



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**MODELADO DE UN REACTOR DE FERMENTACIÓN PARA  
PRODUCCIÓN DE ETANOL COMO BIOCOMBUSTIBLE**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA QUÍMICA**

**PRESENTA  
KAREN LIZBETH DE LA TRINIDAD BENITEZ**

**CDMX**

**2021**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** M. en C. JUAN MARIO MORALES CABRERA  
**VOCAL:** Dra. AÍDA GUTIÉRREZ ALEJANDRE  
**SECRETARIO:** M. en I. CARLOS ÁLVAREZ MACIEL  
**1er. SUPLENTE:** Dr. DURÁN MORENO ALFONSO  
**2° SUPLENTE:** Dr. ÓSCAR HERNÁNDEZ MELENDEZ

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**  
**FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**  
**M. en I. CARLOS ÁLVAREZ MACIEL**

**SUSTENTANTE:**  
**DE LA TRINIDAD BENITEZ KAREN LIZBETH**

## Índice General

Objetivo .....	5
Alcance .....	5
Justificación .....	5
Metodología de investigación .....	6
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
Generalidades: .....	7
Etanol como combustible.....	8
<b>CAPÍTULO II. HISTORIA DE LOS COMBUSTIBLES EN EL MUNDO.....</b>	<b>13</b>
Brasil .....	13
Estados Unidos .....	17
Etanol en el mundo .....	20
Matriz energética mundial.....	22
México.....	26
<b>CAPÍTULO III. MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ETANOL.....</b>	<b>27</b>
Bacterias.....	28
Reproducción: .....	29
Clasificación: .....	29
Hongos.....	33
Reproducción .....	33
Clasificación .....	34
Proceso de Fermentación.....	34
Crecimiento Microbiano .....	36
Generalidades.....	36
Curva de crecimiento de los microorganismos.....	36
Factores genéticos:.....	38
Condiciones de cultivo:.....	38
Modalidad del cultivo: .....	42
<b>CAPÍTULO IV. ANÁLISIS CINÉTICO COMPARATIVO DE LOS MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ETANOL .....</b>	<b>44</b>
Análisis de los parámetros cinéticos de los microorganismos seleccionados .....	58
A. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	62
B. <i>Zymomonas mobilis</i> .....	71
C. <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> .....	77

Análisis de los resultados obtenidos.....	81
Diseño de biorreactor .....	83
Dimensionamiento del biorreactor:.....	84
Dimensionamiento de los impulsores: .....	85
Potencia consumida para la agitación: .....	86
Balance de calor .....	89
Resultados .....	91
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	93
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA Y FUENTES DE INFORMACIÓN.....	94

## Objetivo

El objetivo de esta tesis es crear una base de datos con los microorganismos más comunes que nos permiten, con base a su metabolismo, la producción de etanol, elegir a los 3 mejores y posteriormente modelar un reactor de fermentación para producción de este alcohol y comparar los resultados de los modelos de crecimiento utilizados.

## Alcance

Analizar distintos microorganismos productores de etanol, de los cuales se elegirá la mejor opción de acuerdo con las condiciones ambientales, disponibilidad, eficiencias y producción.

Diseñar un biorreactor tipo batch para únicamente analizar la importancia de elegir el modelo de crecimiento correcto para nuestro proceso.

## Justificación

Aun cuando hoy en día contamos con diferentes alternativas de combustibles para producir energía, el que tiene mayor uso sigue siendo el petróleo, pese a que es uno de los primeros combustibles en usar para este fin y que tardaría miles de años para que pudiera volver a producirse, pues es producto de la biomasa de hace millones de años por lo que es un recurso que se va a agotar y no podremos disponer de él. Por esta razón, los últimos años ha sido de mucho interés buscar otras alternativas que convengan para reemplazar al petróleo, pues, aunque cada vez es más escaso sigue siendo más barato, eficiente o sencillo en su proceso de obtención.

En esta tesis se pretende contribuir con información acerca del etanol como biocombustible, ya que es una de las opciones que se han explorado, pero aún tiene muchas deficiencias o desventajas frente a otros combustibles.

Uno de los retos es encontrar una mejor opción para llevar a cabo el proceso de obtención de etanol, ya que aún esta tecnología no es suficiente, pero cualquier aportación es un paso adelante para encontrar al combustible que en un futuro nos hará dejar de preocuparnos por la escasez del petróleo y ojalá, todas las contribuciones futuras, como esta, sean pensadas en que el medio ambiente se dañe cada vez menos.

El etanol como combustible es un compuesto que nos promete reducir las emisiones de gases de efecto invernadero en mayor o menor medida, dependiendo de la genética de la bacteria al hacer los procesos fisicoquímicos de su metabolismo y como se utilice, por lo que muchos no hemos descartado la posibilidad de que sea uno de los biocombustibles del futuro.

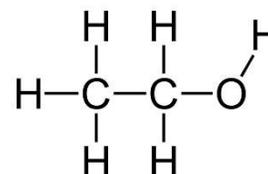
### Metodología de investigación

1. Búsqueda bibliográfica de todos los microorganismos capaces de producir etanol vía fermentación
2. Generar los parámetros cinéticos a partir de datos experimentales reportados en la literatura
3. Comparar los microorganismos a partir de sus parámetros cinéticos
4. Emitir una serie de recomendaciones sobre los microorganismos más idóneos para la producción de etanol biocombustible
5. Seleccionar los tres mejores microorganismos de acuerdo con las recomendaciones emitidas anteriormente y sus condiciones ambientales de crecimiento.
6. Diseñar un biorreactor para comparar los modelos de crecimiento de los microorganismos elegidos.

# CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

## Generalidades:

El etanol ( $C_2H_6O$ ), también conocido como “alcohol etílico” o “alcohol de caña” es un compuesto químico orgánico perteneciente al grupo de los alcoholes por su grupo hidroxilo (-OH) de cadena lineal, el cual en condiciones normales de temperatura y presión se presenta como un líquido incoloro e inflamable ya que reacciona exotérmicamente con el oxígeno del aire para producir óxidos de carbono ( $CO$  y  $CO_2$ ), con olor característico, es más volátil que el agua debido a la presencia de la cadena de carbonos en su molécula y es también un excelente disolvente y desinfectante.



Gracias a sus propiedades físicas y químicas el etanol es usado en muchas industrias como la industria farmacéutica, industria cosmética, industria química, industria alimenticia (en bebidas alcohólicas, vinagres y conservas), aunque normalmente se suelen dividir en 3 usos principales a nivel mundial, como se muestra en la figura 1. Con el paso del tiempo se fueron estudiando y comprobando todos estos usos, actualmente uno de los más importantes y el que analizaremos en la presente tesis es su uso como un combustible renovable.

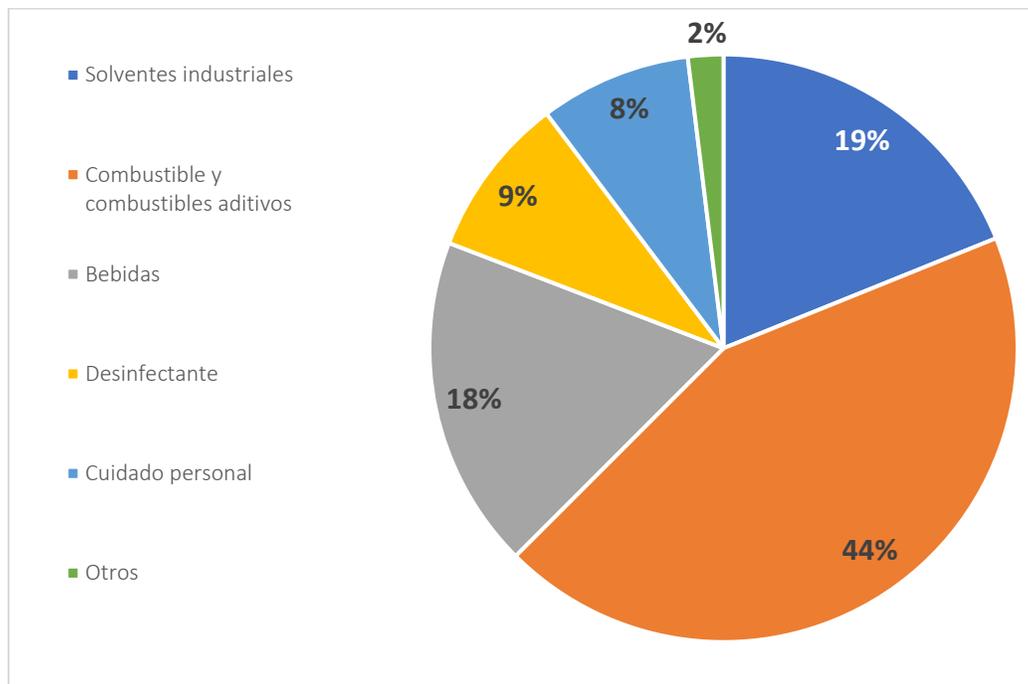


Figura 1. Distribución global del uso de etanol en el mundo.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/ethanol-market>

<b>Fórmula</b>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	
<b>Peso molecular</b>	46.07	(g/mol)
<b>Composición</b>	C	52.24%
	H	13.13%
	O	34.73%
<b>Punto de ebullición</b>	78.3	°C
<b>Punto de fusión</b>	-130	°C
<b>Densidad a 20°C</b>	0.7893	g/cm <sup>3</sup>
<b>Temperatura de ignición</b>	363	°C
<b>Punto de inflamación (Flash point) al 100%</b>	12	°C
<b>Temperatura de autoignición</b>	793	°C
<b>Calor específico a 20°C</b>	2.42	J/g°C
<b>Viscosidad a 20°C</b>	1.17	cP

*Tabla 1. Datos generales del etanol*

### Etanol como combustible

Se le conoce como biocombustible a un combustible de origen biológico obtenido de materia renovable a partir de restos orgánicos como plantas y animales, estos son quemados para liberar su energía almacenada en forma química, usándolos mayoritariamente para suplir parcial o totalmente a los combustibles fósiles. Bajo esta definición la primer fuente de combustible que conoció a humanidad también fue de origen biológico puesto que fue el petróleo y éste proviene de restos fósiles de seres vivos acumulados de hace millones de años, el problema es que así como se fueron acumulando por millones de años nosotros los hemos ido explotando en tan solo unas pocas decenas de años, aproximadamente el 90% de la energía consumida en el mundo proviene de esta fuente, el petróleo no es un combustible renovable y por lo tanto, llegará el momento en que dejará de producirse energía por este medio por falta de fuentes para extraerlo. Es importante señalar que hoy en día el 70% de las reservas de petróleo en el mundo se encuentran en el medio oriente, hecho que hace inestable los precios del petróleo sean inestables debido a los riesgos geopolíticos y las guerras.

Los biocombustibles existen desde la invención de los automóviles. En 1895 el Dr. Rudolf Diesel desarrolló el primer motor con diésel, cuyo prototipo ya estaba previsto que funcionara con aceites vegetales, a principios del siglo XX, Henry Ford consideró esta tecnología para arrancar sus célebres Modelos T, los primeros motores diésel, incluso llegaron a funcionar con aceite de maní, pero el descubrimiento de inmensos depósitos de petróleo mantuvo la gasolina y el diésel a precios muy bajos durante décadas sin mencionar que se percató que la gasolina tiene un 43.8% más contenido energético por unidad de volumen que el etanol. Los depósitos de petróleo se conocen como fósiles porque están hechos de plantas y animales que se quedaron enterrados durante millones de años.

Con el paso del tiempo se fue consolidando más el mercado de los biocombustibles y con ello su clasificación, existen diferentes tipos divididas en generaciones, pero utilizaremos la que se basa en su materia prima o el insumo utilizado para su producción y la tecnología empleada.

<b>Generación</b>	<b>Insumo</b>	<b>Biocombustible</b>	<b>Tecnología</b>
Primera	Agrícola (partes alimenticias de las plantas con alto contenido de almidón, azúcares y aceites)	Etanol, metanol, n- butanol	Fermentación
		Biodiésel	Transesterificación
		biogás	digestión anaerobia
Segunda	Residuos agrícolas y forestales compuestos principalmente por celulosa	Etanol	Sacarificación-Fermentación simultánea
		Etanol, metanol y gas de síntesis	Proceso Fischer-Tropsch (GTL) o (BTL)
Tercera	Desechos orgánicos, no orgánicos y productos vegetales no comestibles de crecimiento rápido y alta densidad energética, se les denomina como "cultivos energéticos"	Biodiesel y etanol	Ingeniería genética; los procesos de producción se encuentran a nivel de planta piloto, y se siguen estudiando los insumos para mejorar el desarrollo de la tecnología
Cuarta	Bacterias genéticamente modificadas	Etanol	Generación completamente teórica, no ha llegado ni siquiera a planta piloto, solamente se

			conoce la síntesis de etanol a partir de anhídrido carbónico, sin embargo, todo depende de la genética de la bacteria y puede tener desventajas termodinámicas importantes.
--	--	--	---

Tabla 2. "Insumo, biocombustibles y tecnologías de la clasificación de los biocombustibles"

Generación	Ventajas	Desventajas
Primera	Amplia exploración de esta generación, considerada energía renovable (si se considera que el ciclo de plantación y cosecha se puede repetir indefinidamente teniendo en cuenta un campo de cultivo óptimo y que no se agoten los suelos)	Se considera un impacto negativo el destinar como materia prima productos agrícolas que se podrían aprovechar como alimento para personas, además los procesos anteriormente mencionados implican un consumo elevado de agua dulce, agroquímicos y la deforestación, así como también los costos sociales.
Segunda	La ventaja principal es que no es necesario recurrir a productos alimenticios, además hay mayor variedad de materias primas y no es necesaria la plantación de insumos, incluso nuestra materia prima podría servir para recuperar terrenos erosionados y fijar CO <sub>2</sub> a través de su sistema de raíces y, por supuesto no requieren el uso masivo de agroquímicos	Estos procesos tienen un nivel de complejidad y costos más alto que los de primera generación, además no disminuyen tanto los gases de efecto invernadero como en los biocombustibles de primera generación
Tercera	Las ventajas de esta generación son muy prometedoras en cuanto el ahorro de las emisiones de GEI, pues se ha obtenido un balance positivo, también es	Las desventajas incluyen la posibilidad de desertificación en las tierras debido al alto nivel energético por unidad de área y los nutrientes que

	posible que se puedan utilizar aguas residuales y tierras marginales	necesitan algunos de los insumos, ya que suelen ser muy perjudiciales para el medio ambiente y por supuesto el costo de inversión y mantenimiento de estos cultivos aún es elevado
Cuarta	Se tiene gran fe en la modificación genética ya que los beneficios son muchos, su objetivo principal son la captación y almacenamiento de carbono.	La investigación es muy cara y requiere de mucho tiempo

*Tabla 3. “Ventajas y desventajas de la clasificación los biocombustibles”*

Existen diferentes métodos para obtener biocombustibles, estos dependen de la naturaleza de la biomasa, su uso energético y el uso que se le dará al combustible, tales métodos son:

- Mecánicos: Éste es quizá el más común, sus técnicas son el astillado, la trituración y la compactación, para ello se usan productos como leña, astillas, briquetas o aserrín (sólidos) y comúnmente el combustible obtenido de ello se aprovecha para calefacción o electricidad.
- Termoquímicos: Usan método de pirólisis y gasificación con carbón, aceites y gasógeno generalmente después de su transformación se usa en la calefacción, electricidad, transporte y la industria química.
- Biotecnológicos: Las técnicas usadas son la fermentación, digestión y anaeróbica con etanol o biogás para transformar en combustibles para el transporte, la industria química, calefacción y electricidad.
- Extractivos: Técnica de extracción y fisicoquímicas donde se usan aceites, ésteres e hidrocarburos para transformar y usar en la industria química y el transporte.

Varios países del mundo están invirtiendo en desarrollar tecnología que haga a los biocombustibles como el etanol y su derivado el 2-etoxi-2-metilpropano o 5-etil-ter-butil-eter (ETBE) una fuente de energía como alternativa más productiva rentable y de grandes volúmenes, reducir la importación de hidrocarburos y la emisión de gases de efecto invernadero, pero la historia con los combustibles en cada país es diferente y no tienen el mismo desarrollo ni escasez del petróleo.

Actualmente el etanol se emplea con gasolina convencional en mayores o menores proporciones, pero casi no se sustituye completamente debido a que la mezcla con gasolina le da estabilidad y resta volatilidad (las mezclas pueden ser E5, E10, E20 y hasta E95, refiriéndose al porcentaje de etanol en la mezcla 5%, 10%, 20% y hasta 95%) con este tipo de combustible se producen 91% menos emisiones de gas invernadero, que con el uso de gasolina pura.

En la tabla 2 se muestran las principales características y diferencias del etanol y una gasolina típica:

Parámetro	Unidad	Gasolina	Etanol
Poder calorífico inferior	kJ/kg	43.500	28.225
	kJ/litro	32.180	22.350
Densidade	kg/litro	0,72 – 0,78	0,792
Octanaje RON ( <i>Research Octane Number</i> )	–	90 – 100	102 – 130
Octanaje MON ( <i>Motor Octane Number</i> )	–	80 – 92	89 – 96
Calor latente de vaporización	kJ/kg	330 – 400	842 – 930
Relación aire/combustible estequiométrica		14,5	9,0
Presión de vapor	kPa	40 – 65	15 – 17
Temperatura de ignición	°C	220	420
Solubilidad en agua	% en volumen	~ 0	100

*Tabla 4. Propiedades de la gasolina y el etanol.<sup>2</sup>*

<sup>2</sup> API (1998) y Goldemberg y Macedo (1994)

## CAPÍTULO II. HISTORIA DE LOS COMBUSTIBLES EN EL MUNDO

### Brasil

La situación en Brasil con respecto al combustible es muy importante ya que este país ha sido pionero en la implementación de esta tecnología y uno de los productores más importantes de etanol a base de caña de azúcar tal como se muestra el proceso en el esquema 2, junto con EE.UU (aunque estados unidos basa su producción de etanol en maíz), ambos tienen experiencias de éxito gracias a las políticas gubernamentales que legislan a favor de una “combustión limpia” fomentando el consumo del etanol anhidro e invirtiendo fuertemente en tecnología para su desarrollo.

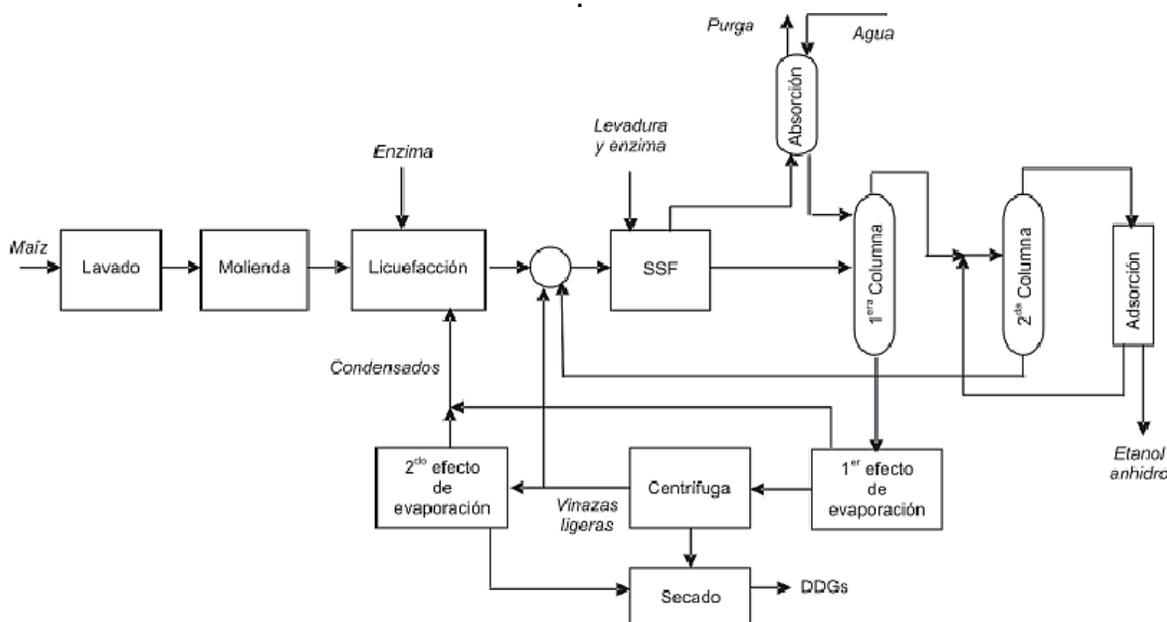


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de producción de etanol a partir de caña de azúcar<sup>3</sup>

En Brasil el desarrollo de la tecnología de producción hasta el uso final de éste tiene un origen de 1905 – 1925 donde el gobierno estableció que se debía mezclar 5% de etanol en la nafta importada hasta alcanzar niveles de mezclado con gasolina de 50% en 1943. Después de algunos años de estabilidad en la compra de la gasolina debido al decremento del costo a causa de la segunda guerra mundial en 1975 se creó el “Programa Nacional de Etanol” (Programa Nacional do Alcool – Proalcool) como medida compensatoria de la pérdida brutal de la cuota de mercado que estaban pasando los productores de azúcar en Brasil. Su principal objetivo fue volver a impulsar el uso del etanol anhidro (100% etanol) y el etanol hidratado (96%

3

[https://www.researchgate.net/profile/Julian\\_Quintero/publication/26496690/figure/fig2/AS:340749800493056@1458252491009/Figura-2-Esquema-del-proceso-de-obtencion-de-etanol-a-partir-de-maiz.png](https://www.researchgate.net/profile/Julian_Quintero/publication/26496690/figure/fig2/AS:340749800493056@1458252491009/Figura-2-Esquema-del-proceso-de-obtencion-de-etanol-a-partir-de-maiz.png)

etanol, 4% agua) en los motores y así introducir nuevamente al mercado brasileño una mezcla de combustible con alcohol además de que se siguieran desarrollando las tecnologías para la producción de este compuesto.

Así en 1979, fueron lanzados al mercado interno los dos tipos de etanol:

- Anhidro: También conocida como gasolina oxigenada, debe contener menos del 0.6% de agua, se usa para mezclar junto con la gasolina en proporciones de 20 a 25% en volumen de etanol (según las normas de cada país el etanol se puede mezclar con 5% hasta 25% en volumen de agua según las normas de cada país). El uso de esta mezcla se considera necesaria y beneficiosa para el medio ambiente ya que mejora la combustión de los motores de explosión interna y reduce las emisiones de gases contaminantes.
- Hidratado: Para uso directo en motores de ciclo Otto en automóviles modificados ya que han sido debidamente adaptados para este combustible. Este etanol proviene directamente de la torre de destilación y a partir de este se puede también pasar a etanol anhidro mediante un proceso adicional que remueve la mayoría del agua del combustible.

\*Los porcentajes de etanol/agua que se expresan deben ser medidos a 20°C

De 1975 a 2000 Brasil logró evitar la emisión de 110 millones de toneladas de CO<sub>2</sub> en la atmósfera, esto con la producción de aproximadamente 5.6 millones de vehículos con motores a prueba de etanol, además de la aprobación gubernamental de la mezcla de gasolina con etanol en un 25% por cada litro de gasolina.

Para 2003, durante el gobierno de Lulo da Silva, Brasil tuvo que contemplar otra opción para el combustible de sus vehículos, pues en este año la invasión de Irak por el gobierno de Bush (EE. UU) restableció una nueva ola de alza en los precios del petróleo así que comenzaron a fabricar vehículos "Flex-fuel", estos vehículos, como su nombre lo indica tienen la flexibilidad de funcionar con varios tipos de combustible. Los Flex-fuel tienen componentes modificados especialmente para ser compatibles con las propiedades químicas del etanol, estas modificaciones garantizan un funcionamiento uniforme y larga vida.

A partir de este momento varias industrias automotrices comenzaron a lanzar al mercado sus vehículos Flex-fuel como lo son; Volkswagen, Chevrolet, Fiat, Ford, Peugeot, Renault, Toyota, Honda, Mitsubishi y Citroen, la competencia ayudó a hacer más accesible la obtención de esta tecnología y permitió a las clases media y baja obtener este tipo de vehículos.

Después del 2005, con la intensificación de la gravedad del calentamiento global a causa de los gases de efecto invernadero (GEI), varios países comenzaron a darle una oportunidad a esta nueva tecnología y verla con mejores ojos para integrarla a su matriz energética haciendo a Brasil su productor de Etanol.

En la figura 3 se puede observar el crecimiento en Brasil de las ventas de vehículos Flex-fuel en el mercado interno y las exportaciones de azúcar en el mercado externo del año 2000 a 2010.

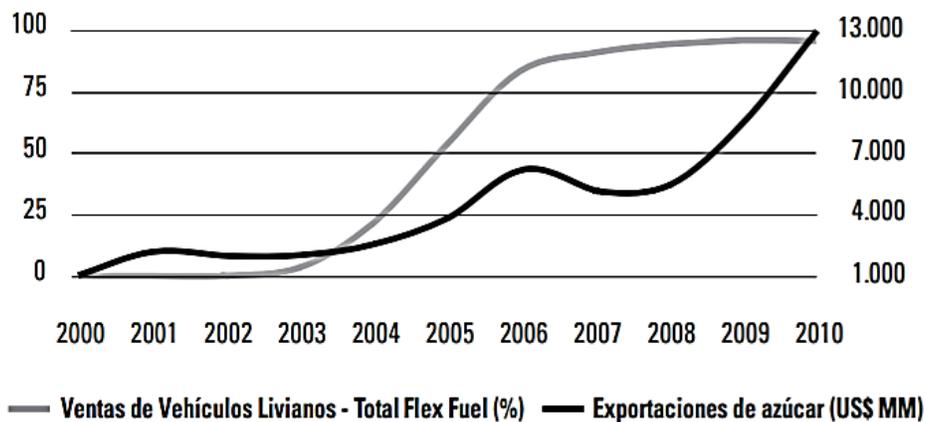


Figura 3. Crecimiento de venta de vehículos Flex-fuel en Brasil del 2000-2010<sup>4</sup>

A partir del 2010 la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) clasificó oficialmente el Etanol de Brasil como un “biocombustible avanzado” capaz de reducir los (GEI) un 90% comparado con la gasolina.

La producción de alcohol alcanzó sus niveles máximos en 2010, tal como se puede ver en la figura 4, donde se hace una comparación entre el Próalcohol (proyecto aprobado entre 1976 y 1986 para la producción de etanol) y Total Flex-Fuel que sí logró tener un buen impacto de aceptación en el mercado gracias al plan y las circunstancias presentadas en esos años.

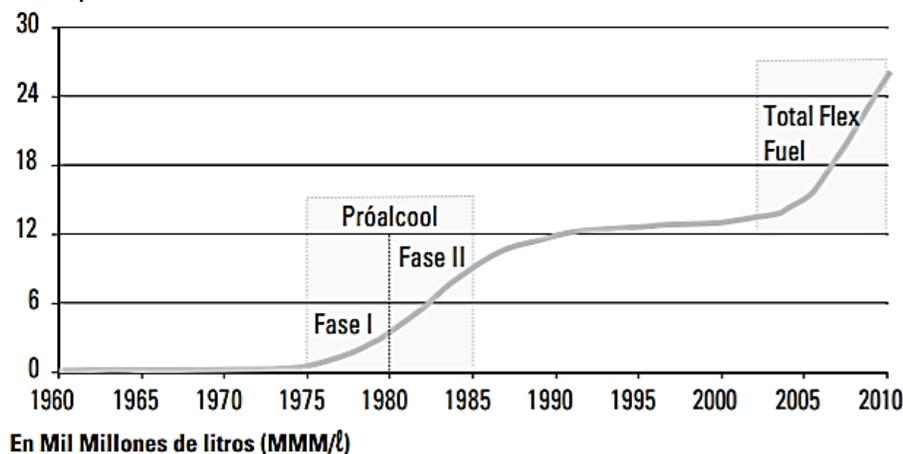


Figura 4. Comparación entre Próalcohol y total Flex-fuel de 1960 a 2010.<sup>5</sup>

Los últimos datos de Brasil, en el 2020-2021 arrojaron que los costos el etanol producido oscilan entre los 0.55 y los 0.60 USD por litro, tal como se muestra en la figura 5.

<sup>4</sup> Datos: FAOSTAT 2010; ALICE-Web/SECEX 2011 y ANFAVEA 2011.

<sup>5</sup> Fuente: modificado de MAPA 2010

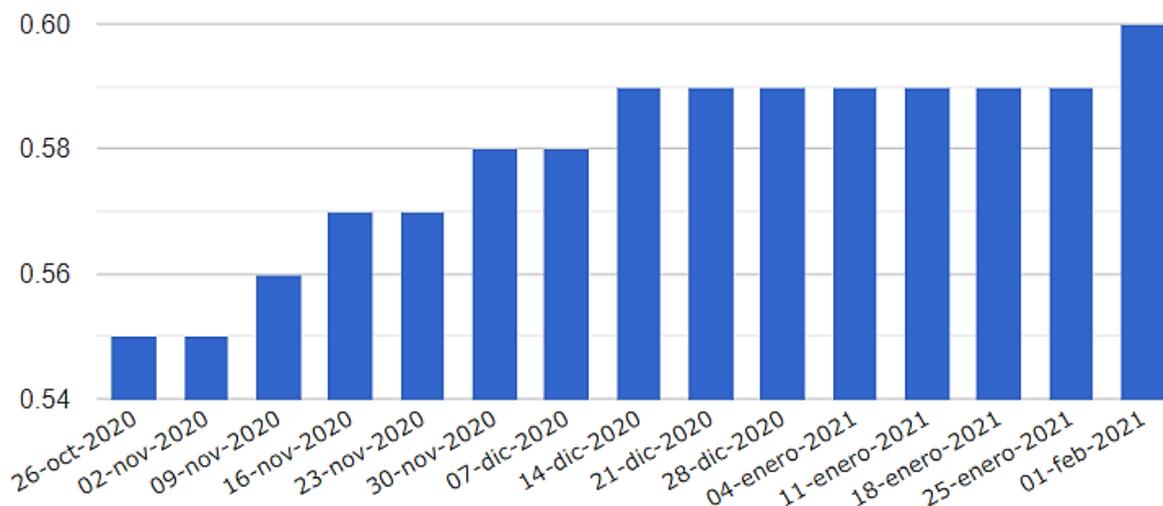


Figura 5. Precios de etanol en Brasil por litro (USD)<sup>6</sup>

Para Brasil, la actividad cañera es casi tan antigua como el mismo país, Sao Paulo se convirtió en su principal ciudad productora de etanol, desde 1930 hasta la actualidad produciendo más de 8,500ML de etanol hidratado. Petrobras (Petróleo Brasileiro S.A) es una empresa semi pública de capital abierto, es el principal comprador y distribuidor de etanol en Brasil, fue creada en 1953 siendo la mayor empresa de Brasil, opera en Albacora-Leste con un 90% del campo y el 10% restante lo posee Repsol. Brasil comercializa gasolinas A (sin etanol) y C (mezcla E20, E23 o E25), en sus variantes Comum (con octanaje de 87) y Premium (con octanaje de 91), sus operaciones principales son cuencas, refinerías, terminales y oleoductos, central térmica, gasoductos y plantas fertilizantes, es la tercera compañía industrial más grande de Latinoamérica con ingresos cercanos a US\$100 mil millones.

Al concluir el 2020, Petrobras alcanzó una producción promedio de 2,7 millones de barriles diarios de petróleo y gas natural pese a las condiciones que enfrentaron por los contagios del virus del SARS-CoV-2, lo que ocasionó que el consumo de gasolina cayera un 65%, un 50% el de diesel y un 50% el de queroseno de aviación, ya que algunas plataformas se paralizaron y redujo la demanda del producto.

Pese a las dificultades del año Petrobras pudo sostenerse con una buena producción y según las metas de Petrobras, proponen elevar su producción de petróleo y gas natural hasta 3,5 millones de barriles diarios para 2024.

También en 2017 Brasil lanzó “Renovabio”, una política nacional de biocombustible para desarrollar una mejor y más grande producción de bioetanol y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). El objetivo de esta política es ir escalando en la producción de etanol hasta 26.700 millones de hL a 37.700 MhL en 2028 y con ello reducir un 20% las GEI. La parte más ambiciosa de este proyecto es en la década de 2030-40 usar el etanol como fuente de hidrógeno en futuras celdas de combustible destinadas a los motores evitando las baterías de litio.

<sup>6</sup> [https://www.globalpetrolprices.com/data\\_download.php](https://www.globalpetrolprices.com/data_download.php)

## Estados Unidos

Estados Unidos, se introdujo en el mercado de etanol como combustible con una estrategia en la década de 1980, Brasil por su parte ya tenía una amplia experiencia y un mercado más consolidado, pero a partir del año 2000 invirtió aún más en su tecnología y el proceso para disminuir la emisión de gases de efecto invernadero y su dependencia del resto del mundo en cuanto a los combustibles, lo cual le permitió posicionarse hoy en día en el país que más produce etanol del mundo.

