**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**
**Universidad del Perú. Decana de América**
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química

# Optimización del proceso de producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales mediante fermentación bacteriana

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Ingeniera Química

**AUTOR**

Silvia Roxana HUAMAN OBESO

**ASESOR**

Dr. Raymundo ERAZO ERAZO

Lima, Perú

2026




Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

**Referencia bibliográfica**

Huaman, S. (2026). *Optimización del proceso de producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales mediante fermentación bacteriana*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

## Metadatos complementarios

| | |
|---|---|
| **Datos de autor** | |
| Nombres y apellidos | Silvia Roxana Huaman Obeso |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 76057922 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0009-0008-8196-6048 |
| **Datos de asesor** | |
| Nombres y apellidos | Raymundo Erazo Erazo |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 08439329 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0000-0003-1480-7641 |
| **Datos del jurado** | |
| **Presidente del jurado** | |
| Nombres y apellidos | José Ángel Porlles Loarte |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 25639269 |
| **Miembro del jurado 1** | |
| Nombres y apellidos | Cecilio Julio Alberto Garrido Schaeffer |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 08805437 |
| **Datos de investigación** | |
| Línea de investigación | A.1.2.1. Biorremediación y Bioconversión |

| | |
|---|---|
| Grupo de investigación | No aplica. |
| Agencia de financiamiento | Sin financiamiento. |
| Ubicación geográfica de la investigación | Edificio: Universidad Nacional Mayor de San Marcos<br>País: Perú<br>Departamento: Lima<br>Provincia: Lima<br>Distrito: Cercado de Lima<br>Latitud: -12.060792<br>Longitud: -77.0836017 |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación | Agosto 2025 – Enero 2026 |
| URL de disciplinas OCDE | Biotecnología Ambiental<br>https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.08.01 |

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
**FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA**
Central Telefónica: 619-7000

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los suscritos miembros del Jurado Calificador nombrados por el señor Presidente del Comité Ejecutivo del "V Programa Ciclo Taller de Titulación Profesional por la Modalidad de Tesis y Trabajo de Suficiencia Profesional para la Facultad de Química e Ingeniería Química 2025-II", bajo la Presidencia del **Dr. José Ángel Porlles Loarte;** el **Dr. Cecilio Julio Alberto Garrido Schaeffer (Miembro)** y **el Dr. Raymundo Erazo Erazo (Asesor);** habiendo presentado para tal efecto la **TESIS,** titulada **"Optimización del proceso de producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales mediante fermentación bacteriana",** después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la tesis elaborada por la bachiller en Ingeniería Química: **HUAMAN OBESO, SILVIA ROXANA;** para optar el **TÍTULO PROFESIONAL** de **INGENIERA QUÍMICA,** acordaron calificarla con la **NOTA** de:

dieciocho (LETRAS) 18 (NÚMEROS)

Ciudad Universitaria, 10 de enero del 2026

**DR. JOSÉ ÁNGEL PORLLES LOARTE**
**Presidente**

**Dr. CECILIO JULIO ALBERTO GARRIDO SCHAEFFER**
**Miembro**

**Dr. RAYMUNDO ERAZO ERAZO**
**Asesor**

**Dr. EDER CLIDIO VICUÑA GALINDO**
Director de la E.P. de Ingeniería Química

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS • ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA • Facultad de Química e Ingeniería Química

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

# CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Raymundo Erazo Erazo** en mi condición de asesor con el Dictamen N°000001-2026-EPIQ-FQIQ/UNMSM de la Tesis, cuyo título es**: Optimización del proceso de producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales mediante fermentación bacteriana,** presentado por la bachiller: **HUAMAN OBESO, SILVIA ROXANA,** para optar el título Profesional de Ingeniera Química.

**CERTIFICO** que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 9 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título Profesional de Ingeniera Química.

FIRMA DIGITAL

Firmado digitalmente por:
ERAZO ERAZO RAYMUNDO FIR
08439329 hard
Motivo: Soy el autor del
documento
Fecha: 24/04/2026 07:30:49-0500

Lima, 22 de abril del 2026

Firma del Asesor _____

Nombres y Apellidos del asesor Raymundo Erazo Erazo

DNI: 08439329

## AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a mi asesor por su guía y compromiso, a mi familia y amistades por su apoyo constante; quienes han estado presente a lo largo de mi vida académica, acompañándome en este camino de formación y crecimiento.

## DEDICATORIA

A mi padre Otto Huaman y a mi madre Magali Obeso, por su amor, guía y sacrificio constante, quienes han sido mi fuerza en cada paso de mi vida. A Edivilma Hú, por su apoyo incondicional, su motivación constante y su compañía en los momentos más difíciles; y a César Huaman, por su íntegra confianza y ser un modelo de inspiración que me impulsa a seguir adelante.

Con todo mi cariño y gratitud.

## RESUMEN

La preocupación por la contaminación causada por los plásticos tradicionales ha llevado a buscar opciones más amigables con el ambiente. En este sentido, los polihidroxialcanoatos (PHA) son una alternativa atractiva, ya que son bioplásticos biodegradables. Esta investigación se enfocó en mejorar la producción de PHA usando fermentación bacteriana en condiciones anaeróbicas, tomando como materia prima el bagazo de caña de azúcar y empleando la bacteria *Clostridium beijerinckii* en un sistema batch con agitación. Como el estudio no fue experimental directo, se utilizó modelamiento computacional en Python para simular el proceso a nivel macroscópico. Se examinaron factores claves durante tres fases metabólicas: acidogénica, solventogénica y la etapa de producción de PHA. Los resultados revelan que el rendimiento máximo teórico puede llegar al 92% cuando cada variable está en su valor óptimo en cada etapa, y su masa final de PHA resultante fue cercana a 0.90 g/L. Para la primera etapa se obtuvieron valores de 35.94 °C, 15 horas, relación C/N cercana a 25 y pH 6.5; para la segunda etapa, 32.97 °C, 42 horas, relación C/N cercana a 25 y pH 5.5; y para la tercera etapa, 33 °C, 59 horas, relación C/N cercana a 80 y pH 6.2. Además, el coeficiente global de transferencia de calor fue cercano a 250 $W/m^2.K$ para las tres etapas; así como, la velocidad de agitación ideal fue de 200 rpm. Adicionalmente, el pretratamiento ácido fue el más efectivo para liberar azúcares fermentables. Estos resultados sirven como base para futuras pruebas experimentales y para escalar el método a nivel industrial.



**Palabras clave:** Bioplásticos, residuos agroindustriales, polihidroxialcanoatos (PHA), *Clostridium beijerinckii*, bagazo de caña de azúcar, fermentación bacteriana anaeróbica, optimización con Python.

## ABSTRACT

Concern over pollution caused by conventional plastics has driven the search for more environmentally friendly alternatives. In this context, polyhydroxyalkanoates (PHA) represent an attractive option, as they are biodegradable bioplastics. This research focused on improving PHA production via anaerobic bacterial fermentation, using sugarcane bagasse as the raw material and *Clostridium beijerinckii* as the microbial agent in a batch system with agitation. Since the study was not directly experimental, computational modeling in Python was used to simulate the process at a macroscopic level. Key operational variables were analyzed across three metabolic stages: acidogenesis, solventogenesis, and PHA biosynthesis. Results indicate a theoretical maximum yield of 92% when each variable is set at its stage-specific optimum, with a final PHA concentration of approximately 0.90 g/L. Optimal conditions for Stage 1 (acidogenesis) were: 35.94 °C, 15 h, C/N ratio ≈ 25, and pH 6.5; for Stage 2 (solventogenesis): 32.97 °C, 42 h, C/N ≈ 25, and pH 5.5; and for Stage 3 (PHA synthesis): 33.03 °C, 59 h, C/N ≈ 80, and pH 6.2. Additionally, the overall heat transfer coefficient was consistently near 250 $W/m^2 \cdot K$ across all stages, and the optimal agitation speed was 200 rpm. Acid pretreatment proved most effective in releasing fermentable sugars. These results serve as a foundation for future experimental validation and scaling the method to industrial levels.



**Keywords:** Bioplastics, agro-industrial waste, polyhydroxyalkanoates (PHA), *Clostridium beijerinckii,* sugarcane bagasse, anaerobic bacterial fermentation, optimization with Python.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

**CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN** ..... 15

1.1 Introducción ..... 15

1.2 Planteamiento del problema ..... 16

1.3 Formulación del problema ..... 18

1.3.1 Problema principal ..... 18

1.3.2 Problemas específicos ..... 18

1.4 Objetivos de la investigación ..... 19

1.4.1 Objetivo principal ..... 19

1.4.2 Objetivos específicos ..... 19

1.5 Importancia y alcance de la investigación ..... 19

1.6 Limitaciones de la investigación ..... 21

**CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO** ..... 22

2.1 Antecedentes de investigación ..... 22

2.2 Marco teórico ..... 25

2.2.1 Bioplásticos ..... 25

2.2.2 Tipos de bioplásticos ..... 28

2.2.3 Polihidroxialcanoatos (PHA) ..... 30

2.2.4 Residuo agroindustrial: Bagazo de caña de azúcar ..... 36

2.2.5 Tipos de pretratamiento aplicados al bagazo de caña de azúcar ..... 38

2.2.6 Hidrólisis y sacarificación ..... 41

2.2.7 Fermentación bacteriana anaeróbica y microorganismo productor: *Clostridium beijerinckii* ..... 43

2.2.8 Crecimiento de las bacterias ..... 46

2.2.9 Metabolismo bacteriano en la síntesis de PHA bajo condiciones anaeróbicas. ..... 47

2.2.10 Reactor batch con agitación ..... 53

2.2.11 Influencia de variables ..... 55

2.2.12 Definición de términos ..... 57

**CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y VARIABLES** ..... 59

3.1 Formulación de hipótesis ..... 59

3.1.1 Hipótesis general ..... 59

3.1.2 Hipótesis específicas ..... 59

3.2 Operacionalización de variables ..... 59

**CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA** ..... 61

4.1 Área de estudio ..... 61

4.2 Diseño de investigación ..... 61

4.2.1 Tipo de investigación ..... 62

4.2.2 Nivel de investigación ..... 62

4.3 Población y muestra ..... 62

4.4 Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información ..... 63

4.5 Análisis estadístico ..... 68

**CAPÍTULO V. RESULTADOS** ..... 74

**CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS** ..... 86

**CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES** ..... 92

**CAPÍTULO VIII. RECOMENDACIONES** ..... 93

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ..... 94

**ANEXOS** ..... 103

ANEXOS A. Códigos ejecutados en Python Google Colab. ..... 103

# ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1**. Propiedades de los principales PHA ..... 34

**Tabla 2.** Vida útil, tiempo de degradación de plásticos convencionales con los polihidroxialcanoatos. ..... 35

**Tabla 3.** Enzimas involucradas ..... 42

**Tabla 4**. Variable dependiente y variables independientes. ..... 60

**Tabla 5.** Requisitos metodológicos. ..... 64

**Tabla 6.** Técnicas empleadas en la investigación. ..... 66

**Tabla 7.** Ventajas del empleo de NumPy y SciPy ..... 67

**Tabla 8.** Análisis de desviación y error estándar promedio ..... 69

**Tabla 9.** Análisis estadístico de rendimiento promedio por agitación. ..... 73

**Tabla 10.** Comparación del pretratamiento e hidrólisis. ..... 75

**Tabla 11.** Optimización de variables para la obtención de PHA. ..... 77

**Tabla 12.** Rendimiento obtenido y masa final de PHA. ..... 78

**Tabla 13.** Datos de concentración de sustrato por tiempo ..... 84

**Tabla 14.** Variables de optimización según la etapa del proceso. ..... 104

## ÍNDICES DE FIGURAS

**Figura 1**. Ciclo de vida de los bioplásticos. .....25

**Figura 2.** Producción mundial por tipo de bioplásticos en millones de toneladas (año 2020 y 2025). .....27

**Figura 3.** Rutas de procesamiento de bioplásticos en función de la biomasa vegetal. .....28

**Figura 4.** Sistema de clasificación de materiales basado en su biodegradabilidad y contenido de base biológica. .....30

**Figura 5.** Derivados de PHA. .....32

**Figura 6.** Estructura general de varios copolímeros de PHA (scl-PHA y mcl-PHA). .....33

**Figura 7**. Estructura general de los PHA .....34

**Figura 8.** Energía de producción y emisiones de $CO_2$ de polímeros derivados del petróleo y de origen biológico. .....36

**Figura 9.** Proceso de producción de PHA a partir de bagazo de caña de azúcar. .....38

**Figura 10.** Consecuencias del pretratamiento. .....38

**Figura 11**. Modelos de producción de 3 procesos de bioconversión de lignocelulosa. .....41

**Figura 12.** Principales vías de utilización de carbohidratos de la D-glucosa, la D-xilosa y la L-arabinosa .....43

**Figura 13.** Concentración de glucosa y metabolitos en el medio empleando *Clostridium beijerinckii*. .....44

**Figura 14.** Evolución del pH. .....45

**Figura 15.** Porcentaje de células activas (viables) y esporas formadas, según el análisis de citometría de flujo y la curva de crecimiento representada por el peso seco celular. .....45

**Figura 16.** Fases del crecimiento celular de un cultivo en batch .....46

**Figura 17.** Diagrama de fermentación ABE, acetogénesis, y solventogénesis. .....49

**Figura 18**. Ruta metabólica. ..... 50

**Figura 19.** Micrografías de microscopía electrónica de transmisión (MET) de secciones ultrafinas que muestran la acumulación de (PHA) y la formación de endosporas dentro de las células de *Clostridium beijerinckii* ASU10 cultivado con diferentes fuentes de carbono. ..... 51

**Figura 20.** Rutas biosintéticas de PHA. ..... 53

**Figura 21.** Biorreactores para la biosíntesis de PHA operados de forma diferente. ..... 53

**Figura 22.** Célula microbiana rica en PHA en un biorreactor esquemático y la estructura química general del PHA ..... 54

**Figura 23.** Relación entre tamaño de muestra y confiabilidad estadística. ..... 70

**Figura 24.** Pretratamiento del bagazo de caña de azúcar según el método. ..... 74

**Figura 25.** Análisis de la hidrólisis ..... 75

**Figura 26.** Concentración de sustrato según etapa. ..... 76

**Figura 27.** Crecimiento de células de *Clostridium beijenrickii* por etapas. ..... 77

**Figura 28.** Gráfico de sensibilidad T_a (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 1. ..... 78

**Figura 29**. Gráfico de sensibilidad t_a (h) vs. PHA (%) en la Etapa 1. ..... 78

**Figura 30.** Gráfico de sensibilidad S_a (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 1 ..... 79

**Figura 31**. Gráfico de sensibilidad C/N_a (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 1. ..... 79

**Figura 32.** Gráfico de sensibilidad U_a ($W/m^2K$) vs. PHA (%) en la Etapa 1. ..... 79

**Figura 33.** Gráfico de sensibilidad pH_a vs. PHA (%) en la Etapa 1. ..... 80

**Figura 34.** Gráfico de sensibilidad T_s (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 2. ..... 80

**Figura 35.** Gráfico de sensibilidad t_s (h) vs. PHA (%) en la Etapa 2. ..... 81

**Figura 36.** Gráfico de sensibilidad S_s (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 2. ..... 81

**Figura 37**. Gráfico de sensibilidad C/N_s vs. PHA (%) en la Etapa 2 ..... 81

**Figura 38.** Gráfico de sensibilidad U_s ($W/m^2K$) vs. PHA (%) en la Etapa 2. ..... 82

**Figura 39.** Gráfico de sensibilidad pH_s vs. PHA (%) en la Etapa 2. ..... 82

**Figura 40**. Gráfico de sensibilidad T_p (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 82

**Figura 41.** Gráfico de sensibilidad t_p (h) vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 83

**Figura 42.** Gráfico de sensibilidad S_p (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 83

**Figura 43.** Gráfico de sensibilidad C/N_p vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 83

**Figura 44.** Gráfico de sensibilidad U_p ($W/m^2K$) vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 84

**Figura 45**. Gráfico de sensibilidad pH_p vs. PHA (%) en la Etapa 3. ..... 84

**Figura 46.** Consumo de sustrato por *Clostridium beijerinckii* ..... 84

**Figura 47.** Desviación y error estándar sobre la confiabilidad del tamaño de muestra. ..... 103

**Figura 48.** Pretratamiento de bagazo de caña de azúcar e hidrólisis, condiciones óptimas de las variables, curvas de sensibilidad, sustrato entrante y remanente, crecimiento celular, rendimiento resultante y masa final de PHA. ..... 105

**Figura 49**. Análisis estadístico de velocidad de agitación (rpm). ..... 111

# CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

En el Capítulo I, se conocerá la base inicial de la investigación; así como, el problema esencial que motiva al presente estudio.

## 1.1 Introducción

El impacto de la contaminación ambiental y su incremento de preocupación por los plásticos convencionales ha promovido el impulso de encontrar nuevas opciones sostenibles para reducir la dependencia de recursos fósiles. Según estudios, entre las opciones más prometedoras se encuentran los bioplásticos**,** materiales biodegradables producidos a partir de fuentes renovables. Por consiguiente, las características de los polihidroxialcanoatos (PHA) han generado un interés especial por sus propiedades similares a las de los plásticos petroquímicos y su completa degradabilidad en condiciones naturales.

Por otro lado, la valoración de residuos agroindustriales se presenta como una estrategia eficaz para disminuir la contaminación y aprovechar subproductos de bajo costo. El bagazo de caña de azúcar**,** abundante en regiones productoras de este cultivo, constituye un sustrato atractivo por su alto contenido de carbohidratos fermentables, los cuales pueden ser transformados en PHA mediante procesos biotecnológicos.

La fermentación bacteriana en condiciones anaeróbicas ofrece una vía eficiente para la síntesis de estos biopolímeros, dado que ciertas bacterias como *Clostridium beijerinckii* son capaces de acumular PHA como reserva energética cuando se someten a limitación de nutrientes en presencia de exceso de carbono. El uso de un reactor tipo batch con agitación controlada permite mantener un entorno homogéneo y establecer variables de operación que favorezcan el rendimiento y la productividad del proceso.

El presente estudio se centra en la optimización del proceso de producción de PHA a partir del bagazo de caña de azúcar, empleando fermentación bacteriana anaeróbica en un sistema batch. La investigación busca establecer las condiciones más adecuadas de operación como la relación C/N, el tiempo de fermentación, temperatura, concentración de sustrato y pH para maximizar la obtención del biopolímero, incluyendo el coeficiente global de transferencia de calor (U); contribuyendo así al desarrollo de alternativas sostenibles para la gestión de residuos agroindustriales y la producción de materiales ecológicos.

## 1.2 Planteamiento del problema

La contaminación ambiental se ha incrementado a través de los años originando consecuencias para el ser humano. Por ello, se ha enfatizado en la protección del medio ambiente para que las actividades humanas no pongan en peligro y/o dañen recursos necesarios para la vida humana como el aire, suelo y el agua (Sánchez et al., 2022). En este contexto, se indica que el plástico es uno de los mayores factores influyentes de esta problemática global, la cual afecta en los ecosistemas naturales, especies exóticas, nativas o en vía de extinción provocado por el consumo de plásticos (León y Casas, 2024). Asimismo, la mayoría de plásticos sintéticos originados del petróleo no son biodegradables, lo que persiste como partículas meso, micro y nano, lo que perjudica al medio ambiente (Dey et al., 2024).

Además, la degradación de los residuos plásticos desechados podrían tardar un intervalo de 10 a 1000 años, debido a su grado limitado de biodegradabilidad y su larga durabilidad en el tiempo (Mandal et al., 2024).

Debido a fuerzas abióticas (degradación termooxidativa, fotooxidativa y química) y bióticas (bacterias, hongos y arqueas). En consecuencia, esta conversión implica la formación de gases de efecto invernadero (GEI) y sustancias químicas que son peligrosas al favorecer al calentamiento global (Gilani et al., 2023). Además, el reciclaje de la mayoría de estos plásticos

suponen un alto costo al requerir maquinarias especiales y temperaturas altas; es decir, un elevado costo energético (Rodríguez, 2021).

De la producción global de plásticos, únicamente el 9% se logra reciclar, aproximadamente el 12% se quema y el 79% restante desencadena en vertederos. Es por ello que, se proyecta que para el 2030, la cantidad de plásticos en los océanos podría ser mayor que las especies marinas.

En consecuencia, los plásticos contribuyen a un problema ambiental que falta resolver, y para darle una solución a este tema, es necesario desarrollar un método alternativo, como la elaboración de plásticos biodegradables o bioplásticos (Han et al., 2022).

Una posibilidad sostenible frente a la contaminación causada por los plásticos tradicionales son los biopolímeros, los cuales pueden producirse a partir de fuentes renovables como plantas, animales y microorganismos (Swetha et al., 2024), por lo que es posible su fabricación sin generar efectos negativos sobre el medio ambiente.

No obstante, la producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales presenta ciertos desafíos, entre ellos la variabilidad en la composición de los residuos y la necesidad de contar con procesos productivos eficientes. Sin embargo, la investigación y el desarrollo en este ámbito continúan progresando con el propósito de superar estas limitaciones y fomentar la incorporación de bioplásticos en el sector industrial (Vasconez et al., 2025).

Algunas posibilidades de biopolímeros son el ácido poliláctico (PLA) y el polihidroxialcanoato (PHA) (Anjum et al., 2016), los cuales tienen origen microbiano y son sintetizados desde fuentes renovables (Saratale et al., 2020).

Uno de los mayores retos de los polihidroxialcanoatos (PHA) radica en sus elevados costos de producción en comparación con los plásticos sintéticos. Por ello, es necesario desarrollar métodos de fermentación más económicos, implementar nuevas estrategias de

fabricación y optimizar las etapas de purificación (Dutt et al., 2021). A nivel industrial, los costos de producción pueden disminuir mediante el desarrollo de nuevas cepas bacterianas que tengan la capacidad de generar grandes volúmenes de PHA (Castro y Riera, 2021). La optimización de este proceso mediante fermentación bacteriana en la biosíntesis de PHA representa una alternativa eficiente para obtener este biopolímero con alta productividad y a menor costo.

Esta estrategia permite reducir las exigencias de esterilidad, así como la necesidad de equipos y sistemas de control sofisticados, además de facilitar el uso de materias primas complejas y de bajo costo, como efluentes ricos en carbono provenientes de fuentes domésticas o industriales (Koller, 2018).

## 1.3 Formulación del problema

Basándonos en lo expuesto anteriormente, se plantea la siguiente formulación del problema.

### 1.3.1 Problema principal

¿Cuáles serían las condiciones de optimización en el proceso de fermentación bacteriana anaeróbica en la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir del bagazo de caña de azúcar?

### 1.3.2 Problemas específicos

**a.** ¿Cómo influyen la temperatura, el pH, el tiempo de fermentación, la concentración de sustrato, la relación carbono/nitrógeno y el coeficiente de transferencia de calor en la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) durante la fermentación bacteriana anaeróbica del bagazo de caña de azúcar?

b. ¿Cómo puede optimizarse la producción de PHA a partir de bagazo de caña de azúcar mediante el uso de algoritmos de optimización en Python aplicados a las variables físicas y químicas del proceso?

## 1.4 Objetivos de la investigación

Con la finalidad de definir la dirección del estudio se detallan los siguientes objetivos de investigación.

### 1.4.1 Objetivo principal

Optimizar la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) mediante fermentación bacteriana utilizando bagazo de caña de azúcar como sustrato, a través del ajuste de variables físicas y químicas.

### 1.4.2 Objetivos específicos

a. Analizar el efecto de la temperatura, pH, tiempo de fermentación, concentración de sustrato, relación C/N, y el coeficiente de transferencia de calor sobre la producción de PHA durante la fermentación bacteriana del bagazo de caña de azúcar.
b. Optimizar la producción de PHA a partir de bagazo de caña de azúcar mediante el uso de algoritmos de optimización en Python aplicados a las variables físicas y químicas del proceso.

## 1.5 Importancia y alcance de la investigación

En América Latina se producen cantidades significativas de residuos agroindustriales, como cáscaras de frutas, bagazo de caña, pulpa de yuca y fibras vegetales, los cuales suelen tener poco valor económico y representar un problema ambiental, a pesar de contener compuestos valiosos como polisacáridos y lignina. El uso de estos desechos para la elaboración de bioplásticos biodegradables promueve una economía circular y sostenible, aprovechando de manera eficiente los recursos disponibles (Huilcarema et al., 2024), y se minimice la

producción de desechos. Asimismo, destacan por su contribución positiva al impulso de nuevas industrias y a la reducción de la dependencia de los combustibles fósiles (Jasso et al., 2024).

El uso de microorganismos que utilizan diversas fuentes renovables es fundamental como estrategia rentable para la fabricación de biopolímeros a gran escala (Verdini et al., 2022).

El pretratamiento es necesario para la bioconversión de residuos agrícolas en plásticos, con el fin de convertir sus componentes orgánicos (celulosa, lignina, almidón, lípidos) en azúcares simples que posteriormente se someten a fermentación bacteriana para la producción de biopolímeros (Naik et al., 2021).

Estos biopoliésteres de última generación presentan un gran potencial debido a sus propiedades intrínsecas de biodegradabilidad, hidrofobicidad y biocompatibilidad. (Castro y Riera, 2021). Por ende, debido al gran potencial del empleo de los bioplásticos como alternativa ecológica a los plásticos sintéticos tradicionales derivados del petróleo, la demanda de bioplásticos ha incrementado sobre todo por su capacidad de degradación inocua hacia el medio ambiente (Atiwesh et al., 2021). En consecuencia, los bioplásticos permiten reducir las emanaciones de gases con efecto invernadero, debido a que estos son bastante fáciles de descomponer en el ambiente natural, dependiendo del tipo de suelo y del medio ambiente en donde se descompongan (Navasingh et al., 2023).

En síntesis, la incorporación de la producción de bioplásticos en la industria agroalimentaria puede aportar ventajas tanto económicas como sociales. El aprovechamiento de residuos agroindustriales no solo disminuye los gastos asociados a su eliminación, sino que también puede generar empleo en zonas rurales y promover el crecimiento económico a nivel local, como anteriormente se ha mencionado (Huilcarema et al., 2024), y la optimización del uso de residuos agroindustriales para la producción de bioplásticos biodegradables representa mejorar el aprovechamiento de estos residuos para la fabricación de bioplásticos

biodegradables, los cuales constituyen una estrategia sostenible que permite enfrentar, al mismo tiempo, la contaminación por plásticos y los desafíos en la gestión de desechos (Vasconez et al., 2025). Por lo que se indica que la presente investigación se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible 13 (Acción por el clima) y 14 (Vida submarina), al promover la valorización del bagazo de caña de azúcar como materia prima para la producción de bioplásticos biodegradables, contribuyendo a la mitigación del cambio climático y a la reducción de la contaminación marina por plásticos.

### 1.6 Limitaciones de la investigación

Al ser un estudio no experimental, no se realizan pruebas en laboratorio ni en planta piloto, lo cual limita la posibilidad de verificar los resultados del modelo propuesto. Asimismo, la investigación se basa principalmente en datos bibliográficos y estudios previos. Esto puede implicar diferencias en las condiciones experimentales, los tipos de microorganismos o el sustrato utilizado, afectando la precisión de la extrapolación de resultados. Se indica también que el bagazo de caña de azúcar puede variar en composición (contenido de lignina, celulosa, humedad) según la fuente y el proceso de extracción, lo que podría alterar la viabilidad real del proceso optimizado en distintos contextos industriales.

En consecuencia, la optimización propuesta puede depender de tecnologías o equipamientos no disponibles localmente, lo que restringe su aplicabilidad inmediata en regiones donde no existen sistemas de fermentación anaeróbica desarrollados. Dado que el estudio no incluye una etapa experimental ni de escalado, la información obtenida se basa en referencias bibliográficas o estimaciones teóricas, lo que limita la exactitud de los resultados.

# CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

En el Capítulo II se explica acerca de las bases teóricas para el entendimiento del proceso de fermentación a partir de bagazo de caña de azúcar para la maximización de producción de PHA. Se abordan conceptos clave que influyen en la eficiencia del proceso. Además, se agregan antecedentes como estudios previos a la presente investigación como base esencial para la comparación y/o extracción de datos.

## 2.1 Antecedentes de investigación

Según Hassan, et al. (2019) en la investigación "Producción de butanol y polihidroxialcanoato a partir de residuos industriales por *Clostridium beijerinckii* ASU10" presentó una alternativa biotecnológica para generar, de manera simultánea y económica, hidrógeno, biocombustibles líquidos y polihidroxialcanoatos (PHA) utilizando la bacteria solventogénica *Clostridium beijerinckii* y residuos industriales renovables como el glicerol crudo y la melaza. Los resultados mostraron rendimientos de PHA equivalentes al 84,37 % y 37,97 % de la biomasa seca bacteriana al emplear glicerol y melaza de caña, respectivamente. Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificó que los PHA derivados de melaza contenían principalmente 3-hidroxibutirato (47,3 %) y 3-hidroxioctanoato (52,7 %), mientras que el glicerol solo produjo 3-hidroxibutirato. En conjunto, los hallazgos confirman que *C. beijerinckii* posee un alto potencial para la obtención económica de PHA a partir de desechos orgánicos.

Según Cabrera, et al. (2016) investigaron en "Influencia de la concentración y temperatura de fermentación de azúcares reductores obtenidos a partir de hidrolizado de bagazo de caña de azúcar, en la obtención de un biopolímero empleando *Bacillus subtilis"* cómo influyen la temperatura de fermentación y la cantidad de azúcares reductores en la síntesis de un biopolímero utilizando *Bacillus subtilis.* Para ello, se diseñó un experimento con dos

factores variables: la concentración de azúcares (10, 20 y 30 g/L) y la temperatura (33, 35 y 37 °C), por lo que para la liberación de los azúcares el bagazo de caña fue sometido a hidrólisis ácida. Los mejores resultados en crecimiento celular (0,014 g de biomasa/g de sustrato; 1,4%) se obtuvieron a 37 °C con 30 g/L de azúcares. En cambio, la mayor producción relativa de biopolímero (0,34 g/g; 34%) se alcanzó a 35 °C y 20 g/L de azúcares.

