

Producción de Biomasa y Mejoramiento de la Calidad del Agua de Productos de Desecho de la Industria de Bebidas

Rodríguez Ana ⁽¹⁾ Torres Francisco, M. Sc. ⁽²⁾ Parra Roberto, Ph. D ⁽³⁾
Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales ⁽¹⁾⁽²⁾
Centro del Agua para América Latina y el Caribe ⁽³⁾
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) ⁽¹⁾⁽²⁾
Instituto Tecnológico de Estudios Superiores Monterrey ⁽³⁾
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral ⁽¹⁾⁽²⁾
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
Eugenio Garza Sada 2501 ⁽³⁾
64849 Monterrey – Nuevo León, México
avrodrig@espol.edu.ec ⁽¹⁾ ftorres@espol.edu.ec ⁽²⁾ r.parra@itesm.mx ⁽³⁾

Resumen

*En la industria de bebidas, se producen desechos de todo tipo, en el caso de la presente investigación, desechos líquidos. Estos residuos, poseen un contenido considerable de materia orgánica y glucosa que debe ser tratada con la finalidad de mejorar la calidad de este residuo al realizarse su disposición final. Debido a la creciente industria y el consumo masivo de bebidas, es importante desarrollar un sistema que permita realizar un tratamiento adecuado de los residuos producidos por la industria, siendo el desarrollo sostenible el objetivo fundamental. El proceso de desarrollo empieza con un diseño de experimentos empleando la metodología Taguchi, tomando como factores fundamentales para el experimento la temperatura, pH y velocidad de agitación, tomando en cuenta que se poseen como condiciones iniciales una mezcla de la sustancia a tratar con nutrientes y un organismo (*Saccharomyces cerevisiae*) que permita realizar un proceso de fermentación con la finalidad de obtener Etanol como fuente alternativa de energía. La investigación da como resultado un arreglo que permite obtener la mayor eficiencia de consumo de glucosa y producción de etanol y ecuaciones predictivas de la concentración de etanol, glucosa, biomasa y TOC en dependencia del tiempo, además de un coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno que permite modelar reactores.*

Palabras Claves: Fermentación, Metodología Taguchi, Mejoramiento de Agua, Industria de bebidas.

Abstract

*In beverage industry, there are produced residues of all kind, and if we are speaking about the current research, liquid residues. These wastes have a considerable content of organic matter and glucose that must be treated with the purpose of improve the quality of the residue when it's time for it disposal. Taking into account the growth of the industry and the massive consumption of beverages, it's important to develop a system that allows a proper treatment of wastes produced by the industry, being sustainable development the main objective in the project. The process starts with a experiment design applying the Taguchi Method, using as fundamental factors for the experiment temperature, pH and agitation speed, taking into account the initial conditions a mixture between the substance to treat, nutrients and an organism (*Saccharomyces cerevisiae*) that allows the fermentation process with the purpose of obtaining ethanol as an alternative source of energy. The research results in an arrangement that allow obtain the highest efficiency in glucose consumption and ethanol production, predictive equations of ethanol concentration, glucose, biomass and TOC in dependence of time, besides a volumetric oxygen transfer coefficient used for modeling reactors.*

Keywords: Fermentation, Taguchi method, Water improvement, Beverage Industry.

1. Introducción

La industria de bebidas, tal como cualquier tipo de industria realiza un proceso empleando materia prima para obtener un producto produciendo a su paso residuos. Estos residuos, en el caso de esta investigación los residuos líquidos, tienen entre otros

componentes glucosa, que corresponde a la parte clave del proyecto.

El uso de los residuos para transformar la glucosa, mediante medios biológicos, en etanol como fuente alternativa de energía, representa el objetivo fundamental de la investigación.

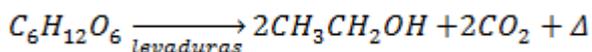
Se emplea la metodología Taguchi para el diseño experimental y análisis de resultados a fin de obtener un medio de alta eficiencia de producción de etanol y consumo de glucosa.

Se pretende evaluar los diferentes factores que intervienen en una fermentación, así como el crecimiento de la biomasa en el medio empleado y el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, que permiten modelar posteriormente un reactor a mayor escala.

