

## EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE LA MELAZA EN LA DESTILERÍA ARQUÍMEDES COLINA ANTÚNEZ

### EVALUATION OF THE PERFORMANCE OF THE ALCOHOLIC FERMENTATION OF THE MOLASSES IN DISTILLERY “ARQUÍMEDES COLINA ANTÚNEZ”

Yans Guardia-Puebla<sup>1\*</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-1347-0963>  
Dileynis Suárez-Salazar<sup>2</sup>, <https://orcid.org/0009-0005-1928-2911>  
Lázaro E. Valdés-Izaguirre<sup>3</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-5285-0264>  
Robinson Hermosilla-Espinosa<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2869-9581>  
Quirino Arias-Cedeño<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-6024-9877>

<sup>1</sup>Centro de Estudios de Química Aplicada, Facultad de Ciencias Técnicas, Universidad de Granma, Cuba

<sup>2</sup>Empresa Azucarera Arquímedez Colina Antúnez, Grupo AZCUBA, Cuba

<sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Cuba

\*Autor para la correspondencia: [quirinoarias65@gmail.com](mailto:quirinoarias65@gmail.com)

Recibido: 13 de marzo de 2025

Aprobado: 30 de mayo de 2025

#### RESUMEN

Con la finalidad de mejorar la eficiencia de la fermentación alcohólica en la destilería Arquímedes Colina Antúnez de la provincia Granma, se evaluó el rendimiento del proceso fermentativo a escala de laboratorio e industrial. Se evaluaron cuatro niveles de tasas de inoculación de levadura y diferentes dosis de melaza en biorreactores de laboratorio. La proporción de inóculo de 24 % y la concentración de melaza en el mosto de  $100 \text{ gL}^{-1}$  fueron los parámetros establecidos con mejores indicadores de eficiencia (89 %), utilizando la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Bajo esas condiciones, el proceso a escala piloto fue evaluado en ocho fermentadores de  $138 \text{ m}^3$  de volumen útil, durante doce meses, siguiendo los parámetros: grados Brix, pH, temperatura, grado alcohólico y la concentración de azúcares reductores al final de la fermentación. Los resultados obtenidos mostraron que aplicando las condiciones establecidas la tasa de producción de alcohol incrementó un 23 %.

**Palabras clave:** melazas; fermentación alcohólica; inoculación de levadura; eficiencia de fermentación.

#### ABSTRACT

In order to improve the efficiency of alcoholic fermentation at the Arquímedes Colina Antúnez distillery of Granma province, the yield of fermentation process was evaluated on a laboratory and industrial scale. Four levels of yeast inoculation rates and different doses of molasses were tested in laboratory bioreactors. The inoculum proportion of 24 % and the concentration of molasses in the wort of  $100 \text{ gL}^{-1}$  were the established parameters with the best efficiency indicators (89 %), using the *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain. Under these conditions, the pilot-scale process in eight fermenters with a useful volume of  $138 \text{ m}^3$  for 12 months, following the parameters: Brix, pH, temperature, alcohol content, and the concentration of reducing sugars at the end of fermentation were evaluated. The results obtained show that by applying the established conditions the alcohol production rate increased by 23 %.

**Keywords:** molasses; alcoholic fermentation; yeast inoculation; fermentation efficiency.

## INTRODUCCIÓN

El proceso fermentativo es uno de los primeros aportes de la humanidad para la obtención de productos biotecnológicos. A pesar de su uso milenario, constituye todavía un modo de producción de vital interés. La fermentación alcohólica es un proceso, mediante el cual las levaduras convierten los azúcares en etanol ( $C_2H_6O$ ), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y otros productos secundarios.<sup>(1)</sup> El proceso tecnológico industrial de obtención del etanol se caracteriza por: la propagación de la levadura de forma aerobia en el laboratorio, una pre fermentación aerobia; la fermentación anaerobia del mosto, la decantación y, finalmente, la destilación.<sup>(2,3)</sup>