Según Yong, et al. (2024) mencionan que en su investigación "Síntesis y caracterización de bioplásticos, polihidroxialcanoatos producidos a partir de bagazo de caña de azúcar mediante el uso de *Bacillus cereus"* realizaron un estudio donde el bagazo de caña de azúcar fue sometido a hidrólisis enzimática, obteniendo un rendimiento de azúcares de 8,33 mg/g. Este hidrolizado se utilizó como sustrato para el cultivo de *Bacillus cereus*, con el objetivo de producir PHA. Para optimizar la producción, se aplicó la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) en 20 condiciones experimentales distintas. Las mejores condiciones fueron: inóculo al 8% (v/v), 25 °C y 48 horas de incubación, logrando una concentración máxima de PHA de 86,4 g/L (62,1% p/p). La tasa óptima de crecimiento microbiano se alcanzó con un inóculo del 7,71% a 35,1 °C durante 48,3 horas. En condiciones ideales, se obtuvo un contenido de PHA del 57,9% (p/p) y un rendimiento de 90,39 g/L. El estudio demostró la viabilidad de usar hidrolizado de bagazo de caña como fuente eficiente para la producción optimizada de bioplásticos.

Según De Paula, et al. (2020) investigaron en "Síntesis de polihidroxialcanoatos por *Burkholderia glumae* en un concepto de biorrefinería sostenible de caña de azúcar" la producción de PHA por *Burkholderia glumae* MA13, utilizando diversas fuentes de carbono y subproductos derivados de la biorrefinería de caña de azúcar. La melaza sin pretratamiento fue la fuente más eficiente, superando incluso a la sacarosa pura, con una acumulación de PHA entre 41,1 % y 46,6 % del peso seco celular. En cambio, la xilosa y el hidrolizado de bagazo mostraron bajo rendimiento. La incorporación de vinaza al 25 % (v/v) no afectó negativamente

la producción de bioplástico, alcanzando un rendimiento máximo de 0,18 g/g. Además, el sulfato de amonio resultó ser la fuente de nitrógeno más efectiva. Estos resultados sirven de sustento para el uso de residuos de caña en procesos sostenibles de biorrefinería y así obtener bioplásticos con valor agregado.

Según Barrameda, et al. (2023) identificaron en "Producción de hidrolizado a partir de bagazo de caña de azúcar mediante explosión de vapor y pretratamiento secuencial de explosión de vapor-ácido diluido para la fermentación de polihidroxialcanoatos" como condiciones óptimas de explosión de vapor una temperatura de 230 °C y un tiempo de 701 segundos, obteniendo un hidrolizado enzimático con 6,91 g/L de azúcares reductores (46,07 % de rendimiento). En un enfoque secuencial, que combinó vapor y tratamiento con ácido diluido (4,75 % $H_2SO_4$, 137 °C por 42 minutos), se alcanzaron 12,89 g/L de azúcares (rendimiento del 85,93 %). Al aplicar ambos métodos en conjunto, el rendimiento aumentó hasta un 87 %. El valor del hidrolizado fue válido para la síntesis de PHB por fermentación bacteriana, logrando un resultado de 1,99 g/L de biopolímero (16,79 %) en 24 horas. Este estudio demuestra que el pretratamiento secuencial es una estrategia eficaz para valorizar el bagazo de caña como sustrato en la producción de PHA.

Según De Souza, et al. (2022) en su investigación "Optimización estadística de doble fase del pretratamiento biológico de bagazo de caña de azúcar con *Pycnoporus coccineus* MScMS1 para la producción de polihidroxialcanoatos" desarrollaron un proceso optimizado de pretratamiento biológico del bagazo de caña utilizando *Pycnoporus coccineus*, aplicando un diseño experimental combinado entre el método Taguchi y la Metodología de Superficie de Respuesta. Este enfoque mejoró la liberación de azúcares, alcanzando una concentración de 18 g/L en solo 4 días, con una productividad de 4,5 g/(L·día). El tratamiento redujo significativamente el contenido de lignina (70 %) y aumentó los niveles de celulosa y solubles en agua. Los hidrolizados obtenidos, ricos en azúcares como xilosa, glucosa y

galactosa, sirvieron como sustrato para *Bacillus megaterium*, logrando 0,58 g/L de PHA en 24 h, con una acumulación del 65 %.

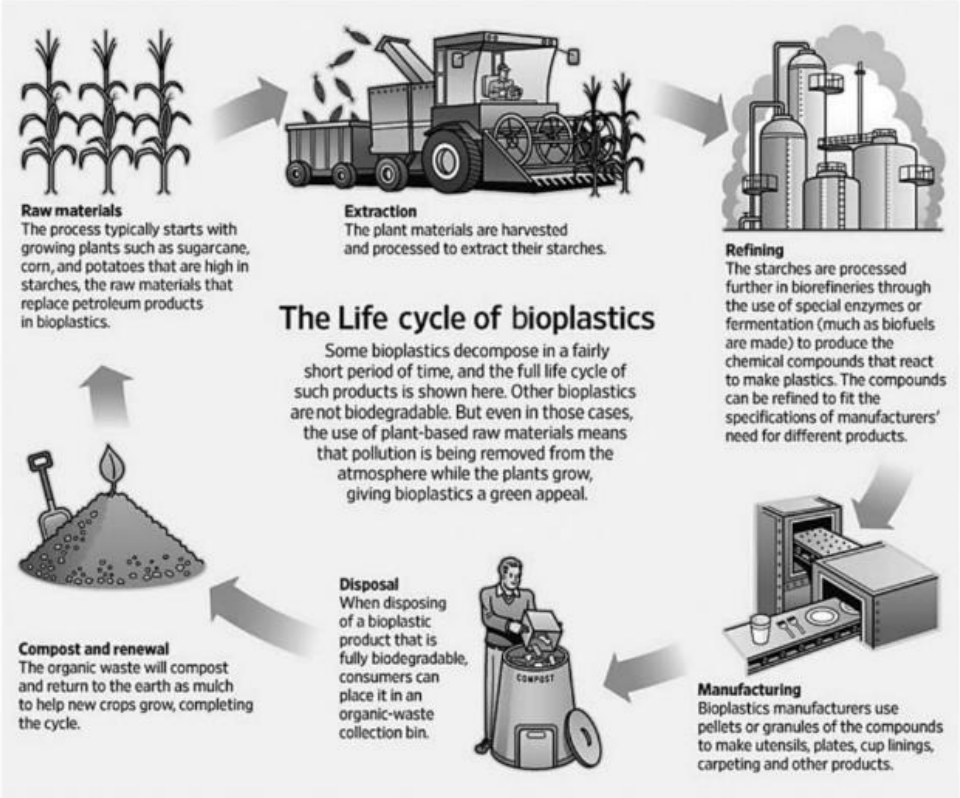
Según Siripurapu, et al. (2022) en "Producción y caracterización de polímero biodegradable polihidroxibutirato a partir de residuos agrícolas (bagazo de caña de azúcar) por la nueva bacteria marina *Klebsiella pneumoniae* G1" evaluaron una cepa halotolerante de *Klebsiella* G1, capaz de producir polihidroxibutirato (PHB), a partir de suelos marinos cercanos en Visakhapatnam. Esta cepa es óptima para ambientes extremos debido a su adaptación de sus intervalos de pH y salinidad. Bajo condiciones óptimas con glucosa, se obtuvo una producción de PHB de 6,86 g/L. Al utilizar bagazo de caña de azúcar al 5 % como sustrato, la producción aumentó a 9 g/L, representando una mejora significativa. Este trabajo representa el primer reporte del uso exitoso de SCB con esta cepa para la obtención eficiente de PHB, demostrando su potencial en la valorización de residuos agroindustriales.

## 2.2 Marco teórico

### 2.2.1 Bioplásticos

Los bioplásticos representan una nueva generación de materiales propios del siglo XXI y se proyectan como elementos clave en el desarrollo del sector de los materiales. Se prevé que tanto su fabricación como su uso continúen incrementándose a nivel global en los próximos años. Por esta razón, resulta fundamental realizar una evaluación rigurosa de su sostenibilidad y de las estrategias para su adecuada gestión al final de su vida útil.

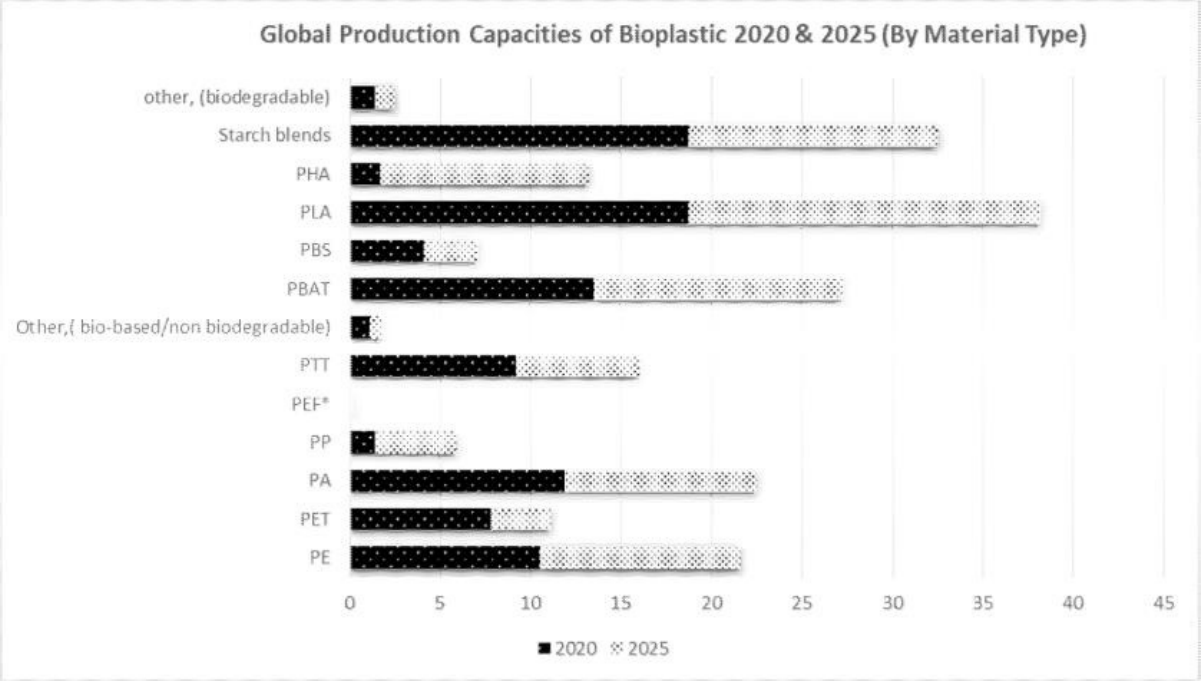
**Figura 1**. *Ciclo de vida de los bioplásticos.*




*Nota*. Extraído de *Introducción a la ingeniería de bioplásticos* de Ashter, S., 2016.

Se le conocen a los bioplásticos como materiales provenientes de recursos renovables o incluso, de compuestos sintéticos. Su producción puede llevarse a cabo utilizando polisacáridos, debido a su alta capacidad para formar películas biodegradables, como ocurre con el almidón de papa, la celulosa o el quitosano. Por otro lado, las proteínas representan una opción viable por su naturaleza hidrofílica, mientras que los lípidos, gracias a sus características hidrofóbicas, se emplean en la elaboración de materiales con funciones de barrera frente a la humedad, como en el caso de las ceras. Además, también se pueden emplear polímeros naturales como la quitina y la lignina (Rímac y Salinas, 2019).

**Figura 2.** *Producción mundial por tipo de bioplásticos en millones de toneladas (año 2020 y 2025).*



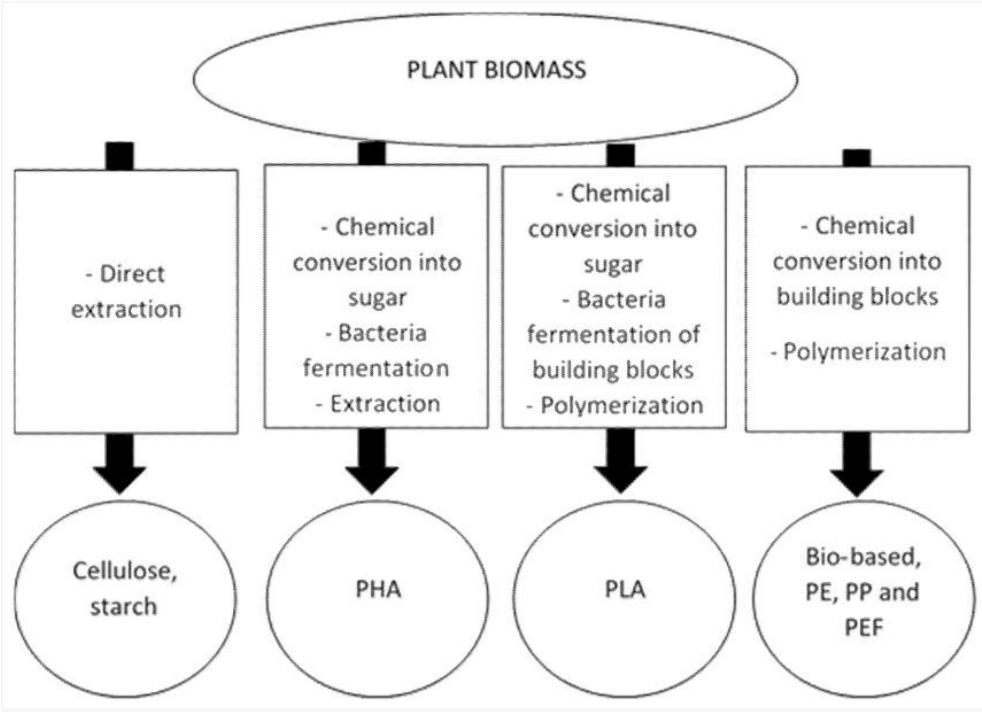

*Nota*. Extraído de *Descripción general de la introducción a los bioplásticos y sus aplicaciones en el envasado de productos* de Ibrahim, N., 2021.

De la Figura 2 se desprende que debido al aumento de la conciencia ambiental y la urgencia de disminuir la dependencia de los recursos fósiles, junto con el continuo desarrollo e innovación de materiales de mejor desempeño y con propiedades avanzadas dentro del sector de los bioplásticos. Según los datos disponibles, los compuestos más empleados en su producción son el ácido poliláctico (PLA), las mezclas basadas en almidón y los polihidroxialcanoatos (PHA).

Los polímeros de origen biológico pueden obtenerse directamente de la biomasa, como el almidón o la celulosa, o bien producirse mediante la acción de microorganismos en procesos fermentativos, como ocurre con los polihidroxialcanoatos (PHA). Entre las principales fuentes empleadas destacan los cultivos alimentarios ricos en carbohidratos, como el maíz, la caña de

azúcar, y las materias lignocelulósicas no alimentarias; aunque estas últimas aún presentan limitaciones económicas para su aprovechamiento a gran escala. Además, también se han desarrollado bioplásticos a partir de biomasa de origen animal, como el suero de leche o el quitosano, y vegetal, como las proteínas de soja o los aceites vegetales (Ibrahim et al., 2021).

**Figura 3.** *Rutas de procesamiento de bioplásticos en función de la biomasa vegetal.*




*Nota*. Extraído de *Descripción general de la introducción a los bioplásticos y sus aplicaciones en el envasado de productos* de Ibrahim, N., 2021.

### 2.2.2 Tipos de bioplásticos

Los bioplásticos constituyen una categoría de plásticos que pueden ser de origen biológico, biodegradables o poseer ambas características, según la fuente de su producción. Se denomina de base biológica a aquellos materiales obtenidos a partir de recursos naturales procedentes de la biomasa, como plantas, microorganismos, algas, entre otros. El concepto de biodegradabilidad alude a un conjunto diverso de procesos enzimáticos y/o químicos

impulsados por organismos biológicos, cuya eficacia depende de las condiciones ambientales donde ocurre la degradación del polímero (Ibrahim et al.,2021). Además, estos materiales pueden ser descompuestos por microorganismos mediante procesos como el compostaje, ya sea doméstico o industrial, o la digestión anaerobia, lo que contribuye al fortalecimiento de una economía circular y sostenible (Narancic et al., 2020).

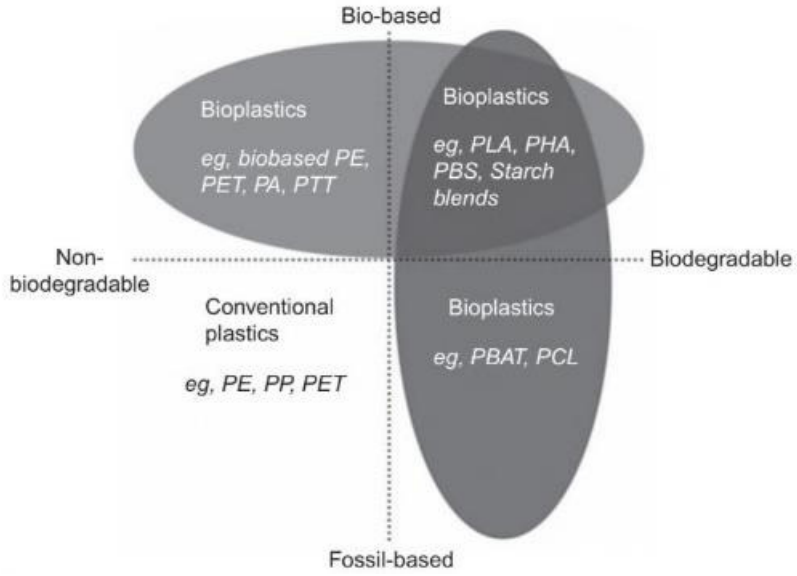
Atendiendo tanto a su origen (biobasado o fósil) como a su comportamiento al final de su vida útil (biodegradabilidad o persistencia en el ambiente), los bioplásticos suelen agruparse en tres categorías principales según Siracusa y Blanco, 2020.

Una primera categoría corresponde a los materiales biobasados no biodegradables, los cuales se producen total o parcialmente a partir de recursos renovables pero conservan una estructura química idéntica a la de los polímeros convencionales derivados del petróleo. Este es el caso del bio-polietileno (bio-PE) y el bio-PET, que, pese a su origen renovable, presentan la misma estabilidad química y la misma resistencia a la degradación biológica que sus equivalentes fósiles, pudiendo, no obstante, integrarse a los circuitos de reciclaje mecánico existentes.

Una segunda categoría está compuesta por polímeros que, además de ser biobasados, presentan biodegradabilidad en condiciones ambientales o controladas. Dentro de ella se encuentran los polihidroxialcanoatos (PHA), sintetizados por microorganismos en procesos fermentativos, así como el ácido poliláctico (PLA) y el polihidroxibutiratos (PHB) obtenidos a partir de azúcares o almidones fermentables. Estos materiales se caracterizan por su potencial de desintegración biológica, aunque los requerimientos ambientales para su degradación pueden ser distintos: mientras el PLA requiere, por lo general, condiciones de compostaje industrial, los PHA muestran degradación en un rango más amplio de entornos naturales.

Finalmente, se identifica un tercer grupo constituido por polímeros de origen fósil pero diseñados para ser biodegradables. Se trata de materiales cuya biodegradación no depende del recurso de partida, sino de la presencia de enlaces hidrolizables o segmentos susceptibles de ataque enzimático incorporados durante la síntesis. El caso más representativo es el PBAT (polibutileno adipato-co-tereftalato), un copoliéster alifático-aromático susceptible de degradación en condiciones de compostaje debido a su estructura química específica.

**Figura 4.** *Sistema de clasificación de materiales basado en su biodegradabilidad y contenido de base biológica.*




*Nota*. Extraído de *Introducción a la ingeniería de bioplásticos* de Ashter, S., 2016.

Se permite destacar que la degradabilidad no está vinculada directamente al origen del carbono, sino a la arquitectura molecular del polímero. Los PHA cumplen simultáneamente ambas condiciones. Por ello, el término bioplástico no alude de manera automática a la biodegradabilidad, sino a la procedencia y la estructura química que determinan el comportamiento ambiental del material.

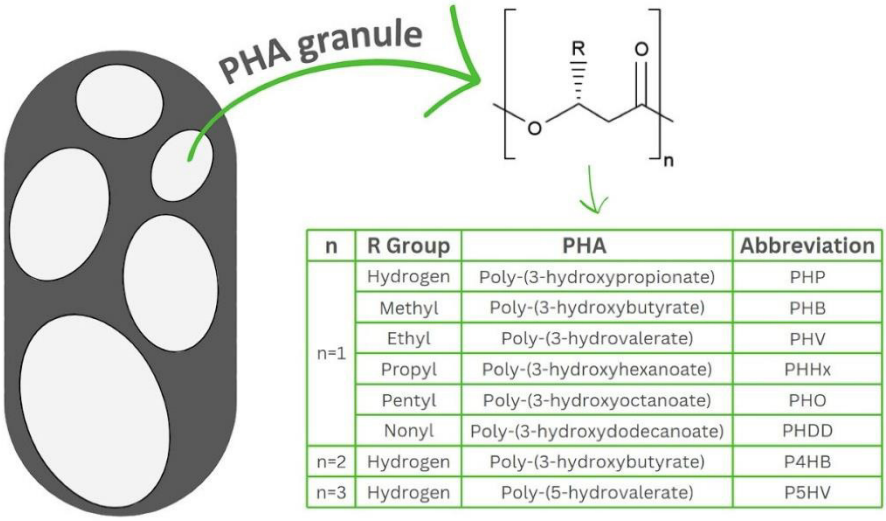
### 2.2.3 Polihidroxialcanoatos (PHA)

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son poliésteres que actúan como compuestos de almacenamiento energético en numerosos microorganismos procariotas. Se generan dentro de las células como parte del metabolismo secundario de distintas bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas, además de ciertas arqueas que habitan en condiciones extremas (Koller, 2018).

Asimismo, son considerados compuestos biodegradables debido a que ciertas enzimas, como las despolimerasas de PHA y lipasas, catalizan su ruptura mediante hidrólisis. Estas enzimas reconocen específicamente el centro quiral del monómero en configuración R y pueden actuar tanto dentro como fuera de las células. Para generar esta degradación, se requieren medios con altos valores de cantidad microbiana para la secreción de enzimas. Este proceso conduce a la fragmentación del polímero en oligómeros hidrosolubles, los cuales posteriormente son asimilados y metabolizados por los mismos microorganismos (Utsunomia et al., 2020).

El proceso de biodegradación se inicia con la adsorción de las enzimas sobre la superficie del material, seguida de la hidrólisis de la cadena polimérica, lo que libera oligómeros y monómeros solubles que son posteriormente asimilados y metabolizados por los microorganismos. Como resultado, el material se mineraliza a dióxido de carbono y agua en condiciones aeróbicas, o a metano en ambientes anaerobios. La alta especificidad de estas enzimas hacia la configuración natural R explica que los polímeros sintéticos análogos con configuración S no sean degradados por la misma vía, lo que evidencia la selectividad del mecanismo biocatalítico y la inocuidad ambiental del proceso de descomposición (Utsunomia et al., 2020).

**Figura 5.** *Derivados de PHA.*




| n | R Group | PHA | Abbreviation |
|---|---|---|---|
| n=1 | Hydrogen | Poly-(3-hydroxypropionate) | PHP |
| | Methyl | Poly-(3-hydroxybutyrate) | PHB |
| | Ethyl | Poly-(3-hydrovalerate) | PHV |
| | Propyl | Poly-(3-hydroxyhexanoate) | PHHx |
| | Pentyl | Poly-(3-hydroxyoctanoate) | PHO |
| | Nonyl | Poly-(3-hydroxydodecanoate) | PHDD |
| n=2 | Hydrogen | Poly-(3-hydroxybutyrate) | P4HB |
| n=3 | Hydrogen | Poly-(5-hydrovalerate) | P5HV |

*Nota.* Extraído de *Valorización del bagazo de caña de azúcar para la producción sostenible de polihidroxialcanoatos* de Getino et al., 2024.

**a) Estructura química y propiedades fisicoquímicas.**

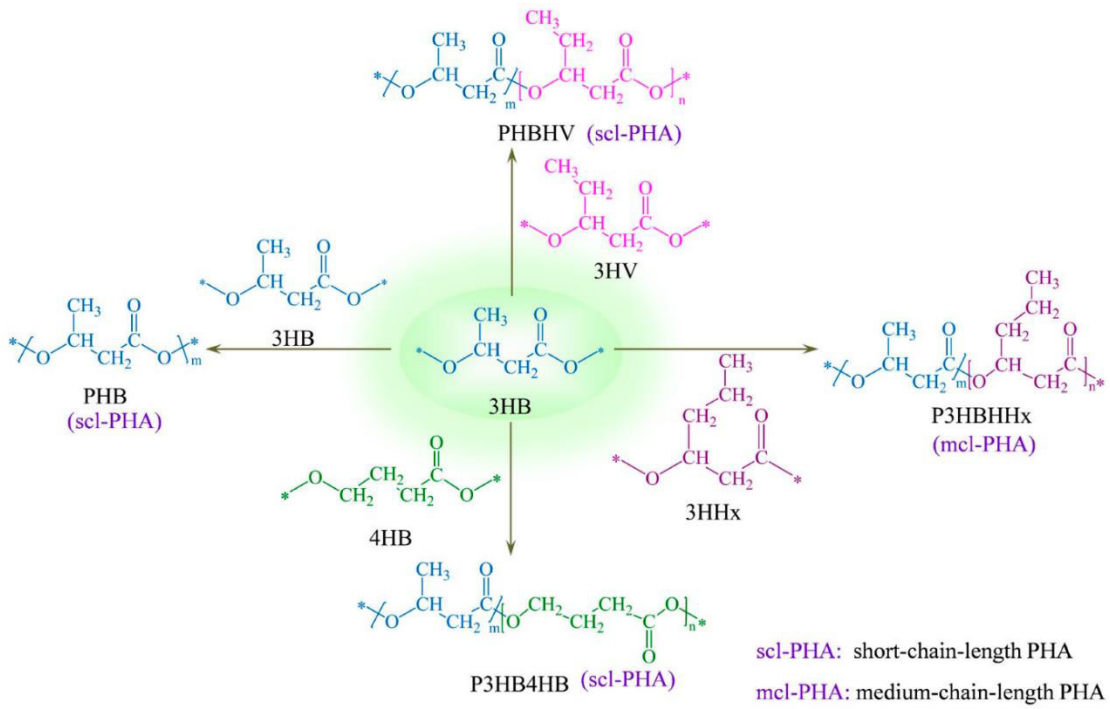
Como se mencionó anteriormente, los PHA presentan una estructura de poliéster lineal constituida por unidades repetitivas de (R)-3-hidroxialcanoato, cuya fórmula general puede expresarse como $(-\mathrm{O}-\mathrm{CHR}-\mathrm{CH_2}-\mathrm{CO}-)_n$, donde R corresponde a una cadena lateral alquílica cuya longitud y naturaleza pueden variar desde un átomo de hidrógeno hasta cadenas superiores a diez carbonos. Esta variabilidad estructural en el radical lateral es la que explica la amplia diversidad de propiedades fisicoquímicas observadas dentro de la familia PHA.

En función de la longitud de las cadenas laterales, los PHA se clasifican principalmente en tres grandes grupos según Meereboer et al., 2020.

Cadena corta (3–5 carbonos) o scl-PHA (short chain length) incluyen al poli(3-hidroxibutirato) (PHB) y al copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV). Cadena media (6–14 carbonos) o mcl-PHA, como el poli(3-hidroxioctanoato). Y cadena larga (más de 15 carbonos).

Algunos PHA de cadena corta o media pueden presentar enlaces dobles cuando se sintetizan a partir de ácidos grasos insaturados. Entre los más comunes se encuentran el poli(3-hidroxibutirato) (PHB) y su copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV), ampliamente utilizados a nivel comercial.

**Figura 6.** *Estructura general de varios copolímeros de PHA (scl-PHA y mcl-PHA).*




*Nota.* Extraído de *Modificación y posible aplicación del PHA de cadena corta* de Wang et al., 2016.

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son polímeros termoplásticos caracterizados por su biocompatibilidad, biodegradabilidad y ausencia de toxicidad. Presentan estabilidad en el aire, son insolubles en agua y poseen propiedades piezoeléctricas. Sus características físicas y químicas dependen directamente de su composición y del proceso de producción. En general, su masa molar oscila entre 200 y 3000 kDa, variando según la cepa microbiana empleada, el tipo de sustrato y las condiciones de fermentación, así como los métodos utilizados en su procesamiento posterior (Meereboer et al., 2020).

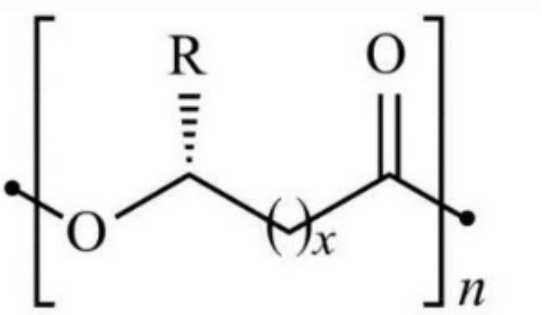
**Tabla 1**. *Propiedades de los principales PHA*

| Parámetro | PHB | P3HB | P4HB | P5HV |
|---|---|---|---|---|
| Temperatura de fusión, °C | 177 | 169 | 60 | 79,8 |
| Temperatura de transición vítrea, °C | 2 | 1.9 | 51 | 50 |
| Cristalinidad, % | 60 | 59 | 50 | 60 |
| Fuerza de tensión, MPa | 43 | 40 | 50 | 40 |
| Extensión hasta quiebre, % | 5 | 3 | 1000 | 6 |

*Nota.* Extraído de *Revisión de los avances recientes en la biodegradabilidad de los bioplásticos de PHA y sus compuestos* de Meereboer et al., 2020.

En síntesis, la configuración estructural basada en un centro quiral R en cada monómero y la variabilidad del radical lateral permiten ajustar la cristalinidad, la flexibilidad y la resistencia mecánica del polímero, posibilitando el diseño de PHA con propiedades específicas según la aplicación final. De esta manera, mediante la selección apropiada del tipo (scl vs. mcl) o de la arquitectura polimérica (homopolímero vs. copolímero), es factible obtener desde materiales rígidos comparables al polipropileno hasta bioplásticos altamente flexibles o de tipo elastomérico, ampliando así su espectro de aplicaciones tecnológicas.

**Figura 7**. *Estructura general de los PHA*




*Nota.* Obtenido de *Producción y caracterización de polihidroxialcanoatos a partir de residuos agroindustriales* por Mora et al., 2017.

**b) Aplicaciones industriales y ventajas frente a plásticos convencionales.**

Comparados con los plásticos convencionales derivados del petróleo, los PHA presentan tres ventajas fundamentales: un origen renovable, la posibilidad de integrarse a esquemas de economía circular y un fin de vida ambientalmente favorable. Su obtención a partir de carbohidratos, aceites o residuos agroindustriales reduce la dependencia de materias primas fósiles y disminuye la huella de carbono asociada a su ciclo de vida.

