

**UNA COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE EFICIENCIA DE FERMENTACIÓN
CALCULADOS POR BALANCE DE MASAS Y SUBPRODUCTOS**

**A COMPARATIVE OF FERMENTATION EFFICIENCY RESULTS CALCULATED
BY MASS BALANCE AND SUB PRODUCTS**

Celso Caldas

Instituto Federal de Educación, Ciencia y Tecnología de Alagoas - Brasil

celso@centralanalitica.com.br

RESUMEN

Uno de los principales criterios para la evaluación de los procesos de fabricación de etanol combustible es la eficiencia de la fermentación, lo que indica la cantidad de azúcar transformado efectivamente en etanol por la acción de la levadura. Tradicionalmente esta eficiencia siempre se calculó sobre la base propuesta por Gay Lussac, también llamado rendimiento del balance de masas. Sin embargo, debido a la introducción de fermentación continua y grandes volúmenes de cubas en destilerías modernas, lo que dificulta sus mediciones, esta eficiencia ha sido también calculada a partir de las pérdidas existentes en las fermentaciones, es decir, en la producción de ácidos y glicerol; azúcar utilizado para la reproducción celular y finalmente en el azúcar residual. En este trabajo realizado en una destilería ubicada en el Estado de Minas Gerais - Brasil, se presentan los resultados comparativos calculados diariamente durante un período de 03 meses. Los promedios finales mostraron una disminución de 2,80 puntos porcentuales (equivalentes al 3,2%) en la eficiencia calculada por subproductos. El valor promedio de 87,78% obtenido por el cálculo de los subproductos es más consistente que el 90,58% obtenido por balance de masa, en función de las condiciones de fermentación. El estudio muestra que para las fermentaciones continuas o en cubas con grandes volúmenes, el cálculo de los subproductos es el más apropiado, así como este cálculo permite un mejor control de los parámetros de la fermentación.

Palabras clave: eficiencia de la fermentación; balance de masa; subproductos

Key words: Fermentation efficiency; mass balance; byproducts

INTRODUCCIÓN

Todos los días en la industria de la producción de alcohol se calculan los parámetros de desempeño que sirven para promover la mejora técnica y el aumento de la producción industrial. Estos parámetros pueden ser globales o sectoriales. El indicador global que se utiliza en la mayoría de las destilerías es la Eficiencia Global de la Industria (EGI), que se basa en el total de azúcares reductores –ART convertidos al alcohol, y los rendimientos L de etanol/tonelada de caña y L de etanol/t de miel. De los indicadores sectoriales se destaca la eficiencia de la fermentación, sobre todo porque en este sector es que se suceden las mayores pérdidas de azúcar en todo proceso industrial. En las destilerías en Brasil la eficiencia de fermentación se calculan a partir de dos métodos: (1) de balance de masas y (2) subproductos.

La eficiencia de la fermentación, expresada en porcentaje, puede ser entendida como la cantidad de azúcar convertida en alcohol. Teniendo en cuenta las pérdidas existentes en la fermentación, estas eficiencias teóricamente nunca puede ser superior a 100 (cien). Las pérdidas se pueden clasificar en química, mecánica y microbiológica.

Las pérdidas químicas se producen principalmente en la adición de ácido sulfúrico para el tratamiento de la levadura. La causa de esta pérdida es la adición de ácido concentrado causando oxidación de los microorganismos. Las pérdidas mecánicas se producen por escapes en las bombas y los intercambiadores de calor de vino, además de la pérdida de la levadura en la centrifugación de vino crudo y de lavado de los gases. Finalmente, las pérdidas microbiológicas se registran en exceso o falta de nutrientes mediante la reducción de la viabilidad celular; producción de glicerol y la producción de ácidos.

