

An Alcoholic Fermentation Model with Ethanol-Induced Biomass Inhibition

Fernando López-Caamal* Héctor Hernández-Escoto*
Ixbalank Torres**

* *Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, GTO 36050, Mexico*

** *Departamento de Ingeniería Electrónica, Universidad de Guanajuato, Salamanca, GTO 36885, Mexico*

Abstract: In this paper we present an alcoholic fermentation model from a single substrate to a product, via a microorganism in a continuous reactor subject to an influx containing substrate, biomass, and product. We take into account the reproduction of the microorganism while consuming substrate; as a product of its metabolism we consider ethanol production. Furthermore, we include in the model the microorganism's death or its definitive inactivation. Our framework assumes constant environmental conditions, such as temperature, pH, and concentrations of the mineral medium. To finalise, we avail of nonlinear optimisation tools to fit the parameters of our model, such that its time-solution resembles the one available in the literature.

Keywords: Fermentation, mechanistic modelling, parameter fitting, ethanol, biomass.

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas, la atención en el proceso de fermentación de azúcares para producción de alcoholes se ha incrementado en la comunidad científica enfocada en procesos de producción de gran escala debido a la búsqueda de nuevas fuentes de combustibles para energizar automóviles. El primer país en el uso masivo de bioetanol para automóviles fue Brasil, teniendo como materia prima la caña de azúcar (Prado-Rubio et al., 2016). Posteriormente otros países exploraron la producción de bioetanol con otras fuentes de azúcares como el maíz y otros granos, que al igual que la caña de azúcar, también son de consumo alimenticio principalmente (Prado-Rubio et al., 2016). Esta industria llamada de primera generación pronto ha tratado de ser remplazada por otras en las que se usen como fuentes de azúcares, biomasa que no sean de consumo humano, tales como residuos agroindustriales y microalgas. Todos los pasos de procesamiento en esta industria de biorefinación (Prado-Rubio et al., 2016), apellidada de segunda y tercera generación, son objetos de estudio en todos los países del mundo. Este trabajo se enfoca en el proceso de fermentación de azúcares reductores para producción de bioetanol, el cual típicamente se lleva a cabo en un bioreactor de tanque agitado. Como todo proceso, tiene diversos factores cuyo efecto es importante estudiar para llevar a cabo tareas efectivas de diseño y operación (es decir, control). En la literatura abierta se puede ver que el trabajo de investigación es innumerable, siendo la mayor parte tra-

bajo experimental cuyos resultados se exponen de una forma cualitativa con ciertos aspectos cuantitativos, como el de exponer rendimientos de bioetanol que se obtiene de azúcares proveniente de cierta materia prima a la que se le realizó cierto preprocesamiento; sin embargo, información que encierre el cómo evoluciona el proceso es proporcionada escasamente, y más aún, en forma de modelos matemáticos es escasa. Ejemplo de este tipo de información es el trabajo de Lin et al. (2016), en el que se muestra gráficamente el desempeño de un sistema de fermentación para producción de bioetanol de segunda generación. En este campo de la biorefinación de segunda generación, mayormente se han conceptualizado modelos matemáticos que describen la evolución de un proceso de fermentación alcohólica, por ejemplo (Li et al., 2012) y (Pachauri et al., 2017). Muchos de ellos con similares estructuras de funciones cinéticas, como la de tipo Monod o Haldane (Bastin and Dochain, 1990). Esto es porque los procesos de fermentación a los que se refieren todos son diferentes: diferente origen de levadura, diferente fuente de azúcares reductores, y diferentes condiciones de operación. Todos ellos se refieren a fermentaciones de baja concentración de azúcares y etanol. Esto es porque los hidrolizados de una biorefinería de segunda generación contienen concentraciones de azúcares que no rebasan los 100 g/L, y por consecuencia la concentración de bioetanol es menor a 50 g/L.

