

**REACTOR BIOQUÍMICO PARA
PRODUCCIÓN DE ETANOL POR
FERMENTACIÓN DE BIOMASA
DE DESECHO**

BIOCHEMICAL REACTOR FOR
ETHANOL PRODUCTION BY
FERMENTATION OF WASTE
BIOMASS

REATOR BIOQUÍMICO PARA
PRODUÇÃO DE ETANOL POR
FERMENTAÇÃO DE
BIOMASSA DE RESÍDUOS

María Paula Mantilla Arias

Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Electrónica
Semillero de Investigación INSYNTEC
Grupo de Investigación I2E
Universidad Pedagógica y Tecnológica de
Colombia
maria.mantilla02@uptc.edu.co.

Juan Camilo Gómez Espinel

Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Electrónica
Semillero de Investigación INSYNTEC
Grupo de Investigación I2E
Universidad Pedagógica y Tecnológica de
Colombia
juan.gomez04@uptc.edu.co.

Juan Carlos Saavedra Merchán

Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Electrónica
Semillero de Investigación INSYNTEC
Grupo de Investigación I2E
Universidad Pedagógica y Tecnológica de
Colombia
juan.saavedra01@uptc.edu.co.

Fecha de Recepción: 17 de noviembre de 2019
Fecha aprobación: 06 de marzo de 2020

Resumen

Este documento presenta el desarrollo de un reactor bioquímico en el que se realiza el proceso de fermentación con el fin de obtener etanol, posterior a la destilación del fermento producido. El reactor es de tipo Batch discontinuo y reúne el conjunto de particularidades que favorecen el crecimiento de las levaduras, como agitación constante, temperatura controlada, inyección de oxígeno y extracción de CO₂ generado a partir de la reacción química, las cuales son monitoreadas para establecer un ambiente propicio en el que las levaduras lleven un proceso de crecimiento adecuado y produzcan buena cantidad de etanol. Luego de la construcción del reactor con las características deseadas, se lleva a cabo la fase de pruebas para determinar las condiciones óptimas de fermentación, como la concentración inicial que se implanta en el reactor, para finalmente establecer los resultados y las conclusiones del trabajo elaborado, incluyendo el proceso de destilación que se realiza para la obtención de etanol separado de los demás líquidos presentes en el fermento.

Palabras clave— biomasa, bioquímico, condiciones, desecho, etanol, fermentación, reactor.

Abstract

This document presents the development of a biochemical reactor in which the fermentation process is carried out in order to obtain ethanol, after distillation of the ferment produced. The

reactor is of type Batch discontinuous and gathers the set of peculiarities that favor the growth of yeasts, such as constant agitation, controlled temperature, oxygen injection and CO₂ extraction generated from the chemical reaction, which are monitored to establish an enabling environment in which yeasts carry an adequate growth process and produce a good amount of ethanol. After the construction of the reactor with the desired characteristics, the testing phase is carried out to determine the optimal fermentation conditions, such as the initial concentration that is implanted in the reactor, to finally establish the results and conclusions of the work carried out, including the distillation process that is carried out to obtain ethanol separated from the other liquids present in the ferment.

Keywords— biomass, biochemical, conditions, waste, ethanol, fermentation, reactor.

Resumo

Este documento apresenta o desenvolvimento de um reator bioquímico no qual o processo de fermentação é realizado para a obtenção de etanol, após a destilação do fermento produzido. O reator é do tipo Batch descontínuo e reúne o conjunto de peculiaridades que favorecem o crescimento de leveduras, como agitação constante, temperatura controlada, injeção de oxigênio e extração de CO₂ gerada a partir da reação química, que são monitoradas para estabelecer um ambiente propício no qual as leveduras carregam um processo de crescimento adequado e produzem uma boa quantidade de etanol. Após a construção do reator com as

características deseadas, a fase de testes é realizada para determinar as condições ideais de fermentação, como a concentração inicial que é implantada no reator, para finalmente estabelecer os resultados e conclusões do trabalho realizado, incluindo o processo de destilação que é realizado para obter etanol separado dos outros líquidos presentes no fermento.

Palavras-chave— biomassa, bioquímica, condições, resíduos, etanol, fermentação, reator.

Introducción

Debido a la necesidad de generar medios de producción de energía sustentables y amigables con el medio ambiente, se destaca la obtención de bioetanol a partir de biomasa, debido a su particular composición química lo hace el indicado en diversos procesos tanto en la generación eléctrica como en el uso de combustibles.

Por otra parte, los procesos químicos y biológicos requieren condiciones adecuadas que favorezcan su realización, por tal motivo en el diseño del reactor bioquímico es fundamental considerar las múltiples variables que intervienen en el proceso de fermentación.

La fermentación para la producción de alcoholes se genera a través de glucólisis (oxidación de glucosa), en este proceso se libera cierta cantidad de CO₂ por lo que se debe tener una circulación del mismo, así como también una circulación de aire, resaltando la aireación como parámetro de interés dado que, al iniciar la fermentación, la velocidad del

crecimiento poblacional es mucho mayor, puesto que las levaduras poseen suficiente oxígeno para reproducirse, y cuanto más multiplicación de células se produzca, más productiva será la fermentación inicial por la fortaleza de las células recién nacidas; luego de esto, cuando las levaduras entran en proceso de ausencia de oxígeno comienza la conversión de hidratos de carbono en alcohol. Cuando la fermentación se realiza en un recipiente cerrado, se genera una presión de gas carbónico que altera el metabolismo de las levaduras dificultando su función fermentativa [1].

La temperatura es el factor más importante en la aceleración de la fermentación, debido a que las levaduras se comportan de manera distinta según la temperatura a la que se encuentren. El crecimiento poblacional de las levaduras aumenta si la temperatura está en el rango de 28°C a 32°C, si la temperatura se encuentra en un rango mayor a los 50°C, las levaduras se extinguen, y al encontrarse en una temperatura menor o igual a 0°C entran en un estado de inactividad [2].