A comparación de Brasil con la producción de etanol a base de caña de azúcar, Estados Unidos apostó por el maíz, al principio optó por dos procesos, el de molienda seca y molienda húmeda, que después de la experiencia con ambos se descartó el de molienda húmeda ya que tenía una menor eficiencia. Esta inversión trajo otros beneficios para estados unidos como; mayor producción de insumos (maíz), subsidios agrícolas para asegurar la materia prima y otro de 0.5 dólares por galón para los procesadores de etanol, además pusieron cuotas arancelarias para los importadores de etanol de Brasil para disminuir la competencia favoreciendo su producto con precios más bajos o mayores ganancias que la contraparte.

El plan de estados unidos con este combustible es que, así como cada vez buscan producir más también se busca utilizar más, las cifras de su crecimiento se pueden apreciar en la tabla 5.

Concepto	2009	2018	TCPA (%)
Producción	39, 557	63, 143	5.4
Consumo	40, 794	70, 897	6.4
Importaciones	1, 237	7, 754	22.6

*Tabla 5. Crecimiento de la industria del Etanol en E.U (millones de litros)*

El crecimiento de la producción y el consumo del etanol aun así ha tenido que seguir planes (exentando al etanol del 10% del impuesto de 4 centavos de dólar de la gasolina) y aprovechado oportunidades como los periodos de escasez de petróleo, pues frente a este combustible es difícil el crecimiento de la tecnología del etanol.

Estados Unidos ha promovido la producción y el uso de etanol como combustibles tratando de cumplir dos propósitos:

- Disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero que provienen de los motores de combustión interna usando la combinación de gasolina con etanol.
- Aumentar el octanaje de la gasolina.

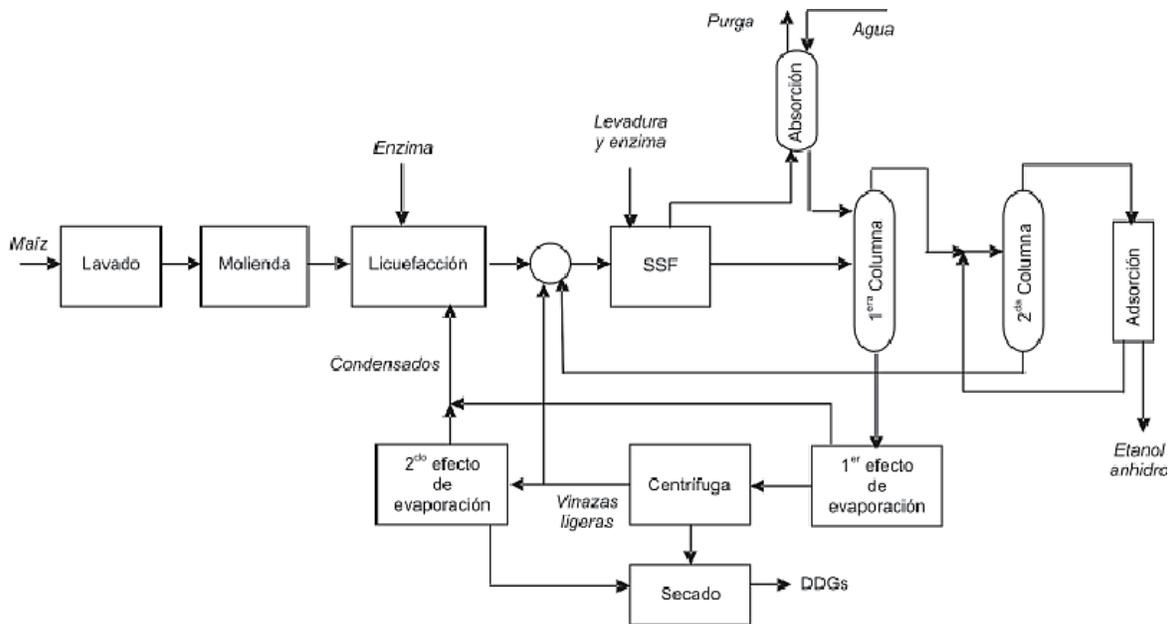


Figura 6. Diagrama de flujo del proceso de producción de etanol por molienda seca a partir de maíz.<sup>7</sup>

El octanaje es una característica que distingue la calidad y la capacidad antidetonante de un combustible como la gasolina o el etanol al comprimirse la mezcla dentro el cilindro de un motor, esta capacidad nos dice que tanto se pueden evitar las detonaciones y explosiones en las máquinas de combustión interna para que se libere o produzca la máxima cantidad de energía útil.

Esto no significa que entre más octanaje mejor aprovechada será la energía, sino que debe tener un tiempo exacto dependiendo del motor, cuanto más pueda subir el pistón del coche sin que la gasolina explote, más se puede aprovechar la energía generada, por eso es por lo que depende el motor.

Además, uno de los principales componentes de la gasolina es el metil terbutil éter (MTBE) usado para su oxigenación y mejor combustión, este componente es altamente contaminante y se puede sustituir por el etanol, Estados Unidos ha logrado sustituir enormemente este contaminante gracias las políticas e inversiones anteriormente ya mencionadas, tal como se muestra en la figura 7.

A pesar de los esfuerzos de estados unidos por sustituir este compuesto, este país no ha dejado de lado la venta de MTBE, pues exporta grandes cantidades a países latinoamericanos y asiáticos, principalmente México y China, esto debido a que es un compuesto fósil que se obtiene como derivado del petróleo además de que es más económico que el etanol, pero como se planteó anteriormente estados unidos está luchando por depender lo menos posible de los combustibles fósiles e invertir en la tecnología del etanol esperando pronto sea mucho más rentable.

El precio del MTBE en 2020 oscilo entre los 7.70cent/galón hasta 135cent/galón FOB (Free on board) que se refiere al precio con costos y riesgos del envío.

<sup>7</sup> [https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Esquema-del-proceso-de-obtencion-de-etanol-a-partir-de-maiz\\_fig2\\_26496690](https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Esquema-del-proceso-de-obtencion-de-etanol-a-partir-de-maiz_fig2_26496690)

Las desventajas del etanol frente al MTBE son que, al no ser fósil, absorbe la humedad del ambiente, generando problemas en las infraestructuras de las estaciones de servicio, ya que en la mayoría de los países estas estaciones no están construidas para evitar esto, pues son necesarios aditivos inhibidores de corrosión. Además, la gasolina debe ser mezclada con etanol hasta la terminal, ya que, si la mezcla se transporta por los ductos o algún otro medio de transporte esta absorbe la humedad de los contenedores de traslado generando aumentos de costos enormes para adecuar el transporte, además no se puede almacenar por tiempos prolongados ya que también generan humedad, y de ser así se genera oxido en los tanques y este contaminante terminaría en los vehículos generando fallas.

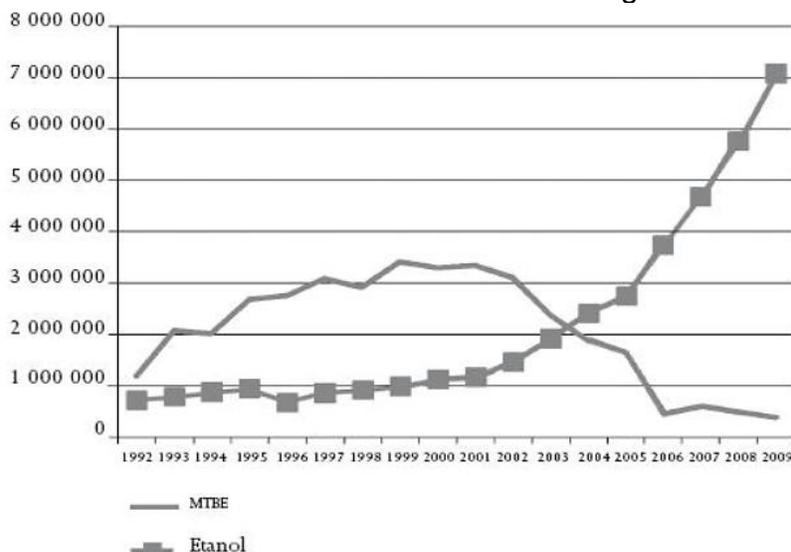


Figura 7. Demanda de oxigenantes de gasolinas en EE. UU. (galones de gasolina equivalente).<sup>8</sup>

El crecimiento de la producción y la demanda de etanol en Estados Unidos en la última década ha abierto el debate sobre la tecnología preguntándose a cerca de estudios específicos sobre el perfil químico, biotecnológico, y el impacto ambiental, económico y social, estos primeros estudios arrojan los verdaderos rendimientos, costos y rentabilidad, siendo que, en el caso de etanol aún no es muy rentable.

El objetivo de Estados Unidos, como se mencionó anteriormente es hacer más rentable el uso de etanol en base a su costo y beneficio, desde el 2000 el volumen de etanol producido en este país ha tenido crecimientos significativos y acelerados, las últimas cifras de 2020-2021 muestran que incluso en promedio es más barato que el etanol de Brasil, pues oscila el precio entre 0.51 y 0.56 USD como se muestra en la figura 8.

<sup>8</sup> <http://www.scielo.org.mx/img/revistas/regsoc/v24n53/html/a7f6.htm>

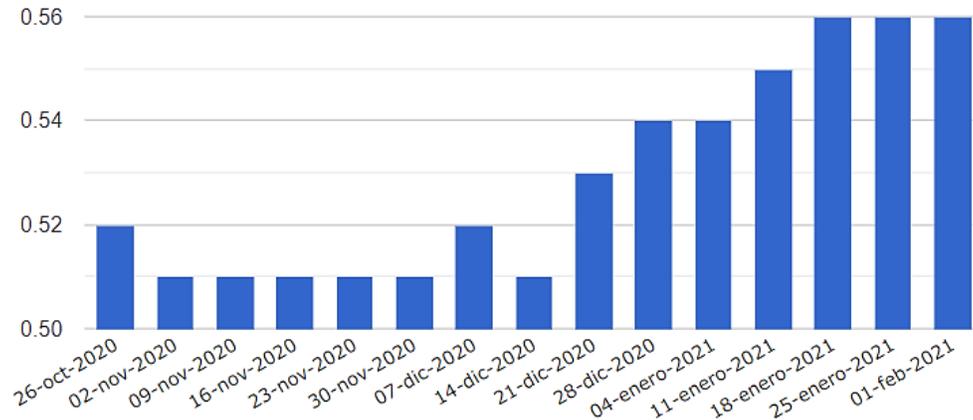


Figura 8. Precios de etanol en Estados Unidos por litro (USD).<sup>9</sup>

La variación de precios no es muy grande actualmente, pero hay que tomar en cuenta que Brasil lleva muchos años más invirtiendo en esta tecnología a comparación de Estados Unidos.

#### Etanol en el mundo

Aproximadamente el 80% del etanol producido que se consume en el mundo es utilizado como combustible, la producción de etanol está fuertemente ligada al sector de materias primas, ya que en general este es producido a base de maíz y caña de azúcar, y al petróleo (como se muestra en la gráfica 10 con respecto a los precios de cada uno de estos factores), aunque algunos investigadores consideran que también depende del cambio climático y el medio ambiente, pues influyen en que más países busquen alternativas sobre como disminuir la contaminación y otorgan incentivos para la investigación y producción del etanol.

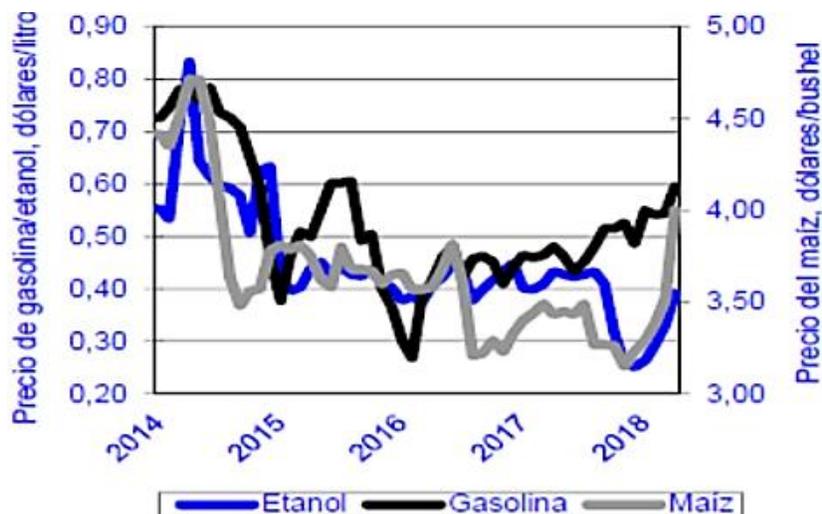


Figura 9. Precios del etanol, gasolina y maíz en Estados Unidos (DLS).<sup>10</sup>

9

10

Como ya analizamos EE. UU. y Brasil dominan la producción de este compuesto y su consumo mundial pero los países que siguen en esta lista de productores son; China, India, Canadá y la Unión Europea.

En la gráfica 11. Se muestra el consumo mundial de etanol, del cual en 2019 se produjeron 131 287 millones de litros, de los cuales Estados Unidos aportó 47% y Brasil el 26%

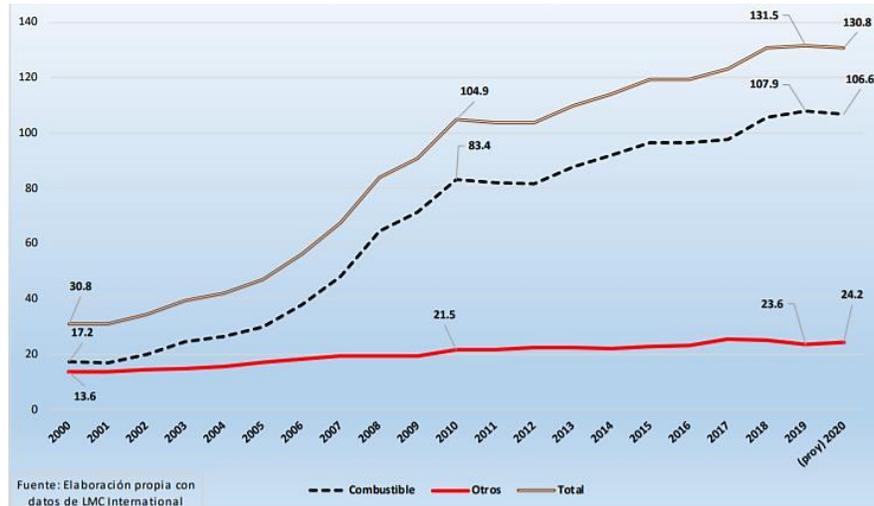


Figura 10. Consumo mundial de etanol (miles de millones de litros).<sup>11</sup>

No sólo debe analizarse el consumo, sino también la producción, uso y comercialización de este producto en cada país para observar la verdadera importancia de este combustible.

En la tabla 6 podemos observar la oferta y demanda del etanol en diferentes países en 2019.

Producción			Consumo			**Comercio		
País	Total	Combustible	País	Total	Combustible	País	Importaciones	Exportaciones
Estados Unidos	61,552.0	59,690.9	Estados Unidos	57,105.4	54,361.6	Japón	1,531.2	0.2
Brasil	33,875.2	30,552.8	Brasil	33,290.7	31,125.9	Brasil	1,344.8	1,929.3
China	11,049.4	4,311.0	China	11,130.8	4,411.0	Estados Unidos	1,344.8	5,791.5
*Unión Europea	8,294.1	5,533.9	*Unión Europea	9,063.1	6,025.1	Canadá	1,268.9	81.3
India	3,069.3	2,000.0	India	3,689.3	2,000.0	*Unión Europea	1,230.0	250.0
Canadá	2,113.8	1,900.0	Canadá	3,301.3	3,120.0	India	675.0	55.0

Tabla 6. Oferta y demanda del etanol en varios países (millones de litros).<sup>12</sup>

Algunas de las ventajas de que más países se comiencen a interesar y con ello a invertir en esta tecnología es que se abaratan los costos de materia prima para la producción gracias a las grandes cantidades de cosecha de maíz y caña de azúcar, además de que al invertir más en tecnología se espera que este proceso sea más eficiente e incluso se encuentren alternativas de producción a base de materias primas de segunda y cuarta generación, así como desechos orgánicos.

Una de las desventajas son los conflictos comerciales, pues estos hacen que se cobren aranceles por la importación ya sea de la materia prima como del etanol,

<sup>11</sup>

<sup>12</sup>

como es el caso de China con Estados Unidos que aplico un costo extra a las importaciones de maíz de origen estadounidense como respuesta al impuesto del acero y el aluminio que importan de China.

Los precios actuales del etanol en el mundo se muestran en la gráfica 12. Para 2021, donde se puede ver que Estados Unidos ha rebasado a Brasil en conseguir la producción de un etanol barato.

Precios del etanol, 01-feb-2021  
(litro, U.S. Dollar)

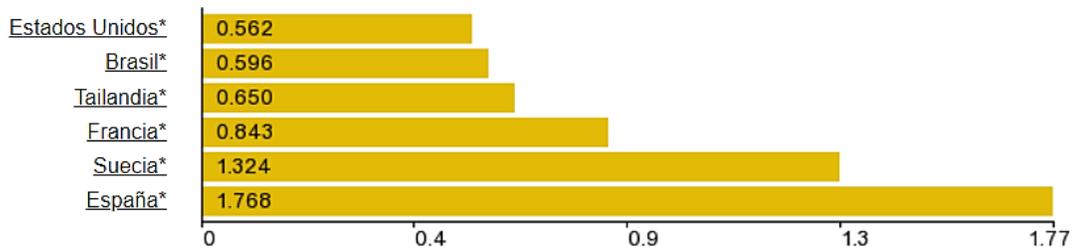


Figura 11. Precios del etanol 2021.<sup>13</sup>

Ya que el precio del petróleo y la gasolina inevitablemente siguen al alza (por ser un recurso no renovable) es recomendable seguir invirtiendo en el etanol como combustible, sobre todo para aquellos países que carecen ya de petróleo si no quieren depender aún más de las importaciones crecientes del combustible en la próxima década.

### Matriz energética mundial

El consumo energético prácticamente comenzó con el uso del fuego, desde que el hombre aprendió a usarlo busco maneras de generarlo y mantenerlo vivo con combustibles y estos se fueron innovando a medida que se aprendía como obtener trabajo a partir de la combustión, en este proceso se comenzaron a usar materiales como la madera, el carbón, el petróleo y este último ha sido la fuente de energía más usada por el mundo.

El petróleo se usa desde la antigüedad, desde las primeras civilizaciones, se sabe que los pueblos de Mesopotamia hacían comercio con lo que llamaban betún o asfalto, los griegos lo usaban como un arma, el llamado “fuego griego” que básicamente era derramar petróleo en el mar y prenderle fuego cuando las flotas enemigas se acercaban, en Irán ya había pozos de petróleo hace aproximadamente 500 años aC y los chinos buscaban el petróleo bajo tierra para uso doméstico y alumbrado. También los indígenas de la época precolombina en América lo conocían y lo usaban como impermeabilizante para las embarcaciones.

Como podemos leer no este recurso se ha explotado desde hace miles de años, y como ya se mencionó en el primer capítulo la primera vez que se intentó sustituir el petróleo por otro combustible se descartó gracias a la llegada de la Segunda Guerra Mundial y al abaratare su costo, sin embargo la escasez de este recurso junto con la contaminación del medio ambiente por las emisiones de gases de efecto invernadero hoy en día nos orilla a invertir conocimiento y tecnología para sustituir este combustible por uno más eficiente y que no tenga un impacto ambiental tan grande, además de que sea renovable en mucho menos tiempo.

13

A continuación, presentaremos las estadísticas de la energía usada mundialmente y cuál es el porcentaje que ocupa cada combustible para abastecernos de este recurso tan indispensable.

Año	carbón	Gas natural	Nuclear	Hidroeléctrica	Eólica, solar, etc.	Biocombustibles y residuos	Petróleo
1990	25.33%	18.96%	5.99%	2.10%	0.42%	10.31%	36.88%
1995	23.95%	19.60%	6.60%	2.31%	0.46%	10.50%	36.59%
2005	26.02%	20.53%	6.28%	2.20%	0.61%	9.47%	34.89%
2018	26.88%	22.84%	4.95%	2.54%	2.01%	9.29%	31.49%

Tabla 7. "Porcentaje de energía utilizada de 1990 a 2018"

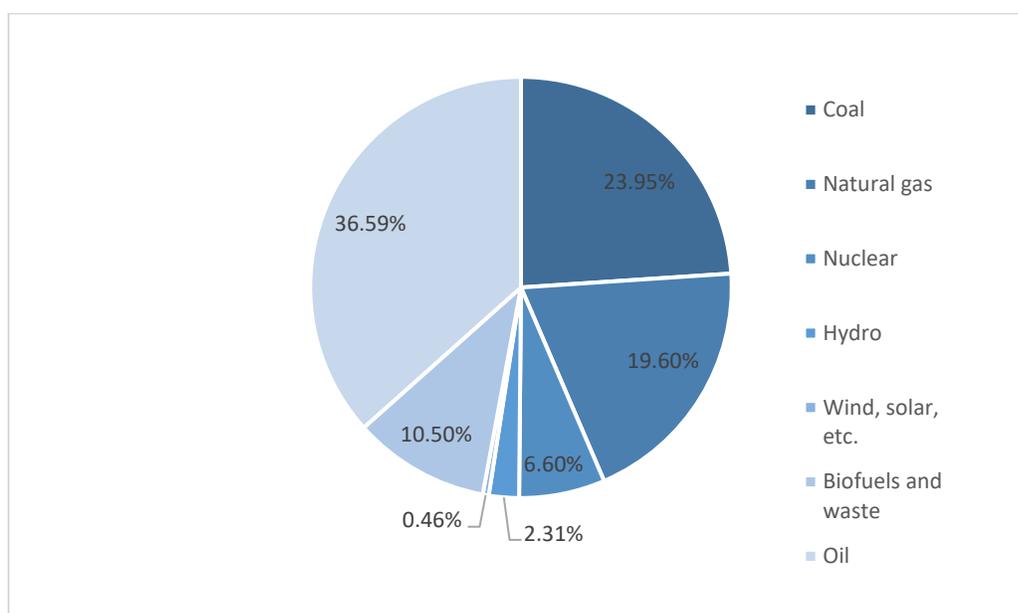


Figura 12. Consumo energético mundial en el año 1995.<sup>14</sup>

<sup>14</sup> <https://www.iea.org/data-and-statistics?country=WORLD&fuel=Energy%20supply&indicator=TPESbySource>

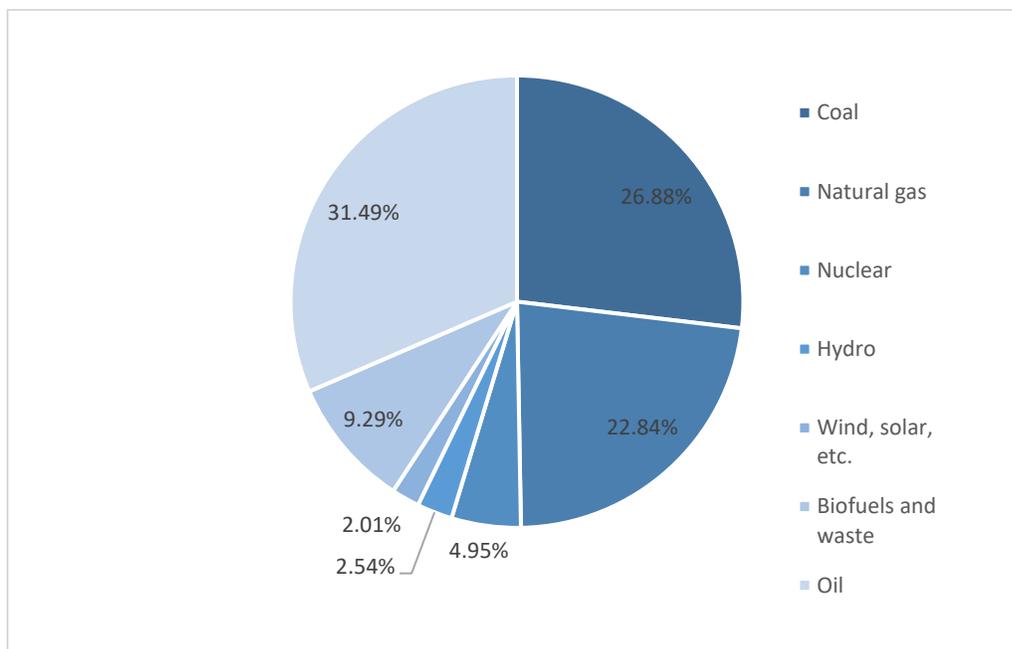


Figura 13. Consumo energético mundial en el año 2018.<sup>15</sup>

Como se puede observar en la gráfica 12 y 13, realmente el porcentaje de tipos de energía de consumo en el mundo no se ha podido reducir significativamente la demanda del uso del petróleo en los últimos años, pero si se nota una clara tendencia a reducirla y se nota que se ha trasladado este porcentaje reducido a la energía solar y eólica teniendo un impacto más grande en los últimos años.

En el caso de los biocombustibles se han mantenido en los mismos porcentajes su uso desde 1990, seguramente esto porque, así como Estados Unidos entró al mercado fuertemente a partir del 2000 también hay que considerar que Brasil no ha aumentado mucho su producción y uso. En estos últimos años es cuando se ha ido explotando más esta tecnología, sobre todo la tercera y cuarta generación, y se espera que para los próximos años este combustible tenga cada vez más presencia.

<sup>15</sup> <https://www.iea.org/data-and-statistics?country=WORLD&fuel=Energy%20supply&indicator=TPESbySource>

En los siguientes esquemas podemos obtener información acerca de los países que consumen más energía, Estados Unidos desde 1990 ha ido a la cabeza hasta 2009 donde, China lo ha superado y va al alza, es lógico considerando la población de China, pues comparado con China, Estados Unidos aun así es un gran consumidor de energía, pues hasta 2018, se estima que China tiene una población de 1.393 miles de millones, comparada con Estados Unidos con 327.2 millones, más de cuatro veces su población.

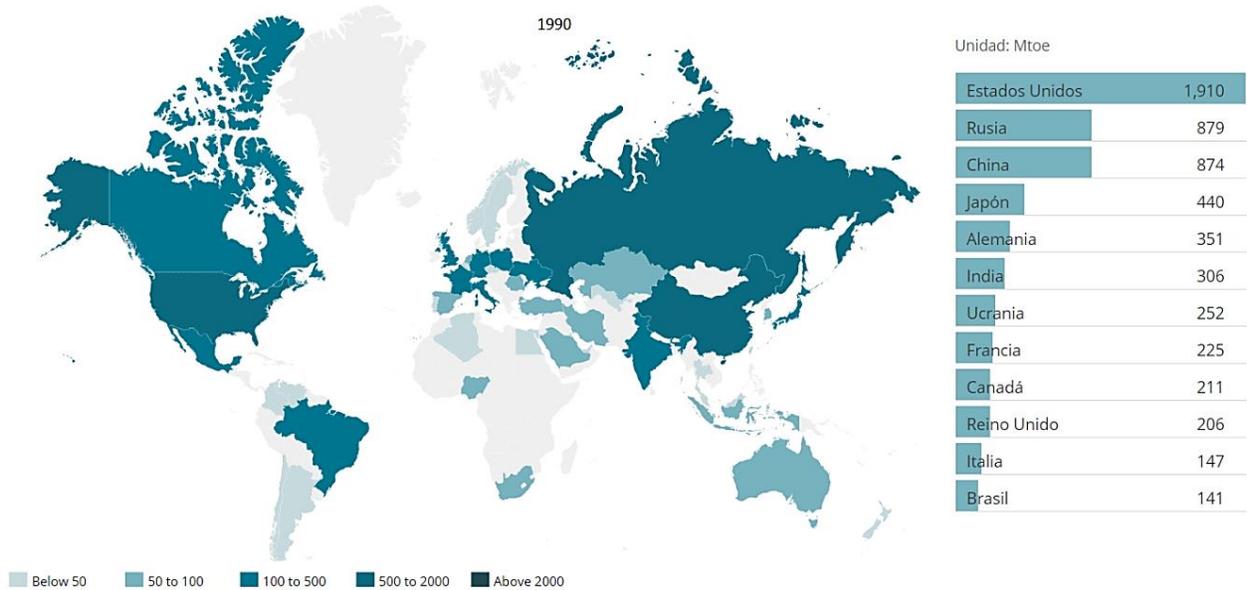


Figura 15. Distribución del uso de la energía por países en 1990.<sup>16</sup>

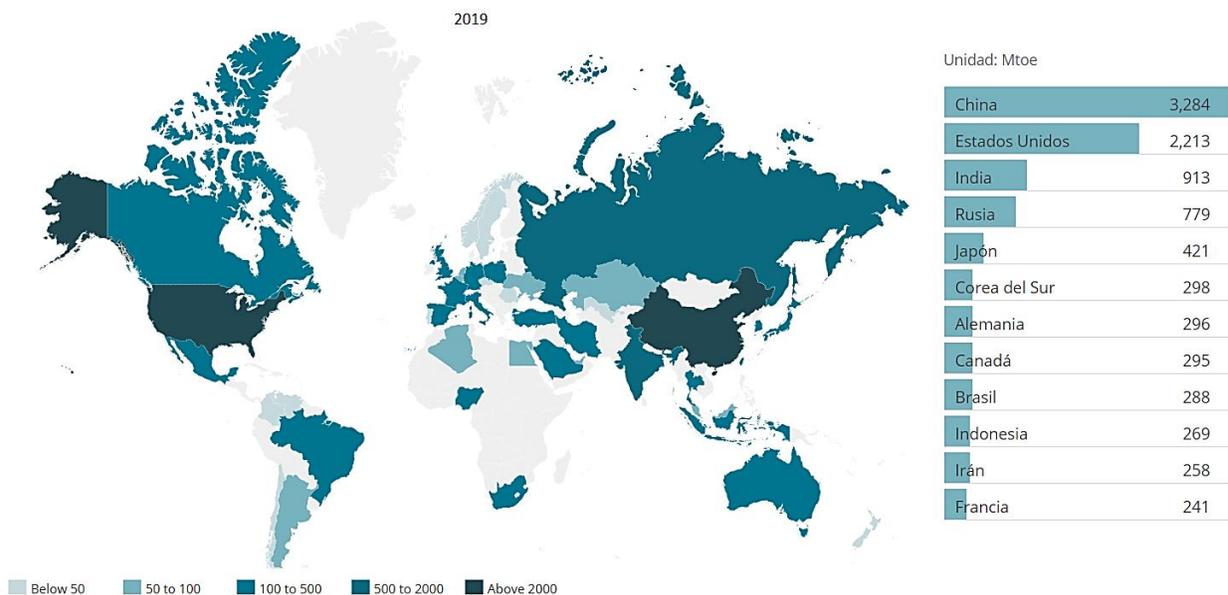


Figura 16. Distribución del uso de la energía por países en 2019.<sup>17</sup>

16

17

También se puede analizar que, en algunos países aún es difícil obtener datos de cuanta energía se usa, por ejemplo, de países de África, lo cual es alarmante porque se están muy poco desarrollados y ni siquiera tienen los recursos más básicos.

## México

El escenario en México es algo complicado, a pesar de ser un país petrolero la situación actual de Pemex (Petróleos Mexicanos) es crítica ya que “se encuentra en una “quiebra técnica”, debido a que en la última década no ha sido capaz de generar recursos suficientes para cubrir sus gastos de operación e inversión, así como cubrir su deuda y las obligaciones fiscales” tal como lo dijo el Instituto Mexicano para la Competitividad (IMCO).

Desde el 2009, los gastos de cada año de la petrolera fueron mayores a sus ingresos, sus obligaciones financieras crecieron hasta un 113% pasando en 2009 de los 631 mil 850 millones de pesos hasta 2 billones para 2019 lo cual obligó a que se endeudara más.

A pesar de este escenario tan alarmante el IMCO reconoció que valdría la pena rescatar la compañía debido a las implicaciones sistemáticas que generaría su quiebra sobre la economía, por lo cual se ha invertido económicamente en ella en los últimos años esperando reformar la operación y gestión para su mejora.

Este problema con un escenario tan desfavorable ha llevado a México a apostar e invertir más en el etanol, el proyecto más reciente del gobierno es la productora de etanol como combustible a base del grano de sorgo, la cual se tenía pensado arrancar en el 2020 con la finalidad de que la mayoría de la producción se destinará a gasolineros, importadores y comercializadores.

Esta planta utilizará como materia prima el grano de sorgo, está anclada a la demanda de Pemex e incentivada por la comisión reguladora de energía (CRE) que permitirá la mezcla de 10% en las gasolineras, ya que anteriormente en algunos estados del país esto estaba prohibido.