Además, su biodegradación completa en suelo, compost o medios acuáticos evita la acumulación de microplásticos persistentes, lo que resulta especialmente relevante en aplicaciones de un solo uso o de dispersión inevitable.

En conjunto, la combinación de biodegradabilidad, versatilidad y disponibilidad de materias primas renovables posiciona a los PHA como una de las alternativas más prometedoras frente a los polímeros convencionales, condicionada principalmente a la optimización económica de su producción.

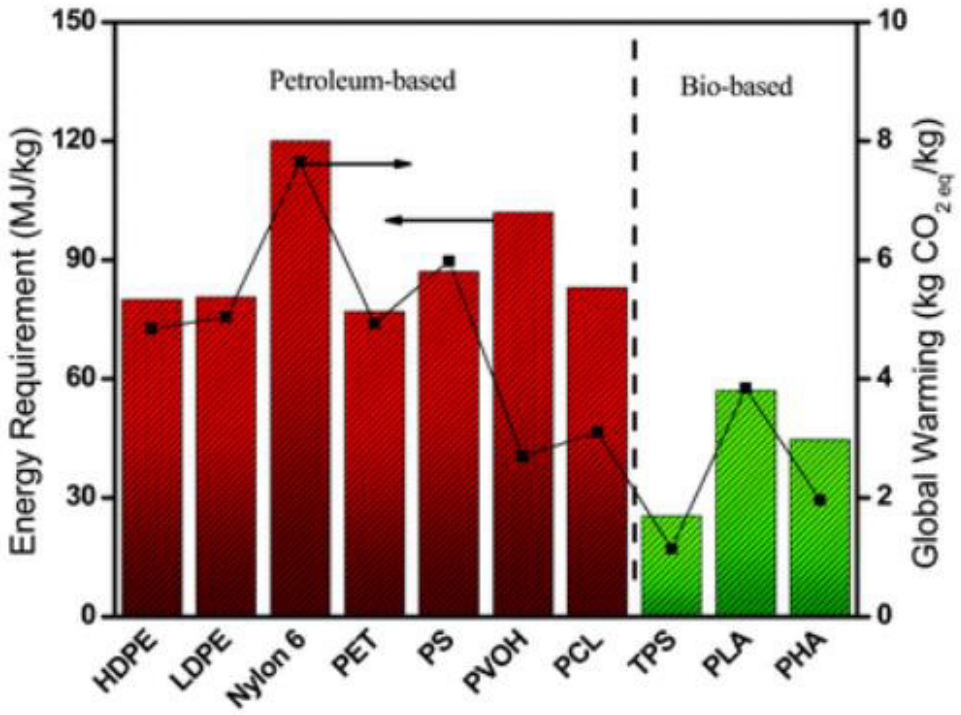
**Tabla 2.** *Vida útil, tiempo de degradación de plásticos convencionales con los polihidroxialcanoatos.*

| Plástico | Aplicaciones | Tiempo de uso (años) | Tiempo de degradación (años) |
|---|---|---|---|
| PET (tereftalato de polietileno) | Botellas y otros recipientes de plásticos | 1 - 3 | 500 - 1000 |
| HDPE (polietileno de alta densidad) | Tuberías y botellas | 5 – 35 | 250 - 5000 |
| LDPE (polietileno de alta densidad) | Envoltorios y bolsas de plástico | 1 – 3 | 150 |
| PVC (cloruro de polivinilo) | Tuberías y otros usos en la construcción | 35 | >1000 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| PP (polipropileno) | Textiles, embalajes y componentes de automoción | 5 - 15 | 50 - 800 |
| PHA (polihidroxialcanoatos) | Bolsas, embalajes e implantes médicos | - | <1 |

*Nota.* Información extraída de *Una revisión de polihidroxialcanoatos: caracterización, producción y aplicación a partir de residuos* de Getino et al., 2024.

**Figura 8.** *Energía de producción y emisiones de $CO_2$ de polímeros derivados del petróleo y de origen biológico.*




*Nota.* Extraído de *Revisión de los avances recientes en la biodegradabilidad de los bioplásticos de PHA y sus compuestos* de Meereboer et al., 2020.

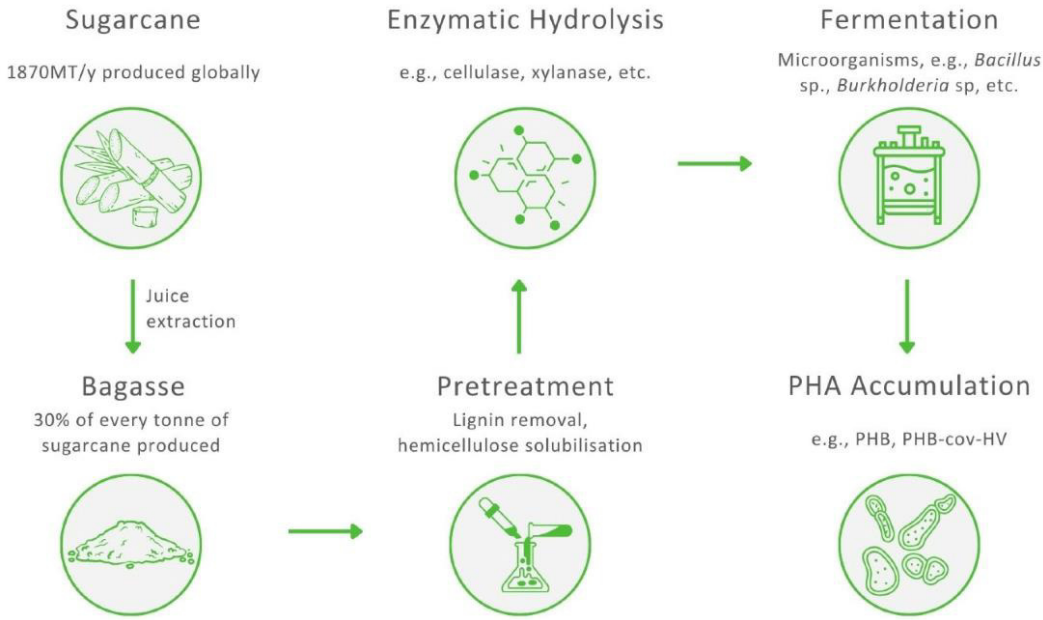
### 2.2.4 Residuo agroindustrial: Bagazo de caña de azúcar

El bagazo de caña de azúcar es el residuo fibroso que se genera tras la extracción del jugo durante la producción de azúcar o etanol. Se trata de una biomasa lignocelulósica abundante en países agroindustriales cañeros y tradicionalmente se destina a la combustión in situ para generación de vapor y energía térmica. Sin embargo, debido a su elevado contenido de polisacáridos estructurales, este subproducto ha adquirido creciente relevancia como materia prima para la obtención de biocombustibles y biopolímeros dentro de esquemas de biorrefinería. Desde el punto de vista composicional, el bagazo está constituido mayoritariamente por celulosa (40–50%), hemicelulosa (20–40%) y lignina (10–40%), además de fracciones menores de extractivos y cenizas (Zytner et al., 2023).

En la actualidad, los residuos provenientes de biomasa lignocelulósica, tales como el bagazo de caña de azúcar, el maíz, la paja de arroz, la madera y el trigo, se consideran como las principales materias primas para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA). Además, estos materiales representan una opción económicamente accesible y ambientalmente responsable para fabricar biopolímeros a gran escala y a bajo costo, lo que permite competir de manera favorable frente a los polímeros derivados del petróleo (Guancha et al.,2021).

Aunque existen desafíos técnicos asociados (variabilidad composicional, inhibidores y necesidad de pretratamiento), los avances recientes en biorrefinería permiten vislumbrar su aprovechamiento a escala industrial como fuente de carbono sostenible para la síntesis de PHA.

**Figura 9.** *Proceso de producción de PHA a partir de bagazo de caña de azúcar.*

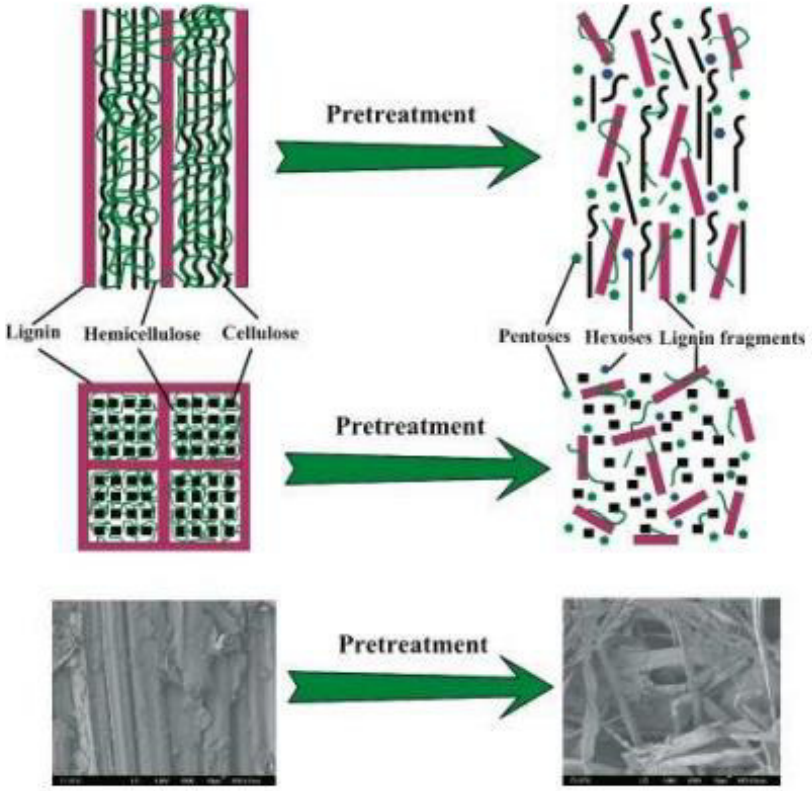



*Nota.* Extraído de *Valorización del bagazo de caña de azúcar para la producción sostenible de polihidroxialcanoatos* de Getino et al., 2024.

### 2.2.5 Tipos de pretratamiento aplicados al bagazo de caña de azúcar

El propósito del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica es modificar o remover aquellas estructuras químicas, principalmente asociadas a la lignina, que interfieren con la sacarificación. Esta etapa facilita la ruptura de las cadenas de celulosa y hemicelulosa, aumentando tanto la velocidad de su hidrólisis como la cantidad de azúcares fermentables obtenidos (Guancha et al.,2021).

**Figura 10.** *Consecuencias del pretratamiento.*




*Nota.* Extraído de *Valorización de bagazo de la industria cervecera mediante su transformación en biocombustibles avanzados: biobutanol* de Plaza et al., 2017.

En la producción de PHA a partir de biomasa lignocelulósica, los carbohidratos presentes se transforman en monómeros de azúcar mediante acción enzimática, los cuales son luego fermentados por bacterias para sintetizar los biopolímeros. Dada la compleja estructura formada por celulosa, hemicelulosa y lignina, la biomasa presenta alta recalcitrancia, lo que hace necesario un pretratamiento previo. Este paso permite mejorar la accesibilidad de las enzimas a la celulosa y maximizar la liberación de azúcares, incrementando así la eficiencia de la fermentación (Zytner et al., 2023).

**a) Pretratamiento físico**

El pretratamiento mecánico de la biomasa lignocelulósica implica la reducción del tamaño de las partículas mediante molienda, lo cual disminuye la cristalinidad de la celulosa y

reduce el grado de polimerización. Esta disminución de tamaño aumenta la superficie disponible para la acción enzimática, favoreciendo la hidrólisis. Dependiendo de la biomasa, el tipo y la duración del molido, se han observado incrementos en el rendimiento de hidrólisis de entre un 5 y un 25%, así como reducciones en el tiempo de proceso de entre un 23 y un 59%. No obstante, cuando el tamaño de partícula se reduce por debajo de 0,425 mm, los beneficios sobre la eficiencia y velocidad de hidrólisis son mínimos (Plaza et al., 2017).

**b) Pretratamiento ácido**

Los pretratamientos ácidos tienen como objetivo principal solubilizar la hemicelulosa, especialmente el xilano. Pueden realizarse con ácidos diluidos, a temperaturas moderadas (120–160 °C) y presiones medias, o con ácidos concentrados a temperaturas más bajas (40–100 °C). Durante el proceso, la hemicelulosa se hidroliza, liberando oligómeros que pueden convertirse en monómeros y compuestos como furfural y HMF. La lignina tiende a condensarse y precipitar rápidamente, efecto que se intensifica con mayor concentración de ácido (Plaza et al., 2017).

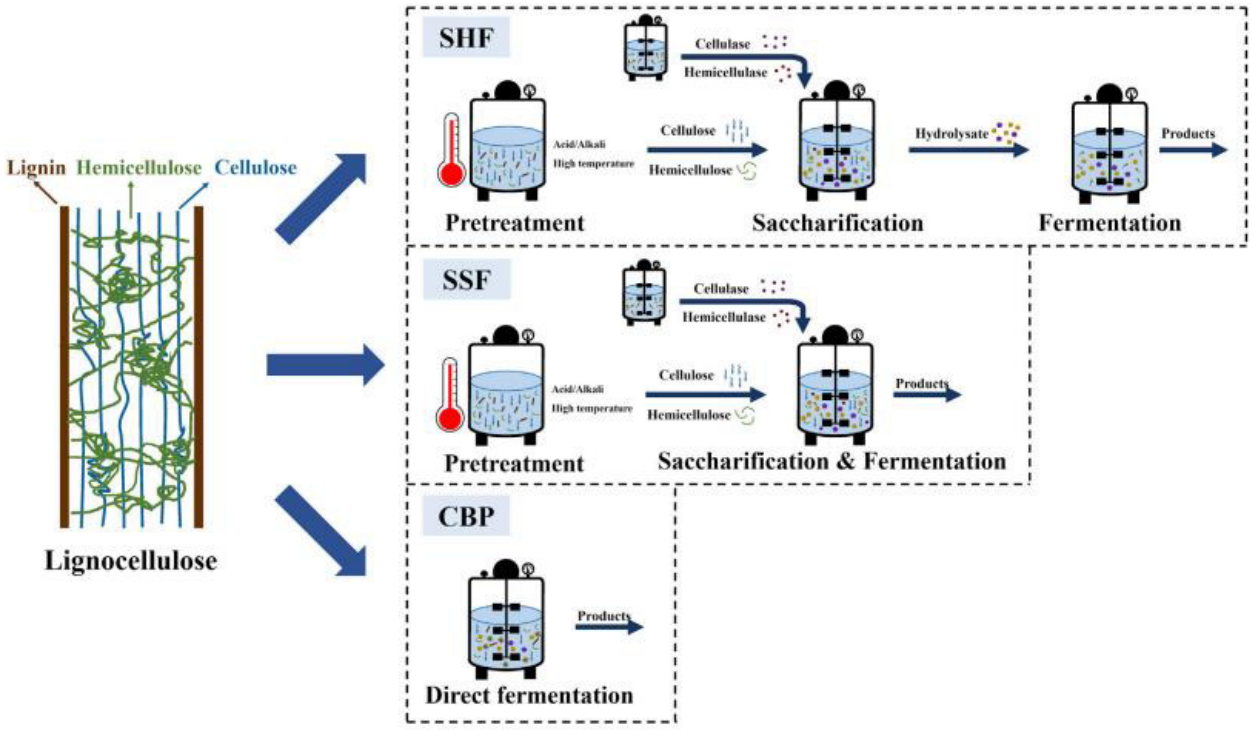
**c) Pretratamiento alcalino**

Los pretratamientos alcalinos, realizados a temperaturas de 30 a 130 °C y presiones bajas o moderadas, inducen inicialmente procesos de solvatación y saponificación, provocando que la biomasa se hinche y sea más accesible para enzimas y microorganismos. A concentraciones altas de compuestos alcalinos, pueden ocurrir desprendimientos de grupos terminales y degradación de polisacáridos, lo que facilita procesos posteriores pero también genera pérdida de azúcares. Además, estos tratamientos pueden afectar la lignina y la celulosa cristalina mediante solubilización, redistribución, condensación o modificaciones estructurales, efectos que en algunos casos pueden disminuir o revertir los beneficios de la eliminación de lignina y del hinchado de la celulosa (Plaza et al., 2017).

### d) Pretratamiento biológico

En los pretratamientos de tipo biológico, la lignina y la hemicelulosa son degradadas por microorganismos especializados, principalmente hongos de pudrición parda y blanca. Los hongos pardos atacan sobre todo la celulosa, mientras que los de pudrición blanca pueden descomponer tanto la lignina como la celulosa. En este último grupo, la degradación lignínica se lleva a cabo mediante enzimas como peroxidasas y lacasas, que permiten romper de manera eficiente la estructura del polímero (Plaza et al., 2017).

**Figura 11**. *Modelos de producción de 3 procesos de bioconversión de lignocelulosa.*




*Nota.* Extraído de *Fábricas de células microbianas para la producción de plásticos biodegradables de base biológica* de Han et al., 2022.

### 2.2.6 Hidrólisis y sacarificación

Luego del pretratamiento, se realiza la hidrólisis enzimática para descomponer los polímeros en monómeros utilizables por las bacterias.

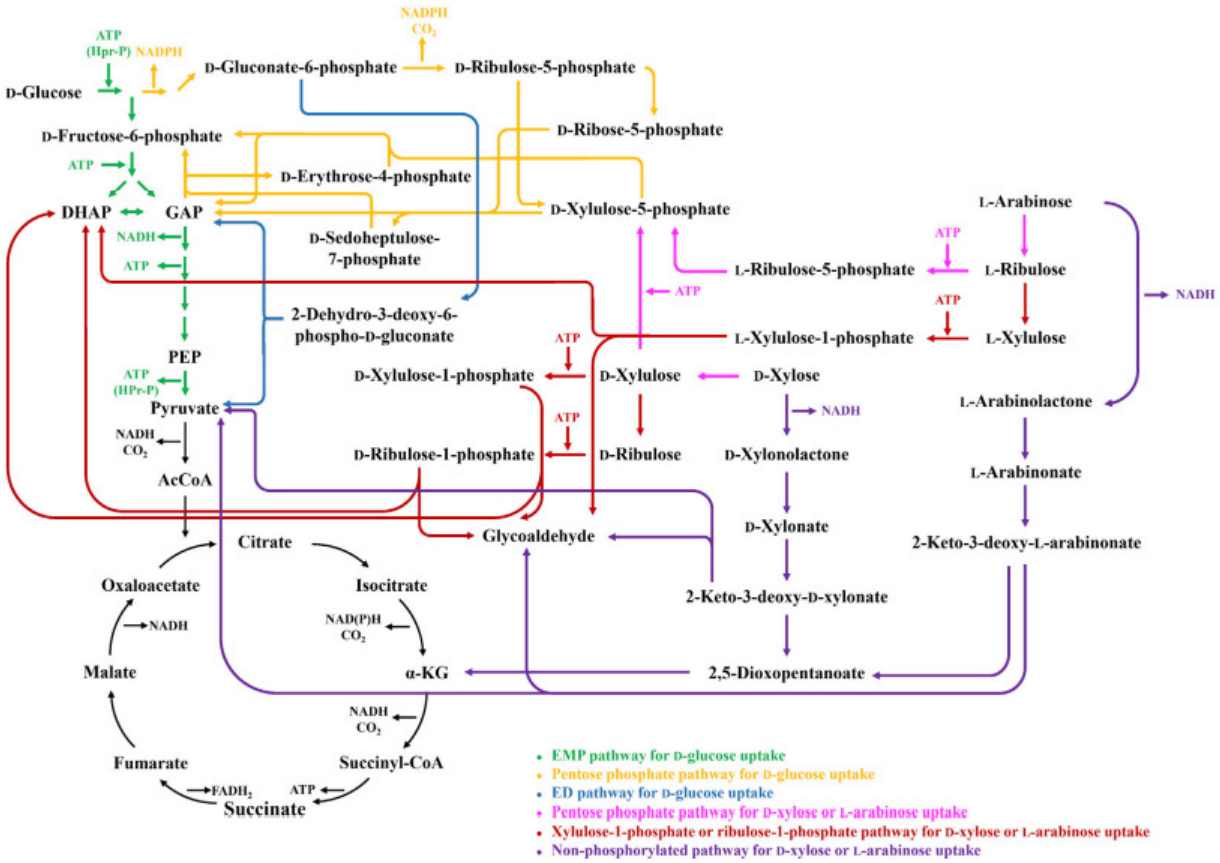
**Tabla 3.** *Enzimas involucradas*

| Enzima | Sustrato | Producto principal |
|---|---|---|
| Celulasa (endo/exo-glucanasas) | Celulosa | Glucosa |
| β-glucosidasa | Celobiosa | Glucosa |
| Xilanasa | Hemicelulosa (xilano) | Xilosa |
| Arabinofuranosidasa | Hemicelulosa | Arabinosa |

*Nota.* Obtenido de *Bioconversión de las puntas de la caña de azúcar en bioetanol y otros productos de valor añadido: Una visión general* de Khaire et al., 2021.

La hidrólisis enzimática ocurre en un sistema heterogéneo donde las enzimas deben interactuar directamente con el material sólido. Para llevar a cabo su función, estas moléculas deben desplazarse hasta la superficie de las partículas, atravesar estructuras que dificultan su acceso como la lignina, unirse al sustrato y finalmente romper los enlaces que permiten la degradación. La eficiencia de este proceso depende de múltiples propiedades del material, entre ellas su nivel de cristalinidad, el tamaño y longitud de sus polímeros, la porosidad y la proporción de lignina y hemicelulosa presentes.

**Figura 12.** *Principales vías de utilización de carbohidratos de la D-glucosa, la D-xilosa y la L-arabinosa*




*Nota.* Extraído de *Fábricas de células microbianas para la producción de plásticos biodegradables de base biológica* de Han et al., 2022.

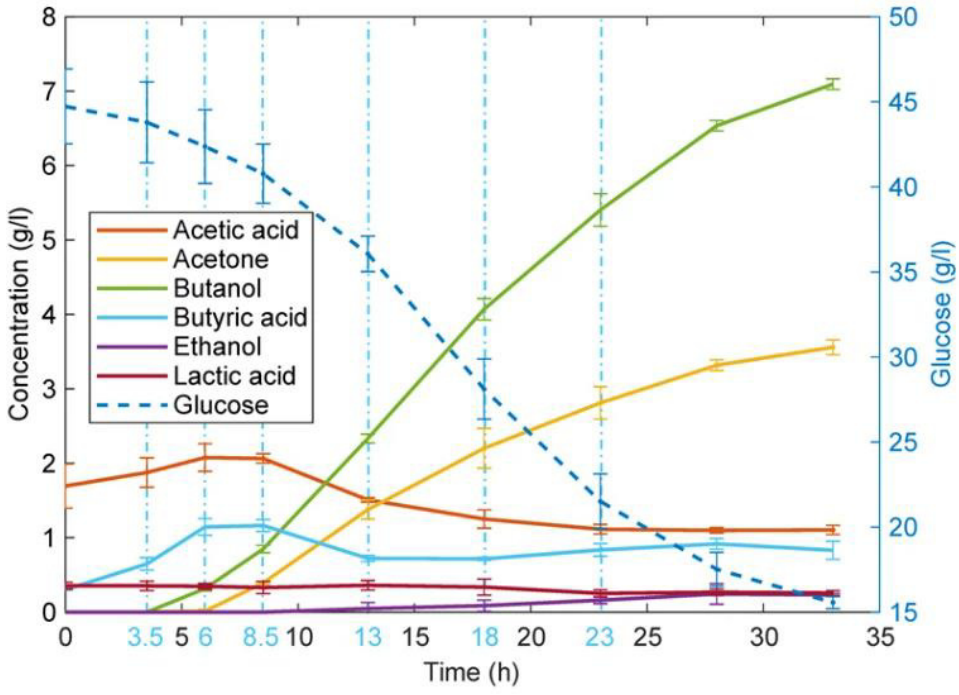
### 2.2.7 Fermentación bacteriana anaeróbica y microorganismo productor: *Clostridium beijerinckii*

*Clostridium beijerinckii* es una bacteria Gram positiva, formadora de esporas y estrictamente anaerobia, perteneciente al grupo de los clostridios solventogénicos. Morfológicamente corresponde a un bacilo móvil gracias a la presencia de flagelos peritricos. Tiene capacidad de fermentar residuos lignocelulósicos transformándolos en ácidos grasos volátiles (VFAs).

Su metabolismo fermentativo presenta un comportamiento bifásico característico: en la fase acidogénica inicial, los azúcares se convierten principalmente en ácidos acético y butírico, proceso en el cual se genera ATP; posteriormente, cuando el pH del medio disminuye hasta aproximadamente 5,0 debido a la acumulación de estos ácidos, se desencadena la transición a la fase solventogénica, donde los ácidos son reasimilados y convertidos en butanol, acetona y etanol mediante rutas reductivas asociadas a la fermentación (Shi et al., 2008).

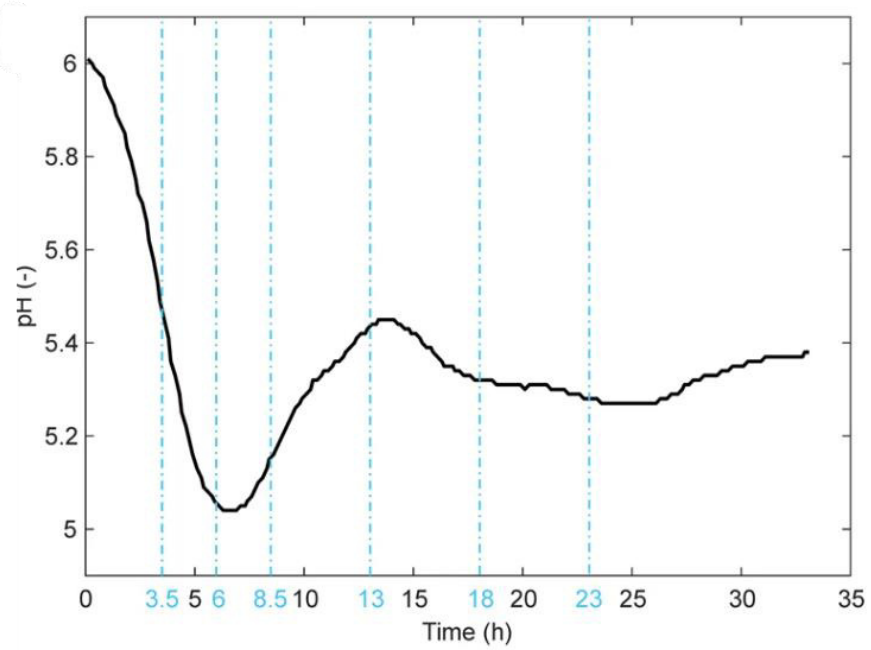
Esta transición metabólica está fuertemente condicionada por el pH y por el estado fisiológico del cultivo, ya que el descenso de pH actúa como señal que induce el cambio de fase y, posteriormente, la esporulación.

**Figura 13.** *Concentración de glucosa y metabolitos en el medio empleando Clostridium beijerinckii.*



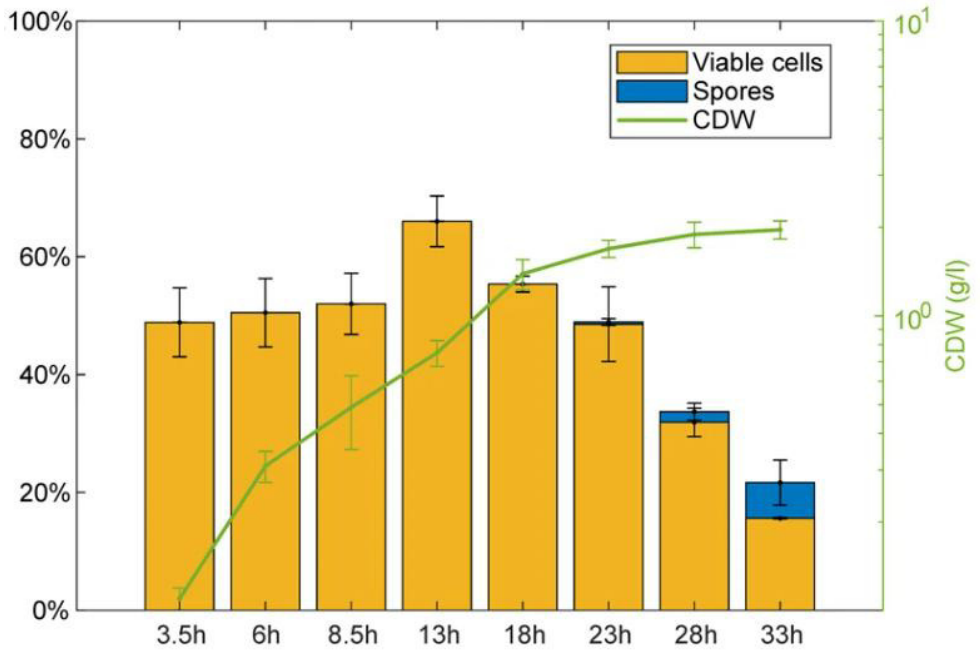

*Nota.* Extraído de *Acidogénesis, solventogénesis, respuesta al estrés metabólico y cambios en el ciclo de vida de Clostridium beijerinckii NRRL B-598 a nivel transcriptómico* de Patakova, et al., 2019.

**Figura 14.** *Evolución del pH.*




*Nota.* Extraído de *Acidogénesis, solventogénesis, respuesta al estrés metabólico y cambios en el ciclo de vida de Clostridium beijerinckii NRRL B-598 a nivel transcriptómico* de Patakova et al., 2019.

