

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO



INFORME PRACTICA PROFESIONAL SUPERVISADA (COD. 9160)

**“Determinación del Rendimiento de Producción de
Etanol a Partir de Sorgo”**

Alumna: Roldán, Camila

Tutor por parte de la universidad: Cattalano, Estela

Tutor por parte de la empresa: Frola, Fabiana

Lugar de realización: BIOETANOL RIO CUARTO S.A

Periodo de realización: desde 20/02/2017 a 24/04/2017

Fecha de presentación: 14/06/2017



RESUMEN

En el presente informe se describen las actividades realizadas durante la Práctica Profesional Supervisada (PPS), desarrollada en la empresa Bioetanol Río Cuarto S.A. que se dedica a la producción de bioetanol a partir de maíz.

Los objetivos generales en el desempeño de la PPS fueron establecer contacto con el personal de la planta e introducirse en el ámbito laboral, los cuales fueron cumplidos satisfactoriamente.

En cuanto a los objetivos particulares se logró determinar el rendimiento de etanol a partir de sorgo realizando ensayos a escala laboratorio en la Universidad Nacional de Río Cuarto. Para poder cumplir este objetivo se realizó búsqueda de información acerca de las condiciones operativas en el proceso productivo.

Además, se realizó la puesta en marcha de la Planta Experimental de la empresa, logrando resultados exitosos. En esta actividad se tuvo que evaluar las distintas alternativas de operación y elegir la óptima y la más segura para llevar a cabo la actividad.

Todos los objetivos planteados fueron cumplidos en tiempo y forma, por lo que resulta una experiencia que aportó al crecimiento personal y a concretar la formación como futuro profesional.



INDICE

1. OBJETIVOS.....	3
1.1 Objetivos generales.....	3
1.2 Objetivos específicos.....	3
1.3 Objetivos alcanzados.....	3
2. DESCRIPCION DE LA EMPRESA.....	4
2.1 Presentación.....	4
2.2 Área de la empresa en la que se desarrolla la Práctica.....	4
2.3 Organigrama.....	5
2.4 Tecnología y Procesos.....	6
3. DESCRIPCION DE LAS TAREAS REALIZADAS.....	9
3.1 Actividades realizadas.....	9
3.1.1 Inducción de ingreso a la planta.....	9
3.1.2 Estudio de normas que alcanzan al sistema de producción.....	9
3.1.3 Estudio del proceso de producción del Etanol a partir de sorgo.....	9
3.1.4 Creación y modificación de Instructivos Operativos.....	12
3.1.5 Determinación del rendimiento de producción de etanol a partir de sorgo.....	13
3.1.6 Puesta en marcha de la Planta Experimental.....	16
3.2 Resultados y análisis de resultados.....	19
3.2.1 Determinación del rendimiento de etanol a partir de sorgo.....	19
3.2.2 Puesta en marcha con maíz.....	21
4. CONCLUSION.....	26
5. BIBLIOGRAFIA.....	27
ANEXOS.....	28
Anexo.I Equipos planta experimental.....	28
Anexo.II Diagrama de bloques del proceso.....	30
Anexo.III Ejemplo de Instructivo Operativo.....	31
Anexo.IV Ensayo de sorgo.....	33
Anexo.V Ensayo de maíz.....	35



1. OBJETIVOS

1.1 Objetivos generales

- ❖ Desarrollar en el estudiante habilidades prácticas propias de la actividad profesional en una planta industrial.
- ❖ Determinar valores de parámetros operativos en el proceso de obtención de etanol a partir de sorgo en la Planta Piloto consorcio Bio4-UNRC.

1.2 Objetivos específicos

- ❖ Reconocer la planta industrial de la Empresa bio4 y el proceso de producción de etanol a partir de maíz.
- ❖ Reconocer las normas de Higiene y Seguridad aplicables y realizar las capacitaciones correspondientes.
- ❖ Identificar variables del proceso que pudieran impactar en el rendimiento del proceso de producción de etanol a partir de sorgo.
- ❖ Evaluar el rendimiento de producción de etanol a partir de sorgo.
- ❖ Desarrollar habilidad para la redacción de documentos técnicos, protocolos y manuales de trabajo de plantas industriales.

Durante el desarrollo de la práctica surgieron otros objetivos que eran necesarios cumplir previamente a los planificados por el Plan de Trabajo:

- ❖ Realizar la Prueba Hidráulica para verificar el correcto funcionamiento de todos los equipos.
- ❖ Calibrar los controladores de nivel y temperatura que se encuentran incorporados en el sistema en cuestión.
- ❖ Realizar una puesta en marcha con maíz imitando el proceso que se lleva a cabo en la Planta Principal de Bio4.
- ❖ Redactar los Instructivos operativos para la obtención de etanol a partir de sorgo en la Planta Piloto consorcio Bio4-UNRC.
- ❖ Redactar los instructivos de Limpieza y Esterilización de los equipos que participan en la producción de etanol.

1.3 Objetivos alcanzados

Todos los objetivos planteados pudieron ser cumplidos en el tiempo de duración de la Práctica Profesional Supervisada.



2. DESCRIPCION DE LA EMPRESA

2.1 Presentación

- ❖ Nombre de la empresa: Bioetanol Río Cuarto S.A.
- ❖ Domicilio: Avenida Godoy Cruz N°625, Río Cuarto, Córdoba.
- ❖ Teléfono: (0358) 421 0620.
- ❖ Rubro: La empresa produce bioetanol como producto principal y como subproductos burlanda de maíz húmeda, jarabe concentrado, burlanda de maíz húmeda con jarabe y burlanda de maíz seca con jarabe.

Bio4 es una empresa del tipo Sociedad Anónima, cuyos socios son productores agropecuarios de Río Cuarto y la zona. Estos poseen un objetivo común que es valorar al maíz para obtener como producto principal el bioetanol, otorgando amplios beneficios tanto a nivel local como global, y como subproducto la burlanda de maíz utilizada como alimento para el ganado con alto contenido proteico.

La misión de Bio4 es producir biocombustibles y bioenergía a partir de producción primaria 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 sus clientes.

La visión es generar valor agregado a la producción primaria de la región de Río Cuarto a partir de la producción sustentable, amigable con el medio ambiente, en condiciones de seguridad para el personal y económicamente sostenible para todos los actores.

La capacidad instalada de la planta es de 90.000.000 litros de alcohol por año. Sin embargo, la producción anual es menor debido a que, mensualmente, la Secretaría de Energía de la Nación impone la cantidad de etanol que puede comercializar la empresa a sus clientes, resultando así una producción anual menor a la capacidad instalada. Por otro lado, anualmente, se obtiene aproximadamente 41.800 toneladas de burlanda húmeda y seca.

2.2 Área de la empresa en la que se desarrolla la Práctica

El sector de la empresa donde se llevó a cabo la Práctica Profesional Supervisada fue la Planta Experimental consorcio Bio4-UNRC.

Para cumplir con los objetivos se trabajó un total de 200 horas, desde el 20 de Febrero hasta el día 24 de Abril del corriente año. Generalmente, se cumplieron 20 horas semanales asistiendo todos los días hábiles de semana 4 horas, pero existieron días que se tuvieron que trabajar horas extra debido a la demanda de los ensayos.

2.3 Organigrama

En la *Figura 2.1* se presenta el organigrama que rige en la empresa.