Posterior a la fermentación sigue el proceso de destilación, que consiste en calentar el fermento hasta el punto en el que los componentes se convierten en vapor, y luego por medio de una condensación (enfriamiento) se obtiene cada componente en forma líquida [3].

Materiales y métodos

El desarrollo del presente trabajo consistió en diferentes etapas, empezando por la fundamentación teórica acerca de los procesos

asociados a la temática del proyecto, luego el diseño y la construcción del reactor según las variables consideradas, y finaliza con el prototipo terminado para realizar las respectivas pruebas, mediante las que se determinaron condiciones óptimas de fermentación, así como el tiempo de duración para obtener buena cantidad de etanol.

El etanol, también denominado alcohol etílico, es un compuesto químico presentado como un líquido incoloro e inflamable, y es el principal producto en la realización de las bebidas alcohólicas. Su fórmula química extendida es: $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$.

Este compuesto puede ser obtenido a partir de cualquier tipo de biomasa, pero varía la cantidad en la que se obtiene. Para la selección de la biomasa a utilizar en el proyecto se realizaron tres pruebas con tres biombras diferentes, para determinar cuál de ellas era la más adecuada, partiendo de la premisa sobre la cantidad de sacarosa presente que tendrá influencia en la cantidad de etanol obtenido, y evaluando la viabilidad para la adquisición del producto, así como su preparación para ser fermentado.

Estos productos son el maíz, la uva y el mango, estableciendo de manera experimental que la opción más acertada para ser la biomasa a utilizar en la fermentación es el mango, debido a su alto contenido de azúcares, su fácil obtención y preparación para fermentar, teniendo en cuenta también que no es necesario que se encuentre en un estado óptimo para el consumo, sino que puede estar sobre maduro, a diferencia de la fermentación

del maíz, en la que se requiere que este se encuentre tierno y su preparación se hace un poco ardua, pues requiere procesos adicionales previos a la fermentación.

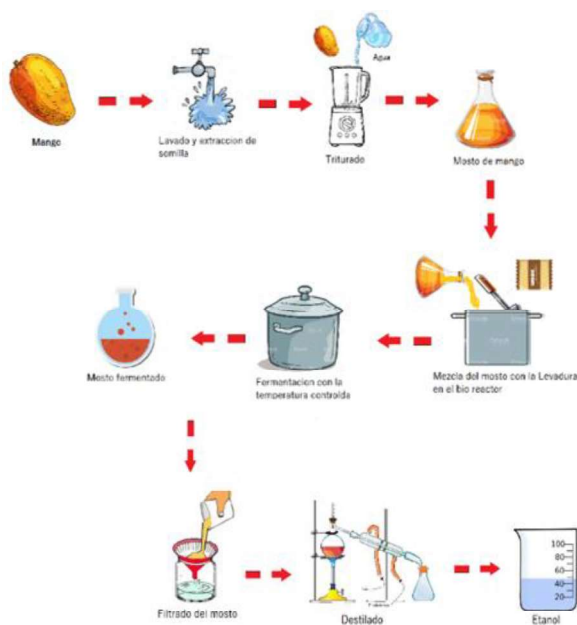
Por su parte, la uva presenta inconvenientes al contener semillas de un tamaño reducido, en comparación con la facilidad que se da al retirar la semilla del mango, además es importante aclarar que esta debe presentar ciertas características que la hacen óptima para ser fermentada, y las uvas que comercialmente se consiguen no son las adecuadas para este proceso.

Al finalizar las fermentaciones con las tres biombras (uva, mango y maíz) y verificar la cantidad de etanol obtenido a partir del proceso de destilación, se comprobó que con el maíz se consigue el mayor porcentaje de etanol, siendo este del cuarenta (40%), el mango con un porcentaje del veinte (20%) y la uva con un porcentaje del uno punto tres (1.3%), concluyendo que la cantidad de azúcares del producto no tiene influencia en la obtención de etanol.

A pesar de esto, se prefiere escoger el mango como la biomasa del proyecto, por su comodidad en la adquisición del producto y su facilidad en la preparación de la mezcla, además, según estudios de la Universidad de Sucre, se pueden obtener entre sesenta y nueve (69) y ochenta y tres (83) litros de etanol por tonelada de mango, dependiendo de la concentración de grados Brix de las mezclas empleadas [4].

En la Fig. 1 se observa el proceso que sigue la biomasa seleccionada para la obtención de etanol, teniendo en cuenta que, en la etapa de triturado donde se adiciona el mango y el agua, también se añade azúcar:

Fig. 1. Proceso de fermentación del mango.



Fuente: Autor

En la selección del microorganismo responsable de la fermentación de la biomasa, fueron analizados diversos factores, porque a partir de levaduras, bacterias, hongos y algas se puede obtener etanol, debido a que son organismos capaces de transformar la glucosa en alcohol. A partir de la documentación realizada por el grupo de trabajo, se seleccionó como microorganismo responsable de la fermentación la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, al ser la levadura más utilizada en la industria para la obtención de etanol.

Para acelerar el proceso de fermentación se debe adicionar a la mezcla una cantidad considerable de azúcar, la cual contribuirá al proceso de crecimiento poblacional de las levaduras en un menor tiempo, por lo que al mosto se le agregó una cantidad de azúcar. Además, se adicionó a la concentración inicial agua hervida a 25°C, según las recomendaciones dadas por las personas del área de química quienes apoyaron la realización de este proyecto, esto con el fin de facilitar el proceso de destilación y que la levadura pueda obtener más fácilmente la glucosa presente en la biomasa al hacer el medio más acuoso.