Esta baja concentración de etanol es uno de los aspectos que obstaculizan la factibilidad económica de una biorefinería de segunda generación, a diferencia de una

de primera generación en la cual el caldo de azúcares alimentado al reactor tiene una alta concentración de glucosa (puede llegar hasta 200 g/L) de tal forma que la concentración de etanol es tan alta (más de 80 g/L) que hasta puede inhibir la fermentación. Ejemplo de este tipo de sistemas industriales es el estudiado en (Andrietta, 1994), en el que se fermenta el azúcar proveniente de caña de azúcar en un tren de bioreactores industriales. En este mismo estudio se presenta un modelo matemático con una función cinética de tipo Monod, ponderada con términos de inhibición por alta concentración de levadura y de etanol. Estos términos de inhibición están dados en términos de la diferencia entre la que se supone como la concentración límite de la variable y la variable actual, elevada a una potencia. Con base en lo anterior, se puede visualizar que una dirección de la biorefinación de segunda o tercera generación está en la fermentación de caldos con un alto contenido de azúcares reductores; sin embargo, no existe una extensa literatura de modelos matemáticos de fermentación de este tipo de sistemas, que habiliten tareas sistemáticas de diseño y control.

Hacia el desarrollo de fermentaciones de alta concentración de azúcares en biorefinerías de segunda o tercera generación, este trabajo explora la construcción de un modelo matemático con una expresión de una tasa de reacción de Levenspiel (Levenspiel, 1980) para modelar la inhibición de la biomasa debido a altas concentraciones del etanol. Esta tasa de reacción mantiene valores bajos si la concentración de etanol se mantiene por debajo de cierto umbral, que al ser rebasado manifiesta la inhibición de la biomasa. Por otra parte, consideramos una tasa de reacción de Haldane (Andrews, 1968) que modela la inhibición del crecimiento de la biomasa ante altas concentraciones del substrato; sin embargo, a bajas concentraciones del mismo esta tasa de reacción presenta un comportamiento similar al esperado por una tasa de reacción de Monod. El propósito es obtener un modelo matemático para fermentación en biorefinerías de segunda generación en el que la la concentración de azúcar reductor tiene un amplio rango. Además, realizamos un ajuste de los parámetros del modelo desarrollado en este artículo, con la finalidad de que reproduzca los datos provenientes de el modelo en (Andrietta, 1994). El modelo matemático que aquí desarrollamos consta de 7 parámetros cinéticos y 2 coeficientes estequiométricos que pueden ser ajustados dependiendo de las condiciones del medio y del tipo de microorganismo y substrato considerado.

2. MODELADO MECANÍSTICO DE FERMENTACIÓN

En esta sección presentamos el modelo que considera el crecimiento de la biomasa en presencia de un azúcar. Para modular la concentración de la biomasa, consideramos que i) la tasa de crecimiento de la biomasa se inhibe en presencia de altas concentraciones del substrato; ii) alta concentración del alcohol desactiva o induce la muerte de la biomasa; y iii) por último, la muerte natural del

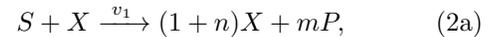
microorganismo. En lo sucesivo, denotaremos con S al azúcar; con X la biomasa; y con P el alcohol producto de la fermentación, además, definimos

$$\mathbf{c} := \begin{pmatrix} [S] \\ [X] \\ [P] \end{pmatrix}, \quad (1)$$

donde $[o]$ representa la concentración de su argumento.

Para generar el modelo, consideramos que la fermentación sucede a condiciones constantes de presión, temperatura y en un reactor completamente agitado y a volumen constante, con tasa de dilución D y concentraciones a la entrada \mathbf{c}_{in} . Consideramos que las tres especies pueden estar presentes en el flujo de entrada del reactor. Los mecanismos arriba descritos se representan a través de las siguientes reacciones.

i) Crecimiento de biomasa



donde $n = 1/30.303$ y $m = 7/30.303$. Para representar el crecimiento de la biomasa, así como la producción del alcohol utilizamos una tasa de reacción de Haldane (Andrews, 1968)

$$v_1 = k_{11} \frac{c_1 c_2}{c_1^2 + k_{12} c_1 + k_{13}}.$$

ii) Inhibición de la biomasa por producto



Consideramos que a altas concentraciones de alcohol son tóxicas, resultando en degradación de la biomasa. Para ello utilizamos una tasa de reacción de Levenspiel (Levenspiel, 1980)

$$v_2 = k_{21} \left(1 - \frac{c_3}{k_{22}}\right)^{k_{23}} c_2.$$

iii) Muerte natural de la biomasa



Para representar este fenómeno, utilizamos la ley de Acción de Masas,

$$v_3 = k_3 c_2.$$

De manera compacta el modelo matemático está dado por

$$\frac{d}{dt} \mathbf{c}(t) = \mathbf{N} \mathbf{v}(\mathbf{c}) + D(\mathbf{c}_{in} - \mathbf{c}), \quad (3a)$$

donde

$$\mathbf{N} = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 \\ n & -1 & -1 \\ m & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (3b)$$

y el vector $\mathbf{v}(\mathbf{c})$ está formado por las tasas de reacción v_i .