En Cuba, la producción de etanol se realiza a partir de la fermentación alcohólica de las mieles finales o melazas, obtenidas durante la producción de sacarosa a partir de repetidos procesos de evaporación, centrifugación y cristalización de los jugos de la caña de azúcar (*Sacharum Officinarum*).<sup>(4)</sup> Esta gramínea, originaria de la India, es muy rica en azúcares del tipo sacarosa, glucosa y fructuosa, de composición variable que depende de varios factores, tales como la variedad, fertilización, etapa de maduración, condiciones fitosanitarias del cultivo, despuente y almacenamiento.<sup>(5)</sup>

Los componentes principales de la melaza incluyen, en términos generales, sacarosa (30-35 %), fructosa y glucosa (10-25 %), compuestos no azucarados (2-3 %), trazas de minerales y humedad alrededor del 45-55 % del total de los azúcares fermentables. Existen diferentes tipos de melaza según el proceso utilizado para la producción de azúcar; también, la composición general de las distintas melazas difiere según las zonas geográficas específicas de producción.<sup>(6)</sup>

La clasificación de las melazas se define de acuerdo al color, consistencia, sabor y el contenido de azúcar. La melaza ligera se produce después de la primera ebullición, definida como melaza "A", donde se elimina casi el 77 % del total de azúcar sin refinar disponible y contiene alrededor del 80-85 % de materia seca. Mientras, la melaza oscura, también conocida como melaza "B", se obtiene hirviendo la melaza A con guarapo para obtener una masa cocida, la cual se centrifuga y es recuperable hasta un 89 % del azúcar y de 80-85% de materia seca. Por otro lado, la melaza "C" es un líquido pesado, oscuro y viscoso que se obtiene como resultado de la última fase de cristalización del azúcar, y de la cual no se puede cristalizar azúcar adicional de manera rentable. Esta

melaza comúnmente se le conoce como "miel final", donde prácticamente la sacarosa no es recuperable, manteniendo el porcentaje de materia seca.<sup>(7)</sup>

El principal indicador de producción de una destilería es la eficiencia global de obtención de alcohol, considerándose un valor por debajo del 86 % como deficiente. Sobre este indicador, inciden otras dos variables importantes: la eficiencia en recuperación de alcohol generado y la eficiencia en la fermentación; el primer parámetro indica la fermentación alcohólica de los azúcares presentes en las mieles, y la segunda define la cantidad de azúcares fermentables transformados en alcohol.<sup>(8)</sup>

En la destilería Arquímedez Colina Antúnez, perteneciente al Grupo AZCUBA de Granma, el primer parámetro se catalogó como eficiente (95 %), mientras, el segundo indicador mostró una baja eficiencia global de fermentación (inferior al 77 %), indicando bajos rendimientos de producción de alcohol en la etapa de fermentación de las mieles finales, lo que influye significativamente en la eficiencia global de operación de la destilería. El objetivo de esta investigación fue mejorar la eficiencia de fermentación alcohólica mediante la caracterización fisicoquímica de las mieles y obtener un sistema biotecnológico eficiente, a escala de laboratorio y piloto, que incremente los rendimientos de producción de la destilería.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales empleados

Se tomaron muestras en triplicado de melazas del tanque de almacenamiento de las mieles finales provenientes de 5 centrales azucareros de la región oriental de Cuba: Bartolomé Masó, Arquímedes Colina, Enidio Días, Guayabal y Roberto Ramírez. Para realizar las pruebas de fermentación se empleó la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* procedente del laboratorio de microbiología de la destilería. Como fuentes de nutrientes se utilizaron las dosis establecidas de fosfato de amonio ( $(NH_4)_3PO_4$ ), sulfato de amonio [ $(NH_4)_2SO_4$ ], urea [ $CO(NH_2)_2$ ] y ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 1M para el crecimiento óptimo de la levadura. Todos los reactivos utilizados fueron de alto grado de pureza y calidad analítica.