2. Marco Teórico

En la investigación se emplearon, como base, los conceptos fundamentales de tratamiento de aguas residuales y parámetros de caracterización de aguas residuales industriales así como también técnicas de análisis estadístico. Sin embargo, existen conceptos y teorías más avanzadas que deben ser mencionadas para la comprensión de la investigación.

La investigación se basa en un proceso fermentativo, por lo que es necesario definir la fermentación, ésta es un proceso de oxidación en el que se degradan hidratos de carbono (glucosa) por acción enzimática en sustancias más simples (etanol). La reacción química que describe el proceso de fermentación alcohólica es:



La fermentación se lleva a cabo en un biorreactor, que no es más que el recipiente en el que se lleva a cabo el proceso fermentativo; sin embargo, existe un coeficiente que permite caracterizarlo y realizar un escalado industrial, siendo este el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (K_La).

El K_La es la capacidad de absorción de oxígeno en un biorreactor agitado mecánicamente, y se calcula empleando la ecuación:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_La(C_S - C_L)$$

En donde C_L representa la concentración de oxígeno en el líquido, que es medida empleando un medidor de oxígeno disuelto. C_S es la concentración de saturación de oxígeno, un valor constante, y K_La representa el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

En el proceso fermentativo que se realiza, se emplean organismos cuyo crecimiento debe ser cuantificado y analizado. Se emplea la ecuación de

crecimiento de Monod para describir el crecimiento de la biomasa en el reactor:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_S + S} X$$

En donde X representa la concentración de biomasa, S la concentración de sustrato (glucosa), K_S es la constante de saturación de biomasa y μ_m es la tasa máxima de crecimiento específico. Al obtener estos valores se puede modelar un crecimiento.

3. Metodología

La metodología Taguchi permite definir e involucrar todos los posibles factores que intervienen en un proceso en una serie de arreglos, siempre y cuando estos factores dependan el uno del otro. Al final, se logra reducir la desviación estándar de los valores obtenidos y disminuir el número de pruebas, de tal manera que se determina un arreglo de alta eficiencia.

Se escogieron la temperatura, pH y velocidad de agitación como las variables a variar en dos niveles diferentes, de tal modo que se obtiene el siguiente arreglo ortogonal.

Tabla 1. Experimentos y variables

Experi-mento	pH	Temperatura (°C)	Velocidad de agitación (rpm)
1	4.5	28	100
2	4.5	34	300
3	5	28	300
4	5	34	100

La temperatura debe ser controlada ya que permite que el ambiente sea propicio para un buen crecimiento celular y que la fermentación se lleve a cabo de manera exitosa. El pH en cambio garantiza que las actividades metabólicas dentro de la célula se realicen de manera adecuada. La velocidad de agitación en cambio influye permitiendo mantener condiciones uniformes a lo largo del tiempo y generando esfuerzos de corte que pueden influenciar el proceso.

La sustancia base a usar es una muestra del agua residual, con un contenido de 40g de Bayfolan®, fertilizante de uso comercial, por cada litro de muestra. La finalidad del uso de Bayfolan es aportar nutrientes para la alimentación de los organismos que se encargan de la fermentación.

El organismo a usar es *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura robusta, posee gran versatilidad para

usos industriales, es de fácil y libre acceso y económica.

El proceso se realiza en un medio no estéril, con la finalidad de acercar los resultados a la realidad; pero, es necesario mencionar que el manejo y cultivo de la levadura se realiza bajo condiciones asépticas para evitar la contaminación con otros organismos.

Los resultados obtenidos se miden de acuerdo a la concentración de glucosa, etanol, biomasa y carbono orgánico total, obtenido en cada muestra tomada durante el periodo de fermentación (72 horas) de tal manera que al final pueda realizarse un modelo matemático proveniente de regresiones lineales y no lineales.

4. Materiales

La fermentación se realizó durante un periodo de 72 horas por triplicado empleando tres reactores Applikon modelo Z61101C006 con sus respectivos sensores y controladores de pH, oxígeno disuelto, temperatura y velocidad de agitación. El software de adquisición de datos permite tomar una medida de cada uno de estos parámetros nombrados anteriormente en un periodo de 1 minuto.

