0.025	5.66 7.72 2.90 4.21 5.63	4.27 5.53 2.51 3.35 4.24	4.64 2.30 2.96 3.65	4.14 2.17 2.73 3.31	3.82 2.07 2.57 3.08	3.59 2.00 2.46 2.92	3.42 1.95 2.37 2.80	3.29 1.91 2.31 2.71	3.18 1.87 2.25 2.63	3.09 1.85 2.20 2.57	2.13 1.49 1.67
26	0.05 0.025 0.01 0.1 0.05 0.025	5.66 7.72 2.90 4.21 5.63	4.27 5.53 2.51 3.35 4.24	4.64 2.30 2.96 3.65	4.14 2.17 2.73 3.31	3.82 2.07 2.57 3.08	3.59 2.00 2.46 2.92	3.42 1.95 2.37 2.80	3.29 1.91 2.31 2.71	3.18 1.87 2.25 2.63	3.09 1.85 2.20 2.57	2.13 1.49 1.67 1.85

28	0.1	2.89	2.50	2.29	2.16	2.06	2.00	1.94	1.90	1.87	1.84	1.48
enterfact of	0.05	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	1.65
	0.025	5.61	4.22	3.63	3.29	3.06	2.90	2.78	2.69	2.61	2.55	1.83
-	0.01	7.64	5.45	4.57	4.07	3.75	3.53	3.36	3.23	3.12	3.03	2.06
29	0.1	2.89	2.50	2.28	2.15	2.06	1.99	1.93	1.89	1.86	1.83	1.47
	0.05	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	1.64
	0.025	5.59	4.20	3.61	3.27	3.04	2.88	2.76	2.67	2.59	2.53	1.80
	0.01	7.60	5.42	4.54	4.04	3.73	3.50	3.33	3.20	3.09	3.00	2.03
30	0.1	2.88	2.49	2.28	2.14	2.05	1.98	1.93	1.88	1.85	1.82	1.46
	0.05	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	1.62
	0.025	5.57	4.18	3.59	3.25	3.03	2.87	2.75	2.65	2.57	2.51	1.79
	0.01	7.56	5.39	4.51	4.02	3.70	3.47	3.30	3.17	3.07	2.98	2.01
40	0.1	2.84	2.44	2.23	2.09	2.00	1.93	1.87	1.83	1.79	1.76	1.38
	0.05	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	1.51
	0.025	5.42	4.05	3.46	3.13	2.90	2.74	2.62	2.53	2.45	2.39	1.64
10.00	0.01	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.89	2.80 .	1.81
60	0.1	2.79	2.39	2.18	2.04	1.95	1.87	1.82	1.77	1.74	1.71 .	1.29
	0.05	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.39
	0.025	5.29	3.93	3.34	3.01	2.79	2.63	2.51	2.41	2.33	2.27	1.48
	0.01	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72	2.63	1.60
00	0.1	2.71	2.30	2.08	1.95	1.85	1.77	1.72	1.67	1.63	1.60	1.00
	0.05	3.84	3.00	2.61	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.00
	0.025	5.02	3.69	3.12	2.79	2.57	2.41	2.29	2.19	2.11	2.05	1.00
	0.01	6.64	4.61	3.78	3.32	3.02	2.80	2.64	2.51	2.41	2.32	1.00

ANEXO 7 REACTIVO DNS

Tabla 92: Solución DNS para 250mL

Reactivo	Cantidad (g)
NaOH	2
Tartrato de Na y K	40
Fenol	0,4
Na ₂ SO ₃	0,1
DNS	2

ANEXO 8 ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS AZÚCARES REDUCTORES TOTALES

Para la creación de la curva de calibración, se toma como referencia la sacarosa siendo esta una de las materias primas fundamentales para la elaboración de bebidas gaseosas carbonatadas y es una la fuente de alimento para la *Saccharomyces cerevisiae*. El método de cuantificación de azúcares reductores (DNS) reacciona con azúcares monosacáridos (glucosa y fructosa), la sacarosa es un disacárido formada por una molécula de glucosa y una fructosa unidas por un enlace O- glucosidico, es un disacárido que no tiene poder reductor sobre el reactivo de fehling, por tal razón se debe romper dicho enlace por medio de una hidrólisis ácida con H_2SO_4 .

La preparación de las soluciones a distintas concentraciones de azúcar para crear la curva de calibración se muestra en la tabla 93.

Tabla	93.	Soluciones	а	distintas
concentra	acione	s de azúcar		
Conce	entrac	ión A	zúcar	(g)
(9	g*L ⁻¹)			
	300		9	
	270		8,1	
	240		7,2	
	210		6,3	
	180		5,4	
	150		4,5	
	120		3,6	
	90		2,7	
	60		1,8	
	30		0,9	
B	lanco		0	

Fuente. Elaboración propia

Para la preparación de la soluciones se toman 10 Beackers donde añaden a cada uno 25 ml de agua destilada, 5 ml de nutrientes (Nutri-Ponic) previamente preparado, la cantidad de azúcar calculada y debidamente pesada. Se agitan vigorosamente hasta que el azúcar se diluya por completo, posteriormente se vierten los 30 ml de cada disolución en un balón. Por cada gramo de azúcar en la disolución se añaden 4 ml de solución de H_2SO_4 con una concentración de 2N. Se arma el montaje del reflujo, se procede a hacer reaccionar la sacarosa y el H_2SO_4 por un periodo de 20 minutos a partir de que llegue a la temperatura de burbuja. En la ilustración 19 se muestra el montaje de la hidrólisis ácida para la ceacion de la curva de calibración.



Ilustración 19. Hidrólisis ácida

Fuente. Elaboración propia

En el diagrama 15 se muestra el correspondiente proceso para la hidrólisis ácida.





Fuente. Elaboración propia

Después de los 20 minutos de reflujo y las moléculas de sacarosa convertidas en glucosa y fructosa se procede a realizar la determinación de azúcares reductores DNS. El primer paso se prepara el reactivo de fehling.

Se preparan 11 tubos de ensayo con tapa debidamente rotulados y marcados, colocando en cada uno 0,5 ml de muestra, añadir 2 ml de reactivo DNS preparado previamente. Para el blanco se toman 2 ml de reactivo DNS y 0,5 ml de agua destilada. Posteriormente se prepara el baño serológico a una temperatura de 40 °C y se introducen los 11 tubos de ensayo en el baño por un periodo de 10 minutos. Pasado este tiempo se toma un Beacker de 1000 ml, se le agrega agua con hielo y se sumergen los 11 tubos hasta que se enfríen. Finalmente se diluye cada muestra a una relación 1/30, añadiendo 60 ml de agua destilada a cada tubo y se pasa por el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

En la ilustraciones 20, 21 y 22 se muestra el proceso para la determinación de azúcares por DNS.





Fuente. Elaboración propia

Ilustración 21. Baño serológico



Fuente. Elaboración propia

Ilustración 22. Muestras después de enfriarse



Fuente. Elaboración propia

En el diagrama 16 se muestra el correspondiente proceso para la determinación de azúcares reductores DNS.

Diagrama 16. Determinación de azúcares reductores DNS para la curva de calibración



ANEXO 9 ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LA LEVADURA

Para calcular la concentración de inicial de levadura, se utiliza el método de cuantificación de microorganismos por cama de Neubauer. Se pesa 0,1666 g de levadura liofilizada y se vierte en 10 ml de agua destilada dejando que se hidrate por si sola. Después de hidratada la levadura, con una pipeta se saca 1ml de inoculo y se le agregan 100 ml de agua destilada, realizando una disolución con una relación 1/100. Posteriormente con una micro pipeta se toman 20 µL de la disolución, poniéndolos en una cámara de Neubauer. Finalmente con un microscopio se realiza el conteo de células por cuadrantes de la cama de Neubauer.

La elaboración de la curva de calibración, se arma el montaje de destilación para la concentración de los azúcares de la bebida gaseosa carbonatada vencida. Se colocan 9 litros de bebida de distintos sabores que se encuentran en un rango de concentración de azúcar de 12 a 19 grados Brix (°Bx) y se mezclan con 9000 mg de ácido ascórbico. Se destila por un tiempo de 4 horas aproximadamente con el fin de elevar la concentración de azúcar a unos 32 grados Brix (°Bx).

El ácido ascórbico utilizado para la preparación de los 2 mejores medios de cultivos en el diseño de experimentos, es de la marca Good´n Natural de referencia Vitamin C-1000mg, se caracteriza por traer tabletas de 500mg de los cueles contiene 92,0% de ácido ascórbico (vitamina C) y 8,0% de calcio. El producto utilizado se puede apreciar en la ilustración 23.



Ilustración 23. Ácido Ascórbico

Fuente. Elaboración propia

Se toman 10 probetas de 100 ml y a cada una se le agregan 40 ml de sustrato y 5 ml de nutriente (Nutri-Ponic) adecuados previamente Anexo 5. Adecuados los medios de cultivo se proceden a la preparación de los inóculos. Se toman 10 tubos de ensayo donde se les añade a cada uno 5 ml de agua destilada y la cantidad de levadura calculada y pesada previamente, sin agitar la levadura se deja que se hidrate por si sola. Las muestras de inoculación se introducen en un baño serológico por un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 35 °C para activación de la levadura.

Pasado los 20 minutos y la levadura ya activada se realiza la inoculación del 10 % de volumen de los cultivos, se agita suavemente hasta homogeneizar. Se toman 5 ml de cada cultivo y se vierten en unas celdas para espectrofotómetro para su lectura de absorbancia a una longitud de onda de 560 nm en el espectrofotómetro. Este procedimiento se hace para la construcción de la curva de calibración para cultivos de 200 y 250 g^{*}L⁻¹ de sustrato como se muestra en las tablas 79 y 80.

En el diagrama 17 se muestra el correspondiente proceso para la elaboración de las curvas de calibración.