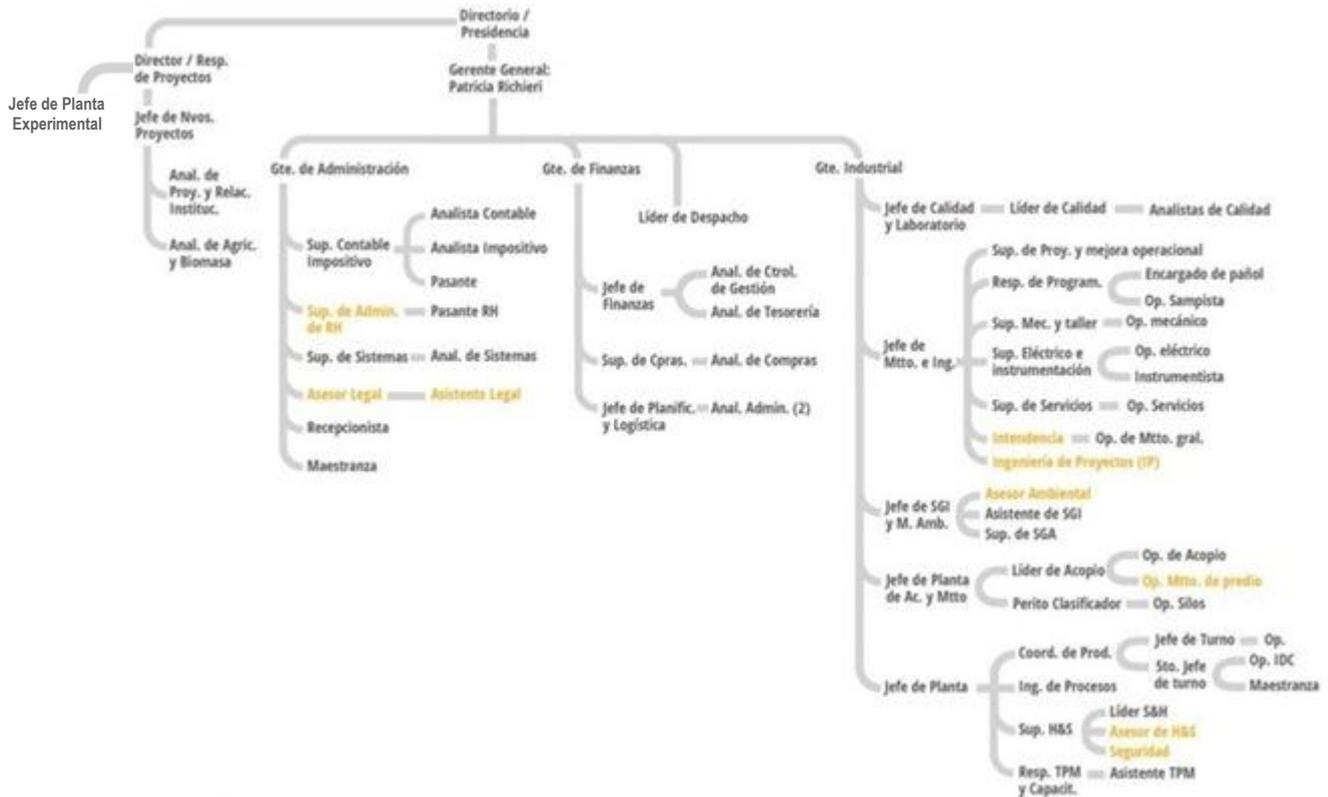


Figura 2. 1 Organigrama de la empresa

En cuanto al área particular en la que se desempeñó la práctica, la Planta Experimental se ubica en “Proyectos”. El Organigrama específico de dicha área se presenta en la *Figura 2.2*.



Figura 2. 2 Organigrama del Sector Proyectos



2.4 Tecnología y Procesos

En la Planta Experimental de Bio4 se utiliza sorgo como materia prima para obtener el bioetanol, siendo objetivo investigar acerca del rendimiento económico que esta materia prima ofrece. Al igual que en la planta principal de la empresa, se lleva a cabo la molienda seca para producir el bioetanol. Sin embargo, esta planta no está diseñada para obtener los subproductos de burlanda y jarabe concentrado.

Las etapas del proceso se pueden visualizar en la Figura AII. 8 del *Anexo.II*.

Recepción y limpieza

Previamente a realizar la recepción de la materia prima, se debe determinar su calidad. Para ello se realiza un muestreo mediante calado y se analizan sus características fisicoquímicas. En caso de que estas últimas resulten aptas para la producción, se pesa la materia prima y se la coloca en bolsones que luego serán enviados a una planta de limpieza, ajena a Bio4, que es propiedad de uno de los socios accionistas.

Una vez limpio el sorgo y almacenado en bolsas de 25 kg, se envía a la Planta Experimental para su posterior producción.

Molienda:

En esta etapa se pretende reducir el tamaño de los granos para exponer el almidón que este contiene, lo que permite incrementar la producción de alcohol. Para ello el sorgo se carga en la tolva que alimenta al molino de martillos y permite obtener una harina de sorgo con una granulometría menor o igual a 2 mm.

Esta etapa es importante ya que la harina obtenida debe ser lo suficientemente fina para ser hidrolizada por la enzima alfa-amilasa, y permitir el hinchamiento y ablandamiento de los gránulos de almidón. Esto último mejora la eficiencia del tratamiento térmico y disminuye el tiempo de cocción.

Licuefacción

En esta etapa se comienza a degradar la estructura del almidón para permitir su hidrólisis convirtiéndolo en cadenas menores denominadas dextrinas (dextrinización), las cuales finalmente son reducidas a azúcares fermentables.

La harina de sorgo se transporta con un chimango hacia el tanque de licuefacción, previo llenado con agua de red caliente y la enzima alfa-amilasa, para comenzar la etapa de licuefacción a la temperatura de 80-87 °C con agitación continua de modo que las paredes celulares de maíz se rompan por completo y luego generar las dextrinas. El mantenimiento de temperatura se logra con un intercambiador espiral en contra corriente con agua proveniente de un calentador eléctrico.



El proceso total de licuefacción dura 4 horas, cuando éste finaliza se enfría el mosto hidrolizado a 32°C en el intercambiador espiral con agua fría proveniente de una torre de enfriamiento, para continuar con las próximas etapas del proceso.

Fermentación:

En esta etapa se realiza la activación y la reproducción aeróbica de las células de levadura, llamada propagación de levadura, junto con el sistema de sacarificación y fermentación simultánea (SSF).

En un principio se deben hidratar las levaduras ya que se trata de un insumo anhidro el cual es necesario rehidratar para activar las levaduras. Esta etapa se lleva a cabo en el laboratorio de la planta principal de Bio4, debido a la pequeña cantidad que se debe utilizar, donde se mantiene el agua con levaduras a 35 °C con agitación durante 30 minutos, generando así una crema de levaduras.

El mosto hidrolizado a 32 °C se traslada a alguno de los 2 tanques de fermentación disponibles V3205 y V3208. Luego se adiciona la enzima glucoamilasa para obtener azúcares fermentables, antibióticos para eliminar cualquier microorganismo que pueda interferir de manera negativa en el proceso, y agua para disminuir la cantidad de sólidos totales y evitar que la levadura se estrese. Una vez adicionado esto se comienza a incorporar aire comprimido y se agrega la crema de levaduras para lograr su respiración celular.

Luego de 7 horas de propagación, se corta el suministro de aire comprimido para que, mediante un proceso anaeróbico, las levaduras fermenten los azúcares simples y produzcan etanol y dióxido de carbono.

La fermentación es un proceso exotérmico por lo que se espera que en sus 60 horas de duración, sea necesario realizar un enfriamiento para que el sistema se mantenga a 32 °C, en caso que se caliente mucho la levadura moriría y la producción de etanol sería nula. Para mantener esta temperatura se hace circular agua proveniente de la torre de enfriamiento por la camisa del tanque de fermentación en el que se esté trabajando.

Las primeras 30 horas de fermentación son claves para el seguimiento del proceso, ya que en éstas se pueden realizar correcciones si las levaduras sufrieron algún tipo de estrés. Luego de las 32 horas, la concentración de alcohol es tan elevada que si ingresa levadura nueva al sistema sufriría un estrés muy alto y moriría instantáneamente.

Resulta necesario eliminar el CO₂ liberado en el proceso, éste se separa del mosto por sobrepresión y emerge por la válvula de escape ubicada en la parte superior del fermentador.

Destilación:

El etanol producido en la fermentación alcohólica es destilado para producir alcohol de una concentración desconocida ya que el equipo adquirido no fue diseñado para esto. Para ello se envía el mosto fermentado al destilador el cual cuenta con una camisa por donde circula agua caliente para permitir que el azeótropo se evapore a los 78 °C. La mezcla de sólidos y el agua que no hierve se llama vinaza pesada, y se recolecta en “bines” para su posterior tratamiento. El vapor condensa por los tubos de un condensador, mientras que en la coraza circula agua proveniente de la torre de enfriamiento.

Los equipos con los que cuenta la Planta experimental se pueden apreciar en el *Anexo.I*:

- Molino (M3102): posee una tolva en la parte superior (V3101), que recibe la materia prima de un chimango, luego muele y permite la salida con una malla de salida de 2 mm y traslada la harina, mediante un sinfín (M3103) más pequeño, al tanque V3201.
- Calentador eléctrico (CAD3401): tiene capacidad de calentar aproximadamente 1,2 m³ y posee un tanque de expansión (0,1 m³); un medidor de nivel y un termómetro.
- Torre de enfriamiento (M3405): circuito cerrado para el servicio de agua de enfriamiento de los tanques encamisados e intercambiador de calor.
- Tanque de pre-mezcla y licuefacción (V3201): tanque con agitador (dos hélices con palas inclinadas 45°) y capacidad total de 1,8 m³, éste cuenta con sensor de nivel y de temperatura los cuales se tuvieron que calibrar para que den una correcta medición. También posee un dosificador por donde se alimentó ácido y una pequeña tolva para adicionar enzimas y demás insumos.
- Intercambiador de calor espiral (E3204): cuenta con un sensor de temperatura y permite calentar o enfriar el mosto del tanque V3201 a contracorriente.
- Tanques de fermentación (V3205 y V3208): idénticas características que el V3201, y además posee camisa de enfriamiento, entrada de aire comprimido y salida de CO₂.
- Destilador (T3301): es un simple tanque con una capacidad de 0,138 m³ que posee una camisa por donde circula el agua caliente, un manómetro y un termómetro.
- Condensador de tubo y coraza (E3302): de 1 paso y 5 tubos por los cuales circula el vapor que sale del destilador, por coraza fluye el agua proveniente de la torre.

Cabe destacar que el proceso implicado se diferencia del de la planta principal no solo en la escala, sino también en que, debido a limitaciones operativas, la alternativa más viable es realizar la propagación junto con la fermentación y sacarificación en simultáneo. En cambio, en la planta principal, la propagación se lleva a cabo en un tanque y posteriormente se realiza la fermentación y sacarificación simultánea en otro tanque. Esta modificación hace esperar un rendimiento menor.