Los análisis offline, fueron realizados tomando muestras periódicas de las fermentaciones, debidamente almacenadas.

El conteo celular mediante el cual se determina la concentración de Biomasa, fue realizado con la ayuda de un microscopio Leica DM750 y una cámara Leica DFC425C.

La glucosa se midió en un HPLC Shimadzu con un detector RID 6^a, Columna Luna NH₂ Amino para detección de azúcares. Longitud 250mm, diámetro 4.6mm. Se usa una mezcla 80:20 de acetonitrilo agua como medio móvil.

El etanol se midió mediante un cromatógrafo de gases Hewlett Packard Modelo 5890 con una columna Hewlett Packard Innowax para detección de etanol. Longitud 30m, diámetro interno 0.53m.

El carbono orgánico total se midió con un medidor de carbono orgánico total O.I Analytical Aurora Modelo 1030. Además se usaron cámaras de flujo laminar, incubadoras, autoclaves y material variado.

5. Determinación de $K_{L,a}$

Para realizar la determinación de $K_{L,a}$ se emplea la técnica de supresión de oxígeno, en la cual, se inyecta nitrógeno en el reactor para suprimir el oxígeno

disuelto hasta un punto crítico, luego se inyecta nuevamente para analizar el crecimiento. La curva que se obtiene es la siguiente

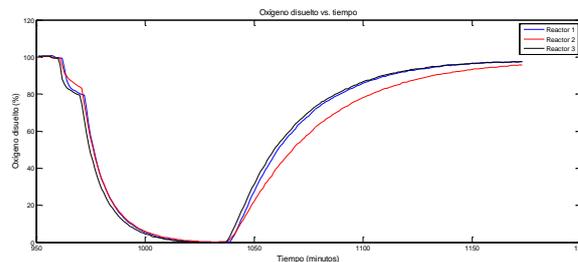


Figura 1. Oxígeno Disuelto vs. Tiempo

El crecimiento de la curva permite determinar, empleando técnicas logarítmicas el valor de $K_{L,a}$. La pendiente de las curvas linealizadas permiten obtener el valor del coeficiente.

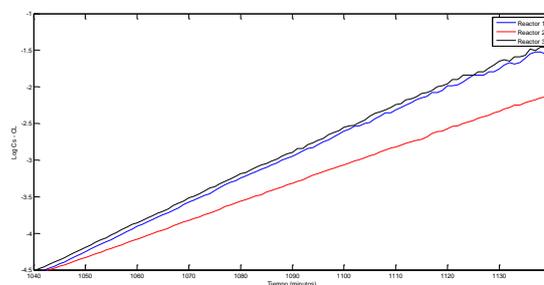


Figura 2. Log ($C_s - C_L$) vs. Tiempo

Al realizarse el análisis matemático, se obtienen los siguientes valores de $K_{L,a}$ para cada uno de los reactores:

Tabla 2. Valores obtenidos de $K_{L,a}$

Reactor	$K_{L,a}$ (h^{-1})
R1	1.932
R2	1.476
R3	1.938

6. Análisis de experimentos empleando Metodología Taguchi

El análisis de la investigación se realiza en base al consumo de glucosa, producción de etanol, crecimiento de biomasa y alteración en la concentración de carbono orgánico total. Se analizarán cada uno de estos aspectos en todos los experimentos realizados con el fin de obtener un medio de alta eficiencia de producción de etanol.

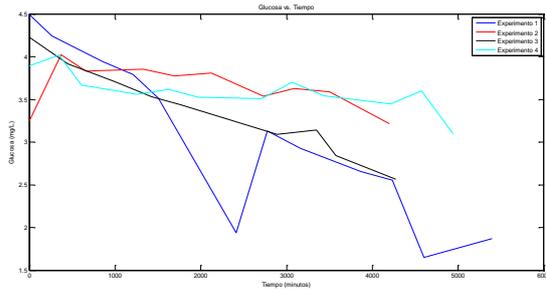


Figura 3. Gráfico de Glucosa vs. Tiempo en los experimentos

En todos los experimentos es evidente una disminución en la concentración de glucosa tras haber transcurrido el periodo de fermentación. En algunos casos este consumo ha sido más pronunciado debido a las condiciones diferentes en las que se llevaron a cabo todos los procesos.