Antes de iniciar la fermentación se le realiza un tratamiento a la fruta, primero se lavan bien los mangos y luego de forma manual se extrae la pulpa para posteriormente licuarla con una cantidad de agua y azúcar específica, luego se mezcla con la levadura disuelta y se implanta en el biorreactor, se sella y se espera un lapso de siete (7) días.

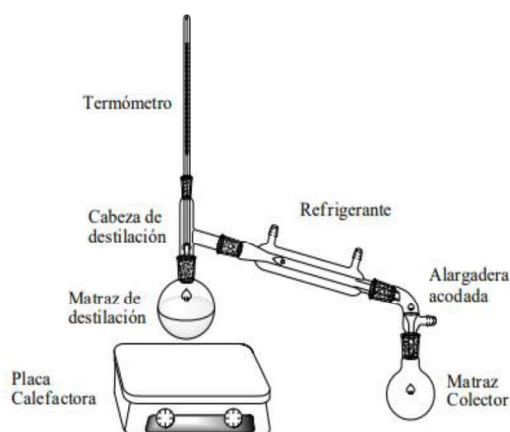
Al finalizar este periodo, se extrae el fermento por medio de la rejilla del reactor, donde se filtra para obtener la parte líquida de la mezcla y finalmente se lleva a un equipo de destilación para la obtención del etanol.

Como se mencionó anteriormente, la materia prima para la fermentación fue el mango, y la levadura utilizada fue *Saccharomyces cerevisiae*, la cual fue disuelta en agua tibia y añadida al licuado de mango preparado para fermentar en el reactor, con el fin de analizar su comportamiento con respecto a la producción de etanol bajo las condiciones planteadas. Al

terminar el proceso de fermentación en el reactor, se procede a realizar la destilación del fermento obtenido, debido a que la salida del reactor no es etanol directamente, sino que hace falta un proceso de destilación para poder obtenerlo separado de los demás productos presentes en la mezcla.

Se utilizó la destilación simple, es decir, que solo se realiza una vez la evaporación y condensación. A continuación, en la Fig. 2 se muestra un esquema básico de la destilación simple:

Fig. 2. Destilación simple.



Fuente: [5].

Esta destilación se usa normalmente para separar sólidos de líquidos, y mezclas de líquidos que tengan diferente temperatura de ebullición como es el caso de la destilación de etanol [5], sabiendo que el punto de ebullición del etanol es de 78,4°C, el cual es diferente al del agua 100°C y por este motivo es posible efectuar el proceso de separación de mezclas [6].

La destilación se llevó a cabo en un laboratorio de química de la Universidad Pedagógica y

Tecnológica de Colombia (UPTC), allí se adecuaron los instrumentos necesarios para el proceso y, durante aproximadamente tres horas, se controló la temperatura entre 75°C y 80°C hasta que se obtuvo todo el alcohol posible de cada muestra.

Para poder documentar el proceso de destilación es necesario medir la cantidad de grados Brix (°Bx) y la cantidad del fermento antes de la destilación. Los grados Brix miden el contenido de sacarosa que se encuentra en un líquido, por ejemplo, para 25°Bx se encuentran 25g de sacarosa por cada 100g de disolución [7]. En las muestras obtenidas se tiene un promedio de 1,36°Bx después de la destilación, 8°Bx grados antes de la destilación y 22°Bx antes de la fermentación.

Después de terminada la destilación, se debe medir nuevamente la concentración en °Bx y la cantidad del líquido destilado, esto con el fin de evaluar el rendimiento de cada una de las muestras diferentes en producción de etanol.

Desarrollo del trabajo

A. Diseño y construcción del reactor

Un reactor bioquímico es un artefacto en el cual ocurren diversas transformaciones químicas, entendiendo esto último como el proceso en el que ciertas sustancias se convierten en otras. Por su parte, el término bioquímico hace referencia a que este proceso es biológico, mientras que el término biorreactor involucra ambos aspectos, al ser un sistema que

mantiene las condiciones ambientales pertinentes para el cultivo de un microorganismo, controlando factores que intervengan en el proceso, como lo es la temperatura.

Para la producción de etanol, según el libro de Ingeniería Bioquímica [8], se debe tener: un microorganismo adecuado para el proceso, un sustrato y un ambiente con las condiciones favorables para la fermentación del producto. De este modo, el ambiente es el reactor diseñado e implementado en este proyecto, el cual es un reactor discontinuo tipo Batch, seleccionado a partir de la documentación realizada.

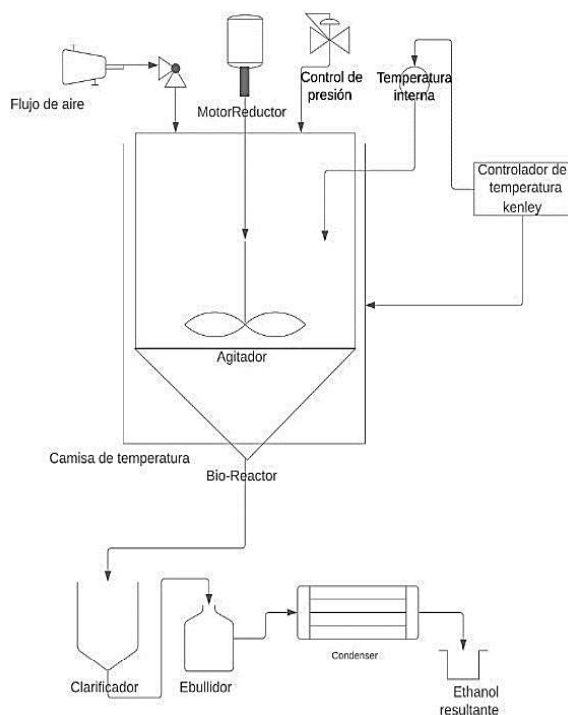
Este tipo de reactor es utilizado para fermentación, y en él se implanta el microorganismo en conjunto con el sustrato que se va a procesar, sin intervención directa en la cantidad de la población microbiana ni en la concentración, y sin intervención en el medio, dado que esto afectaría al proceso en su ejecución, sin embargo, se monitorean y se modulan las condiciones ambientales del reactor, obteniendo así un modelo sencillo e igualmente válido para el sistema.