Diagrama 17. Elaboración de las curvas de calibración

En la tabla 94 se muestra las cantidades para la preparación de los cultivos para la curva de calibración con una concentración de azúcares de 200 g*L⁻¹.

Tabla 94. curva de ca	Preparación de los alibración de azúcare	cultivos para la s de 200 q*L ⁻¹
Cultivo	Concentración de	Levadura
	microorganismo (Células/ml)	(g)
Blanco	0	0
M1	1,72E+08	0,0833
M2	5,16E+08	0,25
M3	1,03E+09	0,5
M4	1,55E+09	0,75
M5	2,07E+09	1
M6	2,58E+09	1,25
M7	3,10E+09	1,5
M8	3,61E+09	1,75
M9	4,30E+09	2,0833
M10	5,16E+09	2,5

Fuente. Elaboración propia

En la tabla 95 se muestra las cantidades para la preparación de los cultivos para la curva de calibración con una concentración de azúcares de 250 g*L⁻¹.

Cultivo	Concentración de microorganismo (Células/ml)	Levadura (g)
Blanco	0	0
M1	1,72E+08	0,0833
M2	5,16E+08	0,25
M3	1,03E+09	0,5
M4	1,55E+09	0,75
M5	2,07E+09	1
M6	2,58E+09	1,25
M7	3,10E+09	1,5
M8	3,61E+09	1,75
M9	4,30E+09	2,0833
M10	5,16E+09	2,5

Tabla 95. Preparación de los cultivos para la curva de calibración de azúcares de 250 g^*L^{-1}

ANEXO 10 BASES DE CÁLCULO DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA PARA EL DISEÑO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Ecuación 184. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 185. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{ijk} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 8$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 186. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum Y_{i..}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_A = \frac{1}{3 * 3} * (2^2 + 2^2 + 5^2) - \frac{9^2}{27}$$
$$SE_A = 0,6666666667$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 187. Suma de cuadrados entre factores B

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 188. Suma de cuadrados entre factores AB

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 189. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

 $SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$ $SCD_{ER} = 8 - 0,6666666667 - 4,222222222 - 0,444444444$ $SCD_{ER} = 2,6666666667$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 2,25 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 37 que se muestra a continuación.



Gráfica 37. Distribución F para el factor A

Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_0: \alpha = 0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 14,25 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 38 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis H_o:α=0 se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 0,75 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 39 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_{o}:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

ANEXO 11 BASES DE CÁLCULO DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA PARA EL DISEÑO DE LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO FINAL

Ecuación 190. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 191. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 541,3518519$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 192. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum Y_{i..}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_A = \frac{1}{3*3} * (30,5^2 + 44^2 + 103^2) - \frac{177,5^2}{27}$$
$$SCE_A = 330,3518519$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 193. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = \frac{1}{3 * 3} * (83^2 + 67^2 + 27,5^2) - \frac{177,5^2}{27}$$
$$SCE_B = 181,3518519$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 194. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum Y_{ij.}^{2} - \frac{Y_{...}^{2}}{N} - SCE_{A} - SCE_{B}$$
$$SCE_{AB} = \frac{1}{3} * (83^{2} + 67^{2} + 27,5^{2} + 30,5^{2} + 44^{2} + 103^{2}) - \frac{177,5^{2}}{27} - 330,351$$
$$- 181,35$$

$$SCE_{AB} = 7,148148148$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 195. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

 $SCD_{ER} = 541,3518519 - 330,3518519 - 181,3518519 - 7,148148148$
 $SCD_{ER} = 22,5$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 132,140 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 40 que se muestra a continuación.



Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato inicial sobre la concentración de sustrato final.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 72,540 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 41 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis H_o:α=0 se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la concentración de sustrato final.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 1,4296y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 42 que se muestra a continuación.



Gráfica 42. Distribución F para la interacción de los

Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_{o}:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato inicial y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

ANEXO 12 BASES DE CÁLCULO DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA PARA EL DISEÑO DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH) FINAL

Ecuación 196. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 197. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 0,751851852$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 198. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum Y_{i..}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$$
$$SCE_A = \frac{1}{3*3} * (35,2^2 + 37,3^2 + 37,5^2) - \frac{110^2}{27}$$
$$SCE_A = 0,360740741$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 199. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = \frac{1}{3*3} * (37,1^2 + 37,3^2 + 35,6^2) - \frac{110^2}{27}$$
$$SCE_B = 0,191851852$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 200. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum Y_{ij.}^{2} - \frac{Y_{...}^{2}}{N} - SCE_{A} - SCE_{B}$$

$$SCE_{AB} = \frac{1}{3} * (37,1^{2} + 37,3^{2} + 35,6^{2} + 35,2^{2} + 37,3^{2} + 37,5^{2}) - \frac{110^{2}}{27} - 0,3607$$

$$- 0,19185$$

$$SCE_{AB} = 0,065925926$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 201. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

$$SCD_{ER} = 0,751851852 - 0,360740741 - 0,191851852 - 0,065925926$$

$$SCD_{ER} = 0,1333333333$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 24,35 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 43 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto de la concentración de sustrato inicial sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 12,95 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 44 que se muestra a continuación.





Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 2,225 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 45 que se muestra a continuación.





Como resultado la variable F queda en la zona de aceptación de la hipótesis $H_0:\alpha\beta=0$ se llega a la conclusión que no hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre el potencial de hidrógeno (pH) final.

Fuente. Elaboración propia

Fuente. Elaboración propia

ANEXO 13 BASES DE CÁLCULO DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA PARA EL DISEÑO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Ecuación 202. Numero de datos del diseño de experimentos

$$N = a * b * n_{replicas}$$
$$N = 3 * 3 * 3 = 27$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 203. Suma de cuadrados totales

$$SCT = SCE_A + SCE_B + SCE_{AB} + SCD_{ER}$$
$$\sum_{SCT} Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCT = 59,62962963$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 204. Suma de cuadrados entre factores A

$$SCE_A = \frac{1}{bn} \sum Y_{i..}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$$
$$SCE_A = \frac{1}{3 * 3} * (65^2 + 70^2 + 62^2) - \frac{197^2}{27}$$
$$SCE_A = 3,62962963$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 205. Suma de cuadrados entre factores B

$$SCE_B = \frac{1}{an} \sum Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$$
$$SCE_B = \frac{1}{3*3} * (54^2 + 63^2 + 80^2) - \frac{197^2}{27}$$
$$SCE_B = 38,74074074$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 206. Suma de cuadrados entre factores AB

$$SCE_{AB} = \frac{1}{n} \sum Y_{ij.}^{2} - \frac{Y_{...}^{2}}{N} - SCE_{A} - SCE_{B}$$

$$SCE_{AB} = \frac{1}{3} * (54^{2} + 63^{2} + 80^{2} + 65^{2} + 70^{2} + 62^{2}) - \frac{197^{2}}{27} - 3,62962963$$

$$- 38,74074074$$

$$SCE_{AB} = 13,25925926$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Ecuación 207. Suma de cuadrados dentro de tratamiento

$$SCD_{ER} = SCT - SCE_A - SCE_B - SCE_{AB}$$

$$SCD_{ER} = 59,62962963 - 3,62962963 - 38,74074074 - 13,25925926$$

$$SCD_{ER} = 4$$

Fuente. WALPOLE,ronald; MYERS,raymond andMYERS,Sharon. Probabilidad y estadística para ingenieros sexta ed. México FC: Pearson Educación, 1999. 465 p.

Factor A.

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_A de 8,166 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 46 que se muestra a continuación.



Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_o:\alpha=0$ se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de sustrato sobre la obtención de bioetanol.

Factor B.

Para el factor B, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_B de 87,166 y un valor F de tablas de 3,55. Con estos resultados se construye la gráfica 47 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis H_o:α=0 se llega a la conclusión que hay efecto de la concentración de microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

Interacción de los factores A y B

Para el factor A, la tabla de análisis de varianza arroja un valor F_{AB} de 14,916 y un valor F de tablas de 2,93. Con estos resultados se construye la gráfica 48 que se muestra a continuación.





Fuente. Elaboración propia

Como resultado la variable F queda en la zona de rechazo de la hipótesis $H_0:\alpha\beta=$ **0** se llega a la conclusión que hay efecto en la interacción de la concentración de sustrato y microorganismos sobre la obtención de bioetanol.

ANEXO 14 DATOS PARA LA LINEALIZACIÓN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DEL MICROORGANISMO

Tabla 96. Datos para la linealización de la cinética de crecimiento del microorganismo del cultivo C1

Ďía	Observado	Predicción	Residual
0	0,000000	0,001645	-0,001645
1	0,000000	0,020192	-0,020192
2	0,099685	0,076203	0,023483
3	0,142798	0,153989	-0,011191
4	0,206320	0,223520	-0,017200
5	0,301464	0,272292	0,029172
8	0,310855	0,329022	-0,018167
9	0,320048	0,334174	-0,014126
10	0,329050	0,336935	-0,007885
11	0,337869	0,338407	-0,000538
12	0,346513	0,339189	0,007324
16	0,354988	0,340003	0,014985

Fuente. Elaboración propia

Tabla 97. Datos para la linealización de la cinética de crecimiento del microorganismo del cultivo C2

Día	Observado	Predicción	Residual
0	0,000000	0,009904	-0,009904
1	0,000000	0,035825	-0,035825
2	0,121477	0,076832	0,044645
3	0,121477	0,120831	0,000646
4	0,138422	0,158077	-0,019655
5	0,193010	0,185404	0,007606
8	0,207424	0,222880	-0,015456
9	0,214456	0,227331	-0,012875
10	0,221376	0,230014	-0,008639
11	0,234893	0,231622	0,003271
12	0,241496	0,232581	0,008915
16	0,248001	0,233813	0,014188

ANEXO 15 DATOS PARA LA LINEALIZACIÓN LA CINÉTICA DE CONSUMO DE SUSTRATO

Tabla 98. Datos para la linealización de la cinética de consumo de sustrato del cultivo C1

