

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**INGENIERÍA QUÍMICA**



**INFORME DE PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA**

“Análisis de factibilidad de metodología de propagación de levaduras utilizadas por Bio4,  
en la Planta Experimental para ensayos de fermentación con sorgo”

Alumno: Palazesi, Paula

DNI: 34.334.781

Tutor por la UNRC: Sosa, Valentina

DNI: 24.783.243

Tutor por la empresa: Frola, Fabiana

DNI: 26.558.131

Lugar de realización: Bioetanol Río Cuarto S.A, Ruta Provincial N° 19 km 1,2, Río Cuarto -  
Córdoba.

Período de realización de la Práctica: 15/05/2017 al 24/07/2017.

Fecha de presentación del Informe: 18/12/2017.



# PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

### **RESUMEN**

En el siguiente informe se describe el desarrollo de la Práctica Profesional Supervisada realizada en la empresa Bioetanol Río Cuarto S.A. de la localidad de Río Cuarto, la cual se encarga de la producción de Bioetanol y sus derivados. La Práctica tuvo lugar en la Planta Experimental.

La Práctica tiene como objetivos el acercamiento del alumno al ámbito laboral, la interrelación con el personal de la empresa y la aplicación de los conocimientos adquiridos durante el transcurso de la carrera.

El principal objetivo planteado fue analizar la metodología de propagación de levaduras de Bio4 y determinar la aplicabilidad a la fermentación con sorgo en la Planta Experimental. Para poder cumplir este objetivo se realizó la búsqueda de información acerca de las condiciones operativas del proceso productivo.

Debido a que se disponía de poca información y sólo estaba planteado un ensayo con sorgo para llevar a cabo la propagación, se propuso la realización de un segundo ensayo de propagación para recaudar mayor información y así poder realizar un análisis de los resultados.

Todos los objetivos planteados fueron cumplidos, resultando una experiencia que contribuyó al crecimiento personal y a concretar la formación como futuro profesional.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

### CONTENIDO

1 . OBJETIVOS .....	4
1.1    Objetivos planteados .....	4
1.2    Objetivos alcanzados .....	4
2 . DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA .....	5
2.1    Presentación.....	6
2.2    Organigrama.....	6
2.3    Proceso Tecnológico .....	7
2.3.1 Molienda .....	8
2.3.2 Licuefacción .....	9
2.3.3 Sacarificación .....	9
2.3.4 Fermentación .....	9
2.3.5 Destilación .....	10
2.3.6 Deshidratación .....	10
2.3.7 Subproductos .....	10
2.4    Planta experimental .....	11
3 . DESCRIPCIÓN DE LAS TAREAS REALIZADAS .....	12
3.1    Inducción de ingreso a la planta .....	13
3.2    Estudio de normas que alcanzan al sistema de producción .....	13
3.3    Análisis de la factibilidad de aplicar la metodología de propagación de levaduras de Bio4 a la Planta Experimental en ensayos con sorgo .....	14
4 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	22
5 . CONCLUSIONES .....	29
6 . BIBLIOGRAFÍA .....	30
7 . Anexos .....	31



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

7.1	Anexo 1. Organigrama Bio4 .....	31
7.2	Anexo 2. Diagrama de bloques del proceso .....	32
7.3	Anexo 3. Equipos que conforman cada sector de la Planta Experimental .....	33
7.4	Anexo 4. Imágenes de los ensayos con sorgo .....	37



## 1 . OBJETIVOS

### 1.1 Objetivos planteados

#### GENERALES:

- Desarrollar en el estudiante habilidades prácticas propias de la actividad profesional en una planta industrial a escala piloto.
- Reconocer la metodología de propagación de levaduras que utiliza la empresa en la fermentación del maíz, y analizar su escalabilidad a la Planta Experimental.

#### ESPECÍFICOS:

- Reconocer la planta industrial de la empresa Bio4 y el proceso de producción de bioetanol de maíz.
- Reconocer normas de Higiene y Seguridad aplicables y realizar las capacitaciones correspondientes.
- Reconocer las instalaciones de la Planta Experimental y las instrucciones operativas vinculadas.
- Analizar la metodología de propagación de levaduras de Bio4 y determinar su aplicabilidad a la fermentación con sorgo en la Planta Experimental.
- Participar activamente de ensayos experimentales de fermentación con sorgo a desarrollarse en Planta Experimental.

### 1.2 Objetivos alcanzados

Todos los objetivos planteados se pudieron cumplir dentro del tiempo de duración de la Práctica Profesional Supervisada.

## 2 . DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA

Nombre: Bioetanol Río Cuarto S.A.

Dirección: Ruta Provincial N° 19 km 1,2 (altura Km 609 de la Ruta Nacional N° 8). Río Cuarto, Córdoba. En la Figura 1 se presenta la ubicación geográfica de Bio4.

Teléfono: 0358 – 4210620.

Rubro: Biocombustible y bioenergía.

Productos: Alcohol etílico de alta pureza y burlanda de maíz.

Capacidad instalada= 90.000.000 lt/año

Burlanda de maíz seca (DDGS) y húmeda (WDGS)= 41.800 ton/año

Área de la empresa en la que se desarrolló la Práctica: Planta Experimental consorcio Bio4-UNRC.

Horario: Lunes a Viernes de 14 a 18 hs.



Figura 1-Ubicación geográfica de Bio4



### 2.1 Presentación

Es una empresa conformada, a través del asociativismo, por productores agropecuarios de Río Cuarto y la zona, dedicada a la producción de bioetanol, alcohol etílico de alta pureza (99,5 % v/v), anticorrosivo y oxigenante, que es empleado como combustible mezclándolo con las naftas en proporciones dictaminadas por el Gobierno de la Nación, el cual a partir del año 2014 estipuló un corte no inferior al 10 % (E10<sup>1</sup>).

Además de la producción de bioetanol, se obtiene como subproducto, la burlanda de maíz seca (DDGS) y húmeda (WDGS), que es un alimento para el ganado de alto contenido energético, de gran importancia para el desarrollo de la ganadería, utilizando así en su totalidad el grano de maíz.

Como visión y misión la empresa pretende, generar valor agregado a la producción primaria a través de la fabricación de biocombustibles y bioenergía aportando beneficios económicos y sociales a la región de Río Cuarto, de manera amigable con el medio ambiente, cumpliendo con todos los requerimientos legales y de los clientes.

### 2.2 Organigrama

La Práctica Profesional se realizó en la Planta Experimental, la cual se ubica dentro del Área de Proyectos. En la Figura 2 se presenta el organigrama particular, donde se puede observar el sector de proyectos mencionado y las principales áreas de la empresa. En el Anexo 1 Figura A1.1 se presenta el organigrama general que rige la empresa.

---

<sup>1</sup> El biocombustible E10 significa una mezcla del 10 % de bioetanol y el 90 % de gasolina normal. Esta mezcla es la más utilizada ya que hasta esta proporción de mezcla los motores de los vehículos no requieren ninguna modificación e incluso produce la elevación del octanaje en la gasolina mejorando su resultado y obteniendo una reducción en la emisión de gases contaminantes.