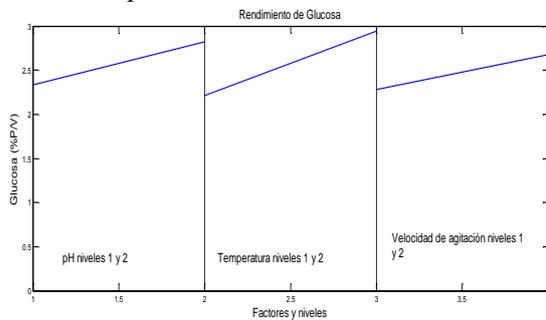


Figura 4. Rendimiento de Glucosa

Se deben obtener valores pequeños de glucosa, de tal manera que se debe optar por los niveles más bajos de pH, temperatura y velocidad de agitación.

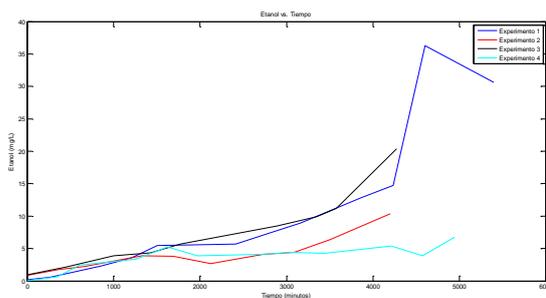


Figura 5. Gráfico de Etanol vs. Tiempo en los experimentos

Existe un crecimiento de forma exponencial de la concentración de etanol en cada uno de los experimentos alcanzando como una concentración máxima aproximadamente 30g/L de etanol.

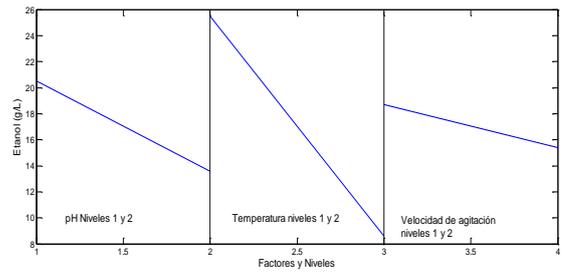


Figura 6. Rendimiento de Etanol

En este análisis, se debe procurar alcanzar la máxima concentración posible, por lo que en este caso se deben optar por los niveles más bajos de pH, Temperatura y Velocidad de agitación.

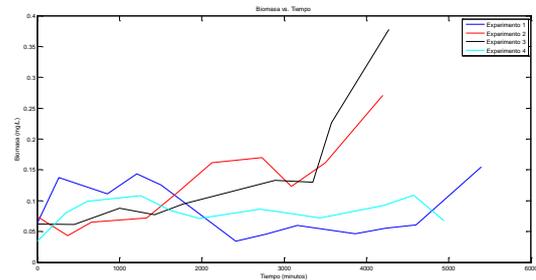


Figura 7. Gráfico de Biomasa vs. Tiempo en los experimentos

La concentración de biomasa se incrementa en todos los experimentos de manera elevada a excepción del último en la que es prácticamente imperceptible.

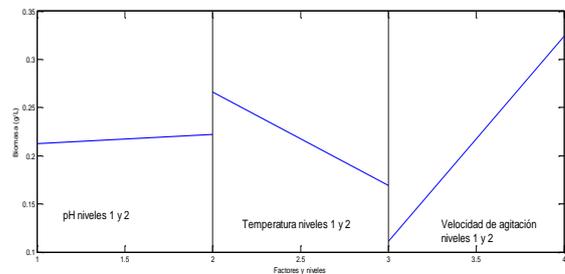


Figura 8. Rendimiento de Biomasa

Se debe procurar alcanzar una concentración elevada de biomasa para que se realice con eficiencia la fermentación, los niveles altos de pH y Velocidad de agitación, y los bajos de Temperatura permiten llegar a este cometido.