**Figura 15.** *Porcentaje de células activas (viables) y esporas formadas, según el análisis de citometría de flujo y la curva de crecimiento representada por el peso seco celular.*

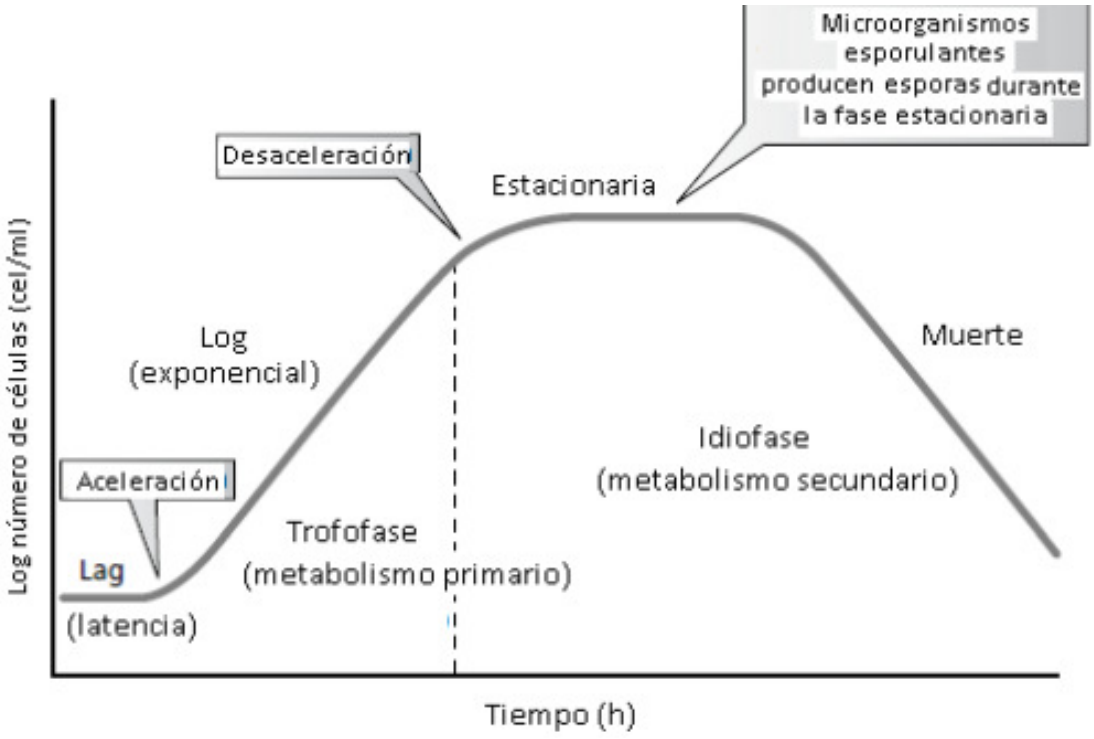


*Nota.* Extraído de *Acidogénesis, solventogénesis, respuesta al estrés metabólico y cambios en el ciclo de vida de Clostridium beijerinckii NRRL B-598 a nivel transcriptómico* de Patakova, et al., 2019.

### 2.2.8 Crecimiento de las bacterias

En los cultivos bacterianos por lote, las células pasan por varias fases. Primero ocurre una etapa de adaptación, en la que la población aún no aumenta pero la actividad metabólica es intensa. Luego inicia un crecimiento rápido y sostenido, donde la biomasa se duplica a ritmo constante. A medida que los nutrientes se consumen, la velocidad de crecimiento disminuye hasta llegar a una fase estable, en la que la formación de nuevas células se equilibra con la muerte celular. Finalmente, cuando los recursos internos también se agotan, la población entra en declive. Para mantener condiciones uniformes, el sistema debe agitarse de forma constante, y la tasa de extracción debe ajustarse para que coincida con la velocidad de crecimiento celular (Martínez, 2010).

**Figura 16.** *Fases del crecimiento celular de un cultivo en batch*



*Nota.* Extraído de *Microbiología industrial: Una introducción* de Waites et al., 2001.

La fermentación anaeróbica es un proceso en el que la materia orgánica se degrada sin la presencia de oxígeno. Durante esta transformación se genera un biogás compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono, acompañado de pequeñas cantidades de otros gases y de ácidos grasos volátiles que se forman dentro del reactor. Este tipo de tratamiento se utiliza desde hace años en distintos países desarrollados para estabilizar y aprovechar los desechos orgánicos producidos tanto en zonas agrícolas como en áreas urbanas (Osman, 2014).

En este contexto, la producción de PHA surge como una estrategia fisiológica de almacenamiento de carbono y reservorio de poder reductor, aprovechada biotecnológicamente para inducir la acumulación del biopolímero bajo condiciones controladas. En consecuencia, la fermentación anaeróbica no es solamente la vía mediante la cual se transforma el azúcar del bagazo en metabolitos finales, sino también la plataforma regulatoria que permite controlar la competencia metabólica entre rutas y redirigir el flujo hacia la bioproducción de PHA.

### 2.2.9 Metabolismo bacteriano en la síntesis de PHA bajo condiciones anaeróbicas.

La producción de bioplásticos tipo PHA a partir de residuos lignocelulósicos como el bagazo de caña de azúcar se optimiza mediante una ruta biotecnológica de tres fases o etapas secuenciales, diseñada para maximizar el aprovechamiento del carbono y mejorar la eficiencia del proceso de fermentación.

**a) Etapa 1 y 2: Fermentación acidogénica y solventogénica anaeróbica con *Clostridium beijerinckii***

Según Lin et al., 2023 y Castro, K., 2025 indican lo siguiente:

Durante la fase acidogénica se generan principalmente ácido acético y butírico. La bacteria utiliza la glicólisis para degradar los azúcares y producir piruvato, el cual es

transformado en acetil-CoA por la enzima piruvato-ferredoxina oxidorreductasa. El acetil-CoA funciona como un nodo central que dirige el metabolismo: puede seguir la ruta de la tiolasa para formar ácidos grasos volátiles como el acético y el butírico o bien derivarse hacia la producción de subproductos gaseosos como hidrógeno ($H_2$) y dióxido de carbono.

Esta fase coincide con el crecimiento exponencial del microorganismo y es una fuente importante de ATP, energía necesaria para la proliferación celular. La generación de ácido acético está regulada por las enzimas fosfato acetiltransferasa y acetato quinasa, mientras que la síntesis de ácido butírico depende de la actividad de butirato quinasa y fosfato butiriltransferasa. Conforme estos compuestos se acumulan, el pH del medio desciende progresivamente. Cuando alcanza un valor cercano a 4,5, la célula entra en una etapa de transición que desencadena el cambio hacia la fase solventogénica, fuertemente influido por esta disminución del pH.

La acumulación de ácidos orgánicos también altera el equilibrio de protones, ya que estos compuestos atraviesan la membrana celular y se disocian dentro del citoplasma. Para contrarrestar este efecto, la célula convierte dichos ácidos en acetil-CoA y butiril-CoA, mientras continúa metabolizando los sustratos disponibles para producir butanol, acetona y etanol. Elementos como la respuesta al estrés, la regulación de las rutas metabólicas y las condiciones de cultivo determinan cómo y cuándo ocurre el paso de la acidogénesis a la solventogénesis.

Estos VFAs obtenidos se acumulan en el medio de cultivo y constituyen el principal sustrato para la etapa siguiente, actuando como intermediarios metabólicos para la biosíntesis de biopolímeros.

*Reacción simplificada:*

$$Glucosa \rightarrow 2\,Acetato + 2\,CO_2 + 4H_2$$

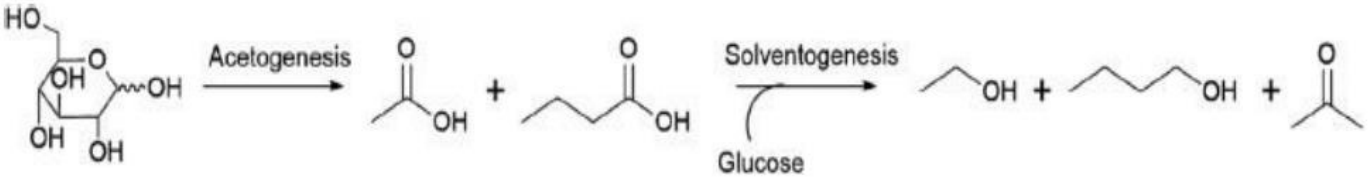
$$Glucosa \rightarrow Butirato + 2\,CO_2 + 2H_2$$

En la siguiente etapa, la solventogénica, los ácidos generados previamente se convierten en distintos solventes, entre ellos acetona, butanol y etanol. El ácido butírico es reducido primero a butiraldehído y luego transformado en butanol mediante la acción de las enzimas butiraldehído deshidrogenasa y butanol deshidrogenasa. Por otro lado, parte del acetil-CoA puede dirigirse hacia la síntesis de acetoacetato, el cual finalmente se transforma en acetona por un proceso de descarboxilación.

Para la producción de etanol, el piruvato es procesado a través de rutas enzimáticas que involucran alcohol deshidrogenasas. Los compuestos esenciales en esta fase acetil-CoA, butiril-CoA y acetoacetil-CoA alimentan directamente la formación de etanol, butanol y acetona. Los aldehído/alcohol deshidrogenasas (Adh) son responsables de la conversión hacia los alcoholes, mientras que la generación de acetona depende de la acetoacetil-CoA transferasa (CTFAB) y de la acetoacetil-CoA descarboxilasa, liberando $CO_2$ en el proceso. Además, la producción de acetona está relacionada con la reutilización de los ácidos orgánicos, y si esta vía se inhibe, también disminuye la formación de los alcoholes.

Conforme el cultivo se acerca al final de la fermentación, la acumulación de productos sobre todo butanol junto con la reducción de nutrientes provoca estrés en las células. Debido a la toxicidad de estos compuestos y al entorno desfavorable, los microorganismos comienzan a formar esporas, lo que marca la culminación del proceso fermentativo.

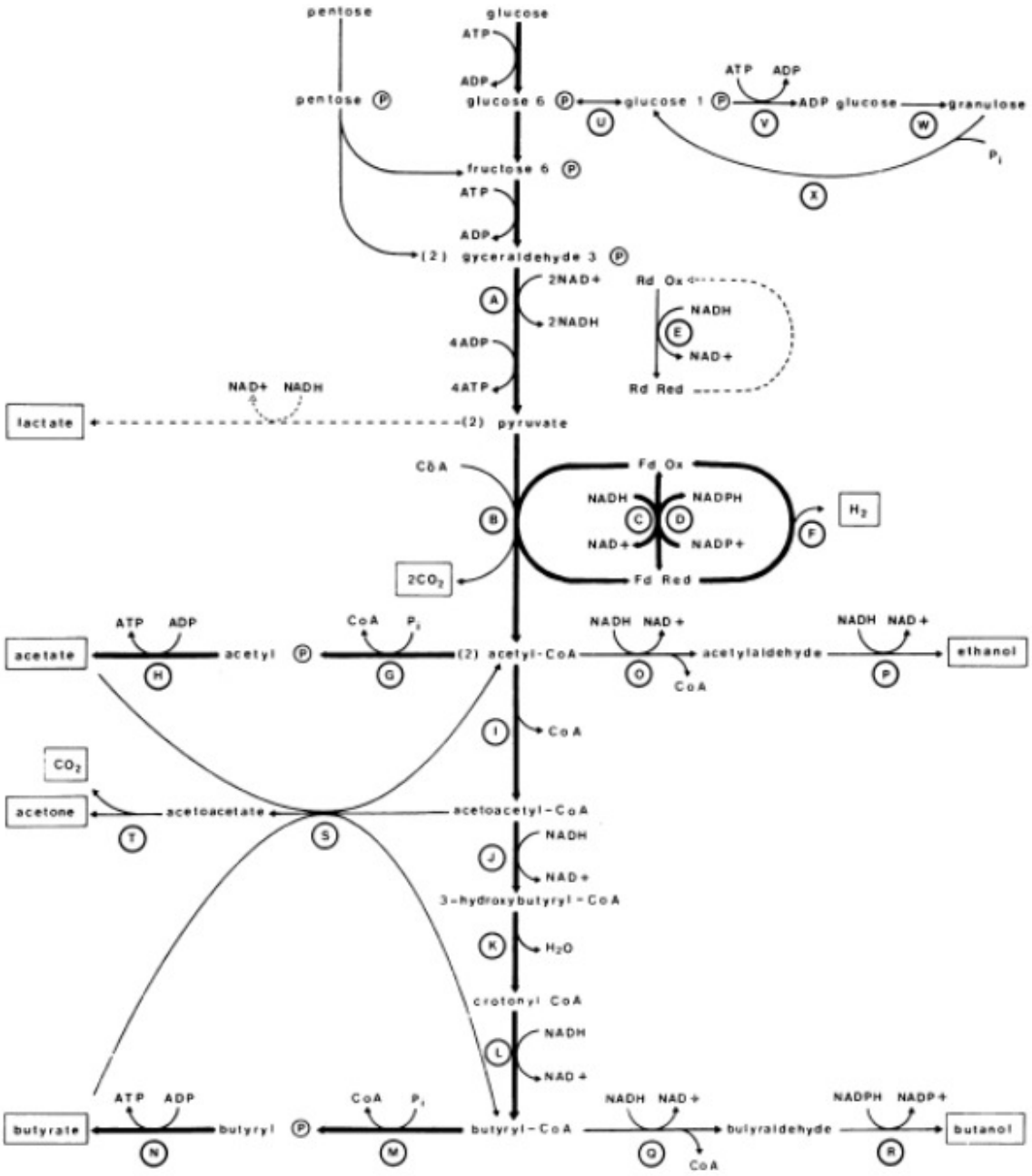
**Figura 17.** *Diagrama de fermentación ABE, acetogénesis, y solventogénesis.*



*Nota.* Obtenido de *Evaluación de bacterias fermentadoras abe de suelo rizosférico para producción de solventes* de Castro, K., 2025.

Los azúcares presentes en el sustrato primero se convierten en ácidos orgánicos, como el acético y el butírico. Luego, tanto los azúcares restantes como esos ácidos se transforman en una combinación de acetona, butanol y etanol, cuyo rendimiento depende de la cantidad de células disponibles en el medio de cultivo (Castro, 2025).

**Figura 18**. *Ruta metabólica.*



*Nota.* Obtenido de *Revisión de la fermentación de acetona-butanol* de Jones, D., 1986.

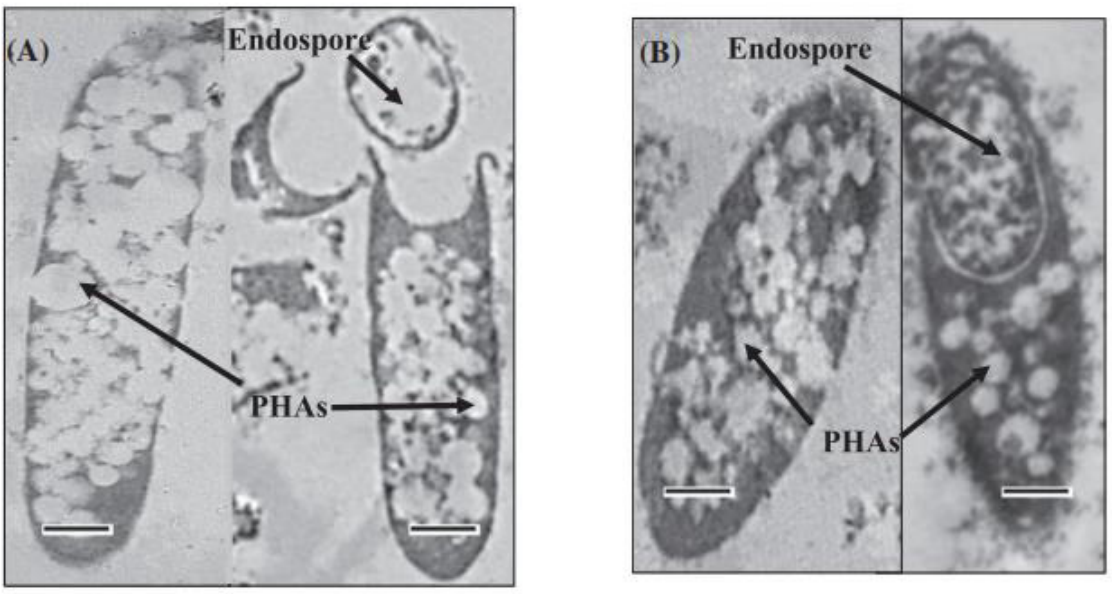
**b) Etapa 3: Biosíntesis de PHA**

En la segunda fase del proceso, los ácidos grasos volátiles (VFAs) generados durante la etapa anterior se emplean como fuente de carbono para la síntesis de polihidroxialcanoatos (PHA) por bacterias acumuladoras. En condiciones de limitación de nutrientes esenciales, como nitrógeno o fósforo, y con un exceso de carbono disponible, estas bacterias redirigen el flujo metabólico hacia la formación de polímeros de reserva en lugar de biomasa.

Durante la biosíntesis, los VFAs son transformados en unidades de acetil-CoA o propionil-CoA, que luego son polimerizadas por la acción secuencial de las enzimas β-cetotiolasa, acetoacetil-CoA reductasa y PHA sintasa. El polímero resultante se acumula intracelularmente en forma de gránulos, constituyendo una reserva energética y de carbono, pudiendo obtenerse bioplásticos con propiedades mecánicas y térmicas diversas. Estos polímeros presentan alta biodegradabilidad y biocompatibilidad, lo que los hace atractivos para aplicaciones médicas, agrícolas y de envasado (Tan et al.,2014).

**Figura 19.** *Micrografías de microscopía electrónica de transmisión (MET) de secciones ultrafinas que muestran la acumulación de (PHA) y la formación de endosporas dentro de las*

*células de Clostridium beijerinckii ASU10 cultivado con diferentes fuentes de carbono.*




*Nota.* Obtenido de *Producción de butanol y polihidroxialcanoato a partir de residuos industriales por Clostridium beijerinckii ASU10* de Hassan et al., 2019.

*Reacción global simplificada:*

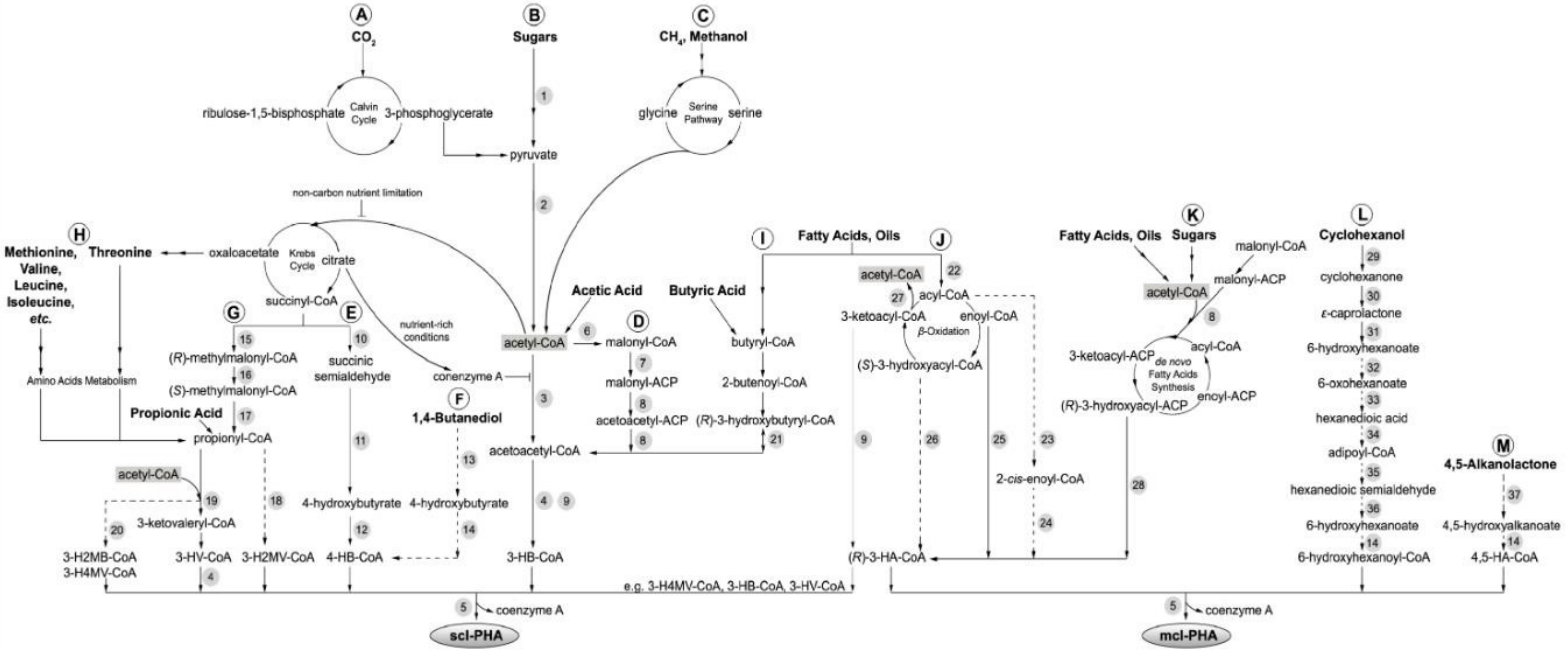
$$n(3-hidroxibutiril-CoA) \rightarrow (O-CH(CH_3)-CH_2-CO)_n + n\,CoA$$

Representa la reacción global de polimerización enzimática para la formación del poli(3-hidroxibutirato) (PHB), uno de los tipos más comunes de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de su monómero activo 3-hidroxibutiril-CoA.

El producto resultante se acumula en forma de gránulos intracelulares visibles bajo microscopía de fluorescencia, y puede ser posteriormente extraído mediante disolventes o rupturas celulares para su purificación.

Además, los subproductos gaseosos ($CO_2$, $H_2$) pueden valorizarse en otras rutas bioenergéticas, contribuyendo a un sistema de economía circular

**Figura 20.** *Rutas biosintéticas de PHA.*



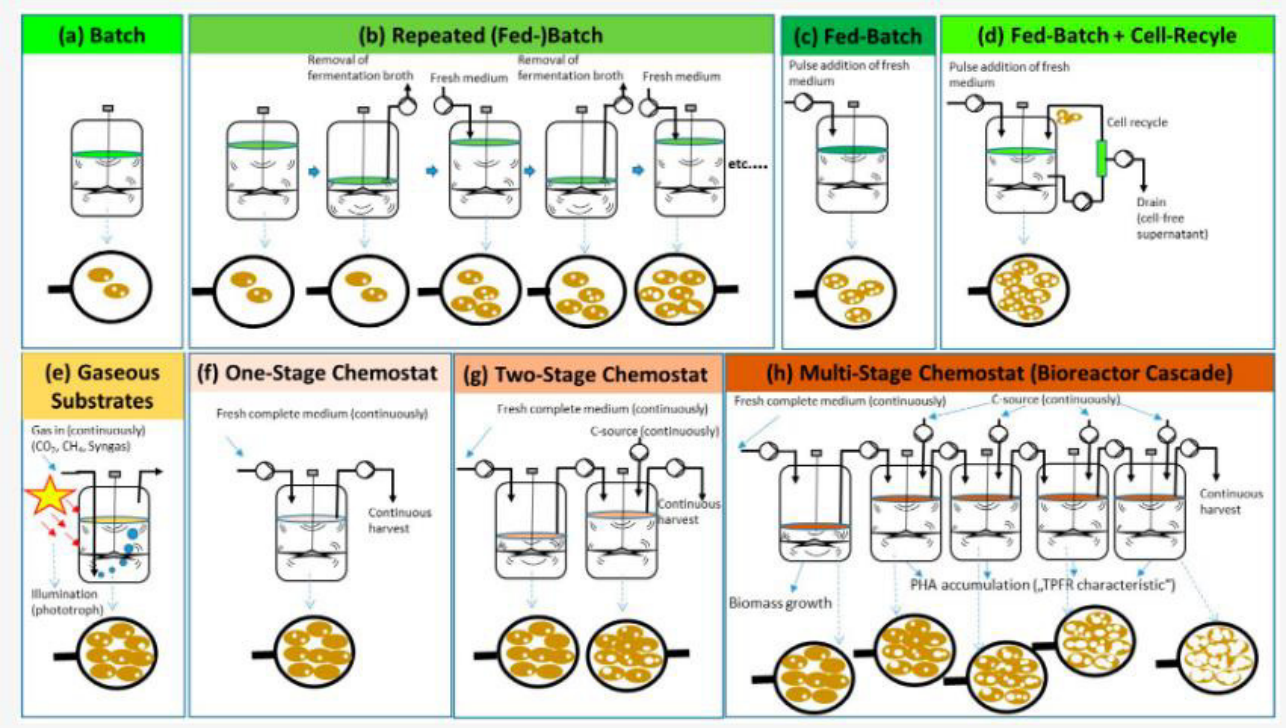

*Nota.* Obtenido de *Inicie una investigación sobre el biopolímero polihidroxialcanoato (PHA): una revisión* de Tan et al., 2014..

Asimismo, se indica que según estudios experimentales se obtuvo un rendimiento máximo de por ejemplo de PHB del 92 % (Guancha et al., 2021).

### 2.2.10 Reactor batch con agitación

Las fermentaciones, dentro del ámbito industrial, consisten en cultivar grandes volúmenes de microorganismos o células dentro de un equipo especialmente diseñado. Este equipo, conocido como fermentador o biorreactor, se adapta al tipo de organismo que crecerá en él. Según el proceso, puede trabajar con células animales, vegetales, fúngicas o bacterianas, y con sistemas que requieren o no la presencia de oxígeno, o incluso con organismos que obtienen energía de la luz o de compuestos orgánicos (Martinez, 2010).

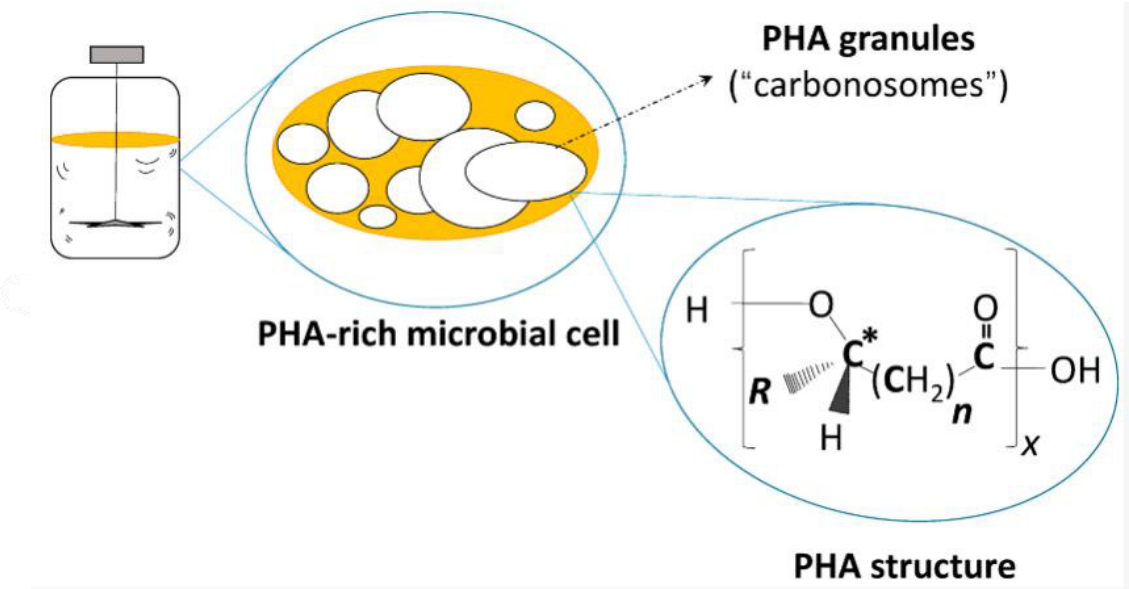
**Figura 21.** *Biorreactores para la biosíntesis de PHA operados de forma diferente.*




*Nota.* Obtenido de *Revisión de esquemas de fermentación establecidos y emergentes para la producción microbiana de biopoliésteres de polihidroxialcanoato (PHA)* de Koller, M., 2018.

Los biorreactores también pueden organizarse según la forma en que operan. Uno de los sistemas más comunes es el modo batch o discontinuo. En este tipo de procesos, el reactor se carga con una mezcla que contiene todos los nutrientes necesarios para que los microorganismos crezcan y se desarrollen. La operación inicia añadiendo una cantidad definida de microorganismos, y conforme avanza la fermentación, cambian las concentraciones de células, nutrientes y productos. El ciclo finaliza cuando los microorganismos han consumido todo el sustrato disponible. Entre sus principales beneficios se encuentran el bajo riesgo de contaminación y el reducido costo asociado a su diseño y construcción (Gil, L y León, C., 2021).

**Figura 22.** *Célula microbiana rica en PHA en un biorreactor esquemático y la estructura química general del PHA*




*Nota.* Obtenido de *Revisión de esquemas de fermentación establecidos y emergentes para la producción microbiana de biopoliésteres de polihidroxialcanoato (PHA)* de Koller, M., 2018.

Durante la fermentación anaerobia, la agitación cumple un papel esencial en el mantenimiento de la homogeneidad del medio y en la transferencia de masa y calor. Una adecuada velocidad de agitación evita gradientes de concentración y pH, asegura que las células permanezcan suspendidas y facilita la eliminación de gases producidos ($CO_2$ y $H_2$), los cuales, si se acumulan, pueden modificar las condiciones redox del sistema.

En síntesis, el reactor batch con agitación representa el modelo de referencia para la producción de PHA mediante fermentación anaerobia, al ofrecer un sistema cerrado, homogéneo y controlable que facilita el estudio de la interacción entre los factores fisicoquímicos y el metabolismo microbiano.

### 2.2.11 Influencia de variables

A nivel teórico, se puede observar cómo varían las variables con relación a la obtención de un estimado de 100% del PHA.

**a) pH**

El pH es un factor clave en la producción de PHA, ya que afecta directamente la actividad enzimática y el metabolismo celular.

El pH del medio de fermentación debe mantenerse en un rango dependiendo de la fase en la que se encuentre la ruta metabólica, por lo general pH entre 5,5 y 6,5 es el ideal ya que no inhibe el crecimiento bacteriano en sus distintas fases (Castro, 2025).

**b) Temperatura**

La temperatura determina la velocidad de crecimiento microbiano y la cinética de las enzimas relacionadas con la síntesis del PHA.

Su crecimiento óptimo de la cepa mesófila, como *Clostridium beijerinckii*, se produce a. a temperaturas entre 30 y 37 ° (Hasmi et al., 2020), por encima de este rango pueden alterar la estabilidad de las proteínas y reducir la eficiencia del proceso. Mantener condiciones isotérmicas mediante un control térmico adecuado es esencial para evitar variaciones que afecten el rendimiento.

**c) Relación C/N**

En la mayoría de estudios sobre acidogénesis se reconoce que estos procesos funcionan mejor cuando la proporción entre carbono y nitrógeno se mantiene dentro de un rango moderado. Por lo general, valores situados aproximadamente entre 20:1 y 30:1 permiten un desempeño adecuado de la actividad acidogénica (Sekoaia et al., 2023). Asimismo, valores de C/N mayores a 20, induce una acumulación de PHA.

**d) Tiempo de fermentación**

El tiempo de cultivo influye en las etapas de crecimiento y acumulación de PHA. La etapa de acidogénesis tiene un tiempo de duración de entre 12 y 18 horas (Manchado, C., 2017). En la etapa solventogénica el tiempo puede ir desde 12 a 72 horas aproximadamente (Al-

Shorgani et al., 2017). Finalmente, para la producción de PHA, el proceso podría demorar desde 24 hasta 96 horas.