Los ahorros que se estiman para los gasolineros al mezclar etanol al 10% ascenderán hasta a 3 pesos por litro, ya que producir un litro de etanol costará solo 70% del costo de la producción de un litro de gasolina.

Antes del 2019 el país produjo cantidades muy pequeñas de etanol, apenas 144 millones de litros, de los cuales 54 millones fueron destinados a combustible es decir el 37%, por otro lado, su consumo fue de 320 millones de litros donde 171 millones fueron para combustible, en contraste, en ese mismo año, Estados Unidos y Brasil consumieron 57,105 y 33,291 millones de litros de etanol, respectivamente, de los cuales 54,362 y 31,126 millones de litros fueron utilizados como combustible. Este consumo fue equivalente a 50 y 29 por ciento, respectivamente, de los 107,905 millones totales del biocombustible de etanol utilizados en el mundo.

**CAPÍTULO III.**  
**MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ETANOL**

En 1674 el biólogo holandés Anton Van Leeuwenhoek descubrió a los microorganismos a los cuales, en ese entonces llamó “animálculos” en una gota de agua a través de sus observaciones al microscopio, pero para establecer la primera clasificación taxonómica tuvieron que pasar casi 100 años, cuando el biólogo danés Otto Müller amplió estos estudios y, siguió los métodos de clasificación de Carlos Linneo.

Ahora sabemos que los microorganismos son seres vivos microscópicos, capaces de realizar procesos metabólicos para crecer, alimentarse, reproducir energía y reproducirse. Estos microorganismos a lo largo del tiempo han tomado más importancia a medida que los conocemos, pues se encuentran en todos lados del planeta tierra, son los seres vivos más primitivos y abundantes capaces de vivir y reproducirse en entornos de todo tipo y en condiciones ambientales extremas, desde suelos, sedimentos, rocas, océanos, hasta el antártico y el cuerpo humano, de hecho, son seres fundamentales para la vida como la conocemos.

Los microorganismos pueden conformarse por células eucariontes y procariontes, o por su tamaño podemos considerar a los virus microorganismos solamente que estos carecen de célula.

A continuación, se muestra una figura de la clasificación de microorganismos:

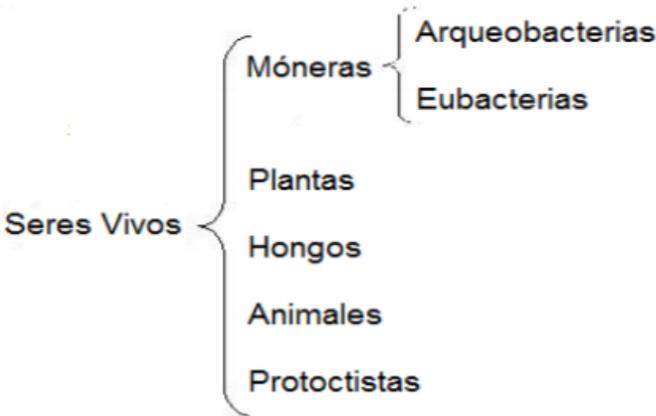


Figura 17. Diagrama de la clasificación de microorganismos.<sup>18</sup>

Aunque todos los microorganismos son de vital importancia, para fines de la presente tesis se presentará únicamente información de las bacterias y los hongos, ya que los microorganismos que fermentan produciendo etanol caen en esta clasificación.

18

Primero daremos una breve explicación a cerca de la unidad elemental de las cuales se forman los microorganismos; la célula, ya que existen dos tipos y es una de las diferencias de los organismos que vamos a estudiar en este capítulo.

La célula es la unidad de vida más pequeña que puede vivir por sí sola, existen en todos los microorganismos ya que los conforman y estas se clasifican en dos grupos; procariontas y eucariotas, sus principales características y diferencias se muestran en la tabla 8.

	Célula procarionta	Célula eucariota
Definición	Célula sin núcleo definido, su material genético se encuentra disperso en el citoplasma.	Célula con un núcleo definido por una membrana que contiene el material genético.
Tamaño	Entre 1 y 10 micrones.	Entre 10 y 100 micrones.
Forma	Puede ser esférica, de bastón, de coma ortográfica, o de espiral. Aunque son unicelulares, pueden formar colonias.	Muy variadas, pueden constituir organismos unicelulares o pluricelulares.
Información genética	Localizada en un nucleóide, sin ser rodeado por una membrana.	ADN y proteínas forman la cromatina que se concentra en el núcleo
División celular	Directa, principalmente por fisión binaria. No hay huso mitótico ni microtúbulos.	Por mitosis y meiosis. Presenta huso mitótico, o alguna forma de ordenación de microtúbulos.
Genes	Expresados en grupos llamados operones.	Expresados individualmente; poseen intrones y exones.
Ribosomas	Presentes pero pequeños (70S)	Presentes y grandes (80S)
Flagelo	Simple, formado por la proteína flagelina.	Compuesto, formado por tubulina y otras proteínas.
Cromosomas	Cromosoma único circular.	Múltiples. Cada uno con dos cromátidas, centrómero y telómeros.
Pared Celular	Presente	Sólo presente en plantas y hongos.
Dominios	Bacteria y Archaea	El dominio Eukarya que agrupa plantas, animales y hongos.
Ejemplos	La bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> , la arquea <i>Halobacterium salinarum</i> .	La levadura del pan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , la mosca de la fruta <i>Drosophila melanogaster</i> , el platano o banano <i>Musa sp.</i>

Tabla 8. Características y diferencias de las células procariontas y eucariotas.<sup>19</sup>

### Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariontas unicelulares del reino monera, su estructura celular es relativamente simple si la comparamos con otros organismos ya que no tienen núcleo ni organelos unidos a su membrana.

Hablando de su información genética ésta es contenida en un solo bucle de ADN, algunas bacterias tienen la ventaja de tener plásmido, este contiene genes que dan propiedades extra y en sí, es un círculo adicional de material genético.

#### Reproducción:

Su reproducción se logra por fisión binaria, en este proceso la bacteria es una sola célula, su ADN se replica dividiéndose en dos y dando paso a un alargamiento en la célula para finalmente dividirse en dos células hijas, cada una con ADN idéntico al de la célula madre. Su reproducción depende de que existan condiciones favorables como la temperatura adecuada, nutrientes disponibles, pH y humedad. Este tipo de reproducción es eficiente porque el organismo la efectúa cuando está apto para este proceso, aunque se tiene la desventaja de que al no haber recombinación genética las células pueden desaparecer o convertirse en un tumor canceroso en el caso de organismos pluricelulares.

#### Clasificación:

Las bacterias se clasifican de diferentes maneras, las que trataremos en este capítulo, son; según la composición de su pared celular, su morfología y su nutrición.

#### *Según la composición de la pared celular:*

La tinción Gram es una prueba que se utiliza para identificar a las bacterias por la composición en sus paredes celulares, en el siglo XIX Paul Ehrlich publicó un método para colorear el bacilo de la tuberculosis, lo que inspiró a Gram para investigar más al respecto de este proceso y en su intento de establecer la diferencia entre dos bacterias causantes de la neumonía (*Klebsiella pneumoniae* y el Neumococo) logró obtener bacterias color violeta, a las cuales bautizó como "Gram positivas" gracias a la mezcla de violeta de genciana, fijación con yodo en una solución de yoduro de potasio, y finalmente, realizar un lavado con etanol. Años después un científico alemán llamado Carl Weigert añadió al descubrimiento de Gram la adición de Safranina y observó que algunas bacterias no se teñían y otras se teñían de rojo, por lo cual estas últimas fueron llamadas bacterias "Gram negativas".

Este proceso es muy importante ya que ayuda a dar una clasificación diferente a las bacterias y además elegir un tratamiento antibiótico. Lo que hace que las bacterias se tiñan de un color u otro es su pared celular, en el caso de las Gram positivas un 90% de su estructura es peptidoglucano y 10% ácido teicoico, en cambio las Gram negativas tienen una pared celular más compleja, 10% es peptidoglucano y posee una capa adicional de lipopolisacáridos (que protege a la bacteria de la penicilina), también cuenta con porinas (proteínas que funcionan como poros para que algunas moléculas específicas se difundan) y zona periplasmática (espacio que rodea al citoplasma en algunas células, esta zona separa la membrana citoplasmática y la membrana externa de la célula, contiene una gran cantidad de enzimas que permiten procesar nutrientes para ser trasladados al interior de la célula).

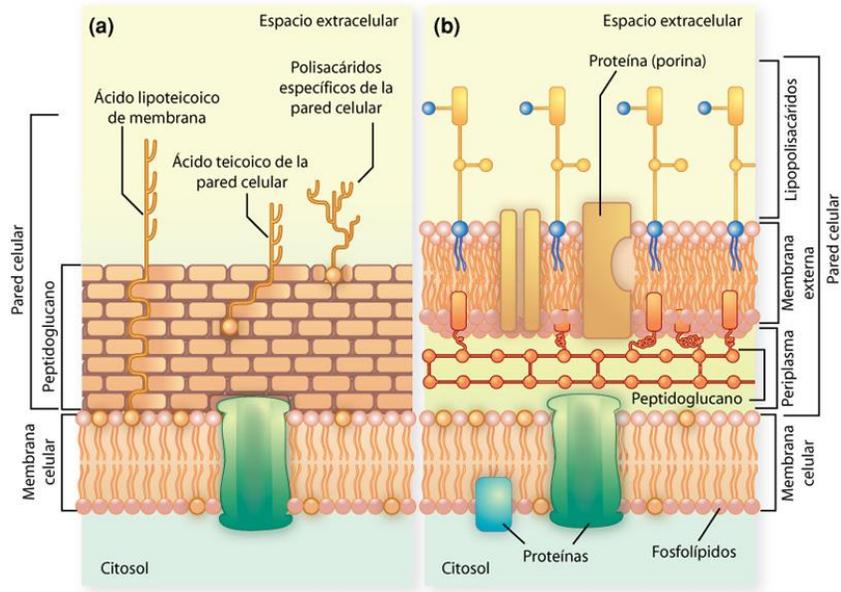


Figura 18. "Pared celular de las bacterias GRAM positiva (a) y negativa (b)".<sup>20</sup>

#### Según su morfología:

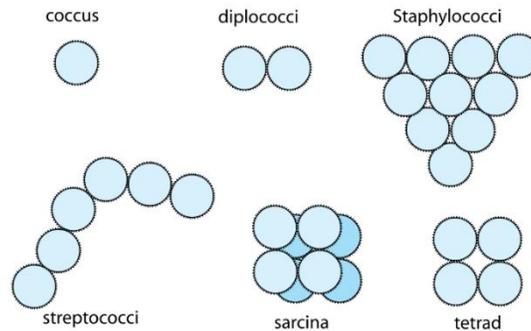
El tamaño de las bacterias oscila entre las 0.5 y 3µm y pueden ser observadas individualmente con ayuda de un microscopio o a simple vista, ya que estas forman colonias en conjunto. Vistas al microscopio las bacterias muestran diferentes formas con diferentes características, las más comunes son:

- Esféricas (cocos): Su tamaño ronda de 0.8 a 1.0 µm, estas bacterias son como esferas y pueden existir individualmente o en grupos, lo cual resulta en la siguiente clasificación:
  - *Cocos*: Cuando se encuentran como esferas solitarias.
  - *Diplococos*: Son cocos que permanecen en pares después de su división.
  - *Tétradas*: Son dos pares de cocos divididos en dos direcciones perpendiculares que forman una agrupación de cuatro.
  - *Sarcinas*: Este arreglo es producto de la división de los cocos en tres direcciones perpendiculares que dan lugar a una agrupación con disposición cúbica.
  - *Streptococos*: Son cocos divididos en un solo plano, pero formado por más de cuatro células.

<sup>20</sup> <https://biotechmind.files.wordpress.com/2015/04/pared-de-celular.jpg>

- *Estafilococos*: Al igual que los estreptococos se forman por más de cuatro células, pero la agrupación de estas es irregular.

Figura 19. Representación gráfica de la morfología esférica de las bacterias.<sup>21</sup>



- Varillas (bacilos): Son bacterias características por su forma de bastón, forman agrupaciones heterogéneas por su variedad de subtipos morfológicos pueden ser GRAM positivo y negativo, estos últimos son los agentes más importantes en el deterioro de alimentos, así como los patógenos más relevantes transmitidos por alimentos.

Al igual que los cocos pueden presentarse en varias formas, estas dependen de la tendencia de las células hijas para mantenerse unidas, sus agrupaciones pueden ser:

- *Diplobacilos*: Son bacilos agrupados en pares
- *Estreptobacilos*: Cuatro o más bacilos agrupados en forma de cadena.
- *Empalizado*: Bacilos agrupados de lado a lado
- *Formas filamentosas*: Son bacilos agrupados con formas filamentosas que toman distintas posiciones, por lo que también se les denomina “letras chinas”.

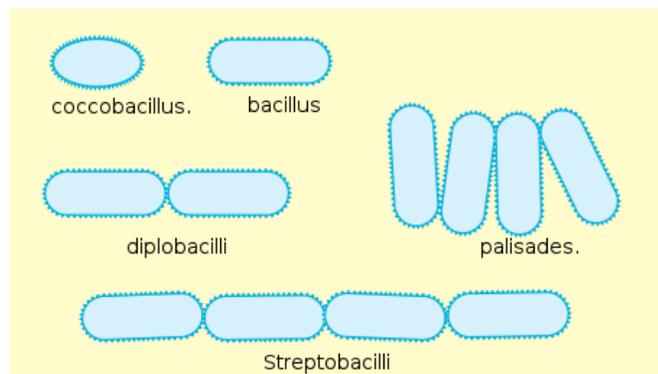


Figura 20. Representación gráfica de la morfología de varillas de las bacterias.<sup>22</sup>

21

22

- Espirales (espirillas): Este tipo de bacterias se caracterizan por presentar una forma flagelada con una o más curvaturas, algunas pueden presentar forma de hélices o de espirales. Se les nombra de manera más específica de acuerdo con el número de vueltas que presentan:
  - *Vibriones*: Espirilos contos, presentan menos de una vuelta completa y los asemejan con “comas”.
  - *Espirilos*: Bacterias, relativamente rígidas, presentan una vuelta completa con forma de hélice, se mueven a través de flagelos externos dando una o más vueltas alrededor de su propio eje.
  - *Espiroquetas*: Los espirilos con más de una vuelta son llamados espiroquetas, pero a diferencia de estas poseen flexibilidad, se mueven a través de filamentos axiales llamados flagelos periplasmáticos.

#### *Según su nutrición:*

La nutrición es el proceso por el cual los seres vivos toman del medio los compuestos químicos necesarios para llevar a cabo sus procesos energéticos y biosintéticos que les permitan vivir y reproducirse.

En el caso de las bacterias pueden tener dos tipos de nutrición:

- Autótrofa: Las bacterias autótrofas producen su propio alimento a partir de materias primas inorgánicas que se encuentran en el medio ambiente como agua, dióxido de carbono y sales minerales, estos organismos no necesitan de otros seres vivos para alimentarse. Los compuestos necesarios entran a la célula a través de la membrana celular, la energía necesaria para llevar a cabo sus procesos de crecimiento y alimentación la obtienen del sol y se transforma de ciertas reacciones químicas.

Los organismos capaces de alimentarse de esta forma son:

- Autótrofos inferiores (algas): Son organismos eucariotas acuáticos que no poseen tejidos ni órganos verdaderos, pero son capaces de realizar fotosíntesis.
  - Autótrofos superiores: Son organismos con tejidos y órganos especializados que realizan fotosíntesis y sirven como alimento para los heterótrofos. Estos organismos son muy importantes ya que reciclan el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), evitan la erosión del suelo, proporcionan hábitats a diversas especies y forman parte del equilibrio climático de la tierra.
  - Plantas no vasculares: Carecen de vasos internos que conducen el agua, los minerales y nutrientes necesarios a través de toda la planta. No tienen hojas, flores, tallos ni raíces.
  - Plantas vasculares: Presentan sistema vascular por el que circula el agua, nutrientes y minerales para su nutrición.
- Heterótrofa: Son organismos más complejos, se alimentan a su vez de otros heterótrofos o de autótrofos, y de esta forma obtienen la energía, nutrientes y minerales necesarios para vivir. Los organismos heterótrofos toman las sustancias y las transforman en moléculas más sencillas que les proveen de lo necesario para su crecimiento

y desarrollo. Toman la energía química de los alimentos que consumen y dependiendo de este alimento se pueden clasificar en:

- *Herbívoros*: Seres que se alimentan únicamente de plantas, pastos, hiervas y vegetales en general, muchos comen huevos y algunas otras proteínas que provienen de animales.
- *Carnívoros*: Su base de alimentación es la carne, cazan a su presa para luego comerla, es importante que estos seres tengan garras y dientes afilados para cumplir el objetivo de su alimentación.
- *Omnívoros*: Estos organismos pueden consumir alimentos de origen animal y vegetal y por ello pueden habitar fácilmente en cualquier ambiente.

### Hongos

Los hongos son organismos eucariotas, son más grandes y estructuralmente más complejos que las bacterias, portan esporas y su nutrición es heterótrofa, pueden ser uní o pluricelulares, de paredes rígidas (por la presencia de quitina).

Los hongos son sumamente importantes para la vida, están en la naturaleza y son esenciales para degradar y reciclar materia orgánica, hasta ahora se han descrito alrededor de 70,000 especies de hongos, pero se considera que pueden haber 1.5 billones de ellos. Gracias a los avances científicos a lo largo de la historia hemos podido hacer uso de ellos en múltiples industrias como la alimentaria, se utilizan para la fabricación de alimentos y bebidas alcohólicas, en la industria química y farmacéutica permiten la obtención de antibióticos, vitaminas, cortisona, entre otros, aunque también algunos son agentes patógenos muy comunes que causan enfermedades como la micosis.

### Reproducción

Una de las características principales de los hongos es que se reproducen por esporas (conidos), algunos hongos se reproducen de forma sexual y asexual (hongos holomorfos) y otros solamente sexualmente. La reproducción asexual también se denomina teleomorfa y la asexual anamorfa o mitospórica.

- **Reproducción asexual**: La reproducción asexual es la más importante para la propagación de la especie, pues por ser más sencilla permite la reproducción de muchos individuos, además de que el ciclo asexual puede repetirse varias veces por año, la reproducción asexual es más sencilla para este fin, se logra por medio de mitosis formando nuevos hongos genéticamente idénticos al progenitor.
- **Reproducción sexual**: Este tipo de reproducción es más compleja, aporta variabilidad genética y se logra gracias a los órganos sexuales (gametangios), el gameto masculino se llama anteridio y el femenino oogonio y ascogonio dependiendo del tipo de hongo, consta de tres fases: plasmogamia, cariogamia y meiosis, a continuación, se desglosará información de este tipo de reproducción:
  - **Plasmogamia**: También llamada fusión celular ocurre la fusión de los citoplasmas de los gametos, sin la fusión de sus núcleos, se fusionan dos gametos que son células haploides (con un único conjunto de cromosomas), diferentes genéticamente, dando como resultado una célula con dos núcleos haploides.

- Cariogamia: La cariogamia ocurre casi inmediata a la plasmogamia en hongos primitivos, menos evolucionados a diferencia de hongos superiores donde existe un intervalo más amplio entre estas etapas. En esta etapa se unen los dos núcleos haploides aportados por ambos progenitores dando lugar a una célula con núcleo diploide.
- Meiosis: Durante la meiosis, las células diploides replican su ADN, seguido de dos rondas de división celular, produciendo cuatro esporas sexuales haploides y cada una de ellas, por mitosis, origina 2 esporas, dando un total de 8 esporas sexuales.

### Clasificación

Los hongos tienen clasificaciones más sencillas, se pueden dividir de acuerdo con el número de células que poseen o según su tipo de hábitat.

#### *Según el número de células:*

Los hongos unicelulares son mejor conocidos como levaduras, estas son muy comunes en la naturaleza donde los azúcares simples están presentes, así como en el suelo alrededor de árboles frutales, las más comunes son del género “Saccharomyces”, de donde provienen las levaduras del pan y la cerveza y que nos serán de gran utilidad en nuestro estudio.

Los hongos pluricelulares se caracterizan por formar cuerpos filamentosos, como los champiñones o los mohos, están formados de micelio que a su vez se forman por filamentos llamados “hifas”.



Figura 21. Representación gráfica del micelio de los hongos.<sup>23</sup>

#### *Según su hábitat:*

- Saprófitos: Se alimentan de sustancias en descomposición.
- Parásitos: Alimentados de líquidos internos de otros seres vivos.
- Simbiontes: Asociados a otros organismos con beneficios mutuos.

### Proceso de Fermentación

Uno de los temas más importantes para entender la producción de etanol por microorganismos es el proceso de fermentación, el cual es un proceso metabólico no solo de las levaduras, sino también de algunas bacterias, **de las cuales no nos enfocaremos ahora, pero hay que tener presente que no es único de las levaduras.** Este proceso es muy utilizado desde hace miles de años para la industria alimenticia y más recientemente también se ha usado para la industria farmacéutica creando

<sup>23</sup> <https://www.ecured.cu/images/f/fa/Micelio.jpg>

diversos antibióticos y medicamentos, así como para desarrollar ácidos y combustibles.

En el proceso de fermentación los microorganismos aptos para ello transforman compuestos orgánicos, principalmente hexosas, en otras sustancias orgánicas más simples como el ácido láctico, ácido butírico y el etanol, el cual es el de nuestro interés. La fermentación tiene lugar en un ambiente anaeróbico que degrada los compuestos orgánicos en intermedios que liberan energía a partir de un proceso de óxido-reducción. Básicamente cualquier líquido azucarado sufre fermentación de manera espontánea debido a las levaduras inmersas en él, destruyendo la glucosa y otros azúcares para finalmente producir el dióxido de carbono y etanol.

Existen varios tipos de fermentaciones:

1. Fermentación alcohólica
2. Fermentación láctica
3. Fermentación acética
4. Fermentación maloláctica
5. Fermentación propiónica
6. Fermentación butírica

Las cuales llevan el nombre de la sustancia que se forma una vez concluida la fermentación, la fermentación de nuestro interés, la fermentación alcohólica depende de las condiciones ambientales, los nutrientes del sustrato y el metabolismo del microorganismo, pero en una idea general, cuando se tiene como sustrato a la glucosa se sigue la vía de la figura 22.

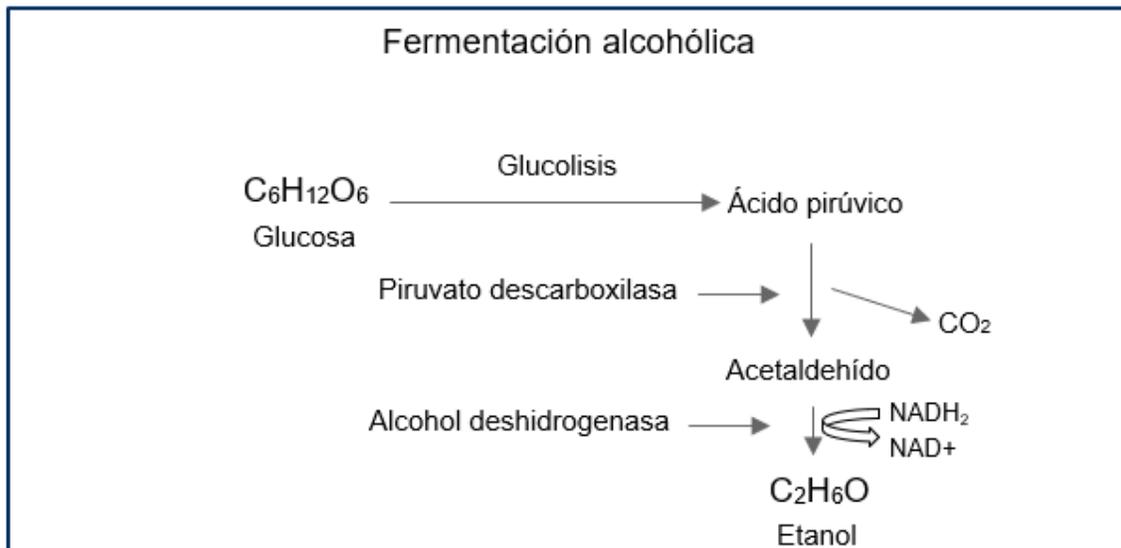


Figura 22. Vía metabólica - fermentación alcohólica.<sup>24</sup>

Aunque hay que tomar en cuenta que no todas las moléculas de azúcar se transforman en ácido pirúvico, algunas otras se transforman en glicerina, el cual es un compuesto no deseado en este proceso. Ante esto hay que tomar en cuenta que, para la fermentación, además de los parámetros a considerar del crecimiento microbiano en general, también se debe considerar el grado de madurez del fruto o

vegetal que contenga a la levadura, el tiempo de crecimiento microbiano, tiempo de fermentación, las condiciones respiratorias y la concentración de CO<sub>2</sub>.

La velocidad de la fermentación depende de:

- Degradación de la hexosa
- Alcohol formado
- CO<sub>2</sub> producido
- Cambio de la densidad del mosto (líquido previo a la fermentación)
- Genética de la levadura
- Oxígeno disponible
- Nutrientes
- pH

Un parámetro muy importante, es la temperatura, a bajas temperaturas la fermentación se vuelve lenta, pero el grado de alcohol es superior que a temperaturas elevadas.

El etanol es un alcohol tóxico para los microorganismos que hacen fermentación, es un desecho como lo es el CO<sub>2</sub> para nosotros los humanos, el cual al estar en contacto con él puede causar la muerte, por lo cual se considera una condición extrema para las levaduras estar en contacto con este alcohol, la capacidad de las membranas celulares de adaptarse al etanol depende de cada cepa y es importante considerar esto para encontrar el mejor microorganismo a usar en la producción de bioetanol.

## Crecimiento Microbiano

### Generalidades

El conocimiento de cómo se incrementan el número de células es muy útil para el diseño de métodos de reproducción de los microorganismos de nuestro interés. Es relevante conocer bien este proceso ya que a partir de ello podemos saber que tanto y que tan rápido se puede multiplicar un microorganismo, además de saber en qué se convertirá por su vía metabólica.

La bipartición o fisión binaria es el proceso por el cual las bacterias se multiplican dividiéndose para formar células iguales, durante la bipartición cada célula hija recibe una copia exacta de ADN, en este proceso intervienen dos conceptos importantes para el estudio:

- Velocidad de crecimiento: Es el incremento del número de células que se traduce en masa celular por unidad de tiempo, esta velocidad es característica de cada bacteria.
- Tiempo de generación: Es el tiempo necesario que tarda una bacteria en duplicarse, este tiempo varía dependiendo del microorganismo y las condiciones ambientales.

### Curva de crecimiento de los microorganismos

Los microorganismos tienden a seguir un patrón de crecimiento común, en la naturaleza este patrón no siempre se cumple de manera satisfactoria, depende de los nutrientes que ingresen al entorno celular y se limita por el componente más escaso, por lo que las bacterias y levaduras crecen a un ritmo más lento pero constante. En el laboratorio o a nivel industrial esto es diferente, se intenta proveer a las bacterias de los nutrientes y las condiciones necesarias para que estas crezcan eficientemente.

Las fases de crecimiento en la curva se dividen en 4, estas son secuenciales, pero hay que tomar en cuenta que no todas las fases ocurren en todos los cultivos.

- Fase de retraso/latencia o lag: Es una fase de adaptación, la cantidad de células no aumenta, sin embargo, ya ha iniciado la actividad metabólica de la bacteria, las células se preparan para crecer. (Esta fase puede no ocurrir si las células utilizadas para inocular el nuevo cultivo están en la fase exponencial y las condiciones siempre son las mismas).
- Fase logarítmica o fase exponencial: Los microorganismos se multiplican con rapidez, el número de células aumenta exponencialmente; durante cada tiempo de generación, el número de células de la población se multiplica. En esta fase es cuando se aprovecha al máximo el sustrato que tienen las bacterias y por lo tanto agotan los nutrientes, por lo que se tiene que cuidar este factor.
- Fase estacionaria: No hay cambios significativos en la masa celular, existe un equilibrio entre los microorganismos vivos y muertos y se producen cambios en los primeros: los microorganismos vivos se vuelven más pequeños y sintetizan componentes para ayudarse a sobrevivir períodos más largos sin crecer (algunas incluso pueden producir endosporas); la señal para entrar en esta fase puede tener que ver con el hacinamiento (acumulación de subproductos metabólicos, agotamiento de nutrientes, etc.).
- Fase de muerte: En esta fase, el equilibrio desaparece, las células comienzan a morir. La muerte ocurre de manera exponencial, pero a un ritmo bajo. La muerte ocurre porque las células han agotado las reservas de ATP intracelular y tampoco se producen más porque ya no hay nutrientes y las condiciones del medio de cultivo son desfavorables para el crecimiento, se producen residuos tóxicos para las bacterias, estos residuos las producen las mismas bacterias, son parte de su metabolismo.

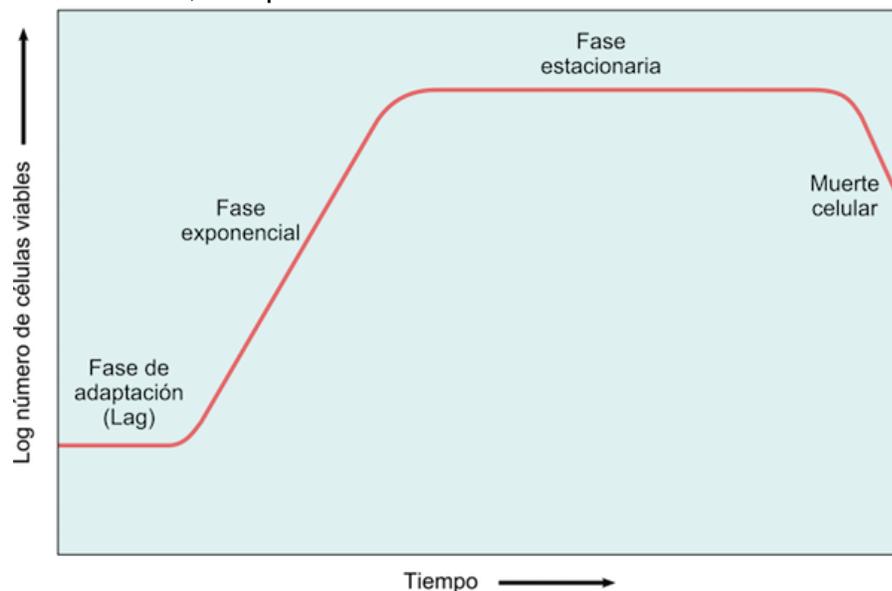


Figura 23. Representación gráfica de una curva típica de crecimiento bacteriano.<sup>25</sup>

Para que un microorganismo crezca y se multiplique con éxito en un laboratorio o en la industria es necesario dotar a las bacterias de nutrientes y condiciones fisicoquímicas adecuadas, por lo que para ello se consideran tres parámetros de los que depende esto:

**Factores genéticos:** Se refiere al propio metabolismo y complejidad del organismo, es decir, mientras más complejo sea éste, más tardado será su crecimiento y duplicación, pues es necesario más tiempo para crear todo lo que requiere para desarrollo.