### Composición química de la melaza

Las muestras (tres en total de un litro por cada tributario) fueron caracterizadas de acuerdo a las especificaciones de calidad para las mieles establecidas

por las normas cubanas (NC). La determinación del pH se realizó por el método potenciométrico, usando un equipo marca HANNA Edge a temperatura ambiente;<sup>(9)</sup> los sólidos aerométricos disueltos (<sup>o</sup>Brix), se cuantificaron con un aerómetro Brix;<sup>(10)</sup> las cenizas fueron obtenidas por incineración de las muestras en un horno mufla (Muffle Furnace SX2-5-12 TP).<sup>(11)</sup> Los lodos se obtuvieron, al precipitar los materiales insolubles por centrifugación (centrífuga Nuve, Sanayi Malzemeleri, NF-1200);<sup>(12)</sup> los azúcares reductores y totales se determinaron por el método de Lane y Eynon a volumen constante.<sup>(13)</sup>

### Experimentos a escala de laboratorio

Para los experimentos a escala de laboratorio, se prepararon 4 L de un medio de propagación de 80 g L de solución de melaza. Como inóculo, se utilizó levadura líquida obtenida de los prefermentadores de la propia industria, con lo cual se evaluaron cuatro niveles de tasa de inoculación (50, 100, 120 y 140 mL) usando Erlenmeyer de 500 mL de capacidad como biorreactores.

Los experimentos se realizaron hasta que la eficiencia de fermentación llegó al punto de equilibrio o comenzó su disminución; luego con las mejores tasas de inoculación (100 mL y 120 mL), se varió la concentración de medio de cultivo para tres tasas de medio (100, 120 y 140 g L).

Se realizó el seguimiento de la fermentación alcohólica mediante conteos celulares, así como el control del pH, temperatura, azúcares reductores totales (ART) y los grados Brix al inicio y final de dicho proceso.<sup>(9,10,13)</sup> Al concluir la etapa de fermentación, se determinó el grado alcohólico<sup>(14)</sup> y los azúcares residuales para calcular la eficiencia de la fermentación (Ef. fermentación) a través de la ecuación (1), que es el cociente entre cantidad de alcohol en el vino y la cantidad de alcohol teórico.

$$Ef. \text{fermentación} = \frac{\text{Cant. alc. en vino} \cdot 100}{\text{Cant. alc. teórico}} \quad (1)$$

La eficiencia de recuperación de alcohol (Ef. alcohol) se determinó según la ecuación (2), que es la fracción entre el rendimiento de obtención de alcohol y los ART consumidos.

$$Ef. \text{alcohol} = \frac{\text{Rend. alcohol} \cdot 1000}{\text{ART consumidos}} \quad (2)$$

### Experimentos a escala piloto

La etapa inicial o de preparación de los experimentos a escala piloto se consideró desde la propagación de las levaduras en el laboratorio hasta la prefermentación (Figura 1).

En un Erlenmeyer de 1 L, se colocó una solución de melaza de 10 °Bx con dosis de sulfato de amonio (0,5 g/L), urea (0,5 g/L) y fosfato de amonio (0,15 g/L), y se agitó en una zaranda durante 2 h. Se adicionó otra solución de melaza con las sales nutritivas, se ajustó el pH a 4,5 con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se continuó la agitación por otras 12 h. Luego el inóculo se traspasa a un depósito de 10 L, denominado “Calbertg”, alimentado de forma similar, pero incrementando la concentración de las sales nutritivas: sulfato de amonio (5 g/L), urea (5 g/L) y fosfato de amonio (1,5 g/L)), el pH ajustado a 4,5 y aireando durante 12 h y flujo de 50 L/h. Posteriormente, el medio activo fue inoculado en el cultivador (volumen de 200 L), alimentado de igual forma que el paso anterior, con el mismo pH y tiempo de suministro de aire de 200 L/h.