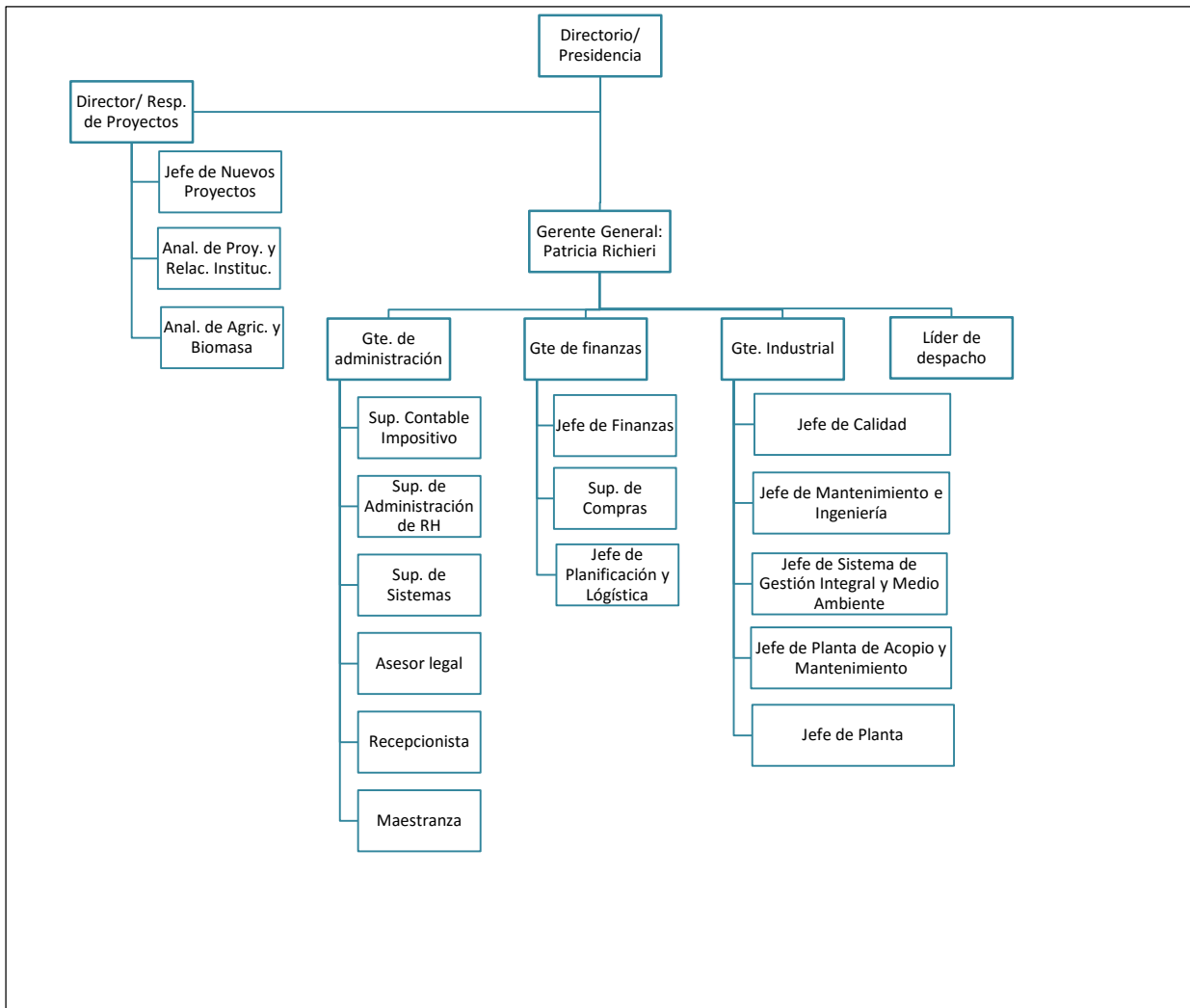


Figura 2-Organigrama Bio4

### 2.3 Proceso Tecnológico

La empresa se encarga de la obtención de etanol a partir de biomasa de origen vegetal que contenga azúcares simples o algún compuesto que pueda convertirse en azúcares, como es el almidón. La obtención de bioetanol de primera generación se realiza a partir de especies vegetales como: maíz, trigo, sorgo, cebada, remolacha azucarera y caña de azúcar. Al provenir de biomasa de origen vegetal, el bioetanol es una energía renovable y su empleo disminuye la emisión de gases contaminantes a la atmósfera, lo que es un gran aporte para disminuir la contaminación ambiental, y como consecuencia, el calentamiento global.

El bioetanol se produce mediante una fermentación alcohólica por medio de levaduras. Las levaduras fermentan los azúcares simples, que provienen de la biomasa, dando como resultado final, etanol y dióxido de carbono. En el caso del maíz, el almidón que contiene el grano es el único componente que se transforma en alcohol. Para esto se utilizan enzimas específicas que hidrolizan el almidón hasta azúcares simples como la glucosa. En la Figura 3 se presenta un diagrama detallado del proceso tecnológico utilizado para la fabricación de bioetanol y a continuación se explica cada uno de sus etapas.

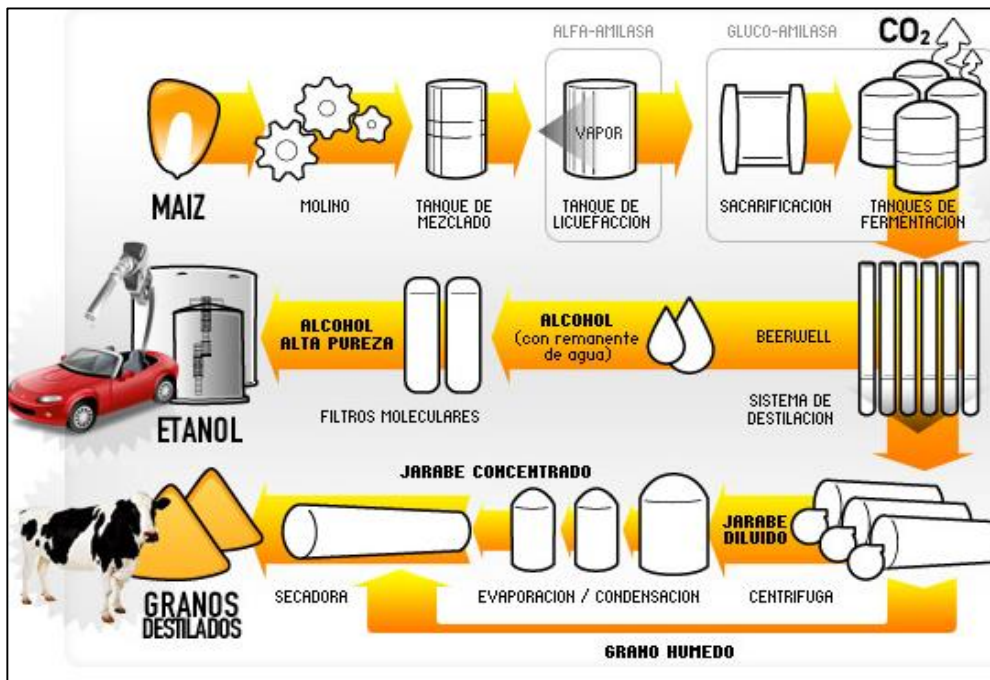


Figura 3- Proceso productivo de bioetanol

### 2.3.1 Molienda

La primera etapa para la producción de bioetanol es la de molienda de la materia prima. En Bio4 la materia prima que se utiliza es el maíz.

La planta, opera aplicando el sistema de molienda seca a partir de maíz. Eventualmente, se puede también trabajar con sorgo, como una opción alternativa.

El maíz es recibido a granel, pesado, descargado y almacenado en silos, previo muestreo y análisis a efectos de evaluar su calidad. Sólo si el maíz cumple con las condiciones mínimas requeridas, es incorporado al proceso.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

El objetivo de la molienda es, reducir el tamaño de los granos, exponer el gránulo de almidón, incrementar los grados brix en la licuefacción, incrementar la producción de alcohol, reducir el almidón en el DDGS. El maíz limpio después de la eliminación de impurezas se muele como harina de maíz, que debe ser lo suficientemente fina para ser licuificada por la enzima correspondiente y también para permitir el hinchamiento y ablandamiento de los gránulos de almidón, lo cual mejora la eficiencia del tratamiento térmico, reduce el tiempo de cocción y facilita el transporte de material.

### **2.3.2 Licuefacción**

El objetivo de esta etapa es dar inicio a la degradación de la estructura del almidón para permitir su hidrólisis, convirtiéndolo en cadenas menores denominadas dextrinas (dextrinización), las cuales finalmente son reducidas a azúcares fermentables tales como la glucosa. La harina de maíz se introduce en los tanques de licuefacción donde se mezcla con agua y la enzima alfa-amilasa y se lo calienta por un período de 4 horas donde se hidroliza el almidón. A la mezcla se le agregan componentes químicos (hidróxido de sodio y/o ácido sulfúrico) para mantenerla con un pH entre 5.1-5.3. En esta etapa se transfiere calor a la mezcla, para así, reducir los niveles de bacterias presentes en el puré o mosto.

### **2.3.3 Sacarificación**

El mosto hidrolizado se enfría y se le agrega una enzima secundaria –glucoamilasa- para convertir las moléculas de almidón licuado en azúcares fermentables –dextrosas-, para que luego las levaduras, en la fermentación, puedan convertir los azúcares en etanol.

### **2.3.4 Fermentación**

El etanol es producto de la fermentación. Al mosto se le agrega levadura para fermentar los azúcares y con ello obtener el etanol y el anhídrido carbónico. En primer lugar se realiza la activación de levaduras, es decir su rehidratación. La levadura utilizada en Bio4 pertenece al género *Saccharomyces*. Luego se procede con la propagación, cuyo objetivo es incrementar la disponibilidad de biomasa a efectos de su posterior inoculación a los fermentadores, para ello se debe mantener un control estricto de las condiciones nutricionales y ambientales, brindándole un ambiente propicio, en presencia de oxígeno mediante la incorporación de aire comprimido. En esta etapa, además de la propagación pretendida, se produce en paralelo y en menor medida, una



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

fermentación alcohólica. Transcurridas la 6-8 horas de propagación, se corta el suministro de aire comprimido para que mediante un proceso anaeróbico las levaduras fermenten los azúcares simples para dar etanol y dióxido de carbono. Este proceso tiene una duración máxima prevista de 58 horas, antes que comience el proceso de destilación.