Día	Observado	Predicción	Residual
0	0,00000	-0,11009	0,110086
1	0,02169	-0,13832	0,116633
2	0,05216	-0,17265	0,120489
3	0,32092	-0,21379	-0,107128
4	0,36094	-0,26223	-0,098705
5	0,44045	-0,31812	-0,122329
8	0,52954	-0,52377	-0,005771
9	0,54207	-0,59980	0,057732
10	0,67499	-0,67588	0,000890
11	0,73018	-0,74958	0,019400
12	0,80107	-0,81881	0,017745
16	0,98752	-1,02804	0,040522

Fuente. Elaboración propia

Tabla 99. Datos para la linealización de la cinética de consumo de sustrato del cultivo C2

Día	Observado	Predicción	Residual
0	0,000000	-0,029316	0,029316
1	0,019495	-0,049589	0,030094
2	0,043576	-0,081836	0,038260
3	0,057801	-0,130011	0,072209
4	0,225407	-0,195634	-0,029774
5	0,385900	-0,274618	-0,111282
8	0,441392	-0,486778	0,045386
9	0,474945	-0,526501	0,051556
10	0,508157	-0,552177	0,044020
11	0,561508	-0,567960	0,006451
12	0,610267	-0,577363	-0,032904
16	0,614258	-0,588917	-0,025341

ANEXO 16 DATOS PARA LA LINEALIZACIÓN DE LA CINÉTICA DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Tabla 100. Datos para la linealización de la cinética de obtención de bioetanol del cultivo C1DíaObservadoPredicciónResidual00,0000000,053664-0,053664

	• • • • • • • • • •		
0	0,000000	0,053664	-0,053664
1	0,000000	0,084809	-0,084809
2	0,000000	0,131473	-0,131473
3	0,301030	0,198148	0,102882
4	0,301030	0,287229	0,013801
5	0,477121	0,396144	0,080977
8	0,698970	0,734199	-0,035229
9	0,778151	0,814239	-0,036088
10	0,845098	0,872402	-0,027304
11	0,903090	0,912254	-0,009164
12	0,954243	0,938471	0,015772
16	1,00000	0,976472	0,023528

Fuente. Elaboración propia

Tabla 101. Datos para la linealización de la cinética de obtención de bioetanol del cultivo C2

Día	Observado	Predicción	Residual
0	0,000000	0,009001	-0,009001
1	0,000000	0,016965	-0,016965
2	0,000000	0,031734	-0,031734
3	0,000000	0,058546	-0,058546
4	0,000000	0,105385	-0,105385
5	0,301030	0,181969	0,119061
8	0,602060	0,585446	0,016614
9	0,698970	0,713128	-0,014158
10	0,778151	0,805547	-0,027396
11	0,845098	0,864483	-0,019385
12	0,903090	0,899087	0,004003
16	0,954243	0,937551	0,016692

ANEXO 17 DATOS DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH)

Día	Potencial de hidrógeno (pH)
0	5
1	4,96
2	4,91
3	4,79
4	4,67
5	4,45
8	4,23
9	4,19
10	4,14
11	4,1
12	4,06
16	3,93
17	3.9

Tabla	102.	Datos	del	potencial	de
hidróge	eno (pl	H) para	el mo	edio de cul	tivo
C1					

Fuente. Elaboración propia

Tabla 103. Datos del potencial de hidrógeno (pH) para el medio de cultivo C2

Día	Potencial de hidrógeno (pH)
0	5.00
1	4,97
2	4,92
3	4,86
4	4,74
5	4,59
8	4,31
9	4,26
10	4,24
11	4,19
12	4,15
16	4,03
17	4,01

ANEXO 18 FICHA TÉCNICA DEL ACERO INOXIDABLE AISI 304

in the intern	Stainless Steel - AISI 304				
Fe/Cr18/	Ni10				
Stain throu stain be ha welde	less steels are iron ba gh the formation of an ess steel with a face c ardened by cold working ad structures.	sed alloys containing at invisible and adherent entered cubic structure. ng. The lower Carbon c	least 10.5% Chromium. The Chromium rich oxide film. Al It is essentially non-magnetic ontent compared with alloy 3	y achieve their stainless o loy 304 is a general purp in the annealed condition 302 gives better corrosion	characteristics ose austenitic and can only resistance in
Physical Pr Density Melting poin	operties	7.93 g cm ⁻³ 1400-1455 C	Thermal Properties Coefficient of thermal exp Thermal conductivity @23	ansion @20-100C C	18.0 x10 ⁻⁶ K ⁻¹ 16.3 W m ⁻¹ K ⁻¹
Electrical P Electrical re	roperties sistivity	70-72 µOhmem	Mechanical Properties Elongation at break Hardness - Brinell Izod impact strength Modulus of elasticity Tensile strength		< 60 % 160-190 20-136 J m ⁻¹ 190-210 GPa 460-1100 MPa
Depending this will ca	on current stock availabi use any issue please cor Foil	ity please note that we may tact us to discuss prior to o	substitute this grade of material w ordering.	vith a low carbon version (304	L) at no additiona
FE220200	Thickness	0.005mm	Temper	As rolled	
	Sizes LT Web Code 149-090-257 810-321-505 067-734-292	25 x 2 50 x 5 100 x 10	Size 1pc 2p 5 mm USD 347.00 USD 420.0 0 mm USD 516.00 USD 660.0 0 mm USD 856.00 USD 1140.0	Quantity cs 5pcs 10p 00 USD 569.00 USD 741. 00 USD 948.00 USD 1278. 00 USD 1708.00 USD 2352.	cs 20pc 00 USD 993.0 00 USD 1753.0 00
	Coil Web Code 600-487-497 417-304-100 452-735-390	Width 10 Le	Omm Quantity angth 1 Reel 0.2 m USD 1210.00 0.5 m USD 1806.00 0.5 m USD 1806.00 1 m USD 2497.00		
	Typical Analysis : Cr 17-2	0%, Mn <2%, Ni 8-11%, C <8	00, Fe balance.		
FE220130	Thickness	0.006mm 25 x 2 50 x 5	Size 1pc 2p 5 mm USD 287.00 USD 352. 0 mm USD 413.00 USD 638.	Quantity cs 5pcs 10p 00 USD 501.00 USD 812. 00 USD 1372.00 USD 2554.	cs 20pcs 00 USD 1435.00 00 USD 4917.00
	Sizes LT Web Code 743-840-511	25 x 2	Size 1pc 2p 5 mm USD 316.00 USD 387.0	Quantity cs 5pcs 10p 00 USD 552.00 USD 894.	cs 20pc 00 USD 1578.0
FE220207	Typical Analysis : Cr 17-2 Thickness	0%, Mn <2%, Ni 8-11%, C <8	00, Fe balance.	As rolled	v
LLLULUI	Sizes LT Web Code 845-770-788 163-108-876 530-046-202	25 x 2 50 x 5 100 x 10	Size 1pc 2p 5 mm USD 334.00 USD 403.0 0 mm USD 492.00 USD 625.0 0 mm USD 807.00 USD 1071.0	Quantity cs 5pcs 10p 00 USD 541.00 USD 702. 00 USD 893.00 USD 1200. 00 USD 1598.00 USD 2197.	cs 20pc 00 USD 938.0 00 USD 1643.0 00
	Coil Web Code 093-374-627 340-449-713 458-108-737	Width 10 Li	Omm Quantity ength 1 Reel 0.2 m USD 1140.00 0.5 m USD 1696.00 1 m USD 2342.00 1		
	Discs Web Code 408-316-799 998-730-849 779-474-645 439-321-805 123-978-779 198-839-318 831-866-573	Dia 1 1 2 2	Cuantity meter 10 discs 20 disc 4 mm USD 408.00 USD 477.10 DSD 539.10 8 mm USD 496.00 USD 539.10 DSD 649.10 USD 664.10 9 mm USD 540.00 USD 664.10 DSD 1421.10 USD 1421.10 USD 1421.10 USD 1913.11 D	cs 50 discs 00 USD 633.00 00 USD 731.00 00 USD 731.00 00 USD 929.00 00 USD 175.00 100 USD 1668.00 00	
	Typical Analysis : Cr 17-2	0%, Mn <2%, Ni 8-11%, C <8	00, Fe balance.		

ANEXO 19 FICHA TÉCNICA DEL ACERO INOXIDABLE AISI 316L



ANEXO 20 FICHA TÉCNICA DEL FILTRO ZTEC-WB

ZTEC-WB[™] — Membrane cartridge filters constructed of hydrophilic, asymmetric polyethersulfone membrane and polypropylene components. With extended surface area, these filters provide superior flow rates, improved dirt holding capacity and longer on-line service. Absolute rated and available in pore sizes of 0.2, 0.45, and 0.65 µm, ZTEC-WB filters have been validated for the removal of bacteria and spoilage organisms.

TefTEC VTM — Naturally hydrophobic expanded PTFE membrane filters designed for vent and gas applications. The TefTEC V provides outstanding air flow rates and demonstrates > 7LRV in an for aerosol bacteria challenge test.

WaterTEC[™] — Constructed of absolute rated, hydrophilic, asymmetric polyethersulfone membrane and polypropylene components. The filter is designed for overall filtration economy in non-critical, sub-micron applications.

OUTSTANDING SUPPORT AND SERVICE

Whether you are retrofitting an existing installation or installing a new filtration system, Graver Technologies provides outstanding technical support and service. In most cases, Graver can easily cross-reference existing filters. And our breadth of superior products helps assure system optimization for improved performance.

For new installations, Graver can size your filtration requirements and recommend the ideal combination of prefilters and final filters. Our high dirt-holding prefilters and fast-flowing membranes can minimize your filter housing requirements and resulting system footprint.

At every step—from initial order processing, through filter installation and integrity testing—Graver specialists ensure your satisfaction.