Este modelo matemático consta de 7 parámetros cinéticos desconocidos, cuya estimación será descrita en la siguiente sección.

3. ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS FUERA DE LÍNEA

En esta sección describimos la estimación de los parámetros cinéticos del modelo en (3). Para ello, consideramos disponible la medición discreta de las tres especies y denotamos dichos valores como $c_1^*[t_j]$, $c_2^*[t_j]$ y $c_3^*[t_j]$, en los instantes de tiempo t_j . De manera similar, $c_1[t_j]$, $c_2[t_j]$ y $c_3[t_j]$ representan la solución del modelo en tiempo continuo (3) en los instantes t_j . Para obtener dicha solución del modelo (3) utilizamos *ode45* de Matlab.

Para todas las simulaciones utilizamos las siguientes opciones

- *RelTol* 1×10^{-3}
- *AbsTol* 1×10^{-4} .

Ahora, para poder resolver dicho modelo es necesario proveer un conjunto de parámetros cinéticos, reunidos en el vector \mathbf{k} ; la evaluación de la calidad de la aproximación está dada por medio de la siguiente función objetivo

$$f(\mathbf{k}) = \varphi + \sum_{i=1}^3 w_i \left(\sum_{\forall j} (c_i^*[t_j] - c_i[t_j])^2 \right)^{1/2}, \quad (4)$$

donde $c_i[t_j]$ fueron obtenidos a través de los parámetros \mathbf{k} y w_i es un valor constante y diferente para cada especie; además, la constante φ es un valor que penaliza la existencia de valores negativos en el vector \mathbf{k} . Esto para descartar valores negativos de los parámetros cinéticos.

De esta forma la estimación de los parámetros fuera de línea resulta de la minimización de $f(\mathbf{k})$ en (4), sujeta al sistema dinámico en (3). Es decir, el objetivo de la estimación paramétrica es

$$\begin{aligned} & \min_{\mathbf{k}} f(\mathbf{k}) \\ & \text{sujeto a } \begin{cases} \frac{d}{dt} \mathbf{c}(t) &= \mathbf{N}\mathbf{v}(\mathbf{c}) + D(\mathbf{c}_{in} - \mathbf{c}) \\ \mathbf{y}[t_j] &= \mathbf{c}[t_j]. \end{cases} \end{aligned}$$

Para ello, utilizamos las herramientas *fminsearch* y *fmincon* implementadas en Matlab. Para poder utilizar dichas funciones, es necesario ofrecer un valor inicial del vector \mathbf{k} . Éste lo obtenemos a través de una búsqueda estocástica preeliminar, en donde los diferentes parámetros en \mathbf{k} son escogidos aleatoriamente, tras lo cual la función (4) es evaluada. Al realizar diversas selecciones de parámetros \mathbf{k} se escoge aquél que dé un menor valor de la función objetivo, para proporcionárselo como valor inicial a las funciones *fminsearch* (Lagarias et al., 1998) y *fmincon*. Para este último, utilizamos la opción “Active-Set Optimization” (Powell, 1978a,b).

Para la función *fminsearch* utilizamos las siguientes opciones

- *MaxIter* 1000
- *MaxFunEvals* 10000
- *TolX* 1×10^{-4}

- *TolFun* 1×10^{-4}

Para finalizar esta sección, función *fminsearch* fue utilizada con las siguientes opciones

- *MaxIter* 1000
- *MaxFunEvals* 10000
- *TolX* 1×10^{-6}
- *TolFun* 1×10^{-6} ,

además se utilizó una cota para los parámetros calculados por el mismo algoritmo; la cota inferior colocada en cero, asegurando así la positividad de los parámetros y la cota superior dos órdenes de magnitud mayor que la propuesta inicial para los valores \mathbf{k} .