Después, el cultivo propagado se adicionó al prefermentador (24 m<sup>3</sup>) previamente ajustado (10 °Bx, sulfato de amonio (5 g/L), urea (5 g/L), fosfato de amonio (1,5 g/L), pH: 4,5) y aireado durante otras 7 h. Trascurrido ese tiempo, el volumen de fermento de 38 m<sup>3</sup> se agregó al fermentador de 138 m<sup>3</sup> con melaza diluida a 100 g/L. Con la inoculación de las levaduras propagadas a los fermentadores se consideró como el inicio de la segunda etapa hasta finalizar el proceso de fermentación. El ciclo total de fermentación fue de 24 h. Como reproducibilidad de los experimentos, para esta investigación se operaron ocho fermentadores durante un período de once meses: febrero-diciembre/2023.

### Análisis estadístico

Los datos experimentales obtenidos fueron evaluados mediante análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple; para la comparación entre las medias que fueron significativas al 95 % de confiabilidad, se empleó la prueba de rango múltiple de Duncan. Todos los datos se expresaron como valor promedio ± desviación estándar.

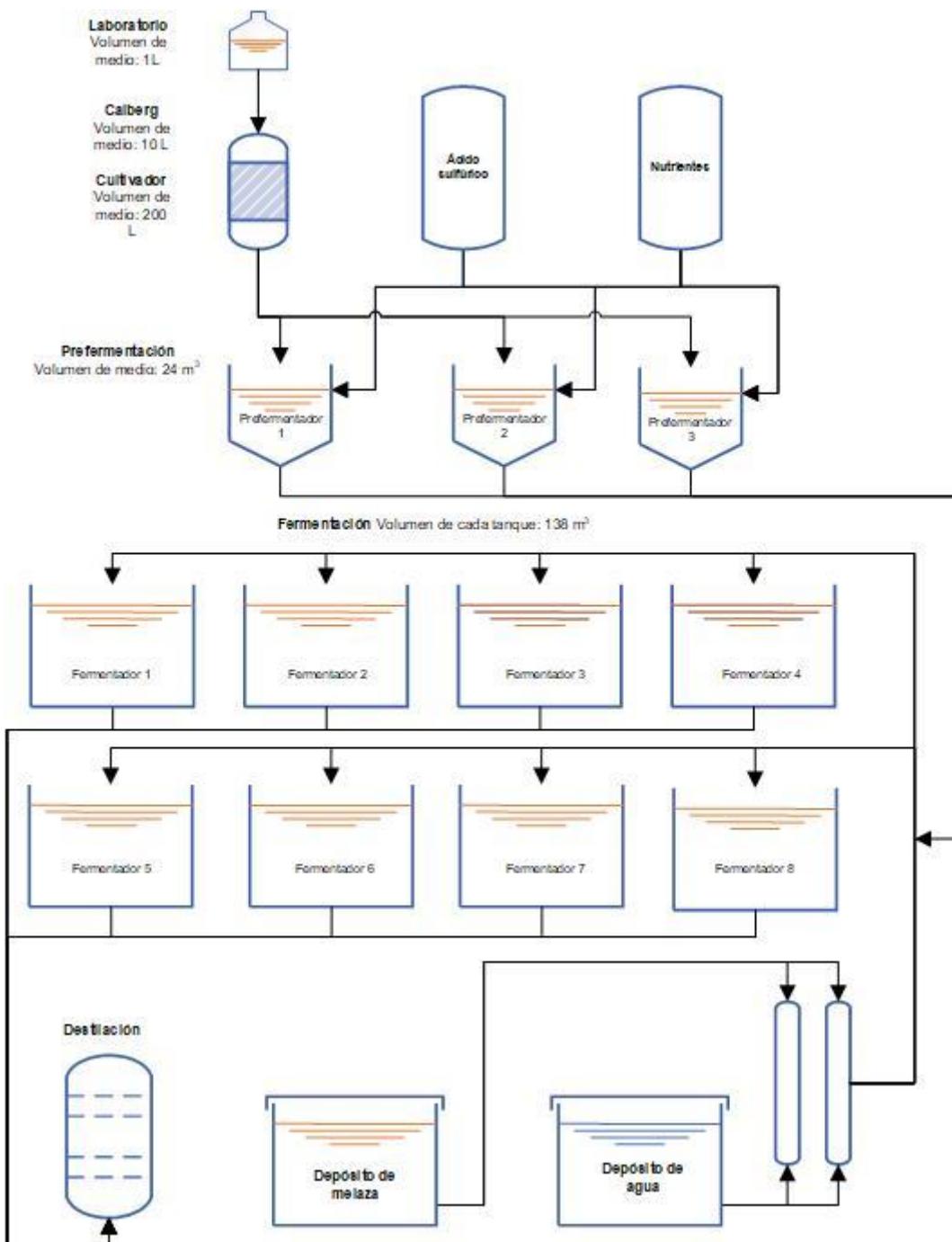


Fig. 1- Esquema de fermentación alcohólica de la melaza para el experimento a escala piloto

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización fisicoquímica de las melazas

La composición fisicoquímica de las melazas estudiadas se muestra en la [Tabla 1](#). De manera general, se observaron pequeñas diferencias entre los valores promedios de °Brix, pH, cenizas y densidad,