- Optional adapter configurations

 DOE, 226, 222, others
- Various O-ring/gasket materials available
- 2. Optimum pleat pack structure
- Maximizes flow rate and throughput
- 3. Rigid core and cage
- Exceptional thermal and hydraulic strength
 4. SEM
 - Consistent media performance
- 5. Optional end cap configurations
 - Flat, Fin, DOE


FILTRATION | SEPARATION | PURIFICATION

Graver Technologies

Product Specifications

Media: Asymmetric Polyethersulfone Membrane Inner core, end caps, cage: Polypropylene Support layers: Spunbonded Polypropylene

Gaskets/O-Rings: Buna-N, EPDM, Silicone, Teflon Encapsulated Viton (O-Rings only), Viton

Micron ratings: 0.2, 0.45, 0.65 µm

Dimensions

 Nominal lengths:

 9.75"
 10"
 20"
 30"
 40"

 24.8
 25.4
 50.8
 76.2
 101.6
 cm

 Outside diameter:
 2.7"
 (6.9 cm)
 6.9
 cm)

Inside diameter: 1.0" (2.54 cm) Surface area: 7.6 ft² (0.7 m²) per 10" element

Operating Parameters

Maximum sustained operating temperature: 176°F (80°C) at 20 psid (1.38 bar)

MaxImum differential pressure: 80 psid @ 70°F (4.14 bar @ 21°C) 40 psid @ 160°F (2.8 bar @ 71°C)

Maximum reverse differential pressure: 40 psid @ 70°F (2.8 bar @ 21°C)

Recommended change-out pressure: 35 psid (2.4 bar)



ZTEC[™] WB Series Filter Cartridges

Pleated Polyethersulfone (PES) Membrane for Critical Filtration in Beverage Applications

Protect your beverage from spoilage. ZTEC WB cartridge filters utilize a special polyethersulfone membrane to provide consistent removal of spoilage organisms and inorganic particulate. The product offers excellent retention efficiency and extended on-stream life making it an ideal filter for the clarification of beer, wine and bottled water. PES membrane available with 0.2, 0.45 and 0.65 µm pore sizes, is designed to meet and surpass the filtration criteria necessary to maintain product quality and character-istics. Produced in an ISO Class 7 cleanroom, the cartridges are integrity tested during production to assure performance and consistency.

FEATURES & BENEFITS

- Manufactured in an ISO Class 7 Cleanroom Environment
- 100% flushed with ultrapure DI water and integrity tested
- · Low adsorption of protein, color and flavor components
- Steamable/sanitizable for cleaning and reuse
- High log reduction values for spoilage organisms
- PES membrane provides high capacity contaminant loading
- Complete qualification guide available
- Ouick wet treatment available

CERTIFICATIONS

- USP Class VI: Meets USP Class VI Biological Test for Plastics
- FDA Listed Materials: All materials comply with FDA Title 21 of the Code of Federal Regulations Sections 174.5, 177.1520, and 177.2440 as applicable for food and beverage contact.
- European Directive for Food Contact: European Regulation No. 1935/2004 and European Regulation 10/2011: Tested for migration behavior and is suitable for contact with all kinds of foodstuffs with minimal rinse-up. Data available upon request.

TYPICAL APPLICATIONS

- White Wine Sparkling Wine
- Bottled Water
- Red Wine
 Wine/Malt Coolers
 Distilled Spirits
 Beer

Champagne

PERFORMANCE SPECIFICATIONS

- Hot DI Water: Filter cartridge will withstand temperatures of 185°F (85°C) for up to 30 consecutive minutes.
- Cleaning/Sanitization: Compatible with most common chemical cleaning, sanitizing and sterilizing agents and with pH range from 1–14. Consult factory for specific compatibility information.
- Steam/Autoclave: Cartridges may be steamed or autoclaved for at least 50 thirty-minute cycles @ 275°F (135°C).

		ZTEC V	VB NO	MEN	CLATURE INFORMAT	ION			
Filter Type	Retention Rating (microns)	Nomina Length (l (inches)	End Conf	figuration	Ga	isket O-Ring	Optio	ons
ZTEC WB Series Example:	0.2 0.45 0.65 ZTEC WB 0.45-20P	-5 -9.75° -10 22E-QW	-20 -30 -40	P P2 P3 P7 P8 AM	Double Open End 226/Flat Single Open End 222/Flat Single Open End 226/Fin Single Open End 222/Fin Single Open End Single Open End, Internal O-Ring	B E S T	Buna-N EPDM Silicone Teflon encap. Viton (O-Rings only) Viton	-QW	Quick Wet Treat- ment
ZTEC WB	0.45	-20		P2		E		-QW	

*Available only for DOE (P) configuration



TYPICAL BACTERIAL RETENTION

0.2 µm	LRV for <i>Pseudomon aeruginosa</i> \geq 1
0.45 µm	LRV for Lactobacillus brevis \ge 7.6 LRV for Oenococcus oeni \ge 10.0
0.65 µm	LRV for S. cerevisiae ≥ 8.7

INTEG	RITY TEST SP	ECIFICATIONS
Minimum B Diffusive Ai for ZTEC WI	ubble Point value r Flow (per 10-inc B filters wet with v	rs and maximum h cartridge) values vater:
Pore Size	Bubble Point	Diffusive Air Flow
0.2 μm	≥ 26 psig (2.1 bar)	≤ 35 cc/min @ 21 psig (1.7 bar)
0.45 µm	≥ 20 psig (1.4 bar)	35 cc/min @ 16 psig (1.1 bar)
0.65 μm	≥ 17 psig (1.2 bar)	≤ 35 cc/min @ 14 psig (1.0 bar)

DISTRIBUTED BY

FOR MORE INFORMATION

Customer Service/Technical Support: 1-888-353-0303 Europe (UK): +44-1424-777791 China: +86-21-5238-6576 Asia: +65-9635-7690



GTX-296 10-16

Graver Technologies | 200 Lake Drive, Glasgow, DE 19702 | 302-731-1700 | 800-249-1990 Fax: 1-302-369-0938 | info@gravertech.com | www.gravertech.com

ANEXO 21 FICHA TÉCNICA DEL AISLANTE TÉRMICO



Ficha Técnica MANTA AISLANTE



Material elaborado a partir de Lana Mineral de Roca para aislamientos térmicos con servicios de temperatura hasta 750 °C

Especificaciones Técnicas

Unidad	Manta Aislante
Descripción	Manta Aislante de Lana de Roca con malla en alambre galvanizado por ambos lados
Densidad	100 kg/m3, 128 kg/m3, y 140 kg/m3
Conductividad térmica	0.24 BTU.in/ft² . h ºF a Tm 100 ºF
Tº de servicio	hasta 750°C en régimen continuo
Contracción lineal	< 1% a 1200 °F
Absorción de humedad	<1%
Combustibilidad	100% incombustible
Norma	ASTM C592 - 10 Type II
Empaque	Bolsa polietileno reforzado

Conducti	vidad térmica	
T° media (°F)	(BTU.in/ft ² .h.ºF)	
100	0.25	
200	0.30	
300	0.38	
400	0.47	
500	0.58	



Descripción

Las Mantas Aislantes hechas de Lana Mineral de Roca, son reforzadas a ambos lados con malla de alambre galvanizado que le sirven como medio de retención, son totalmente incombustibles y por su flexibilidad se ajustan perfectamente a cualquier tipo de geometría por irregular que sea.

Pueden ser cortadas y pinnadas para aislar superficies curvas, cuerpos irregulares y resaltos como juntas, costuras, traslapos, bridas, falanges y cabezas de remaches. La malla metálica de las Mantas Aislantes les proporciona una excelente resistencia mecánica y sirven como base para la aplicación uniforme del cemento aislante Rocalán.

Su presentación es en rollos con medidas de 0.61m ó 0.91m x 2.44m de largo. Las Mantas tienen una densidad estándar de 140 kg/m³ (8.75 lb/pie³) y 100 kg/m³ (6.25 lb/pie³) sin embargo y a solicitud del cliente se fabrican mantas en diferentes densidades.

El medio de retención estándar es la malla hexagonal con ojo de 1 " por el lado frío y malla hexagonal con ojo de 2 ½" por el lado caliente.

La malla hexagonal es fabricada en alambre calibre 23 galvanizada, según la solicitud del cliente pueden ser fabricadas con otros medios de retención.

Aplicaciones

- Las Mantas aíslan eficientemente maquinarias y equipos que funcionan a temperaturas hasta de 1.382 °F (750 °C). Son ampliamente utilizadas para el aislamiento de calderas, chimeneas, hornos industriales, tanques, ductos, precipitadores, secadores, torres, equipos pesados e industriales y todas aquellas superficies planas, curvas o irregulares donde se requiere un aislamiento eficiente y económico.
- Las Mantas en Lana Mineral de Roca son ideales para el control de ruido, especialmente para la atenuación de sonidos de baja frecuencia, aislamiento acústico de maquinaria, equipos mecánicos y música.

www.calorcol.com

La Lana Mineral de Roca es el aislante más utilizado en el mundo en el campo industrial y comercial por su excelente desempeño térmico, absorción acústica, resistencia al fuego; además de ser amigable con el medio ambiente.