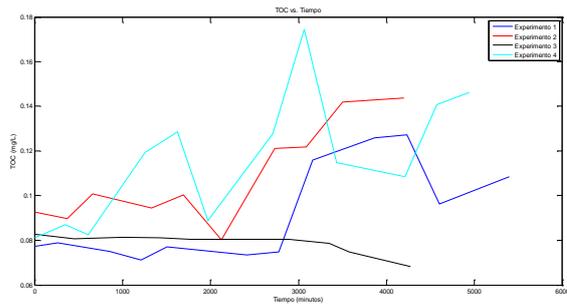


Figura 9. Gráfico de TOC vs. Tiempo en los experimentos

El carbono orgánico total se ha incrementado a excepción del primer experimento.

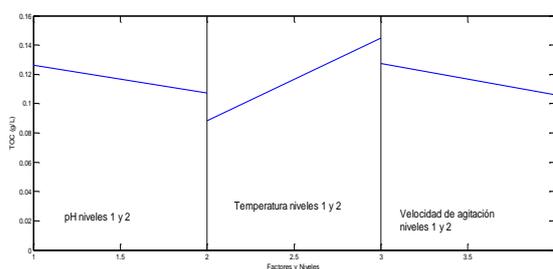


Figura 10. Rendimiento de TOC

El Carbono Orgánico Total, al igual que la biomasa, debe incrementarse en orden de obtener una concentración más alta de etanol. Para esto se deben tomar los niveles más bajos de pH y Velocidad de Agitación y los niveles altos de Temperatura.

Al momento de analizar cada uno de los rendimientos es posible corroborar los resultados. Al analizar el consumo de glucosa y la producción de etanol, en ambos casos se debe optar por niveles bajos en todos los factores, un mayor consumo de glucosa produce una mayor cantidad de etanol.

La producción de biomasa y el cambio en el TOC presentan la característica particular que los niveles óptimos de cada uno son opuestos, esto puede referirse a que el carbono orgánico total es una medida indirecta de la materia orgánica presente en una solución.

Los niveles óptimos en los cuales se produce una mayor cantidad de etanol, se obtiene un mayor consumo de glucosa, una mayor producción de biomasa y un mayor cambio de carbono orgánico total son a las siguientes condiciones:

Tabla 3. Valores óptimos del proceso

Temperatura	28°C
pH	4.5
Velocidad de agitación:	100 rpm

7. Modelos matemáticos

Tomando en consideración las condiciones iniciales en las que se produce la fermentación, es posible determinar, empleando regresiones no lineales una ecuación para la predicción de la concentración de glucosa y etanol a lo largo del tiempo.

$$G = -0.0005t + 4.3278$$

$$E = -519.323 + e^{6.245682+0.000643t}$$

Tomando en consideración que el tiempo ingresado es en horas y la concentración quedará expresada en g/L.

El análisis de crecimiento de biomasa se realizó empleando la ecuación de Monod, se encontraron los siguientes valores para cada uno de los experimentos.

Tabla 4. Valores de K_S y μ_m en el Experimento 1

Reactor	K_S (días ⁻¹)	μ_m
1	-7.2484	2.34
2	-750906	807568
3	-1067662.4	763409

Tabla 5. Valores de K_S y μ_m en el Experimento 2

Reactor	K_S (días ⁻¹)	μ_m
1	-4.11121	0.20978
2	-4.0293	0.14325
3	-4.20988	0.12811

Tabla 6. Valores de K_S y μ_m en el Experimento 3

Reactor	K_S (días ⁻¹)	μ_m
1	-3.86349	0.24479
2	-3.72725	0.18687
3	-4.16345	0.25796

Tabla 7. Valores de K_S y μ_m en el Experimento 4

Reactor	K_S (días ⁻¹)	μ_m
1	-3.97119	0.24699
2	-5.35406	0.73317
3	-5.54197	0.65164

Los valores obtenidos en cada uno de los experimentos y reactores fueron citados sin realizar ningún cálculo estadístico promedio ya que mediante el análisis de varianza se rechaza la igualdad de medias en algunos casos.

Puede notarse que los valores obtenidos de K_S son todos negativos, esto se presenta debido a que el

modelo de Monod no puede describir de manera adecuada el crecimiento celular.