3. DESCRIPCION DE LAS TAREAS REALIZADAS

3.1 Actividades realizadas

3.1.1 Inducción de ingreso a la planta

Durante los primeros días de desarrollo de la Práctica Profesional, se realizó un recorrido por todos los sectores de la planta industrial, conociendo el funcionamiento de las maquinarias y equipos que la componen. También se conocieron las instalaciones de la Planta Experimental, sector donde se llevaron a cabo las actividades, identificando las partes del proceso de la Nave Industrial que abarcan los ensayos llevados a cabo a escala piloto.

Al finalizar la primera semana se recibió una capacitación sobre el Sistema de Gestión Integrada, aquel que rige la creación y la modificación de documentos que componen al archivo de Bio4. Se explicaron los tipos de documentos, que información es la que contiene cada uno y cuál es la nomenclatura que deben llevar para poder distinguir las modificaciones realizadas con respecto a documentos con mas antigüedad, ya que todos ellos se revisan permanentemente. En esta instancia se realizaron actividades para corroborar el entendimiento de esta actividad ya que es muy importante el correcto manejo de los documentos.

Además se recibió una capacitación de Impacto Ambiental que se dictó junto con los operarios de la Planta Industrial, la cual constaba de una explicación básica acerca de la matriz de impacto ambiental y del correcto uso de kits de seguridad (guantes, trajes, ecopad, ecosock, etc) en caso de derrames u otros accidentes dentro de la fábrica.

3.1.2 Estudio de normas que alcanzan al sistema de producción

Al ingresar a Bioetanol, el personal Responsable de Higiene y Seguridad, es el encargado de dar una charla donde se explican cuáles son los cuidados que se deben tener en cuenta al llevar a cabo las actividades, como así también los Elementos de Protección Personal que se deben utilizar. Además, se mostró la matriz de riesgos, la cual existe una por cada tarea que se desempeña, permitiendo así identificar la gravedad de cada riesgo y como se puede mitigar cada uno de ellos al utilizar los EPP y tomar los recaudos correspondientes.

3.1.3 Estudio del proceso de producción del Etanol a partir de sorgo

La Planta Experimental fue creada por un convenio entre FONARSEC, Bio4, Universidad Nacional de Río Cuarto y Focseed S.R.L., con el motivo de llevar a cabo un proyecto para comenzar a producir etanol utilizando sorgo granífero como materia prima. Esto se debe a que este grano presenta estabilidad y seguridad en la cosecha en condiciones limitantes del



suelo y el clima, tiene menor costo de producción que el maíz y la obtención de etanol responde a un proceso similar a éste último. Otra ventaja de utilizar sorgo, es que este corresponde a alimentos de 2da. Generación, mientras que el maíz y caña de azúcar son de 1ra. Generación.

Actualmente en el mundo la mayoría de las Industrias que obtienen etanol a partir del sorgo, lo hacen a partir de sorgo dulce, distinto a este caso donde se usa sorgo granífero. Debido a esto, no hay mucha información acerca de las condiciones operativas de este proceso productivo. Luego de una intensa búsqueda, se encontraron papers los cuales identificaban a escala laboratorio cuales eran los parámetros más importantes en el proceso y las condiciones operativas óptimas.^{1, 2, 3}

Los parámetros importantes en cada etapa son:

- Molienda: el único parámetro importante es el tamaño del sorgo molido, el cual va a depender de la dimensión de los orificios de la malla que compone al molino.
- Licuefacción:
 - Tamaño del grano molido: de acuerdo a la búsqueda bibliográfica, mientras más pequeño es el tamaño, mayor será el rendimiento. Sin embargo, por complicaciones operativas se toma como óptimo el valor de 0,5 mm. Cabe aclarar que en Bio4 se trabaja con una dimensión de 2 mm, y esta es la disponibilidad en la Planta Experimental.
 - Temperatura: esta debe tomar el valor más alto posible para que la eficiencia de la etapa sea la mejor, por lo que viene determinada con la temperatura máxima que soporta la enzima utilizada tomando esta un valor de 90 °C. Debido a esto, se trabaja en un rango de 83-87 °C.
 - Tiempo de licuefacción: para el maíz se requieren 4 horas de licuefacción, pero en los trabajos de investigación encontrados se asumía valores de 1, 2 y 4 horas. Debido a esto se estima que el sorgo requiere tiempos menores.

¹ *Ethanol production from sorghum grains [sorghum bicolor (L.) moench]: evaluation of the enzymatic hydrolysis and the hydrolysate fermentability* Autores: Barcelos, R. N. Maeda, G. J. V. Betancur and N. Pereira Jr.

² *Factors Impacting Ethanol Production from Grain Sorghum in the Dry-Grind Process* Autores: X. Wu,² R. Zhao,² S. R. Bean,¹ P. A. Seib,¹ J. S. McLaren,⁵ R. L. Madl,¹ M. Tuinstra,⁶ M. C. Lenz,¹ and D. Wang²⁸

³ *Obtención de bioetanol a partir de la fermentación de sorgo* Autores: Andrés L. Barletta¹; Yanina I. Sánchez¹; Lucía A. Valazza¹ Tutores: Ing. Romina A. Beltrán²; Tca. Nadia Z. Comba²

- Porcentaje de Sólidos Totales (% ST): este valor viene dado por la relación de gramos de sorgo en base seca cada 100 gramos de solución, mientras mayor es la concentración de sólidos totales mayor será el rendimiento. Todos los “papers” coinciden que un 30% P/P es el óptimo, mientras que en Bio4 trabajan con un mosto ligeramente más concentrado. El limitante a este valor es el manejo dificultoso del mosto, ya que si posee muchos sólidos se puede “empastar” y atascar bombas, válvulas e inclusive los intercambiadores espirales.
- pH: toma un valor en el rango donde la enzima se encuentra activa (5,1-5,6).
- Propagación:
 - Porcentaje de Sólidos Totales: el valor de 30% P/P de la licuefacción debe disminuirse a un 20% para llevar a cabo esta etapa, debido a que la concentración de azúcares podría llegar a ser muy alta causando estrés osmótico en la levadura. Este último puede producir la pérdida de la turgencia celular por disminución del agua contenida en el citoplasma y la consecuente disminución de actividad enzimática y desestabilización de algunas proteínas; por lo que si esto ocurre la levadura dejaría de crecer.
 - Temperatura: las levaduras poseen temperaturas mínimas, óptimas y máximas de crecimiento. Normalmente, las levaduras utilizadas toleran temperaturas máximas que oscilan alrededor de 35-43 °C. Sin embargo, a temperaturas mayores de 35 °C, el crecimiento es cada vez más pobre, ya que el estrés se incrementa en forma considerable.
 - pH: La mayoría de las cepas de levadura son medianamente acidófilas, desarrollándose a valores de pH que oscilan entre 5 y 5,3.
- Fermentación:
 - Temperatura: Al igual que en la propagación, a partir de 35 °C el desempeño fermentativo es cada vez más pobre ya que el estrés se incrementa. Esto puede provocar desvíos metabólicos que alteran la concentración de los productos finales y una clara disminución del rendimiento. Es normal que las fermentaciones a temperaturas elevadas terminen paralizadas, con una gran cantidad de azúcares residuales y disminución considerable del rendimiento. Debido a lo expuesto se lo considera un parámetro crítico a considerar.
 - pH: Se lleva a cabo con un pH que debe ser menor a 4,2. Si cae por debajo de este valor se produce una disminución en el rendimiento fermentativo, sin

embargo el grado de impacto depende de la cepa y otros metabolitos, que pueden incrementar su efecto tóxico a pH muy bajo.

- Porcentaje de Sólidos Totales: se retorna al valor de 30% P/P de la licuefacción, debido a que el rendimiento fermentativo es mayor. Esto se puede dar así gracias a que la levadura utilizada es osmotolerante y soporta elevadas concentraciones de etanol.
- Destilación:
 - Temperatura del agua de calentamiento: debe ser tal que en el mosto se alcancen los 78 °C que corresponde a la temperatura a la cual el azeótropo agua-alcohol comienza a evaporarse.

De acuerdo a todos los parámetros descriptos se puede observar que la gran mayoría están determinados por las limitaciones que ofrecen las enzimas y la cepa de levadura utilizada.

3.1.4 Creación y modificación de Instructivos Operativos

Los Instructivos Operativos son aquellos documentos donde se describen detalladamente los pasos o instrucciones que los operarios deben seguir al llevar a cabo una actividad determinada. En este caso, como la Planta Experimental es nueva, se tuvo que realizar una lectura de los documentos ya existentes y modificarlos de acuerdo a los cambios causados en el proceso por la incorporación de nuevos equipos y accesorios.

En el desempeño de esta actividad fue muy importante recabar información de los Jefes de Producción y Operarios, ya que son ellos quienes conocen con detalle la evolución del proceso, permitiendo adaptar esa información a los procesos que se llevan a cabo en la Planta Experimental.