Cabe resaltar que no se presenta un flujo en el reactor, puesto que la concentración inicial se dispone en el reactor, y se mantiene allí hasta que es retirada luego de haberse cumplido su periodo de fermentación, bajo condiciones controladas y monitoreadas, las cuales son la temperatura, la presión, la agitación y la cantidad de oxígeno en el reactor en la etapa de crecimiento del microorganismo.

El diseño del reactor bioquímico para producción de etanol por fermentación de biomasa de desecho, consiste en un recipiente de acero inoxidable, el cual fue elaborado a partir de este material con el fin de evitar liberación de impurezas y por su gran característica de transmisión de calor, manteniendo un ambiente controlado fuera de interacciones del ambiente y garantizando las condiciones adecuadas para que la reacción se lleve a cabo de manera óptima.

En la Fig. 3 se observa el diseño que se tuvo en cuenta para la construcción del reactor con sus partes claramente definidas, tales como: flujo de aire (inyección de oxígeno), motorreductor y agitador (agitación constante), control de presión (regulador de CO₂), temperatura interna y camisa de temperatura (sistema de control de temperatura), así como las partes correspondientes al proceso de destilación del producto obtenido a la salida del reactor.

Fig. 3. Proceso de obtención de etanol por fermentación en el reactor bioquímico.



Fuente: Autor

En la Fig. 4 se muestra el recipiente construido, el cual es un reactor de tipo Batch discontinuo como se mencionó anteriormente, el cual posee dos válvulas, una para la extracción del CO₂ liberado en la reacción y otra para la inyección de oxígeno, con el fin de conservar las condiciones ambientales propicias para la fermentación. Además, el reactor posee un agitador que asegura que todos los componentes de la reacción se mezclen de manera uniforme, y que se mantenga la misma temperatura en toda la mezcla.

Fig. 4. Reactor para fermentación de biomasa (vertical).



Fuente: Autor

Como se puede observar, el reactor tiene forma cilíndrica y termina en un cono cortado mediante una rejilla con tapa, para liberar el líquido derivado de la reacción que será posteriormente destilado. El reactor tiene treinta centímetros (30 cm) de alto en su parte cilíndrica, y otros diez centímetros (10 cm) conforman su parte cónica, para un total de treinta y siete centímetros (37 cm) de alto de manera vertical como en la figura anterior.

El diámetro de la tapa superior es de veinticinco centímetros (25 cm) y el de la tapa inferior es diez centímetros (10 cm). Se observa también que el reactor posee aseguradores para cada una de las tapas, y de esta forma se tiene un recipiente completamente sellado, añadiendo a la tapa un empaque y masilla Rally para asegurar hermeticidad y presión dentro del recipiente.

El volumen del reactor es de dieciséis mil quinientos diez centímetros cúbicos (16510cm³), y se calcula tomando los valores de las diferentes dimensiones del reactor. Debido a que se tiene una parte cilíndrica y otra cónica,

estos volúmenes se deben encontrar por separado y luego sumarse.

Para la parte cilíndrica se tiene, que el volumen de un cilindro se puede calcular a partir de (1):

$$V_{cilindro} = \pi * r^2 * h \quad (1)$$

Donde se conoce el valor del radio del cilindro que es igual a doce puntos cinco centímetros (12.5 cm), y se conoce la altura que es equivalente a treinta centímetros (30 cm). Se obtiene así un volumen para la parte cilíndrica equivalente a catorce mil setecientos veintiséis centímetros cúbicos (14726 cm³).

Posteriormente, con (2) se realizan los respectivos cálculos trigonométricos para la parte cónica del reactor, de esta forma por medio de los ángulos se puede proyectar un cono más grande al que se tiene, es decir, sin cortar, y se le quita la parte que no corresponde.

$$V_{cono} = \frac{\pi * r^2 * h}{3} \quad (2)$$

Ahora bien, dentro de las condiciones que favorecen la fermentación la variable principal a tener en cuenta para su control es la temperatura, por esta razón, el reactor cuenta con un dispositivo marca Kenley, el cual es el encargado de medir y regular la temperatura utilizando una sonda que permite conocer la temperatura en el ambiente donde se ubique, y mediante la comparación con el valor de

referencia definido se modifica para establecerse en el valor deseado, por medio de una camisa térmica que funciona como actuador, modificando la temperatura dependiendo del valor preestablecido que se requiere para el adecuado proceso de fermentación.

Como se puede observar en la Fig. 5, la camisa térmica se ubica alrededor del reactor para asegurar la temperatura interna deseada:

Fig. 5. Camisa térmica alrededor del reactor.



Fuente: Autor

Una vez se establece la temperatura que se quiere alcanzar, el termostato empieza a calentar la camisa hasta llegar al valor deseado y en ese momento deja de elevar la temperatura manteniéndola constante en el valor fijado, el cual es posible visualizar en grados Celsius o Fahrenheit, según sea la preferencia del usuario. En este caso, el valor de temperatura deseado es de treinta grados centígrados (30°C), el cual se determinó a partir de la teoría investigada acerca de la temperatura óptima en la que se desarrolla la población de levaduras para una buena fermentación.

El sistema de control de temperatura, el cual se puede apreciar en la Fig. 6, se compone de tres partes fundamentales: termocupla, termostato y camisa térmica.

Fig. 6. Sistema de control de temperatura del reactor.