**e) Concentración del sustrato**

Se considera una concentración inicial de sustrato de 50 g/L, estudios revelan que en la segunda etapa este puede llegar a ser consumido al 50% o más. No todo el sustrato será consumido, el sustrato remanente podría prevalecer entre 10–25 g/L o más. Una concentración de sustrato demasiado baja limita la formación de biomasa, mientras que un exceso puede generar inhibición por acumulación de compuestos derivados de la hidrólisis, como furfural o ácido acético.

**f) Coeficiente global de transferencia de calor**

La generación de calor metabólico durante la fermentación puede provocar incrementos de temperatura que alteren la cinética del proceso. La transferencia térmica eficiente, mediante camisas de enfriamiento o serpentines internos, permite mantener la temperatura en el rango óptimo y evitar fluctuaciones que afecten el rendimiento global.

Se considera una agitación de 200 rpm, y se emplea 100–300 $W \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$ como valor orientativo (Muller et al., 2018).

### 2.2.12 Definición de términos

- **Acidogénica:** Es una etapa de la fermentación donde materiales complejos se transforman en ácidos grasos simples mediante bacterias.
- **Solventogénica:** Fase donde algunos microorganismos generan solventes como butanol o acetona durante la fermentación.
- **Hidrólisis:** Proceso química o enzimático que descompone moléculas grandes en componentes más simples usando agua.

- **Inhibidores:** Sustancias que frenan o dificultan el crecimiento o actividad de microorganismos en un proceso biológico.
- **Recalcitrancia:** Propiedad de ciertos materiales resistentes a la degradación biológica o química.
- **Oligómeros:** Moléculas formadas por unas pocas unidades repetidas, más grandes que los monómeros pero más pequeñas que los polímeros.
- **Monómeros:** Pequeñas unidades químicas que pueden unirse para formar polímeros.
- **Ácidos grasos volátiles:** Ácidos producidos en fermentación con cadena corta, que se evaporan fácilmente y son esenciales en fermentación anaerobia.
- **Enzimas:** Proteínas que aceleran reacciones químicas, fundamentales en la descomposición y transformación en fermentación.
- **Reactor batch con agitación:** Tipo de reactor donde el proceso se realiza en etapas, con mezcla controlada para mantener uniformidad.
- **Glicólisis:** Ruta metabólica donde la glucosa se descompone para generar energía en forma de ATP.
- **Gránulos intracelulares:** Acumulaciones dentro de las células que almacenan sustancias como energía o polímeros.
- **Velocidad de agitación:** Medida de la rapidez con que se mezcla un sistema para promover homogeneidad.
- **Metabolismo celular:** Conjunto de reacciones químicas que ocurren dentro de una célula para mantenerla viva y activa.
- **Biomasa:** Material orgánico derivado de plantas, animales o microorganismos que puede ser usado como fuente de energía o materia prima.
- **NumPy**: Librería base para cálculos numéricos, rápida y optimizada gracias a que está implementada en C.

- **SciPy**: librería científica que usa NumPy como base y añade funciones avanzadas para optimización, estadística, ecuaciones diferenciales e interpolación.

# CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

En el Capítulo III, se presentan las hipótesis de los resultados que se espera obtener de la investigación; así como, las variables correspondientes.

## 3.1 Formulación de hipótesis

Se indica la hipótesis general y específicas, las cuales se verificarán en base al análisis desarrollado.

### 3.1.1 Hipótesis general

La optimización de condiciones físicas y químicas del proceso de fermentación bacteriana anaeróbica, incrementará significativamente el rendimiento de polihidroxialcanoatos (PHA) producidos a partir del bagazo de caña de azúcar.

### 3.1.2 Hipótesis específicas

a. La variación de la temperatura, pH, tiempo de fermentación, concentración de sustrato, relación carbono/nitrógeno y el coeficiente de transferencia de calor dentro de un rango óptimo favorecen significativamente la producción de PHA durante la fermentación bacteriana del bagazo de caña de azúcar, siendo posible identificar valores óptimos de estas variables que maximicen el rendimiento de biopolímero.
b. El uso de algoritmos de optimización en Python permite identificar condiciones más eficientes para maximizar la producción de PHA a partir de bagazo de caña de azúcar, en comparación con métodos tradicionales de ajuste de variables.

## 3.2 Operacionalización de variables

En la Tabla 4 se indica cuáles son los indicadores, la variable dependiente e independientes del estudio de investigación.

**Tabla 4**. *Variable dependiente y variables independientes.*

| | Variables | Definición conceptual | Indicadores |
|---|---|---|---|
| **Dependiente** | Rendimiento de PHA | Biopolímero intracelular producido por bacterias bajo condiciones de estrés nutricional. | % |
| **Independiente** | Temperatura del medio de cultivo | Condición térmica del medio de fermentación bacteriana. | °C |
| | pH del medio de fermentación | Nivel de acidez o alcalinidad del medio de cultivo. | Medición del potencial de hidrógeno. |
| | Tiempo de fermentación | Duración del proceso de fermentación anaeróbica. | Horas (h) |
| | Concentración de sustrato | Cantidad de bagazo de caña disponible como fuente de carbono. | g/L |
| | Relación C/N | Proporción entre las fuentes de carbono y nitrógeno del medio de fermentación. | C/N |

| | | |
|---|---|---|
| Coeficiente global de transferencia de calor (U) | Capacidad del sistema para transferir calor durante la fermentación | $\frac{W}{m^2.K}$ |

*Nota.* Elaboración propia.

## CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

En el capítulo IV se hace mención acerca del enfoque metodológico desarrollado en la investigación, explicando el diseño experimental, las variables de estudio, las bases procedimentales para la obtención de datos y la herramienta requerida para el logro de los resultados buscados.

### 4.1 Área de estudio

El área de estudio corresponde al campo de la biotecnología aplicada a procesos industriales, con énfasis en la optimización de bioprocesos.
La investigación se centra en el estudio del proceso de producción de PHA mediante fermentación bacteriana anaeróbica, utilizando modelamiento computacional en Python para analizar las variables de operación y determinar las condiciones que maximicen el rendimiento del biopolímero.

### 4.2 Diseño de investigación

El diseño de la presente investigación es no experimental, ya que no se manipulan las variables en un entorno físico ni se ejecutan pruebas de laboratorio. El estudio se basa en la recopilación y análisis de datos secundarios obtenidos de investigaciones previas sobre la producción de bioplásticos tipo PHA a partir de residuos agroindustriales, específicamente bagazo de caña de azúcar. A partir de estos datos, se emplean herramientas computacionales y

algoritmos desarrollados en Python para analizar las relaciones entre las variables del proceso y optimizar la producción de PHA bajo condiciones de fermentación bacteriana anaeróbica.

De esta manera, las variables son observadas tal como se presentan en los estudios originales, sin manipulación directa, con el fin de modelar y predecir el comportamiento del sistema.

### 4.2.1 Tipo de investigación

La investigación es de tipo cuantitativo, ya que se fundamenta en el manejo de datos numéricos que representan las condiciones y resultados de estudios previos sobre la producción de PHA. El enfoque cuantitativo permite obtener resultados objetivos y medibles, expresados en valores, coeficientes y modelos que facilitan la optimización del rendimiento del biopolímero.

### 4.2.2 Nivel de investigación

El nivel de la investigación es correlacional, ya que tiene como propósito determinar el grado de relación entre las variables independientes mencionadas y la producción de PHA como variable dependiente. A través del análisis estadístico y el modelado computacional en Python, se busca identificar cuáles condiciones del proceso influyen de manera más significativa en el rendimiento del bioplástico.

Este nivel es apropiado cuando se pretende analizar asociaciones y dependencias entre variables sin establecer relaciones causales directas, sirviendo como base para optimizar el proceso de producción de PHA a partir de los datos obtenidos.

## 4.3 Población y muestra

Debido a que la investigación es de tipo no experimental y se basa en el análisis de datos secundarios**,** no se cuenta con una población ni una muestra en el sentido tradicional (es decir, no se trabaja con sujetos experimentales ni unidades de observación directas).

### 4.4 Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

#### a) Procedimientos

El procedimiento seguido para la recolección y procesamiento de la información se estructuró en las siguientes etapas:

- Revisión bibliográfica y documental
- Definición de variables y estructura del modelo
- Optimización y generación de datos
- Procesamiento y análisis estadístico

El estudio inicia con la recopilación exhaustiva de datos históricos bibliográficos y técnicos de investigaciones previas sobre fermentación bacteriana para producción de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de residuos agroindustriales, principalmente bagazo de caña de azúcar. Estos datos incluyen variables físicas y químicas significativos como temperatura, pH, tiempo de fermentación, concentración de sustrato, relación C/N y coeficiente global de transferencia de calor.

Se realiza una selección cuidadosa y validación de fuentes confiables para garantizar la calidad y pertinencia de la información. Esta validación implica revisar la congruencia de los datos y descartar registros incompletos o inconsistentes.

Para la organización y manejo de esta información se emplean herramientas computacionales y análisis estadístico, así como programación en Python para modelar y optimizar las condiciones del proceso fermentativo.

El análisis incluye la aplicación de técnicas estadísticas, como el análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la velocidad de agitación del reactor en base a la influencia de las variables sobre la producción de PHA.

Así, el procedimiento metodológico se centra en la recopilación y tratamiento riguroso de la información secundaria, complementada con análisis estadístico y computacional, para desarrollar un modelo de optimización del proceso fermentativo en la producción de PHA.

Para garantizar la validez del modelo no experimental basado en datos secundarios, se deben cumplir ciertos requisitos metodológicos esenciales:

**Tabla 5.** *Requisitos metodológicos.*

| Requisito | Descripción | Incumplimiento |
|---|---|---|
| Calidad, consistencia y completitud de los datos secundarios | Los valores extraídos deben provenir de estudios confiables, presentar rangos coherentes y estar correctamente documentados. | Si no se cumple, pueden generarse modelos inestables, tendencias irreales o estimaciones sin validez técnica. |
| Homogeneidad metodológica entre las fuentes | Las investigaciones consultadas deben tener condiciones experimentales comparables (pH, sustratos, microorganismos, escalas de fermentación). | Si no se cumplen, los parámetros pueden mezclarse con sesgos ocultos o incompatibilidades entre estudios. |

| Requisito | Descripción | Incumplimiento |
|---|---|---|
| Definición clara de las variables del modelo matemático | Cada variable debe estar estandarizado con unidades homogéneas y rangos definidos. | Si no se cumple, aparecen errores dimensionales, sobreajustes o pérdida de significado físico de los resultados. |
| Estructura interna coherente del modelo de simulación | El modelo debe respetar la dinámica real de las tres fases metabólicas: acidogénesis, solventogénesis y síntesis de PHA. | Si no se cumple, se generan discontinuidades, curvas planas o comportamientos biológicos irreales. |
| Control de error y análisis de sensibilidad | Es indispensable verificar cómo responde el modelo ante variaciones pequeñas de cada parámetro | Si no se cumple, los resultados pueden ser demasiado rígidos (partes constantes) o excesivamente volátiles. |

*Nota.* Elaboración propia.

Finalmente, el procedimiento metodológico busca garantizar la validez de un modelo no experimental, construido a partir de datos secundarios confiables y complementado con análisis estadístico, de sensibilidad y simulación computacional. Este enfoque permite identificar condiciones óptimas de proceso sin necesidad de experimentación directa, manteniendo rigor metodológico y soporte científico.

### b) Técnicas

La técnica principal de recolección utilizada en este estudio consiste en la extracción de datos secundarios provenientes de investigaciones y reportes técnicos relacionados con la producción de bioplásticos a partir de residuos agroindustriales mediante fermentación bacteriana. La información se obtiene a través de bases de datos, artículos científicos y registros digitales previamente publicados, sin requerirse interacción directa con operadores ni manipulación de equipos o instrumentos en laboratorio.

**Tabla 6.** *Técnicas empleadas en la investigación.*

| Técnica | Descripción |
|---|---|
| Análisis documental | Revisión crítica, selección y comparación de investigaciones previas sobre producción de bioplásticos, pretratamiento e hidrólisis de residuos lignocelulósicos y fermentación bacteriana. |
| Modelamiento matemático y computacional | Formulación de ecuaciones y programación en Python que describen las relaciones entre las variables del proceso. |
| Análisis estadístico (ANOVA) | Generación aleatoria de datos dentro de rangos operativos para analizar la velocidad de agitación del reactor y sensibilidad del sistema. |
| Análisis estadístico descriptivo y correlacional | Aplicación de métodos cuantitativos para determinar tendencias, correlaciones y niveles de influencia de las variables. |

*Nota.* Elaboración propia.

### c) Instrumentos de recolección de información

- Publicaciones científicas y bases de datos especializadas (Scopus, ScienceDirect, Google Scholar, entre otras).
- Artículos que reportan variables de proceso: temperatura, pH, tiempo de fermentación, concentración de sustrato, relación C/N, coeficiente global de transferencia de calor y rendimiento de PHA.
- Fuentes bibliográficas digitales (tesis, informes técnicos y revisiones científicas).
- Hojas de cálculo y software estadístico complementario (Microsoft Excel) para la organización preliminar de datos.
- Software Python (versión 3.x), junto con librerías de análisis y modelado (NumPy, SciPy, entre otras), las cuales se emplearon debido a su solidez matemática y amplio uso en investigación científica. NumPy permite manejar grandes volúmenes de datos y realizar operaciones algebraicas de alta velocidad gracias a su estructura optimizada de arreglos multidimensionales, mientras que SciPy incorpora rutinas avanzadas para optimización, integración, interpolación y análisis estadístico, constituyendo un estándar en ingeniería, biotecnología y modelamiento computacional. Ambas bibliotecas poseen una larga trayectoria en la comunidad científica, son de código abierto y están validadas en numerosos estudios para garantizar precisión, reproducibilidad y eficiencia computacional en las simulaciones realizadas.

**Tabla 7.** *Ventajas del empleo de NumPy y SciPy*

| Ventaja específica | Descripción |
|---|---|
| Velocidad y eficiencia | NumPy permite manejar decenas de miles de combinaciones de parámetros en segundos. |

| Ventaja específica | Descripción |
|---|---|
| Capacidad para realizar simulaciones grandes | Permite generar 20 000 – 200 000 muestras para representar variabilidad real del sistema sin comprometer el rendimiento. |
| Optimización robusta de múltiples variables | SciPy permite aplicar algoritmos evolutivos como differential_evolution, ideal cuando los parámetros están acotados por rangos experimentales |
| Modelado matemático exacto de bioprocesos | SciPy y NumPy permiten implementar funciones Gaussianas de desempeño, modelos de crecimiento logístico, curvas suavizadas sin tramos lineales y análisis de sensibilidad. |
| Reproducibilidad científica | Python, NumPy y SciPy son software libre, por lo que cualquier investigador puede replicar el modelo, verificar parámetros, ejecutar nuevamente el algoritmo y probar otras condiciones. |
| Gran adopción en investigación internacional | Numerosos artículos de optimización de bioprocesos, cinética microbiana y biorrefinería han sido desarrollados usando NumPy/SciPy, lo que respalda su fiabilidad científica. |

*Nota.* Elaboración propia.

### 4.5 Análisis estadístico

En el presente trabajo se optó por simular diversas cantidades de variables aleatorias para poder abarcar la mayor parte de posibilidades en favor de las condiciones requeridas. Se empleó una cantidad total de 20,000 datos, debido a que es una elección fundamentada en estadística y optimización de simulaciones, y esta se basa en equilibrio entre resolución, confiabilidad de análisis y eficiencia computacional.

Adicionalmente, a mayores puntos aleatorios se genera, se obtiene un muestreo aleatorio más representativo. Aunque el algoritmo no dependa directamente de los 20,000 datos, tener un dataset amplio permite analizar correlaciones y sensibilidades más estables y evitar que los gráficos sean discretos o ruidosos.

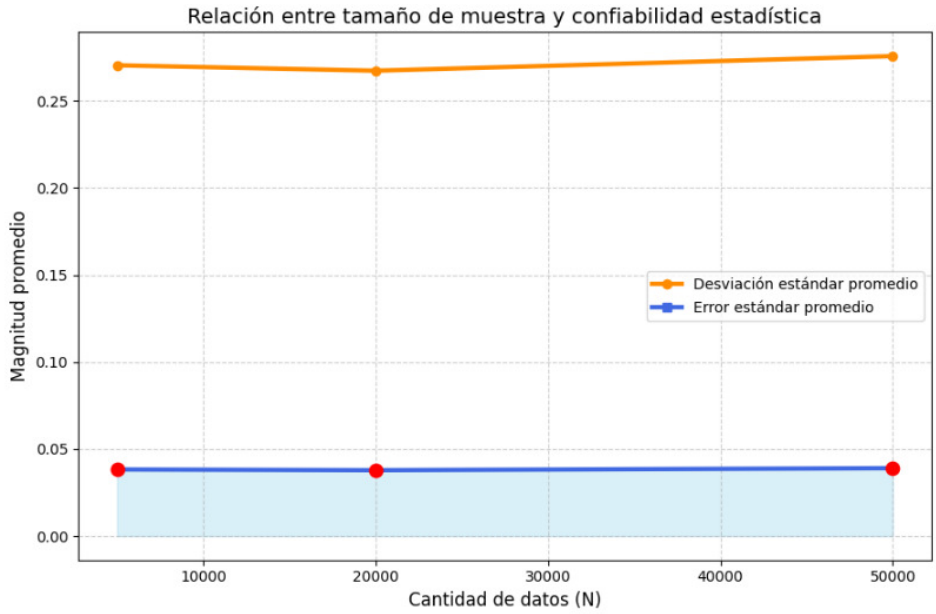
Bajo este contexto, se eligió el valor de 20,000, debido a que es lo es lo suficientemente grande para suavizar los gráficos y cálculos estadísticos y no es tan grande como para causar problemas de memoria o lentitud en Python.

Si se usaría una cantidad menor a 5,000 empezaría a producir gráficos menos confiables y valores promedio más discretos, mientras que más de 50,000 ofrece poco beneficio extra; sin embargo, aumenta el tiempo de cómputo.

**Tabla 8.** *Análisis de desviación y error estándar promedio*

```
===== RESULTADOS DE ESTABILIDAD =====
N =   5000 | Desviación estándar promedio = 0.270474 | Error estándar promedio = 0.038251
N =  20000 | Desviación estándar promedio = 0.267352 | Error estándar promedio = 0.037809
N =  50000 | Desviación estándar promedio = 0.275736 | Error estándar promedio = 0.038995
```

**Figura 23.** *Relación entre tamaño de muestra y confiabilidad estadística.*




**d) Ecuación cinética:**

Con la finalidad de describir la cinética de crecimiento de los microorganismos se utiliza la siguiente ecuación logística, al igual que para las fermentaciones controladas. La ecuación logística es una de las más utilizadas, pues brinda una adecuada aproximación de toda la curva de crecimiento, donde se incluyen en una sola ecuación la fase de retardo y el cese del crecimiento en las últimas fases de la fermentación (Mitchell y Von Meien, 2000). Permite además, describir el crecimiento de cualquier microorganismo como de las poblaciones mixtas. Con su aplicación, se puede determinar también, el contenido de biomasa producto de la fermentación, que es equivalente a un por ciento de proteínas.

**Ecuación 1.** *Ecuación logística.*

$$X = \frac{X_{máx}}{1 + \left[\left(\frac{X_{máx} - X_o}{X_o}\right)\right] e^{-\mu t}}$$

*Nota.* Obtenido de *Uso de la modelación matemática en los procesos de fermentación en estado sólido de sustratos fibrosos destinados a la alimentación animal* de Sosa et al., 2012.

Donde:

$t$: $tiempo\ de\ fermentación\ (horas)$

Representa el tiempo transcurrido en cada etapa del proceso de PHA

$X_o$: $biomasa\ inicial\ (valor\ relativo\ 0-1)$

Cantidad inicial de microorganismos al inicio de la fermentación.

En el código: $X_o = 0.01$, es decir, 1% de la biomasa máxima.

$X_{máx}$: $biomasa\ máxima\ (normalizada\ a\ 1)$

Valor máximo teórico que puede alcanzar la biomasa bajo las condiciones dadas.

En el código $X_{máx} = 1.0$, normalizado para que el rendimiento máximo de PHA sea 100%.

$\mu$: $tasa\ de\ crecimiento\ específica\ \left(\frac{1}{h}\right)$

Indica la rapidez del crecimiento de los microorganismos.

En el código $\mu = 0.08$ para la etapa 1 y $\mu = 0.07$ para la etapa 2.

Valores más grandes: crecimiento más rápido, curva más empinada.

**e) La distribución normal o distribución gaussiana:**

La forma de la distribución normal comenzó a estudiarse gracias al matemático francés Abraham de Moivre (1667-1754), quien fue el primero en describirla. Años más tarde, Carl Friedrich Gauss (1777-1855) profundizó en su análisis y estableció la expresión matemática que define su curva característica. Por ese motivo, hoy en día suele identificarse como la famosa "campana de Gauss". Este tipo de distribución queda definida únicamente por dos valores fundamentales: la media y la desviación estándar, que suelen representarse con los símbolos μ y σ. A partir de estos parámetros se construye la función que describe su densidad de probabilidad (Díaz et al., 2001).

**Ecuación 2.** *Campana de Gauss.*

- **Fórmula original de la densidad de probabilidad normal**

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2})$$

*Nota.* Obtenido de *La distribución normal* de Díaz et al., 2001.

Donde:

$x = variable$

$\mu = media$

$\sigma = desviación\ estándar$

Esta forma asegura que la integral sobre todo el dominio sea 1, es decir:

$$\int_{-\infty}^{\infty} f(x)dx = 1$$

Para la optimización, solo se requiere la forma de campana y el máximo en $x = \mu$. Por ello, se elimina el factor $\frac{1}{(\sigma\sqrt{2\pi})}$**:**

$$f(x) \propto \exp(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2})$$

Entonces, $f(x)$ ya no es una densidad de probabilidad, pero conserva la curva de campana centrada en $\mu$.

- **Fórmula Gaussiana ajustada en la optimización**

$$f_{opt}(x) = \exp(-\frac{(x-x_{opt})^2}{2\sigma^2})$$

Donde:

$x: valor\ de\ la\ variable\ del\ proceso$

$x_{opt}: valor\ óptimo\ de\ la\ variable$

$\sigma: ancho\ de\ la\ tolerancia$

Indica cuánto puede desviarse la variable del óptimo sin afectar el rendimiento.

$f_{opt}(x)$: $contribución\ relativa\ de\ esa\ variable\ al\ rendimiento\ total.$

Se considera 1 cuando la variable está en su valor óptimo.

**Ecuación 3.** *Masa final de PHA.*

$$Masa\ final\ de\ PHA\ (\frac{g}{L}) = \frac{Rendimiento\ (\%)}{100} \times Biomasa\ final\ (\frac{g}{L})$$

Donde:

$Rendimiento$: $indica\ el\ rendimiento\ obtenido\ en\ porcentaje$

$Biomasa\ final$: $indica\ la\ biomasa\ final\ en \frac{g}{L}\ de\ la\ etapa\ de\ la\ producción$

$Masa\ final\ de\ PHA$: $indica\ la\ cantidad\ de\ PHA\ acumulada\ en\ gramos\ por\ litro\ de\ cultivo$

Asimismo, para conocer cuál es la mejor agitación viable en el presente proceso, se realizó un análisis estadístico, el cual comparó los rendimientos simulados obtenidos bajo diferentes velocidades de agitación en el proceso fermentativo. Mediante la prueba estadística ANOVA se evaluó si las diferencias en rendimiento entre las distintas agitaciones eran significativas desde el punto de vista estadístico.

Los resultados indicaron si la velocidad de agitación influye realmente en el rendimiento o si las variaciones observadas se pueden atribuir al azar o ruido inherente al proceso. Con esta comparación, se identificó cuál agitación presenta el rendimiento promedio más alto, proporcionando una recomendación basada en evidencia para optimizar el proceso fermentativo y la cual se empleará de forma constante a lo largo del proceso.

Por lo que, se compararon las medias de rendimiento bajo distinta agitación y se determinó si las diferencias son estadísticamente relevantes para elegir la mejor condición operativa.

**Tabla 9.** *Análisis estadístico de rendimiento promedio por agitación.*

```
Prueba ANOVA - F: 1.2430, p-valor: 0.2928
No hay diferencias significativas entre niveles de agitación.
Recomendación: Usar agitación de 200 rpm (mayor rendimiento promedio).

Resumen de rendimiento promedio por agitación:
|   Agitación (rpm) |   Rendimiento promedio |
|-------------------|------------------------|
|               100 |                 0.9957 |
|               150 |                 0.9957 |
|               200 |                 0.9976 |
|               250 |                 0.9962 |
|               300 |                 0.9968 |
```

## CAPÍTULO V. RESULTADOS

**Figura 24.** *Pretratamiento del bagazo de caña de azúcar según el método.*

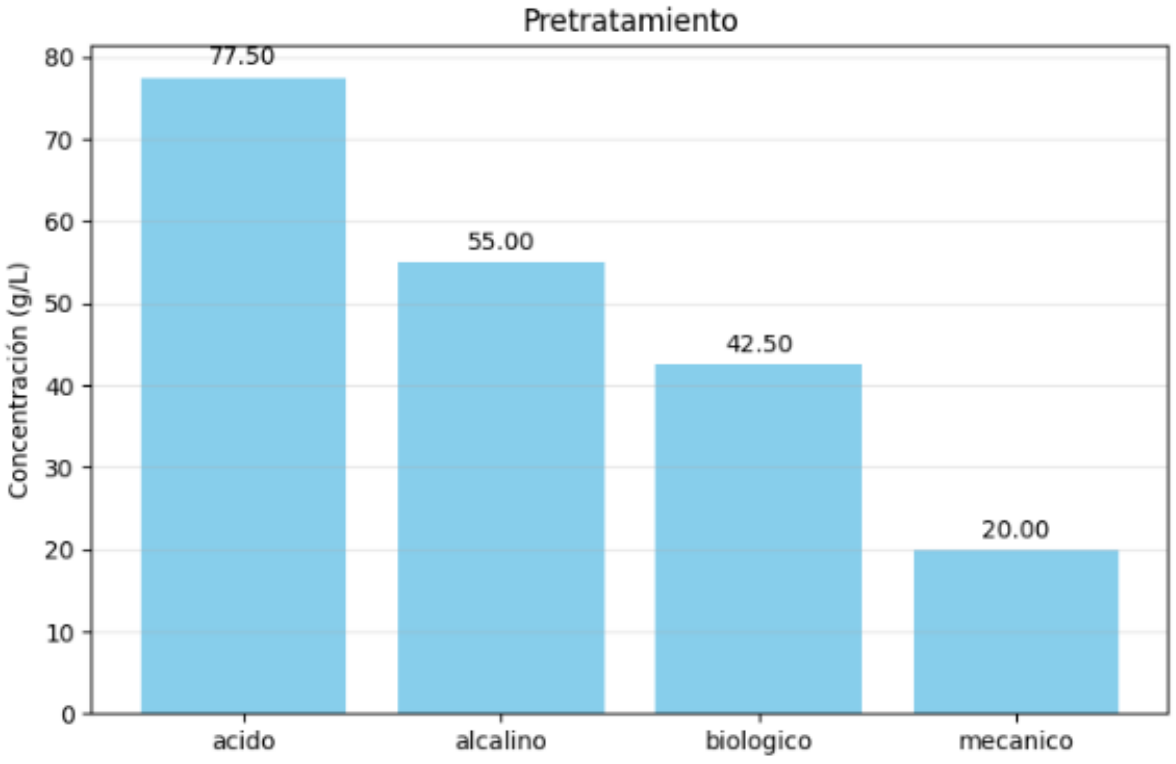


**Figura 25.** *Análisis de la hidrólisis.*

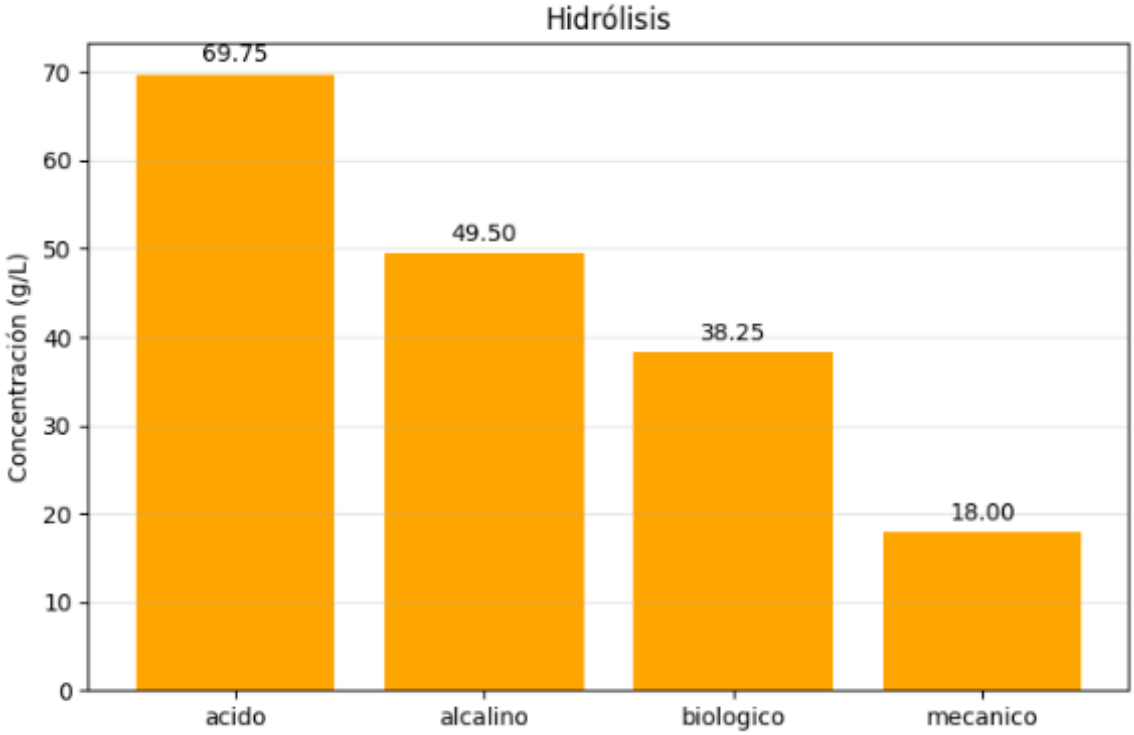



**Tabla 10.** *Comparación del pretratamiento e hidrólisis.*

Comparación del pretratamiento y la hidrólisis (promedios):

| Método | Pretratamiento (g/L) | Hidrólisis (g/L) |
|---|---|---|
| acido | 77.5 | 69.75 |
| alcalino | 55.0 | 49.50 |
| biologico | 42.5 | 38.25 |
| mecanico | 20.0 | 18.00 |

El mejor método de pretratamiento es 'acido' con un promedio de azúcar liberada de 77.50 g/L.
Después de la hidrólisis, la concentración promedio de azúcar remanente para este método es 69.75 g/L.