### **2.3.5 Destilación**

El mosto fermentado, contiene alcohol (cerca del 12%) y agua, así como todos los sólidos no fermentables del maíz y de la levadura. El mosto entonces es bombeado de forma continua hacia el sistema de destilación, donde ocurre la separación del alcohol etílico. El alcohol deja la columna de destilación con una pureza del 96% v/v, y el mosto de residuo, llamado “stillage”, se transfiere de la base de la columna para su procesamiento como subproducto.

### **2.3.6 Deshidratación**

El alcohol pasa a través de un sistema de tamices moleculares donde se le extrae la mayor cantidad de agua restante. El alcohol puro, sin el agua, se denomina alcohol anhidro y posee una pureza mayor al 99,5% v/v.

### **2.3.7 Subproductos**

Hay dos subproductos principales del proceso: el anhídrido carbónico y los granos destilados. El anhídrido carbónico se obtiene en grandes cantidades durante la fermentación: muchas plantas lo recogen, lo limpian de cualquier alcohol residual, lo comprimen y lo venden para ser usado como gasificante de las bebidas o para congelar carne. En el caso de Bio4, parte del anhídrido carbónico se libera a la atmósfera y otra parte es aprovechada en el invernadero para cultivo hidropónico.

Los granos destilados, húmedos y secos (DGS), contienen el núcleo del maíz menos el almidón. Son ricos en proteínas, aceites, fibras, vitaminas y agua por lo que son de gran valor nutritivo y por lo tanto son muy requeridos para alimentación animal. Se obtienen del “stillage”, luego de una centrifugación, para separar los sólidos suspendidos y disueltos, obteniéndose por un lado WDG (burlanda húmeda) y por otro lado, una fracción líquida llamada destilado de maíz. Este último ingresa a la zona de evaporación donde se concentra y se obtiene un producto concentrado llamado jarabe. Una fracción del jarabe obtenido se mezcla con los WDG para



producir burlanda de maíz húmeda con jarabe (WDGS) y el resto se comercializa para aditivo de alimentos balanceados. Una parte de los WDGS ingresan a hornos rotativos, donde se logra disminuir el porcentaje de humedad del 68% al 10%, manteniendo las condiciones nutricionales del producto y obteniendo así burlanda de maíz seca con jarabe (DDGS).

### **2.4 Planta experimental**

La planta experimental de Bio4 puede utilizar otros cereales como materia prima para la obtención de bioetanol, con el objetivo de encontrar una alternativa factible en la producción de alcohol. El sorgo, por ejemplo, ofrece ciertas ventajas, entre ellas, tiene un contenido de almidón ligeramente más alto comparado con el de maíz, y es un cultivo mucho más económico. Cabe destacar que, la Planta Experimental no está diseñada para obtener los subproductos de burlanda y jarabe por lo que la producción se limita hasta la etapa de destilación. Con respecto al proceso, se puede decir que, es adaptado a la escala piloto, y se diferencia en que la propagación se realiza junto con la sacarificación y fermentación en simultáneo. Mientras que en la planta principal, la propagación se lleva a cabo en un tanque y posteriormente se realiza la sacarificación y fermentación en simultáneo en otro tanque.

Las etapas del proceso se pueden visualizar en la Figura A2.1, del Anexo 2. Las etapas se explican más adelante en la realización de los ensayos, ya que cada ensayo es un caso particular. Se explica en detalle cómo se llevaron a cabo cada una de ellas y como se enfrentaron los inconvenientes que se presentaron.

La Planta Experimental está conformada por los siguientes equipos, los cuales se pueden apreciar en las figuras del Anexo 3:

- Molino (M3102): se encarga de moler la materia prima, que se alimenta desde una tolva (V3101) ubicada en la parte superior, la cual es alimentada por un sinfín (M). El sorgo molido es dirigido al tanque de pre-mezclado y licuefacción (V3201) mediante otro sinfín (M3103). Tiene una capacidad de 2000 kg/h y dispone a la salida una malla de 2 mm de diámetro de apertura. Ver Figura A3.1 y A3.2.
- Calentador eléctrico (CAD3401): aislado térmicamente con lana de vidrio de alta densidad. Cuenta con los siguientes sensores: termostato operativo, termostato de seguridad, termómetro, válvula de seguridad, válvula de purga, hidrómetro, presostato

inversor (corte por falta de agua). Cuenta con un tanque de expansión de  $0,1 \text{ m}^3$  de capacidad. Ver Figura A3.3.

- Tanque de pre-mezcla y licuefacción (V3201): tanque de acero al carbono provisto de agitador de dos hélices con palas a  $45^\circ$  y suministro de aire comprimido, cuenta con una capacidad de  $1,8 \text{ m}^3$ . También cuenta con sensor de temperatura y medidor de nivel, los cuales se setean para obtener una correcta lectura de la medición. En la parte superior del tanque hay una tolva dosificadora por donde se añaden las enzimas y demás insumos, y un dosificador para el ácido. Ver Figura A3.6.
- Intercambiador de calor en espiral (E3204): está provisto de sensor de temperatura y permite calentar y enfriar el mosto del tanque de pre-mezcla con agua proveniente del calentador y de torre de enfriamiento respectivamente. Área de transferencia de  $4,2 \text{ m}^2$ . Ver Figura A3.5.
- Tanques de fermentación (V3205 y V3208): tanques de acero al carbono, de  $1,8 \text{ m}^3$  de capacidad cada uno, provistos de agitador de turbinas de palas a  $45^\circ$ , suministro de aire comprimido, con camisa para enfriamiento con agua. Provistos de tolva dosificadora de enzimas y dosificador para el ácido. Ver Figura A3.7.
- Torre de enfriamiento (M3405): recibe agua de enfriamiento de las camisas y del intercambiador y la enfría nuevamente. Cuenta con ventilador de 6 palas Noryl, con centro de aluminio, diámetro 912 mm. Ver Figura A3.4.
- Destilador (T3301): tanque con capacidad de  $0,138 \text{ m}^3$ , provisto de camisa calefactora en su exterior por donde circula agua caliente proveniente del calentador eléctrico, un manómetro y termómetro. Posee un agitador de acero al carbono, cuya velocidad de giro es de 1430 rpm. Ver Figura A3.8.
- Condensador de tubo y coraza (E3302): fabricado en acero al carbono, de 1 paso con 5 tubos de diámetro de 22,2 mm, con varillas aletadas de retención. Por los tubos circulan los vapores que salen del destilador y por la coraza el agua de enfriamiento proveniente de la torre. Ver Figura A3.8.

### 3 . DESCRIPCIÓN DE LAS TAREAS REALIZADAS

En la siguiente sección se detallan las tareas realizadas durante la Práctica Profesional en la Planta Experimental de la empresa Bioetanol Río Cuarto, desde el relevamiento de los equipos



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

que la conforman hasta la ejecución de ensayos de fermentación. Además se describen y analizan distintas situaciones que surgieron a lo largo práctica y en algunos casos oportunamente se formulan recomendaciones o cambios beneficiosos para la empresa.

### **3.1 Inducción de ingreso a la planta**

Durante la primera semana, se realizó un recorrido por los diferentes sectores que conforman la planta industrial, para interiorizarse sobre el funcionamiento de las máquinas y equipos que componen cada uno de los sectores, y tomar conocimiento sobre el proceso de producción de bioetanol que tienen lugar en esta planta. Una vez comprendido se llevó a cabo el relevamiento de equipos que constituyen la Planta Experimental, y se estudió el proceso de producción de bioetanol a partir de sorgo a través de los instructivos operativos.

### **3.2 Estudio de normas que alcanzan al sistema de producción**

Se realizaron las capacitaciones correspondientes a Seguridad e Higiene, Técnicas de análisis de laboratorio e inducción al Sistema de gestión integral.

En lo que respecta a Seguridad e Higiene, el responsable del área transmitió los cuidados que se deben tener en cuenta cuando se realizan las actividades en planta, e indicó cuales son los elementos de protección personal (EPP) que se deben utilizar en cada tarea para mitigar/evitar riesgos. También se brindó conocimiento sobre matriz de riesgos: existe una por cada tarea que se desempeña y permite identificar la gravedad de cada riesgo y saber cuáles son las medidas de seguridad que hay que tomar para mitigarlos a través del uso de los EPP.