Para calcular la eficiencia de fermentación por balance de masas, a más de los análisis químicos, los volúmenes de mosto, vino y fermento hacen de este cálculo con un alto margen de error que surge de las dificultades de la medición de estos volúmenes. Destilerías actuales en Brasil tienen sus cubas con volúmenes de hasta 2.000.000 L. Además de los grandes volúmenes de cubas, la espuma formada durante la fermentación interfiere en estas mediciones y indirectamente en resultados de la eficiencia. Estos hechos explican las muchas inconsistencias en los resultados e incluso por encima del 100%. La ecuación para el cálculo se basa en la transformación del azúcar en alcohol, con descuento del alcohol en lo fermento reciclado, ya que el proceso de fermentación utilizado en las destilerías de Brasil es Melle-Boinot que recupera la levadura mediante centrifugación. Por lo tanto, la ecuación utilizada para este cálculo es como sigue:

$$EF = [((V_m - V_f) \times \text{°GL}_v) - (V_f \times \text{°GL}_f)] / V_m \times \% \text{ART} \times 0,6475 \times \text{densidade}$$

Donde:

V_m - volumen de mosto

V_f - volumen de levadura

GL_v - grado alcohólico del vino

GL_f - contenido de alcohol de la levadura

ART - total de azúcares reductores en el mosto

Otro método de cálculo de la eficiencia de la fermentación utilizado en destilerías de Brasil, principalmente en procesos de fermentación continuos y con volúmenes de cubas en exceso de 500.000 L, es por subproductos. En este procedimiento se supone que el azúcar no se convierte en alcohol debido las siguientes razones:

- Fue utilizado por la levadura para reproducirse, siendo cuantificada por su relación con la pérdida de la levadura en el vino, que se determinan por centrifugación;
- Se convirtió en glicerol;

- Se transformó en ácidos por la acción de microorganismos, principalmente bacterias productoras de ácido acético y láctico, que se determinan como acidez total;
- Por razones operativas no se convierten en etanol. Se miden como total de azúcares reductores residuales - ARRT

Para cada pérdida encima hay una ecuación y procedimientos recomendados para su reducción.

Siempre se requiere en la fermentación del etanol que hay producción de levadura, y esto se explica por la existencia de la muerte o las pérdidas de microorganismos. Es decir, la fermentación debe llevarse a cabo de tal manera que la producción de levadura se regula. Algunos factores son decisivos para estos (COPERSUCAR.): (1) el mantenimiento de la concentración de azúcares fermentables durante el periodo de llenado de las cubas. Cuanto mayor la concentración de azúcar, mayor será la producción de levadura; (2) el mayor tiempo posible llenar las cubas; (3) niveles constantes de nutrientes durante la fermentación. La mayor concentración de nutrientes, mayor es la producción de levadura; (4) niveles adecuados de etanol producido en la fermentación: por lo general un mayor contenido de alcohol que se encuentra en proceso de fermentación, la menor producción de la levadura; y (5) el tipo de levadura. La reducción de levadura de la pérdida dependerá de los procedimientos operativos establecidos de conformidad con los indicadores discutidos anteriormente, sin embargo, es evidente que la producción regular de la levadura depende de la tasa de consumo de azúcares y nutrientes, así como la producción de etanol.

Esta pérdida está representada por K_L y se calcula por la siguiente ecuación:

$$K_L = (F\%V_v * 0,33) / (^\circ\text{GLV}_c * 0,7893)$$

Donde:

$F\%V_v$ – porcentaje de la levadura del vino de cuba

$^\circ\text{GLV}_c$ – contenido de alcohol del vino centrifugado

En destilerías que se produce rutinariamente retirada de levadura, es decir, la producción de levadura seca, el cálculo de este indicador considera la producción de esta levadura y la fórmula de K_L se convierte en:

$$K_L = [(F\%V_v * 0,33) / (^\circ\text{GLV}_c * 0,7893)] + [\text{Levadura base seca (t) / etanol 100\% (m}^3)]$$

Cuando las células de levadura son sometidas a cambios en la presión osmótica, que es dependiente de la concentración de sales y azúcares en el mosto, protegerse a sí mismos siguiendo una vía bioquímica alternativa con producción de glicerol. Con esto, se mantiene el equilibrio redox del medio y hay menos producción de etanol. Por otra parte, la producción de glicerol también se asocia con la concentración de sulfito en el mosto. Este compuesto reacciona fácilmente con acetaldehído, que es uno de los intermediarios en el ciclo de la glucólisis. Su determinación en el vino fermentado puede ser espectrofotométricamente o por HPLC. El cálculo de este índice (K_G) viene dada por la ecuación:

$$K_G = G / (^\circ\text{GLV}_c * 0,7893)$$

Donde:

G –concentración de glicerol, en porcentaje, de vino centrifugado

La reducción de glicerol también depende de la velocidad de llenado de la cuba, pero especialmente la concentración de sólidos solubles en el mosto, o Brix, que debe permanecer constante durante la alimentación de la cuba. Por otra parte, la concentración de sulfito en el mosto debe ser el más bajo posible.