**Figura 26.** *Concentración de sustrato según etapa.*

Sustratos entrante y remanente:

| Fase | Sustrato Entrante (g/L) | Sustrato Remanente (g/L) |
|---|---|---|
| Acidogénica | 69.837447 | 30.403235 |
| Solventogénica | 30.403235 | 10.039344 |
| PHA | 10.039344 | 3.513770 |

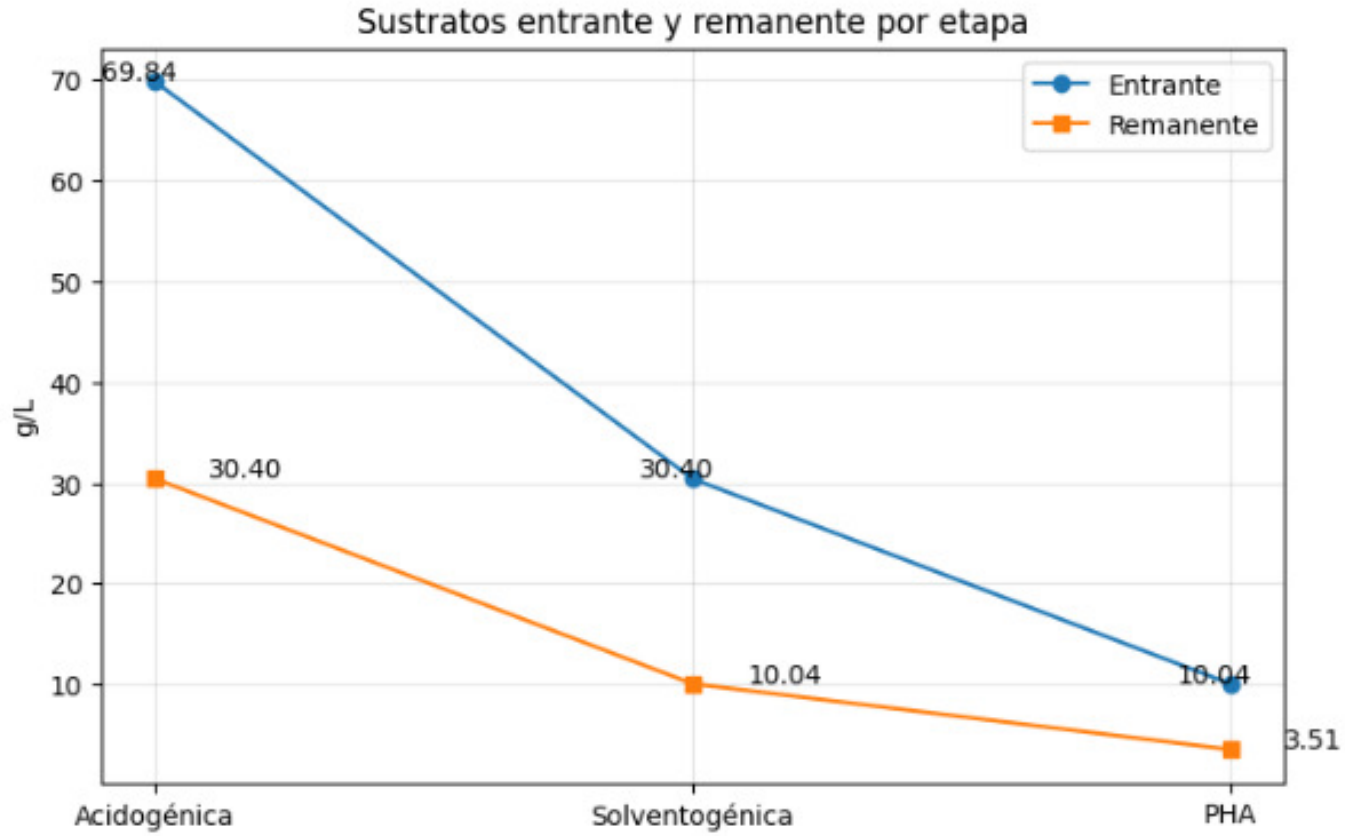


**Tabla 11.** *Optimización de variables para la obtención de PHA.*

Condiciones óptimas obtenidas:

| Variable | Valor óptimo |
|---|---|
| T_a | 35.943 |
| t_a | 15.059 |
| C/N_a | 24.998 |
| U_a | 249.788 |
| pH_a | 6.488 |
| Conc_s_a | 69.837 |
| T_s | 32.970 |
| t_s | 41.587 |
| C/N_s | 24.969 |
| U_s | 248.295 |
| pH_s | 5.476 |
| Conc_s_s | 30.403 |
| T_p | 33.027 |
| t_p | 59.303 |
| C/N_p | 79.962 |
| U_p | 250.754 |
| pH_p | 6.203 |
| Conc_s_p | 10.039 |

**Figura 27.** *Crecimiento de células de Clostridium beijenrickii por etapas.*

Crecimiento celular por etapas:

| Fase | Biomasa inicial (g/L) | Biomasa final (g/L) | Tiempo (h) |
|---|---|---|---|
| Acidogénica | 0.010000 | 0.406493 | 15.059415 |
| Solventogénica | 0.406493 | 0.870886 | 41.587286 |
| PHA | 0.870886 | 0.972596 | 59.302543 |

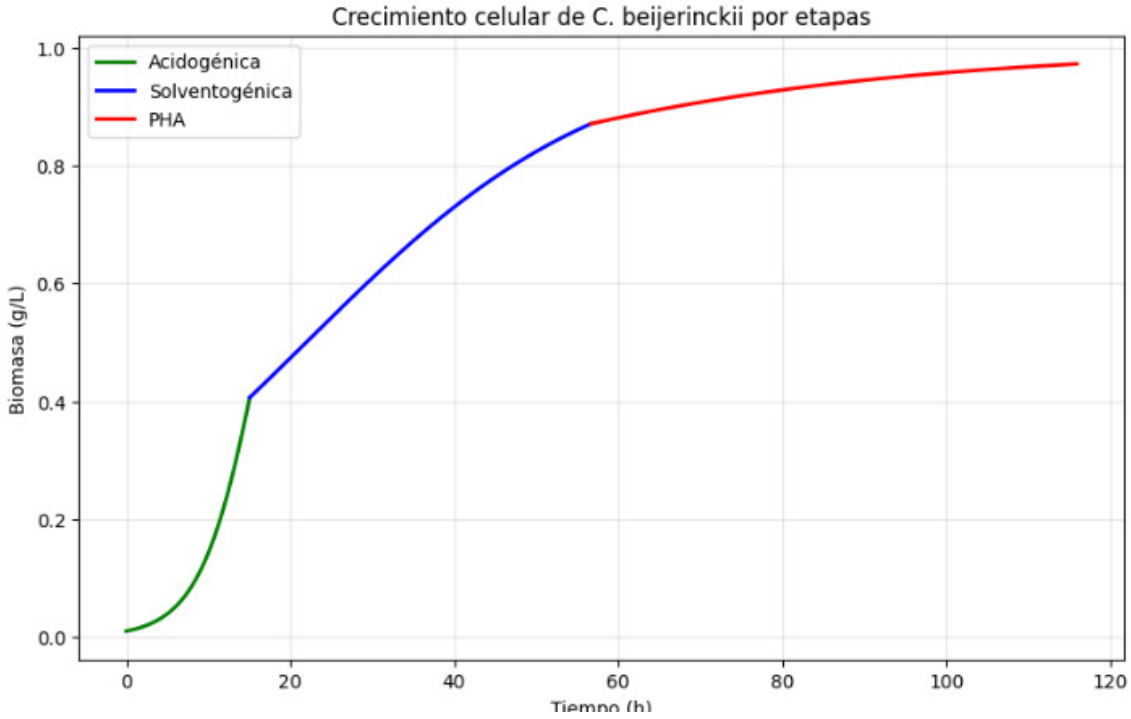


**Tabla 12.** *Rendimiento obtenido y masa final de PHA.*

```
Rendimiento obtenido: 92.00%
Masa final de PHA (g/L): 0.895
```