En cuanto a las técnicas de análisis de laboratorio, se instruyó en Determinación de sólidos totales y humedad por termobalanza, Medición del pH y NIR Perten.

Por último, capacitación sobre el Sistema de gestión integral, que rige la creación y modificación de los documentos que componen el archivo de Bio4. Se presentaron los distintos tipos de documentos y la información que cada uno de ellos brinda, como así también la nomenclatura que permite identificar si hubo alguna modificación o no. Para tener un diagnóstico preciso de los conocimientos adquiridos se tomó una evaluación de lo citado.

En esta inducción se dieron a conocer los organismos controladores y las siguientes normativas internacionales:

- ISO 9001 de calidad de productos.
- ISO 14001 de Ambiente.
- OSHAS 18001 de Seguridad e Higiene.
- Agricultura certificada.
- Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).
- Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES).

### **3.3 Análisis de la factibilidad de aplicar la metodología de propagación de levaduras de Bio4 a la Planta Experimental en ensayos con sorgo**

Como se mencionó anteriormente, se estudió el proceso de producción de bioetanol a partir de sorgo a través de instructivos operativos de Bio4, prestando suma atención a los conceptos y parámetros citados a continuación, los cuales deben tenerse en cuenta en cada etapa del proceso:

#### Licuefacción

- ✓ *Temperatura*: determinada por la máxima temperatura que soporta la enzima alfa-amilasa, siendo ésta de 90°C. Por ello se trabaja en un rango de 83-87°C. Es un factor vital mantener la temperatura constante a efectos de alcanzar la máxima eficiencia del proceso.
- ✓ *pH*: se debe encontrar entre 5,1-5,6 ya que este es el rango adecuado para la operación de la enzima alfa-amilasa.
- ✓ *Dextrosa equivalente (DE)*: es un parámetro que expresa el grado de hidrólisis del almidón e hidratos de carbono derivados de los mismos. El valor óptimo está entre 20-24%, y este determina el final de la licuefacción.
- ✓ *Tiempo de licuefacción*: en el caso del maíz se requieren 4 horas de licuefacción, por lo que se adoptó este tiempo para el caso del sorgo.
- ✓ *Porcentaje de sólidos totales*: este valor viene dado por la relación de gramos de sorgo en base seca cada 100 gramos de solución, y mientras mayor es la concentración de sólidos totales mayor será el rendimiento. El óptimo es 30 %P/P, ya que si el mosto posee muchos sólidos se puede “empastar” y atascar bombas, válvulas e inclusive los intercambiadores espirales.



✚ Propagación de levaduras, sacarificación y fermentación

- Levadura: se denomina así a cualquier hongo microscópico unicelular capaz de realizar la descomposición mediante fermentación de diversos grupos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

Las levaduras se reproducen asexualmente por gemación o brotación y sexualmente mediante ascosporas o basidioesporas. Durante la reproducción asexual, una nueva yema surge de la levadura madre cuando se dan las condiciones adecuadas, tras lo cual la yema se separa de la madre al alcanzar un tamaño adulto.

La levadura que utiliza Bio4 en el proceso de producción, es la *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura tiene la facultad de crecer en forma anaerobia realizando fermentación alcohólica.

- Diferencia entre fermentación y respiración celular:

Las levaduras industriales son microorganismos facultativos que pueden respirar o fermentar de acuerdo con las condiciones en que se les cultive. El metabolismo anaeróbico, como la fermentación, es menos eficiente que la respiración, ya que no aprovecha toda la energía de los azúcares.

El crecimiento aeróbico es más eficiente para la producción de biomasa (número de organismos obtenidos a partir de una cantidad dada de nutrientes), ya que estos organismos degradan completamente las moléculas nutritivas y les extraen el máximo de energía.

En Bio4 el proceso en el que se dan las condiciones aeróbicas para aumentar la cantidad de biomasa se denomina propagación. El objetivo de la propagación es aumentar, por reproducción asexual (gemación), la cantidad de células disponibles. Esto permite disponer de más células en condiciones de fermentar y tener un mejor rinde de fermentación.

- Rutas fermentativas: la levadura puede seguir diferentes caminos para completar su proceso fermentativo. En el proceso productivo de Bio4 se garantizan las condiciones necesarias para lograr que la levadura tome la ruta fermentativa N°4 como se observa en la Figura 4. Esto se logra regulando pH, temperaturas, concentración de oxígeno, ácidos orgánicos, concentración de sólido, cantidad y calidad de nutrientes y regulando la presión osmótica.

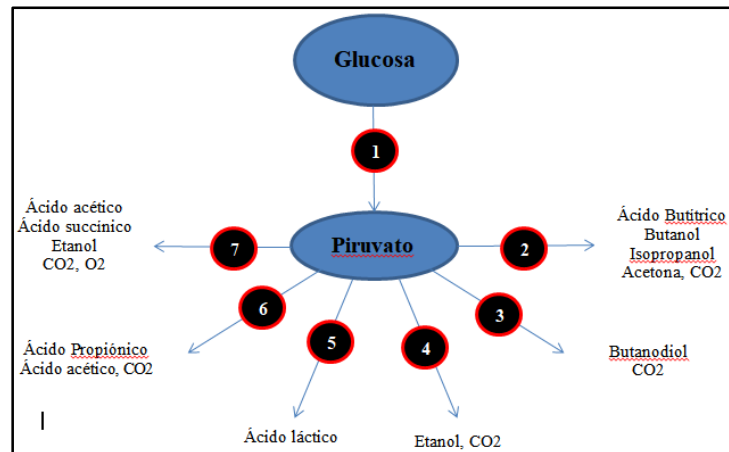


Figura 4-Rutas fermentativas

○ Factores que afectan el rendimiento de la fermentación:

En una fermentación alcohólica es muy importante mantener la viabilidad y vitalidad de la población de levaduras en valores altos. Existen varios factores de estrés ambiental que afectan la fisiología y desempeño de las levaduras disminuyendo su crecimiento y rendimiento fermentativo:

❖ Factores físicos:

- ✓ *Temperatura:* normalmente, las levaduras del género *Saccharomyces* toleran temperaturas máximas de crecimiento que oscilan entre 35 y 43 °C. Sin embargo, a temperaturas mayores de 35 °C, el desempeño fermentativo es cada vez más pobre, ya que el estrés se incrementa en forma considerable provocando desvíos metabólicos que alteran la concentración de los productos finales y una clara disminución del rendimiento.
- ✓ *Estrés osmótico:* en general, los mostos utilizados para la producción de sustancias alcohólicas suelen tener altas concentraciones de solutos, principalmente azúcares, ocasionando elevada presión osmótica, factor de importancia para las levaduras.

❖ Factores químicos:

- ✓ *pH:* la mayoría de las cepas de levadura son medianamente acidófilas, desarrollándose a valores de pH que oscilan entre 4,0 y 6,5.
- ✓ *Limitación nutricional:* la disponibilidad de algunos nutrientes durante la fermentación alcohólica puede ser limitante, causando un efecto negativo. La

consecuencia más común es la inhibición del crecimiento y paralización de la fermentación.

- ✓ *Concentración de alcohol:* la acumulación del etanol durante la fermentación alcohólica constituye un factor de estrés de importancia. Cuando está presente en bajas concentraciones puede ocasionar inhibición del crecimiento, pero cuando son elevadas, los efectos son letales.
  - ✓ *Sustancias y metabolitos tóxicos:* algunos metabolitos producidos por las levaduras y otros microorganismos (contaminantes, por ejemplo) durante la fermentación alcohólica son tóxicos. El CO<sub>2</sub> y etanol, como se mencionó anteriormente, acetaldehído y ácidos orgánicos, pueden afectar la fermentación alcohólica. Los ácidos orgánicos de mayor importancia son el láctico y el acético. El primero es producido por bacterias contaminantes, mientras que el segundo tanto por bacterias como por la propia levadura. El ácido láctico es inhibitorio cuando está presente en concentraciones que superan 0,8 % p/v y el ácido acético por encima de 0,05 % p/v.
- ❖ Factores biológicos:
- ✓ *Competencia con otros microorganismos:* la proliferación de otros microorganismos (contaminación), ya sean levaduras o bacterias, suele ser un factor de estrés, dado que compiten por los mismos nutrientes y pueden, a su vez, generar metabolitos tóxicos, como se describió anteriormente (bacterias productoras de ácido láctico y acético).
  - Antibióticos: en Bio4 se utilizan antibióticos en los propagadores y en los fermentadores para eliminar microorganismos que compiten con la levadura, de esta manera se garantiza el rendimiento de la fermentación.
  - Recuento, viabilidad y gemación:
    - ✓ Recuento de células: Hace referencia a la medición de la población. La unidad utilizada es N° de células/mililitro de muestra.
    - ✓ Viabilidad: mide la cantidad de células vivas que hay en una determinada muestra. La unidad que se utiliza es porcentaje de células vivas/ células totales.
    - ✓ Gemación: es la cantidad de células que se encuentran en proceso de división celular. Las tres son técnicas que se llevan a cabo mediante microscopía.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

En la Planta Experimental se llevaron a cabo dos ensayos con sorgo para analizar la propagación de levaduras:

1. Ensayo de fermentación con sorgo
2. Ensayo de propagación con sorgo a diferentes concentraciones de Sólidos Totales

Antes de cada ensayo se preparó el procedimiento (receta) a seguir, basándose en el que utiliza Bio4. Se recopiló la información necesaria del sorgo, composición y condición, a partir de los resultados obtenidos de los análisis realizados por la Bolsa de Comercio de Rosario. Luego, se prepararon todos los insumos necesarios, desde las materias primas hasta los recipientes destinados para las toma de muestras.