**Condiciones de cultivo:** Este parámetro es manipulable y se busca que la bacteria se encuentre en las condiciones óptimas para su desarrollo, se consideran el sustrato y factores ambientales manipulables:

- **Componente del medio de cultivo (sustrato):** El medio de cultivo es el conjunto de compuestos que otorgan las condiciones necesarias para una adecuada nutrición que permite el crecimiento o reproducción de microorganismos. Estos medios de cultivo se componen de:
  - ***Macronutrientes:*** Son las proteínas, glúcidos (o hidratos de carbono) y lípidos (o grasas), estos nutrientes son requeridos siempre en mayor proporción para la nutrición. También se pueden incluir la fibra y el agua, pero como no aportan calorías no suelen considerarse nutrientes.
  - ***Micronutrientes:*** Los micronutrientes son requeridos en menor cantidad, entre ellos se encuentran las vitaminas y los minerales, y a pesar del requerimiento tan bajo de estos son indispensables para la vida.
  - ***Factores de crecimiento:*** Se le llama así a cualquier compuesto orgánico que el microorganismo requiere o constituye su material orgánico celular, estos compuestos no pueden ser sintetizados a partir de compuestos más simples, por lo que se proporciona ya sintetizado como nutriente (aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas). En el caso de la fermentación es necesario que exista una fuente de carbono, la cual se obtiene de las hexosas, la levadura convierte estas en etanol y dióxido de carbono mediante la glucólisis, es muy importante este parámetro ya que la concentración inicial de glucosa tiene un efecto importante en la producción de etanol
- **Temperatura:** Cada microorganismo tiene una temperatura óptima donde su crecimiento es óptimo, si se expone a temperaturas más bajas de este punto óptimo no hay crecimiento y a temperaturas más alta el crecimiento tampoco es posible, a estas tres temperaturas se les denominan “temperaturas cardinales” y son características de cada microorganismo. En general las procariontas pueden crecer a temperaturas más elevadas que los eucariotas, pero debido a que son muchas especies de ambos tipos de células se tiene la siguiente clasificación:

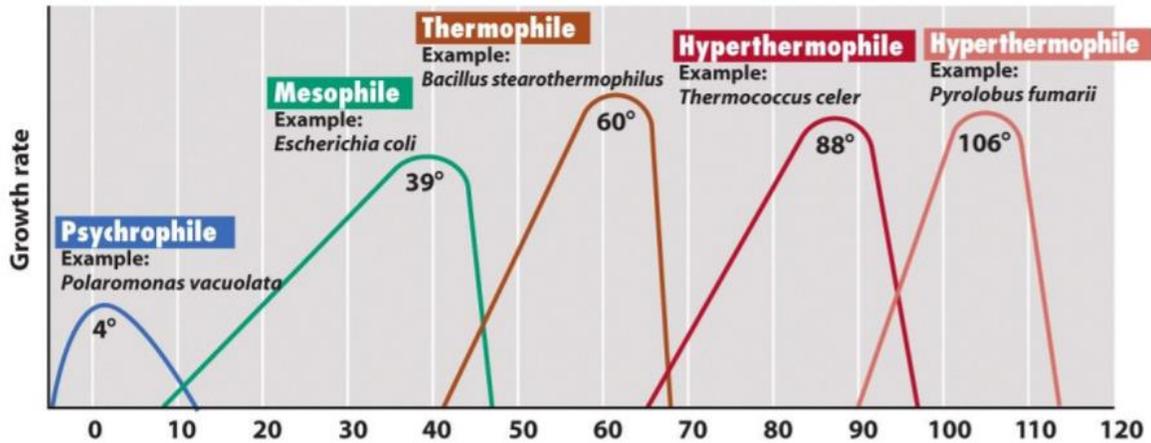


Figura 24. Representación gráfica de los diferentes tipos de bacterias según los rangos de temperatura a los que pueden vivir.<sup>26</sup>

En la figura 24 se muestran los diferentes tipos de microorganismos dependiendo del rango de temperatura donde pueden vivir, además las curvas de cada uno nos dan una idea de cuál es la temperatura donde se desarrollan mejor (punto más alto de la curva). En la figura 25 analizaremos mejor esta información:

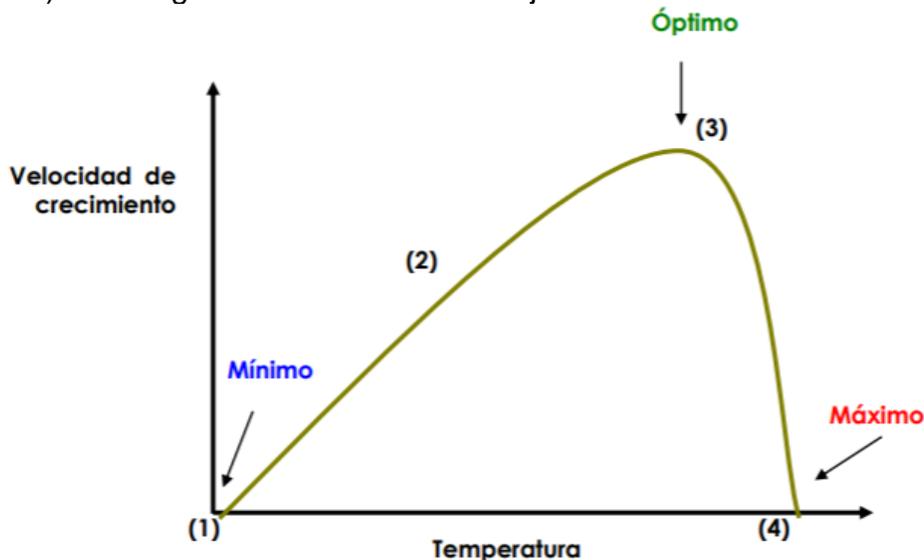


Figura 25. Etapas de crecimiento de los microorganismos dependiendo de su temperatura.<sup>27</sup>

- (1) A esta etapa se le llama “Gelificación de la membrana”; los procesos de transporte inician y se llevan a cabo lentamente por lo que aún no hay crecimiento.
- (2) Las reacciones enzimáticas aumentan su velocidad.
- (3) Las reacciones enzimáticas alcanzan su máxima velocidad.
- (4) “Lisis térmica”, se desnaturalizan las proteínas y la membrana citoplasmática.

<sup>26</sup>

<sup>27</sup>

Es importante considerar estos parámetros de temperatura dependiendo del microorganismo a estudiar, pues si bien un aumento de la temperatura provoca un aumento de la velocidad de reacción, pero si se sobrepasa la temperatura que la bacteria resiste se inactivan las enzimas que catalizan las reacciones, con lo que el valor de crecimiento disminuye, e incluso pueden comenzar a morir las bacterias que ya estaban formadas.

Para el caso de los hongos se dividen comúnmente en los primeros tres parámetros anteriores, varían sus rangos de temperatura en donde pueden vivir y crecer, pero cumplen con el resto de información anterior, estos son los; psicrófilos o criófilos, mesófilos y termófilos.

- Psicrófilos o criófilos: Hongos que pueden crecer a temperaturas alrededor de los 0°C.
- Mesófilos: Hongos que crecen a temperaturas entre 25-40°C.
- Termófilos: Hongos que crecen a temperaturas entre los 45 y 50°C.

Según Shuler (1992), la temperatura óptima para las levaduras, siendo un microorganismo mesófilo, es de 30 a 35 °C.

- Presión: La presión tiene un efecto contrario a la temperatura, a mayores presiones el crecimiento y la velocidad de fermentación de la levadura o bacteria disminuye. Esto se debe a que aumenta la concentración del CO<sub>2</sub> disuelto en el líquido y esto afecta al metabolismo del microorganismo impidiendo su crecimiento, desarrollo y reproducción para producir etanol.
- pH: La acidez o alcalinidad de un medio de cultivo se expresa por su pH y al igual que la temperatura, este clasifica a los microorganismos dependiendo del rango que sea adecuado para su supervivencia y reproducción. Aunque los microorganismos en la naturaleza se encuentran en hábitats con amplios rangos de pH, el pH dentro de sus células siempre es el adecuado, cercano a la neutralidad, esto se logra ya sea impidiendo la entrada de los iones H<sup>+</sup> o expulsándolos tan rápido como entran. La neutralidad es fundamental debido a que existen muchos componentes sensibles en la célula, tal como el ADN, el ATP, el ARN, y los fosfolípidos.

La clasificación de microorganismos de acuerdo con el pH se clasifica en tres tipos:

- Acidófilos: Crecimiento entre 0 y 5.5
- Neutrófilos: Crecimiento en 5.5 y 8
- Alcalófilos: Crecimiento entre 8-11.5

Al llegar al pH óptimo se espera mantenerlo relativamente constante durante el crecimiento del microorganismo, por lo que, se añaden sustancias buffer al medio de cultivo.

El pH óptimo para el crecimiento de las levaduras que usaremos en esta tesis va de 4 a 6, es decir son microorganismos acidófilos.

- Oxígeno: Según su requerimiento de oxígeno los microorganismos pueden ser:
  - Aerobios: En general estos crecen en presencia de O<sub>2</sub> y se subdividen en tres grupos como se muestra en la tabla:

Grupo	Relación con O <sub>2</sub>	Tipo de metabolismo
Estrictos	Absolutamente necesario	Respiración aerobia
Facultativos	No es necesario, pero crecen mejor en presencia del O <sub>2</sub>	Respiración aerobia, anaerobia y fermentación
Microaerófilos	Necesita de oxígeno, pero a bajas concentraciones	Respiración aerobia

Tabla 9. Clasificaciones de los microorganismos aerobios.

- Anaerobios: Crecen en ausencia de O<sub>2</sub> y se subdividen en dos grupos, tal como se muestra en la tabla 10.

Grupo	Relación con O <sub>2</sub>	Tipo de metabolismo
Aerotolerantes	No es necesario, ni crecen mejor con oxígeno	Fermentación
Estrictos	Dañino o letal	Fermentación o respiración anaerobia

Tabla 10. Clasificaciones de los microorganismos anaerobios.

Para los microorganismos como las levaduras es indispensable considerar el efecto Pasteur, éste se produce debido a que algunos microorganismos son anaerobios facultativos, es decir, que son capaces de utilizar respiración en presencia de oxígeno, y en su ausencia realizan la fermentación. Para la producción de etanol se sugiere que es necesario dotar a la levadura de pequeñas cantidades de oxígeno para la biosíntesis de lípidos y el mantenimiento de sus procesos celulares. Aunque, por otra parte, se debe tener cuidado de esta cantidad de oxígeno suministrada, debido a que el etanol se puede transformar en ácido acético.

- Actividad del agua ( $a_w$ ): La actividad del agua es una relación entre la presión de vapor de un sustrato y la presión de vapor del agua pura en el aire a la misma temperatura, con ella medimos la cantidad de agua disponible en una célula, es importante este parámetro ya que los microorganismos dependen del agua disponible para la síntesis de sus componentes celulares.

La clasificación correspondiente de este factor depende de la concentración de solutos (a mayor concentración de solutos, menor es la actividad del agua, pues se tiene una menor disponibilidad de ésta), pero para la mayoría de las especies este valor es requerido mayor a 0.99.

Grupo	Relación con $a_w$
Osmotolerantes	Pueden crecer en medios con concentraciones altas de solutos
Osmofílicos	Necesitan elevadas concentraciones de solutos para crecer
Halofílicos o halófilicos estrictos	Requieren iones $\text{Na}^+$ para crecer óptimamente, pueden obtener valores de $a_w$ menores a 0.80
Halófilos facultativos	Pueden crecer en zonas de baja o nula salinidad

Tabla 11. Clasificación de microorganismos según su actividad.

**Modalidad del cultivo:** Para nuestro estudio, la modalidad de cultivo es fundamental y el aporte que, como ingenieros podemos hacer mejor. Como hemos revisado a lo largo de este documento las células regulan su tasa de crecimiento por su genética y en respuesta a factores ambientales que favorecen o impiden su metabolismo, muchos de estos factores son regulables por los humanos para su estudio y/o necesidades, pero para producir microorganismos a gran escala es necesario un “equipo contenedor” donde las células sean proveídas de los nutrientes necesarios, en las condiciones óptimas y se reproduzcan pero siempre controlando su crecimiento y en un lugar seguro.

Estos equipos son llamados reactores, o para este fin, “biorreactores” y existen dos tipos dependiendo de sus condiciones de operación:

- Biorreactor batch/lote: Es un reactor que se caracteriza por trabajar en un sistema cerrado, no hay ingreso de nutrientes ni egreso de productos una vez que inicia la reacción. En un reactor discontinuo como lo es este, el crecimiento puede darse hasta el punto en que los nutrientes comienzan a terminarse o las células comienzan a morir por sus propios desechos que resultan ser tóxicos para ellas.

Es importante conocer las condiciones de los reactores, ya que gracias a ellas se podrán realizar los balances correspondientes para su diseño.

- Biorreactor continuo (quimiostato): Se conoce como quimiostato pero básicamente es un reactor tanque agitado continuo, permite llevar a cabo una reacción biológica de manera controlada.

Por su agitación continua la corriente de producto que sale del reactor tiene los mismos componentes que el líquido presente en el interior de este (por ello su nombre “quimiostato”).

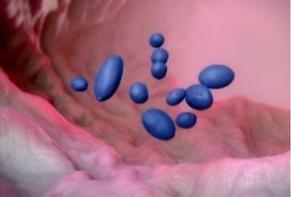
Es muy usado en la industria y para determinar parámetros cinéticos, su volumen se mantiene constante debido a que se ajusta el flujo de entrada a medida que cambia el de salida, su principal ventaja es que se le puede dar un suministro continuo de nutrientes, controlar los factores ambientales y el medio de cultivo además de que continuamente obtenemos producto, estos reactores pueden estar en funcionamiento desde días hasta meses pero es recomendado que sea por meses ya que es necesario alcanzar el estado

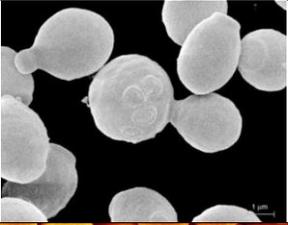
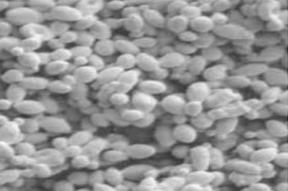
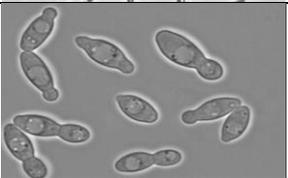
estacionario para comenzar a obtener el producto deseado. En cambio, sus desventajas es que es mucho más probable el peligro de contaminación y la pérdida de estabilidad de la cepa.

## CAPÍTULO IV. ANÁLISIS CINÉTICO COMPARATIVO DE LOS MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ETANOL

Existen varios microorganismos capaces de producir etanol gracias a su metabolismo, sin embargo a pesar de que estos se encuentran limitados a levaduras y bacterias y conocemos los medios y rango de valores en los que comúnmente se reproducen, crecen y producen etanol es importante hacer un estudio profundo de estos seres para ordenar la información, compararlos y encontrar las mejores opciones y condiciones para producir bioetanol, incluso puede ser de gran utilidad para la industria vinícola, estudiantes, investigación, etc.

Los microorganismos de la tabla 12 son aquellos que estudiaremos, se obtuvieron de diversos artículos que mencionaban su capacidad de producir etanol:

Nombre	Tipo de microorganismo	Imagen
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levadura	
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	Levadura	
<i>Saccharomyces boulardii</i> L.	Levadura	
<i>Zymomonas mobilis</i>	Bacteria	
<i>Candida utilis</i>	Levadura	

Nombre	Tipo de microorganismo	Imagen
<i>Pichia stipitis</i>	Levadura	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Levadura	
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Levadura	
<i>Trichoderma reesei</i>	Hongo	
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Levadura	
<i>Neurospora crassa</i>	Hongo moho	
<i>Saccharomyces bayanus</i>	Levadura	
<i>Kloeckera sp.</i>	Levadura	

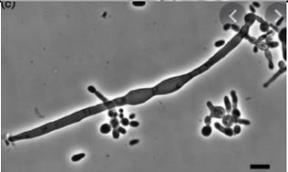
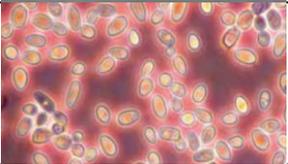
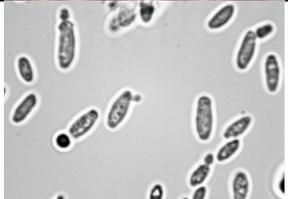
Nombre	Tipo de microorganismo	Imagen
<i>Hanseniospora sp.</i>	Levadura	
<i>Metschnikowia sp.</i>	Levadura	
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Levadura	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Levadura	

Tabla 12. Microorganismos seleccionados para el estudio de la presente tesis.

Para realizar el análisis de los microorganismos se construyó una tabla de análisis donde en las filas se colocaron todos los microorganismos que participan en el estudio y las columnas corresponden a los parámetros que consideramos más importantes para evaluar el valor de la levadura o bacteria frente a las demás, asignando además puntajes dependiendo de la importancia de dichos parámetros en cuanto al impacto que tienen para nuestro objetivo; producir bioetanol y considerando que nuestro estudio es completamente teórico.

Parámetros considerados:

Información  
 Fase de aplicación  
 Concentración máxima de etanol tolerada  
 Tiempo de fermentación  
 Presión  
 Temperatura  
 Disponibilidad/costo  
 Aditivos  
 pH  
 Sustrato  
 CO<sub>2</sub> producido  
 Atributo adicional



Una vez hecha esta jerarquía de los aspectos a evaluar, se procede a otorgar un valor a cada uno de ellos, para lo cual se asigna una calificación, por lo regular del 0 al 10, y posteriormente se aplican alguna de las siguientes opciones:

1. Factores de ponderación: Se asigna arbitrariamente un factor de peso a cada uno de los aspectos a evaluar; este factor puede estar en forma de fracción o porcentaje respecto al total de aspectos. Al final de la evaluación de un aspecto en algún renglón de la tabla, su factor correspondiente es multiplicado por la calificación asignada a cada tecnología horizontalmente de acuerdo con la escala de 0 – 10.
2. Ajuste de escalas: se modifica el valor máximo de la escala 0 – 10 para cada aspecto; primero se fija esta escala para alguno de los aspectos técnicos a evaluar en algún renglón de la tabla, y luego se ajustan las escalas de los demás aspectos de acuerdo con su prioridad.

Para fines de esta tesis se usará la última estrategia debido a lo fácil que resulta visualizarla y manejarla. En el ajuste de escalas se van adquiriendo puntos de manera horizontal y se suman de manera vertical para obtener el número de puntos totales, por lo tanto, aquellos microorganismos con un puntaje total mayor serán los seleccionados para la siguiente etapa que es un estudio más profundo de cada una de ellas y una comparación de sus parámetros cinéticos para la obtención de bioetanol.

Las escalas seleccionadas y mencionadas anteriormente se fijaron de la siguiente manera:

- a) Información: este parámetro se eligió como el de mayor importancia debido a que nuestro estudio es completamente teórico sin posibilidad de asistir al laboratorio, por lo que resulta muy importante contar con información suficiente para conocer, comparar y elegir un microorganismo. La escala seleccionada es de 0 – 16.

Puntaje	Información disponible
16	Abundante
12	Media alta
8	Media
4	Media baja
2	Baja
0	Nula

*Tabla. 13. Distribución del puntaje en el nivel de información disponible*

- b) Fas de aplicación: la fase de aplicación tiene una escala de 0 – 14 debido a que es importante saber en dónde ya se ha probado la tecnología de producción del microorganismo, pues a veces puede sonar muy prometedora y solo ser teórica por lo que faltarían más estudios para saber si realmente los datos obtenidos son fiables, por otro lado, una tecnología a nivel industrial y probada muchas veces nos da una confianza mayor e información.

Puntaje	Nivel de producción
14	Industrial
10	Artesanal con alta producción
8	Planta piloto
6	Nivel industrial pero producido para vinos, cervezas u otro destino diferente al bioetanol. (NIOF)
4	Laboratorio
2	Teórico
0	Sin información específica

*Tabla. 14. Distribución del puntaje en el nivel de producción*

- c) Concentración máxima de etanol tolerada: este parámetro es muy importante y puede variar mucho de un microorganismo a otro, para la producción de bioetanol es muy importante que se toleren concentraciones de etanol muy altas antes de que la levadura o bacteria muera, ya que el etanol como lo vimos anteriormente resulta tóxico para estas. Su escala es de 0 – 12.

Puntaje	Concentración máxima de producción de etanol encontrada
12	14 – 16%v/v
10	10 – 14%v/v
8	6 – 10%v/v
4	4 – 6%v/v
2	0 – 4%v/v
0	Sin información, no encontrada o muy pequeña y variable entre artículos

*Tabla. 15. Distribución del puntaje en la concentración máxima de etanol*

- d) Tiempo de fermentación: es un factor al que se le asigno una escala de 0 – 10 ya que cortos tiempo de fermentación nos pueden dar producciones muy grandes de bioetanol al día.

Puntaje	Tiempo de fermentación (h)
10	<60
8	60 a 80
6	81 a 100
4	>100

*Tabla. 15. Distribución del puntaje en el tiempo de fermentación*

- e) Presión: la presión es un parámetro importante para considerar, sobre todo porque el que un microorganismo necesite de diferentes presiones a la ambiental para crecer adecuadamente implica un cuidado especial y costo adicional, pero debido a que la mayoría son estudiadas a presión ambiental y de cambiar un poco la presión dependiendo el país donde se realice el estudio no afecta importantemente al microorganismo se le asignó un puntaje de 0 – 10. Todo se hizo a presión atmosférica y sólo hay información que a menores presiones crecen menos pero no resulta significativo.

- f) Temperatura: este parámetro es de los más útiles, lo podemos variar con facilidad y no es tan costoso, pues no es necesario llegar a temperaturas tan altas ni tan bajas, por lo que le asignamos un puntaje de 0 – 8.

Puntaje	Temperatura (°C)
8	20 a 30
6	>30
4	<20

Tabla. 16. Distribución del puntaje en la temperatura

- g) Disponibilidad: en un estudio como el nuestro es importante destacar este factor ya que podríamos tener un microorganismo con las características muy ideales, pero quizá si esta genéticamente modificado, por lo que eso ya dificulta mucho el estudio, la información y la reproducción, así que se le asignó un puntaje de 0 – 8.

Puntaje	Disponibilidad
8	Disponible y no es alimento
6	Disponible y abundante de cualquier fuente común
4	Poca disponibilidad
2	Escaso

Tabla. 17. Distribución del puntaje en la disponibilidad

- h) Aditivos: Los aditivos se refieren a algún sustrato, componente o sistema extra que se le debe agregar al proceso usando alguna de las levaduras propuestas, en su defecto también puede usarse por si se tiene un atributo bueno y uno malo y puntuar cada uno así sean igual de malos o con diferente puntaje respecto a la tabla 21.

Puntaje	Aditivo
10	Muy bueno
5	Bueno
-5	Malo
-10	Muy malo

Tabla. 18. Distribución del puntaje para los aditivos

- i) pH: es muy importante mantener el pH invariable y a condiciones favorables debió a que es un factor importante en el control de la contaminación, el crecimiento y la velocidad de fermentación, por lo que se le asignó un puntaje de 0 – 6.

Puntaje	pH
6	5.1 a 8
4	2 a 5
2	< 4 y > 8

Tabla. 19. Distribución del puntaje en el pH

- j) Sustrato: este parámetro nos habla a cerca de la hexosa utilizada para iniciar el proceso de fermentación, la mayoría de las levaduras y bacterias metabolizan la glucosa por lo que en la escala asignada de 1 – 4.

Puntaje	Sustrato
4	>4 diferentes
3	3
2	2
1	1

Tabla. 20. Distribución del puntaje en el sustrato

- k) CO<sub>2</sub> producido: el CO<sub>2</sub> es un gas de efecto invernadero que deseamos ni siquiera emitir, por lo imposible que es esto tratamos de al menos producir lo menos posible por lo que tomamos como parámetro la emisión de este gas de efecto invernadero con una escala de 0 – 4.
- l) Atributo adicional: más que un parámetro específico este atributo se considera para los microorganismos que tienen alguna cualidad o ventaja frente a las demás o a la mayoría.

Puntaje	Atributo
10	Muy bueno
5	Bueno
-5	Malo
-10	Muy malo

Tabla. 21. Distribución del puntaje para los atributos adicionales

Posterior a encontrar los parámetros importantes se creó la serie de tablas “M”. “Análisis técnico horizontal – vertical de los microorganismos propuestos para la producción de bioetanol” en donde podemos notar 3 microorganismos destacables *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces carlsbergensis* por su puntaje mayor a 75. Estos microorganismos son con los que trabajaremos para el análisis de sus parámetros cinéticos y dar recomendaciones más específicas a cerca de su cultivo para producción del biocombustible.

Concepto	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
Concentración máxima de etanol	10-12%v/v	10
T	35°C	6
P	Atmosférica	10
pH	4 a 5	4
Información	Abundante	16
Disponibilidad/Costo	Sustratos ricos en azúcares y sabias dulces	6
Fase de Aplicación	Industrial	14
Sustrato	fructosa, glucosa, sacarosa, y splenda (sucralosa)	4
Aditivos	Microorganismo GRAS	5
Concentración de CO2 producido	100000ppm	-
Tiempo de fermentación	30h	10
Atributo adicional	28	10
TOTAL	<b>95</b>	

Tabla. M1. Análisis técnico horizontal – vertical para *Saccharomyces cerevisiae*.

Concepto	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	
Concentración máxima de etanol	16%v/v	12
T	12.5°C	4
P	Atmosférica	10
pH	5 a 6	6
Información	Alta	16
Disponibilidad/Costo	Sustratos ricos en azúcares	6
Fase de Aplicación	Industrial	14
Sustrato	Glucosa y fructosa	2
Aditivos	-	-
CO2 producido	30.60%	-
Tiempo de fermentación	110h	4
Atributo adicional	Permite fermentar a temperaturas altas (10-40°C), derechos no reservados y muy resistente a factores adversos más comunes	5
TOTAL	<b>79</b>	

Tabla. M2. Análisis técnico horizontal – vertical para *Saccharomyces carlsbergensis*

Concepto	<i>Saccharomyces boulardii</i> L.
----------	-----------------------------------

<sup>28</sup> Atributo adicional: Residuos reutilizables, diferentes sustratos, producción de etanol ante el estrés de concentración alta de glucosa y efecto crabtree.

Concentración máxima de etanol	5%v/v	4
T	37°C	6
P	Atmosférica	10
pH	5.5	6
Información	Media alta	14
Disponibilidad/Costo	Frutas (lichi y mangostán)	6
Fase de Aplicación	Laboratorio	6
Sustrato	glucosa y fructosa	2
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	100h	6
Atributo adicional	-	-
TOTAL	<b>60</b>	

Tabla. M3. Análisis técnico horizontal – vertical para *Saccharomyces Boulardii* L.

Concepto	<i>Zymomonas mobilis</i>	
Concentración máxima de etanol	17.8%v/v	12
T	25 a 30°C	8
P	Atmosférica	10
pH	3.5 a 5	6
Información	Abundante	16
Disponibilidad/Costo	Diversas plantas (palma, caña de azúcar, peras, manzanas, agave)	6
Fase de Aplicación	8	14
Sustrato	Glucosa, fructosa y sacarosa	3
Aditivos	No es necesario ser inmovilizado y no requiere de granes concentraciones de glucosa	5
CO2 producido	40 - 60 CO2/L medio	-
Tiempo de fermentación	100h	6
Atributo adicional	Gran absorción de azúcar y producción de etanol frente a <i>Saccharomyces</i>	10
TOTAL	<b>96</b>	

Tabla. M4. Análisis técnico horizontal – vertical para *Zymomonas mobilis*

Concepto	<i>Candida utilis</i>	
Concentración máxima de etanol	1.4%v/v	2
T	28 a 30°C	8
P	Atmosférica	10
pH	4 a 5	4

Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Madera y pasta de papel	8
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Celulosa y xilosa	2
Aditivos	-	-
CO2 producido	3.2LCO2/Lmedioh	-
Tiempo de fermentación	36h	10
Atributo adicional	-	-
TOTAL	<b>56</b>	

Tabla. M5. Análisis técnico horizontal – vertical para *Candida utilis*

Concepto	<i>Pichia stipitis</i>	
Concentración máxima de etanol	6.33%v/v	8
T	30°C	8
P	Atmosférica	10
pH	4 a 5	4
Información	Media baja	4
Disponibilidad	Organismo genéticamente modificado, se prepara <i>in situ</i>	1
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Xilosa	1
Aditivos	Se recomienda retirar CO2 para mayor conversión	5
CO2 producido	(56.11 $\mu\text{mol}/\text{min g}$ )	-
Tiempo de fermentación	48h	10
Atributo adicional	No compete con alimentos y su sustrato es el segundo carbohidrato más abundante en la naturaleza	5
TOTAL	<b>60</b>	

Tabla. M6. Análisis técnico horizontal – vertical para *Pichia stipitis*

Concepto	<i>Kluyveromyces lactis</i>	
Concentración máxima de etanol	8.07%v/v	8
T	25 a 35°C	8
P	Atmosférica	10
pH	4 a 5	4
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Derivados lácteos	6
Fase de Aplicación	Laboratorio	4

Sustrato	Glucosa, xilosa y fructosa	3
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	24h	10
Atributo adicional	Proviene de un residuo de la industria alimentaria	5
TOTAL	<b>66</b>	

Tabla. M6. Análisis técnico horizontal – vertical para *Kluyveromyces lactis*

Concepto	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	
Concentración máxima de etanol	6.72%v/v	8
T	30 a 38°C	6
P	Atmosférica	10
pH	4.5 a 5.7	6
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Derivados lácteos	6
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Glucosa, xilosa y fructosa	3
Aditivos	-	-
CO2 producido	13%CO2	-
Tiempo de fermentación	24h	10
Atributo adicional	Proviene de un residuo de la industria alimentaria	5
TOTAL	<b>66</b>	

Tabla. M7. Análisis técnico horizontal – vertical para *Kluyveromyces marxianus*

Concepto	<i>Trichoderma reesei</i>	
Concentración máxima de etanol	0.5 - 0.63%v/v	2
T	25 a 30°C	8
P	atmosférica	10
pH	4.5 a 5	4
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Biomasa vegetal	8
Fase de Aplicación	laboratorio	4
Sustrato	Glucosa, galactosa, manosa y celobiosa, en menor grado xilosa y arabinosa	4
Aditivos	-	-

CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	216h	4
Atributo adicional	Contribuye en el control de hongos fitopatógenos	5
TOTAL		<b>57</b>

Tabla. M8. Análisis técnico horizontal – vertical para *Trichoderma reesei*

Concepto	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	
Concentración máxima de etanol	3.4%v/v	2
T	30°C	8
P	Atmosférica	10
pH	6	6
Información	Media baja	4
Disponibilidad/Costo	Madera	8
Fase de Aplicación	NIOF	6
Sustrato	Xilosa	1
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	270h	4
Atributo adicional	-	-
TOTAL		<b>49</b>

Tabla. M9. Análisis técnico horizontal – vertical para *Schizosaccharomyces pombe*

Concepto	<i>Neurospora crassa</i>	
Concentración máxima de etanol	6.08%	4
T	25 a 34°C	8
P	Atmosférica	10
pH	4.1 a 8.4	6
Información	Media baja	4
Disponibilidad/Costo	Madera (troncos, corteza o aserrín)	8
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Celulosa	1
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	60h	8
Atributo adicional	Gran facilidad de crecimiento	5
TOTAL		<b>58</b>

Tabla. M10. Análisis técnico horizontal – vertical para *Neurospora crassa*

Concepto	<i>Saccharomyces bayanus</i>	
----------	------------------------------	--

Concentración máxima de etanol	14.52%v/v	12
T	12 a 32°C	8
P	Atmosférica	10
pH	3 a 5	4
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Sustratos ricos en azúcares	6
Fase de Aplicación	NIOF	6
Sustrato	Glucosa, sacarosa y fructosa	3
Aditivos	Requiere grandes cantidades de nutrientes	-5
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	216	4
Atributo adicional	Resiste altos valores de alcohol y presión	10
<b>TOTAL</b>	<b>66</b>	

Tabla. M11. Análisis técnico horizontal – vertical para *Saccharomyces bayanus*

Concepto	<i>Kloeckera africana</i>	
Concentración máxima de etanol	4.44%v/v	4
T	28 a 30°C	8
P	Atmosférica	-
pH	3.5 a 4.5	4
Información	Media baja	4
Disponibilidad/Costo	Agave	8
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	fructosa y glucosa	2
Aditivos	Requieren más nutrientes de lo común (comparado con <i>Saccharomyces</i> )	-5
CO2 producido	40mmol/gh	-
Tiempo de fermentación	25h	10
Atributo adicional	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	

Tabla. M12. Análisis técnico horizontal – vertical para *Kloeckera africana*

Concepto	<i>Hanseniaspora</i>	
Concentración máxima de etanol	4.44%v/v	4
T	30 a 55°C	6
P	Atmosférica	-
pH	5	4
Información	Media	8

Disponibilidad/Costo	Agave	8
Fase de Aplicación	laboratorio	4
Sustrato	Fructosa, y celulosa	2
Aditivos	Requieren más nutrientes de lo común (comparado con <i>Saccharomyces</i> )	-5
CO2 producido	7 a 13gCO2/100mL	
Tiempo de fermentación	168h	4
Atributo adicional	-	-
TOTAL	<b>35</b>	

Tabla. M13. Análisis técnico horizontal – vertical para *Hanseniaspora*

Concepto	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	
Concentración máxima de etanol	4.5%v/v	4
T	30°C	8
P	Atmosférica	10
pH	5	4
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Néctar de flores ( <i>Tecoma stans</i> )	6
Fase de Aplicación	laboratorio	4
Sustrato	Glucosa y fructosa	2
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	72h	8
Atributo adicional	<sup>29</sup>	5
TOTAL	<b>59</b>	

Tabla. M14. Análisis técnico horizontal – vertical para *Metschnikowia pulcherrima*

Concepto	<i>Zygosaccharomyces sp.</i>	
Concentración máxima de etanol	18%v/v	12
T	25 a 28°C	8
P	Atmosférica	
pH	2.5 a 4.5	4
Información	Media baja	4
Disponibilidad/Costo	Miel	8
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Sacarosa, glucosa	2

<sup>29</sup> Crece con otras especies de levaduras incluyendo *Saccharomyces cerevisiae*, muestra una fuerte actividad de biocontrol contra varios géneros de levadura que se consideran perjudiciales en enología (*Brettanomyces* / *Dekkera*, *Hanseniaspora* y *Pichia*) y varios hongos filamentosos que causan el deterioro de la uva (*Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* y *Fusarium sp.*)

Aditivos	30	-10
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	Baja tasa de crecimiento	-
Atributo adicional	31	5
<b>TOTAL</b>	<b>37</b>	

Tabla. M15. Análisis técnico horizontal – vertical para *Zygosaccharomyces* sp.