	Relación de densidad
D3	Densidad 3 lb/ft3 (48 Kg/m3)
D4	Densidad 4 lb/ft3 (64 Kg/m3)
D6	Densidad 6 lb/ft3 (96 Kg/m3)
D8	Densidad 8 lb/ft3 (128 Kg/m3)
D10	Densidad 10 lb/ft3 (160 Kg/m3)
D12	Densidad 12 lb/ft3 (192 Kg/m3)

Ventajas

- Por su densidad poseen un bajo factor k reduciendo drásticamente las pérdidas de calor. 0.25 BTU.in/ft². h °F a Tm 100 F
- Mayor durabilidad, dada por la composición química de la fibra y la calidad de los diferentes tipos de reforzamiento, que forman una unidad resistente mecánicamente.
- Las Mantas se pueden usar a temperaturas continuas de hasta 1382 °F (750 °C) sin afectarse por el calor, la humedad y humos corrosivos.
- Cubren superficies curvas o irregulares que tengan juntas, costuras, traslapos y cabezas de remaches. Pueden ser cortadas, remachadas, pinnadas, sin perder sus propiedades aislantes.
- Los refuerzos de las Mantas sirven para la fijación de las mallas entre sí y con el equipo aislado, haciendo innecesarios reforzamientos adicionales, al mismo tiempo brindan una base excelente para la aplicación del cemento para terminado Rocalán.
- Las Mantas Aislantes son incombustibles y no desarrollan humo, químicamente inertes y no corrosivas.



Compromiso Ambiental

La Lana Mineral de Roca es un producto amigable con el medio ambiente con su aplicación en todos nuestros sistemas de aislamiento contribuimos eficientemente con el desarrollo ambiental sostenible, disminuyendo drásticamente los consumos de energía y combustibles, por lo tanto, se reduce la emisión de gases y humos, la polución del aire, el efecto invernadero y la lluvia ácida; en su manufactura no se utilizan agentes gasificantes de tipo CFC o HCFC.



ANEXO 22 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE LA BEBIDA GASEOSA CARBONATADA VENCIDA

Ecuación 208. Sobredimensionamiento del tanque de almacenamiento

$$V_s = V * 1,2 = 124918,58L * 1,2$$

 $V_s = 149902,296 L$
 $V_s = 149,902296 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https: //ddd. uab. cat/ pub/ tfg/ 2016/148700/ TFG_ VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 209. Diámetro interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

 $V_t = \pi * r^2 * h = (149,902 * 0,75) = \pi * r^2 * (1,75 * r)$
 $r = 2,734 m$
 $D_i = 2r = 5,468 m$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry.[En línea]. Disponible en: https: //ddd. uab. cat/ pub/ tfg/ 2016/ 148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 210. Altura del cilindro

$$h = 1,75 * D_i = 9,8424 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https:// ddd.uab. cat/ pub/tfg/2016/ 148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 211. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h = \pi (2,734 m)^2 * 9,8424 m$$
$$V_c = 231,1255 m^3$$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.

h: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Ecuación 212. Ocupación de la bebida gaseosa carbonatada vencida en el tanque

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{V_c} * 100 = \frac{\frac{124,91858 \ m^3}{1}}{231,1255 \ m^3} * 100 = 54,047 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 213. Espesor del tanque de la bebida gaseosa carbonatada vencida

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Dónde:

 P_d : Presión de diseño (atm)

- S: Tensión máxima admisible (Psi)
- E: Factor de soldadura (0.85)

 C_1 : Sobre espesor de corrosión (mm)

 C_2 : Sobre espesor por fabricación (mm)

$$\tau = \frac{2,91123 atm * 2,734 m}{5782,3129 atm * 0,85 - 0,6 * 2,91123} + 1E^{-3}m + 1,8E^{-3}m$$

$$\tau = 4,419977E^{-3}m = 4,4199 mm$$

Ecuación 214. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Ecuación 215. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 216. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{124,91858 \ m^{3}}{1}}{\pi * \left(\frac{5,468}{2}\right)^{2}} = 5,3196 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1032 \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 5,3196 \ m = 53855,34 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,53151 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 217. Presión teórica de diseño

 $\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0.53151 + 1 + 1)atm = 2.531509 atm$ **Fuente.** Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 218. Presión interna de diseño

 $P_d = P_t * 1,15 = 2,531509 \ atm * 1,15 = 2,91123 \ atm$ Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

ANEXO 23 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL SILO DE ALMACENAMIENTO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

Ecuación 219. Volumen del ácido ascórbico

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{71,72 \ kg}{1650 \ kg/m^3}$$
$$V = 0,0434 \ m^3$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 220. Sobredimensionamiento

$$V_{\rm s} = V * 1,2 = 0,0434 \, m^3 * 1,2$$

 $V_{\rm s} = 0.0521m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 221. Diámetro interno del silo

$$h \ge 1,75r$$

$$V_{sc} = \frac{\pi * r^2 * h}{3}$$

$$(0,0521 \ m^3 * 0,75) = \frac{\pi * r^2 * (1,75 * r)}{3}$$

$$r = 0,28 \ m$$

$$D_i = 2r = 0.56 \ m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 222. Altura del cilindro

$$h = 1.8 * D_i = 1.008 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 223. Volumen del cono

$$V_{sc} = \frac{\pi * r^2 * h}{3} = \frac{\pi * (0.28m)^2 * (1.008m)}{3}$$
$$V_{sc} = 0.082m^3$$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.
h: La altura del tanque.
Di: Diámetro interno del tanque
Vsc: Volumen del Silo

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 224. Ocupación del ácido ascórbico en el silo

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\frac{V_{sc}}{V_{sc}}} * 100 = \frac{\frac{0.0434 \, m^3}{1}}{0.082 \, m^3} * 100 = 52.92 \,\%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 225. Espesor del silo del ácido ascórbico

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)S: Tensión Máxima Admisible (Psi)E: Factor De Soldadura (0,85) C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

*C*₂: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

$$\tau = \frac{2,332 \ atm * \ 0,28 \ m}{5782,3129 \ atm * \ 0,85 - 0,6 * 2,332 \ atm} + \ 1E^{-3}m + \ 1,8E^{-3}m$$
$$\tau = 2,932E^{-3}m = \ 2,932 \ mm$$

Ecuación 226. Presión de diseño del silo

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 227. Temperatura de diseño del silo

$$T_d = T_t + 20 C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 228. Presión del compuesto del silo

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \, silo}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{0,0434}{1}}{\pi * \left(\frac{0,56m}{2}\right)^{2}} = 0,176 \, m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1650 \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 0,176 \, m = 2852,17 \, \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,028 \, atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 229. Presión teórica de diseño del silo

 $\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0,028 + 1 + 1)atm = 2,028 atm$ Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 230. Presión interna de diseño del silo

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,028 atm * 1,15 = 2,332 atm$$

ANEXO 24 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DE REACTOR BATCH

Ecuación 231. Volumen mínimo del reactor Batch

$$V_{R.Batch,Min} = \frac{V_{Mezcla}}{(1-0.15)} = \frac{41.66 \ m^3}{(0.85)} = 49.0132 \ m^3$$

Dónde:

 $V_{R.Batch,Min}$: Volumen mínimo del reactor Batch (m^3) V_{Mezcla} : Volumen de la mezcla en el reactor (m^3)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 232. Volumen final del reactor

$$V_{R.Batch,} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

$$\frac{H}{D} = 2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 233. Diámetro de reactor Batch

$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * V_{R.Batch}}{2 * \pi}}$$
$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * 49,0132 m^3}{2 * \pi}} = 3,1482 m^3$$

$$H = 2 * 3,1482 m = 6,296 m$$

$$H = 6,4 m \quad D = 3,2 m$$

Ecuación 234. Volumen real del reactor Batch

$$V_{REAL\,R.CSTR,} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

Dónde:

 $V_{REAL R.CSTR}$: Volumen real del reactor (m^3) .

D: Diámetro del tanque (m).

H: Altura del tanque (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$V_{REAL\,R.Batch} = \frac{\pi}{4} * (3,2\,m)^2 * (6,3\,m) = 50,667\,m^3$$

Ecuación 235. Volumen ocupado en el reactor Batch

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V_{Mezcla}}{\# tanques}}{V_{REAL R.Batch}} * 100 = \frac{\frac{41,66 \ m^3}{1}}{50,667 \ m^3} * 100 = 82,22 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 236. Espesor del reactor Batch

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

P_d: Presión De Diseño (atm) *S*: Tensión Máxima Admisible (Psi) *E*: Factor De Soldadura (0,85)

 C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

C2: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

$$\tau = \frac{2,9113 atm * 1,5696 m}{5782,3129 atm * 0,85 - 0,6 * 2,9113 atm} + 1E^{-3}m + 1,8E^{-3}m$$

$$\tau = 3,748 E^{-3}m = 3,748mm$$

Ecuación 237. Relaciones geométricas

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{J}{D_t} = \frac{1}{12}$$
$$\frac{E}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5}$$
$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4}$$

Dónde:

Da: Diámetro del agitador (m).

Dt: Diámetro interno del reactor (m).

J: Ancho de las placas deflectoras (m).

E: Altura desde la turbina hasta el fondo del reactor (m).

W: Altura de las palas de la turbina (m).