**Figura 28.** *Gráfico de sensibilidad T_a (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

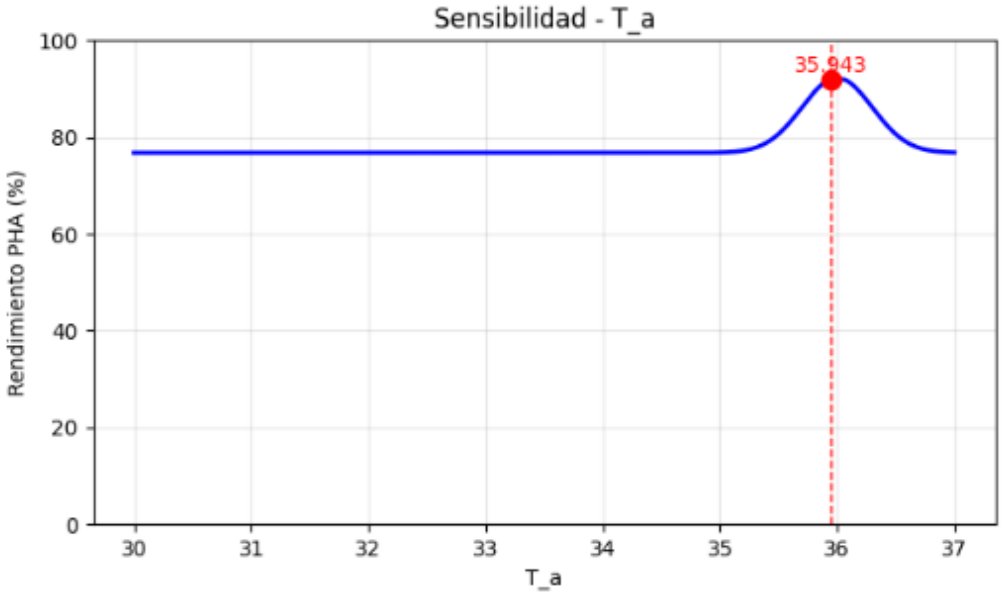



**Figura 29**. *Gráfico de sensibilidad t_a (h) vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

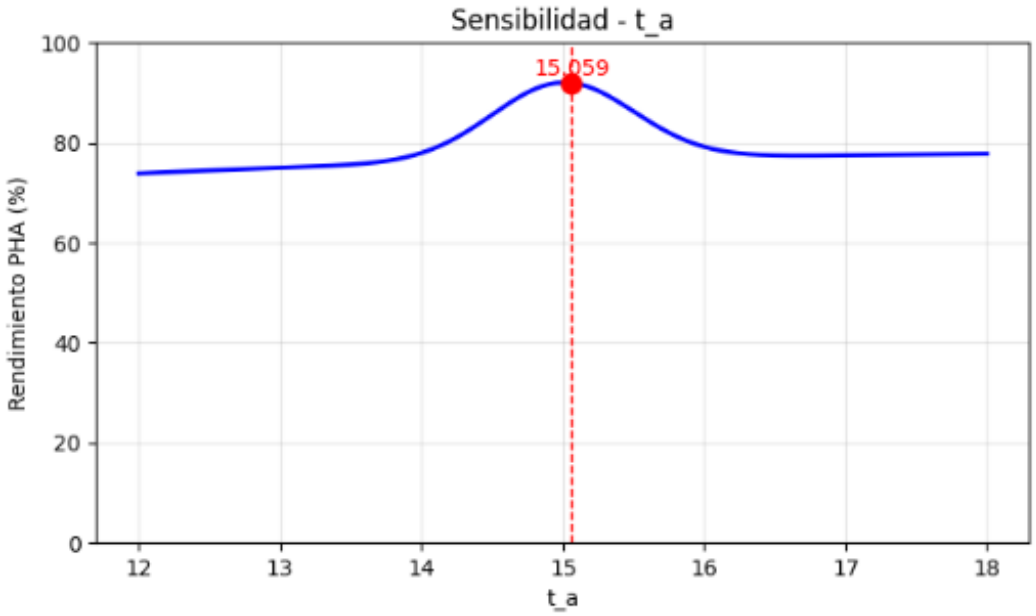


**Figura 30.** *Gráfico de sensibilidad S_a (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

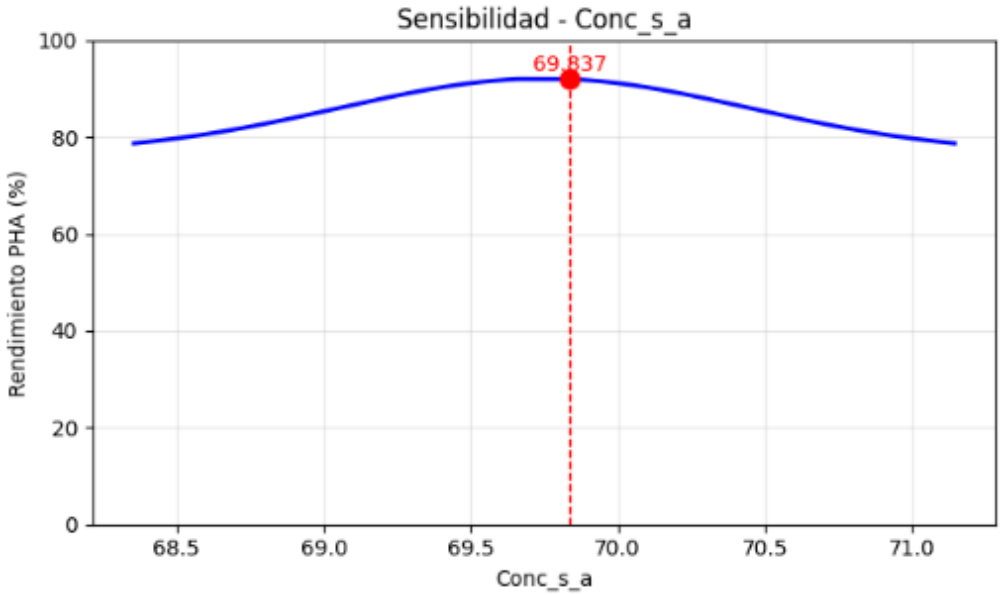



**Figura 31**. *Gráfico de sensibilidad C/N_a (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

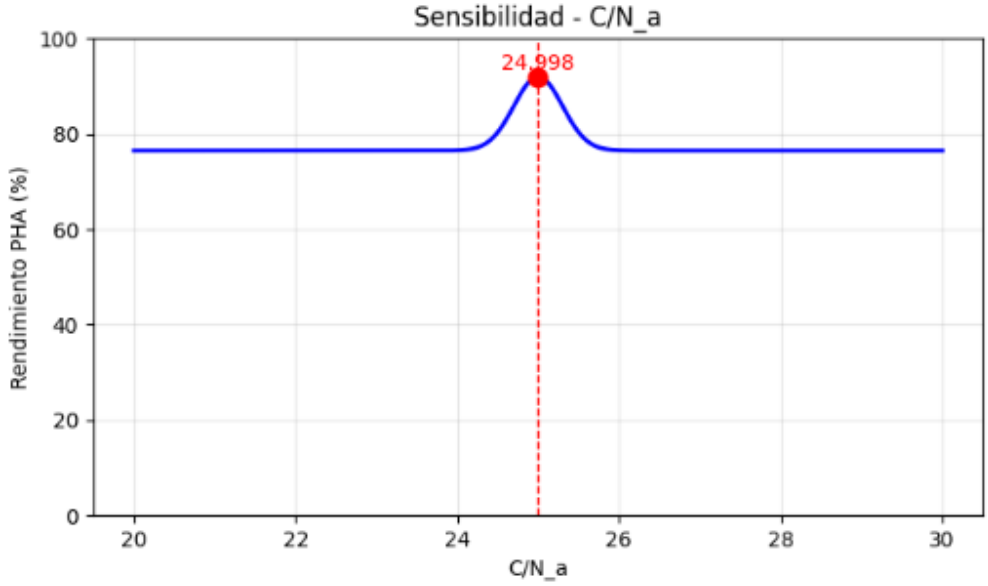



**Figura 32.** *Gráfico de sensibilidad U_a (W/m$^2$K) vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

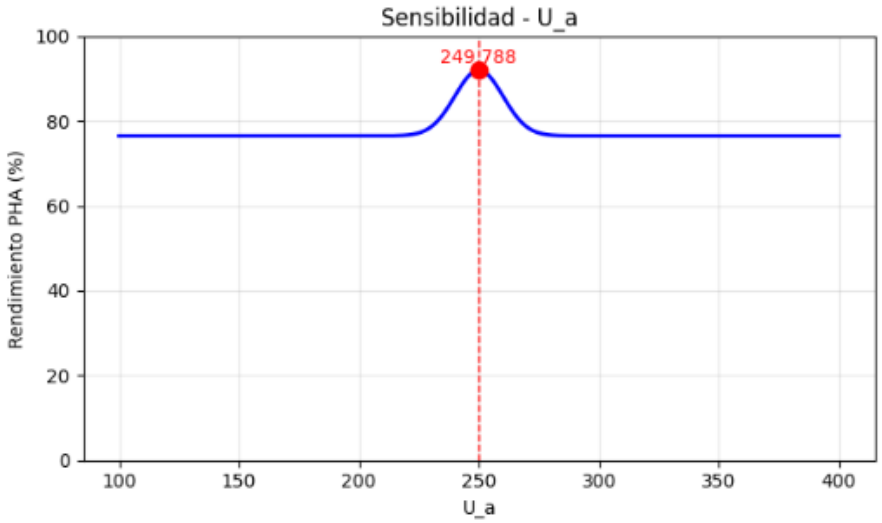



**Figura 33.** *Gráfico de sensibilidad pH_a vs. PHA (%) en la Etapa 1.*

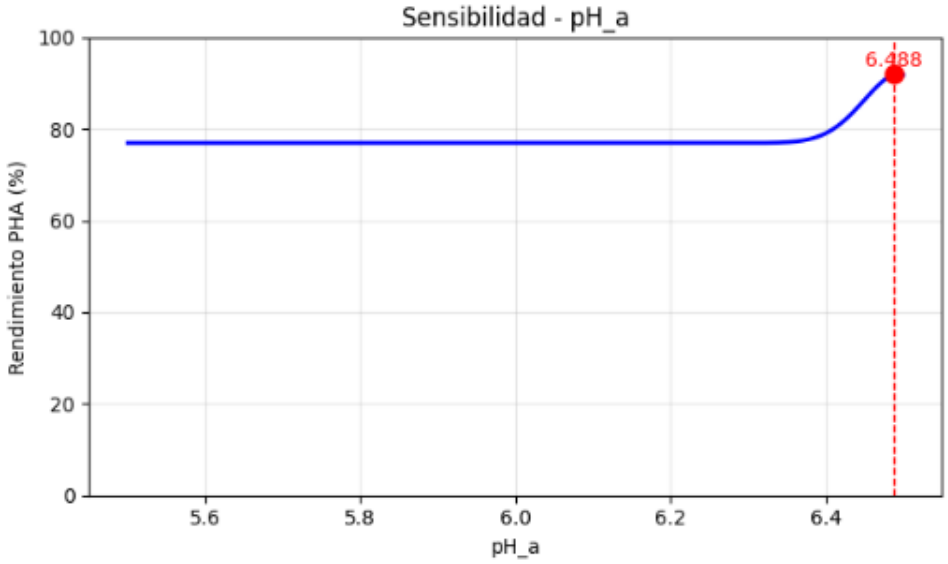



**Figura 34.** *Gráfico de sensibilidad T_s (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

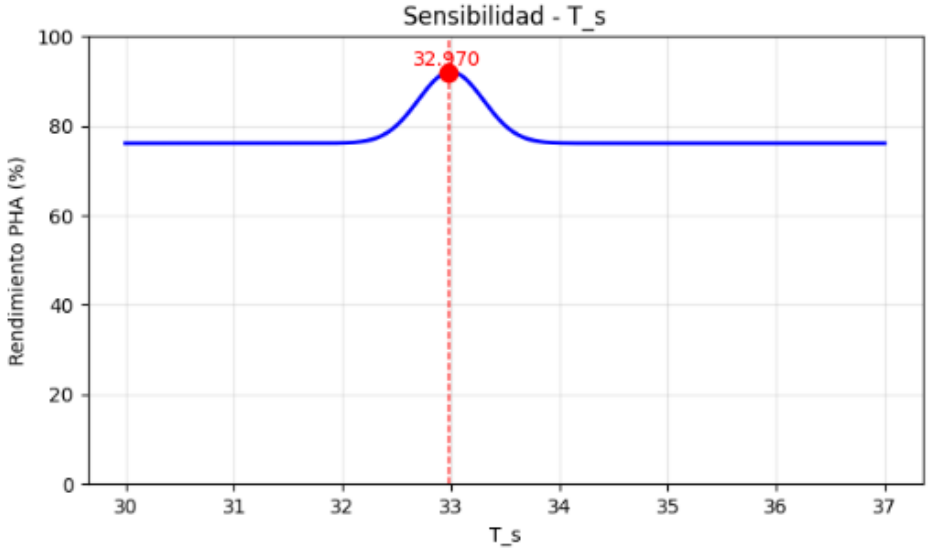


**Figura 35.** *Gráfico de sensibilidad t_s (h) vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

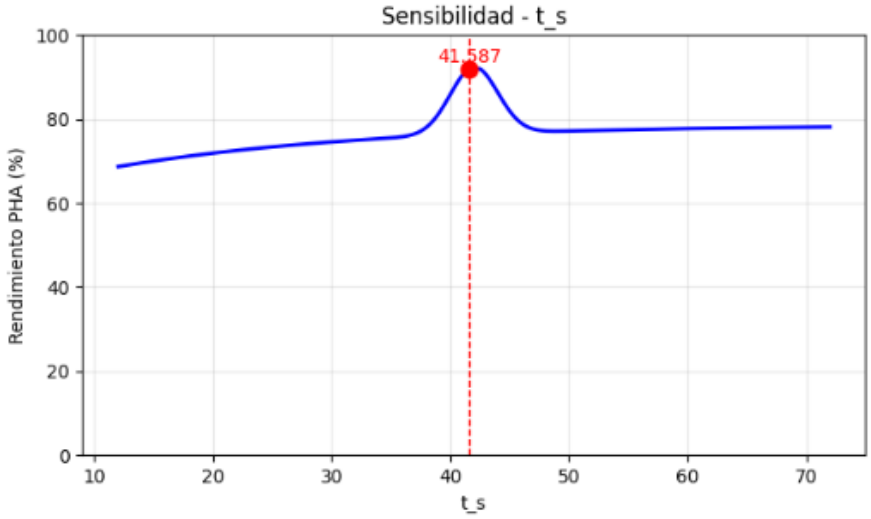



**Figura 36.** *Gráfico de sensibilidad S_s (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

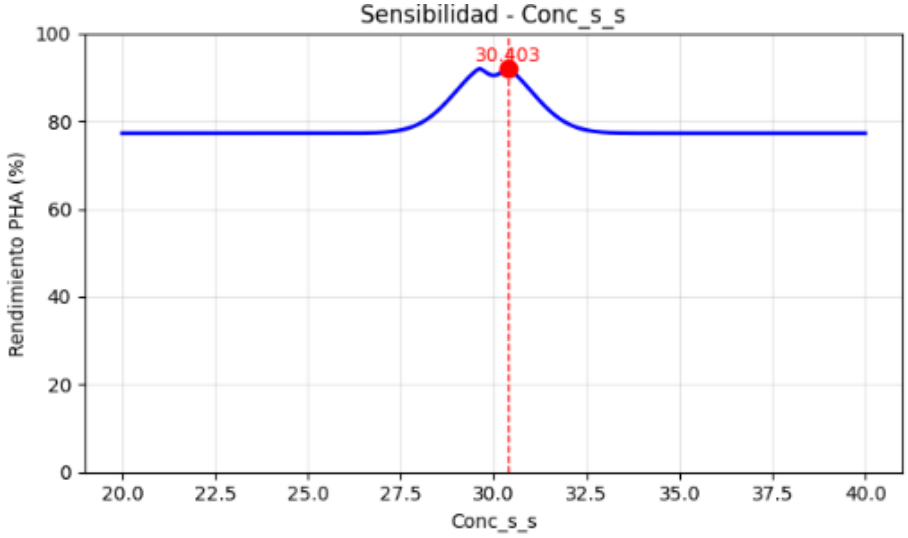



**Figura 37**. *Gráfico de sensibilidad C/N_s vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

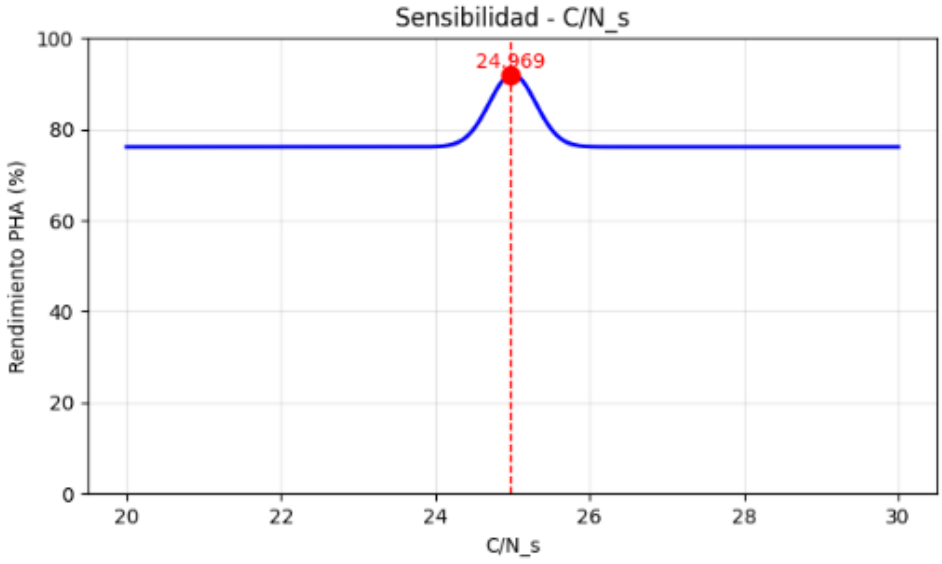


**Figura 38.** *Gráfico de sensibilidad U_s (W/m²K) vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

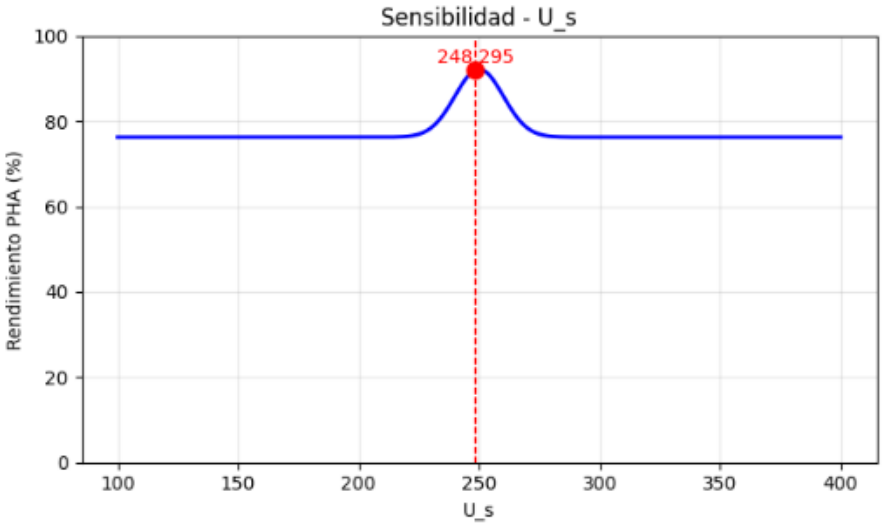



**Figura 39.** *Gráfico de sensibilidad pH_s vs. PHA (%) en la Etapa 2.*

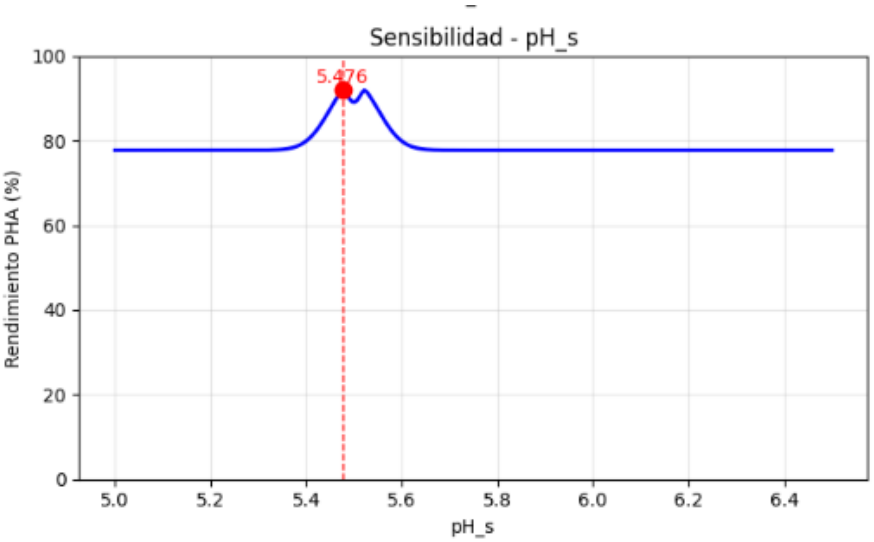



**Figura 40**. *Gráfico de sensibilidad T_p (°C) vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

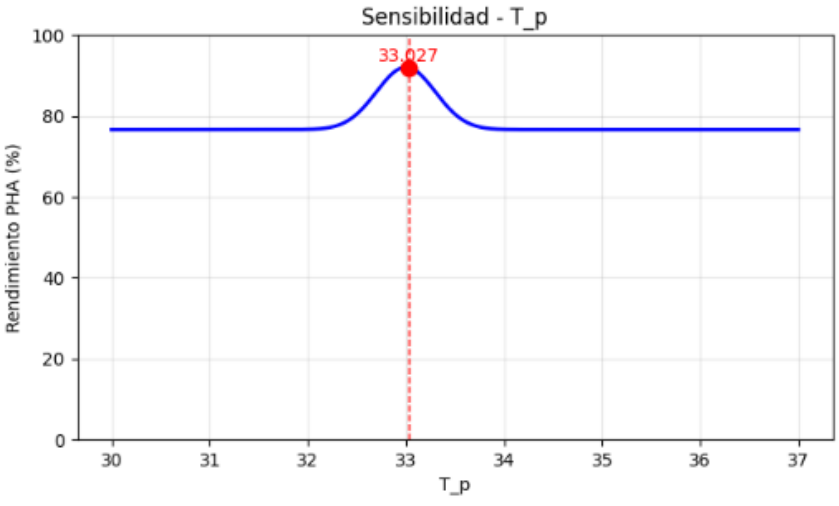


**Figura 41.** *Gráfico de sensibilidad t_p (h) vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

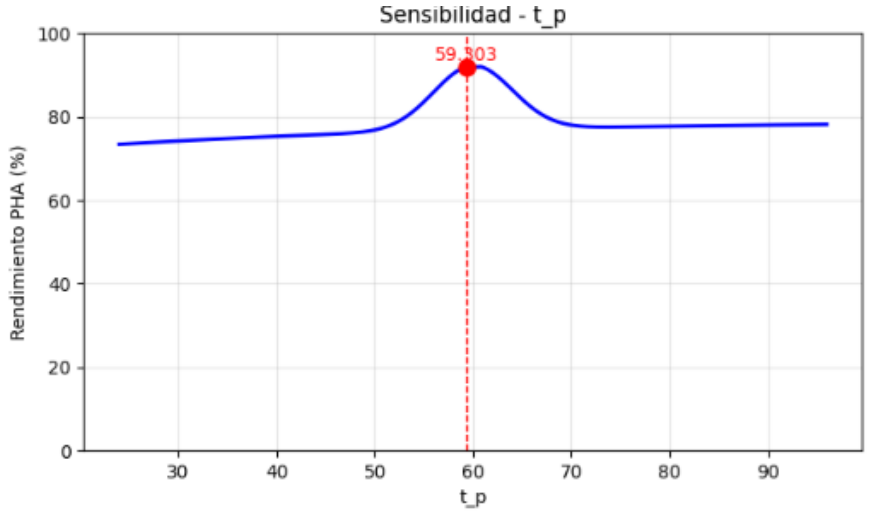



**Figura 42.** *Gráfico de sensibilidad S_p (g/L) vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

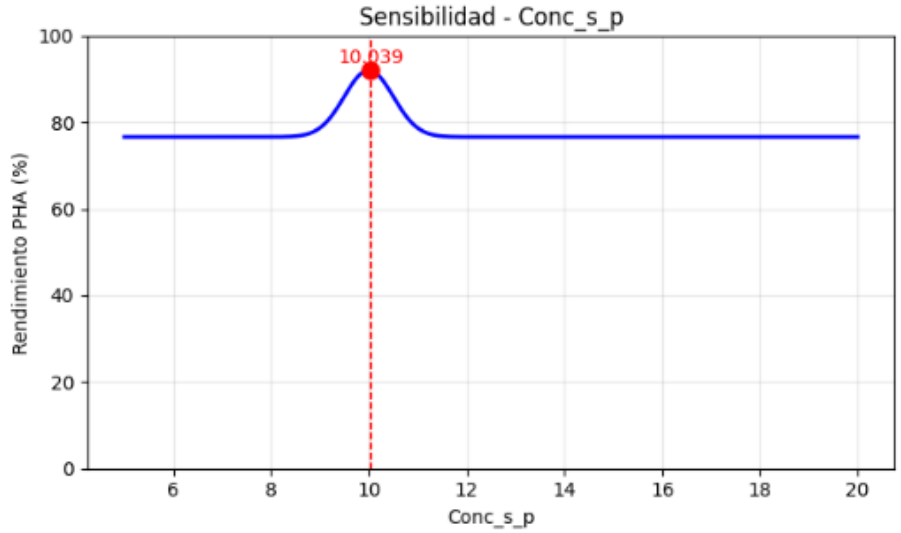



**Figura 43.** *Gráfico de sensibilidad C/N_p vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

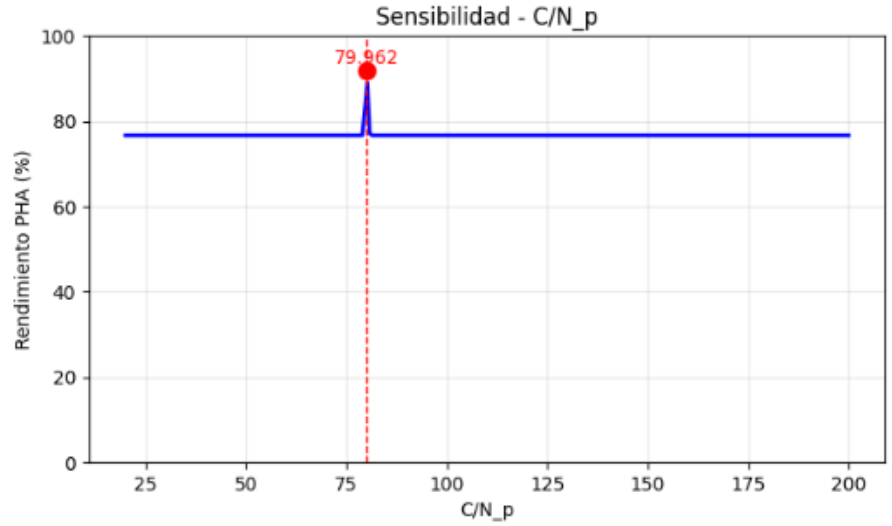


**Figura 44.** *Gráfico de sensibilidad U_p (W/m²K) vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

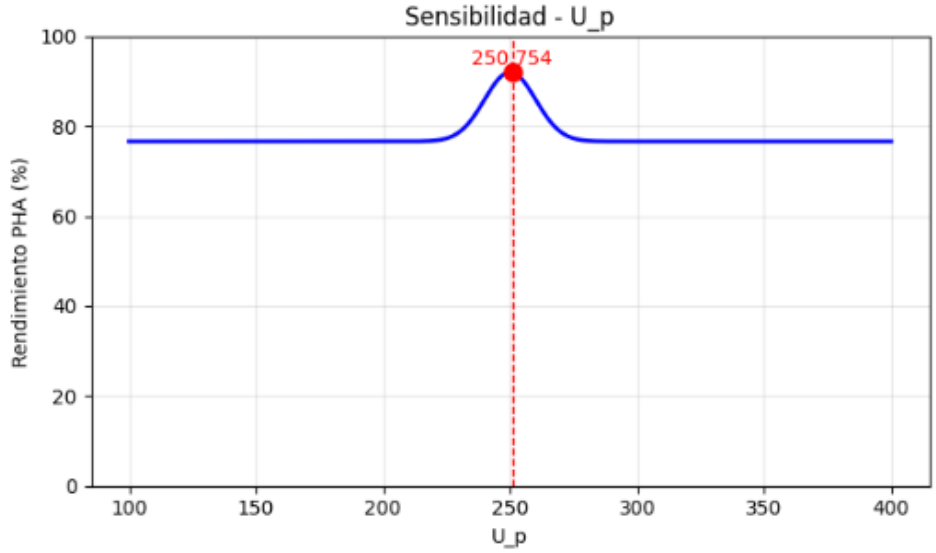



**Figura 45**. *Gráfico de sensibilidad pH_p vs. PHA (%) en la Etapa 3.*

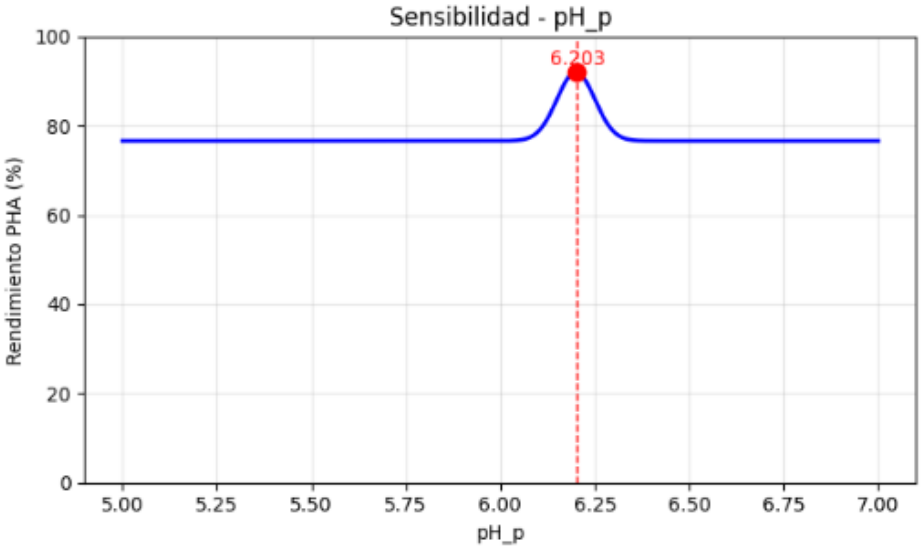
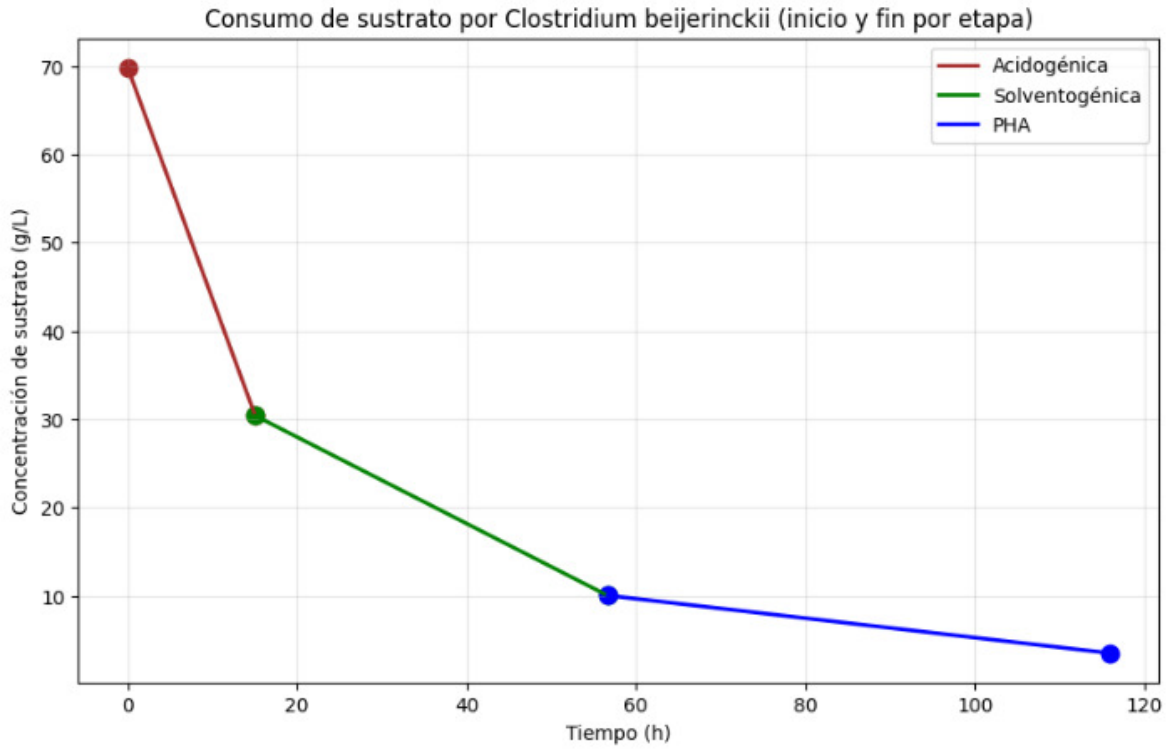



**Tabla 13.** *Datos de concentración de sustrato por tiempo*

Datos de concentración de sustrato al inicio y fin de cada etapa:

| Fase | Tiempo (h) | Concentración sustrato (g/L) |
|---|---|---|
| Acidogénica | 0.000000 | 69.837447 |
| Acidogénica | 15.059415 | 30.403235 |
| Solventogénica | 15.059415 | 30.403235 |
| Solventogénica | 56.646701 | 10.039344 |
| PHA | 56.646701 | 10.039344 |
| PHA | 115.949245 | 3.513770 |

**Figura 46.** *Consumo de sustrato por Clostridium beijerinckii*




La presente investigación permitió optimizar la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de bagazo de caña de azúcar mediante fermentación bacteriana anaeróbica, cumpliendo el objetivo principal propuesto. El análisis de las variables temperatura, pH, tiempo de fermentación, concentración de sustrato, relación carbono/nitrógeno y coeficiente de transferencia de calor demostró que todas influyen significativamente en el rendimiento del proceso. Los resultados evidenciaron que el pretratamiento ácido seguido de hidrólisis fue el más eficiente para la liberación de azúcares fermentables, proporcionando una mayor disponibilidad de sustrato para *Clostridium beijerinckii*. La optimización computacional en Python permitió identificar condiciones operativas óptimas para cada etapa del proceso, alcanzándose un rendimiento máximo de PHA del 92%, valor consistente con reportes experimentales. En conjunto, los resultados confirman que el ajuste adecuado de las variables físicas, químicas y operativas permite un uso eficiente del sustrato y una alta conversión hacia PHA, respaldando la viabilidad del proceso propuesto.

# CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente capítulo tiene como propósito analizar e interpretar los resultados obtenidos a partir de la programación ejecutada en Python Google Colab desarrolladas en la investigación, apoyándonos en los datos presentados en el Capítulo V.

La Tabla 6 muestra un análisis estadístico con tres tamaños de muestra diferentes (N = 5000, 20000 y 50000). Se observa que la desviación estándar promedio se mantiene bastante estable alrededor de 0.27, mientras que el error estándar promedio disminuye un poco a medida que aumenta el tamaño de la muestra. Esto coincide con lo que dice la teoría estadística y sugiere que los resultados del experimento son confiables y pueden repetirse. La baja variabilidad indica que el proceso o sistema medido probablemente relacionado con la producción de PHA o el crecimiento celular tiene una consistencia alta entre las réplicas, lo que respalda la validez de los datos mostrados en otras tablas y gráficos, y permite hacer conclusiones más seguras cuando se aplican estas condiciones a una escala mayor o en un contexto industrial.

La Tabla 7 muestra que, aunque el análisis estadístico indica que no hay diferencias significativas en el rendimiento entre las distintas velocidades de agitación (100 a 300 rpm), la productividad máxima se alcanzó a 200 rpm con un valor de 0.9976. Esto respalda la recomendación de usar esta velocidad para optimizar el proceso, pues dentro del rango analizado el sistema es bastante estable frente a cambios en la agitación, favoreciendo la viabilidad económica del sistema.

La Figura 24 muestra las cantidades de azúcares fermentables liberadas después de aplicar distintos pretratamientos al bagazo de caña de azúcar, evidenciando diferencias notables entre los métodos ácido, alcalino, biológico y mecánico. El pretratamiento ácido destacó por liberar la mayor concentración de azúcares, lo que refleja su alta eficiencia en el procesamiento

de la hemicelulosa y parte de la celulosa. Este tipo de tratamiento es reconocido por su capacidad para solubilizar las fracciones hemicelulósicas, generando azúcares fermentables en cantidad significativa. No obstante, para seleccionar la técnica más adecuada es necesario tener en cuenta aspectos adicionales como la formación de compuestos inhibidores, los costos asociados a los procesos y la compatibilidad metabólica con la bacteria utilizada en la fermentación, en este caso *Clostridium beijerinckii.*

La Figura 25 muestra que la concentración de azúcares fermentables después de la hidrólisis mantiene el mismo orden de eficiencia observado en el pretratamiento, siendo nuevamente el método ácido el más efectivo con 69.75 g/L, seguido del alcalino con 49.50 g/L. Estos resultados confirman que el pretratamiento es crucial para preparar el sustrato y que los tratamientos ácido y alcalino crean las mejores condiciones para liberar azúcares, lo cual es fundamental para la fermentación eficiente con *Clostridium beijerinckii* hacia la producción de PHA.

La Figura 26 muestra el consumo progresivo del sustrato durante las tres fases de fermentación. En la primera etapa, la bacteria utiliza rápidamente el sustrato para crecer y producir ácidos orgánicos, consumiendo más de la mitad del sustrato inicial. Luego, en la fase solventogénica, el metabolismo se enfoca en generar solventes como butanol y acetona, lo que requiere un uso aún más eficiente del carbono remanente. Finalmente, en la etapa de síntesis de PHA, con una cantidad limitada de sustrato y en condiciones restrictivas de nitrógeno, las células canalizan recursos hacia la acumulación de biopolímeros.

La Tabla 9 resume los valores óptimos de las condiciones operativas para cada fase del proceso fermentativo. En acidogénesis, se recomienda una temperatura cercana a 36 °C, un tiempo corto de 15 h y una relación carbono/nitrógeno alrededor de 25 para favorecer el crecimiento y producción de ácidos; la agitación constante de 200 rpm y pH moderado de 6.5

aseguran un ambiente adecuado para el consumo eficiente del sustrato máximo disponible. La fase solventogénica requiere una temperatura ligeramente menor de 33°C, tiempos más largos de 42 h y condiciones similares de nutrición, con un pH ácido de 5.5 que estimula la producción de solventes y permite un consumo eficiente del sustrato remanente. Finalmente, la síntesis de PHA exige un periodo prolongado, una elevada relación C/N de 80 que limita el nitrógeno para inducir la acumulación del polímero, y condiciones estables de agitación y pH de 6.2 que favorecen la síntesis intracelular en un entorno con bajo carbono disponible. Asimismo, el coeficiente de calor varía muy ligeramente obteniéndose un valor aproximado de 250 $W/m^2K$.en cada fase. Estos valores optimizados reflejan un proceso equilibrado que maximiza cada función metabólica en su etapa, asegurando un uso eficiente del sustrato para la producción de PHA.

La Figura 27 muestra cómo crece *Clostridium beijerinckii* durante las tres etapas. Primero, se observa un crecimiento rápido y constante en la fase acidogénica (de 0 a 15 horas), donde las células se multiplican rápidamente mientras producen ácidos. Después, aunque el crecimiento se vuelve más lento, sigue avanzando durante la fase solventogénica y en la acumulación de PHA. Este comportamiento refleja cómo el microorganismo se adapta, primero enfocándose en crecer rápido y luego en producir solventes y polihidroxialcanoatos.

La Tabla 10 muestra que la producción de PHA alcanzó un rendimiento del 92.00%, lo que refleja una gran eficiencia del microorganismo para transformar el sustrato en este biopolímero, cabe resaltar también que este valor se consideró como máximo según resultados experimentales reportados. Además, la cantidad final de PHA acumulada fue de 0.895 g/L, lo que indica que se logró una buena acumulación durante el crecimiento celular.

La Figura 28, 34 y 40 muestran un análisis de la temperatura donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%. Por encima de este valor,

el rendimiento disminuye rápidamente, ya que la temperatura funciona como un factor fundamental que regula la actividad metabólica y enzimática del microorganismo y afecta directamente la velocidad de las reacciones bioquímicas, la estabilidad de las proteínas y la eficiencia en el transporte celular dentro de las bacterias. Cuando la temperatura es menor al nivel óptimo, el crecimiento y la producción se ralentizan porque las enzimas actúan más despacio. Por otro lado, si la temperatura es más alta de lo adecuado, puede ocurrir la desnaturalización de las enzimas o desencadenar un estrés térmico que afecta la viabilidad celular.

La Figura 29, 35 y 41 muestran un análisis del tiempo donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%, ya que el tiempo es un factor fundamental que controla el desarrollo fisiológico y metabólico del microorganismo. Define el orden de las fases del proceso, y es determinante para la acumulación progresiva tanto de biomasa como del producto deseado. Solo con un tiempo adecuado, la vía biosintética puede expresarse completamente para maximizar la síntesis de PHA. Si el tiempo es muy corto, no se alcanza el máximo potencial productivo; si es muy largo, pueden aparecer problemas como estrés celular, consumo del producto o incluso la lisis (ruptura) celular.

La Figura 30, 36 y 42 muestran un análisis de la concentración de sustrato donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%, ya que la concentración de sustrato influye en el metabolismo de los microorganismos durante la producción de PHA. En niveles adecuados, el sustrato proporciona el carbono y la energía necesarios para que las células crezcan y para que se produzca el biopolímero. Sin embargo, si la concentración es muy baja, el microorganismo no cuenta con suficiente energía y materia prima para producir la cantidad deseada de PHA. Por otro lado, un exceso de sustrato puede causar problemas, como la inhibición del metabolismo microbiano, estrés osmótico o un desequilibrio en la relación carbono/nitrógeno, lo que desvía la actividad celular hacia la

formación de subproductos no deseados o reduce la acción de enzimas clave. Es por esto que existe un punto óptimo de concentración, un valor crítico, en el cual el carbono disponible está en equilibrio con la capacidad del microorganismo para asimilarlo y convertirlo eficientemente en PHA.

La Figura 31, 37 y 43 muestran un análisis de relación C/N donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%. Cuando hay mucho nitrógeno y poco carbono (relación baja), las bacterias favorecen el crecimiento y la producción de proteínas, pero no acumulan mucho PHA. En cambio, cuando el nitrógeno es limitado y hay un exceso de carbono (relación alta), las células sufren un estrés nutricional que las impulsa a convertir el carbono sobrante en PHA como forma de almacenamiento energético. Sin embargo, si esta relación C/N es demasiado alta, el sistema puede volverse ineficiente, causando problemas metabólicos o inhibiciones. En condiciones como las de la Etapa 1 del proceso, un valor aproximado de 25 aproximadamente es el punto donde el equilibrio entre carbono y nitrógeno activa la síntesis eficiente del polímero sin que la célula sufra daños o estrés excesivo

La Figura 32, 38 y 44 muestran un análisis del coeficiente global de transferencia de calor donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%. Este es fundamental para regular la temperatura en el sistema durante la fermentación. Cuando el valor es demasiado bajo, el calor generado por la actividad metabólica no se dispersa bien, lo que puede causar zonas calientes internas que afectan la estabilidad de las enzimas y alteran el funcionamiento celular. Por otro lado, un valor demasiado alto puede provocar un enfriamiento excesivo o fluctuaciones térmicas que también afectan negativamente al metabolismo. Por eso, existe un punto ideal como por ejemplo de 249.8 $W/m^2K$ que logra un equilibrio ideal, permitiendo eliminar eficientemente el exceso de calor y mantener condiciones térmicas estables para maximizar la producción de PHA.

La Figura 33, 39 y 45 muestran un análisis pH donde el rendimiento de producción de PHA encuentra su punto más alto con un valor de 92%. El pH regula cómo funcionan las enzimas, mantiene la integridad de las células y controla la expresión de genes durante la producción de PHA. Afecta aspectos importantes como la carga de las membranas celulares, el transporte de sustratos y la estabilidad de las enzimas clave en las rutas metabólicas. Cuando el pH se aleja del rango óptimo, que en este caso es alrededor de 6.5, algunas enzimas necesarias para sintetizar PHA pueden dejar de funcionar bien, y el organismo podría optar por producir otros compuestos como ácidos o solventes, o experimentar estrés celular. Por el contrario, un pH ligeramente ácido favorece la acumulación de PHA, ayudando a equilibrar el crecimiento celular con la producción del biopolímero, lo que explica por qué el rendimiento cambia mucho cerca de este punto óptimo.

La Figura 46 muestra cómo *Clostridium beijerinckii* consume el sustrato de forma progresiva durante las tres etapas metabólicas. En la fase acidogénica, la concentración del sustrato se reduce rápidamente de 69 g/L a 30 g/L en solo 18 horas, reflejando una alta demanda inicial. Luego, en la fase solventogénica, el descenso es más lento, bajando a 10 g/L en 60 horas. Finalmente, en la etapa de producción de PHA, el sustrato se consume hasta aproximadamente 4 g/L en 120 horas. Esto confirma que el microorganismo utiliza el sustrato de manera ordenada y eficiente, con un consumo rápido al principio y un uso más pausado y prolongado en la fase final.

# CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES

El modelamiento computacional en Python demuestra ser una herramienta eficaz para identificar condiciones óptimas y maximizar la producción de PHA. Los resultados estadísticos muestran alta consistencia y reproducibilidad, validando la confiabilidad del modelo aplicado para la producción de PHA.

La producción de PHA alcanza un rendimiento máximo teórico del 92% cuando se ajustan adecuadamente variables clave como temperatura, pH, tiempo, concentración de sustrato, relación C/N y coeficiente de transferencia de calor. Cada etapa metabólica requiere condiciones específicas para optimizar la conversión del sustrato en biopolímero, destacando la importancia del control preciso de las variables físicas y químicas, y mantener estas condiciones dentro de rangos óptimos para asegurar que el microorganismo actúe de manera eficiente durante la fermentación.

Analizando los efectos de la temperatura, pH, relación C/N, concentración de sustrato, coeficiente de transferencia de calor y tiempo sobre la producción de PHA, se identificaron condiciones óptimas por etapa para maximizar el rendimiento: Etapa 1 (acidogénica) con 35.94 °C, 15 h, C/N ≈25, pH 6.5 que favorece crecimiento rápido y producción de ácidos; etapa 2 (solventogénica) con 32.97 °C, 42 h, C/N ≈25, pH 5.5 que optimiza síntesis de solventes con metabolismo eficiente; y finalmente en la etapa 3 (PHA) con 33 °C, 59 h, C/N ≈80, pH 6.2 que induce acumulación de biopolímero por estrés nutricional; coeficiente de transferencia de calor ≈250 $W/m^2K$ en todas las etapas para estabilidad térmica; y agitación óptima de 200 rpm para máxima productividad sin inestabilidad.

# CAPÍTULO VIII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar pruebas de laboratorio en biorreactores batch con *Clostridium beijerinckii,* usando bagazo de caña que haya pasado por pretratamiento ácido e hidrólisis, para validar los puntos óptimos obtenidos por simulación. Estas pruebas permitirán verificar la precisión del modelo frente a las variaciones reales del sustrato y las cepas bacterianas.

Es importante implementar un sistema de control con monitoreo en tiempo real de variables como pH, temperatura y concentración de ácidos grasos volátiles para realizar transiciones dinámicas entre fases y optimizar la producción.

Se sugiere explorar métodos combinados de pretratamiento para reducir la formación de inhibidores que afecten a las bacterias, como el uso de ácido diluido seguido de lavado o técnicas de explosión con vapor y posterior hidrólisis enzimática, equilibrando la liberación de azúcares con la salud metabólica del microorganismo.

En cuanto al estrés nutricional, es relevante estudiar cómo distintos niveles y fuentes de nitrógeno y fósforo impactan tanto en la cantidad como en la composición del PHA, dado que estos factores influyen en las propiedades finales del bioplástico.

También es viable adaptar el modelo computacional para simular escalas mayores, incorporando condiciones más realistas de transferencia de masa y energía, lo que ayudaría a anticipar comportamientos y retos en sistemas piloto o industriales.

Se recomienda complementar esta investigación con un análisis de ciclo de vida y estudio económico preliminar facilitará la identificación de puntos críticos desde el punto de vista ambiental y financiero, mientras que la valorización integral de residuos post-producción mediante digestión anaerobia o purificación de subproductos puede mejorar la sostenibilidad y rentabilidad del proceso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


Al-Shorgani, N., Kalil, M., Yusoff, W., Hamid, A. (2018). Impact of pH and butyric acid on butanol production during batch fermentation using a new local isolate of Clostridium acetobutylicum YM1. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*(2), 339–348. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.03.020

Anjum, A., Zuber, M., Zia, K., Noreen, A., Anjum, M., Tabasum, S. (2016). Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. International Journal of Biological Macromolecules, 89, 161-174. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.069

Ashter, S. A. (2016). *Introduction to bioplastics engineering*. William Andrew.

Atiwesh, G., Mikhael, A., Parrish, C., Banoub, J., Le, T. (2021). Environmental impact of bioplastic use: A review. *Heliyon*, *7*(9), e07918. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07918

Barrameda, H., Requiso, P., Alfafara, C., Nayve, F., Ventura, R., Ventura, J. (2023). Hydrolysate production from sugarcane bagasse using steam explosion and sequential steam explosion-dilute acid pretreatment for polyhydroxyalkanoate fermentation. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *30*(100376), 100376. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2023.100376

Cabrera, C. y Novoa, C. (2016). Influence of concentration and fermentation temperature of reducing sugars obtained from sugarcane bagasse's hydrolyzate, in obtaining a biopolymer using Bacillus subtilis. *Agroindustrial Science*, *1*, 17–28. https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.02

Castro, H. y Riera, M. (2021). *Desafío de los polihidroxialcanoatos como solución al problema de los plásticos de un solo uso*. Unpublished. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30750.25923

Castro, K. (2025). *Evaluación de bacterias fermentadoras abe de suelo rizosférico para producción de solventes*. Edu.co. Recuperado el 14 de noviembre de 2025, de https://bffrepositorio.unal.edu.co/server/api/core/bitstreams/4cc8cfe5-9ae5-41a2-beeb-d81b10442f98/content

Manchado, C. (2017). *Biocombustibles a partir de residuos agroalimentarios: aumento de la sostenibilidad del proceso mediante el desarrollo de estrategias de separación*. Universidad de Valladolid.