Concepto	<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	
Concentración máxima de etanol	4.18%v/v	4
T	40 a 45°C	6
P	Atmosférica	
pH	5	4
Información	Media	8
Disponibilidad/Costo	Suelo y exterior de frutas y verduras	8
Fase de Aplicación	Laboratorio	4
Sustrato	Glucosa y fructosa	2
Aditivos	-	-
CO2 producido	-	-
Tiempo de fermentación	80h	8
Atributo adicional <sup>32</sup>	*	5
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	

Tabla. M16. Análisis técnico horizontal – vertical para *Saccharomyces kudriavzevii*.

### Análisis de los parámetros cinéticos de los microorganismos seleccionados

La cinética química es una rama de la química que estudia la velocidad de las reacciones, este estudio proporciona información importante a cerca del mecanismo de reacción. Para los microorganismos a estudiar se usan métodos específicos para encontrar los parámetros cinéticos de una reacción, estos parámetros dependen de la temperatura, la presión, el pH, presencia de cofactores, etc. Y se sugiere que estos parámetros se encuentren en condiciones óptimas, podemos ver a los

<sup>30</sup> Se debe tener extremo cuidado y limpieza, ya que puede convertirse en un serio problema para la bodega. Debido a su osmotolerancia y a su elevada resistencia a conservantes convencionales, pueden alcanzar niveles de contaminación elevados a partir de poblaciones iniciales muy bajas

<sup>31</sup> Tolera mejor la glucosa que la sacarosa, tiene resistencia a conservantes. Aunque ninguna especie de *Zygosaccharomyces* es patógena para el ser humano, sí que se ha atribuido algún desorden gastrointestinal menor por consumo de bebidas contaminadas por esta levadura (Stratford, 2005)

<sup>32</sup> Tolera altas temperaturas, hasta 45°C y pH bajos, *P. kudriavzevii* puede estar presente sin causar daño, sin embargo, en algunos casos es patógeno. Algunos considerarían a *P. kudriavzevii* como un "patógeno oportunista". Específicamente, *P. kudriavzevii* infecta a aquellos que son inmunodeficientes.

parámetros cinéticos como un conjunto de valores que nos dan información de como crece, vive y se reproduce un microorganismo.

El cálculo de los parámetros cinéticos depende de la tendencia que siga el crecimiento microbiano, el cual se puede representar con una gráfica. A continuación, presentamos las ecuaciones más comunes que representan diferentes tipos de crecimiento.

Modelo	Relación
Monod	$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_m + S}$
Teissier	$\mu = \mu_{\max} \left( 1 - \exp\left(\frac{-S}{K_m}\right) \right)$
Moser	$\mu = \mu_{\max} \frac{S^n}{K_m + S^n}$
Haldane	$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_m + S + K_1 S^2}$
Hinshelwood	$\mu = \mu_{\max} \left( \frac{S}{K_m + S} \right) (1 - K_p P)$

Tabla 22. Ecuaciones representativas de los diferentes modelos de crecimiento microbiano.<sup>33</sup>

Detrás de las ecuaciones antes mencionadas existe toda una teoría que fundamenta cada una de ellas, en cada una se basa la teoría cinética de Michaelis Menten, el cual se formuló estudiando a las enzimas y como es que intervienen en las reacciones químicas, propusieron Leonor Michaelis y Maud Menten en 1913 un mecanismo en el cual:

1. la enzima (E) se coloca en el sitio activo del sustrato (S) para formar un complejo enzima-sustrato (ES).
2. Posteriormente en el “paso lento” el complejo ES se separa dejando a la enzima libre dando lugar a los productos de la reacción (P).
3. Plantea la ecuación de velocidad de la propuesta de reacción anterior definiendo así la ecuación de velocidad total.
4. Desarrollando esta ecuación aproximando al equilibrio y en estado estacionario dieron como resultado la siguiente ecuación:

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad (E1)$$

La ecuación de Michaelis – Menten describe el cambio en la velocidad de una reacción catalizada por una enzima al variar la concentración del sustrato, en esta ecuación podemos encontrar:

$V_0$ : velocidad inicial

$V_{\max}$ : velocidad máxima alcanzada en la reacción

<sup>33</sup> <https://www.redalyc.org/pdf/496/49612069012.pdf>

$k_m$ : constante de Michaelis, establece la afinidad entre una enzima y su sustrato  
 [S]: concentración del sustrato

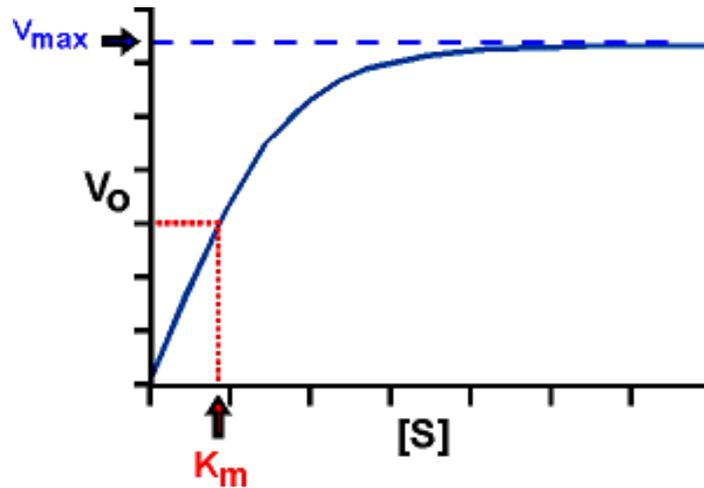


Figura 26. Gráfica representativa de la ecuación de Michaelis-Menten<sup>34</sup>

Como se habrá podido notar, la ecuación de Michaelis-Menten es muy parecida a la ecuación del modelo de Monod vista en la tabla 22 y es con la cual trabajaremos para obtener los parámetros cinéticos de las levaduras elegidas anteriormente, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces carlsbergensis*. La ecuación de Monod representa la velocidad de reacciones biológicas, así como vimos en el modelo de Michaelis – Menten intervienen enzimas, solamente que las reacciones llevadas a cabo con levaduras y bacterias son mucho más complejas ya que son muchas las enzimas en este proceso, además de que también pueden haber más de un sustrato, aun así, Monod desarrolló en 1942 una ecuación muy simple para representar este tipo de reacciones que, en general, funciona muy bien. Para ello asumió que:

- Existen varios sustratos, pero solo uno de ellos es el limitante
- La producción de la biomasa depende exclusivamente de la concentración del sustrato limitante

Para una reacción de tipo  $\alpha S \rightarrow \gamma X$  la velocidad de crecimiento de biomasa puede representarse como:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_s} \quad (E2)$$

Donde:

$\mu_{max}$ : velocidad específica de crecimiento máxima ( $h^{-1}$ )

$K_s$ : constante de saturación ( $\frac{g}{L}$ )

$S$ : concentración del sustrato limitante ( $\frac{g}{L}$ )

Para los fines de esta tesis es suficiente emplear la ecuación de Monod para el análisis a realizar, también se considerarán los cultivos en reactor batch ya que los artículos de donde obtuvimos la información de los experimentos así realizaron sus

<sup>34</sup> <http://www.ehu.eus/biomoleculas/enzimas/enz3.htm>

experimentos, además de que es el sistema más común empleado en este tipo de procesos.

El crecimiento microbiano en los biorreactores batch sigue la tendencia antes mencionada en la figura 23, donde se pueden apreciar las cuatro fases; latencia, exponencial, estacionaria y muerte, analizando matemáticamente estas fases, en la segunda se puede obtener el tiempo de duplicación o el número de bacterias (N), el cual se expresa con la ecuación 3.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (E3)$$

Para el modelado completo de una curva de crecimiento en un sistema batch se hace un balance de masa por componente (B1, B2 y B3), en este caso el sustrato, la biomasa y el producto.

$$\text{Sustrato: } \frac{dS}{dt} = -Y_{xsl}\mu x = -Y_{xsl} \frac{\mu_{max} S}{S + K_s} x \quad (B1)$$

$$\text{Biomasa: } \frac{dx}{dt} = \mu x - \beta x = \frac{\mu_{max} S}{S + K_s} x - \beta x \quad (B2)$$

$$\text{Producto: } \frac{dP}{dt} = Y_{xpl}\mu x \quad (B3)$$

También añadiremos el concepto de coeficientes de rendimiento, ya que en las ecuaciones de balance se presenta este término y es importante debido a que representa en un valor numérico la eficiencia.

Los coeficientes de rendimiento verifican la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \frac{1}{Y_{ji}} \quad (E4)$$

En el análisis que haremos del crecimiento microbiano se considerarán dos coeficientes:

Rendimiento celular ( $Y_{x/s}$ ): El rendimiento celular nos indica la relación entre la biomasa obtenida y el sustrato consumido, a mayor  $Y_{x/s}$  mayor conversión de sustrato en biomasa, por lo que nos conviene obtener valores cercanos a 1, mientras más se acerque a uno el valor nos indica que más sustrato se convirtió en biomasa.

$$Y_{x/s} = \left[ \frac{g_{biomasa}}{g_{sustrato}} \right] = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (E5)$$

Rendimiento de producto ( $Y_{p/s}$ ): El rendimiento celular nos indica la relación entre el producto obtenido, (en este caso buscamos que sea el etanol) y el sustrato consumido, a mayor  $Y_{p/s}$  mayor conversión de sustrato en producto, por lo que, al igual que en el rendimiento celular nos conviene obtener valores cercanos a 1, mientras más se acerque a uno el valor nos indica que más sustrato se convirtió en producto.

$$Y_{P/S} = \left[ \frac{g_{producto}}{g_{sustrato}} \right] = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (E6)$$

Sustituyendo la ecuación de Monod en el balance B4 obtenemos la ecuación general de crecimiento microbiano en reactor batch (EGCB) considerando el modelo de Monod:

$$\frac{dX_B}{dt} = \mu X_B \quad (B4)$$

$$\frac{dX_B}{dt} = \frac{\mu_{max} [S]}{K_S + [S]} X_B \quad (E7)$$

$$\int_{X_{B0}}^{X_B} \frac{dX_B}{X_B} = \frac{\mu_{max} [S]}{K_S + [S]} * \int_{t=t_0}^{t=t} dt \quad (E8)$$

$$\ln \frac{X_B}{X_{B0}} = \frac{\mu_{max} [S]}{K_S + [S]} * t \quad (E9)$$

$$\frac{1}{\ln \frac{X_B}{X_{B0}}} = \left( \frac{K_S}{\mu_{max}} * \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{max}} \right) * \frac{1}{t} \quad (EGCB)$$

Para una mejor visualización de la ecuación y un cálculo más sencillo se va a resumir la ecuación EGCB en E10:

$$X = (A * Z + B)T \quad (E10)$$

Donde:

$$A = \frac{K_S}{\mu_{max}} \quad (E11)$$

$$B = \frac{1}{\mu_{max}} \quad (E12)$$

Los parámetros cinéticos de los microorganismos elegidos en los cuales nos enfocaremos en encontrar son  $K_S$  y  $\mu_{max}$ , además de los coeficientes de rendimiento.

Para el análisis de cada uno de los microorganismos usamos experimentos ya hechos en donde obtuvimos la gráfica de concentración de los componentes vs tiempo, posterior a ello calculamos X, Z y T de la ecuación 12 con ayuda de Excel, finalmente para realizar la regresión lineal se utilizó el programa Polymath.

Hay que tener en cuenta que, a pesar de que los experimentos de los tres microorganismos elegidos se realizaron en diferente año, por diferentes personas, en diferentes condiciones se buscó encontrar los experimentos más parecidos posibles tomando en cuenta: temperatura, presión, pH, concentración del sustrato, tiempo y tipo de sustrato para que pudiera ser comparable.

#### A. *Saccharomyces cerevisiae*

También conocida como la levadura de la cerveza, *Saccharomyces cerevisiae* es un microorganismo ampliamente estudiado, además de que hoy en día es común usarla para la producción de etanol desde la antigüedad se usó para hacer pan y vino, aunque antes no se conocía el mecanismo por el cual la levadura servía para este fin.

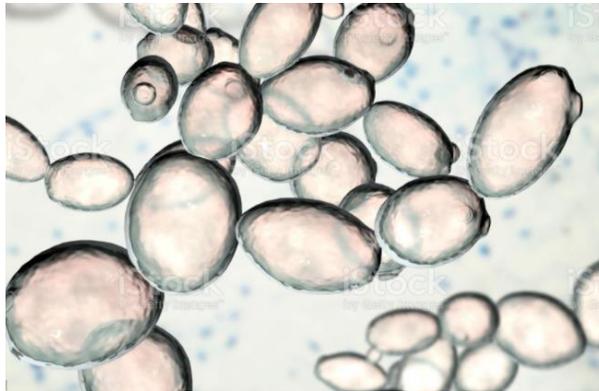


Figura 27. Imagen de *S. cerevisiae*<sup>35</sup>

Actualmente existen incluso microorganismos genéticamente modificados, aunque no serán estudiados en esta tesis, pero hay que tener en cuenta que, precisamente los de *S. cerevisiae* son los más comunes.

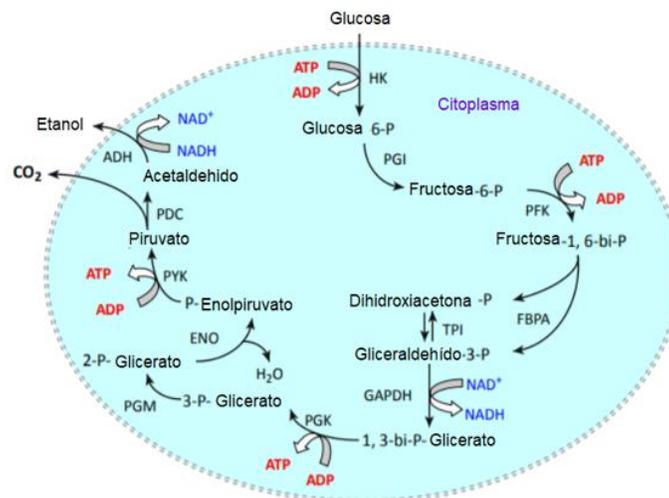


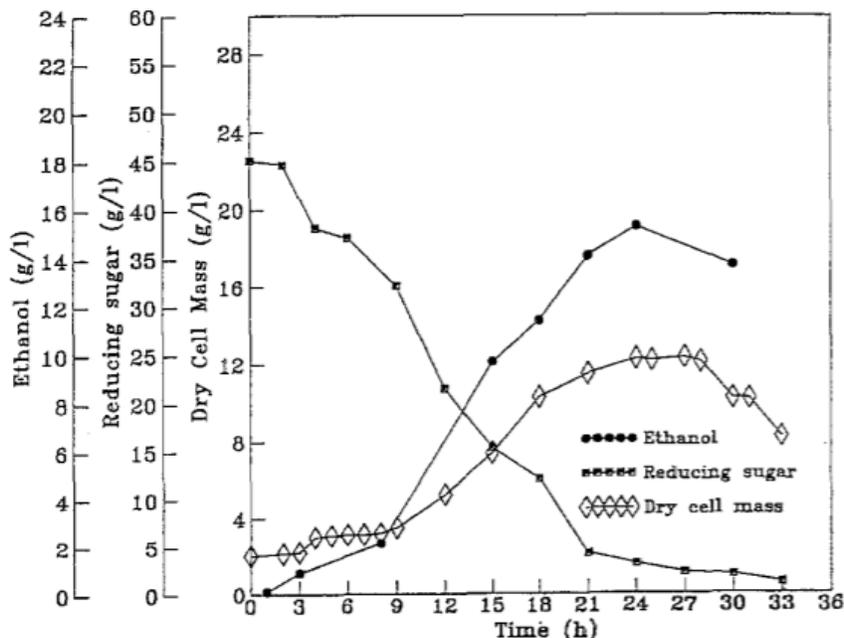
Figura 28. Ruta metabólica de producción de etanol de *S. cerevisiae* también llamada Embden-Meyerhof-Parnas

Para obtener información experimental de la producción de etanol de *S. cerevisiae* utilizamos el artículo "Growth kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* in batch and fedbatch cultivation using sugarcane molasses and glucose syrup from cassava starch" publicado por Journal of Industrial Microbiology (1996) 16, 117-123.<sup>36</sup> Dicho artículo determina la cinética de crecimiento de nuestra levadura de interés tomando como sustratos el jarabe de glucosa de almidón de yuca y la melaza de caña de azúcar. El caso se estudia utilizando un cultivo discontinuo y uno

<sup>35</sup> <https://www.istockphoto.com/es/foto/levadura-saccharomyces-cerevisiae-gm1040455728-278538104>

<sup>36</sup> Society for Industrial Microbiology. (1996). Growth kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* in batch and fedbatch cultivation using sugarcane molasses and glucose syrup from cassava starch. Journal of Industrial Microbiology, 16, 117-123.

alimentado por lotes, además se determinaron el pH y la temperatura óptima para el crecimiento de la levadura resultando 5.5 y 30°C respectivamente. Para nuestro estudio utilizaremos la figura 4. "Relationship between cell, reducing sugar, and ethanol concentrations vs time in batch cultivation using glucose syrup as substrate" ya que, aunque no resulta ser el proceso con mayor producción de etanol es el que más sirve para comparar con los artículos encontrados para las demás bacterias.



**Figure 4** Relationship between cell, reducing sugar, and ethanol concentrations vs time in batch cultivation using glucose syrup as substrate.

*Figura 28. Crecimiento microbiano de S. cerevisiae*

Datos de las condiciones el proceso obtenido del artículo que nos ayudarán a comparar los experimentos de los diferentes microorganismos a estudiar:

Volumen del reactor (mL)	500
Concentración levadura (g/L)	0.5 – 0.7
Concentración de sustrato (g/L)	3
T (°C)	30
pH	5.5
Tiempo (h)	30

*Tabla 29. Condiciones del proceso del experimento para Saccharomyces cerevisiae.*

Para obtener los valores numéricos de la gráfica y utilizarlos en la regresión matemática nos ayudamos del programa Engauge Digitizer el cual con base a la figura de la gráfica y sus coordenadas extrae los valores numéricos que se señalen.

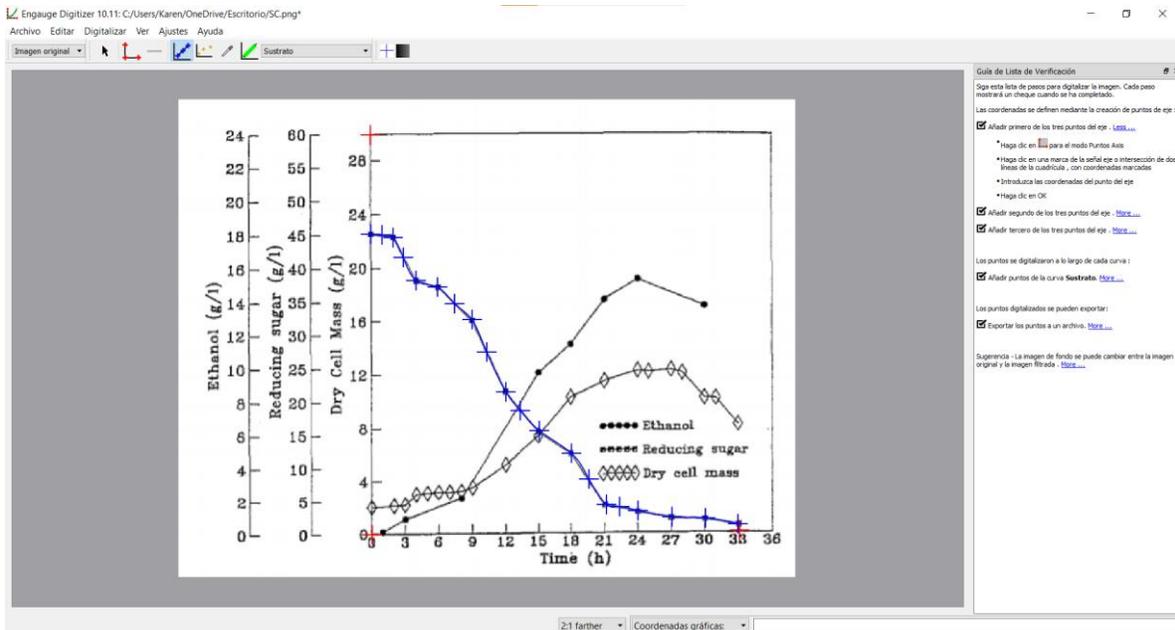


Figura 30. Ejemplo de extracción de datos en el programa Engauge Digitizer, (el caso del ejemplo contempla la extracción de datos del sustrato).

Los datos se exportaron a Excel obteniendo las siguientes tablas:

t (h)	Etanol
0	0.1118
2.9568	0.8411
8.0199	2.0829
8.581	2.3184
9.352	3.4905
11.6659	5.983
15.0665	9.6061
16.6053	10.478
17.9344	11.2584
20.9817	13.9548
22.4147	14.5951
23.9174	15.2117
26.9482	14.4932
29.9779	13.5657

Tabla 24. Obtención de datos numéricos de producción de etanol para *Saccharomyces cerevisiae* en Engauge Digitizer.

t (h)	Biomasa
0	2.0464
1.9731	2.0232
2.9874	2.1325
3.9812	2.8807

t (h)	Biomasa
5.0016	3.0074
5.9944	3.1345
7.0421	3.1229
8.0897	3.0883
9.0554	3.4687
12.0634	5.0687
14.9622	7.2451
17.9451	10.1797
20.8972	11.3203
23.7934	11.9784
24.8136	12.0361
26.9092	12.128
27.9288	11.8636
29.9659	10.0237
31.0408	9.8048
32.8573	8.0133

Tabla 25. Obtención de datos numéricos de producción de biomasa para *Saccharomyces cerevisiae* en Engauge Digitizer.

t (h)	Sustrato
0	45.102
0.9975	44.964
1.9896	44.548
2.8962	41.562
4.0353	38.055
5.9603	37.049
7.491	34.509
9.0582	32.106
10.35	27.202
12.0562	21.184
13.3425	18.35
15.0413	15.324
17.9231	11.858
19.4817	7.96
21.0405	4.108
22.2238	3.761
23.8744	3.128
26.9287	2.144
29.93	1.897
32.8467	0.961

Tabla 26. Obtención de datos numéricos de producción de sustrato para *Saccharomyces cerevisiae* en Engauge Digitizer.

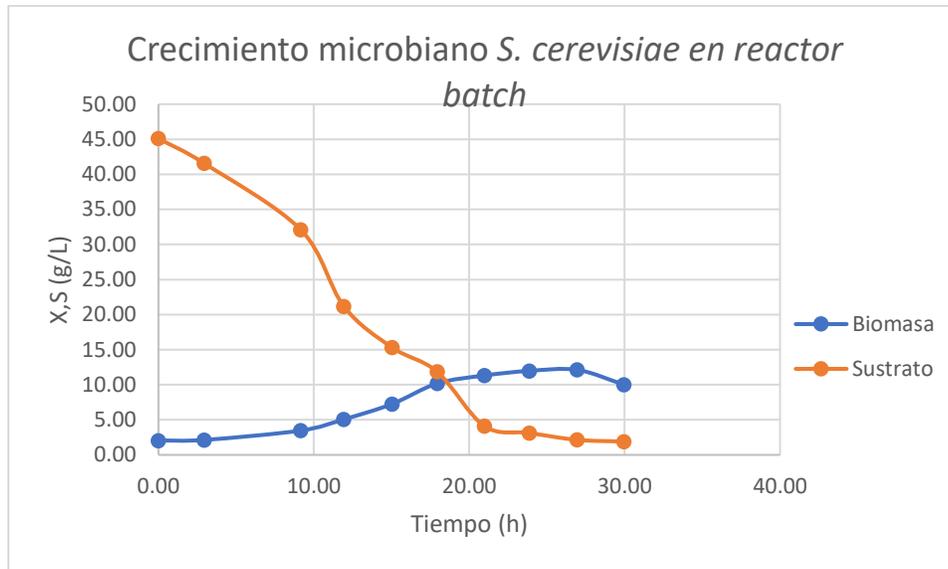


Figura 31. Gráfica de crecimiento en *S. cerevisiae* a partir de los datos obtenidos por engage digitizer.

Como se puede ver, en las tablas 23, 24 y 25 se subrayaron 10 valores, los más similares en tiempo entre ellos para obtener los valores necesarios para la regresión lineal. Para estos valores selectos se obtuvo un promedio del tiempo para asignarle ese valor promedio a todos los parámetros (biomasa, sustrato, etanol), construyendo así la tabla 26.

(h)	Biomasa	t (h)	Sustrato	t (h)	Etanol	Promedio del t (h)
0	2.0464	0	45.102	0	0.1118	0
2.9874	2.1325	2.8962	41.562	2.9568	0.8411	2.95
9.0554	3.4687	9.0582	32.106	9.352	3.4905	9.16
12.0634	5.0687	12.0562	21.184	11.6659	5.983	11.93
14.9622	7.2451	15.0413	15.324	15.0665	9.6061	15.02
17.9451	10.1797	17.9231	11.858	17.9344	11.2584	17.93
20.8972	11.3203	21.0405	4.108	20.9817	13.9548	20.97
23.7934	11.9784	23.8744	3.128	23.9174	15.2117	23.86
26.9092	12.128	26.9287	2.144	26.9482	14.4932	26.93
29.9659	10.0237	29.93	1.897	29.9779	13.5657	29.96

Tabla 27. Datos organizados de los parámetros obtenidos en Engauge Digitizer y cálculo del promedio del tiempo.

Con los datos obtenidos en la tabla 26 se calcularon los valores que necesitamos de la ecuación EGCB, para hacer más práctico el cálculo y la regresión no lineal se repartieron los cálculos en X, Z y T como se observa en la ecuación E10. Los resultados se muestran en la tabla 27.

Crecimiento en sistema batch			Z	T	X	
Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	1/S (L/g)	1/t	lnX/X0	1/lnX/X0
2.95	2.13	41.56	0.02	0.34	0.04	24.26
9.16	3.47	32.11	0.03	0.11	0.53	1.90
11.93	5.07	21.18	0.05	0.08	0.91	1.10
15.02	7.25	15.32	0.07	0.07	1.26	0.79
17.93	10.18	11.86	0.08	0.06	1.60	0.62
20.97	11.32	4.11	0.24	0.05	1.71	0.58
23.86	11.98	3.13	0.32	0.04	1.77	0.57
26.93	12.13	2.14	0.47	0.04	1.78	0.56
29.96	10.02	1.90	0.53	0.03	1.59	0.63

Tabla 28. Obtención de los valores Z, T y X para *Saccharomyces cerevisiae* a partir de la ecuación EGCB.

Después de las variables obtenidas se realizó la regresión en Polymath obteniendo así A y B de la ecuación E10.

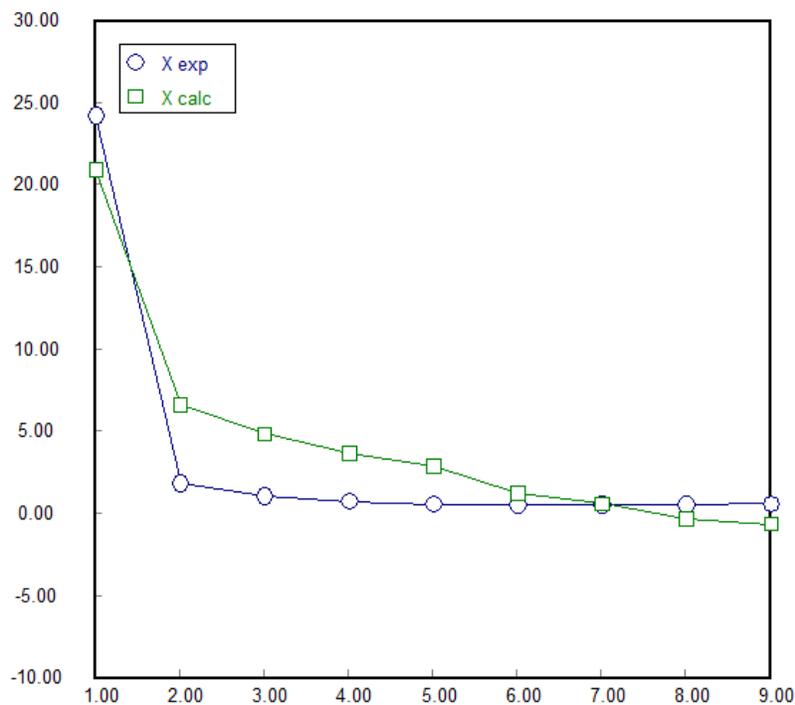


Figura 32. Gráfica de la regresión de Polymath para *Saccharomyces cerevisiae*.

**POLYMATH Report**  
Nonlinear Regression (L-M)

**Model:**  $X = (A*Z+B)*T$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
A	60.	-158.255	254.877
B	7.	65.61344	21.54398

**Nonlinear regression settings**

Max # iterations = 64

**Precision**

R <sup>2</sup>	0.8695301
R <sup>2</sup> adj	0.8508915
Rmsd	0.8875409
Variance	9.115148

Figura 33. Datos obtenidos de realizar la regresión no lineal en Polymath.

Calculando los parámetros cinéticos con los valores obtenidos en la regresión (A y B):

$$B = \frac{1}{\mu_{max}} \rightarrow \mu_{max} = \frac{1}{B} \quad (E13)$$

Ya obtenido el valor de  $\mu_{max}$ :

$$A = \frac{K_S}{\mu_{max}} \rightarrow K_S = A\mu_{max} \quad (E14)$$

Para calcular el rendimiento celular y el rendimiento del producto se utilizaron las ecuaciones E y E, para facilitar el calculo se creo la tabla 29 obteniendo  $Y_{x/s}$  y  $Y_{p/s}$  por celda, para obtener el valor final se calculó el promedio de todos estos valores y finalmente obtuvimos estos últimos parámetros cinéticos

Tiempo (h)	Biomasa (g/L)	S (g/L)	P (g/L)	ln X/X0	ln S0/S	Y x/s	Y p/s
0.00	2.05	45.10	0.1118	0	0	0	0
2.95	2.13	41.56	0.8411	0.0412	0.0817	0.0243	0.2060
9.16	3.47	32.11	3.4905	0.5277	0.3399	0.1094	0.2600
11.93	5.07	21.18	5.983	0.9070	0.7557	0.1264	0.2455
15.02	7.25	15.32	9.6061	1.2642	1.0795	0.1746	0.3188
17.93	10.18	11.86	11.2584	1.6043	1.3359	0.2447	0.3353
20.97	11.32	4.11	13.9548	1.7105	2.3960	0.2262	0.3377

Tiempo (h)	Biomasa (g/L)	S (g/L)	P (g/L)	ln X/X0	ln S0/S	Y x/s	Y p/s
23.86	11.98	3.13	15.2117	1.7670	2.6685	0.2366	0.3597
26.93	12.13	2.14	14.4932	1.7794	3.0463	0.2347	0.3348
29.96	10.02	1.90	13.5657	1.5889	3.1687	0.1846	0.3114
						0.1735	0.3010

Por lo tanto, la información objetivo es:

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	Y x/s	Y p/s
2.41	0.015	0.1735	0.3010

Tabla 29. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *S. cerevisiae* calculados

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	$K_i$ (g/L)
0.5	0.4	0.55

Tabla 30. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *S. cerevisiae* obtenidos del artículo

Los parámetros cinéticos obtenidos con el modelo de Monod nos dieron valores un poco alejados de los reportados en el artículo de consulta, en dicho artículo los autores calcularon los parámetros con un modelo de inhibición de sustrato el cual fue desarrollado suponiendo que el rendimiento fuera constante durante todo el cultivo, no nos menciona nada acerca del coeficiente de correlación ni nos muestra la gráfica comparativa de los datos obtenidos experimentalmente y con la regresión lineal, pero la ecuación utilizada (E17) es muy probable que dé un mejor acercamiento a los datos ya que se basaron en la tendencia de la figura 4. Para encontrar la ecuación que mejor se ajuste y nosotros utilizamos la ecuación más sencilla y general obteniendo una correlación de 0.87.

Aunque la correlación obtenida no fue la esperada se consideró que la mejor opción era seguir trabajando con el mismo modelo por su sencillez además de que la correlación tampoco es tan baja.