Los instructivos sobre los que se trabajó fueron los de “Enjuagues y CIP del sistema”, “Arranque y Parada de Molienda, Licuefacción y Fermentación con sorgo”, y “Arranque y Parada Destilación”. Además, se creó un nuevo instructivo con las distintas alternativas de operación para llevar a cabo la puesta en marcha de la planta, usando maíz como materia prima e imitar la Planta Industrial, siendo este el de “Arranque y Parada de Molienda, Licuefacción y Fermentación con maíz”.

Como ya se mencionó anteriormente, se nombraron, crearon y modificaron los documentos siguiendo el sistema de Gestión Integrada. Resultando los nombres (*Ver ejemplo Anexo.III*):

- IO PE 01 Rev 00_Arranque y Parada MLF maíz
- IO PE 01 Rev 01_Arranque y Parada MLF sorgo
- IO PE 02 Rev 01_Arranque y Parada Destilación
- IO PE 03 Rev 01_Enjuague y CIP del Sistema

3.1.5 Determinación del rendimiento de producción de etanol a partir de sorgo

Se llevaron a cabo ensayos en los laboratorios del Departamento de Tecnología Química de la Universidad Nacional de Río Cuarto, para poder determinar el rendimiento de etanol a partir de sorgo granífero (con bajo contenido de taninos) en distintas condiciones operativas. Las condiciones operativas que se eligieron variar son:

- Tiempo de licuefacción: se adoptaron dos valores: 2 y 4 horas.
- Tamaño del sorgo molido: se adoptaron 2 y 0,5 mm.

Esta elección se justifica con el hecho de que las condiciones restantes quedan determinadas por los insumos utilizados y por el desarrollo celular de la levadura.

Otro parámetro que se podría variar es el porcentaje de sólidos totales, pero por limitaciones de la disponibilidad de recursos no fue posible; sin embargo, ya se conoce que el valor óptimo es de un 30% P/P para la licuefacción. A pesar de este dato, en el laboratorio se trabajó con un 20% P/P debido a que se pensó que la falta de agitación en el mosto podría complicar el proceso.

Se realizan los ensayos por duplicado, exceptuando la muestra D detallada en la *Tabla 3.1*

Tabla 3.1 Muestras a distintas condiciones operativas.

Referencia	Tamaño [mm]	Tiempo de licuefacción [h]
A	0,5	4
B	2	2
C	0,5	2
D	2	4

Cabe aclarar que en estos ensayos la etapa de Propagación se llevó a cabo de una forma distinta a la que se realizaría en la Planta Experimental, con el fin de que el tiempo de ésta etapa tenga una duración de 2 horas y no 7 como en la Planta Experimental, como así también desarrollar en paralelo la licuefacción. Para lograrlo se utilizó glucosa pura como sustrato y sulfato de magnesio como fuente nutricional, a diferencia de la Planta que utilizaría mosto hidrolizado y urea respectivamente. De esta forma se logró disminuir la duración del tiempo total de los ensayos.

Previo al inicio de los ensayos se debió preparar la receta, basándose en aquella que se utiliza en Bio4, como así también recopilar los datos de la composición y condición del sorgo utilizado, resultantes de los análisis realizados por la Bolsa de Comercio de Rosario.

❖ *Materiales, insumos y equipos utilizados en laboratorio:*

Etapa de molienda

- Balanza.
- Molinillo.
- Tamiz vibratorio Zonytest.
- Termobalanza.
- Bolsa de madera kraft para evitar traspaso de humedad.

Etapa de calentamiento de agua, pre-mezcla y licuefacción

- Erlenmeyers.
- Baño térmico.
- Ácido sulfúrico al 98% y soda caustica 0,1N.
- Termómetro.
- Balanza analítica.
- Probeta de 150 ml.
- Agua destilada.
- Medidor de pH.
- Sorgo molido.
- Termobalanza.
- Alfa-amilasa.
- Micropipeta 100 µL.

Etapa de hidratación y propagación de levaduras

- Vaso precipitado de 250 ml.
- Balanza analítica.
- Platina para calentamiento y buzo magnético.
- Microscopio.
- Glucosa y sulfato de magnesio.
- Cubreobjetos.
- Azul de metileno
- Probeta 150 ml.
- Camara de Neubauer.
- Tubos de ensayo.
- Levaduras.

Etapa de Sacarificación y fermentación

- "Airlocks"
- NIR.
- Micropipeta 100 µL.
- HPLC.
- Urea y Glucoamilasa.
- Destilador automático.
- Lactrol.

❖ *Procedimiento experimental (Ver Anexo.IV)*

Etapa de molienda: esta etapa se llevó a cabo en la Planta Experimental de Bio4.

- Pesar cantidad suficiente de sorgo para cubrir todos los ensayos.
- Carga de Tolva del molino.
- Encender el molino y cuando haya finalizado la molienda, apagarlo.
- Recolectar sorgo molido.
- Colocar una muestra de 5 g en la Termobalanza y medir la humedad, para poder concretar la receta cuyas cantidades se encuentran en base seca.



- Colocar muestra suficiente en Zonytest y separar en bolsas Kraft las fracciones de rechazo de las mallas de 2 mm y en otras las de tamaño menor o igual a 0,5 mm.

Etapas de calentamiento de agua, pre-mezcla y licuefacción

- Introducir agua destilada al baño térmico y encenderlo hasta alcanzar 90 °C.
- Preparar ácido sulfúrico 0,1 N a partir de una solución pura al 98 %.
- Agregar ácido sulfúrico 0,1 N al agua destilada hasta medir 5,1-5,3 de pH.
- Incorporar 125 ml del agua destilada de pH corregido a cada erlenmeyer.
- Introducir los erlenmeyers al baño térmico para comenzar a calentarlos.
- Calentar el agua y adicionar 15,22 µL de alfa-amilasa.
- Pesar 31,5 gramos de sorgo e introducirlos al Erlenmeyer correspondiente.
- Controlar que la temperatura del mosto se encuentre entre 80-87 °C.
- Se deja a ésta temperatura por el período de tiempo determinado (2 y 4 h)

Etapas de hidratación y propagación de levaduras

- Incorporar 150 ml de agua destilada de pH corregido a un vaso precipitado de 250 ml e introducir el buzo magnético.
- Encender la platina y colocar encima el vaso de precipitado.
- Pesar 7,5 gramos de Levadura, 0,75 g de Glucosa y 0,15 g de Sulfato de Magnesio, y adicionar todo al vaso precipitado.
- Controlar que la temperatura no exceda los 35 °C.
- Pasadas 2 horas tomar una muestra, y diluirla en un tubo de ensayo.
- Adicionar azul de metileno al tubo de ensayo.
- Preparar la Cámara de Neubauer e introducir una muestra del tubo.
- Encender el Microscopio e introducir la Cámara de Neubauer.
- Realizar un recuento de células vivas, viabilidad y gemación, corrigiendo los valores por la dilución realizada. En caso de que los resultados sean $>1 \times 10^8$, $>95\%$ y $>20\%$ respectivamente, la propagación se da por finalizada. De lo contrario debe continuar.

Etapas de Sacarificación y fermentación: Una vez transcurrido el tiempo necesario para la licuefacción y dada por finalizada la propagación, se procede a:

- Cambiar el agua destilada del baño térmico y enfriar el mosto hidrolizado hasta que alcance 32-35 °C.
- Corregir el pH del mosto hidrolizado para que se encuentre dentro de 5,1-5,3 agregando la cantidad necesaria de ácido sulfúrico 0,1 N si el valor medido supera el rango permitido y, en caso contrario, se debe adicionar soda cáustica 0,1 N.

- Pesar 158,88 mg de Urea y 0,28 mg de Lactrol e introducirlos a cada Erlenmeyer.
- Introducir con micropipeta 25 μ L de glucoamilasa.
- Adicionar a cada uno 20 ml de levadura propagada.
- Tapar cada Erlenmeyer con su “Airlock” correspondiente.
- Controlar que la temperatura dentro del baño térmico sea aproximadamente 30 °C.
- Una vez transcurridas 63 horas, la fermentación ha finalizado.
- Realizar las mediciones correspondientes con cada equipo
 - ✓ NIR: concentraciones de glucosa, DP4 (4 o más moléculas de glucosa) y etanol.
 - ✓ HPLC: concentraciones de DP4, DP3 (maltotriosa: 3 moléculas de glucosa), DP2 (maltosa: 2 moléculas de glucosa), glucosa, ácido láctico, acético y glicerol.
 - ✓ Destilador automático: concentración de etanol abreviada como °GL.

❖ *Dificultades en la realización de la experiencia*

- Los ensayos *B* y *C* fueron realizados en un baño térmico y *A* y *D* en otro distinto, por lo que no se puede garantizar que las condiciones en cada etapa fueron las mismas.
- El ensayo *D* no pudo hacerse por duplicado debido a falta de disponibilidad de equipamiento y tiempo.
- No pudieron realizarse mediciones rápidas de azúcares y alcohol para ir controlando el proceso e ir adicionando enzimas si resultaba necesario, ya que estos se realizan en Bio4 y la distancia lo impidió.
- Las mediciones del fermentado final no pudieron realizarse a todos los ensayos, porque cada análisis implica mucho tiempo y complejidad, por lo que el laboratorio de Bio4 da prioridad a aquellos de la planta industrial.
- La medición del pH no era precisa porque el equipo de medición no funcionaba bien.
- La propagación se llevó a cabo a una temperatura menor que 35 °C debido a que si se encendía el calentamiento de la platina rápidamente se elevaba a 40 °C.
- En la fermentación no se podía controlar la temperatura dentro del mosto ya que los erlenmeyers se encontraban tapados con el “airlock”, lo único que se podía medir era el valor del agua destilada que utilizaba el baño, la cual sí se mantuvo constante.