8. Análisis Online

En cada uno de los experimentos, a lo largo del proceso de fermentación, se tomaron mediciones de pH y oxígeno disuelto por minuto en cada reactor.

Fue posible darse cuenta que en todos los casos, sin importar la concentración final de etanol obtenida hubo una disminución del pH, esta variación se produce principalmente por la incrementación de biomasa y el aumento de funciones metabólicas en las que se producen residuos, la concentración de etanol disuelta tiene también incidencia pero a menor medida.

En todos los casos se presentó una disminución del oxígeno disuelto presentando ciertos puntos en los que disminuye abruptamente creando picos, que corresponden a puntos en los que el conteo celular presenta incrementos notables.

9. Conclusiones

El uso de técnicas biotecnológicas y metodologías avanzadas para el tratamiento de aguas residuales permite revolucionar el manejo de residuos al hacerlo sustentable. El tratamiento de un agua residual industrial se realiza empleando la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, una levadura robusta y de gran versatilidad y uso comercial, que con la alimentación de una fuente nitrogenada (Bayfolan) logra obtener de manera eficiente etanol como fuente alterna de energía.

La combinación óptima de condiciones para la obtención de etanol se da a una temperatura de 28°C, pH 4.5 y una velocidad de agitación de 100rpm, en donde se puede predecir las concentraciones de glucosa y etanol a lo largo del tiempo tomando en consideración las condiciones iniciales en las que se obtuvo este resultado. Estas ecuaciones están contempladas en el numeral 7. del documento.

Como valor característico de los reactores empleados, se obtuvo el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno con un valor promedio de 1.782h^{-1} .

10. Recomendaciones

La investigación fue llevada a cabo de manera exitosa, sin embargo, existen ciertos factores que pueden ser mejorados.

Si bien es cierto, una fermentación es un proceso anaeróbico; es decir, en ausencia de oxígeno, una fermentación alcohólica como la que se realizó se efectúa de esta manera, sin embargo, la levadura empleada es un organismo facultativo, es decir puede realizar sus procesos metabólicos en presencia o ausencia de oxígeno. El proceso se llevó a cabo en presencia constante de oxígeno para facilitar la reproducción celular.

Es recomendable hacer una investigación en la que se analice la inyección de oxígeno por un periodo determinado de tiempo para facilitar el crecimiento celular, con el objetivo de disminuir los costos de operación en caso de que el proyecto se lleve a escala industrial.

Al realizar la destilación del fluido, se producen desechos denominados vinazas. Estos desechos se producen en una relación 13:1 con respecto al etanol obtenido, y son ricos en nutrientes. Debe recordarse que se agrega una cantidad de 40g/L de Bayfolan que es un fertilizante comercial. Las vinazas producidas pueden ser estudiadas y caracterizadas para ser empleadas como un fertilizante. De este modo el proceso llega a ser 100% sostenible transformando los residuos en dos sustancias de uso comercial.

11. Referencias

1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México en cifras, Extraído el 26 de marzo del 2012 de <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>, 2010.
2. Schwab K, *The Global Competitiveness Report 2011-2012*, Geneva: World Economic Forum, 2010, p.527.
3. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Total de actividad industrial. Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER157051>, 2011.
4. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Total de industrias manufactureras. Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER157062>, 2011.
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Número de establecimientos, Total industria manufacturera Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/SER133977>, 2011.
6. Banco Mundial, Datos Estadísticos de México 2009, Extraído el 28 de marzo del 2012 de <http://datos.bancomundial.org/pais/mexico>, 2009