Otra pérdida es la producción de ácidos, de los cuales los más comunes son acético, láctico, butírico, succínico, propiónico y fórmico. La mayoría de estos ácidos es producido por las bacterias que viven de forma sinérgica con levaduras, de manera que si hay un aumento en las levaduras, sin duda aumentará en el número de bacterias. Afortunadamente bacterias son más sensibles que las levaduras, de tal manera que la producción de ácido se puede minimizar mediante la adición de biocidas o ácido sulfúrico incluso. Las levaduras son más tolerantes a pH bajo que las bacterias.

Para controlar esto hace un balance de los ácidos producidos durante la fermentación, y luego se cuantifica la acidez del jugo, el vino y la levadura, todo esto expresada en mg H₂SO₄/ L. El índice de K_{Ac} proporciona una indicación de la pérdida de azúcar debido a la formación de ácido y se calcula como sigue:

$$K_{Ac} = 1,837 * (AcVb - AcFt * (FVc/FFt) - AcM * (1 - (FVc/FFt))) / 789,3 * ((°GLVc/100) - (FVc/FFt) * (°GLFt/100))$$

Donde:

AcVb – acidez en vino crudo

AcFt – acidez em la levadura tratada

FVc – porcentaje de la levadura em el vino centrifugado

FFt – porcentaje de levadura em la levadura tratada

AcM – acidez del mosto

°GLVc – contenido de alcohol em el vino centrifugado

°GLFt – contenido de alcohol em la levadura tratada

Finalmente, el último subproducto se cuantifica el contenido residual de los azúcares reductores totales - ARRT expresado por el índice K_{ARRT}. Este es un parámetro difícil de cuantificar, pero por métodos cromatográficos y espectrofotométricos se miden bastante confiablemente. Son azúcares que pueden ser convertidos en alcohol, pero no lo fueron. Las principales y más comunes causas de la no conversión de estos azúcares son interrupción de la fermentación; falta de nutrientes para levaduras; alto contenido de alcohol al final de la fermentación; sedimentación acelerada de levadura y condiciones de agitación de la cuba. La fórmula para este cálculo es el siguiente:

$$K_{ARRT} = ARRT / (°GLVc * 0,7893)$$

Donde:

ARRT – concentración del total de azúcares reductores residuales, expresado como un porcentaje

Por último, con los índices de los subproductos, la eficiencia de la fermentación se calcula por la expresión:

$$EF = 100 / (1 + 1,19 * K_L + 0,50 * K_G + 0,51 * K_{Ac} + 0,51 * K_{ARRT})$$

Onde:

EF –eficiencia de la fermentación, em porcentaje.

En una destilería ubicada em el estado de Minas Gerais - Sudeste de Brasil, durante 03 meses se midieron todos los días las eficiencias de fermentación por los métodos de balance de masa y subproductos para toda la temporada. Los resultados y conclusiones de esta comparación se muestran em este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material utilizado en este estudio fueron muestras de mosto, de levaduras tratadas, vino crudo, vino centrifugado y el vino de cuba final de una unidad industrial localizada en el estado de Minas Gerais, Brasil. A excepción de muestras de la levadura tratada, todos los demás materiales fueron recogidos a través de muestreadores continuos fabricados por TESPRO. Las muestras fueron almacenadas en refrigeradores adaptados al sistema de muestreo. Los análisis se realizaron cada 2h (dos horas) de acuerdo con los métodos siguientes:

- Contenido de alcohol → densimetría electrónica
- Glicerol → cromatografía iónica
- Porcentaje de levadura → centrifugación
- Acidez → titulometría
- ARRT → cromatografía iónica

Los promedios diarios de estos parámetros se utilizaron para el cálculo de la eficiencia de fermentación por métodos de balance de masa y subproductos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la temporada promedios de eficiencia de la fermentación fueron:

- La eficiencia de la fermentación por balance de masa = 90,58%
- La eficiencia de la fermentación por subproductos = 87,78%

Es decir, se observó una diferencia de 2.80 puntos porcentuales para más cuando se utiliza el método de cálculo de balance de masa. Aunque esta diferencia puede parecer pequeña en comparación con un parámetro con tantas variables, observando el gráfico de la figura 01 se concluye que en unos pocos días de la cosecha, la diferencia fue realmente bastante significativa. También a través de la gráfica se puede observar que la eficiencia de la fermentación calculada por balance de masas muestra resultados muy altos, en algunos casos alcanza valores obtenidos sólo a escala de laboratorio, es decir, por encima de 95%.

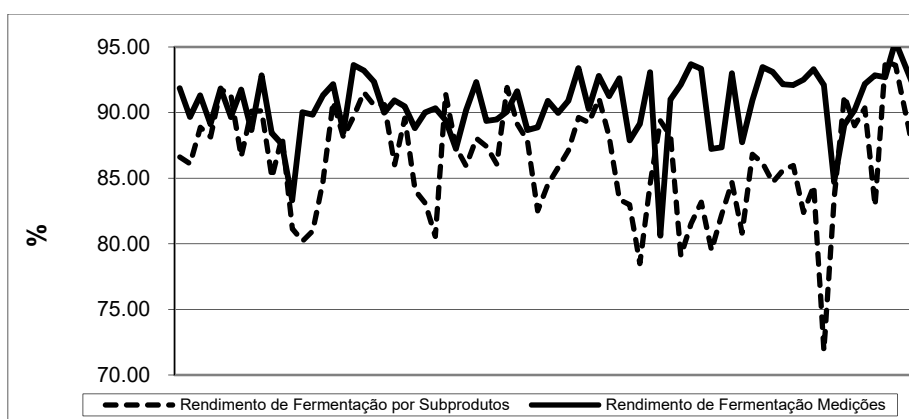


FIGURA 01 - Comparación de la fermentación calculada por balance de masa y subproductos

La variación más bajo en la eficiencia calculada por balance de masa se puede atribuir a los posibles ajustes de los volúmenes de mosto, de la levadura y del vino. Por otra parte, la eficiencia calculada por

subproducto mostró una mayor variación, que era de esperar, teniendo en cuenta los muchos factores que interfieren positivamente o negativamente en este cálculo, además que la fermentación es un proceso bioquímico. Incluso se observó que esta mayor variación diaria es más real porque esta destilería está unida a una fábrica de azúcar y puede trabajar con la composición de mosto sólo con caldo, sólo con miel o con mosto misto. Estas composiciones afectan a los resultados finales de la eficiencia de la fermentación. Por otra parte, la composición de la miel puede también afectar a los resultados de la eficiencia debida la concentración de sulfito y de azúcares reductores infermentescíveis.

Además de los resultados siempre inferior al 100% y de no necesidad de medir el volumen de mosto, de la levadura y del vino, el método de los subproductos se convierte en una excelente herramienta de gestión cuando los valores de índice "K" son acompañados como índices de las pérdidas. En el estudio se realizaron las correlaciones entre los índices de pérdida con datos de eficiencia de fermentaciones. En la Figura 02 se puede observar que las líneas de tendencia muestran que a medida que el aumento de las pérdidas de levadura, disminuir la eficiencia de la fermentación.