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S + S^2/K_i} \quad (E15)$$

### Conclusiones

Para asegurar un buen crecimiento de esta levadura se recomienda otorgarle las condiciones de crecimiento que aparecen en la tabla M1, además, es viable ponerla en crecimiento junto con otra levadura, *S. cerevisiae* es un microorganismo que no requiere cuidados extra, no es patógeno y tiene la ventaja de haber sido estudiado mucho por lo que hoy en día incluso se encuentra en estudio diferentes cepas genéticamente modificadas de esta levadura.

*S. cerevisiae* no solo es útil para la producción de bioetanol, sino para la producción de cerveza y vinos, esto último es por lo que es más conocida y se espera que se siga aprovechando al máximo para ambos fines.

### *B. Zymomonas mobilis*

Este microorganismo, a diferencia de los demás es una bacteria y no una levadura, desde el punto de vista energético *Z. mobilis* ha sido considerado ineficiente para producir biomasa, ya que, por su metabolismo, por cada molécula de monosacárido que entra sale una de ATP, sin embargo, en los últimos años ha sido de gran interés ya que los beneficios de la producción de etanol con esta bacteria son:

- ✓ Tasas metabólicas elevadas
- ✓ Utilización simultánea de glucosa y fructuosa
- ✓ Tolerancia a altas concentraciones de etanol y azúcares
- ✓ Formación de diferentes subproductos en función del sustrato utilizado
- ✓ Conversión alta de sustrato en etanol y CO<sub>2</sub>



Figura 33. Imagen de *Z. mobilis*

La ruta metabólica que sigue esta bacteria se ilustra en la figura 33, en la cual podemos observar el intercambio del azúcar por el ATP antes mencionado, además de conocer todos los pasos que hacen que nos lleve a la producción de etanol y no se desvíe en otra ruta.

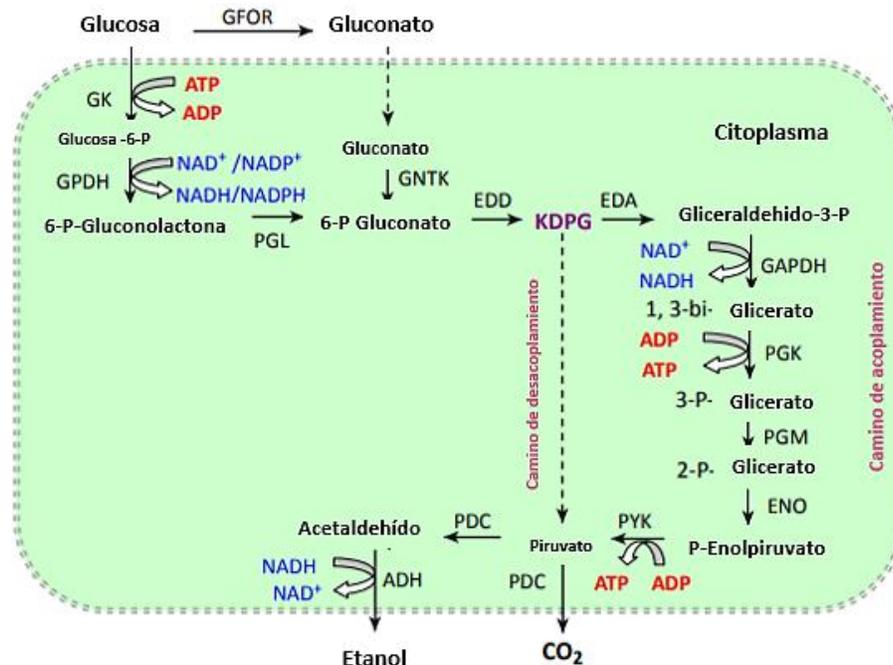


Figura 34. Ruta metabólica de producción de etanol de *Z. mobilis* también llamada Entner - Doudoroff

Este balance de beneficios puede verse en la tabla M4 y comparándola con toda la serie de tablas M, ya que, *Z. mobilis* fue uno de los microorganismos con mayor puntaje, es decir, mayores ventajas frente a la mayoría de las levaduras. Para obtener los parámetros cinéticos de *Z. mobilis* se consultó el artículo "Kinetics of alcohol production by *Zymomonas mobilis* at high sugar concentrations" de P.L. Rogers, Kye Joon Lee y D.E Tribe, publicado por School of Biological Tecnology.

El experimento consistió en estudiar el crecimiento de la bacteria a altas concentraciones de glucosa, también se comparó con *Saccharomyces carlsbergensis*, una levadura de mucha importancia en la industria de bebidas alcohólicas y al hacer esta comparación se encontró que *Z. mobilis* estaba por encima en cuanto a ventajas frente a *S. carlsbergensis*.

La figura utilizada del artículo para nuestra tesis fue la "Fig 4. "Comparative kinetic at 25% initial glucosa".

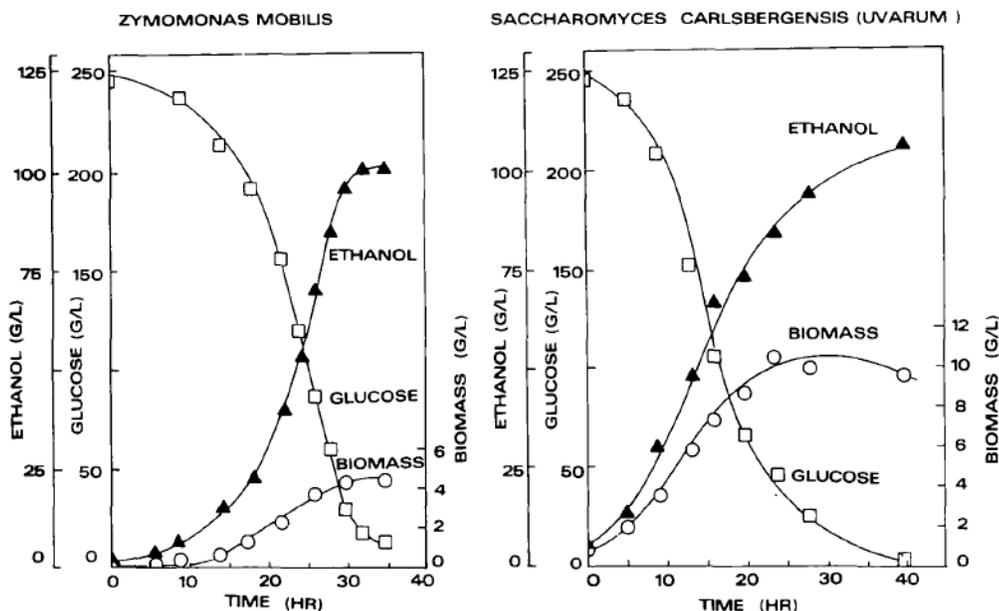


Fig. 4. Comparative kinetics at 25% initial glucose.

Figura 35. Crecimiento bacteriano/microbiano *Z. mobilis* y *S. carlsbergensis*  
 \*Para esta parte del estudio se utilizó solamente la figura que sigue el crecimiento de *Z. mobilis*.

Datos de las condiciones el proceso obtenido del artículo que nos ayudarán a comparar los experimentos de los diferentes microorganismos a estudiar:

Volumen del reactor (mL)	900
Masa levadura (g)	
T (°C)	30
pH	5
Tiempo (h)	40
Nutrientes	
Glucosa (g)	20
Extracto de levadura (Oxoid) (g)	10
Agar (g)	20

Tabla 31. Condiciones del proceso del experimento para *Z. mobilis*.

Para obtener los valores numéricos de la gráfica y utilizarlos en la regresión matemática nos ayudamos del programa Engauge Digitizer del cual se explicó su función cuando analizamos a *S. cerevisiae*.

Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	P (g/L)
0	1	248	0
5	2	242	3.57
9	3.8	208	6.5
12.5	6	152	15.18
15	7.3	105	22.58

20	8.5	65	53
24	10.5	45	84.52
27	10	25	99.61
40	9.8	5	100.6

Tabla 32. Valores numéricos obtenidos de Engauge digitizer – *Z. mobilis*

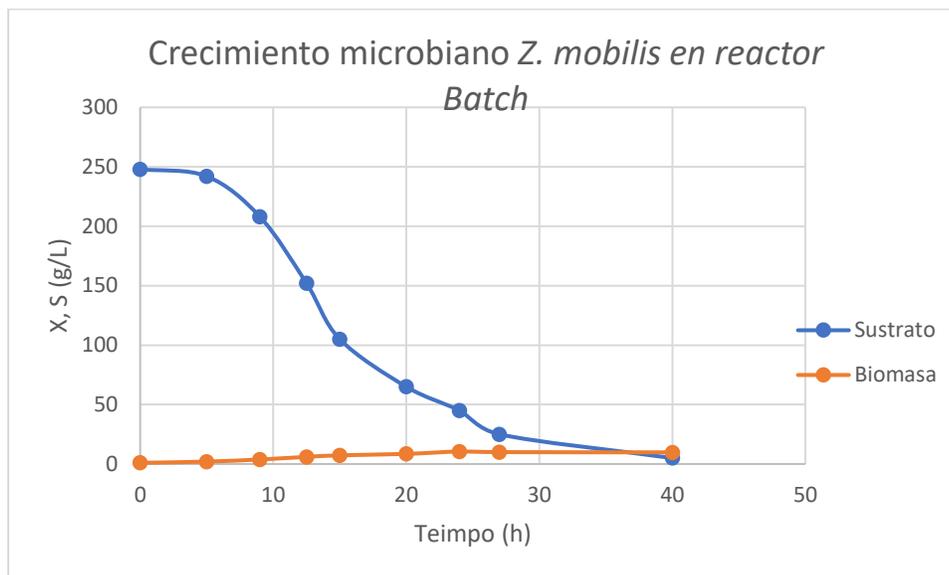


Figura 36. Gráfica de crecimiento en *Z. mobilis* a partir de los datos obtenidos por engauge digitizer.

Con los datos obtenidos de la figura 4 del artículo se calcularon los valores que necesitamos de la ecuación EGCB, para hacer más práctico el cálculo y la regresión no lineal se repartieron los cálculos en X, Z y T como se observa en la ecuación E10. Los resultados se muestran en la tabla 32.

Crecimiento en sistema batch			Z	T	X	
Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	1/S (L/g)	1/t	lnX/X0	1/lnX/X0
5	2	242	0.0041	0.2000	0.6931	1.4427
9	3.8	208	0.0048	0.1111	1.3350	0.7491
12.5	6	152	0.0066	0.0800	1.7918	0.5581
15	7.3	105	0.0095	0.0667	1.9879	0.5030
20	8.5	65	0.0154	0.0500	2.1401	0.4673
24	10.5	45	0.0222	0.0417	2.3514	0.4253
27	10	25	0.0400	0.0370	2.3026	0.4343
40	9.8	5	0.2000	0.0250	2.2824	0.4381

Tabla 33. Obtención de los valores Z, T y X para *Z. mobilis* a partir de la ecuación EGCB.

Después de las variables obtenidas se realizó la regresión en Polymath obteniendo así A y B de la ecuación E10.

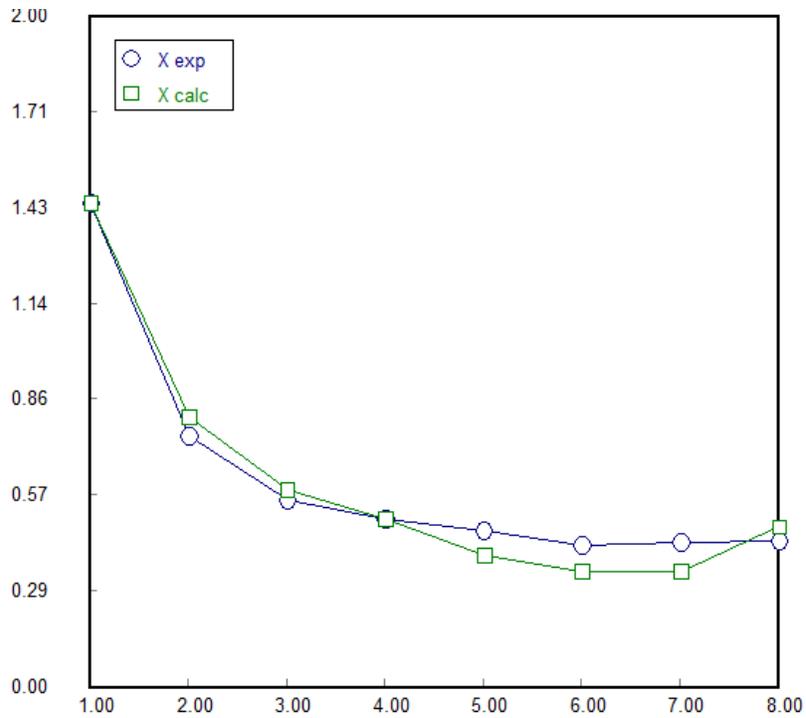


Figura 37. Gráfica de la regresión de Polymath para *Z. mobilis*

**Model:**  $X = (A*Z+B)*T$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
A	60.	61.10916	30.99189
B	7.	6.964395	0.6473854

**Nonlinear regression settings**

Max # iterations = 64

**Precision**

R <sup>2</sup>	0.9705564
R <sup>2</sup> adj	0.9656491
Rmsd	0.0196509
Variance	0.004119

Figura 38. Datos obtenidos de realizar la regresión no lineal en Polymath para *Z. mobilis*

Por lo tanto, la información objetivo es:

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$
8.77	0.14	0.0621	0.3300

Tabla 34. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *Z. mobilis* calculados

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	$q_p$	$q_s$	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$
	0.133	2.53	5.45	0.019	0.472

Tabla 35. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *Z. mobilis* obtenidos del artículo

Para este segundo estudio los parámetros cinéticos obtenidos con el modelo de Monod nos dieron mejores valores, obtuvimos un coeficiente de correlación de 0.97, además de que se ve perfectamente bien la comparación de gráficas (experimental/regresión) en la figura 33. Al calcular los parámetros cinéticos podemos observar que  $\mu_{max}$  está muy cercano al obtenido en el artículo,  $K_s$  no se calcula en el artículo, pero a nosotros nos dio un valor de 8.77 y considerando que nuestro modelo resultó seguir bien la tendencia de este experimento podemos decir que es un dato que seguramente está igual de cerca de ser correcto como  $\mu_{max}$ .

### Conclusiones

La tabla M4 también nos da la información suficiente para otorgar las condiciones ambientales ideales para el crecimiento de esta bacteria, además es un bacilo gran negativo, móvil y anaerobio. Tiene una capacidad para sobrevivir en líquidos con alta concentración de azúcar y etanol, superiores a las que toleran las levaduras, gracias a estudios se sabe que, aunque solamente por lo que sigue en investigación esta bacteria y se espera se encuentren soluciones a sus desventajas como lo son las grandes cantidades de materia prima que se necesitan para producir el biocombustible.

### C. *Saccharomyces carlsbergensis*

*Saccharomyces carlsbergensis* o *saccharomyces pastorianus* es una levadura muy particular ya que se usa para la elaboración de cerveza lager, fue descubierta y empleada por la industria Carlsberg. Desde su descubrimiento los derechos de la levadura han permanecido abiertos y aunque actualmente por su baja concentración de tolerancia máxima al etanol es usada para producción de cervezas es una buena oportunidad de estudio el conocerla en esta tesis ya que estamos analizando las diferentes opciones para la obtención de etanol, además de que podemos dar información no solo a productores de bioetanol, sino de cervezas o vinos.

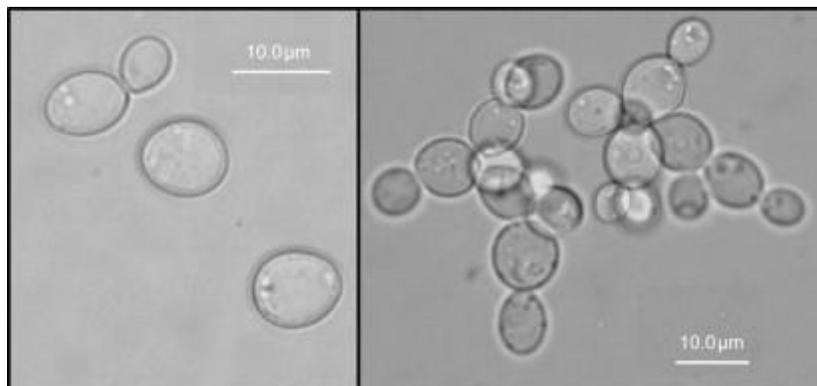


Figura 39. *Saccharomyces carlsbergensis*<sup>37</sup>

El artículo usado para esta levadura es el mismo que se usó para *Zymomonas mobilis*, (Kinetics of alcohol production by *Zymomonas mobilis* at high sugar concentrations) ya que contiene un el experimento también para esta levadura y aunque hay algunos otros artículos que hacen el experimento el usar este nos otorga la ventaja de comparar como en el artículo, bajo las mismas condiciones de proceso, además de que podremos dar recomendaciones adicionales gracias a nuestro estudio previo de cada una de las levaduras.

*S. carlsbergensis* es muy similar a *S. cerevisiae* ya que es una mutación de ésta última, por lo tanto, su ruta metabólica es la misma de forma general, tal como viene la figura 28.

La figura utilizada del artículo para nuestra tesis fue la “Fig 4. “Comparative kinetic at 25% initial glucosa” la cual nosotros tenemos como figura 35, la única diferencia es que para esta levadura se utilizó solamente la figura que sigue el crecimiento de *Saccharomyces carlsbergensis*.

Datos de las condiciones el proceso obtenido del artículo que nos ayudarán a comparar los experimentos de los diferentes microorganismos a estudiar:

Volumen del reactor (mL)	900
Masa levadura (g)	
T (°C)	30
pH	5
Tiempo (h)	40
Nutrientes	

<sup>37</sup> <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/saccharomyces-pastorianus>

Glucosa (g)	20
Extracto de levadura (Oxoid) (g)	10
Agar (g)	20

Tabla 36. Condiciones del proceso del experimento para *S. carlsbergensis*

Tiempo (h)	S (g/L)	X (g/L)	P (g/L)
0.391	245.466	0.7059	5.165
4.938	235.751	1.9251	12.913
8.966	208.873	3.4973	29.959
12.927	152.202	5.8075	47.779
15.949	105.894	7.3476	66.374
19.707	66.062	8.6631	72.831
23.831	45.984	10.492	84.452
27.633	25.907	9.9144	94.525
39.608	3.886	9.5294	106.663

Tabla 37. Valores numéricos obtenidos de Engauge digitizer – *S. carlsbergensis*

Crecimiento batch			Z	T	X	
Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	1/S (L/g)	1/t	lnX/X0	1/lnX/X0
4.94	1.93	235.75	0.0042	0.2025	0.0404	24.7633
8.97	3.50	208.87	0.0048	0.1115	0.1614	6.1946
12.93	5.81	152.20	0.0066	0.0774	0.4779	2.0923
15.95	7.35	105.89	0.0094	0.0627	0.8407	1.1895
19.71	8.66	66.06	0.0151	0.0507	1.3126	0.7619
23.83	10.49	45.98	0.0217	0.0420	1.6749	0.5971
27.63	9.91	25.91	0.0386	0.0362	2.2486	0.4447
39.61	9.53	3.89	0.2573	0.0252	4.1458	0.2412

Tabla 38. Obtención de los valores Z, T y X para *S. carlsbergensis* a partir de la ecuación EGCB.

Con los resultados obtenidos en la tabla 38 se utilizó Polymath para la regresión no lineal obteniendo los siguientes valores de A y B:

**Model:**  $X = (A*Z+B)*T$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
A	60.	-533.6117	1722.277
B	7.	91.16075	44.84326

**Nonlinear regression settings**

Max # iterations = 64

**Precision**

R <sup>2</sup>	0.747198
R <sup>2</sup> adj	0.7050643
Rmsd	1.396909
Variance	20.81446

**General**

Sample size	8
Model vars	2
Indep vars	2
Iterations	4

Figura 41. Gráfica de la regresión de Polymath para *S. carlsbergensis*

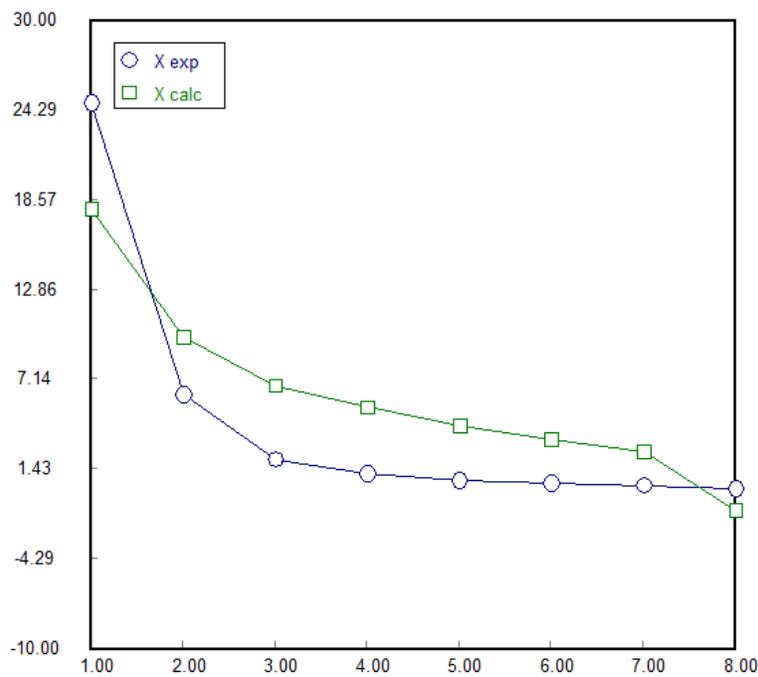


Figura 38. Datos obtenidos de realizar la regresión no lineal en Polymath para *S. carlsbergensis*

Tiempo (h)	X (g/L)	S (g/L)	P (g/L)	Y x/s	Y p/s
0.39	0.71	245.47	5.165	0	0
4.94	1.93	235.75	12.913	0.1255	0.7975
8.97	3.50	208.87	29.959	0.0763	0.6776
12.93	5.81	152.20	47.779	0.0547	0.4569
15.95	7.35	105.89	66.374	0.0476	0.4385
19.71	8.66	66.06	72.831	0.0444	0.3772
23.83	10.49	45.98	84.452	0.0491	0.3975
27.63	9.91	25.91	94.525	0.0419	0.4070
39.61	9.53	3.89	106.663	0.0365	0.4201
				0.0595	0.4965

Tabla 39. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *S. carlsbergensis* calculados

De acuerdo con estos resultados y con ayuda de las ecuaciones E5, E6, E11 y E12 se obtienen:

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$
5.85	0.0109	0.0595	0.4965

Tabla 40. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *S. carlsbergensis* calculados

$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	$q_p$	$q_s$	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$
	0.055	0.87	2.08	0.033	0.438

Tabla 41. Parámetros cinéticos y coeficientes de rendimiento de *S. carlsbergensis* obtenidos del artículo

### Conclusiones

Para esta levadura también es importante consultar los valores óptimos de crecimiento en la tabla M2, el estudio de esta levadura resultó muy importante ya que no se usa comúnmente para la producción de bioetanol, sino para la producción de cerveza lo cual es enriquecedor para la tesis ya que podemos ampliar el alcance con los dos sectores más grandes que utilizan las levaduras para la producción de sus productos como lo son el bioetanol y uno de los componentes de la cerveza, esta levadura otorga también propiedades organolépticas para el sabor de esta bebida alcohólica aunque su producción debe ser bien controlada por su concentración de etanol producida.

### Análisis de los resultados obtenidos

Los tres microorganismos analizados obtuvieron diferentes resultados, se han recopilado todos y se muestran en la tabla 42A y 42B para los parámetros cinéticos calculados en esta tesis y los datos reportados en los artículos científicos consultados respectivamente.

Microorganismo	$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	Y x/s	Y p/s
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.41	0.015	0.1735	0.3010
<i>Zymomonas mobilis</i>	8.77	0.14	0.0621	0.3300
<i>Saccharomyces Carlsbergensis</i>	5.85	0.0109	0.0595	0.4965

Tabla 42A. Recopilación de los parámetros cinéticos obtenidos en la presente tesis (modelo de Monod)

Microorganismo	$K_s$	$\mu_{max}(h^{-1})$	Ki	Y x/s	Y p/s
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.5	0.4	0.55	0.23	0.31
<i>Zymomonas mobilis</i>		0.133		0.019	0.472
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>		0.055		0.033	0.438

Tabla 42B. Recopilación de los parámetros cinéticos obtenidos en los artículos consultados

Para el análisis de resultados dividiremos en dos los parámetros cinéticos, por un lado, observaremos la gráfica de producción de etanol de cada uno de los microorganismos, para comparar se señala la concentración a las 30h del proceso ya que es el tiempo máximo de producción de *S. cerevisiae*.

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		<i>Zymomonas mobilis</i>		<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	
Tiempo (h)	P (g/L)	Tiempo (h)	P (g/L)	Tiempo (h)	P (g/L)
0.00	0.1118	0	0	0.39	5.165
2.95	0.8411	5	3.57	4.94	12.913
9.16	3.4905	9	6.5	8.97	29.959
11.93	5.983	12.5	15.18	12.93	47.779
15.02	9.6061	15	22.58	15.95	66.374
17.93	11.2584	20	53	19.71	72.831
20.97	13.9548	24	84.52	23.83	84.452
23.86	15.2117	27	99.61	27.63	94.525
29.96	13.5657	40	100.6	39.61	106.663

Tabla 43. Datos reportados de la producción de etanol para cada uno de los microorganismos.

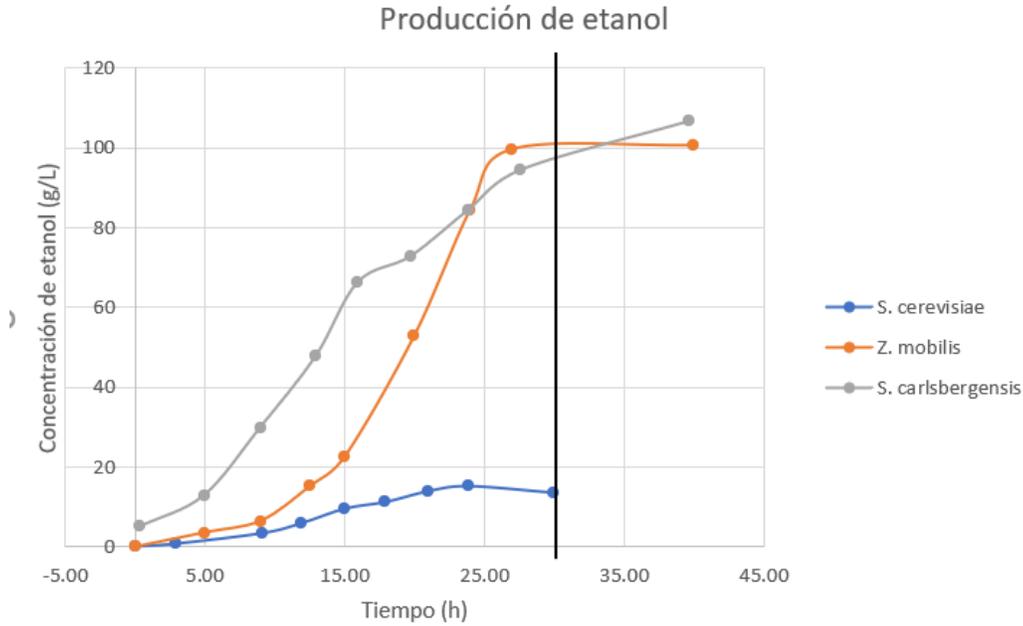


Figura 39. Comparación de la producción de etanol por los tres microorganismos elegidos

Como podemos observar *S. carlsbergensis* y *Z. mobilis* fueron los microorganismos que más produjeron etanol, esto significa que a esas condiciones que resultan ser muy similares y el tiempo de 30h *S. carlsbergensis* tendrá ventaja de producción, es de esperarse este resultado ya que en la serie de tablas M sabemos que *Z. mobilis* y *S. carlsbergensis* tienen una concentración de etanol producida alta.

Para los rendimientos vamos a comparar los valores entre los microorganismos además de la diferencia de resultados obtenidos por los artículos científicos consultados y el calculo hecho en esta tesis.

Rendimiento celular:

Microorganismo	$Y_{x/s}$ reportada	Microorganismo	$Y_{x/s}$ obtenido con Monod
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.23	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.1735
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	0.033	<i>Zymomonas mobilis</i>	0.0621
<i>Zymomonas mobilis</i>	0.019	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	0.0595

Tabla 45. Análisis de los datos del rendimiento celular con los resultados obtenidos

El rendimiento celular es mayor mientras más se acerque al valor de 1, por lo que según esta tendencia *S. cerevisiae* es quien logra un mejor rendimiento, y el segundo lugar se debate entre las otras dos levaduras, aun así, todo depende de las condiciones a las que el proceso este.

Rendimiento de producto:

Microorganismo	$Y_{p/s}$ reportada	Microorganismo	$Y_{p/s}$ obtenido con Monod
<i>Zymomonas mobilis</i>	0.472	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	0.4965
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	0.438	<i>Zymomonas mobilis</i>	0.3300
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.31	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.3010

Tabla 46. Análisis de los datos del rendimiento del producto con los resultados obtenidos

El rendimiento de producto nos indica cuanto del sustrato se aprovecho para convertirse en producto, por lo que la única tendencia que se puede asegurar es que quien menos aprovechó ese sustrato es *S. cerevisiae*.

Hay que tener muy en cuenta que para cada microorganismo y los parámetros de crecimiento que se le apliquen hay una tendencia de crecimiento específica, por lo que realmente depende de la mejor ecuación que se ajuste a esa tendencia al graficar los valores obtenidos.

Se deben dividir y analizar de diferente forma los parámetros cinéticos debido a que  $K_s$ ,  $\mu_{max}$  no tienen valores específicos y es muy poco confiable comparar sus valores ya que son únicos para cada proceso, dependen de las condiciones de crecimiento y como no logramos el 100% de exactitud entre los procesos no podemos comparar de esta forma.

### Diseño de biorreactor

En la industria química hay diferentes tipos de reactores según las necesidades y posibilidades del proceso, para el crecimiento microbiano se utilizan específicamente los llamados biorreactores, estos tienen condiciones específicas para el crecimiento de microorganismos, su objetivo es mantener un ambiente biológicamente activo y dar las condiciones necesarias para un crecimiento óptimo. Para nuestro estudio partimos de un reactor sencillo, un biorreactor batch el cual nos será de utilidad para el crecimiento de cualquier de nuestros microorganismos previamente estudiados.

Básicamente su diseño se hace por partes, lo primero que buscaremos encontrar será la concentración de biomasa, esta se establece por peso seco mediante la técnica espectrofotométrica de Lowry. Para el cálculo del rendimiento de biomasa ( $Y_{x/s}$ ) y el consumo de sustrato (CS)

$$Y_{\frac{x}{s}} = -\frac{X_0 - X}{S_0 - S} \quad (E16)$$

$$C_s = \frac{(S_0 - S)}{S_0} * 100 \quad (E17)$$

El crecimiento microbiano fue estudiado y modelado por la ecuación de Monod (E2) y en el caso de uno de los artículos por la ecuación de crecimiento microbiano por inhibición de sustrato (E15).