3.1.6 Puesta en marcha de la Planta Experimental

Para llevar a cabo esta actividad primero se tuvo que recaudar información del área de producción para encontrar la mejor forma de adaptar el proceso de la planta industrial a la planta experimental con sus correspondientes equipos y limitaciones. Luego, se plantearon



las mejores alternativas de trabajo, en el instructivo operativo “IO PE 01 Rev 00_Arranque y Parada MLF maíz”. Posteriormente se realizaron varias pruebas hidráulicas de todos los equipos para verificar su funcionamiento, como así también se calibraron los medidores de nivel y temperatura para que estos emitan una medición correcta.

Para llevar a cabo la actividad se analizó la receta utilizada en Bio4 y se la llevó a escala piloto, utilizando como parámetro limitante que el volumen del mosto en el tanque del fermentador no podía exceder sus dos terceras partes.

❖ *Insumos requeridos para el proceso:*

- Maíz.
- Alfa-amilasa.
- Glucoamilasa.
- Urea.
- Ácido sulfúrico al 98% V/V.

❖ *Procedimiento:* a continuación se describe la alternativa elegida, en la cual la propagación no fue realizada en la Planta Experimental sino que se incorporó la cantidad necesaria de mosto propagado de la Planta Industrial. Éste último provenía de la hora 6 de un tanque de fermentación, cabe aclarar que hasta la hora 8 todavía no comienza a producir cantidades significativas de etanol.

Etapa de calentamiento de agua

- Llenar todo el sistema de calentamiento con agua.
- Calibrar el calentador en 95 °C con una temperatura de corte de 100 °C.
- Permitir el pasaje de agua caliente por el intercambiador.
- Cargar con 745 L de agua el tanque de premezcla y hacerla circular por el intercambiador de calor.

Etapa de molienda:

- Pesar 424 kg de maíz e introducirlos en el sinfín que los lleva a la tolva.
- Encender el molino.
- Tomar una muestra del maíz molido y medir su humedad por termobalanza.
- Colocar muestra suficiente en Zonytest para efectuar la distribución de partículas.

Etapa de pre-mezcla y licuefacción: Una vez que el agua alcanzó los 85 °C:

- Corregir el pH con ácido sulfúrico hasta alcanzar un valor aproximado de 6,3.
- Encender la agitación.
- Adicionar 110,98 ml. de alfa-amilasa.
- Encender el sinfín que lleva el maíz molido al tanque de premezcla.

- Medir el pH y corregirlo hasta arroje un valor de 5,1 a 5,6 como máximo.
- Controlar cada una hora que la temperatura del tanque V3201 este en 80-87 °C.
- Cada una hora controlar el pH, temperatura y tomar muestras para medir % ST.
- Luego de 4 h se da por finalizada la licuefacción.

Etapa de Sacarificación y fermentación: Luego de la licuefacción se procede a:

- Encender la torre de enfriamiento.
- Cambiar el pasaje del agua de calentamiento por la de enfriamiento y enfriar el mosto hidrolizado hasta que alcance 32-35 °C.
- Comenzar a incorporar agua de enfriamiento en la camisa del fermentador.
- Pasar el mosto hidrolizado frío al tanque de fermentación y encender su agitador.
- Incorporar 130 L de mosto proveniente de un fermentador de Bio4 y hacer recuento viabilidad y gemación.
- Corregir el pH del mosto para que se encuentre en un valor mayor a 4,2.
- Adicionar 178 ml de glucoamilasa y 936,6 g de urea dosificándola en dos veces a la hora 0 y a la 4 la otra mitad.
- Desde la hora 0, tomar muestras de 50 ml cada 6 h para controlar los valores de: pH = 5.1-5.3, temperatura = 32-35 °C y medir con NIR la concentración de glucosa < 6% antes de las 12 h.
- Se toman muestras para realizar análisis de HPLC en las horas 6, 24, 42 y 60, de modo de ver la concentración de glucosa, ácido láctico, ácido acético y glicerol. En la hora 60 (al finalizar la etapa de fermentación), los valores deben ser: <1%, <0,5%, <0,05% y <1,5% respectivamente.
- Tomar muestra de 200 ml y medir °GL con destilador automático a la hora 48 y 60.

Destilación:

- Se traslada mosto en un balde al destilador.
 - Se hace pasar agua de calentamiento por la camisa y agua de enfriamiento por el condensador.
- ❖ Dificultades en la realización de la puesta en marcha:
- Rotura del sinfín que traslada el maíz molido al tanque de fermentación, un cable mal colocado se quemó y este a su vez rompió la correa del equipo. Por esto se tuvo que incorporar manualmente, con baldes, perdiendo así 68,15 kg de maíz lo que llevó a un % ST de 28,73% P/P, en vez del 30% que estaba planificado.

- Cuando se comenzó a incorporar agua de enfriamiento a la camisa del tanque de fermentación que se iba a utilizar, se deformó y se pinchó, y en el otro tanque que también se podría usar la camisa se deformó completamente. La causa de este accidente fue la elevada presión que otorga la bomba de la torre de enfriamiento, esto se podría haber evitado si se regulaba la válvula a la salida de modo de aumentar la pérdida de carga y que la presión sea menor. Debido a esto la fermentación se llevó a cabo en el mismo tanque donde se licuificó, este carecía de venteo de CO₂ por lo que se trabajó todo el tiempo con buena ventilación, el portón abierto.
- Problemas al incorporar el mosto propagado de Bio4, la bomba que lo impulsaba de un “bin”, no anduvo por lo que se tuvo que trasladar manualmente con baldes.
- Hubo un atasco en la válvula de retención, a la salida de la bomba, con granos de maíz y precintos, por lo que se extrajo la retención y se agregaron 38,42 L de agua.
- La glucosa caía a 0 en horas donde todavía faltaba fermentar, entonces se dosificó dos veces más (Hora 16 y 25 de fermentación, 40 ml cada vez) de la prevista.

3.2 Resultados y análisis de resultados

3.2.1 Determinación del rendimiento de etanol a partir de sorgo

Los datos arrojados por el análisis realizado al sorgo en la Bolsa de Comercio de Rosario se presentan en la *Tabla 3.2*.

Tabla 3. 2 Datos otorgados por la BCR

Composición	% en base seca
Humedad	13
Proteína	8,8
Materia grasa	3,2
Almidón	66

Los resultados arrojados por cada equipo se detallan en las *Tablas 3.4, 3.5 y 3.6*

Tabla 3. 3 Referencia de los ensayos

Referencia	Tamaño [mm]	tiempo de licuefacción [h]
A	0,5	4
B	2	2
C	0,5	2
D	2	4

Tabla 3. 4 Humedad del sorgo molido

Termobalanza	
Humedad del sorgo molido	11,92%

En cuanto al recuento de células vivas en la fermentación arrojó un valor muy alto, alrededor de 1×10^{11} , fue calculado con las fotos tomadas del microscopio (*Ver Figura AIV.10*) y corrigiendo luego por la dilución realizada (1 en 100).

Tabla 3. 5 Mediciones de NIR y el destilador automático.

Muestra	NIR			Destilador automático
	Glucosa % p/v	° GL % p/v	DP4 % p/v	° GL % p/v
A-1	0	4,43	18,52	-
A-2	2,64	5,86	10,6	4,52
B-1	1,22	5,66	6,67	-
B-2	0,5	5,68	2,9	5,35
C-1	1,43	6,23	6,91	-
C-2	3,31	6,03	13,57	5,37
D-1	0	5,15	16,46	-

Cabe aclarar que las mediciones del equipo NIR no son precisas, este se utiliza para dar una noción sobre qué valores ronda la concentración.

Tabla 3. 6 Mediciones del HPLC

HPLC							
Muestra	Glucosa %p/v	Ac. Láctico %p/v	Ac. Acético %p/v	Glicerol %p/v	DP4 %p/v	DP3 %p/v	DP2 %p/v
A-1	0,00173	0,078219	0,01214	0,53973	0,114141	0	0,00945
A-2	-	-	-	-	-	-	-
B-1	0,00243	0,09799	0,019153	0,579063	0,030615	0,00385	0
B-2	-	-	-	-	-	-	-
C-1	0,00231	0,09894	0,02613	0,54084	0,039016	0	0
C-2	-	-	-	-	-	-	-
D-1	0,00690	0,11332	0,01798	0,68287	0,08632	0	0,01385

En todos los ensayos los valores de ácido láctico, acético y glicerol se encuentran dentro de los valores correctos:

- Ácido acético < 0,05% p/v: este puede ser producido por la propia levadura o por bacterias contaminantes, el hecho de que caiga por debajo del valor, significa que no hubo contaminación.
- Ácido láctico < 0,5% p/v: producido por bacterias contaminantes, entonces en los ensayos no hubo contaminación significativa.
- Glicerol < 1,5% p/v: se produce ante otra ruta fermentativa, se trata de un metabolito cuya concentración es una indicadora del estrés osmótico que puede sufrir la levadura. Debido al bajo valor en los ensayos se puede decir que no ha sufrido estrés.