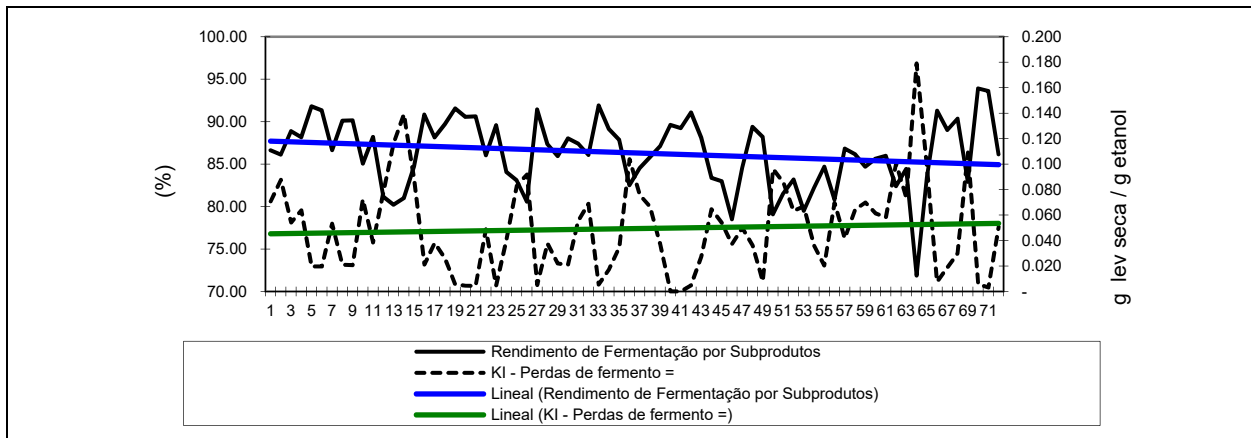


FIGURA02- Correlación entre las pérdidas de levadura (K_L) y la eficiencia de la fermentación

Como ocurrió con las pérdidas de levadura, la formación de glicerol en la fermentación también causa una reducción en la eficiencia. En el estudio se realizó la correlación entre la producción de glicerol y la eficiencia. Las líneas de tendencias muestran en la Figura03 este comportamiento inverso.

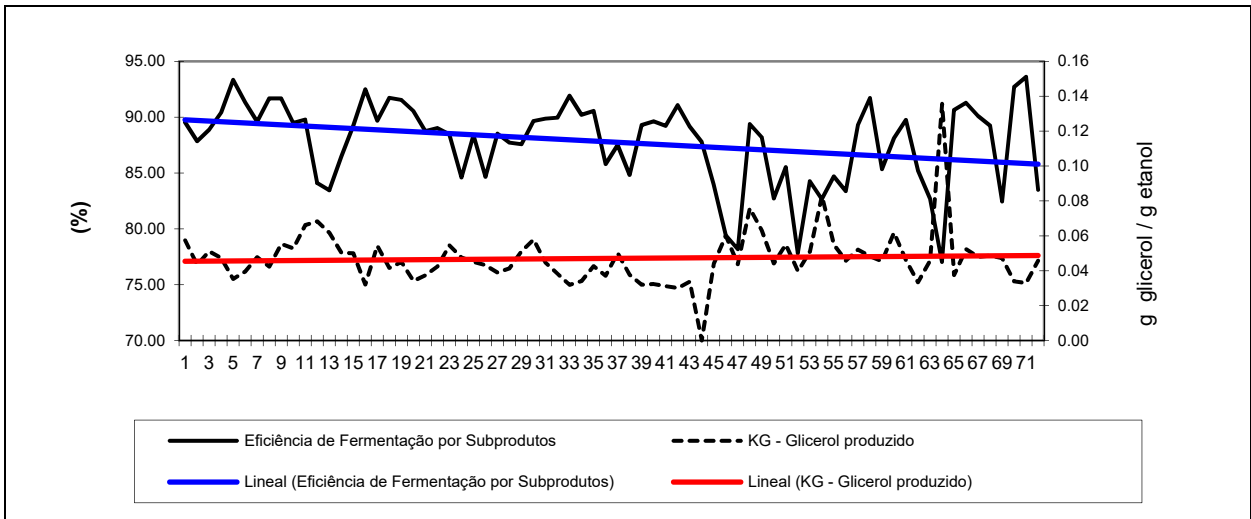


FIGURA03 – Correlación entre las pérdidas por formación de glicerol (K_G) y la eficiencia de la fermentación

La relación inversa entre las pérdidas y la eficiencia y rendimiento también se muestra con los contenidos de los ácidos y el total de azúcares reductores residuales. En ambos casos, cuanto mayor las sus concentraciones más disminuye el rendimiento de fermentación. En los gráficos de las figuras 04 y 05 se muestran estos comportamientos.