Tiempos de fermentación:

$$FX_0 = FX + \frac{dX}{dt} * V - r_x * V \quad (E18)$$

La ecuación de balance se ajusta suponiendo que no hay muerte celular, y al ser un biorreactor discontinuo los volúmenes se mantienen constantes, por lo que;  $FX_0 = FX = 0$

Considerando lo anterior la ecuación de balance será:

$$r_x = \frac{dX}{dt} \quad (E19)$$

$$\int_{X_0}^X \frac{dX}{r_x} = \int_0^t dt \quad (E20)$$

Considerando la velocidad específica de crecimiento (ecuación de Monod):

$$t = \int_{X_0}^X \frac{dX}{r_x} \quad (E21)$$

Tomando en cuenta que:

$$r_x = X * \mu \quad (E22)$$

Tenemos:

a) Modelo Monod

$$t = \int_{X_0}^X \frac{K_S + S}{\mu_{max} * X * S} dX \quad (E23A)$$

$$t = \frac{K_S + S}{\mu_{max} * S} * \ln X$$

b) Modelo de inhibición por sustrato

$$t = \int_{X_0}^X \frac{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}}{\mu_{max} * X * S} dX \quad (E23B)$$

$$t = \frac{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}}{\mu_{max} * S} * \ln X$$

**Dimensionamiento del biorreactor:**

Para los reactores que llevan a cabo procesos biológicos es necesario tomar en cuenta el espacio disponible donde estará el reactor, para los fines de esta tesis podemos proponer un volumen específico sin tomar en cuenta otros aspectos importantes ya que el objetivo es un diseño sencillo para la comparación de los modelos de crecimiento utilizados. Las dimensiones se calculan con una relación de altura (H) – diámetro (D) de 2:1 mediante la siguiente ecuación:

$$V_F = \frac{\pi * D^2 * H}{4} \quad (E24)$$

Sustituyendo H considerando la relación 2 a 1 ( $H = 2D$ ):

$$V_F = \frac{\pi * D^2 * 2D}{4}$$

$$V_F = \frac{\pi}{2} D^3$$

$$D = \sqrt[3]{\frac{2V_F}{\pi}} \quad (E25)$$

Dimensionamiento de los impulsores:

Para los impulsores consideraremos cuchillas planas tipo Roushton que son muy comunes en este tipo de reactores (figura 39)

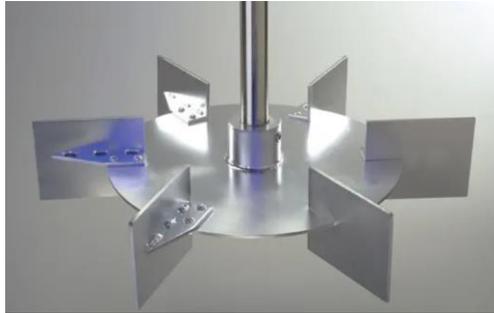


Figura 39. Impulsores tipo Roushton

Dimensiones de las cuchillas:

$$D_i = \frac{D_F}{3} \quad (E26)$$

$$A_i = \frac{D_i}{5} \quad (E27)$$

$$D_d = \frac{2 * D_i}{3} \quad (E28)$$

$$L_i = \frac{D_i}{4} \quad (E29)$$

Además, es necesario que los impulsores se sitúen estratégicamente dentro del biorreactor para poder tener un mejor mezclado y distribución de componentes.

$$H_a = 1 * D_i \quad (E30)$$

$$H_b = 2 * D_i \quad (E31)$$

$$H_c = 3 * D_i \quad (E32)$$

Donde:

$V$  = volumen del biorreactor (m)

$H$  = Altura (m)

$D$  = Diámetro del biorreactor (m)

$D_i$  = Diámetro del impulsor (m)

$A_i$  = Ancho de las cuchillas (m)

$D_d$  = Diámetro del disco (m)

$D_c$  = Diámetro de las cuchillas – desde el impulsor al primer cojinete – (m)

$H_b$  = Distancia entre el primer agitador al segundo (m)

$H_c$  = Distancia entre el primer agitador al tercero (m)

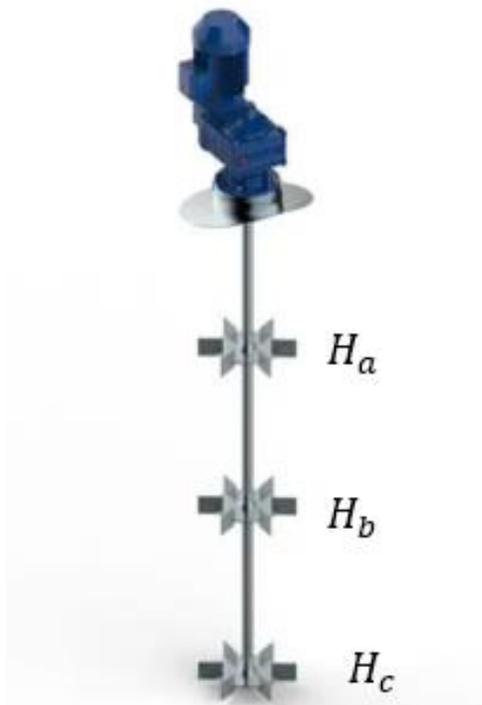


Figura 40. Representación gráfica de la distancia entre impulsores

Potencia consumida para la agitación:

Para calcular la potencia utilizaremos el número de Reynolds ya que buscamos saber el régimen en el que el fluido se encuentra, ya sea laminar o turbulento.

$$Re = \frac{\rho * N * D^2}{\mu_{ap}} \quad (E33)$$

Donde:

$\rho = \text{Densidad} \left( \frac{Kg}{m} \right)$

$N = \text{Modulo de aireación}$

$D = \text{Diametro del biorreactor}$

$\mu_{ap} = \text{Viscosidad aparente}$

Debido a que no tenemos el valor exacto de la viscosidad ni el de la densidad vamos a considerar un promedio de los valores más comunes de densidad en las fermentaciones y para la viscosidad obtendremos el valor de la gráfica de un artículo que estudió el cambio de la viscosidad en fermentaciones dependiendo de la velocidad de agitación.

Valores promedio de la densidad en las fermentaciones recuperado del blog Fermentación alcohólica<sup>38</sup> donde los valores van de 1.090g/mL a 0.992g/mL siendo su valor promedio y el que utilizaremos de 1.041g/mL.

<sup>38</sup> <https://pacolola.com/vendimia-2015-6-fermentacion-alcoholica/#:~:text=Durante%20la%20fermentaci%20alcoh%20se,el%20seguimiento%20de%20la%20fermentaci%20n.>

La agitación empleada será de 100rpm, no es necesaria más para el volumen de nuestro reactor, además de que el valor máximo de rpm de la gráfica de la figura 41 es ese valor, 100rpm.

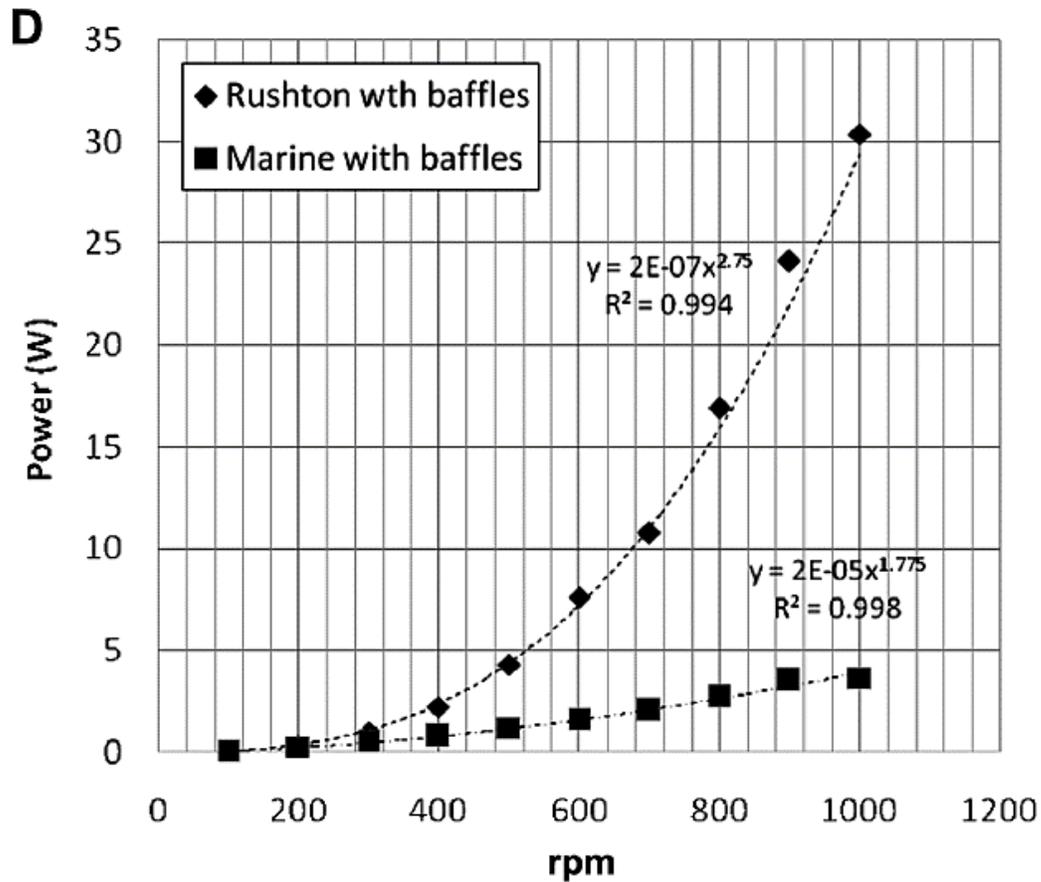


Figura 40. Gráfica de relación del poder frente a las rpm que se le den a las mamparas tipo Rushton

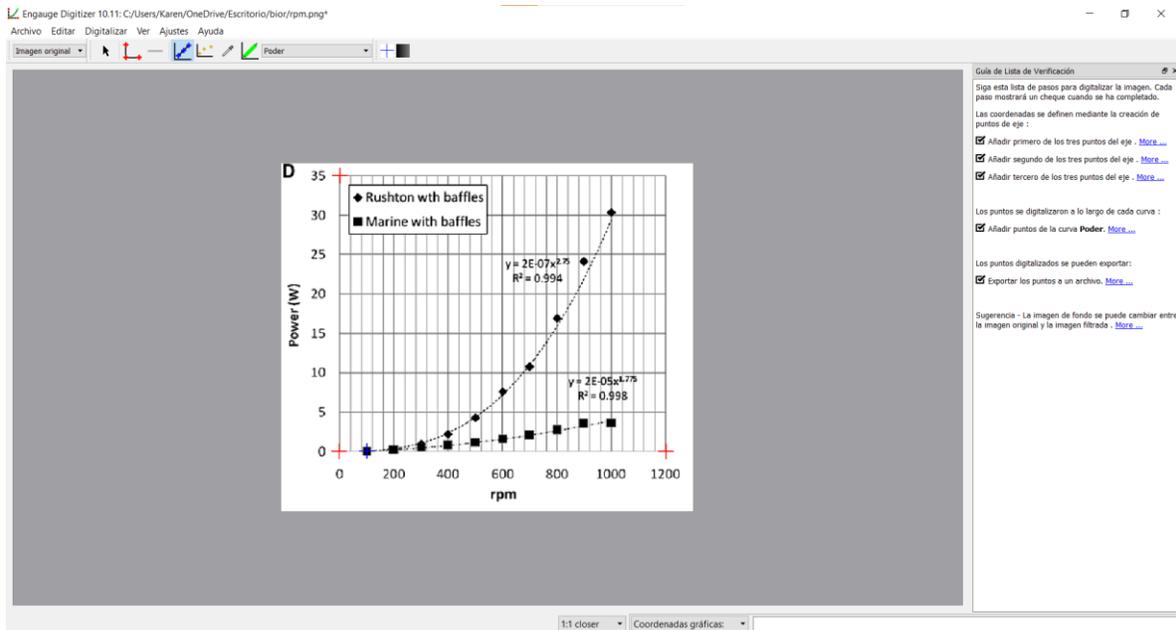


Figura 41. Ilustración de la obtención del valor del poder por Engauge digitier y exportado a Excel.

El valor obtenido de la figura 41 es de 0.55W de poder para 100rpm

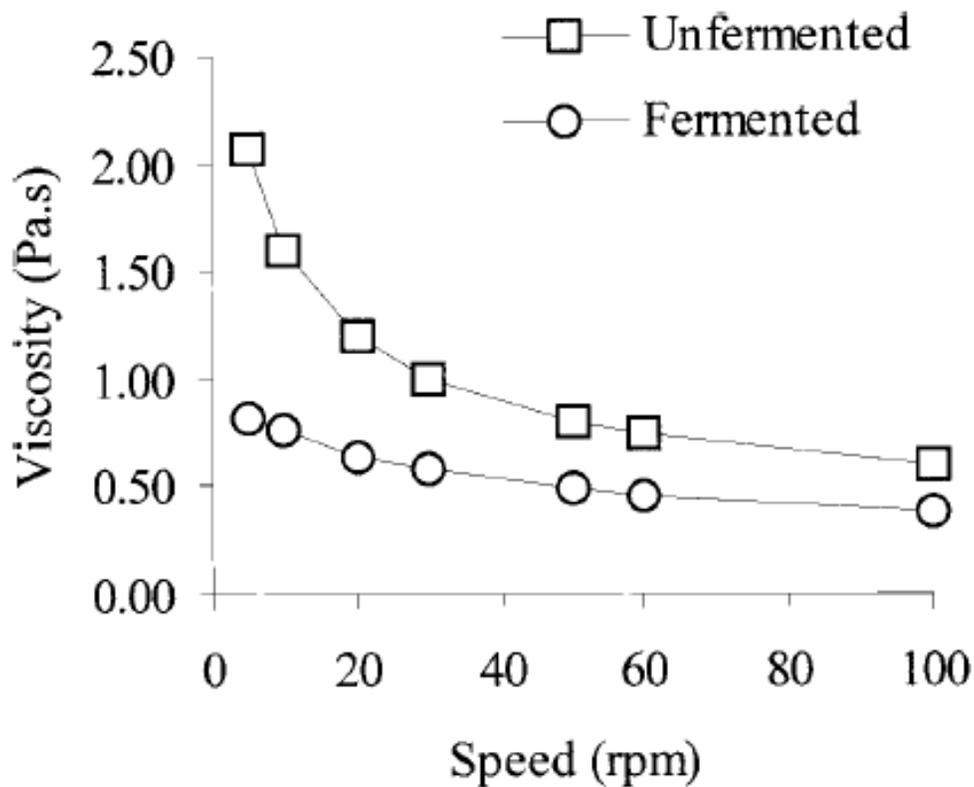


Figura 42. Gráfica de la variación de la viscosidad frente a rpm

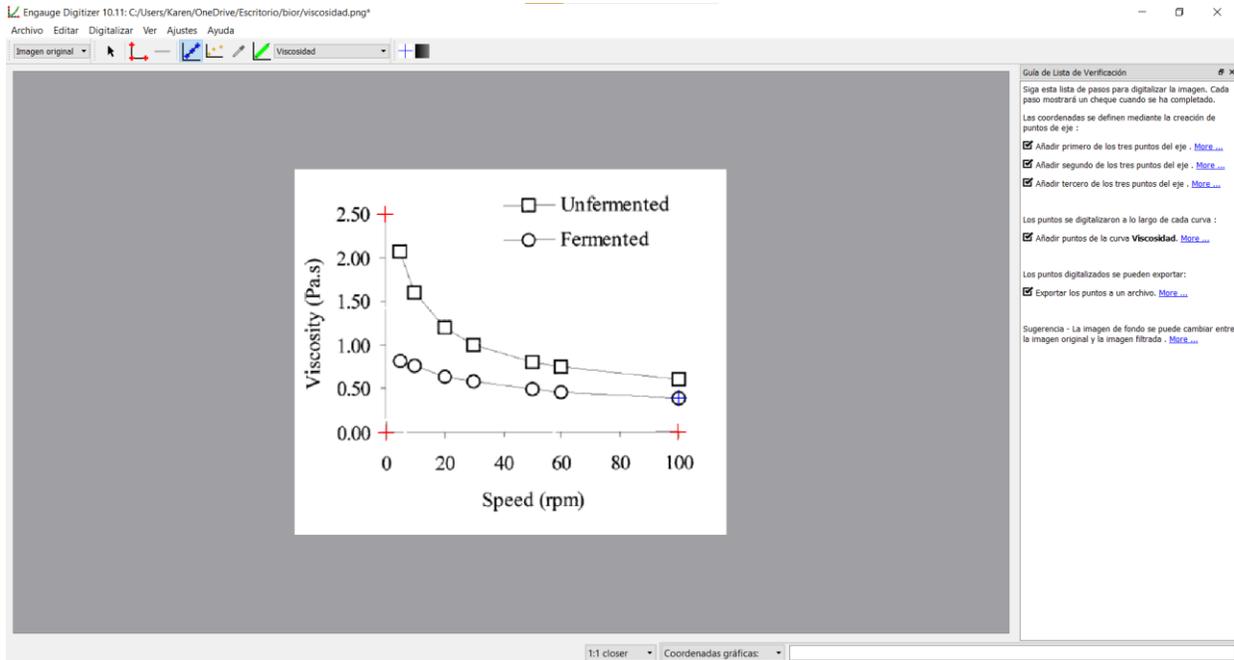


Figura 43. Extracción de datos de la gráfica de viscosidad con el programa Engauge digitizer.

### Balace de calor

Los calores involucrados en el proceso de fermentación son 6; calor de generación, calor de agitación, calor de aireación, calor sensible, calor interno y calor de evaporación, algunos de los calores involucrados no son realmente significativos en el proceso, es decir, sus valores son muy pequeños, por lo que solamente nos enfocaremos en el calor del intercambio del enchaquetado.

$$Q_{int} = U * A * \frac{\Delta T_{media}}{V} \quad (E34)$$

Donde:

$U$  = Coeficiente global de transferencia de calor  $\left(\frac{kW}{m^2C}\right)$

$\Delta T$  = Diferencia media de temperatura entre el medio de cultivo y el medio de enfriamiento ( $^{\circ}C$ )

$A$  = Área de transferencia de calor

Para calcular el área de transferencia de calor se usa la ecuación E35, además necesitamos el valor para el coeficiente global de transferencia de calor para el enchaquetado de un fermentador el cual es de 37 BTU/(hr ft<sup>2</sup> °F), lo que equivale a 210 W/(s m<sup>2</sup> K) con el cual ya es posible calcular el área de transferencia de calor:

$$A = \frac{q}{U LMTD} \quad (E35)$$

Donde:

$$LMTD = \frac{T_{AF\ entrada} - T_{AF\ salida}}{\ln\left(\frac{T_{Fermento} - T_{AF\ salida}}{T_{Fermento} - T_{AF\ entrada}}\right)} \quad (E36)$$

El dato de generación de energía térmica durante el proceso de fermentación fue obtenido de la tesis Producción de etanol como biocombustible a partir de residuos vegetales no alimenticios<sup>39</sup>, el cual se registra como:

$$\Delta\dot{H} = 816.2 \frac{kJ}{h \text{ kgEtOH}}$$

Este valor está expresado como un flujo específico de calor. Para obtener el flujo de calor generado por la fermentación, sólo se le debe multiplicar por la masa total de etanol producida por el microorganismo:

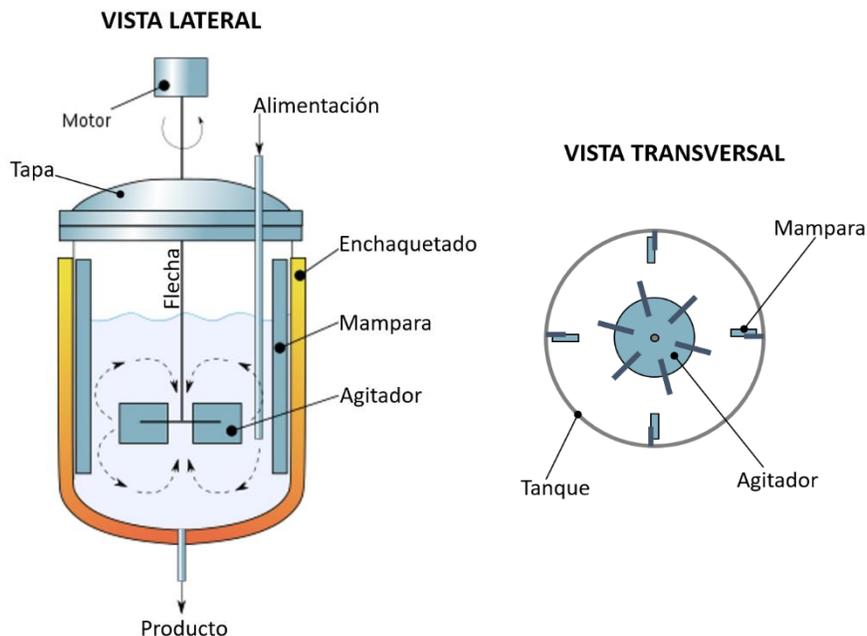
$$q = m_{EtOH}\Delta H \quad (E37)$$

Al final se calcula el flujo de agua fría (AF) necesaria en el enchaquetado del reactor a partir de su balance de energía:

$$W_{AF} = \frac{q}{Cp_{AF} \Delta T} \quad (E38)$$

donde la diferencia de temperaturas para el agua fría va de 25°C hasta 120°F (48.9°C), y su Cp es de 4.184 kJ/(kg °C).

### Partes del biorreactor con agitación



<sup>39</sup> TESIS CAM

## Resultados

El biorreactor se modeló para *S. cerevisiae* aprovechando que el artículo de donde se obtuvo información de su crecimiento microbiano manejó otro modelo de crecimiento diferente, donde los resultados fueron los siguientes:

Volumen del reactor (L)	0.5
$Y_{x/s}$	0.1735
$Y_{p/s}$	0.301
$K_s$	2.41
$\mu_{max}(h^{-1})$	0.015
S (g/L)	3
X ( $h^{-1}$ )	49.21
$K_i$ (g/L)	0.55

*Tabla R1. Datos generales del proceso*

El dato del volumen se tomó tal cual, del experimento, ya que no se puede cambiar debido a que de ese volumen depende la obtención y los resultados de los parámetros cinéticos calculados, aunque también se puede escalar este diseño, pero como el único objetivo es comparar los modelos podemos usarlo así. Los demás datos los obtuvimos anteriormente con el modelo de Monod y del artículo consultado.

Para el cálculo del tiempo en el reactor se utilizaron las ecuaciones E23A (Monod) y E23B (inhibición por sustrato) de las cuales el resultado es:

t (h)	9.52
t (h)	38.31

*Tabla R2. Tiempo requerido para el proceso*

Dimensionamiento de los impulsores:

Parámetro	Resultado
D (m)	0.6828
$D_i$ (m)	0.2276
$A_i$ (m)	0.0455
$D_d$ (m)	0.1517
$L_i$ (m)	0.0569
$H_a$ (m)	0.2276
$H_b$ (m)	0.4552
$H_c$ (m)	0.6828

*Tabla R3. Resultado del dimensionamiento de los impulsores*

Cálculo del número de Reynolds:

$\rho$ (kg/L)	1.041
Agitación (rpm)	100
Poder (W)	0.55
Viscosidad (Pa*s)	0.3860
Re	1.2571

Tabla R4. Numero de Reynolds

Balance de calor

U (kJ/m <sup>2</sup> K)	0.21
Tinicial (°C)	25
Tfinal (°C)	48.9
Tcultivo (°C)	50
LMTD	7.6515
Concentración de etanol producida (g/L)	13.56
Volumen que contiene al etanol (L)	0.5
mEtOH(kg)	0.0271
$\Delta H \left( \frac{kJ}{hkgEtOH} \right)$	816.2
q (kJ/h)	22.1353
A (m <sup>2</sup> )	13.7759
Q <sub>int</sub> (kJ/h)	138.2824

Tabla R5. Datos calculados para obtener el calor del intercambio del enchaquetado

Flujo de agua fría en el enchaquetado:

CpAF (kJ/kg °C)	4.184
W <sub>aF</sub> (Kg/h)	0.2214

Tabla R6. Cálculo del agua fría para el enchaquetado

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Los microorganismos que participan en la fermentación son muchos, aunque de su producción de etanol no se obtenga una gran concentración son indispensables para las diferentes industrias que ocupan este compuesto.

Como ya analizamos, de acuerdo con los criterios de importancia establecidos los microorganismos más favorables para la producción de etanol como biocombustible y como bebida alcohólica son la *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces carlsbergensis* las cuales en competencia como ya vimos pueden variar en cuanto a su producción ya que cada uno de estos microorganismos requiere de condiciones específicas para otorgar su máxima eficiencia, con un estudio estandarizando lo máximo posible los parámetros que intervienen en su crecimiento podemos notar aquel con una mayor producción de etanol, el cual resultó ser *S. carlsbergensis* (figura 39), incluso por arriba de *Z. mobilis* el cual sabemos que sobrevive a concentraciones más altas que los otros dos microorganismos, esto puede deberse a que las condiciones eran más favorables para *S. carlsbergensis*, y/o a que necesita hacerse el experimento por más tiempo para que los 3 microorganismos exploten al máximo su capacidad de producción de etanol.

Como parte del análisis en el biorreactor podemos observar como el utilizar uno u otro modelo de crecimiento puede afectar mucho los datos del diseño, pues de utilizar Monod a el modelo de inhibición por sustrato la diferencia es de poco más de 4 veces el tiempo requerido para la producción, esto era de esperarse ya que, el que exista una inhibición hace más lento el crecimiento pero ahora podemos saber que tan significativo puede llegar a ser y es importante entonces, que se use el modelo más afín e incluso vale la pena que si ninguno de los ya existentes se ajusta se busque una nueva función para describir el comportamiento.

## CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA Y FUENTES DE INFORMACIÓN

- H. Scott Fogler. (2008). Elementos de ingeniería de las reacciones químicas. México: Pearson Educación.
- R. Quintero Ramírez. (1981). Ingeniería bioquímica teoría y aplicaciones. México: Alhambra Mexicana.
- M. Galvis Jacome. (2009). Estudio del proceso de fermentación de glucosa para la producción de bioetanol a partir de levaduras nativas. 2020, de Universidad industrial de Santander Sitio web: <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2009/131929.pdf>
- H.J. Vázquez, O. Dacosta. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. 2020, de Departamento de Sistemas, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco, México Sitio web: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-77432007000400004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432007000400004)
- Ortiz, W. G. C. (2016). Tratamientos aplicables a materiales lignocelulósicos para la obtención de etanol y productos químicos. *Revista de Tecnología*, 13(1).
- Cardona, C., Sánchez, O. Montoya, M., & Quintero, J. (2011). Simulación de los procesos de obtención de etanol a partir de caña de azúcar y maíz. Marzo 11, 2020, de Dialnet Sitio web: <https://es.scribd.com/document/434314487/Dialnet-SimulacionDeLosProcesosDeObtencionDeEtanolAPartirD-4834405-1-pdf>
- CEDRSSA. (2020). La producción y el comercio de los biocombustibles en México y en el mundo. 01/03/2021, de CEDRSSA Sitio web: <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/56Producción%20y%20comercio%20de%20biocombustibles.pdf>
- Almudena, M. (1999). *Desarrollo de Modelos Cinéticos para Bioprocesos: Aplicación a la Producción de Xantano*. Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Químicas.
- Pavone, D. (2020). El efecto Crabtree: Una ruta metabólica poco eficiente que tiene usos industriales. 01/03/2021, de TECNO VITA Sitio web: <https://tecnovitaca.com/efecto-crabtree/>
- Michel, R. (2017). *Optimización de las condiciones de fermentación para producir una bebida de agave empleando tecnología de superficie de respuesta*. Unidad profesional interdisciplinaria de ingeniería campus zacatecas.

- Rodriguez, N. (2006). *Estudio comparativo de las propiedades reológicas que presenta la levadura cervecera empleada en tanques cilindro – cónicos versus tanques convencionales en Bavaria S.A.* [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1121&context=ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1121&context=ing_alimentos)
- Albariño. (2015). Fermentación alcohólica. 01/03/2021, de Albariño Sitio web: <https://pacolola.com/vendimia-2015-6-fermentacion-alcoholica/>
- Acosta, Y, Rojas, A, Lavín, M. Diseño de un biorreactor para la producción de inóculo de *Salmonella enteritidis*. Revista Cubana de Química, vol. 31, núm. 1, pp. 120-136, 2019
- Formic company. (2016). Planta de producción de ácido fórmico. 01/03/2021, de Formic company Sitio web: [https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/168367/TFG\\_FormicCompany\\_v11.pdf](https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2016/168367/TFG_FormicCompany_v11.pdf)
- Balcon, F. (2009). *Aprovechamiento de efluentes agroindustriales ricos en aguas almidonosas para la obtención de bioetanol mediante el uso de Zymomonas mobilis*. Universidad Autónoma Agraria
- Castañeda, M. (2019). *Estequiometría y cinética del crecimiento microbiano*. Universidad tecnológica nacional.
- Win, S. S., Impoolsup, A., & Noomhorm, A. (1996). *Growth kinetics of Saccharomyces cerevisiae in batch and fedbatch cultivation using sugarcane molasses and glucose syrup from cassava starch*. *Journal of Industrial Microbiology*, 16(2), 117–123. doi:10.1007/bf01570071
- Xia, J., Yang, Y., Liu, C.-G., Yang, S., & Bai, F.-W. (2019). *Engineering Zymomonas mobilis for Robust Cellulosic Ethanol Production*. *Trends in Biotechnology*. doi: 10.1016/j.tibtech.2019.02.002
- Jeffries TW, Grigoriev IV, Grimwood J, Laplaza JM, Aerts A, Salamov A, Schmutz J, Lindquist E, Dehal P, Shapiro H, Jin YS, Passoth V, Richardson PM Genome sequence of the lignocellulose-bioconverting and xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis*. *Nat Biotechnol*. 2007 Mar;25(3):319-26. doi: 10.1038/nbt1290
- Du Preez, J. C., van Driessel, B., & Prior, B. A. (1989). Ethanol tolerance of *Pichia stipitis* and *Candida shehatae* strains in fed-batch cultures at controlled low dissolved oxygen levels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 53–58. doi:10.1007/bf00255996
- Facultad de Ciencias Químicas Universidad veracruzana. (2020). Biorreactores y su aplicación. 01/03/2021, de Facultad de ciencias químicas Universidad Veracruzana Sitio web: <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion>
- Abarca, R, Navarrete, V, (2010). *Aislamiento y caracterización de la bacteria Zymomonas mobilis*. Universidad de Guayaquil.
- Salazar, G, (2010). Estudio de la influencia de tres variedades de levaduras vínicas (*saccharomyces bayanus* (lalvin ec1118), *saccharomyces bayanus* (lalvin qa23), *saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (lalvin icv opale)) y levadura de panificación (*saccharomyces cerevisiae*) en la calidad sensorial

del vino de manzana, variedad emilia (*malus communis* - reineta amarilla de blenheim). Universidad técnica de Ambato.