Los valores de DP4 deberían arrojar un 0% y como se puede observar son muy elevados en los ensayos, especialmente en aquellos A y D, esto significa que quedó mucho potencial para fermentar. En las mediciones de DP3, DP2 y glucosa todos presentan valores bajos comparados con la DP4. Esto puede deberse a que la glucoamilasa en la etapa de fermentación no actuó correctamente porque la cantidad suministrada no fue suficiente o porque la enzima no logró activarse por una mala corrección de pH o excesiva temperatura. Considerando la densidad del mosto como $\rho=1,042$ g/ml, se calcula el rendimiento de producción de etanol teniendo en cuenta los resultados arrojados por el destilador automático para las muestras A, B y C y la medición del NIR para el ensayo D, utilizando una ecuación que no se puede explicitar por ser confidencial de la empresa Bio4. Los valores de los rendimientos fueron se plasman en la *Tabla 3.7*.

Tabla 3.7 Rendimientos de cada ensayo

Ensayo	Tamaño [mm]	Tiempo de licuefacción [h]	Rendimiento%
A	0,5	4	44,35
B	2	2	52,49
C	0,5	2	52,68
D	2	4	50,53

Analizando los rendimientos se dice que con 2 h de licuefacción ya sería suficiente para el proceso y que no habría diferencia entre los resultados de 0,5 y 2 mm. Pero en los ensayos A y D el DP4 residual asumió un valor muy elevado, lo que significa que la licuefacción dio mayor rendimiento, permitiendo esto suponer que con correctas condiciones de fermentación se hubiese obtenido más etanol. En cuanto al tamaño del grano molido, bajo la misma condición de licuefacción, se observan resultados similares. Esto contradice a la información presentada en las publicaciones consultadas, por lo que para afirmar los resultados obtenidos deberían repetirse ensayos. A pesar de esto, para la industria no es conveniente un tamaño más pequeño porque implica mayor costo energético en la molienda.

3.2.2 Puesta en marcha con maíz

❖ Composiciones del grano entero

Se muestran resultados del analizador de granos FOSS, con tecnología de infrarrojo cercano.

Tabla 3.8 Composición del grano de maíz

	FOSS
%Humedad	13,3
%Grasas	4,4
%Almidón	71,1
%Proteínas	8,2

❖ Humedad del maíz molido

Por termobalanza se midió que esta se redujo a un valor de 12,8%

❖ Granulometría de la molienda

Los datos arrojados por Zonytest son:

Tabla 3. 9 Granulometría resultante de la molienda

N° malla	Tamaño malla en μm	Rechazo	Fracción %	Fracción %BIO4
12	1680	8,08	3,232	0,36
16	1180	42,87	17,148	3,56
20	850	55,28	22,112	20,92
30	600	64,21	25,684	35
40	425	37,27	14,908	26,12
60	250	30,64	12,256	10,76
70	212	7,63	3,052	1,84
80	177	2,46	0,984	1,88
100	149	0,72	0,288	0,2
COLECTOR	148	0,38	0,152	0,08

Comparando la granulometría, en ambas curvas presentadas en la *Figura 3.1*, se observa un pico en la malla N° 30 (0,6 mm), pero el de Bio4 es más pronunciado. La banda de la curva de la Planta Experimental (P.E) es más ancha lo que hace que sea mayor el porcentaje en los tamaños más grandes. Sin embargo, en los tamaños más chicos las fracciones son similares.

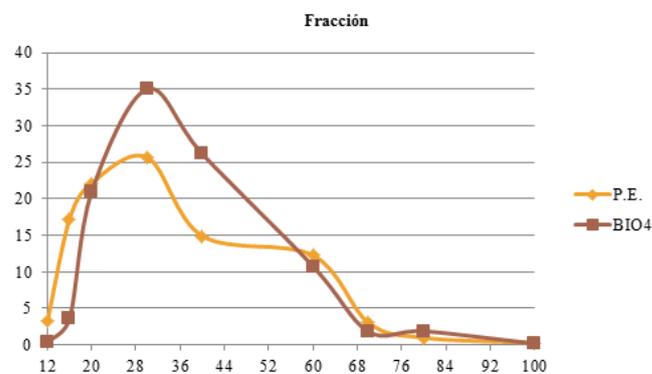


Figura 3. 1 Distribución de partículas de molienda. Fracción vs. N° de malla.

❖ Licuefacción

Tabla 3. 10 Mediciones durante licuefacción

Hora	T °C	pH	Corrección pH		NIR %ST	Termobalanza	
			Vol. ácido	Vol. Base		Dextrosa eq.	% ST
0	75,9	5,8	20 ml		31,53	-	28,73
1	82,4	5,64			31,5	-	
2	84	5,53			31,35	-	
3	83	5,62	30 ml		31,28	-	
4	81,9	5,38	45 ml		30,92	16,77	

Se puede observar que la evolución de temperatura y pH fueron correctas, se realizaron adiciones de ácido sulfúrico debido a aumentos inesperados. En cuanto a los sólidos totales, el dato más confiable es el de la termobalanza y resulta correcto que sea menor al 30% esperado debido a la pérdida de maíz durante la incorporación al tanque de licuefacción. La dextrosa equivalente arrojó un valor apto para comenzar la fermentación.

❖ Fermentación

Tabla 3. 11 Recuento de células

RECuento DE CELULAS	
Nº células	4,48E+07
Viabilidad	94,64
Gemación	13,39

Como se puede observar el valor es menor a 1×10^8 , esto se debe a que proviene de un fermentador y no del propagador. Sin embargo se consideró correcto utilizarlo ya que se podía adaptar al nuevo medio, seguir creciendo y fermentar.

En la *Tabla 3.12* se detalla la evolución de los parámetros medidos con NIR a lo largo de la experiencia, incluyendo también los valores que Bio4 toma como referencia para controlar que el proceso fermentativo esté evolucionando correctamente.

Tabla 3. 12 Seguimiento del proceso fermentativo

Hora	NIR (muestra 50 ml)			Referencia		
	Glucosa	° GL	DP4	° GL	DP4	GLUCOSA
0	2,68	0	10,99	0,5	9	5,5
3	-	-	-	1,08	6,14	4
6	1,62	2,3	9,26	2,21	5,07	3,28
12	0	6,88	7,84	4,78	3,7	1,78
16	0,54	9,08	3,26	-	-	-
18	1	10,01	3,02	7,47	3,03	3,62
24	0	12,37	2,65	10,14	1,8	1,36
26,5	0	12,65	2,69	-	-	-
30	0	11,67	2,84	12,13	1	0,66
36	0,36	13	3,18	13,62	0,3	0,2
42	0	13,38	2,82	14,63	0,11	0,08
48	0	13,3	2,81	15	0,06	0,06
54				15,4	0,03	0
60				15,71	0	

La DP4 (4 unidades de glucosa) se va degradando a DP3 por la glucoamilasa, luego a DP2 y por ultimo a DP1 (glucosa). La curva se presenta en la *Figura 3.2*, ésta siempre debe ir disminuyendo, si se mantiene constante indica la falta de glucoamilasa o que no está

actuando bien. En el ensayo se puede observar un aumento a partir de la hora 26,5, posiblemente se debe a las adiciones de glucoamilasa de las horas 16 y 25 de fermentación. La curva de glucosa se presenta en la *Figura 3.3*, ésta debe ir disminuyendo, lo que indica que las levaduras se están alimentando. En la curva de referencia, la glucosa hace un pico entre la hora 12 y 18 debido a que 4 horas antes se aumenta el caudal de glucoamilasa, ya que han encontrado que es la mejor forma de adición. En el ensayo se observan dos picos, causados por las dos adiciones de glucoamilasa mencionadas que se efectuaron porque la glucosa caía a cero rápidamente.

En la curva de referencia de etanol (*Figura 3.4*), durante las primeras horas la levadura se alimenta y genera alcohol pero el % GL no aumenta demasiado porque se está llenando el tanque y el número de levaduras es bajo (la concentración de levadura es menor a la del propagador). A medida que pasan las horas la cantidad de levaduras aumenta y la generación de alcohol también. Luego de la hora 6 ya se observa un aumento apreciable en el % GL, mientras que el tanque se termina de llenar en la hora 16. Luego de la hora 30 la cantidad de levaduras que se mueren es mayor a las que nacen debido a un estrés por etanol, esto hace que disminuya su generación. En la hora 42 quedan muy pocas vivas, las ha estresado el alto % GL y/o a disminuido mucho la glucosa por lo que las levaduras se mueren por falta de alimento y dejan de generar etanol.

En cuanto a la curva del ensayo se observa una disminución repentina de etanol, se adjudica a una mala medición, cabe aclarar que en este no hubo tiempo de llenado por lo que se inicia la fermentación con la mayor concentración de levaduras por eso sobrepasa la curva de referencia. Además la fermentación se dio por finalizada a la hora 48.