Fuente: Autor

De acuerdo con la documentación realizada y observando los parámetros requeridos para este tipo de reactor, se requiere un agitado constante en la mezcla, de esta forma se asegura que las levaduras consuman todo el contenido del mosto con sus diferentes nutrientes, por esta razón, se debe tener en cuenta que el agitador tenga una forma adecuada para revolver la mezcla en su totalidad.

Como se observa en la Fig. 7, el agitador se construyó en forma de aspa con múltiples platinas de acero inoxidable de dos centímetros (2 cm) de ancho y calibre dieciséis (16), con diferentes medidas de largo, entre dos centímetros (2 cm) y once centímetros (11 cm), sujetas a una varilla del mismo material y calibre. Se disponen dos platinas de la misma medida y a la misma altura de la varilla, de forma perpendicular con un ángulo de ciento ochenta grados (180°) entre ellas, con una separación de

tres centímetros (3 cm) entre platinas, hasta llegar a una altura de veinticuatro centímetros (24 cm) en la varilla.

Fig. 7. Agitador del reactor tipo Batch.



Fuente: Autor

Para producir el movimiento del agitador existen varios tipos de motores que es posible utilizar, sin embargo, este movimiento debe ser lento, constante y con la suficiente fuerza para mover el aspa que compone el agitador, por lo tanto, se descartan directamente los motores caracterizados por tener altas revoluciones y poco torque.

Los motores paso a paso se consideraron como opción, al cumplir con los requerimientos mencionados anteriormente, puesto que dan la posibilidad de controlar su giro y de esta forma proporcionar una velocidad lenta, además existen modelos de este tipo de motores que ofrecen suficiente torque para generar el movimiento del agitador de manera constante, sin embargo, como se requiere un sistema de control adicional para este tipo de motor y su costo se incrementa a medida que aumenta el torque, el cual es fundamental para realizar el movimiento debido a que el aspa es pesada, se determina que los motores paso a paso no son

la opción más adecuada para lo que se necesita.

Por último, se analizó el comportamiento de los motorreductores, quienes poseen las características necesarias para que el agitador funcione de la manera deseada, con el fin de generar una distribución uniforme en la mezcla, y solo requieren alimentación por parte de una fuente DC, así que se seleccionó un motorreductor de doce kilogramos por centímetro (12 kg/cm) a diez revoluciones por minuto (10 RPM).

Este motor se alimenta por medio de un cargador marca Techman, el cual es un adaptador inteligente que varía entre múltiples voltajes, como lo son doce voltios (12V), nueve voltios (9V), siete punto cinco voltios (7.5V), seis voltios (6V), cuatro punto cinco voltios (4.5V) y tres voltios (3V), teniendo en cuenta que cada una de estas salidas puede entregar hasta 1200mA, según la etiqueta de información que proporciona el cargador, siendo este amperaje suficiente para producir el movimiento deseado.

Por otra parte, para el crecimiento de las levaduras se requiere la presencia de oxígeno, por lo que el reactor cuenta con un sistema capaz de inyectar aire dentro del recipiente, teniendo como premisa que el aire contiene un porcentaje definido de oxígeno. Es importante mencionar, que la inyección de oxígeno se realiza únicamente en la etapa de crecimiento de la levadura, puesto que la producción de etanol está ligada a esta primera parte de la fermentación, en la que la levadura inicia un proceso de proliferación en el medio que llegará a su pico de crecimiento cuando sea

deficiente en el medio la cantidad de ATP, el cual es el compuesto químico fundamental en la obtención de energía.

Para conocer la cantidad de aire que ingresa al sistema por medio del oxigenador, se hace uso de un medidor de flujo de aire que muestra la cantidad de aire que se le inyecta al reactor en litros por minuto (Lpm). El sistema de inyección de oxígeno al reactor se puede apreciar en la Fig. 8:

Fig. 8. Sistema de inyección de oxígeno al reactor.



Fuente: Autor

Con la introducción de aire al sistema se asegura que el reactor tenga una cantidad suficiente de oxígeno, y se aseguran también condiciones adecuadas en el ambiente para el crecimiento de las levaduras. En la tabla 1 se enuncian algunos de los componentes presentes en el aire, donde se puede apreciar la cantidad de oxígeno que se tiene en el aire que va a ingresar al sistema:

Tabla 1. Componentes presentes en el aire.

Elemento	Volumen (%)
Nitrógeno	78.09
Oxígeno	20.95
Argón	0.93
Dióxido de carbono	0.3

Fuente: [9]

Otro factor importante a tener en cuenta es la presencia de dióxido de carbono generado por el proceso de fermentación, el cual modifica la presión existente en el reactor, sin embargo, los sensores de dióxido de carbono presentan un elevado costo en el mercado, por lo que para esta parte solo se realiza un monitoreo de la presión y la cantidad de CO₂ que se tiene mediante un regulador de CO₂ marca Wynn para presión variable, que posee dos manómetros disponibles para medir la presión interna y la externa.

Además del monitoreo, se cuenta con una válvula que permite la extracción del CO₂ garantizando un ambiente sin excesos de este gas para el cultivo adecuado del microorganismo y su fermentación. En la Fig. 9 es posible apreciar el sistema utilizado para el monitoreo de la presión:

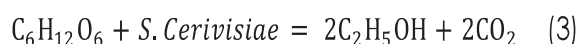
Fig. 9. Regulador de CO₂ utilizado para el sistema de control de presión.



Fuente: Autor

B. Fase de pruebas

Teniendo presente que la fermentación para obtención de alcoholes es una reacción que transforma los azúcares (glucosa) en alcohol, y como subproducto de la reacción se libera dióxido de carbono, se procede a realizar la fase de pruebas teniendo en cuenta la ecuación de balance químico (3):



Glucosa Levadura Etanol Dióxido de carbono

Aproximadamente se produce un grado (1 g) de alcohol por cada diecisiete (17 g) gramos de azúcar contenidos en el mosto, siendo las levaduras las principales responsables de esta transformación. La *Saccharomyces cerevisiae* es la especie de levadura usada con más frecuencia, y es la que se utiliza para el presente proyecto de la marca LALVIN, la cual ofrece una levadura especial para vinos espumosos garantizando la calidad en la fermentación que se realiza. Por su parte, el agua favorece la actividad de la levadura, debido a que necesita que la glucosa se encuentre disuelta para facilitar su obtención y sobre todo favorece su movilidad en el medio, es decir, la levadura necesita que su alimento esté disuelto en el agua para poderlo asimilar.