- Durango. L, (2007). *Evaluación y escalamiento de la producción de levaduras nativas tipo saccharomyces spp. a nivel de laboratorio*. Universidad EAFIT.
- CRIBA. (2008). *Introducción a los biorreactores*. 01/04/2021, de CRIBA Sitio web: <http://www.criba.edu.ar/cinetica/reactores/CAPITULO%208.pdf>
- Moreno. E, Venegas. D, (2017). *Diseño y construcción de un biorreactor esterilizable y de bajo costo para el estudio de crecimiento de microorganismos*. Universidad distrital Francisco José de Caldas.
- Rojas. C, (2017). *Microbiología general*. [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/crl/Microbiologia/16P/TEMA\\_7.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/crl/Microbiologia/16P/TEMA_7.pdf)
- IVAMI, (2015). *Zymomonas mobilis en bebidas (cerveza, sidra, y otras bebidas alcohólicas obtenidas por fermentación) – Cultivo y detección molecular por PCR*. <https://www.ivami.com/es/microbiologia-de-alimentos/648-zymomonas-mobilis-en-bebidas-cerveza-sidra-y-otras-bebidas-alcoholicas-obtenidas-por-fermentacion-cultivo-y-deteccion-molecular-por-pcr>
- Trejos. V, Alzate. J, Gómez. M, (2008). *Descripción matemática y análisis de estabilidad de procesos fermentativos*. Universidad nacional de Colombia.
- UPV, (2020). *Cinética enzimática*. Universidad del país vasco. <http://www.ehu.eus/biomoleculas/enzimas/enz3.htm>
- Aiba, S., Nagai, S., & Nishizawa, Y. (1976). Fed batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*: A perspective of computer control to enhance the productivity in baker's yeast cultivation. *Biotechnology and Bioengineering*, 18(7), 1001–1016. doi:10.1002/bit.260180712
- Olivares-Marin, I. K., González-Hernández, J. C., Regalado-Gonzalez, C., & Madrigal-Perez, L. A. (2018). *Saccharomyces cerevisiae Exponential Growth Kinetics in Batch Culture to Analyze Respiratory and Fermentative Metabolism*. *Journal of Visualized Experiments*, (139). doi:10.3791/58192
- Kirk, L. A., Doelle, H. W., & Webb, R. I. (1993). Immobilization of *Zymomonas mobilis* 2716, for the protection of cellular activity. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 9(3), 366–371. doi:10.1007/bf00383082
- Mendoza. P, (2021). *Levaduras Saccharomyces bayanus*. DERVINASA. <https://www.dervinsa.com.ar/vinolab-levaduras-saccharomyces-bayanus.php>
- González. A, Del Angel. J, Castillo. José, (2016). *Evaluación de levaduras nativas productoras de etanol presentes en el bagazo de caña de azúcar*. Universidad autónoma de Tamaulipas.
- Siliceo. M, (2014). *Análisis de la productividad industrial de bioetanol*. Facultad de ciencias químicas.
- Becerra. L, (2009). *La industria del etanol en México*. SCIELO. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-952X2009000100006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-952X2009000100006)
- National geographic, (2010). *Biocombustible*. National geographic. <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/biocombustibles>

- Barrientos. P, (2014). *Los biocombustibles y la producción de etanol*. National University of San Marcos. [https://www.researchgate.net/publication/267943748\\_Los\\_biocombustibles\\_y\\_la\\_produccion\\_de\\_etanol](https://www.researchgate.net/publication/267943748_Los_biocombustibles_y_la_produccion_de_etanol)
- Facultad de Química, (2016). *Hoja de seguridad XII etanol*. Universidad nacional autónoma de México. <https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2016/12/12etanol.pdf>
- INCAUCA, (2021). *Etanol anhidro combustible desnaturalizado*. INCAUCA. <https://www.incauca.com/es/producto/etanol-anhidro-combustible-desnaturalizado/>
- Cadena agroindustrial, (2004). *Etanol*. Cadena agroindustrial Nicaragua. <http://repiica.iica.int/docs/B0014e/B0014e.pdf>
- Federación nacional de biocombustibles, (2021). *Tipo de etanol*. FNB. <https://www.fedebiocombustibles.com/nota-web-id-314.htm>
- UNFCCC, (2021). *¿Qué es el Protocolo de Kyoto?* UNFCCC. [https://unfccc.int/es/kyoto\\_protocol](https://unfccc.int/es/kyoto_protocol)
- Cerpa. M, (2005). *Producción del etanol anhidro como aditivo para la gasolina a partir de la caña de azúcar de la región del río Huallaga*. Universidad de Valladolid. [http://www.ciiq.org/varios/peru\\_2005/Trabajos/IV/2/4.2.01.pdf](http://www.ciiq.org/varios/peru_2005/Trabajos/IV/2/4.2.01.pdf)
- U. S. Department of energy, (2010). *Vehículos de combustible flexible: brindando opciones en combustible renovable*. <https://www.nrel.gov/docs/fy10osti/48080.pdf>
- Medina. S, (2012). *El etanol en Estados Unidos y su efecto negativo en México*. BANCOMEXT. [http://revistas.bancomext.gob.mx/rce/magazines/143/2/El\\_etanol\\_en\\_EEUU.pdf](http://revistas.bancomext.gob.mx/rce/magazines/143/2/El_etanol_en_EEUU.pdf)
- Becerra. L, (2012). *La demanda de etanol en Estados Unidos, 1981–2009*. SCIELO. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-39252012000100007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-39252012000100007)
- TRAITRADIO, (2018). *Estudio de caso PETROBRAS Brasil*. [https://www.taitradio.com/data/assets/pdf\\_file/0018/94212/Tait\\_Case\\_Study\\_Petrobras\\_Spanish.pdf](https://www.taitradio.com/data/assets/pdf_file/0018/94212/Tait_Case_Study_Petrobras_Spanish.pdf)
- (2021).17/03/2021 de PETROBRAS Sitio web: <https://petrobras.com.br/en/>
- GlobalPetrolPrices. (2021). Brasil Precios del etanol, 05-jul-2021. 17/03/2021, de GlobalPetrolPrices Sitio web: [https://es.globalpetrolprices.com/Brazil/ethanol\\_prices/](https://es.globalpetrolprices.com/Brazil/ethanol_prices/)
- Agrodigital. (2019). Brasil aumentará la producción de etanol en un 40% en la próxima década. 2021, de Agrodigital Sitio web: <https://www.agrodigital.com/2019/04/01/brasil-aumentara-la-produccion-de-etanol-en-un-40-en-la-proxima-decada/>
- Barroso, J. (2013). *¿Qué es el octanaje?* 01/03/2021, de UAM Sitio web: [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/rmro/2906019/sem06/QUE\\_ES\\_OCTANAJE.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/rmro/2906019/sem06/QUE_ES_OCTANAJE.pdf)
- Martín, J. (2020). *Qué le pasa al coche si cambias de octanaje la gasolina, de 95 a 98*. 2021, de Motorpasion Sitio web:

<https://www.motorpasion.com/revision/que-pasa-cambiar-octanaje-gasolina-coche-95-98-octanos>

- Fueleconomy. (2021). Etanol. 2021, de United States Environmental Protection Agency Sitio web: <https://www.fueleconomy.gov/feg/ethanol.shtml#:~:text=El%20uso%20de%20combustible%20de,de%20galones%20en%20el%202019>
- González, L. (2019). Mtbe y etanol en las gasolinas. 2021, de El financiero Sitio web: <https://www.elfinanciero.com.mx/monterrey/luis-gonzalez-villarreal-mtbe-y-etanol-en-las-gasolinas/>
- Gentile, G. (2021). Las políticas de Biden amenazan las operaciones de Chevron en el golfo de México. 2021, de S&P Global Sitio web: <https://www.spglobal.com/platts/es/market-insights/latest-news/natural-gas/012921-chevrons-gulf-of-mexico-operation-may-be-most-at-risk-from-biden-oil-and-gas-policy-proposals>
- Maluenda, J. (2018). Récord mundial de bioetanol en 2018. 2021, de Agrodigital Sitio web: <https://www.com/wp-content/uploads/2018/07/bioetanol2018.pdf>
- Salinas, E. Gasca, V. (2009). Los biocombustibles. 2021, de Universidad Nacional Autónoma Metropolitana Sitio web: <https://www.redalyc.org/pdf/325/32512739009.pdf>
- Solís, A. (2019). *Pemex, en quiebra técnica: IMCO*. 2021, de Forbes Sitio web: <https://www.forbes.com.mx/pemex-se-encuentra-en-quiebra-tecnica-imco/>
- García, K. (2018). *Productora de etanol para gasolinas arrancará en el 2020*. 2021, de El economista Sitio web: <https://www.economista.com.mx/estados/Productora-de-etanol-para-gasolinas-arrancara-en-el-2020-20181017-0154.html>
- Maciel, C. (2009). *Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional*. 2021, de UNAM Sitio web: [http://www.economia.unam.mx/publicaciones/econinforma/pdfs/359/04carlo\\_salvarez.pdf](http://www.economia.unam.mx/publicaciones/econinforma/pdfs/359/04carlo_salvarez.pdf)
- Gonzalez, R. (2019). *Biocombustible: ¿Qué Es? Tipos Y Ejemplos de Biocombustibles*. 2021, de Ecologia hoy Sitio Web: [www.ecologiahoy.com/biocombustible#Biocombustible de Tercera Generacion](http://www.ecologiahoy.com/biocombustible#Biocombustible%20de%20Tercera%20Generacion)
- De Miguel, T. (2019). ¿Qué es la fermentación? 2021, de CEUPE Sitio web: <https://www.ceupe.com/blog/que-es-la-fermentacion.html>
- Puerta, G. (2017). ¿Qué es el Mosto? 2021, de Cerveceros de México Sitio web: <https://cervecerosdemexico.com/2017/11/13/mosto-cerveza-proceso/>
- Juárez, R. (2017). Fermentación alcohólica - cinética de las levaduras. 2021, de Gobierno de Argentina Sitio web: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/cinetica\\_de\\_la\\_fermentacion\\_alcoholica.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/cinetica_de_la_fermentacion_alcoholica.pdf)
- Carretero, F. (2019). Proceso de fabricación de bebidas alcohólicas. 2021, de PFC Sitio web:

[https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4867/03\\_Memoria.pdf?sequence=4](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4867/03_Memoria.pdf?sequence=4)

- Pedromo, T. (2019). ¿Qué es la plasmogamia? 2021, de LIFEDER Sitio web: <https://www.lifeder.com/plasmogamia/>
- Facultad de Química. (2019). Microorganismos. 2021, de UNAM Sitio web: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Moo\\_13137.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Moo_13137.pdf)
- Bueno, S. Palavecino, C. Tobar, H. Nieto, P. (2017). Microorganismos y enfermedades. 2021, de Pontificia Universidad Católica de Chile Sitio web: [http://www.imii.cl/wp-content/uploads/2015/10/Libro\\_IMII\\_Microbiologia.pdf](http://www.imii.cl/wp-content/uploads/2015/10/Libro_IMII_Microbiologia.pdf)
- 

### *Saccharomyces cerevisiae*

- Mathew, A., Wang, J., Luo, J. *et al.* Enhanced ethanol production via electrostatically accelerated fermentation of glucose using *Saccharomyces cerevisiae*. *Sci Rep* **5**, 15713 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep15713>
- Barrantes, E. Campos, B. Durán, V. Laurent, V. Segura, A. (2019). Determinación del rendimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* bajo diferentes condiciones de crecimiento. 2021, de RPubS Sitio web: <https://www.rpubs.com/Erikabm/548952#:~:text=cerevisiae%2C%20esta%20debe%20de%20encontrarse,restar%20la%20cantidad%20de%20alcohol>
- De la concha, G. Hernández, E. Perea, M. (2020). EFECTO DEL SUSTRATO EN LA LIBERACIÓN DE CO<sub>2</sub> POR: *Saccharomyces cerevisiae*. 2021, de UNAM Sitio web: [https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria21/feria283\\_01\\_efecto\\_del\\_sustrato\\_en\\_la\\_liberacion\\_de\\_co2\\_por\\_s.pdf](https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria21/feria283_01_efecto_del_sustrato_en_la_liberacion_de_co2_por_s.pdf)
- Torija, M. Rozes, N. Poblet, M. Guillamon, J. (2013). Efecto de la temperatura de fermentación sobre la población de *Saccharomyces cerevisiae*. 2021, de INFOWINE Sitio web: [https://www.infowine.com/es/articulos\\_tecnicos/efecto\\_de\\_la\\_temperatura\\_de\\_fermentacin\\_sobre\\_la\\_poblacin\\_de\\_saccharomyces\\_cerevisiae\\_sc\\_188.htm](https://www.infowine.com/es/articulos_tecnicos/efecto_de_la_temperatura_de_fermentacin_sobre_la_poblacin_de_saccharomyces_cerevisiae_sc_188.htm)
- Lu, Y., Voon, M. K. W., Huang, D., Lee, P.-R., & Liu, S.-Q. (2016). Combined effects of fermentation temperature and pH on kinetic changes of chemical constituents of durian wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 3005–3014. doi:10.1007/s00253-016-8043-1 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-016-8043-1>
- Arroyo-López, F. N., Orlić, S., Querol, A., & Barrio, E. (2009). Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. *International Journal of Food Microbiology*, 131(2-3), 120–127. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.035 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160509000518>

- Heard, G. M., & Fleet, G. H. (1988). *The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65(1), 23–28. doi:10.1111/j.1365-2672.1988.tb04312.x <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2672.1988.tb04312.x>
- Morales, P. Quirós, M. Virginia, M. Rodrigues, A. Raimbourg, T. Tronchoni, J. Antonio, J. (2016). *Levaduras no Saccharomyces como herramientas para controlar el grado alcohólico de los vinos: importancia del oxígeno y la respiración*. 2021, de ACE Sitio web: [http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/no\\_saccharomyces\\_y\\_oxige\\_no\\_cienc0515.htm](http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/no_saccharomyces_y_oxige_no_cienc0515.htm)
- Suárez, C. Norge, A. Amarilys, C. (2016). *Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol*. 2021, de ICIDCA Sitio web: <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- Zumárraga, M. Barbero, F. (2019). *Saccharomyces cerevisiae - contribución organoléptica en la vinificación*. 2021, de GUSERBIOT Sitio web: [http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot\\_art\\_Ondare.pdf](http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot_art_Ondare.pdf)
- Castillo, A. (2013). *Determinación de parámetros de co-cultivo de Scheffersomyces stiptis y Saccharomyces cerevisiae para la fermentación de residuos lignocelulósicos para la obtención de bioetanol*. 2021, de Universidad Iberoamericana Sitio web: <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/015791/015791.pdf>

#### *Saccharomyces carlsbergensis*

- Fernández, L. (2013). *Determinación del tiempo de crecimiento exponencial de la levadura saccharomyces carlsbergensis, en tanques verticales cilindros cónicos, en la fase de fermentación del proceso de elaboración de cerveza pilsener, cervecería nacional s. a. planta quito*. 2021, de Universidad Tecnológica Equinoccial Sitio web: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5047/1/54354\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5047/1/54354_1.pdf)
- Lopes da Silva, T., Santo, R., Reis, A., & Passarinho, P. C. (2016). *Effect of Furfural on Saccharomyces carlsbergensis Growth, Physiology and Ethanol Production*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182(2), 708–720. doi:10.1007/s12010-016-2356-5 <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-016-2356-5>

#### *Saccharomyces boulardii* L.

- Pereira, B. Hidalgo, D. Fernández, W. Fioravante, A. Dutra, M. Signori, K. Zarur, M. (2019). *Growth Parameters and Survivability of Saccharomyces boulardii for Probiotic Alcoholic Beverages Development*. 2021, de Frontiers Sitio web: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02092/full>

- Pereira, B. Hidalgo, D. Fernández, W. Fioravante, A. Dutra, M. Signori, K. Zarur, M. (2019). *Growth Parameters and Survivability of Saccharomyces boulardii for Probiotic Alcoholic Beverages Development*. 2021, de Frontiers Sitio web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6747048/#B25>
- Garca, I. (2016). *Use of Saccharomyces boulardii in Alcohol-Free Beer Production*. 2021, de Técnico Lisboa Sitio web: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi7i\\_XotKryAhVG-6wKHYXqDTEQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Ffenix.tecnico.ulisboa.pt%2FdownloadFile%2F1689244997256144%2FThesis%2520Final.pdf&sq=AOvVaw1eLdGxkrQ0jePcsumu\\_KKi](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi7i_XotKryAhVG-6wKHYXqDTEQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Ffenix.tecnico.ulisboa.pt%2FdownloadFile%2F1689244997256144%2FThesis%2520Final.pdf&sq=AOvVaw1eLdGxkrQ0jePcsumu_KKi)
- Ortiz, A. Reuto, J. Fajardo, E. Sarmiento, S. Aguirre, A. Arbelaez, G. Gómez, D. Quevedo, D. (2008). Evaluación de la capacidad probiótica "in vitro" de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. 2021, de Scielo Sitio web: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-74832008000200005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832008000200005)
- Espinoza, V. (2015). *Trabajo de titulación previo a la obtención del título de bioquímico farmacéutico*. 2021, de universidad técnica de machala Sitio web: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/3185/2/CD0000-28-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>
- Ping, L. Xue, R. Guang, D. Li, L. (2021). *Research on the Characteristics and Culture Conditions of Saccharomyces boulardii*. 2021, de ReserachGate Sitio web: [https://www.researchgate.net/publication/283372232\\_Research\\_on\\_the\\_Charaacteristics\\_and\\_Culture\\_Conditions\\_of\\_Saccharomyces\\_boulardii\\_sup](https://www.researchgate.net/publication/283372232_Research_on_the_Charaacteristics_and_Culture_Conditions_of_Saccharomyces_boulardii_sup)

### *Zimomonas mobilis*

- Esperanza, E. Favela, E. Saucedo, G. Gutierrez, G. (2019). *Consumo de glucosa por zymomonas mobilis en fermentación en medio sólido*. 2021, de Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa Sitio web: <https://smbb.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/IX/carteles/CIX-03.pdf>
- Caicedo, L. (2019). *Estudio comparativo de la generacion de c02 en fermentaciones con celulas libres e inmovilizadas de Zymomonas mobilis*. 2021, de Universidad Nacional de Colombia Sitio web: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4902485>
- Palamae, S., Choorit, W., Chatsungnoen, T., & Chisti, Y. (2020). *Simultaneous nitrogen fixation and ethanol production by Zymomonas mobilis*. *Journal of Biotechnology*. doi:10.1016/j.jbiotec.2020.03.016 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165620300791>
- IVAMI. (2015). *Zymomonas mobilis en bebidas (cerveza, sidra, y otras bebidas alcohólicas obtenidas por fermentación) – Cultivo y detección molecular por PCR*. (2020). <https://www.ivami.com/es/microbiologia-de->

[alimentos/648-zymomonas-mobilis-en-bebidas-cerveza-sidra-y-otras-bebidas-alcoholicas-obtenidas-por-fermentacion-cultivo-y-deteccion-molecular-por-pcr#:~:text=Zymomonas%20mobilis%20es%20un%20bacilo,los%20que%20existe%20una%20elevada](#)

- Palamae, S., Choorit, W., Chatsungnoen, T., & Chisti, Y. (2020). Simultaneous nitrogen fixation and ethanol production by *Zymomonas mobilis*. *Journal of Biotechnology*. doi:10.1016/j.jbiotec.2020.03.016

#### *Torula* sp (candida utilis)

- Rodríguez, B. Valdivié, M. Lezcano, P. Herrera, M. (2013). *Evaluación de la levadura torula (Candida utilis) obtenida a partir de vinaza de destilería en dietas para pollos de engorde*. (2020). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193028751013.pdf>
- Garzón, S. Hernández C. (2009). *ESTUDIO COMPARATIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL ENTRE Saccharomyces cerevisiae silvestre, Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763 Y Candida utilis ATCC 9950*. Escuela de Tecnología Química. (2020). <https://core.ac.uk/download/pdf/71396015.pdf>
- Armstrong, D. W., Martin, S. M., & Yamazaki, H. (1984). Production of ethyl acetate from dilute ethanol solutions by *Candida utilis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(9), 1038–1041. doi:10.1002/bit.260260905

#### *Scheffersomyces stipitis*

- Castillo, A. (2013). *Determinación de parámetros de co-cultivo de Scheffersomyces stiptis y Saccharomyces cerevisiae para la fermentación de residuos lignocelulósicos para la obtención de bioetanol*. Universidad Iberoamericana. (2020). <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/015791/015791.pdf>
- Papini, M., Nookaew, I., Uhlén, M. et al. *Scheffersomyces stipitis*: a comparative systems biology study with the Crabtree positive yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact* 11, 136 (2012). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-136>
- MycoCosm. (2007). *P. stipitis*. JGI. (2020) <https://mycocosm.jgi.doe.gov/Picst3/Picst3.home.html>
- Herrera, C. Arias, M. (2013). *Producción de bioetanol por fermentación de hidrolizados hemicelulósicos de residuos de palma africana usando una cepa de Scheffersomyces stipitis adaptada*. (2020). Universidad Nacional de Colombia. <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v81n185/v81n185a28.pdf>
- Domínguez, J. Cao, N. Gong, C. Tsao, G. (2000). Ethanol production from xylose with the yeast *Pichia stipitis* and simultaneous product recovery by gas stripping using a gas-lift loop fermentor with attached side-arm (GLSA). (2020). National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10620264/>
- García, I. Romay, C. García, A. Alonso, A. Pascual, C. (2000). *Actividades enzimáticas del metabolismo glicosídico en distintas especies de levaduras*.

- (2020). Centro Nacional de Investigaciones Científicas. <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20ApI/1986/3/1/39-46.pdf>
- Tamakawa, H. Ikushima S. Satoshi, H. (2011). *Ethanol Production from Xylose by a Recombinant Candida utilis Strain Expressing Protein-Engineered Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase*. (2020). Biosci. Biotechnol. Biochem. <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1271/bbb.110426>
  - Jeffries, W. Grigoriev, I. Grimwood, J. Laplaza, J. Aerts, A. Salamov, A. Schmutz, J. Lindquist, E. Dehal, P. Shapiro, H. Jin, Y. Passoth, V. Richardson, P. (2007). *Genome sequence of the lignocellulose-bioconverting and xylose-fermenting yeast Pichia stipitis*. (2020). Nature biotechnology. <https://www.nature.com/articles/nbt1290>

### *Kluyveromyces lactis*

- Vargas, X. (2017). *Evaluación de la producción de etanol a partir de lacto suero a nivel de biorreactor (biofio 110) utilizando Kluyveromyces marxianus y Kluyveromyces lactis como agentes fermentativos*. (2020). Universidad de La Salle Bogotá. [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1065&context=ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1065&context=ing_alimentos)
- Xu, Q., Himmel, M. E., & Singh, A. (2015). Production of Ethanol from Engineered Trichoderma reesei. Direct Microbial Conversion of Biomass to Advanced Biofuels, 197–208. doi:10.1016/b978-0-444-59592-8.00011-7
- Hernández, D. Ferrera, R. Alarcón, A. (2019). *Trichoderma: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL*. (2020). Scielo. [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0719-38902019000100098](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902019000100098)
- Saranraj, P. (2014). *Production of ethanol by Zimomonas mobilis and Saccharomyces cerevisiae using sunflower head wastes – a comparative study*. (2020). ResearchGate. [https://www.researchgate.net/publication/269575036\\_Production\\_of\\_Ethanol\\_by\\_Zymomonas\\_mobilis\\_and\\_Saccharomyces\\_cerevisiae\\_Using\\_Sunflower\\_Head\\_Wastes\\_-\\_A\\_Comparative\\_Study](https://www.researchgate.net/publication/269575036_Production_of_Ethanol_by_Zymomonas_mobilis_and_Saccharomyces_cerevisiae_Using_Sunflower_Head_Wastes_-_A_Comparative_Study)
- Lopes, T. Santo, T. Reis, A. Passarinho, P. (2017). *Effect of furfural on Saccharomyces carlsbergensis growth physiology and ethanol production*. (2020). ResearchGate. [https://www.researchgate.net/publication/311713033\\_Effect\\_of\\_Furfural\\_on\\_Saccharomyces\\_carlsbergensis\\_Growth\\_Physiology\\_and\\_Ethanol\\_Production](https://www.researchgate.net/publication/311713033_Effect_of_Furfural_on_Saccharomyces_carlsbergensis_Growth_Physiology_and_Ethanol_Production)
- Serrat, M. Vallejo, J. Ageitos, J. Llauradó, G. Urdaneta, I. Villa, T. (2017). *Influencia de las condiciones de cultivo sobre el crecimiento y contenido de pared celular en una cepa floculante de Kluyveromyces marxianus*. (2020). Scielo. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212017000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212017000100007)

### *Trichoderma reesei*

- Xu, Q., Himmel, M. E., & Singh, A. (2015). Production of Ethanol from Engineered *Trichoderma reesei*. *Direct Microbial Conversion of Biomass to Advanced Biofuels*, 197–208. doi:10.1016/b978-0-444-59592-8.00011-7
- Xu, Q. Himmel, M. Singh, A. (2015). *Chapter 11 – production of Ethanol from Engineered Trichoderma reesei.* (2020). ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444595928000117>
- Hernández, D. Ferrera, R. Alarcon, A. (2019). *Trichoderma: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL.* (2020). Scielo. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v35n1/0719-3890-chjaasc-00205.pdf>

### *S. pombe*

- Fundora, N. García, R. Álvarez, I. Hernández, M. Torres, E. (2005). *Identificación y caracterización fermentativa de cepas de levaduras aisladas en la destilería “A. Guiteras”.* (2020). Instituto cubano de investigaciones de los derivados de la caña de azúcar. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120661009.pdf>
- Portugal, F. Silva, S. Taillandier, P. Strehaiano, P. (2018). *Inmovilización de levaduras, usos enológicos actuales.* (2020). Infowine, <https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto922-01-1.pdf>
- Chan, E.-C., Ueng, P. P., & Chen, L. (1986). *D-Xylose fermentation to ethanol by Schizosaccharomyces pombe cloned with xylose isomerase gene.* *Biotechnology Letters*, 8(4), 231–234. doi:10.1007/bf01030503

### *Neurospora crassa*

- <https://www.longdom.org/open-access/alcohol-consumption-and-tolerance-of-neurospora-crassa-2167-7972-1000136.pdf>
- [http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/4%20crecimiento\\_0.pdf](http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/4%20crecimiento_0.pdf)
- <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/630/1/236261.pdf>
- <https://sci-hub.se/https://link.springer.com/article/10.1007/BF01030503>
- <http://todos.cicese.mx/sitio/noticia.php?n=346#.YLvtquFR1PY>
- [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n2152\\_Grotewold.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n2152_Grotewold.pdf)

### *Saccharomyces marxianus*

- Signori, L. Passolunghi, S. Ruohonen, L. Porro, D. Branduardi, P. (2014). *Effect of oxygenation and temperature on glucosa-xylose fermentation in Kluyveromyces marxianus CBS712 strain.* (2020). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991920/>

### *Saccharomyces bayanus*

- Serra, A. Strehaianno, P. Taillandier, P. (2004). *Influence of temperature and pH on Saccharomyces bayanus var. uvarum growth; impact of a wine yeast interspecific hybridization on these parameters.* (2020). CORE. <https://core.ac.uk/download/pdf/12040042.pdf>
- Amin, G., & Verachtert, H. (1982). Comparative study of ethanol production by immobilized-cell systems using Zymomonas mobilis or Saccharomyces bayanus. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 14(2), 59–63. doi:10.1007/bf00498003
- Amin, G. Verachtert, H. (1982). *Comparative study of ethanol production by immobilized-cell systems using Zymomonas mobilis or Saccharomyces bayanus.* (2020). SpringerLink. <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00498003>
- OENOFRANCE. (2020). *SELECTYS BAYANUS.* (2020). [https://www.oenofrance.com/DOCS/FT\\_OF\\_SELECTYSLABAYANUS\\_ES.pdf](https://www.oenofrance.com/DOCS/FT_OF_SELECTYSLABAYANUS_ES.pdf)
- Comelli, R. N., Seluy, L. G., & Isla, M. A. (2016). Performance of several Saccharomyces strains for the alcoholic fermentation of sugar-sweetened high-strength wastewaters: Comparative analysis and kinetic modelling. *New Biotechnology*, 33(6), 874–882. doi:10.1016/j.nbt.2016.09.007

### *Kloeckera*

- Gao, C., & Fleet, G. H. (1988). The effects of temperature and pH on the ethanol tolerance of the wine yeasts, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida stellata* and *Kloeckera apiculata*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65(5), 405–409. doi:10.1111/j.1365-2672.1988.tb01909.x
- [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2012000200007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2012000200007)
- Díaz-Montaña, D. M., Favela-Torres, E., & Córdova, J. (2010). Improvement of growth, fermentative efficiency and ethanol tolerance of *Kloeckera africana* during the fermentation of *Agave tequilana* juice by addition of yeast extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), 321–328. doi:10.1002/jsfa.3820
- Valle, J. Córdova, J. Díaz, M. (2016). Determinación de las velocidades específicas de consumo de O<sub>2</sub> de producción de CO<sub>2</sub> y el cociente respiratorio de *Kloeckera africana* en cultivo continuo microaerado. (2020). Congreso Nacional de Biotecnología y bioingeniería.

[https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA\\_V/CV-76.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_V/CV-76.pdf)

### *Hanseniospora*

- Hernández, J. Silva, J. Cantú, M. (2020). *Producción de insulinasas y bioetanol por Hanseniaspora uvarium*. (2020).
- Silva, M. (2020). *Obtención de enzimas microbianas y su aplicación en la producción de etanol a partir de hojas de Agave salmiana*. (2020). Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/19204/1/1080314422.pdf>
- Martín, V. (2016). *Hanseniaspora vinalis: caracterización y su uso en la vinificación*. (2020). Universidad de la república de Uruguay. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/24325/1/uy24-18384.pdf>

### *Metschnikowia*

- Vicente, J. Ruiz, J. Belda, I. Vázquez, I. Marquina, D. Calderón, F. Santos, A. Benito, S. (2020). *The Genus Metschnikowia in Enology*. (2020). MDPI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7409183/>
- Tucker, C. Fukami, T. (2014). *Environmental variability counteracts priority effects to facilitate species coexistence: Evidence from nectar microbes*. (2020). ResearchGate. [https://www.researchgate.net/figure/Characterization-of-the-common-species-Metschnikowia-reukaufii-and-Gluconobacter-sp-a\\_fig2\\_259766702](https://www.researchgate.net/figure/Characterization-of-the-common-species-Metschnikowia-reukaufii-and-Gluconobacter-sp-a_fig2_259766702)
- Pawlikowska, E. James, S. Breierova, E. Antolak, H. Kregiel, D. (2019). *Biocontrol capability of local Metschnikowia sp. Isolates*. (2020). <https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-019-01272-w>
- Canché, C. (2012). *Respuesta de levaduras provenientes de néctar floral y miel de Melipona Beecheii ante un gradiente de concentración de glucosa*. (2020). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. [https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/968/1/PCB\\_M\\_Tesis\\_2012\\_Cesar\\_Canche\\_Colli.pdf](https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/968/1/PCB_M_Tesis_2012_Cesar_Canche_Colli.pdf)

### *Pichia kudriavzevii*

- Yuan, S. Guo, G. Hwang, W. (2017). *Ethanol production from dilute-acid steam exploded lignocellulosic feedstocks using an isolated multistress-tolerant Pichia kudriavzevii strain*. (2020). ResearchGate. [https://www.researchgate.net/publication/316701898\\_Ethanol\\_production\\_from\\_dilute-acid\\_steam\\_exploded\\_lignocellulosic\\_feedstocks\\_using\\_an\\_isolated\\_multistress-tolerant\\_Pichia\\_kudriavzevii\\_strain](https://www.researchgate.net/publication/316701898_Ethanol_production_from_dilute-acid_steam_exploded_lignocellulosic_feedstocks_using_an_isolated_multistress-tolerant_Pichia_kudriavzevii_strain)

- PACBIO. (2018). PacBio Sequencing Reveals Food Processing & Pathogenic Strains of Yeast are the Same Species. (2020). PACBIO. <https://www.pacb.com/blog/yeast-strains-are-the-same-species/>

### *Zygosaccharomyces mellis*

- Carrizo, A. Carrizo, C. Benítez, M. Carrillo, A. (2020). Levaduras aisladas de mieles como antagonistas de mohos patógenos de cultivos. (2020). Revista de la Facultad de Agronomía.
- Liu, G., Tao, C., Zhu, B., Bai, W., Zhang, L., Wang, Z., & Liang, X. (2016). Identification of *Zygosaccharomyces mellis* strains in stored honey and their stress tolerance. *Food Science and Biotechnology*, 25(6), 1645–1650. doi:10.1007/s10068-016-0253-x
- Zumárraga, M. Barbero, F. (2009). *Zygosaccharomyces Una levadura discreta, pero peligrosa en bodega.* (2020). [http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot\\_Enologia\\_Zygosaccharomyces.pdf](http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot_Enologia_Zygosaccharomyces.pdf)

### *Saccharomyces ellipsoideus*

- Hernández, T. (2017). *Tendencias actuales en la producción de bioetanol.* (2020). Universidad Rafael Landívar. [http://fgsalazar.net/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin08/URL\\_08\\_ING01.pdf](http://fgsalazar.net/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin08/URL_08_ING01.pdf)
- Universidad Autónoma Metropolitana. (2011). *Microbiología del vino.* (2020). UAM. ([http://sqpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/jrvc/enologia/clase\\_7microbiologia\\_del\\_vino\\_2011-O.pdf](http://sqpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/jrvc/enologia/clase_7microbiologia_del_vino_2011-O.pdf))

### Imágenes Tabla 12

- *Saccharomyces cerevisiae*
- <https://es.dreamstime.com/levadura-de-saccharomyces-cerevisiae-image126324946>
- *Saccharomyces carlsbergensis*
- <https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B9780444521491000616-f061-09-9780444521491.jpg>
- *Saccharomyces boulardii* L.
- <https://www.saccharomycesboulardii.com/#1>
- *Zymomonas mobilis*
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165620300791>
- <https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165620300791>
- *Candida Utilis*
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211753914000499>
- *Pichia stipitis*

- <https://www.nature.com/articles/nbt1290>
- Kluyveromyces lactis
- <https://cervezal.blogspot.com/2018/07/kluyveromyces-lactis.html>
- Kluyveromyces marxianus
- <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/kluyveromyces-marxianus>
- Trichoderma reesei
- [https://www.researchgate.net/figure/Trichoderma-reesei-Olympus-BX41-100x\\_fig2\\_331954260](https://www.researchgate.net/figure/Trichoderma-reesei-Olympus-BX41-100x_fig2_331954260)
- Schizosaccharomyces pombe
- [https://www.researchgate.net/figure/Microscopic-observation-of-Schizosaccharomyces-pombe-binary-fission-Source-the-authors\\_fig2\\_332529581](https://www.researchgate.net/figure/Microscopic-observation-of-Schizosaccharomyces-pombe-binary-fission-Source-the-authors_fig2_332529581)
- Neurospora crassa
- <https://www.flickr.com/photos/xeranthemum/5250197126>
- Saccharomyces bayanus
- [https://cervezal.blogspot.com/2019/03/saccharomyces-bayanus\\_23.html](https://cervezal.blogspot.com/2019/03/saccharomyces-bayanus_23.html)
- Kloeckera
- <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/kloeckera>
- Hanseniaspora
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978044452149100032X>
- Metschnikowia
- [https://www.researchgate.net/figure/Phase-contrast-micrographs-of-Metschnikowia-proteae-a-Vegetative-cells-on-YM-agar\\_fig2\\_221693774](https://www.researchgate.net/figure/Phase-contrast-micrographs-of-Metschnikowia-proteae-a-Vegetative-cells-on-YM-agar_fig2_221693774)
- Zygosaccharomyces mellis
- [http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot\\_Enologia\\_Zygosaccharomyces.pdf](http://www.guserbiot.com/pdf/Guserbiot_Enologia_Zygosaccharomyces.pdf)
- Saccharomyces ellipsoideus
- <https://www.sciencephoto.com/keyword/saccharomyces-ellipsoideus>
- Pichia kudriavzevii
- <https://www.pacb.com/blog/yeast-strains-are-the-same-species/>