L: Ancho de las palas de la turbina (m).

$$D_a = \frac{1}{3} * 3200 \ mm = 1066,66 \ mm = 1,0666 \ m$$
$$J = \frac{1}{12} * 3200 \ mm = 266,666 \ mm = 0,2666 \ m$$
$$E = \frac{1}{3} * 3200 \ mm = 1066,66 \ mm = 1,0666 \ m$$
$$W = \frac{1}{5} * 1066,66 \ mm = 213,332 \ mm = 0,21333 \ m$$
$$L = \frac{1}{4} * 1066,66 \ mm = 266,666 \ mm = 0,2666 \ m$$

Ecuación 238. Número de Reynolds

$$Re = \frac{\rho * n * D_a^3}{\mu}$$

Dónde:

Re: Número de Reynolds ρ : Densidad de la mezcla (Kg/m3) *n*: Revoluciones del agitador, 320rpm (5,333 rps) D_a : Diámetro del agitador (m) μ : Viscosidad de la mezcla (Kg/m.s)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

$$Re = \frac{1026 \frac{kg}{m^3} * 5,333 \, rps * (1,0666m)^2}{0,08 \frac{kg}{m * s}} = 77809,4$$

Ecuación 239: Número de Reynolds

$$P = \frac{\operatorname{Np} * D_a{}^5 * n^3 * \rho}{g}$$

Dónde:

P: Potencia del agitador (kW) D_a : Diámetro del agitador (m) *n*: Revoluciones del agitador, 320 rpm (5,333rps) c: Densidad de la mazala (Ka/m²)

 ρ : Densidad de la mezcla (Kg/m3)

g: Aceleración de la gravedad (m/s2)

$$P = \frac{5 * (1,0666m)^5 * (5,333rps)^3 (1026 \frac{kg}{m^3})}{9,81 \frac{m}{s^2}} = 109181,519 \, Kw$$

Ecuación 240. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 241. Temperatura de diseño

$$T_{d} = T_{t} + 20 \ {}^{\circ}C$$
$$T_{d} = 110 \ {}^{\circ}C + 20 \ {}^{\circ}C = 130 \ {}^{\circ}C$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 242. Presión teórica de diseño

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{Di}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{41,66}{1}}{\pi * \left(\frac{3,1482 \ m}{2}\right)^{2}} = 5,351 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1026 \ \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 5,351 \ m = 53866,79 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,5316 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 243. Presión teórica de diseño

 $\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0,5316 + 1 + 1)atm = 2,5316 atm$ **Fuente.** Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 244. Presión interna de diseño

 $P_d = P_t * 1,15 = 2,5316 \ atm * 1,15 = 2,9113 \ atm$ Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

ANEXO 25 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL TANQUE DE ALMACENAMIENTO DEL PRODUCTO DESPUÉS DE LA REACCIÓN

Ecuación 245. Sobredimensionamiento del tanque

$$V_s = V * 1,2 = 83,27905 * 1,2$$

$$V_{\rm s} = 99,9348 \, m^3$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 246. Diámetro Interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

$$V_t = \pi * r^2 * h = (99,9348 * 0,75) = \pi * r^2 * (1,75 * r)$$

$$r = 2,388 m$$

$$D_i = 2r = 4,776 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 247. Altura del cilindro

$$h = 8,358 * D_i = 4,776m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 248. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h = \pi (2,388 m)^2 * 8,358 m$$

 $V_c = 149,734 m^3$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.

h: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Ecuación 249. Ocupación de producto después de su reacción

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{V_c} * 100 = \frac{\frac{83,27905 \ m^3}{1}}{\frac{1}{149,734 \ m^3}} * 100 = 55,61 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 250. Espesor del tanque del producto después de su reacción

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)

S: Tensión Máxima Admisible (Psi)

E: Factor De Soldadura (0.85)

 C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

 C_2 : Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

$$\tau = \frac{2,8309atm * 2,388m}{5782,3129 atm * 0,85 - 0,6 * 2,8309 atm} + 1E^{-3}m + 1.8E^{-3}m$$
$$\tau = 4,175E^{-3}m = 4,175mm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 251. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 252. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 C$$

Ecuación 253. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{83,27905 \ m^{3}}{1}}{\pi * \left(\frac{4,776}{2}\right)^{2}} = 4,648 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1026 \ \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 4,648 \ m = 46782,3988 \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0.4617 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 254. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0.4617 + 1 + 1)atm = 2.4617 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 255. Presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,24669 atm * 1,15 = 2,8309 atm$$

ANEXO 26 BASE DE CÁLCULO PARA EL DIMENSIONAMIENTO DE LA TORRE DE DESTILACIÓN

Ecuación 256. Correlación de inundación

$\frac{L}{G} \left(\frac{\rho G}{\rho L} \right)^{0.5}$

Dónde:

L: Caudal del líquido en la torre (lb/h).

G: Caudal del gas en la torre (lb/h).

 ρ G: Densidad del gas (lb/pie³).

ρL : Densidad del líquido (lb/pie3).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$G = 1315,172 \frac{kg}{h} * \frac{2,205lb}{1kg} = 2899,954 \ lb/h$$
$$L = 3642,772 \frac{kg}{h} * \frac{2,205lb}{1kg} = 8032,312 \frac{lb}{h}$$

$$\frac{8032,312\frac{lb}{h}}{2899,954\frac{lb}{h}} \left(\frac{1016,052\frac{kg}{m^3}}{1295,551\frac{kg}{m^3}}\right)^{0,5} = 2,4529$$

Ecuación 257. Velocidad máxima permisible del vapor en área activa

$$Vm' = Kv' \left(\frac{\rho L - \rho G}{\rho G}\right)^{0.5} \left(\frac{\sigma}{20}\right)^{0.2}$$

Dónde:

V'm: Velocidad máxima permisible para el vapor considerando el área activa de burbujeo del plato (Aa) y el área de vertedero (Ad) (pie/s).

K'V: Constante empírica obtenida por la Figura 31 con error del ±10%.

 ρ G: Densidad del gas (lb/pie3).

ρL: Densidad del líquido (lb/pie3).

σ: Tensión superficial (Aspen plus: 28,8 dyn/cm).

$$Vm' = 0,27 \left(\frac{1295,551 \text{kg}/m^3 - 1016,052 \text{kg}/m^3}{1016,052 \text{kg}/m^3}\right)^{0.5} \left(\frac{28,8}{20}\right)^{0.2}$$
$$Vm' = 0,152324 \frac{pie}{s}$$

$$V = 0.8 * 0.152324 \frac{pie}{s} = 0.121859 \frac{pie}{s}$$

Ecuación 258. Sección transversal neta

$$A_n = \frac{Wv}{V * \rho G}cc$$

Dónde:

An: Sección transversal neta (pie2).

W_v: Caudal másico del gas (lb/s).

V: Velocidad de operación (pie/s).

ρG: Densidad del gas (lb/pie3).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$A_n = \frac{2899,954 \frac{\text{lb}}{\text{h}} * \frac{1h}{3600s}}{0,121859 \frac{pie}{s} * 0,062 \frac{lb}{pie^3}} = 106,61997 \text{ pi}e^2$$

Ecuación 259. Área sección transversal

$$A_n = A_T - A_d$$
$$A_n = A_T - (A_T * 0.11)$$
$$A_n = A_T (1 - 0.11)$$
$$A_T = \frac{A_n}{0.89}$$

$$A_T = \frac{A_n}{0.89} = \frac{106,61997 \ pie^2}{0.89} = 119,7977 \ pie^2$$

Ecuación 260. Diámetro de la columna

$$D = \left(\frac{4 * A_T}{\pi}\right)^{0.5}$$
$$D = \left(\frac{4 * 119,7977 \text{ pie}^2}{\pi}\right)^{0.5}$$
$$D = 12.35 \text{ pie} = 3.7648 \text{ m}$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 261. Altura de la torre de destilación

$$h = 24 in * N_{Platos}$$

$$h = 24$$
 in $*5 = 120$ in $= 3,048h = 24$ in $*5 = 120$ in $= 3,048$ m

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 262. Espesor de la columna de destilación

$$\tau_{c} = \frac{P_{c} * R_{int,c}}{S * E - 0.6 * P_{c}} + C.A$$

Dónde:

 τ_c : Espesor de la columna (mm) P_c :Presion de la columna (atm) $R_{int,c}$: Radio de la columna (mm) S: Esfuerzo del material (bar) E: Factor De Soldadura (0.85) C.A: Tolerancia de corrosión (1 mm)

$$\tau_c = \frac{2,01325 \ bar * \ 3502,152 \ mm}{1082,48 \ bar * 0,85 - 0,6 * 2,01325 \ bar} + 1 \ mm$$

$$\tau_c = 8,672986 \ mm$$

Ecuación 263. Presión de diseño

$$P_{diseno,1} = P_{operacion} * 1,1$$

 $P_{diseno,2} = P_{operacion} + 1 bar$

Dónde:

Poperación: 1,01325 bar

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

> $P_{diseno 1} = 1,01325 \ bar * 1,1 = 1,114575 \ bar$ $P_{diseno 2} = 1,01325 \ bar + 1 \ bar = 2,01325 \ bar$

Ecuación 264. Temperatura de diseño

$$T_{diseno,sup} = T_{operacion} + 20 C$$

$$T_{diseno,inf} = T_{operacion} + 20 C$$

Dónde:

T_{operacion}: Temperatura de operación de cada parte de la columna.

$$T_{diseno,sup} = 81,6154 C + 20 C = 101,6154 °C$$

$$T_{diseno,inf} = 100,6532 C + 20 C = 120,6532 °C$$

ANEXO 27 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL TANQUE DE ALMACENAMIENTO DEL DESTILADO

Ecuación 265. Sobredimensionamiento del tanque del destilado

$$V_{\rm s} = V * 1,2 = 83,27905 * 1,2$$

 $V_{\rm s} = 99,9348 \, m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 266. Diámetro interno del tanque

$$h \ge 1,75r$$

$$V_t = \pi * r^2 * h = (99,9348 * 0,75) = \pi * r^2 * (1,75 * r)$$

$$r = 2,388m$$

$$D_i = 2r = 4,776 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 267. Altura del cilindro

$$h = 8,358 * D_i = 4,776 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 268. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h = \pi (2,388 m)^2 * 8,358 m$$

 $V_c = 149,734 m^3$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.

h: La altura del tanque.