Inicialmente se tienen cantidades altas de grados Brix en la pulpa fresca, y al agregar agua se reduce este valor. Es posible determinar los grados Brix iniciales y finales de una disolución, teniendo en cuenta la cantidad de agua que se añade, y su incidencia en la mezcla.

Por ejemplo, para una disolución de mil quinientos centímetros cúbicos (1500 cm³) se necesitan aproximadamente mil treinta y seis centímetros cúbicos (1036 cm³) de pulpa y doscientos veintiún centímetros cúbicos (221 cm³) de agua, con catorce y medio grados Brix (14.5°Bx) iniciales y ocho grados Brix (8°Bx) de concentración luego de agregar el agua, según los estudios realizados por la Universidad de Sucre [4].

Con las consideraciones anteriores, es posible calcular las cantidades de pulpa, agua y concentración para realizar la disolución que se utilizará en la fermentación, e identificar la cantidad de cada sustancia del mosto para tener un mejor comportamiento.

Gracias a la cantidad de azúcares presentes en el mango colombiano, equivalente a dieciséis gramos (16.2 g) por cada cien gramos (100 g) de fruta fresca [10], el proceso de fermentación se facilita, puesto que los microorganismos tienen más cantidad de azúcar para convertir en alcohol, no obstante, se añade azúcar a la mezcla para potencializar el efecto.

De este modo, teniendo en cuenta las características necesarias para realizar la fermentación, se hacen diez (10) muestras diferentes variando la cantidad de azúcar adicional y conservando constantes la cantidad de pulpa de mango y de agua. Algunas muestras se observan en la Fig. 10, y con ellas lo que se pretende es ver el comportamiento de la mezcla a diferentes cantidades de azúcar, y determinar cuál es la concentración inicial adecuada.

Fig. 10. Fermentación casera para la selección de la concentración.



Fuente: Autor

Se dispuso en cada una de las muestras el mismo porcentaje de levadura, la misma cantidad de agua, al igual que de pulpa de mango, puesto que estos factores no generan variaciones significativas en la mezcla, sino que la sustancia varía de forma más notoria con respecto a la cantidad de azúcar, por lo que este parámetro es el que cambia.

En la tabla 2 se exponen las dosis de cada sustancia en cada una de las pruebas, donde Mango hace referencia a la cantidad de pulpa utilizada ya licuada con agua en cantidades iguales, y Agua es la cantidad utilizada para disolver la levadura, teniendo en cuenta que siete gramos (7 g) de levadura de uso casero se disuelven en aproximadamente ciento dieciocho mililitros (118 ml) de agua tibia, con cinco gramos (5 g) de azúcar.

Tabla 2. Cantidades de cada sustancia en las pruebas de concentración.

Prueba (#)	Azúcar (g)	Mango (ml)	Agua (ml)	Levadura (g)
1	0.6	150	40	2.5
2	1.25	150	40	2.5
3	2.25	150	40	2.5
4	10	150	40	2.5
5	15.5	150	40	2.5
6	16.25	150	40	2.5
7	17.5	150	40	2.5
8	20	150	40	2.5
9	27.5	150	40	2.5
10	30	150	40	2.5

Fuente: Autor

Después de obtener las muestras de las fermentaciones caseras y hacer un análisis detallado del proceso fermentativo, se determinó que la cantidad correcta de azúcar para la mezcla es la de treinta gramos (30 g) por cada doscientos veintidós mililitros (222 ml) de mezcla aproximadamente, obteniendo en la destilación un veinte por ciento (20%) de alcohol, por lo tanto, en las pruebas directamente en el reactor se utilizaron estas cantidades para la concentración del mosto.

Por otra parte, es indispensable establecer la duración adecuada para la fermentación, para ello, se hicieron diversas pruebas documentando el crecimiento del reactante (levadura *Saccharomyces Cerevisiae*) con respecto al reactivo (mosto de mango, por medio de un registro fotográfico de este proceso, y en este punto fue posible identificar que a los cuatro días de la fermentación ya se tiene una buena cantidad de etanol.

A lo largo de las pruebas se identificaron dos etapas en el proceso de fermentación: la primera constituye el proceso de crecimiento de las levaduras que consta de los tres primeros días, y la segunda hace referencia a la conversión masiva de hidratos de carbono en etanol por la ausencia de oxígeno. A continuación, se muestra la documentación realizada del proceso de fermentación:



A

B

C



D E F G

A. Inicio del proceso de fermentación: En esta etapa se realiza la mezcla del con la levadura es el punto de partida del proceso fermentativo. El cultivo de levaduras es implantado en el reactor junto con la biomasa preparada, quienes en conjunto forman el mosto con condiciones apropiadas para una buena fermentación.

B. Fermentación después de dos (2) horas: A partir de las dos horas siguientes al inicio de la fermentación del mosto, se nota el crecimiento de la levadura en el entorno del mosto con una temperatura constante de treinta grados centígrados (30°C), el olor se mantiene neutro pero el color del mosto varía a un tono más claro que el que se presenta al inicio de la fermentación, y se pueden notar pequeñas proliferaciones de la levadura en el ambiente del mosto.