7. López M, Lucero J, Suárez L., *Reporte de Recursos Hídricos México 2010, Monterrey – México*. Centro del Agua para América Latina y el Caribe, 2010.
8. Secretaría De Medio Ambiente y Recursos Naturales, Plantas de tratamiento de agua residual industrial, Extraído el 28 de marzo del 2012 de http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_AGUA07_12&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce, 2009.
9. Secretaría De Medio Ambiente y Recursos Naturales, Plantas de tratamiento de agua residual industrial: Plantas en operación según tipo de tratamiento, Extraído el 28 de marzo del 2012 de http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_AGUA07_13&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce, 2009.
10. Alcocer S, *Balance Nacional de Energía 2010, México DF*, Secretaría Nacional del Energía, 2010, p.130.
11. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, Beneficios: Caso relleno sanitario de Monterrey. Extraído el 27 de marzo del 2012 de <http://www.bioenergeticos.gob.mx/index.php/beneficios-el-caso-de-monterrey.html>, 2010.
12. Rigola M, *Tratamiento de aguas industriales: Aguas de proceso y residuales*, Ed. Marcombo, 1989.
13. Tchobanoglous G, Burton F, Stensel D, *Wastewater engineering, treatment and reuse*, Ed. McGraw Hill, 2003.
14. Ramirez C, *Tratamiento de aguas residuales industriales*, Universidad Autónoma Metropolitana, 1992, p. 29-154.
15. Ramalho R, *Introduction to Wastewater Treatment Processes*, Academic Press, 1977.
16. Schügerl K, *Bioreaction Engineering, Reactions involving microorganisms and cells, Fundamentals, Thermodynamics, Formal Kinetics, Idealized Reactor, Types and Operation Models Volume 1*, John Wiley & Sons Ltd, 1990, p. 4-138.
17. Breisha G, *Production of 16% ethanol from 35% sucrose*, Elsevier, Science Direct, 2008.
18. Quintero et al, *Proyectos de Investigación sobre el uso y manejo de vinazas*, Extraído el 20 de marzo del 2012 de <http://www.cengicana.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>.
19. Banat et al, *Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: Part I Yeast in general*, World Journal of Microbiology & Biotechnology. 14, 1998, p.809-817.
20. Schügerl K, *Bioreaction Engineering, Characteristic Features of Reactors Volume 2*, John Wiley & Sons, 1990, p.1-251.
21. Najafpour G, *Biochemical Engineering and Biotechnology*, Elsevier, 2007, p.2-289.
22. Roy, R, *A Primer on the Taguchi method*, Society of Manufacturing Engineers 1990, p. 8-154.
23. Albers et al, *Influence on the nitrogen source on Saccharomyces Cerevisiae anaerobic growth and product formation*, Journal of Applied and Environmental Microbiology, 1996.
24. Solomons G, *Materials and Methods in fermentations*, Academic Press, 1969, p.163.
25. Nevoigt, *Process in Metabolic Engineering of Saccharomyces Cerevisiae*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2008, p. 379 – 412.
26. Sedlak M, Ho N, *Production of Ethanol from Cellulosic Biomass Hydrolysates Using Genetically Engineered Saccharomyces Cerevisiae Yeast Capable of Cofermenting Glucose and Xylose*, Human Press, 2004.
27. Prakasham et al, *The Taguchi Methodology as a statistical tool for biotechnological applications: A critical appraisal*, Biotechnology Journal, 2008, p 510 – 523.
28. Videla J, Lie B, *Using Modelica / Matlab for parameter estimation in a bioethanol fermentation model*, The Modelica Asociation, 2008.
29. Morimura S, Ya Ling Z, Kida K, *Ethanol Production by Repeated Batch Fermentation at High Temperature in a Molasses Medium Containing a High Concentration of Total Sugar by a Thermotolerant Flocculating Yeast with Improved Salt-Tolerance*, Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, p 271 – 274.
30. Gaden E, *Fermentation Process Kinetics*, Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 2000.
31. Vázquez H, Dacosta O, *Fermentación alcohólica, Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas*, Ingeniería Investigación y Tecnología, 2007, p. 249 – 259.
32. Sánchez et al, *Influence of temperature on the fermentation of D-Xylose by Pachysolen tannophilus to produce ethanol and xylitol*, Process Biochemistry, 2003, p. 673 – 679.
33. Bui S, Verykios X, Mutharasan R, *In Situ Removal of Ethanol from Fermentation Broths I. Selective Adsorption Characteristics*, 1995.
34. Ccopa et al, *Evaluation of optimization techniques for parameter estimation: Application to ethanol fermentation considering the effect of temperature*, Elsevier, 2006, p. 1682 – 1687.