4. RESULTADOS

En esta sección mostramos el ajuste de parámetros obtenidos basándonos en valores $c_i[t_k]$ provenientes de un modelo de la literatura (Andrietta, 1994). El resultado del ajuste de los parámetros se muestra en la Figura 1, donde la línea continua representa la solución del modelo en (3) y los círculos los valores deseados para el modelo. El tiempo de la simulación se extiende con respecto a los valores deseados para mostrar el equilibrio del modelo. Se utiliza una tasa de dilución $D = 0.5$ y

$$\mathbf{c}_{in} = \begin{pmatrix} 60.518 \\ 30 \\ 10 \end{pmatrix},$$

así como una condición inicial de

$$\mathbf{c}_0 = \begin{pmatrix} 50 \\ 2 \\ 0 \end{pmatrix}.$$

Los pesos en la función objetivo utilizados fueron $\mathbf{w} = (1 \ 2 \ 1)$ y los valores de los parámetros estimados son

$$k_{11} = 3.8190 \times 10^3 \quad (5a)$$

$$k_{12} = 235.5119 \quad (5b)$$

$$k_{13} = 61.8563 \quad (5c)$$

$$k_{21} = 6.1786 \quad (5d)$$

$$k_{22} = 116.4845 \quad (5e)$$

$$k_{23} = 2.6005 \quad (5f)$$

$$k_3 = 262.7081 \times 10^{-3}. \quad (5g)$$

Con dicho conjunto de valores el valor de la función objetivo está al rededor de 7.5.

Ahora, para determinar el comportamiento del ajuste ante ruido de medición, contaminamos las mediciones con un ruido del 30% al rededor de las originales. Con estos valores realizamos nuevamente el ajuste de los parámetros cinéticos, obteniendo

$$k_{11} = 2.7457 \times 10^3 \quad (6a)$$

$$k_{12} = 167.2756 \quad (6b)$$

$$k_{13} = 108.6792 \quad (6c)$$

$$k_{21} = 5.6024 \quad (6d)$$

$$k_{22} = 279.3490 \quad (6e)$$

$$k_{23} = 4.0390 \quad (6f)$$

$$k_3 = 3.3640 \times 10^{-3}. \quad (6g)$$

Con estos parámetros, obtenemos el ajuste mostrado en la Figura 2, donde nuevamente los círculos rojos representan los datos experimentales y la línea continua, el resultado de la simulación.

5. CONCLUSIONES

Por medio de un modelo mecánico, fuimos capaces de reproducir el comportamiento de los datos publicados en la literatura sobre el proceso de fermentación. Al considerar i) la inhibición de la fermentación por altas concentraciones de sustrato y ii) la degradación de la biomasa por altas concentraciones de producto, pretendemos hacer un modelo

que pueda ser utilizado en diferentes escenarios plausibles para el proceso. Nuestro modelo consta de 7 parámetros cinéticos y dos coeficientes estequiométricos que pueden ser ajustados dependiendo de las condiciones del medio y del tipo de microorganismo y sustrato considerado.

ACKNOWLEDGMENTS

Los autores agradecen el apoyo de CONACyT México a través del programa SNI.

REFERENCES

- Andrews, J.F. (1968). A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnology and Bioengineering*, 10(6), 707-723.
- Andrietta, S.R. (1994). Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua em escala industrial. Unicamp.
- Bastin, G. and Dochain, D. (1990). On-line estimation and adaptive control of bioreactors.