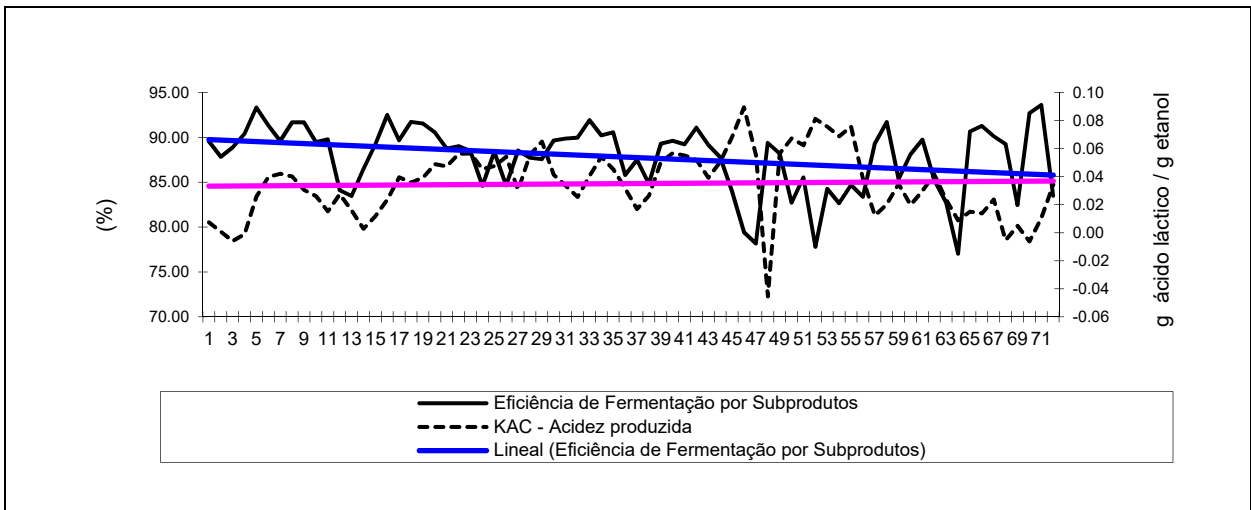


FIGURA04 – Correlación entre las pérdidas mediante por la formación de ácidos (K_{AC}) y la eficiencia de la fermentación

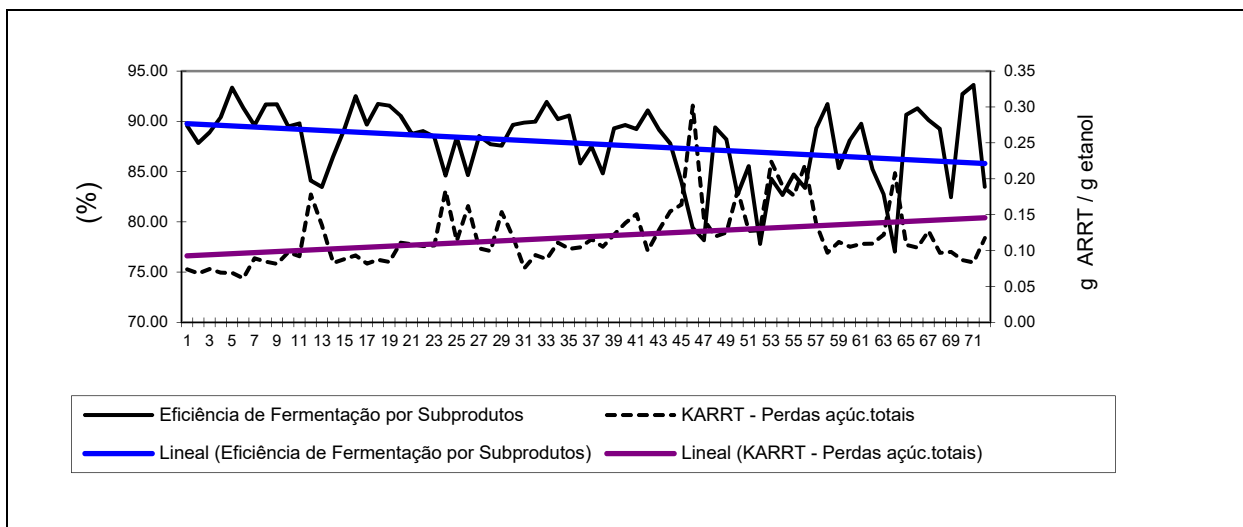


FIGURA05 - Correlación entre las concentración de azúcares reductores residuales totales (K_{ARRT}) Y la eficiencia de la fermentación