### **CASO 1. Ensayo de fermentación con sorgo**

El procedimiento en este ensayo fue el siguiente:

Se comienza con la *etapa de molienda*: en primer lugar se pesaron 424 kilogramos de sorgo y se cargaron a la tolva a través de un sinfín, accionado por un motor, y verificando que la clapeta a la salida de la tolva estuviera completamente cerrada. Una vez cargada totalmente la tolva se apagó el motor que acciona el sinfín y se encendió el molino abriendo poco a poco la clapeta restringiendo el caudal de sólido entrante al molino. A medida que se obtenía la harina de sorgo, se recolectaba en bolsas de 10 kilogramos aproximadamente.

La molienda se realizó con un día de anticipación, debido a que el sinfín que alimenta el tanque pre-licuefactor no funcionaba correctamente, ya que se atascaba con la harina de sorgo. Esto se corroboró realizando una prueba de funcionamiento y se tomó como medida preventiva de trabajo moler el sólido un día antes y dejarlo preparado para evitar inconvenientes a la hora de comenzar el ensayo.

Se tomaron muestras de grano de sorgo entero para analizar la distribución de partículas por Zonytest y muestra de sorgo molido para determinar su porcentaje de humedad, almidón, proteínas y materia grasa.

Seguidamente, se continúa con la *etapa de calentamiento del agua*: se dio paso al agua de red para comenzar a llenar las cañerías, tanque pulmón, tanque de pre-mezcla, intercambiador y el calentador. El calentador se encendió dos horas antes del inicio de la licuefacción para poder alcanzar la temperatura requerida por el sistema de 84-85°C.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Etapa de licuefacción: el agua contenida en tanque de pre-mezcla se comenzó a recircular a través del intercambiador para calentarla. Una vez que se alcanzaron los 85 °C se tomó una muestra del agua para medir el pH y se realizó la corrección con el agregado de ácido sulfúrico para llevarlo a un pH adecuado para el correcto desempeño de la enzima alfa-amilasa. Una vez que se reguló el pH, se agregó la harina de sorgo, en esta ocasión, manualmente. Se tuvo el inconveniente de que se obstruyó la cañería de recirculación, produciéndose un tapón de mosto lo que llevó a una falla del agitador, que se detuvo. Esto demoró el ensayo ya que hubo que proceder a destaparlo y se agregó más cantidad de agua. Luego se agregaron 112,268 ml de alfa-amilasa. En ese momento inicia la licuefacción extendiéndose 5 horas. Cada una hora se registraron los parámetros T, pH, %ST y dextrosa equivalente. Las temperaturas se registraron con termómetro manualmente, debido a que la termocupla que se encuentra en el tanque pre-licuefactor (V3201) se dañó cuando se intentó solucionar el problema del atascamiento.

Los valores de pH se registraron con pHímetro.

Etapa de enfriamiento: finalizada la licuefacción, el mosto hidrolizado es enfriado haciéndolo pasar por el intercambiador de calor en espiral para llevarlo a una temperatura de 32-33 °C. Para ello se encendió la torre de enfriamiento y se cambió el pasaje de agua de calentamiento proveniente del calentador eléctrico por agua de enfriamiento proveniente de la torre de enfriamiento.

Cuando se alcanzaron los 35°C, al cabo de 40 minutos, se comenzó el trasvase del mosto frío desde el tanque pre-licuefactor al tanque de fermentación, asumiendo que en el tiempo de trasvase la temperatura disminuiría unos grados llegando a los 32-33°C.

Etapa de sacarificación y fermentación: mientras continúa el trasvase del mosto de un tanque a otro, se procedió a apagar el agitador del tanque de fermentación unos segundos para adicionar las levaduras y evitar que éstas impacten contra el agitador. La hidratación/activación de las levaduras se realizó en laboratorio por personal capacitado, donde se usaron 59,72 g de levadura, 746,5 ml de agua, a una temperatura de 35°C durante 30 minutos. La activación implica que la levadura recupere parte del agua con la que contaba originalmente en su estructura y su capacidad para alimentarse y reproducirse durante la propagación.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Luego se agregaron los insumos restantes, entre ellos: 41,21 ml de gluco-amilasa, 1552,63 g de urea, 13,33 ml de “Fermgen”<sup>2</sup>, 0,04 g de “Phibropen”<sup>3</sup>, y 8,40 g de antibiótico, se encendió nuevamente el agitador y se abrió el paso de aire para dar inicio a la propagación. A diferencia de la planta industrial, donde se toma un 10% del volumen del mosto para llevar a cabo la propagación de las levaduras, aquí se optó por hacer todo junto; es decir, se tomó el volumen total de mosto hidrolizado y se le dio las condiciones necesarias para llevar a cabo la respiración celular, siendo éstas la adición de levaduras activadas, los insumos correspondientes ya mencionados y la presencia de oxígeno, dejando un total de 7 horas de propagación.

Se realizaron controles al inicio y al final de la propagación; al inicio se evaluaron:

- pH
- T°
- %ST (porcentaje de sólidos totales)
- Concentración de glucosa
- Concentración de azúcares, ácidos orgánicos y glicerol mediante análisis de HPLC. La concentración de azúcares no debe ser demasiado alta para asegurar el proceso de propagación.

Al final de la propagación (hora 7) se realizaron análisis de: Recuento, Viabilidad y Gemación cuyos valores deben ser  $>1 \times 10^8$ ,  $>95\%$  y  $>20\%$  respectivamente.

Una vez finalizada la propagación, se procedió a la fermentación mediante el agregado de 287,56 g de gluco-amilasa, 1092,82 g de urea y se cortó el suministro de aire.

Desde la hora 0 de esta etapa, se tomaron muestras cada 6 horas para controlar los valores de pH=5.1-5.3, Temperatura=32°C y Concentración= $<6\%$  (ésta última antes de las 12 horas).

---

<sup>2</sup> Fermgen: Enzima proteolítica ácida. Proteasa destinada a mejorar la actividad de la levadura y el rendimiento de etanol.

<sup>3</sup> Phibropen: Antimicrobiano altamente concentrado que contiene Bencilpenicilina potásica. Se utiliza en los propagadores y en los fermentadores para eliminar microorganismos que compiten con la levadura, para garantizar el rendimiento de la fermentación.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Se tomaron muestras para realizar análisis de HPLC en las horas: 6, 24, 42 y 60, para controlar la concentración de glucosa, ácido láctico, ácido acético y glicerol. En la hora 60, los valores deben ser: <1%, <0,5%, <0,05% y <1,5% respectivamente.

Por último, en etapa de destilación: se tomó muestra del tanque de fermentación, para pasar por el destilador automático.

Finalizado el ensayo se procedió a realizar la limpieza de los equipos.

### **CASO 2. Ensayo de propagación con sorgo a diferentes concentraciones de Sólidos Totales**

Este ensayo, cuya finalidad es recaudar más información y poder hacer una comparación con el ensayo anterior, se limita a la etapa de propagación.

El procedimiento fue el siguiente:

El día previo al ensayo se pesaron 145 kilogramos de sorgo y se cargaron a la tolva a través del sinfín. Una vez cargada totalmente la tolva se procedió a realizar la molienda. Se optó por moler la mitad del sorgo y recolectarlo en bolsas, mientras que el resto de la molienda se realizó el mismo día del ensayo. Si bien el sinfín había sido reparado se temía que se atascase, por ello se dejó parte de la molienda realizada para no sufrir pérdidas de tiempo durante el ensayo si fallaba el sinfín. Se tomaron muestras de grano de sorgo entero para analizar la distribución de partículas por Zonytest y muestra de sorgo molido para determinar la humedad.