C. Fermentación después de cuatro (4) horas: En esta etapa se nota como la levadura ha crecido de una manera exponencial en muy poco tiempo, se puede decir que la levadura se ha proliferado por todo el mosto formando una capa en la

parte superior, donde el color de la mezcla se ha tornado de un tono amarillo, y el olor de la mezcla es un poco más ácido que el de las anteriores etapas. Es importante resaltar, que la cantidad de CO₂ liberado ha sido mayor por el crecimiento de la levadura, como lo explica la teoría.

D. Fermentación después de ocho (8) horas: Se nota como la levadura torna el color de la mezcla en un tono más oscuro, también se torna más densa puesto que su proceso de crecimiento no ha culminado, observando una capa aún más gruesa en la parte superior, el olor de la mezcla se torna aún más característico a alcohol, debido a la descomposición que está presentando.

E. Fermentación después de veinticuatro (24) horas: En esta etapa se nota como la levadura cambia las características del mosto, puesto que ha desplazado el agua al fondo del biorreactor y la parte fibrosa de la mezcla se ha quedado con ella en la parte superior. Es importante destacar, que el proceso ha liberado una cantidad de CO₂ que no modifica considerablemente la presión del reactor, y que su olor característico empieza a ser más fuerte.

F. Fermentación después de cuarenta y ocho (48) horas: En esta etapa se observa cómo el proceso de crecimiento de la levadura se ha estabilizado de cierta forma, aunque el cultivo sigue creciendo paulatinamente, puesto que no se nota un cambio en el volumen de la mezcla, además se tornan algunas partes de la mezcla con un leve color blanco y su olor se mantiene característico de la fermentación igual a la etapa anterior.

G. Fermentación después de setenta y dos (72) horas: Se nota como la levadura empieza su proceso de conversión de los hidratos de carbono en alcohol de una forma masiva, puesto que la ausencia de oxígeno permite que se genere etanol y no se continúe con el proceso de crecimiento de la levadura. Hay un cambio notable en la coloración de las levaduras tornándose de tonos cafés y blancos, además se observa cómo se ha separado el líquido de la parte sólida de la mezcla, y persiste el olor característico a alcohol. En este punto ya es posible obtener cierta cantidad de etanol, sin embargo, con el fin de conseguir mejores resultados se espera un día más para retirar el fermento y proceder a la destilación.

A través de la serie de pruebas realizadas, se observa que a una mayor concentración de azúcares se obtiene un mejor rendimiento en la producción de etanol, a partir de la pulpa de mango. En la Fig. 11 se observa la muestra de mejor rendimiento, la cual duró catorce (14) días en fermentación, fue clarificada, filtrada y finalmente se procedió a destilarla, logrando cerca del treinta por ciento (30%) de porcentaje de etanol presente en el líquido obtenido. Sin embargo, cabe resaltar, que los días posteriores a los primeros siete días del proceso de fermentación, bajo condiciones controladas, no se presenta un aumento significativo en la cantidad de etanol, como sí ocurre en el primer periodo de tiempo mencionado.

Se realizó un experimento adicional con cantidades iguales de cada una de las muestras, se mezclaron todas y luego se hizo el mismo procedimiento de clarificado, filtrado y

destilado, obteniendo un dieciocho por ciento (18%) de alcoholes en ella.

Fig. 11. Muestra con mejor rendimiento.



Fuente: Autor

Resultados

En la Fig. 12 se observa el reactor bioquímico construido:

Fig. 12. Reactor bioquímico para producción de etanol por fermentación de biomasa de desecho.



Fuente: Autor

Como resultado se obtuvieron muestras de etanol después de realizar el respectivo proceso de destilación, posterior a la fermentación del mosto de mango realizada en el reactor, debido

a que, como se ha mencionado a lo largo del presente trabajo, la obtención de etanol se hace a partir de dos procesos: fermentación alcohólica y destilación.

Al iniciar el proyecto, se realizó una consulta acerca de la fermentación casera y fermentación industrial, para poder llevar a cabo pruebas iniciales y conocer a fondo el proceso químico que interviene. Se realizó la consulta acerca de conceptos como biomasa, proceso de fermentación alcohólica, proceso de obtención de etanol, desechos orgánicos susceptibles a cambios por azúcares, tipos de microorganismos implícitos en la fermentación, tipos de destilación, entre otros.

Inicialmente se escogió el desecho de mango, uva, mucílago de cacao y maíz. pero se encontró información en artículos de investigación acerca de la obtención de etanol donde el mango representa una buena opción debido a la cantidad de azúcar presente en el fruto.

Posteriormente, al tener más información acerca de la fermentación alcohólica, se realizaron pruebas teniendo en cuenta la cantidad de azúcar en muestras diferentes y el tiempo de fermentación, además se realizaron dos etapas adicionales, las cuales son filtrado y clarificación de la muestra. El filtrado se realizó debido a que las primeras pruebas eran muy densas y no se podía condensar rápidamente en la destilación, y la clarificación de la muestra se realizó debido a la recomendación hecha por los químicos que aportaron ideas al proyecto, donde recomendaron destilar sólo la parte menos densa de cada muestra debido a

la concentración de alcoholes en dicha parte del fermento.

Al momento de obtener la fermentación de las mezclas, no se sabía el porcentaje de alcoholes presentes en cada tratamiento, por lo tanto, luego llevar a cabo el proceso de destilación, fue necesario utilizar un refractómetro, así pues, se realizaron las destilaciones de las primeras pruebas y su respectiva verificación por medio del instrumento de medición mencionado. De estas pruebas se esperaba obtener etanol, sin embargo, se obtuvo ácido acético concluyendo que el tiempo de fermentación alcohólica se excedió, el cual fue de más de 20 días.

En las siguientes pruebas realizadas se tuvo precaución con el tiempo de la fermentación y se aseguraron las condiciones planteadas a lo largo del presente trabajo, obteniendo un fermento adecuado en poco tiempo y en condiciones apropiadas para destilar, así que se procedió a la destilación y posteriormente a través del refractómetro se midió el porcentaje de alcoholes y los grados Brix de cada muestra obtenida.