En algunas horas de la etapa se hicieron mediciones con HPLC para tener mediciones más precisas de azúcares, y con el destilador para medir con exactitud la concentración de etanol.

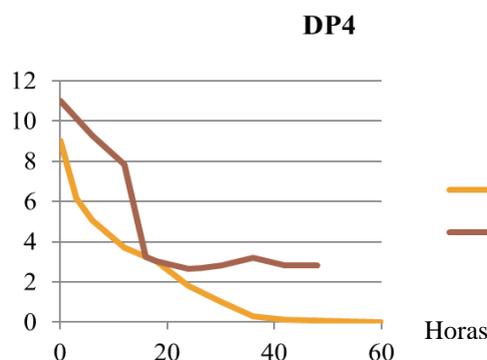


Figura 3. 2 Evolución de DP4

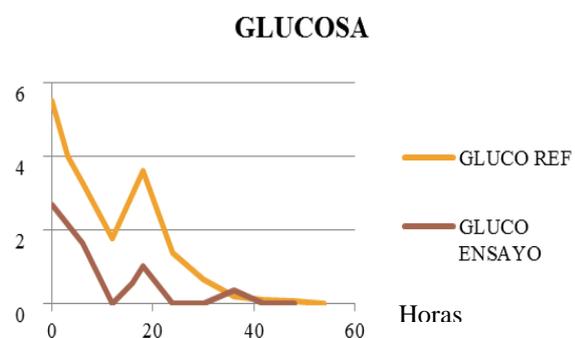


Figura 3. 3 Evolución de glucosa

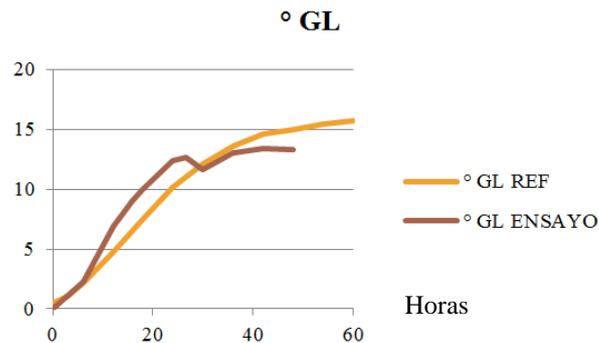


Figura 3. 4 Evolución de etanol

Tabla 3. 13 Mediciones de HPLC y destilador durante la fermentación

Hora	HPLC					Destilador
	Glucosa	Ac. Láctico	Ac. Acético	Glicerol	DP4	° GL
24	0,0721766	0,2251581	0,0259246	0,8741862	0,0096587	
25	0,0388	0	0,0238	0,787	0,2511	13,67
36	0,0415089	0,2443662	0,0349984	0,9879806	0,1701139	-
42	0,0359	0,24	0,037	0,98	0,174	-
48	-	-	-	-		14,25
63,5						13,65
66,5						13,55

Como se puede observar no hubo contaminación (Ácido acético < 0,05% p/v y Ácido láctico < 0,5% p/v) ni tampoco sufrieron estrés las levaduras (Glicerol < 1,5% p/v).

La fermentación finalizó a la hora 48 debido a que se consideró que el valor de °GL medido era el máximo alcanzable, por lo que se trasladó el mosto fermentado a un “bin”. Luego se continuó realizando mediciones, las que disminuyeron, adjudicando esto al traslado por modificarse las condiciones del mosto. Se calculó el rendimiento con una ecuación confidencial de Bio4, utilizando la concentración máxima y un promedio de las últimas tres mediciones, presentado en la Tabla 3.14.

Tabla 3. 14 Rendimiento de la puesta en marcha

Rendimiento %	
Eficiencia máxima	92,95
Eficiencia promedio	90,01

El rendimiento calculado se asemeja al de la planta industrial, por lo que se considera una operación exitosa. Esto pudo lograrse gracias a un control minucioso de la temperatura y demás parámetros del proceso fermentativo. (Ver Anexo.V)

- ❖ Destilación: con el destilador se logró alcanzar solo un 81,5% V/V.



4. CONCLUSION

En cuanto al principal objetivo del Plan de Trabajo, se puede decir que se ha logrado determinar el rendimiento del etanol utilizando sorgo como materia prima a pesar de que los resultados tal vez no fueran los esperados. Para poder verificarlos se debería repetir la experiencia sorteando las dificultades que se presentaron durante su realización. Esto no se pudo realizar por limitaciones de tiempo y de disponibilidad de equipos.

Los demás objetivos fueron alcanzados exitosamente e incluso se lograron concretar otras actividades, como poner en marcha la Planta Experimental imitando el proceso que se lleva a cabo en la Industria y llegando a iguales rendimientos. Los resultados obtenidos de esta experiencia son muy gratificantes ya que, no solo se obtuvieron altos valores de rendimientos, sino que se plasmaron las mejores alternativas de realización de ensayos en instructivos los cuales podrán utilizar en un futuro, ya sea nuevos practicantes o empleados de Bio4.

A nivel personal, la práctica fue muy enriquecedora ya que permitió el conocimiento de un proceso que no fue estudiado con profundidad durante la carrera y lo más importante que se logró tener contacto y manipular los equipos estudiados. Si bien hubo muchos errores, se considera que estos formaron una parte esencial del aprendizaje.

Además, se estableció contacto con gran cantidad del personal de la empresa que fueron muy amables, colaboraron durante la búsqueda de información del proceso y también aconsejaron en base a su experiencia sobre cuáles serían las mejores formas de operar.

Por todo lo expuesto se considera que la Práctica profesional es una experiencia que concreta la formación como Ingeniero Químico.



5. BIBLIOGRAFIA

- <http://www.bio4.com.ar/>. (Fecha de acceso: Marzo de 2017).
- *Manuales Operativos e Instructivos Operativos* de BioEtanol S.A. vigentes en la fecha de realización de la práctica. (Fecha de acceso: Abril de 2017).
- *Ethanol production from sorghum grains [sorghum bicolor (l.) moench]:evaluation of the enzymatic hydrolysis and the hydrolysate fermentability* Autores: Barcelos, R. N. Maeda, G. J. V. Betancur and N. Pereira Jr.
- *Factors Impacting Ethanol Production from Grain Sorghum in the Dry-Grind Process'* Autores: X. Wu,² R. Zhao,² S. R. Bean,¹ P. A. Seib,¹ J. S. McLaren,⁵ R. L. Madl,¹ M. Tuinstra,⁶ M. C. Lenz,¹ and D. Wang²⁸
- *Obtención de bioetanol a partir de la fermentación de sorgo* Autores: Andrés L. Barletta¹; Yanina I. Sánchez¹; Lucía A. Valazza¹ Tutores: Ing. Romina A. Beltrán²; Tca. Nadia Z. Comba².

ANEXOS

Anexo.I Equipos planta experimental



Figura AI. 1 Sector molienda



Figura AI. 2 Calentador eléctrico y tanque pulmón



Figura AI. 3 Torre de enfriamiento



Figura AI. 4 Intercambiador de calor



Figura AI. 5 Tanque de pre-mezcla y licuefacción



Figura AI. 6 Tanques de fermentación



Figura AI. 7 Destilador y condensador

Anexo.II Diagrama de bloques del proceso

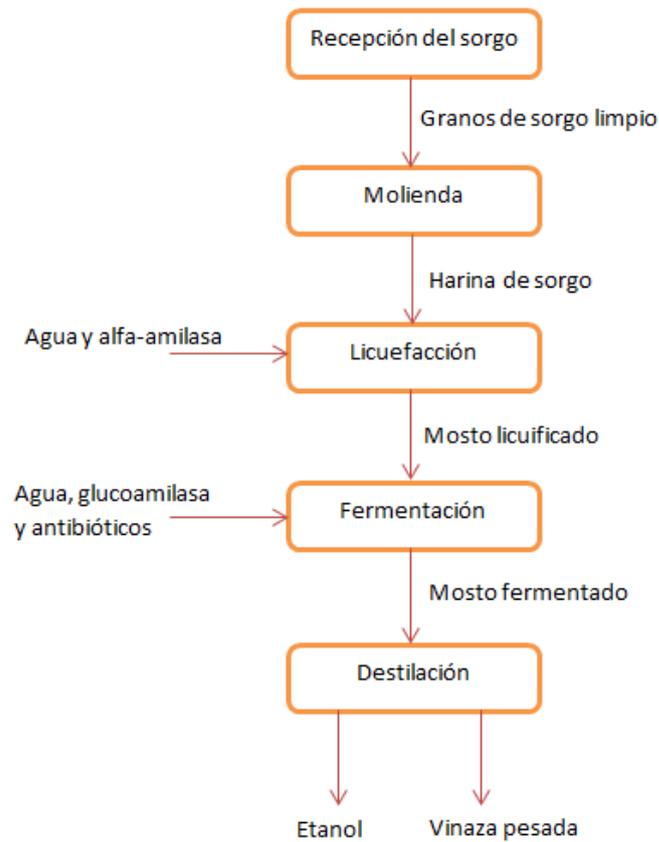


Figura AII. 8 Diagrama de bloques

Anexo.III Ejemplo de Instructivo Operativo

	Arranque y Parada MLF	Página 1 de 10
		IO PE 01. Rev. 0
		Fecha Elab: 10/04/17

	ELABORA/MODIFICA	CONTROLA	APRUEBA
Nº Revisión	Función	Función	Función

NOTA: El presente documento es propiedad de Bioetanol Río Cuarto SA y está prohibida la reproducción parcial y/o total de la información sin un acuerdo por escrito.