También se cargó con 281,75 litros de agua el tanque pre-licuefactor.

El día del ensayo se comenzó encendiendo el sistema de calefacción, al cual le lleva dos horas antes del inicio de la licuefacción alcanzar las temperaturas seteadas. Luego se dio lugar a la recirculación del agua contenida en el tanque por el intercambiador de calor en espiral para llevarla a 84-85°C.

Se tomaron muestras del agua y se le fue corrigiendo el pH mediante el agregado de ácido sulfúrico para llevarlo lo más cercano a 6. Se adicionaron 38,39 ml de alfa-amilasa y se añadió la harina de sorgo, dando comienzo a la licuefacción, la cual llevó 4 horas. Cada una hora se registraron T, pH, %ST y dextrosa equivalente.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Finalizada la licuefacción, se procedió a enfriar el mosto haciéndolo pasar por el intercambiador de espiral, cuyo fluido de intercambio es agua de enfriamiento proveniente de la torre de enfriamiento. Cuando el mosto llegó a la temperatura de 35 °C se comenzó el trasvase. Se trasvasaron al tanque fermentador la mitad del volumen de mosto obtenido en la licuefacción, quedando en el tanque pre-licuefactor la otra mitad. Es decir, que se llevaron a cabo dos propagaciones con diferentes concentraciones de sólidos totales. Para lograr esto, al mosto contenido en el tanque pre-licuefactor se lo diluyó con agua para disminuir la concentración de sólidos. Seguidamente, se agregó las levaduras hidratadas y los insumos necesarios, en presencia de oxígeno, para dar inicio a las propagaciones. Se realizaron controles al inicio y al final de cada propagación; al inicio se evaluaron:

- pH
- T°
- %ST (porcentaje de sólidos totales)
- Concentración de glucosa
- Concentración de azúcares, ácidos orgánicos y glicerol mediante análisis de HPLC. La concentración de azúcares no debe ser demasiado alta para asegurar el proceso de propagación.

Al final de cada propagación (hora 7) se realizaron análisis de: Recuento, Viabilidad y Gemación cuyos valores deben ser  $>1 \times 10^8$ ,  $>95\%$  y  $>20\%$  respectivamente.

Finalizado el ensayo se procedió a realizar la limpieza de los equipos.

## 4 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

### CASO 1. Ensayo de fermentación con sorgo

En la Tabla 1 se presentan los datos obtenidos del análisis realizado al sorgo por NIR y por la Bolsa de Comercio de Rosario.



**Tabla 1-Composición del grano de sorgo**

	NIR	Bolsa de Comercio
<b>% Humedad</b>	13,77	13
<b>% Grasas</b>	2,27	2,8
<b>Almidón</b>	65,66	60,9
<b>Proteínas</b>	9,42	8,8

Los datos arrojados por Zony Test se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2-Distribución de tamaños de partícula**

N° malla	Tamaño malla en $\mu\text{m}$	Rechazo	Fracción	Fracción acumulada (%)	Fracción Bio4 (%)
<b>12</b>	1680	1,2	0,48	0,48	0,36
<b>16</b>	1180	23	9,2	9,68	3,56
<b>20</b>	850	68,6	27,44	37,12	20,92
<b>30</b>	600	74,2	29,68	66,8	35
<b>40</b>	425	28,4	11,36	78,16	26,12
<b>60</b>	250	21,4	8,56	86,72	10,76
<b>70</b>	212	12	4,8	91,52	1,84
<b>80</b>	177	8,6	3,44	94,96	1,88
<b>100</b>	149	3,6	1,44	96,4	0,2
<b>COLECTOR</b>	148	8	3,2	99,6	0,08

Mientras más pequeño es el tamaño del grano molido, mayor será el rendimiento. En la Planta Experimental se dispone un tamaño de partícula de 2 mm.

En la Tabla 3 se presentan las mediciones realizadas en la etapa de licuefacción.

**Tabla 3-Mediciones en la etapa de licuefacción.**

Hora	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	pH	Humedad	%ST termobalanza	DE (dextrosa equivalente)	%ST NIR
<b>0</b>	81,3	5,39	78,04	21,96	-	29,93
<b>1</b>	83	5,59	-	-	-	30,56
<b>2</b>	85	5,49	-	-	-	30,61
<b>3</b>	87,3	5,53	72,81	27,19	12,85	-
<b>4</b>	86,9	5,58	-	-	-	32,99
<b>5</b>	81	5,5	72,05	27,95	15	32,36

Se puede apreciar que tanto la evolución de Temperaturas como pH fueron adecuadas.

En lo que respecta a los Sólidos Totales (%ST) los datos más confiables son los determinados por termobalanza debido a que el NIR está calibrado para maíz y no para sorgo. Como ya se

mencionó, un 30% P/P de sólidos totales es el valor óptimo, ya que si el valor es más elevado se comienza a tener complicaciones con respecto al empastamiento del mosto provocando consecuencias como el atascamiento de bombas, válvulas, etc. Sin embargo, el resultado obtenido en el ensayo es inferior al 30%, esto debido a la pérdida de sorgo durante la incorporación ya que se realizó manualmente y por la adición de agua extra cuando se produjo el tapón de mosto, para ayudar a disolverlo.

En cuanto a la dextrosa equivalente se esperaba que oscilara entre 20-24%, y se obtuvo un valor del 15% siendo mucho más bajo, afectando directamente el rendimiento en la fermentación. Esto se podría haber solucionado extendiendo el tiempo de licuefacción.

En la Tabla 4 se citan las mediciones realizadas en la etapa de propagación:

**Tabla 4-Recuento de células en la propagación.**

<b>Recuento de células en la hora 4 de propagación</b>	
<b>N° de células</b>	5,08E+07
<b>Viabilidad</b>	55,9%
<b>Gemación</b>	6,29%

Se observa que el número de células es correcto, estando dentro de los límites que maneja Bio4, pero en lo que respecta a la viabilidad de células, se puede apreciar que la mitad de ellas estaban muertas. Debido a estos resultados, se decidió agregar levadura activada nuevamente, adicionando también urea y gluco-amilasa. Esto llevó a 7 horas más de propagación, finalizadas estas horas se realizó el recuento nuevamente arrojando los resultados que se exponen en la Tabla 5.

**Tabla 5-Recuento de células en la segunda propagación.**

<b>Recuento de células en la hora 7 de propagación</b>	
<b>N° de células</b>	2,71E+08
<b>Viabilidad</b>	98,52%
<b>Gemación</b>	14,77%

Se puede ver que tanto el número de células como la viabilidad son muy buenos.

Los resultados anteriores nos hacen pensar que de haber habido algún contaminante en el tanque o en el mosto que causara la muerte de las levaduras, también hubiera provocado la muerte de éstas en la segunda adición. Como esto último no sucedió, se atribuye el primer resultado de

viabilidad a la posibilidad de que algún instrumento de laboratorio, como ser el tubo de ensayo que se utilizó para el análisis, se encontrase con algún producto químico, como alcohol, ya que lo utilizan para su limpieza, provocando la muerte de las células.

En la etapa de fermentación se realizaron mediciones por NIR y HPLC, y se pueden observar en la Tabla 6.

**Tabla 6-Mediciones en la etapa de fermentación.**

Hora	T (°C)	NIR			HPLC				Referencia Bio4			
		Glucosa	DP4	GL	Glucosa	Ác. láctico	Ác. Acético	Glicerol	DP4	°GL	DP4	Glucosa
0	30,6	0	9,81	6,32	-	-	-	-	-	0,5	9	5,5
6	33,4	0	7,32	10,51	0,52	0,139	-	0,96	2,15	2,21	5,07	3,28
12	33,1	0	7,17	10,72	0	0,13	0	0,94	0,16	4,78	3,7	1,78
14	32,6	-	-	-	0	0,11	0	1,004	0,12	-	-	-
18	30,8	-	-	-	-	-	-	-	-	7,47	3,03	3,62
24	28,1	0	5,21	13,44	0,02	0,11	0,06	1,04	0,27	10,14	1,8	1,36
30	30	-	-	-	-	-	-	-	-	12,13	1	0,66
34	30,5	0	5,07	11,61	c/dilución 0,019	0,1	0,04	0,9	0,23	-	-	-
					s/dilución 0,019	0,099	0,09	1,075	0,306	-	-	-
36	29	-	-	-	-	-	-	-	-	13,62	0,3	0,2
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,63	0,11	0,08
48	25	-	-	-	-	-	-	-	-	15	0,06	0,06
50	25	-	-	-	0,018	0,092	0,108	1,07	0,31	-	-	-

En cuanto a la fermentación, no se tenía certeza sobre la hora de comienzo, debido a que durante la propagación se cortó el suministro de aire y se agregó más urea, porque la temperatura había disminuido demasiado. Cuando se estabilizó la temperatura se habilitó el ingreso de aire nuevamente.