Para comprobar la obtención de etanol en el proceso, se investigó sobre la forma de verificación de esta sustancia. Una de las formas más convenientes y más rápidas, es prender fuego y observar el color de la llama generada por la combustión, el cual es el proceso denominado espectroscopia, en donde esta llama debe ser de color azul si hay presencia de etanol [11]. Este experimento fue realizado con las últimas muestras recogidas y el resultado fue

el esperado, una llama de color azul como se muestra en la Fig. 13:

Fig. 13. Identificación del etanol.



Fuente: Autor

Este proyecto, además de su finalidad en la obtención del etanol, de manera implícita tiene como propósito la recuperación de materiales de desecho, labor que se ha venido trabajando en los últimos años en proyectos de diferentes temáticas, pero con esta intención común [12].

Conclusiones

El ambiente controlado que está presente en el biorreactor, favorece el proceso fermentativo, logrando así que al cuarto día de haber iniciado la fermentación se tenga una buena cantidad de etanol proveniente del mosto, gracias a las condiciones del ambiente controlado que hacen que el proceso tarde menos de lo esperado.

Para un óptimo cultivo de levaduras se debe tener una temperatura de veintiocho (28°C) a treinta y dos (32°C) grados centígrados, según el tipo de microorganismo que se desee cultivar, puesto que con este rango de temperatura la

eficiencia en el proceso fermentativo de la biomasa incrementa en un 50%, además, es importante extraer el dióxido de carbono generado por la reacción química, e inyectar oxígeno al sistema en la etapa de crecimiento, porque al aumentar la cantidad de oxígeno presente en el ambiente del reactor aumenta la cantidad de microorganismos presentes en la mezcla, logrando una generación de etanol entre veinte por ciento (20%) y treinta por ciento (30%) del porcentaje del fermento obtenido.

La etapa de mayor importancia y atención en el proceso de fermentación son los primeros tres (3) días, siendo el periodo en el que se evidencia que hay una transformación más notoria del mosto, debido a que es la etapa de crecimiento poblacional de las levaduras, y es donde se debe llevar el mayor control de todas las condiciones favorables para el proceso.

También es importante tener en cuenta, que debe llevarse un control en el agitador de la mezcla dado que este debe tener una velocidad constante durante el tiempo de fermentación, al favorecer que la mezcla se encuentre uniforme y sobre todo ayuda a que los microorganismos adquieran más fácilmente los hidratos de carbono del mosto. De igual forma, facilita la extracción del CO₂ y disolución del aire en el ambiente del biorreactor.

De igual forma, fue posible determinar que los grados Brix en la mezcla no influyen en la cantidad de etanol que se puede extraer a partir de la fermentación de la biomasa, debido a que estos solo aceleran el proceso de fermentación, ayudando a que el crecimiento de las levaduras sea abundante, pero no

intervienen directamente en la cantidad de etanol que se obtiene. En cuanto a la concentración, es importante agregar suficiente agua al mosto para facilitar su destilación, puesto que si el mosto no tiene un contenido de agua apto el proceso de destilación tiene una duración mayor y la evaporación del etanol es más lenta.

Referencias

- [1] Martínez, R., García, T., Puig, A., Mauricio, J., and Moreno, J. (2017, December 15). "Changes in sparkling wine aroma during the second fermentation under CO₂ pressure in sealed bottle", vol. 237, pp. 1030-1040. Retrieved June 18, 2019, from
- [2] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617310488>
- [3] Contreras, C., and Del Campo, M. (2014). "Productos de la fermentación alcohólica; un beneficio para la salud". Retrieved June 18, 2019, from
- [4] <https://pdfs.semanticscholar.org/2002/e866bbc73e110156c07624b2353c0a891788.pdf>
- [5] Seijas, A. (2005). "Destilación. Determinación del grado alcohólico del vino". Retrieved July 10, 2019, from
- [6] http://guayanaweb.ucab.edu.ve/tl_files/ingenieria_industrial/files/laboratorios/Semana%20N%203pract_03_dest_vino.pdf
- [7] Martínez, D. (2008). "Simulación y diseño de una planta productora de bioetanol a partir de mango "hilaza" (Mangifera indica l) en el departamento de Sucre". Retrieved June 15, 2019, from
- [8] <https://repositorio.unisucre.edu.co/bitstream/001/282/2/620.0042M385.pdf>
- [9] Universidad de Zaragoza. "Destilación". Retrieved July 10, 2019, from
- [10] https://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-experimentales/tecnicas-basicas-de-laboratorio-quimico/teoria/Destilacion_teoría.pdf
- [11] Ecured. "Etanol". Retrieved July 10, 2019, from <https://www.ecured.cu/Etanol>
- [12] Equipos y laboratorio. "Qué son los grados Brix". Retrieved July 10, 2019, from
- [13] https://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=1303
- [14] Ramírez, R. Q. (1981). Ingeniería Bioquímica, teoría y aplicaciones. Alhambra Mexicana.
- [15] Gálvez, F. J., López, R., Llopis, A. and Rubio, C. (1998). "Física: curso teórico-práctico de fundamentos físicos de la ingeniería" p. 456. Retrieved July 10, 2019, from Google Books.
- [16] Correa, C. "Riqueza química del mango". Retrieved June 18, 2019, from
- [17] <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/download/1506/1378/>
- [18] Ramón, L. (2017). "Identificación del metanol y etanol". Retrieved July 10, 2019, from
- [19] https://issuu.com/leidyramon0/docs/pruebas_de_identificacion_para_etan
- [20] González, Y. (2016). "Propiedades mecánicas de un compuesto polimérico hecho de polietileno de baja densidad reciclado y reforzado con fibras de madera natural". Revista Ingenio Magno Vol. 6.