CONCLUSIÓN

Después de estos estudios se puede concluir que la destilería que trabaja con los procesos de fermentación continua y cubas con grandes volúmenes, más de 500 000L, calcular la eficacia de la fermentación por el método de subproductos es más apropiado que mediante el cálculo del balance de masas por las siguientes consideraciones:

- No es necesario las mediciones de los volúmenes de mosto; vino y levaduras;
- No hay una preocupación para acompañar la devolución del leche de levadura tratada para su respectiva cuba de fermentación;
- Además de no ser necesario medir el volumen de mosto, no es necesario determinar su ART, mediciones estas necesarias para calcularla eficiencia por balance de masa;
- En cualquier momento los resultados de la eficiencia de la fermentación nunca será mayor que 100%;
- Si la eficiencia global de destilería (EGD) se calcula multiplicando la eficiencia de la fermentación (EF) por la eficiencia de destilación (ED): $EGD = EF \times ED$, los resultados son más consistentes.

Por otro lado, para utilizar el método de cálculo de la eficiencia de fermentación por subproductos son necesarias las siguientes acciones:

- Implementación del análisis de glicerol;
- Determinación del grado alcohólico de los vinos mediante densímetro electrónico;
- Determinación del total de azúcares reductores residuales (ARRT), preferiblemente por cromatografía;
- Mejoras en tomada de los muestreos y el análisis de la pérdida de la levadura en vino centrifugado.

Por último, en el estudio de la eficiencia de la fermentación entenderse que lo valor acumulativo de **87,78%** obtenido por el cálculo de los subproductos fue más coherente que **90,58%** obtenido cuando se utilizó el método de balance de masa, mientras que en la unidad de estudio se utilizó la miel bastante pobre o agotado, con muy alta concentración de azúcares reductores infermentescíveis (ARI).

BIBLOGRAFIA

SILVA, et al. 2008. Aplicação da Metodologia de Planejamento Fatorial e Análises de Superfícies para Otimização da Fermentação alcoólica. Química Nova, Vol. 31, No. 5, 1073-1077.

GALLO, C. R. 1989. Determinação da Microbiota Bacteriana de Mosto e de Dornas de Fermentação. Tesis D.Sc. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil. 402 p.

SANTOS, A. M. 2008. Estudo da Influência da Complementação de Nutrientes no Mosto sobre o Processo de Fermentação Alcoólica em Batelada. Tesis M.Sc. Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, Brasil. 95 p.

NETO, P. O. 1995. Estudo de Diferentes Fatores que Influenciam o Crescimento da População Bacteriana Contaminante da Fermentação Alcoólica por Levedura. Tesis D.Sc. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil. 205 p.

COPERSUCAR. 1987. Fermentação. Centro de Tecnologia Copersucar. Piracicaba, São Paulo, Brasil. 434 p.

ROSSEL, C. E. V. 2007. Fermentação do Hidrolisado. In: III Workshop sobre Hidrólise para Produção de Etanol. Universidade de Campinas. São Paulo, Brasil. 17 p.

MAKINO, Y. 1989. Influência da Temperatura no Teste de Determinação da Tolerância Alcoólica de Laveduras. Tesis M.Sc. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil. 95 p.

NAJAFPOUR, G. D. 2007. Biochemical Engineering and Biotechnology. First Edition, Elsevier, 421 p.

LAGUNAS, R.; DOMINGUEZ, C.; BUSTURIA, A.; SÁEZ, M. J. 1982. Mechanisms of Appearance of the Pasteur Effect in *Saccharomyces cerevisiae*: Inactivation of sugar transport systems. Journal of Bacteriology, vol. 152, No. 1, p. 19-25, Oct.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. 2006. Princípios de Bioquímica. Editora Sarvier, 4a edição, São Paulo. 1202 p.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. 1995. Principles of Fermentation Technology. Second Edition. Butterworth Heinemann, Elsevier Science, 357 p.