Las concentraciones de ácido acético, ácido láctico y glicerol se mantuvieron elevadas respecto a los valores de referencia, esto puede deberse a una posible contaminación y a que las levaduras se desvíen hacia otra ruta fermentativa.

Se logró un Grado Alcohólico (°GL) de 11,53.

## **CASO 2. Ensayo de propagación con sorgo a diferentes concentraciones de Sólidos Totales**

En la Tabla 7 se presentan los datos obtenidos del análisis realizado al sorgo por NIR y por la Bolsa de Comercio de Rosario.

**Tabla 7-Composición del grano de sorgo**

	NIR	Bolsa de Comercio
<b>% Humedad</b>	15,99	13
<b>% Grasas</b>	7,09	2,8
<b>Almidón</b>	61,5	60,9
<b>Proteínas</b>	11	8,8

En la Tabla 8 se presenta la distribución de tamaños de partícula.

**Tabla 8-Distribución de tamaños de partícula**

N° malla	Tamaño malla en $\mu\text{m}$	Rechazo	Fracción	Fracción acumulada (%)	Fracción Bio4 (%)
<b>12</b>	1680	1	0,4	0,4	0,36
<b>16</b>	1180	15,4	6,16	6,56	3,56
<b>20</b>	850	53,2	21,28	27,84	20,92
<b>30</b>	600	74,8	29,92	57,76	35
<b>40</b>	425	34,2	13,68	71,44	26,12
<b>60</b>	250	28,2	11,28	82,72	10,76
<b>70</b>	212	13,4	5,36	88,08	1,84
<b>80</b>	177	8,4	3,36	91,44	1,88
<b>100</b>	149	8	3,2	94,64	0,2
<b>COLECTOR</b>	148	14,2	5,68	100,32	0,08

En la Tabla 9 se presentan las mediciones realizadas en la etapa de licuefacción.

**Tabla 9- Mediciones en etapa de licuefacción.**

Hora	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	pH	Humedad	%ST termobalanza	DE (dextrosa equivalente)	%ST NIR
<b>0</b>	91,6	6,56	68,61	31,39	-	35,46
<b>1</b>	85	5,39	67,41	32,59	-	35,16
<b>2</b>	83	5,44	67,23	32,77	-	34,46
<b>3</b>	80	5,4	66,27	33,73	-	36,14
<b>4</b>	86	5,4	65,8	34,2	-	34,83

En la Tabla 10 se citan las mediciones realizadas en las etapas de propagación.

Tabla 10-Mediciones en la etapa de propagación para diferentes concentraciones de ST

Recuento de células en tanque V3201		Recuento de células en tanque V3205	
%ST=22,4		%ST=33,02	
<b>Hora 4</b>		<b>Hora 4</b>	
N° de células	1,96E+07	N° de células	3,16E+07
Viabilidad	71,43%	Viabilidad	69,62%
Gemación	14,28%	Gemación	15,19%
<b>Hora 7</b>		<b>Hora 7</b>	
N° de células	3,72E+07	N° de células	4,60E+07
Viabilidad	73,12%	Viabilidad	57,39%
Gemación	22,58%	Gemación	18,26%

Se puede observar, en la Tabla 10, que en ambos propagadores el recuento de células es aceptable, no así los valores logrados de viabilidad y gemación.

En la Tabla 11 se presenta una comparación de las tres propagaciones realizadas.

Tabla 11-Comparación de las tres propagaciones

	Hora	Recuento de células vivas				%ST	T°	pH
		N° células	Viabilidad (%)	Gemación (%)				
<b>Primer ensayo</b>	Sorgo 1	4	5,08E+07	55,9	6,29	27,22	-	-
	Sorgo 1- levadura nueva	7	2,71E+08	98,52	14,77		30,6	4,88
<b>Segundo ensayo</b>	Sorgo en V3201	4	1,96E+07	71,43	14,28	22,4	33	-
		7	3,72E+07	73,12	22,58		33	5,47
	Sorgo en V3205	4	3,16E+07	69,62	15,19	32,61	35	-
		7	4,6E+07	57,39	18,26		35	5,55

- Analizando la temperatura en el segundo ensayo, se puede ver que en V3201 la temperatura de trabajo es la correcta, mientras que en V3205 estaba elevada por lo que se esperaba que el crecimiento celular en este último fuera menor, y se dio lo contrario, mientras que la viabilidad estaba baja. Sin embargo, la elevada temperatura no provocó la muerte de las células sino que las células siguieron un crecimiento exponencial, entrando luego en una fase estacionaria (donde el crecimiento se estanca). Esto puede deberse a la falta de nutrientes, la levadura se queda sin nutrientes para seguir creciendo.



## PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

- En la hora 7 de propagación del sorgo en V3201 la gemación es mayor al 20%, esto indica que quedaron levaduras reproduciéndose, pero no pudieron desarrollarse debido a la falta de nutrientes.
- Se puede observar que el sorgo del segundo ensayo contenido en el tanque V3201 a la hora 4 de propagación sigue un perfil similar al sorgo 1-levadura nueva a la hora 7, en lo que respecta a gemación. En cuanto al %ST en ambos ensayos dio bajo, mientras que N° de células y viabilidad es menor en el segundo ensayo.



### 5 . CONCLUSIONES

En cuanto al objetivo principal, no es posible brindar una conclusión fehaciente sobre la factibilidad de aplicar la metodología de propagación de levaduras empleada por Bio4 en la Planta Experimental en ensayos con sorgo, ya que se realizaron pocos ensayos con resultados que no marcan una tendencia. Para poder determinar la factibilidad se requiere de un mayor número de ensayos y por ende de mayor disponibilidad de tiempo. Se propone realizar ensayos en los cuales se varíen distintos factores como ser, pH, T, %ST, nutrientes, tiempo, entre otros, para analizar en cada caso cómo responde la levadura frente a éstas. También considerar la posibilidad de que alguna propiedad del sorgo sea lo que está afectando a la levadura. Otra propuesta es aumentar la cantidad de toma de muestras, realizándolas cada una hora para ver el comportamiento de la levadura, ya que en planta principal solo se realiza una medición al final de la propagación. De este modo se podrá saber si hay alguna limitante en cierto momento de su crecimiento que la esté perturbando.

A nivel laboral, considero que el hecho de poder realizar la Práctica Profesional en una Planta Experimental me permitió no solo aplicar los conocimientos adquiridos durante la carrera, sino también el poder estar en contacto y manipular los equipos que conforman el proceso estudiado. Cabe destacar la buena predisposición de los empleados de planta siempre que se los requirió.

A nivel personal, puedo decir que la práctica fue una experiencia muy enriquecedora que refuerza la formación tanto técnica como humana de un Ingeniero Químico. La posibilidad de interactuar con personal capacitado y compañeros de trabajo, me ha permitido adquirir conocimientos para mi desarrollo como futuro profesional, desenvolviéndome en un ambiente de trabajo agradable.



## 6 . BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.bio4.com.ar/>. (Fecha de acceso: Mayo de 2017).
- Manuales Operativos e Instructivos Operativos de BioEtanol S.A. vigentes en la fecha de realización de la práctica. (Fecha de acceso: Mayo de 2017).
- Andrés L. Barletta<sup>1</sup>; Yanina I. Sánchez; Lucía A. Valazza. Tutores: Ing. Romina A. Beltrán; Tca. Nadia Z. Comba. Obtención de bioetanol a partir de la fermentación de sorgo.
- Barcelos, R.N. Maeda, G. J. V. Betancur y N. Pereira Jr. Ethanol production from sorghum grains [sorghum bicolor (l.) moench]: evaluation of the enzymatic hydrolysis and the hydrolysate fermentability.