1. **OBJETIVO:**
 Describir las tareas de la puesta en marcha y parada para las operaciones de molienda, licuefacción y fermentación.
2. **ALCANCE:**
 Etapa de molienda, de licuefacción y fermentación de la planta experimental.
3. **DEFINICIONES Y SIGLAS:**
 - MLF: Molienda, Licuefacción y Fermentación.
 - GA: Gluco Amilasa.
 - AA: Alfa Amilasa.
4. **DOCUMENTACION DE REFERENCIA:**
5. **DESARROLLO:**
 - 5.1 **Responsabilidades:**
 Personal de Planta Experimental.
 - 5.2 **Aspectos de seguridad:**
 El operario deberá contar con EPP básicos.
 - 5.3 **Instrucciones de trabajo:**
 La forma de trabajo que se sigue es manual, en donde se deben encender o apagar cada uno de los equipos siguiendo una secuencia lógica.
 Se prevé trabajar con adición de mosto propagado al tanque de fermentación V3205.

Arranque: Opción A

- 1) Verificar que la válvula de la línea de agua de servicios este 2 dientes abierta.
- 2) Verificar que estén todas las válvulas involucradas cerradas.

Etapa de molienda

- 3) Encender la balanza. Pesar los 424 kilogramos de maíz que se van a moler.
- 4) Verificar que la válvula/clapeta de la tolva V3101 esté completamente cerrada.
- 5) Encender el sinfín M3104 y cargar la tolva V3101.
- 6) Apagar el sinfín M3104 una vez finalizada la carga de la tolva.

	<p>Arranque y Parada MLF</p>	Página 2 de 10
		IO PE 01. Rev. 0
		Fecha Elab: 10/04/17

Etapa calentamiento de agua:

- 7) Verificar que V98 esté cerrada.
- 8) Abrir la válvula V78 que suministra agua de red al calentador eléctrico CAD3401 y verificar que la válvula del flotante (V100) del tanque pulmón de recirculación de agua caliente V3406 esté abierta. Abrir V98 que suministra agua de red al calentador eléctrico CAD3401 hasta llenar todo el sistema.
- 9) Una vez lleno, cerrar V78, V98 y V100.
- 10) Verificar que todas las válvulas del sistema de calefacción estén abiertas (V97, V30, V32 y V89 y V90 si se quiere usar el termómetro de la camisa del destilador como referencia de T° del calentador) y V10 este parcialmente abierta de manera que la presión de trabajo del calentador sea entre 1,4 y 3 Kg/cm².
- 11) Setear uno de los termostatos en la temperatura de trabajo, en 65°C , y el otro con una diferencia de $+5^{\circ}\text{C}$ (corte de T° por seguridad). Luego encender el calentador eléctrico.

Etapa de pre-mezcla y licuefacción:

- 12) Abrir las válvulas V9, V14 y V15 y comenzar a llenar el tanque de pre-mezcla y licuefacción V3201 con agua de red.
- 13) Añadir 110,98ml de enzima alfa-amilasa (AA) al tanque V3201 por medio de la tolva dosificadora.



Figura 1 Tolva dosificadora de Alfa-amilasa e hidróxido de sodio.

- 14) Encender el sistema de agitación del tanque V3201.
- 15) Una vez que el tanque V3201 se encuentre cargado con 745Lt de agua en 29 min con un caudal de llenado de 1500Lt/h (la lectura del medidor de nivel debe indicar 28,1 mbar), cerrar válvulas V14 y V15.

Anexo.IV Ensayo de sorgo

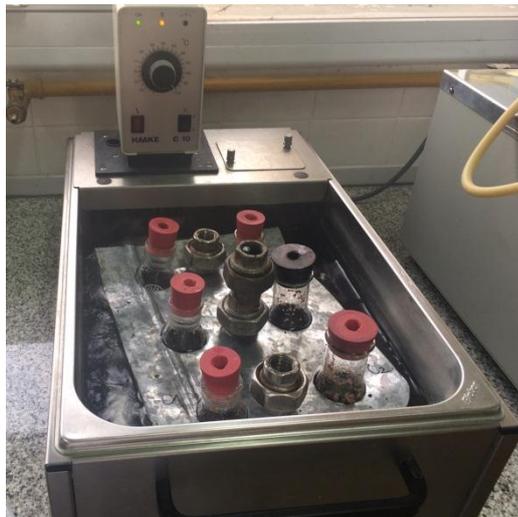


Figura AIV. 9 Etapa de licuefacción

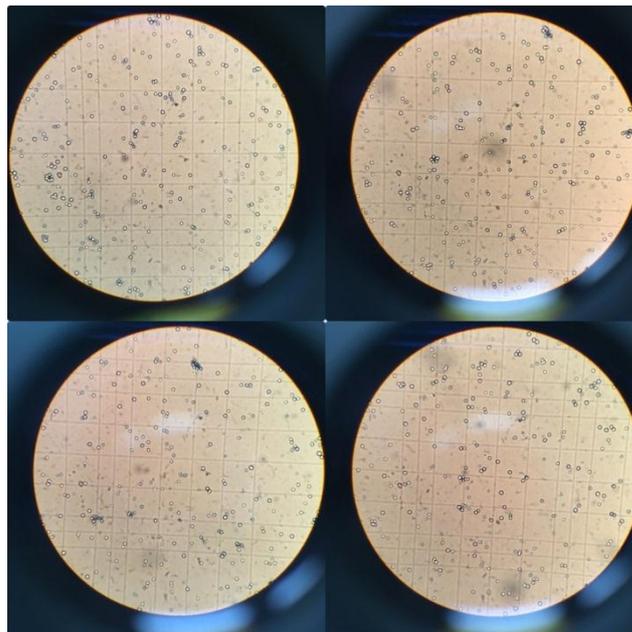


Figura AIV. 10 Etapa de propagación



Figura AIV. 11 Etapa de fermentación



Figura AIV. 12 Termobalanza



Figura AIV. 13 NIR



Figura AIV. 14 Destilador automático

Anexo.V Ensayo de maíz

Evolución de temperatura en la fermentación

Tabla AV. 1 Evolución de temperatura en fermentación

Hora	Temperatura °C
0	31,7
1	31,9
3	31,6
4	31,8
5	32,6
6	32,2
7	32,6
8	33,4
9	33
10	32
11	32
12	32,3
13	32,5
14	31,9
15	31,9
16	31,9
17	31,9
18	32,1
19	32,4
20	32,7
21	33,1
22	33,3
23	32,6
24	32,7
25	32,6
26	31,1
27	31,2
28	31,3
29	31,3
30	31,4
31	31,3
32	31,2
33	31,3
34	31,3
35	31,4
36	31,4
37	31,4
38	31,4
39	31,4
40	31,4
41	31,4
42	31,5
43	31,7
44	32,1
45	32,5
46	33
47	33,3
48	31,7
49	32
50	32,3
55	33
56	33,2

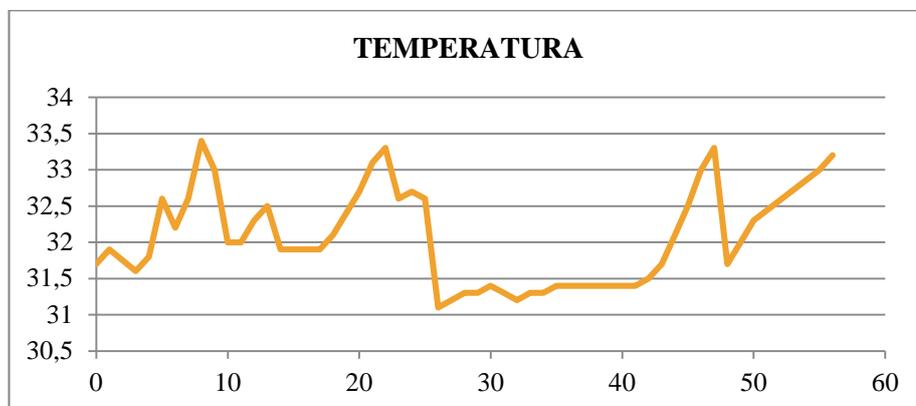


Figura AV. 15 Evolución de la temperatura en la fermentación

Como se puede observar la temperatura varía en el rango 31-33,5 ° C, valores que resultan óptimos para la fermentación. Cabe aclarar que esto se logró sin ningún enfriamiento externo por el intercambiador, lo único que se iba variando era la recirculación dentro del mismo tanque y la agitación que se encendía cuando se quería bajar la temperatura.



Evolución del pH en la fermentación

Tabla AV. 2 Evolución del pH en la fermentación

Hora	pH
0	-
6	4,62
12	4,35
16	4,22
18	4,19
24	4,25
25	-
26,5	4,35
30	4,46
36	4,55
42	-
48	4,61

El pH bajó de 4,2 sin embargo esta caída fue mínima y no resultó inconveniente para el ensayo.