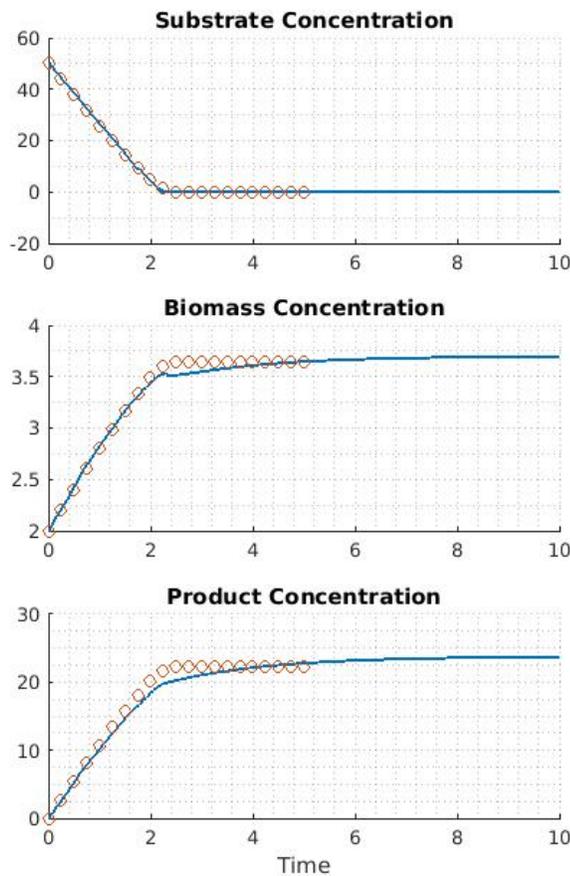


Fig. 1. Solución del sistema dinámico en (3) con los parámetros en (5).

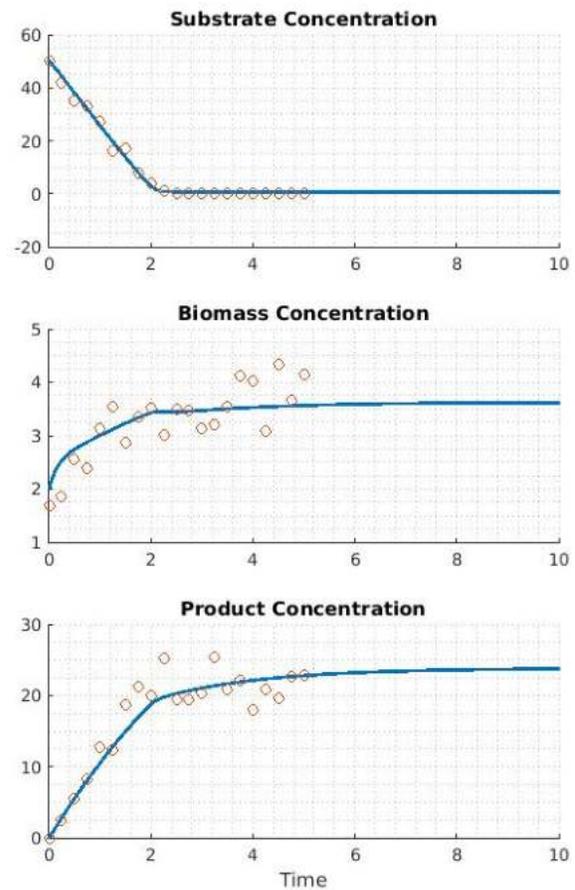


Fig. 2. Solución del sistema dinámico en (3) con los parámetros en (6).

- Lagarias, J.C., Reeds, J.A., Wright, M.H., and Wright, P.E. (1998). Convergence properties of the nelder–mead simplex method in low dimensions. *SIAM Journal on optimization*, 9(1), 112–147.
- Levenspiel, O. (1980). The monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and bioengineering*, 22(8), 1671–1687.
- Li, Z., Dewan, A., and Karim, M.N. (2012). Optimization of bioethanol ethanol production in fed-batch fermentation. *IFAC Proceedings Volumes*, 45(15), 816–821. 8th IFAC Symposium on Advanced Control of Chemical Processes.
- Lin, T.H., Guo, G.L., Hwang, W.S., and Huang, S.L. (2016). The addition of hydrolyzed rice straw in xylose fermentation by *pichia stipitis* to increase bioethanol production at the pilot-scale. *Biomass and Bioenergy*, 91, 204–209.
- Pachauri, N., Rani, A., and Singh, V. (2017). Bioreactor temperature control using modified fractional order imc-pid for ethanol production. *chemical engineering research and design*, 122, 97–112.
- Powell, M.J. (1978a). The convergence of variable metric methods for nonlinearly constrained optimization calculations. In *Nonlinear programming 3*, 27–63. Elsevier.
- Powell, M.J. (1978b). A fast algorithm for nonlinearly constrained optimization calculations. In *Numerical analysis*, 144–157. Springer.
- Prado-Rubio, O.A., Morales-Rodríguez, R., Andrade-Santacoloma, P., and Hernández-Escoto, H. (2016). *Process Intensification in Biotechnology Applications*, 183–219. Springer International Publishing, Cham.