7 . ANEXOS

7.1 Anexo 1. Organigrama Bio4

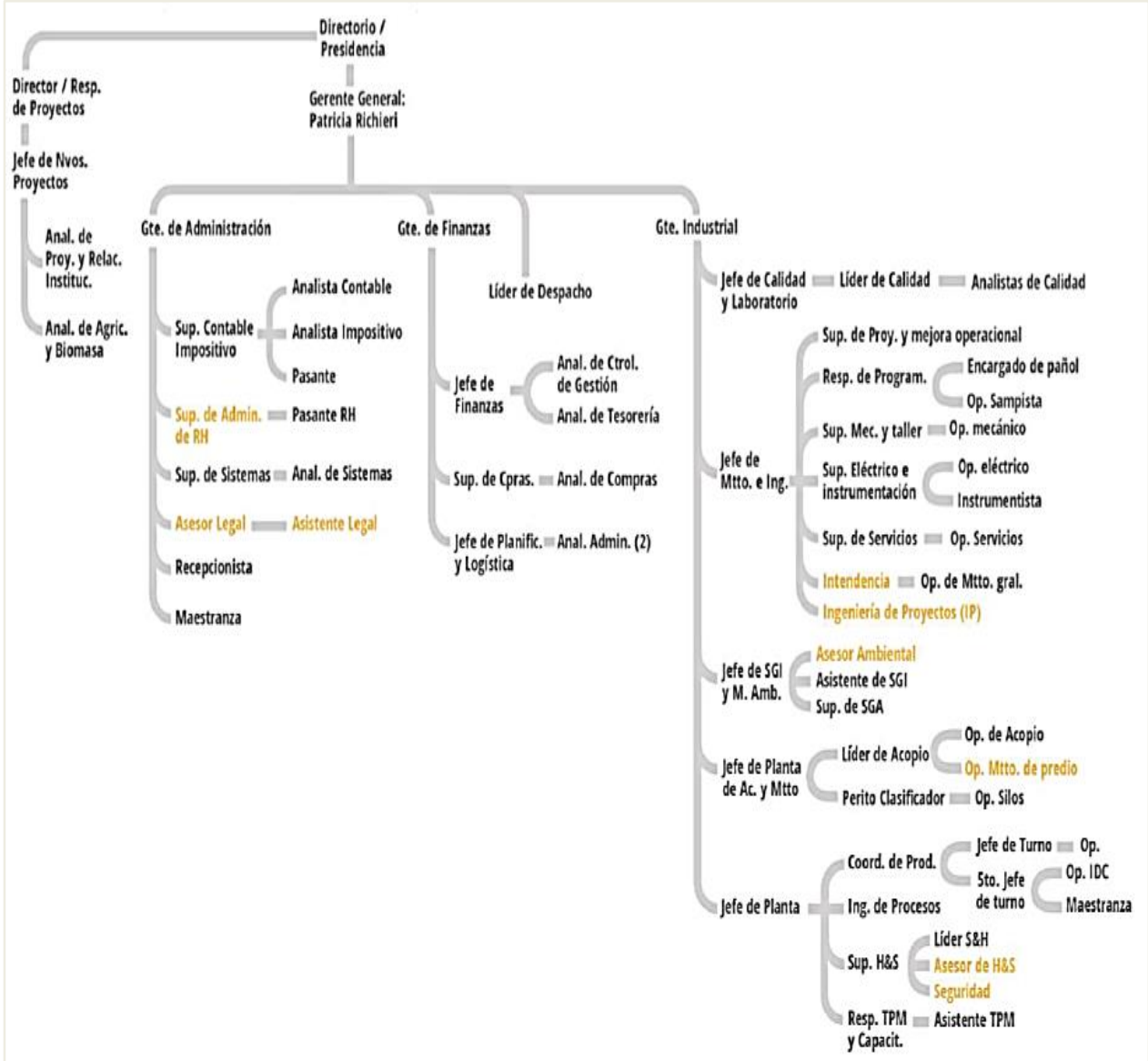


Figura A1.1: Organigrama Bio4

## 7.2 Anexo 2. Diagrama de bloques del proceso

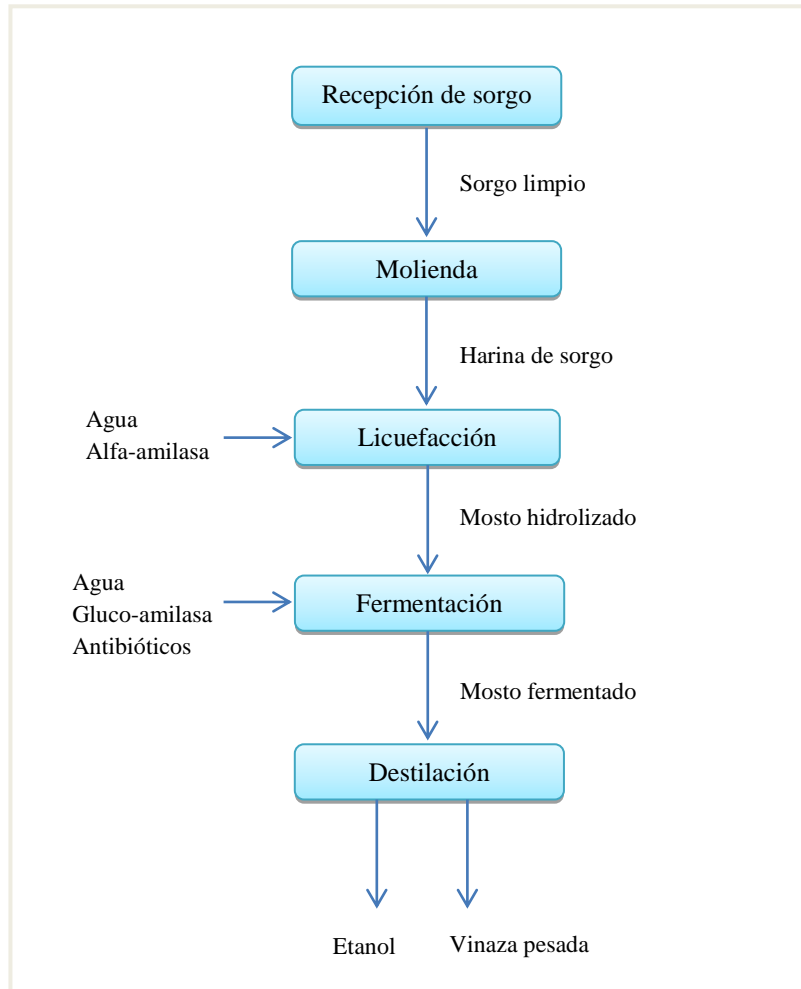


Figura A2.1: Diagrama de bloques del proceso

### 7.3 Anexo 3. Equipos que conforman cada sector de la Planta Experimental



Figura A3.1: sector molienda. Chimango, tolva y molino



Figura A3.2: molino LOYTO



Figura A3.3: Calentador eléctrico



Figura A3.4: Torre de enfriamiento SINAX



Figura A3.5: Intercambiador de calor en espiral

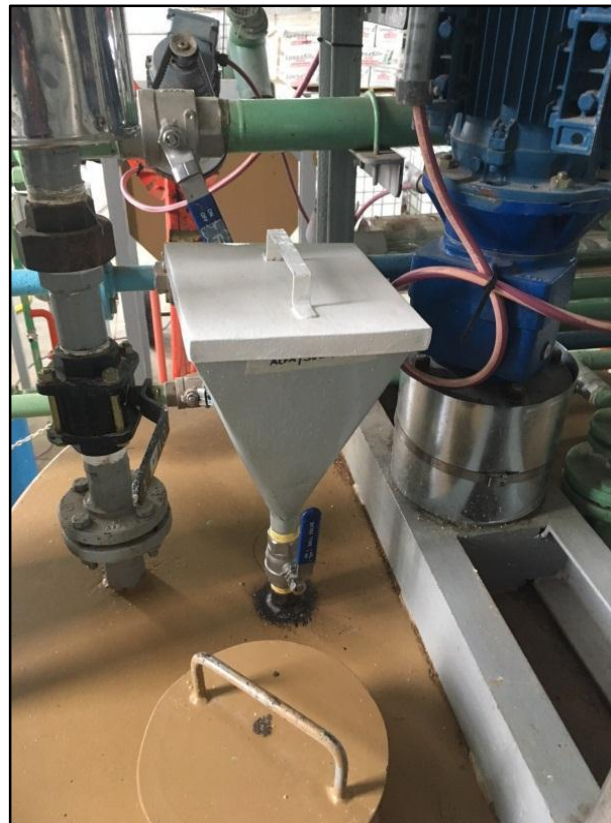


Figura A3.6: vista frontal y superior del Tanque pre-mezcla y licuefacción (V3201)



Figura A3.7: tanques de fermentación (V3205 y V3208)



Figura A3.8: Destilador y condensador

#### 7.4 Anexo 4. Imágenes de los ensayos con sorgo



Figura A4.1: mosto de sorgo



Figura A4.2: Insumos y recipientes para la toma de muestras