Di: Diámetro interno del tanque

Vc: Volumen del cilindro

Ecuación 269. Ocupación del destilado en el tanque

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{V_c} * 100 = \frac{\frac{83,27905 \ m^3}{1}}{\frac{1}{149,734 \ m^3}} * 100 = 55,61 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 270. Espesor del tanque del destilado

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

- P_d : Presión De Diseño (atm)
- S: Tensión Máxima Admisible (Psi)
- E: Factor De Soldadura (0.85)
- C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)
- C2: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

$$\tau = \frac{2,8691 atm * 3,3844 m}{5782,3129 atm * 0,85 - 0,6 * 2,8691 atm} + 1E^{-3}m + 1,8E^{-3}m$$
$$\tau = 4,7763E^{-3}m = 4,7763 mm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 271. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Ecuación 272. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 C$$

 $T_d = 19 C + 20 C = 39 C$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 273. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{83,27905 \ m^{3}}{1}}{\pi * \left(\frac{4,7767}{2}\right)^{2}} = 4,6471 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1100 \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 4,6471 \ m = 50147,77 \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,4949 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 274. Presión teórica de diseño

$$\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0,4949 + 1 + 1)atm = 2,4949 atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autónoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 275. presión interna de diseño

$$P_d = P_t * 1,15 = 2,4949 atm * 1,15 = 2,8691 atm$$

ANEXO 28 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL BIOREACTOR BATCH

Ecuación 276. Volumen mínimo del bioreactor Batch

$$V_{R.Batch,Min} = \frac{V_{Mezcla}}{(1-0.15)} = \frac{47,88 \, m^3}{(0.85)} = 56,329 \, m^3$$

Dónde:

 $V_{R.Batch,Min}$: Volumen mínimo del bioreactor Batch (m^3) V_{Mezcla} : Volumen de la mezcla en el reactor (m^3)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 277. Volumen del bioreactor Batch

$$V_{R.Batch} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

Y como la relación entre altura (H) y diámetro (D):

$$\frac{H}{D} = 2$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 278. Diámetro de bioreactor Batch

$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * V_{R.Batch}}{2 * \pi}}$$
$$D = \sqrt[3]{\frac{4 * 56,329 m^3}{2 * \pi}} = 3,297 m$$

$$H = 2 * 3,297 m = 6,595 m$$

 $H = 6,6 m D = 3,3 m$

Ecuación 279. Volumen real del bioreactor Batch

$$V_{REAL\,R.Batch,} = \frac{\pi}{4} * D^2 * H$$

Dónde:

 $V_{REAL, R, BATCH}$: Volumen real del bioreactor (m^3) . D: Diámetro del tanque (m). H: Altura del tanque (m).

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

 $V_{REAL R.CSTR,} = \frac{\pi}{4} * (3,297 m)^2 * (6,6 m) = 56,369 m^3$

Ecuación 280. Volumen ocupado en el bioreactor Batch

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V_{Mezcla}}{\# \ tanques}}{V_{REAL \ R.CSTR.}} * 100 = \frac{\frac{56,329 \ m^3}{1}}{\frac{1}{56,369 \ m^3}} * 100 = 99,92 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 281. Espesor del bioreactor Batch

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

P_d: Presión de diseño (atm)

S: Tensión máxima admisible (Psi)

E: Factor de soldadura (0,85)

*C*₁: Sobreeespesor de corrosión (mm)

C₂: Sobreeespesor por fabricación (mm)

$$\tau = \frac{3,0532 atm * 1,6485 m}{5782,3129 atm * 0,85 - 0,6 * 3,0532 atm} + 1E^{-3}m + 1,8E^{-3}m$$
$$\tau = 3,82443 E^{-3}m = 3,82443 mm$$

Ecuación 282. Relaciones geométricas

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{J}{D_t} = \frac{1}{12}$$
$$\frac{E}{D_t} = \frac{1}{3}$$
$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5}$$
$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4}$$

Dónde:

Da: Diámetro del agitador (m).

Dt. Diámetro interno del reactor (m).

J: Ancho de las placas deflectoras (m).

E: Altura desde la turbina hasta el fondo del reactor (m).

W: Altura de las palas de la turbina (m).

L: Ancho de las palas de la turbina (m).

$$D_a = \frac{1}{3} * 4600 \ mm = 1533,333 \ mm = 1,5333 \ m$$
$$J = \frac{1}{12} * 4600 \ mm = 383,333 \ mm = 0,3833 \ m$$
$$E = \frac{1}{3} * 4600 \ mm = 1533,333 \ mm = 1,5333 \ m$$
$$W = \frac{1}{5} * 1533.333 \ mm = 306,666 \ mm = 0,30666 \ m$$
$$L = \frac{1}{4} * 1533.333 \ mm = 383,333 \ mm = 0,383333 \ m$$

Ecuación 283. Número de Reynolds

$$Re = \frac{\rho * n * D_a^3}{\mu}$$

Dónde:

Re: Número de Reynolds ρ: Densidad de la mezcla (Kg/m3) *n*: Revoluciones del agitador, 50rpm (0,8333 rps) *D_a*: Diámetro del agitador (m) *μ*: Viscosidad de la mezcla (Kg/m.s)

-

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pd

$$Re = \frac{1010 \frac{kg}{m^3} * \ 0,8333 \ rps * (1,5333m)^2}{0,09 \frac{kg}{m * s}} = \ 21977,49233$$

Ecuación 284. Número de Reynolds

$$P = \frac{\operatorname{Np} * D_a{}^5 * n^3 * \rho}{g}$$

Dónde:

P: Potencia del agitador (kW)

D_a: Diámetro del agitador (m)

n: Revoluciones del agitador, 50 rpm (0,8333rps)

ρ: Densidad de la mezcla (Kg/m3)

g: Aceleración de la gravedad (m/s2)

$$P = \frac{4,15 * (1,5333m)^5 * (0,8333rps)^3 (1010\frac{kg}{m^3})}{9,81\frac{m}{s^2}} = 2095,271 \, Kw$$

Ecuación 285. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 286. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 C$$

 $T_d = 25 C + 20 C = 45 C$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 287. Presión teórica de diseño

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{Di^{2}}{2}\right)} = \frac{\frac{56,329m^{3}}{1}}{\pi * \left(\frac{3,297m}{2}\right)^{2}} = 6,5978 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 1026 \ \frac{kg}{m^{3}} * 9,81\frac{m}{s^{2}} * 6,5978 \ m = 66407,25\frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,655 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 288. Presión teórica de diseño

 $\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0,655 + 1 + 1)atm = 2,655 atm$ Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 289. Presión interna de diseño

ANEXO 29 BASE DE CÁLCULO DEL DIMENSIONAMIENTO DEL TANQUE DE LA FERMENTACIÓN

Ecuación 290. Sobredimensionamiento del tanque de almacenamiento

$$V_{\rm s} = V * 1,2 = 124,918 \, m^3 * 1,2$$

 $V_s = 149,902 m^3$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 291. Diámetro interno del tanque almacenamiento

$$\begin{split} h &\geq 1,75r \\ V_t &= \pi * r^2 * h = (149,902 * 0,75) = \pi * r^2 * (1,75 * r) \\ &r &= 2,734m \\ D_i &= 2r = 5,468 \; m \end{split}$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 292. Altura del cilindro

$$h = 1,75 * D_i = 9,8424 m$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 293. Volumen del cilindro

$$V_c = \pi * r^2 * h = \pi (2,734 m)^2 * 9,8424 m$$

 $V_c = 231,1255 m^3$

Dónde:

Vt: Volumen de trabajo del tanque.h: La altura del tanque.Di: Diámetro interno del tanqueVc: Volumen del cilindro

Ecuación 294. Ocupación del fermento en el tanque

$$\% V_{ocupado} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{V_c} * 100 = \frac{\frac{124,91858 \ m^3}{1}}{231,1255 \ m^3} * 100 = 54,047 \ \%$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 295. Espesor del tanque de almacenamiento de la fermentación

$$\tau = \frac{P_d * r}{S * E - 0.6 * P_d} + C_1 + C_2$$

Dónde:

 P_d : Presión De Diseño (atm)

S: Tensión Máxima Admisible (Psi)

E: Factor De Soldadura (0,85)

 C_1 : Sobreeespesor De Corrosión (mm)

C₂: Sobreeespesor Por Fabricación (mm)

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

$$\tau = \frac{2,880436 \ atm * 2,734 \ m}{5782,3129 \ atm * 0,85 - 0,6 * 2,880436 \ atm} + 1E^{-3}m + 1,8E^{-3}m$$
$$\tau = 4,4028E^{-3}m = 4,4028 \ mm$$

Ecuación 296. Presión de diseño

$$P_d = P_t * 1,15$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 297. Temperatura de diseño

$$T_d = T_t + 20 C$$

Ecuación 298. Presión del compuesto

$$h_{1} = \frac{\frac{V}{\# \ tanques}}{\pi * \left(\frac{D_{i}}{2}\right)^{2}} = \frac{\frac{124,91858 \ m^{3}}{1}}{\pi * \left(\frac{5,468}{2}\right)^{2}} = 5,3196 \ m$$
$$\Delta P = \delta * g * h_{1} = 980 \frac{kg}{m^{3}} * 9,81 \frac{m}{s^{2}} * 5,3196 \ m = 51141,47 \ \frac{kg}{m * s^{2}}$$
$$\Delta P = 0,504727 \ atm$$

Fuente. Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 299. Presión teórica de diseño

 $\Delta P_t = \Delta P + P_e + P_{atm} = (0.504727 \ atm + 1 + 1) atm = 2.504727 \ atm$ **Fuente.** Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociacion con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

Ecuación 300. Presión interna de diseño

 $P_d = P_t * 1,15 = 2,504727 atm * 1,15 = 2,8804 atm$ **Fuente.** Manual de cálculos. Van industry. Universidad Autonoma De Barcelona en Asociación con Van industry. [En línea]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/148700/ TFG_VamIndustry_v11.pdf