De Paula, C., De Paula-Elias, F., Rodrigues, M., Coelho, L., De Oliveira, N., De Almeida, A., Contiero, J. (2020). Polyhydroxyalkanoate synthesis by Burkholderia glumae into a sustainable sugarcane biorefinery concept. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*, 631284. https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.631284

De Souza, L., Shivakumar, S., Das, A. (2022). Dual phase statistical optimization of biological pre-treatment of sugarcane bagasse with Pycnoporus coccineus MScMS1 for polyhydroxyalkanoates production. *Journal of Environmental Management*, *302*(Pt A), 113948. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113948

Dey, S., Veerendra, G., Babu, P., Manoj, A., Nagarjuna, K. (2024). Degradation of plastics waste and its effects on biological ecosystems: A scientific analysis and comprehensive review. *Biomedical Materials & Devices (New York, N.Y.)*, *2*(1), 70–112. https://doi.org/10.1007/s44174-023-00085-w

Díaz, P. y Fernández, P. (2001). *La distribución normal*. Ugr.es. Recuperado el 22 de octubre de 2025, de https://www.ugr.es/~rruizb/cognosfera/sala_de_estudio/estadistica/distribucionnormal2.pdf

Dutt, A., Paul, V., Agarwal, A., Sharma, R., Hashempour-Baltork, F., Rashidi, L., Khosravi, K. (2021). Production of polyhydroxyalkanoates using dairy processing waste - A review. *Bioresource Technology*, *326*(124735), 124735. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124735

Getino, L., Martín, J. L., Chamizo-Ampudia, A. (2024). A review of polyhydroxyalkanoates: Characterization, production, and application from waste. *Microorganisms*, *12*(10), 2028. https://doi.org/10.3390/microorganisms12102028

Gil, L. y León, C. (2021). Diseño y construcción de un biorreactor batch tipo tanque agitado y aireado para la producción de proteína unicelular. *Rebiol*, *41*(1), 16-22. Recuperado a partir de https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/3596

Gilani, I., Sayadi, S., Zouari, N., Al-Ghouti, M. (2023). Plastic waste impact and biotechnology: Exploring polymer degradation, microbial role, and sustainable development implications. *Bioresource Technology Reports*, *24*(101606), 101606. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101606

Guancha, M., Realpe, M., García, J. (2021). Obtención polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de biomasa lignocelulósica: un estudio de revisión. *Informador técnico*, *86*(1), 111–135. https://doi.org/10.23850/22565035.3692

Guilherme, A., Dantas, P., Soares, J., Santos, E., Fernández, F., Macedo, G. (2017). Pretreatments and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse aiming at the enhancement of the yield of glucose and xylose. *Brazilian journal of chemical engineering*, *34*(4), 937–947. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170344s20160225

Han, X., Liu, J., Tian, S., Tao, F., Xu, P. (2022). Microbial cell factories for bio-based biodegradable plastics production. *iScience*, *25*(11), 105462. https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105462

Hashmi, I., Bindschedler, S., Junier, P. (2020). Firmicutes. En *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 363–396). Elsevier.

Hassan, E., Abd-Alla, M., Zohri, A., Ragaey, M., Ali, S. (2019). Production of butanol and polyhydroxyalkanoate from industrial waste by*Clostridium beijerinckii*ASU10. *International Journal of Energy Research*, *43*(8), 3640–3652. https://doi.org/10.1002/er.4514

Huilcarema, K., Amaguay, R., Sevilla, J. (2024). Bioplásticos a Partir de Residuos Agrícolas: Una Revisión Sistemática, Tendencias Y Oportunidades Actuales. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *8*(5), 8997–9012. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5.14294

Ibrahim, N., Shahar, F., Sultan, M.., Shah, A., Safri, S., Mat, M. (2021). Overview of bioplastic introduction and its applications in product packaging. *Coatings*, *11*(11), 1423. https://doi.org/10.3390/coatings11111423

Jasso, S., Aguilera, A., Amaya, N. (2024). Bioplásticos: Una Mirada Integral a su Viabilidad y Aceptación en el Mercado de Consumo. *Emergentes - Revista Científica*, *4*(2), 230–246. https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.142

Jones, D. y Woods, D. (1986). Acetone-Butanol Fermentation Revisited. Microbiol. Rev. 50, 484-524.

Koller, M. (2018). A Review on Established and Emerging Fermentation Schemes for Microbial Production of Polyhydroxyalkanoate (PHA) Biopolyesters. Fermentation, 4(2):30. https://doi.org/10.3390/fermentation4020030

León, N. y Casas, M. (2024). Contaminación ambiental por residuos plásticos: reutilización y educación ambiental. *Revista Mutis*, *14*(2), 1–14. https://doi.org/10.21789/22561498.2056

Lin, Z., Cong, W., & Zhang, J. (2023). Biobutanol production from acetone–butanol–ethanol fermentation: Developments and prospects. *Fermentation*, *9*(9), 847. https://doi.org/10.3390/fermentation9090847

Mandal, M., Roy, A., Mitra, D., Sarkar, A. (2024). Possibilities and prospects of bioplastics production from agri-waste using bacterial communities: Finding a silver-lining in waste

management. *Current Research in Microbial Sciences*, *7*(100274), 100274. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100274

Martinez, V. (2010). *Implementación de bioprocesos continuos estables para la producción de hidrógeno por fermentación oscura*. Dirección General de Investigación y Desarrollo (DGID), Armada Argentina. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3988.8489

Meereboer, K., Misra, M., Mohanty, A. (2020). Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites. *Green Chemistry: An International Journal and Green Chemistry Resource: GC*, *22*(17), 5519–5558. https://doi.org/10.1039/d0gc01647k

Mitchell, D. y Von Meien, O. (2000). Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of the Zymotis packed-bed bioreactor for solid-state fermentation. Biotech. Bioeng. 68:127

Mora, A., Gómez, J., Salazar, A., Sánchez, S., Cardona, A., Correa, G., Yepes, M., Marín, M. (2017). Producción y caracterización de polihidroxialcanos a partir de residuos agroindustriales. *Revista Colombiana De Materiales*, (11), 5–7. https://doi.org/10.17533/udea.rcm.328780

Müller, M., Husemann, U., Greller, G., Meusel, W., Kraume, M. (2018). Heat transfer characteristics of a stirred single-use bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, *140*, 168–177. https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.022

Naik, G., Poonia, A., Chaudhari, Prosero. (2021). Pretreatment of lignocellulosic agricultural waste for delignification, rapid hydrolysis, and enhanced biogas production: A review. *Journal of the Indian Chemical Society*, *98*(10), 100147. https://doi.org/10.1016/j.jics.2021.100147

Narancic, T., Cerrone, F., Beagan, N., O'Connor, K. (2020). Recent advances in bioplastics: Application and biodegradation. *Polymers*, *12*(4), 920. https://doi.org/10.3390/polym12040920

Navasingh, R., Gurunathan, M., Nikolova, M., Królczyk, J. (2023). Sustainable bioplastics for food packaging produced from renewable natural sources. *Polymers*, *15*(18). https://doi.org/10.3390/polym15183760

Osman, M. (2014). Anaerobic Fermentation of industrial wastewater. *Open J Chem Eng Sci*, *1*(1), 50-78.

Patakova, P., Branska, B., Sedlar, K., Vasylkivska, M., Jureckova, K., Kolek, J., Koscova, P., Provaznik, I. (2019). Acidogenesis, solventogenesis, metabolic stress response and life cycle changes in Clostridium beijerinckii NRRL B-598 at the transcriptomic level. *Scientific Reports*, *9*(1), 1371. https://doi.org/10.1038/s41598-018-37679-0

Plaza, P. (2017). *Valorización de bagazo de la industria cervecera mediante su transformación en biocombustibles avanzados: biobutanol* (Trabajo de Fin de Máster). Universidad de Valladolid. Recuperado de https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/24612/TFM-I-646.pdf?sequence=1

Rimac, A. y Salinas, A. (2019). *Bioplásticos*. Fao.org. https://agris.fao.org/search/en/providers/125069/records/674982717625988a3722e3bd

Rodríguez, V. (2021). El uso indiscriminado del plástico contamina el medio ambiente y vulnera los derechos de la naturaleza. Universidad Nacional de Loja. https://dspace.unl.edu.ec/server/api/core/bitstreams/19741593-78d6-4a94-ad1c-cfe2491d02b6/content

Sánchez, C., Castro, G., Anchundia, B. (2022). Materiales Poliméricos y el impacto ambiental: Una revisión. *Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional*, *7*(6), 596–614. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9042528

Saratale, G., Saratale, R., Varjani, S., Cho, S., Ghodake, G., Kadam, A., Mulla, S., Shin, H. (2020). Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization. Industrial Crops and Products, 150, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112425

Sekoai, P., Chunilall, V., Ezeokoli, O. (2023). Creating value from acidogenic biohydrogen fermentation effluents: An innovative approach for a circular bioeconomy that is acquired via a microbial biorefinery-based framework. *Fermentation*, *9*(7), 602. https://doi.org/10.3390/fermentation9070602

Shi, Z. y Blaschek, H. (2008). Transcriptional Analysis of Clostridium beijerinckii NCIMB 8052 and the Hyper-Butanol-Producing Mutant BA101 during the Shift from Acidogenesis to Solventogenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(24), 7709–7714. https://doi.org/10.1128/aem.01948-08

Siracusa, V. y Blanco, I. (2020). Bio-polyethylene (bio-PE), bio-polypropylene (bio-PP) and bio-poly(ethylene terephthalate) (bio-PET): Recent developments in bio-based polymers analogous to petroleum-derived ones for packaging and engineering applications. *Polymers*, *12*(8), 1641. https://doi.org/10.3390/polym12081641

Siripurapu, A., Kvn, V., Shivshetty, N., Poosarla, V. (2022). Production and characterization of biodegradable polymer-polyhydroxybutyrate from agricultural waste-sugarcane bagasse by the novel marine bacterium Klebsiella pneumoniae G1. *Bioresource Technology Reports*, *20*(101268), 101268. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101268

Sosa, D., Boucourt, R., Dustet, J. (2012). *Uso de la modelación matemática en los procesos de fermentación en estado sólido de sustratos fibrosos destinados a la alimentación animal Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 46, núm. 2, pp. 119-126 Instituto de Ciencia Animal La Habana, Cuba.* https://www.redalyc.org/pdf/1930/193024447001.pdf

Swetha, T., Bora, A., Ananthy, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., Arun, A. (2024). A review of bioplastics as an alternative to petrochemical plastics: Its types, structure, characteristics, degradation, standards, and feedstocks. *Polymers for Advanced Technologies*, *35*(6). https://doi.org/10.1002/pat.6482

Tan, G., Chen, C., Li, L., Ge, L., Wang, L., Razaad, I., Li, Y., Zhao, L., Mo, Y., Wang, J. (2014). *Start a research on biopolymer polyhydroxyalkanoate (PHA): A review.* Polymers, 6(3), 706–754. https://doi.org/10.3390/polym6030706

Utsunomia, C., Ren, Q., Zinn, M. (2020). Poly(4-Hydroxybutyrate): Current State and Perspectives. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8(257), 1-20. https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00257

Vasconez, C., Rosero, G., Tasambay, A. (2025). *Estudio de la obtención de bioplásticos a partir de residuos vegetales: Una revisión bibliográfica*. https://doi.org/10.59410/preprint-uea-vamb2324ep04-37

Verdini, F., Tabasso, S., Mariatti, F., Bosco, F., Mollea, C., Calcio, E., Cirio, A., Cravotto, G. (2022). From agri-food wastes to polyhydroxyalkanoates through a sustainable process. *Fermentation*, *8*(10), 556. https://doi.org/10.3390/fermentation8100556

Waites, M., Morgan, N., Rockey, J., Higton, G. (2001). Industrial Microbiology: An Introduction. USA: Wiley-Blackwell .

Wang, S., Chen, W., Xiang, H., Yang, J., Zhou, Z., Zhu, M. (2016). Modification and potential application of short-chain-length polyhydroxyalkanoate (SCL-PHA). *Polymers*, *8*(8), 273. https://doi.org/10.3390/polym8080273

Yong, T., Musa, M., Abdulla, R., Derman, E., Gansau, J., Rajin, M. (2024). Synthesis and characterization of bioplastics, Polyhydroxyalkanoates produced from sugarcane bagasse by using Bacillus cereus. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *58*(103181), 103181. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103181

Zytner, P., Kumar, D., Elsayed, A., Mohanty, A., Ramarao, B., Misra, M. (2023). A review on polyhydroxyalkanoate (PHA) production through the use of lignocellulosic biomass. *RSC Sustainability*, *1*(9), 2120–2134. https://doi.org/10.1039/d3su00126a

# ANEXOS

**ANEXOS A.** *Códigos ejecutados en Python Google Colab.*

**Figura 47.** *Desviación y error estándar sobre la confiabilidad del tamaño de muestra.*

```python
# ====================================================
# ANÁLISIS DE CONFIABILIDAD SEGÚN TAMAÑO DE MUESTRA
# ====================================================
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

# ----------------------------------------------------
# 1. FUNCIÓN GAUSSIANA ORIGINAL (DE GAUSS)
# ----------------------------------------------------
def gaussiana(x, x_opt=0.5, sigma=0.1):
    """
    f(x) = exp(-((x - x_opt)^2) / (2 * sigma^2))
    Representa la respuesta del sistema en torno al valor óptimo x_opt.
    """
    return np.exp(-((x - x_opt)**2) / (2 * sigma**2))

# ----------------------------------------------------
# 2. PARÁMETROS DE SIMULACIÓN
# ----------------------------------------------------
n_samples_list = [5000, 20000, 50000]  # diferentes tamaños de muestra
n_reps = 50  # repeticiones para obtener promedio
x_vals = np.linspace(0, 1, 100)  # rango de variable independiente



# ----------------------------------------------------
# 3. CÁLCULO DE DESVIACIÓN Y ERROR ESTÁNDAR PROMEDIO
# ----------------------------------------------------
desviaciones = []
errores = []

for n_samples in n_samples_list:
    y_all = []
    for _ in range(n_reps):
        x_samples = np.random.uniform(0, 1, n_samples)
        y_samples = gaussiana(x_samples)
        y_interp = np.interp(x_vals, np.linspace(0, 1, n_samples), y_samples)
        y_all.append(y_interp)
    y_all = np.array(y_all)

    # Desviación estándar y error estándar
    std_mean = y_all.std(axis=0).mean()
    SE_mean = (y_all.std(axis=0) / np.sqrt(n_reps)).mean()

    desviaciones.append(std_mean)
    errores.append(SE_mean)
```

```
# ------------------------------------------------------
# 4. MOSTRAR RESULTADOS NUMÉRICOS
# ------------------------------------------------------
print("===== RESULTADOS DE ESTABILIDAD =====")
for i, n in enumerate(n_samples_list):
    print(f"N = {n:6d} | Desviación estándar promedio = {desviaciones[i]:.6f} | Error estándar promedio = {errores[i]:.6f}")

# ------------------------------------------------------
# 5. GRÁFICO DE CURVAS: RELACIÓN N vs CONFIABILIDAD
# ------------------------------------------------------
plt.figure(figsize=(9,6))

plt.plot(n_samples_list, desviaciones, marker='o', lw=3, color='darkorange', label="Desviación estándar promedio")
plt.plot(n_samples_list, errores, marker='s', lw=3, color='royalblue', label="Error estándar promedio")
plt.fill_between(n_samples_list, errores, color='skyblue', alpha=0.3)

# Puntos de referencia
plt.scatter(n_samples_list, errores, color='red', s=80, zorder=5)

plt.title("Relación entre tamaño de muestra y confiabilidad estadística", fontsize=14)
plt.xlabel("Cantidad de datos (N)", fontsize=12)
plt.ylabel("Magnitud promedio", fontsize=12)
plt.legend()
plt.grid(True, linestyle='--', alpha=0.6)
plt.tight_layout()
plt.show()
```

**Tabla 14.** *Variables de optimización según la etapa del proceso.*

| | **Primera etapa (acidogénica)** | **Segunda etapa (solventogénica)** | **Tercera etapa (síntesis de PHA)** |
|---|---|---|---|
| Temperatura | T_a | T_s | T_p |
| Tiempo | t_a | t_s | t_p |
| Concentración de sustrato | S_a | S_s | S_p |
| Relación carbono-nitrógeno | C/N_a | C/N_s | C/N_p |
| Coeficiencia de transferencia de calor | U_a | U_s | U_p |
| Potencial de hidrógeno | pH_a | pH_s | pH_p |

*Nota.* Elaboración propia.

**Figura 48.** *Pretratamiento de bagazo de caña de azúcar e hidrólisis, condiciones óptimas de las variables, curvas de sensibilidad, sustrato entrante y remanente, crecimiento celular, rendimiento resultante y masa final de PHA.*

```
import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.optimize import differential_evolution
import warnings
warnings.filterwarnings("ignore")


np.random.seed(42)
N = 20000


# Composición de bagazo de caña de azúcar
cel_frac = np.random.uniform(0.40, 0.50, N)
hemi_frac = np.random.uniform(0.20, 0.40, N)
lign_frac = np.random.uniform(0.10, 0.40, N)


# Pretratamientos y eficiencia
pretreat_eff = {
    "mecanico": {"cel": 0.25, "hemi": 0.15, "lign": 0.05},
    "alcalino": {"cel": 0.60, "hemi": 0.50, "lign": 0.70},
    "acido": {"cel": 0.70, "hemi": 0.85, "lign": 0.10},
    "biologico": {"cel": 0.40, "hemi": 0.45, "lign": 0.35}
}
methods = np.random.choice(list(pretreat_eff.keys()), N)



glucosa_pret = np.zeros(N)
xilosa_pret = np.zeros(N)
arabinosa_pret = np.zeros(N)


for i, m in enumerate(methods):
    eff = pretreat_eff[m]
    glucosa_pret[i] = 50 * eff["cel"]
    hemi = 50 * eff["hemi"]
    xilosa_pret[i] = hemi * 0.85
    arabinosa_pret[i] = hemi * 0.15
```

```
total_sugar_pret = glucosa_pret + xilosa_pret + arabinosa_pret
df_pret = pd.DataFrame({
    "method": methods,
    "glucosa_pret": glucosa_pret,
    "xilosa_pret": xilosa_pret,
    "arabinosa_pret": arabinosa_pret,
    "total_sugar_pret": total_sugar_pret
})


pre_comparison = df_pret.groupby('method')['total_sugar_pret'].mean().reset_index()
best_pretreatment = pre_comparison.loc[pre_comparison['total_sugar_pret'].idxmax(), 'method']


hydrolysis_eff = 0.90
df_pret['substrate_after_hydrolysis'] = df_pret['total_sugar_pret'] * hydrolysis_eff
hydro_comparison = pre_comparison.copy()
hydro_comparison['total_sugar_hydro'] = hydro_comparison['total_sugar_pret'] * hydrolysis_eff
S0 = df_pret[df_pret["method"] == best_pretreatment]["substrate_after_hydrolysis"].mean()


# Comparación simplificada y gráfica separada
comparison_df = pd.DataFrame({
    'Método': pre_comparison['method'],
    'Pretratamiento (g/L)': pre_comparison['total_sugar_pret'],
    'Hidrólisis (g/L)': hydro_comparison['total_sugar_hydro']
})


print("\nComparación del pretratamiento y la hidrólisis (promedios):")
print(comparison_df.to_string(index=False))
```

```
# Gráfico Pretratamiento
plt.figure(figsize=(8,5))
bars_pretreat = plt.bar(comparison_df['Método'], comparison_df['Pretratamiento (g/L)'], color='skyblue')
plt.title('Pretratamiento')
plt.ylabel('Concentración (g/L)')
plt.grid(axis='y', alpha=0.3)
plt.bar_label(bars_pretreat, fmt="%.2f", padding=3)
plt.show()
```

```python
# Gráfico Hidrólisis
plt.figure(figsize=(8,5))
bars_hydro = plt.bar(comparison_df['Método'], comparison_df['Hidrólisis (g/L)'], color='orange')
plt.title('Hidrólisis')
plt.ylabel('Concentración (g/L)')
plt.grid(axis='y', alpha=0.3)
plt.bar_label(bars_hydro, fmt="%.2f", padding=3)
plt.show()
```

```python
print(f"\nEl mejor método de pretratamiento es '{best_pretreatment}' con un promedio de azúcar liberada de {comparison_df.loc[comparison_df['Método'] == best_pretreatment, 'Pretratamiento (g/L)'].values[0]:.2f} g/L.")
print(f"Después de la hidrólisis, la concentración promedio de azúcar remanente para este método es {comparison_df.loc[comparison_df['Método'] == best_pretreatment, 'Hidrólisis (g/L)'].values[0]:.2f} g/L.")
```

```python
def gaussian(x, mu, sigma):
    return np.exp(-((x - mu)**2) / (2 * sigma**2))


def logistic_growth(t, X0, Xmax, mu):
    return Xmax / (1 + ((Xmax - X0) / X0) * np.exp(-mu * t))


def rendimiento_PHA_3etapas(x):
    T_a, t_a, CN_a, U_a, pH_a, conc_s_a, \
    T_s, t_s, CN_s, U_s, pH_s, conc_s_s, \
    T_p, t_p, CN_p, U_p, pH_p, conc_s_p = x

    if not (S0*0.98 <= conc_s_a <= S0*1.02):
        return 0.0

    f_a = np.mean([
        gaussian(T_a, 36, 0.3),
        gaussian(t_a, 15, 0.5),
        gaussian(CN_a, 25, 0.3),
        gaussian(U_a, 250, 10),
        gaussian(pH_a, 6.5, 0.05),
        gaussian(conc_s_a, S0, S0*0.01)
    ])

    f_s = np.mean([
        gaussian(T_s, 33, 0.3),
        gaussian(t_s, 42, 2),
        gaussian(CN_s, 25, 0.3),
        gaussian(U_s, 250, 10),
        gaussian(pH_s, 5.5, 0.05),
        gaussian(conc_s_s, 30, 1)
    ])

    f_p = np.mean([
        gaussian(T_p, 33, 0.3),
        gaussian(t_p, 60, 4),
        gaussian(CN_p, 80, 0.3),
        gaussian(U_p, 250, 10),
        gaussian(pH_p, 6.2, 0.05),  # pH en tercera etapa
        gaussian(conc_s_p, 10, 0.5)
    ])
```

```
        X0_b, Xmax = 0.01, 1.0
        X_a = logistic_growth(t_a, X0_b, Xmax, 0.28)
        X_s = logistic_growth(t_s, X_a, Xmax, 0.055)
        X_p = logistic_growth(t_p, X_s, Xmax, 0.028)

        Y_raw = f_a * f_s * f_p * X_p

        if Y_raw > 0.92:  # rendimiento máximo ajustado a 92%
            penalty = (Y_raw - 0.92)**2 * 100
            Y = 0.92 - penalty
            if Y < 0:
                Y = 0
        else:
            Y = Y_raw

        return Y


    bounds = [
        (30,37),(12,18),(20,30),(100,400),(5.5,6.5),(S0*0.98,S0*1.02),
        (30,37),(12,72),(20,30),(100,400),(5.0,6.5),(20,40),
        (30,37),(24,96),(20,200),(100,400),(5.0,7.0),(5,20)
    ]


    variables = ['T_a','t_a','C/N_a','U_a','pH_a','Conc_s_a',
                 'T_s','t_s','C/N_s','U_s','pH_s','Conc_s_s',
                 'T_p','t_p','C/N_p','U_p','pH_p','Conc_s_p']
```

```
result = differential_evolution(lambda x: -rendimiento_PHA_3etapas(x), bounds, maxiter=300, seed=42)
opt_x = result.x
opt_rend = rendimiento_PHA_3etapas(opt_x)*100


condiciones_opt = pd.DataFrame({
    'Variable': variables,
    'Valor óptimo': np.round(opt_x,3)
})


print("\nCondiciones óptimas obtenidas:")
print(condiciones_opt.to_string(index=False))


fig, axs = plt.subplots(6, 3, figsize=(20, 24))
axs = axs.flatten()
```

```
for i, var in enumerate(variables):
    x_vals = np.linspace(bounds[i][0], bounds[i][1], 300)
    y_vals = [rendimiento_PHA_3etapas(opt_x[:i].tolist() + [v] + opt_x[i+1:].tolist()) * 100 for v in x_vals]
    axs[i].plot(x_vals, y_vals, color='blue', lw=2)
    axs[i].axvline(opt_x[i], color='red', linestyle='--', lw=1)
    axs[i].scatter(opt_x[i], rendimiento_PHA_3etapas(opt_x) * 100, color='red', s=80, zorder=5)
    axs[i].text(opt_x[i], rendimiento_PHA_3etapas(opt_x) * 100 + 1.5,
                f"{opt_x[i]:.3f}", color='red', ha='center')
    axs[i].set_title(f"Sensibilidad - {var}")
    axs[i].set_xlabel(var)
    axs[i].set_ylabel("Rendimiento PHA (%)")
    axs[i].set_ylim(0, 100)
    axs[i].grid(alpha=0.3)
```

```
plt.tight_layout()
plt.show()


S_in = [opt_x[5], opt_x[11], opt_x[17]]
S_remain = [opt_x[11], opt_x[17], opt_x[17] * 0.35]


substrates_df = pd.DataFrame({
    'Fase': ['Acidogénica', 'Solventogénica', 'PHA'],
    'Sustrato Entrante (g/L)': S_in,
    'Sustrato Remanente (g/L)': S_remain
})


print("\nSustratos entrante y remanente:")
print(substrates_df.to_string(index=False))
```

```
plt.figure(figsize=(8, 5))
plt.plot(substrates_df['Fase'], substrates_df['Sustrato Entrante (g/L)'], marker='o', label='Entrante')
plt.plot(substrates_df['Fase'], substrates_df['Sustrato Remanente (g/L)'], marker='s', label='Remanente')
for i, v in enumerate(substrates_df['Sustrato Entrante (g/L)']):
    plt.text(i - 0.1, v + 0.1, f"{v:.2f}")
for i, v in enumerate(substrates_df['Sustrato Remanente (g/L)']):
    plt.text(i + 0.1, v + 0.1, f"{v:.2f}")
plt.title("Sustratos entrante y remanente por etapa")
plt.ylabel("g/L")
plt.legend()
plt.grid(alpha=0.3)
plt.show()
```

```
time_a = np.linspace(0, opt_x[1], 150)
time_s = np.linspace(0, opt_x[7], 200)
time_p = np.linspace(0, opt_x[13], 200)


X0_b, Xmax = 0.01, 1.0
X_a = logistic_growth(time_a, X0_b, Xmax, 0.28)
X_s = logistic_growth(time_s, X_a[-1], Xmax, 0.055)
X_p = logistic_growth(time_p, X_s[-1], Xmax, 0.028)


df_growth = pd.DataFrame({
    'Fase': ['Acidogénica', 'Solventogénica', 'PHA'],
    'Biomasa inicial (g/L)': [X_a[0], X_s[0], X_p[0]],
    'Biomasa final (g/L)': [X_a[-1], X_s[-1], X_p[-1]],
    'Tiempo (h)': [opt_x[1], opt_x[7], opt_x[13]]
})


print("\nCrecimiento celular por etapas:")
print(df_growth.to_string(index=False))



plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.plot(time_a, X_a, label='Acidogénica', lw=2, color='green')
plt.plot(time_s + time_a[-1], X_s, label='Solventogénica', lw=2, color='blue')
plt.plot(time_p + time_a[-1] + time_s[-1], X_p, label='PHA', lw=2, color='red')
plt.title("Crecimiento celular de C. beijerinckii por etapas")
plt.xlabel("Tiempo (h)")
plt.ylabel("Biomasa (g/L)")
plt.legend()
plt.grid(alpha=0.3)
plt.show()
```

```
# Crear tabla con solo datos de inicio y fin por etapa
substrate_points = {
    'Fase': ['Acidogénica', 'Acidogénica', 'Solventogénica', 'Solventogénica', 'PHA', 'PHA'],
    'Tiempo (h)': [time_a[0], time_a[-1], time_s[0] + time_a[-1], time_s[-1] + time_a[-1], time_p[0] + time_a[-1] + time_s[-1], time_p[-1] + time_a[-1] + time_s[-1]],
    'Concentración sustrato (g/L)': [substrate_a[0], substrate_a[-1], substrate_s[0], substrate_s[-1], substrate_p[0], substrate_p[-1]]
}
```

```
df_points = pd.DataFrame(substrate_points)
print("\nDatos de concentración de sustrato al inicio y fin de cada etapa:")
print(df_points.to_string(index=False))

# Graficar líneas y solo puntos de inicio y fin sin texto
plt.figure(figsize=(10,6))
plt.plot(time_a, substrate_a, color='brown', lw=2, label='Acidogénica')
plt.plot(time_s + time_a[-1], substrate_s, color='green', lw=2, label='Solventogénica')
plt.plot(time_p + time_a[-1] + time_s[-1], substrate_p, color='blue', lw=2, label='PHA')

plt.scatter([time_a[0], time_a[-1]], [substrate_a[0], substrate_a[-1]], color='brown', s=80)
plt.scatter([time_s[0] + time_a[-1], time_s[-1] + time_a[-1]], [substrate_s[0], substrate_s[-1]], color='green', s=80)
plt.scatter([time_p[0] + time_a[-1] + time_s[-1], time_p[-1] + time_a[-1] + time_s[-1]], [substrate_p[0], substrate_p[-1]], color='blue', s=80)

plt.xlabel('Tiempo (h)')
plt.ylabel('Concentración de sustrato (g/L)')
plt.title('Consumo de sustrato por Clostridium beijerinckii (inicio y fin por etapa)')
plt.legend()
plt.grid(alpha=0.3)
plt.show()


print(f"\nRendimiento obtenido: {opt_rend:.2f}%")
masa_final = (opt_rend / 100) * X_p[-1]
print(f"Masa final de PHA (g/L): {masa_final:.3f}")
```

**Figura 49**. *Análisis estadístico de velocidad de agitación (rpm).*

```
import numpy as np
import scipy.stats as stats
from tabulate import tabulate

# Modelo simulado de rendimiento
def rendimiento_simulado(agitacion, tiempo, temperatura, pH, relacion_CN, conc_sustrato, coef_calor):
    base = tiempo * temperatura * pH * relacion_CN * conc_sustrato * coef_calor
    rendimiento_ideal = base / (base + agitacion)
    ruido = np.random.normal(0, 0.01)
    rendimiento = rendimiento_ideal + ruido
    rendimiento = min(max(rendimiento, 0), 1)
    return rendimiento

parametros_etapas = [
    (15.1, 35.9, 6.5, 25, 69.8, 249.8),
    (41.6, 33, 5.5, 25, 30.4, 248.3),
    (59.3, 33, 6.2, 80, 10, 250.8)
]

agitaciones = [100, 150, 200, 250, 300]

# Generar muestras por agitación
resultados_por_agitacion = {ag: [] for ag in agitaciones}

for ag in agitaciones:
    muestras = []
    for params in parametros_etapas:
        muestras.extend([rendimiento_simulado(ag, *params) for _ in range(20)])
    resultados_por_agitacion[ag] = muestras

# Preparar datos para ANOVA
grupos = [resultados_por_agitacion[ag] for ag in agitaciones]

# Realizar prueba ANOVA
F, p = stats.f_oneway(*grupos)
```

```python
print(f"Prueba ANOVA - F: {F:.4f}, p-valor: {p:.4f}")

if p < 0.05:
    print("Diferencias significativas entre niveles de agitación.")
else:
    print("No hay diferencias significativas entre niveles de agitación.")

# Obtener mejores resultados por media
medias = {ag: np.mean(resultados_por_agitacion[ag]) for ag in agitaciones}
mejor_agitacion = max(medias, key=medias.get)
print(f"Recomendación: Usar agitación de {mejor_agitacion} rpm (mayor rendimiento promedio).")

# Opcional: Tabla resumen simple
tabla = [[ag, f"{medias[ag]:.4f}"] for ag in agitaciones]
print("\nResumen de rendimiento promedio por agitación:")
print(tabulate(tabla, headers=["Agitación (rpm)", "Rendimiento promedio"], tablefmt="github"))
```