ANEXO 30 TABLA DE AMORTIZACIÓN

Tabla 104.	l abla de amortiz	zación para los co	istos de diseno	
n (Mes)	Saldo (\$)	interés	Cuota	Amortización
0	2100384063			
1	2100082207	105019203,1	105321058,8	301855,6631
2	2099765258	105004110,3	105321058,8	316948,4462
3	2099432463	104988262,9	105321058,8	332795,8686
4	2099083027	104971623,1	105321058,8	349435,662
5	2098716120	104954151,3	105321058,8	366907,4451
6	2098330867	104935806	105321058,8	385252,8173
7	2097926351	104916543,3	105321058,8	404515,4582
8	2097501610	104896317,6	105321058,8	424741,2311
9	2097055632	104875080,5	105321058,8	445978,2927
10	2096587355	104852781,6	105321058,8	468277,2073
11	2096095663	104829367,7	105321058,8	491691,0677
12	2095579388	104804783,2	105321058,8	516275,6211
13	2095037298	104778969,4	105321058,8	542089,4021
14	2094468105	104751864,9	105321058,8	569193,8722
15	2093870451	104723405,2	105321058,8	597653,5658
16	2093242915	104693522,5	105321058,8	627536,2441
17	2092584002	104662145,7	105321058,8	658913,0563
18	2091892143	104629200,1	105321058,8	691858,7091
19	2091165691	104594607,1	105321058,8	726451,6446
20	2090402917	104558284,6	105321058,8	762774,2268
21	2089602004	104520145,9	105321058,8	800912,9382
22	2088761046	104480100,2	105321058,8	840958,5851
23	2087878039	104438052,3	105321058,8	883006,5143
24	2086950882	104393902	105321058,8	927156,84
25	2085977368	104347544,1	105321058,8	973514,682
26	2084955177	104298868,4	105321058,8	1022190,416
27	2083881877	104247758,9	105321058,8	1073299,937
28	2082754912	104194093,9	105321058,8	1126964,934
29	2081571599	104137745,6	105321058,8	1183313,18
30	2080329120	104078580	105321058,8	1242478,84
31	2079024517	104016456	105321058,8	1304602,781
32	2077654685	103951225,9	105321058,8	1369832,921
33	2076216360	103882734,2	105321058,8	1438324,567
34	2074706119	103810818	105321058,8	1510240,795

..... - -: ć noro los costos de diseñ LI- 404 T . . -1

Tabla 104. (Continuación)

n (Mes)	Saldo (\$)	interés	Cuota	Amortización
35	2073120366	103735306	105321058,8	1585752,835
36	2071455326	103656018,3	105321058,8	1665040,476
37	2069707033	103572766,3	105321058,8	1748292,5
38	2067871326	103485351,7	105321058,8	1835707,125
39	2065943834	103393566,3	105321058,8	1927492,481
40	2063919967	103297191,7	105321058,8	2023867,106
41	2061794906	103195998,3	105321058,8	2125060,461
42	2059563593	103089745,3	105321058,8	2231313,484
43	2057220714	102978179,6	105321058,8	2342879,158
44	2054760690	102861035,7	105321058,8	2460023,116
45	2052177666	102738034,5	105321058,8	2583024,272
46	2049465491	102608883,3	105321058,8	2712175,485
47	2046617706	102473274,5	105321058,8	2847784,26
48	2043627533	102330885,3	105321058,8	2990173,473
49	2040487851	102181376,6	105321058,8	3139682,146
50	2037191185	102024392,5	105321058,8	3296666,254
51	2033729685	101859559,2	105321058,8	3461499,566
52	2030095110	101686484,2	105321058,8	3634574,545
53	2026278807	101504755,5	105321058,8	3816303,272
54	2022271689	101313940,4	105321058,8	4007118,435
55	2018064214	101113584,4	105321058,8	4207474,357
56	2013646366	100903210,7	105321058,8	4417848,075
57	2009007626	100682318,3	105321058,8	4638740,479
58	2004136948	100450381,3	105321058,8	4870677,503
59	1999022737	100206847,4	105321058,8	5114211,378
60	1993652815	99951136,85	105321058,8	5369921,947
61	1988014397	99682640,75	105321058,8	5638418,044
62	1982094058	99400719,85	105321058,8	5920338,946
63	1975877702	99104702,9	105321058,8	6216355,894
64	1969350528	98793885,1	105321058,8	6527173,688
65	1962496996	98467526,42	105321058,8	6853532,373
66	1955300787	98124849,8	105321058,8	7196208,991
67	1947744768	97765039,35	105321058,8	7556019,441
68	1939810947	97387238,38	105321058,8	7933820,413
69	1931480436	96990547,36	105321058,8	8330511,434
70	1922733399	96574021,79	105321058,8	8747037,005
71	1913549010	96136669,94	105321058,8	9184388,855
72	1903905402	95677450,49	105321058,8	9643608,298

Tabla 104. (Continuación)					
n (Mes)	Saldo (\$)	interés			
73	1893779613	95195270,08			

n (Mes)	Saldo (\$)	interés	Cuota	Amortización
73	1893779613	95195270,08	105321058,8	10125788,71
74	1883147535	94688980,64	105321058,8	10632078,15
75	1871983853	94157376,74	105321058,8	11163682,06
76	1860261987	93599192,63	105321058,8	11721866,16
77	1847954027	93013099,33	105321058,8	12307959,47
78	1835030670	92397701,35	105321058,8	12923357,44
79	1821461144	91751533,48	105321058,8	13569525,31
80	1807213143	91073057,22	105321058,8	14248001,58
81	1792252741	90360657,14	105321058,8	14960401,66
82	1776544319	89612637,05	105321058,8	15708421,74
83	1760050477	88827215,97	105321058,8	16493842,83
84	1742731942	88002523,83	105321058,8	17318534,97
85	1724547480	87136597,08	105321058,8	18184461,72
86	1705453795	86227373,99	105321058,8	19093684,8
87	1685405426	85272689,75	105321058,8	20048369,04
88	1664354638	84270271,3	105321058,8	21050787,49
89	1642251312	83217731,92	105321058,8	22103326,87
90	1619042818	82112565,58	105321058,8	23208493,21
91	1594673901	80952140,92	105321058,8	24368917,87
92	1569086537	79733695,03	105321058,8	25587363,77
93	1542219805	78454326,84	105321058,8	26866731,96
94	1514009736	77110990,24	105321058,8	28210068,55
95	1484389164	75700486,81	105321058,8	29620571,98
96	1453287564	74219458,21	105321058,8	31101600,58
97	1420630883	72664378,18	105321058,8	32656680,61
98	1386341368	71031544,15	105321058,8	34289514,64
99	1350337378	69317068,42	105321058,8	36003990,37
100	1312533188	67516868,9	105321058,8	37804189,89
101	1272838789	65626659,41	105321058,8	39694399,38
102	1231159669	63641939,44	105321058,8	41679119,35
103	1187396594	61557983,47	105321058,8	43763075,32
104	1141445365	59369829,71	105321058,8	45951229,09
105	1093196574	57072268,25	105321058,8	48248790,54
106	1042535344	54659828,72	105321058,8	50661230,07
107	989341052,9	52126767,22	105321058,8	53194291,57
108	933487046,7	49467052,64	105321058,8	55854006,15
109	874840340,2	46674352,34	105321058,8	58646706,46
110	813261298,5	43742017,01	105321058,8	61579041,78
	(••••••••••••••••••••••••			
----------	---------------------------	-------------	-------------	--------------
n (Mes)	Saldo (\$)	interés	Cuota	Amortización
111	748603304,6	40663064,92	105321058,8	64657993,87
112	680712411	37430165,23	105321058,8	67890893,56
113	609426972,8	34035620,55	105321058,8	71285438,24
114	534577262,6	30471348,64	105321058,8	74849710,15
115	455985067	26728863,13	105321058,8	78592195,66
116	373463261,5	22799253,35	105321058,8	82521805,44
117	286815365,8	18673163,08	105321058,8	86647895,72
118	195835075,3	14340768,29	105321058,8	90980290,5
119	100305770,3	9791753,765	105321058,8	95529305,03
120	-9,07481E-06	5015288,514	105321058,8	100305770,3

Tabla 104. (Continuación)

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 31 COTIZACIONES DE LA LÁMINA DE ACERO INOXIDABLE Y ENSAMBLE DE EQUIPOS

	ISESAS INDUSTRIAL SERVICES & EQUIPMENT SA	5	1	ISESA: 2515 Barker Cy Cypress, Texa (251) 725- www.isesasgro	S /press RD. s. 77429 3123 pup.com
	REQUEST FOR QUOTATION	No.	IL-19-	428-RFQ	-01
Supplier			Date RFQ No.	11/0 1!)2/2019 9-428
ltem	Description	Unit	Qty	Unit Price	Extended Price
1	Lamina de acero inoxidable AISI 304L (1,25m*2,5m)	PZA	1,00	418,57	418,57
2	Lamina de acero inoxidable AISI 316L (1,25m*2,5m)	PZA	1,00	568,25	568,25
	Remarks:		Total	Price USD	986,82

	INDUSTRIA METALMECANICA SANTIESTEI	LTDA.		Nit.830.015.115-5 Régimen común Código ICA 103
Carrera 67	No. 12 Telefax: 420 5029 Cel.: 3	112227911 Email: indus	striasantisal@hotmail.co	m Bogotá D.C
LIENTE: JORGE ROQUE VILLAMIZAR SANCHEZ.			ad: BOGOTA.	
DIRECCION	: jorgeroque88@gmail.com	01 D	E FEBRERO DEL 2019	110.0402
ANTIDAD	DESCRIPCIÓN		V. UNITARIO	V. TOTAL
1	ENSAMBLAJE DE EQUIPOS Y TANQ X 1M DE ALTO DE CALIBRE DE 18 E INOXIDABLE CON PROCESO DE DE DE ALIMENTOS	UES, DIÁMETRO 1 M N ACERO CAPADO Y ACABADO	\$ 1′296.000	\$ 1′296.000
			SUBTOTAL IVA TOTAL	\$ 1′296.000 \$ 304.000 \$ 1′600.000
DBSERVA	CIONES:	Forma de pago: 5	SUBTOTAL IVA TOTAL 0% ANTICIPO Y 50%	\$ 1'296.000 \$ 304.000 \$ 1'600.000 CONTRAENTREGA.
OBSERVA ELIAS SALC	CIONES: EDO.	Forma de pago: 5	SUBTOTAL IVA TOTAL 0% ANTICIPO Y 50% (\$ 1'296.000 \$ 304.000 \$ 1'600.000 CONTRAENTREGA.