estando entre 80,94-89,36 °Bx, 4,9-5,6 y 8,31-11,34 %, 1,41-1,47 g/cm<sup>3</sup>, respectivamente; mientras que, los intervalos entre las otras variables estudiadas fueron más acentuados: lodos (2,01-14,53 %), azúcares reductores (10,45-23,18 %) y totales (55,07-62,01 %), sacarosa (30,29-46,9 %), azúcares totales (53,47-60,03 %) y viscosidad (8,44-18,58 cps).

**Tabla 1-** Caracterización fisicoquímica de las melazas de cinco centrales de la región oriental de Cuba y del tanque de recepción de la destilería

Nº Muestras	°Bx	pH	Cenizas (%)	Lodo (%)	Azúcar. reductor. (%)	Azúcar. reductor. totales (%)	Sacarosa (%)	Azúcar. totales (%)	Viscosidad (cps)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
1 Bartolomé	88,16	4,9	9,06	3,90	22,43	62,01	37,60	60,03	15,69	1,47
Maso	±2,6	±0,2	±1,4	±0,4	±1,8	±3,4	±1,7	±4,4	±0,9	±0,1
2 Arquímedes	80,94	5,6	8,31	2,01	10,45	59,88	46,90	57,41	8,44	1,42
Colina	±1,3	±0,1	±1,2	±0,3	±1,2	±2,8	±2,5	±3,2	±0,3	±0,1
3 Enidio	89,36	5,0	11,34	6,06	23,18	55,07	30,29	53,47	9,89	1,48
Días	±1,9	±0,2	±0,9	±0,5	±2,1	±4,1	±2,4	±3,8	±0,4	±0,1
4 Guayabal	84,94	5,4	8,68	3,89	20,08	59,43	37,39	57,47	9,89	1,44
	±2,4	±0,2	±1,3	±0,2	±1,9	±2,6	±3,2	±2,7	±0,4	±0,1
5 Roberto	85,74	5,2	10,35	2,03	19,02	61,76	40,61	59,63	18,58	1,45
Ramírez	±2,1	±0,3	±1,4	±0,1	±2,2	±3,2	±2,9	±2,8	±1,2	±0,1
6 Tanque de recepción	85,34	5,2	9,02	14,53	17,00	59,21	40,01	57,01	8,44	1,45
	±1,3	±0,1	±1,1	±1,3	±1,7	±2,8	±2,5	±2,3	±0,8	±0,1

Según los resultados de la caracterización fisicoquímica, las melazas utilizadas en la destilería cumplen con los requisitos necesarios para ser utilizadas en el proceso de fermentación alcohólica según las normas cubanas establecidas, además, son similares a los reportes realizados por otros autores.<sup>(15,16)</sup> Los valores de los sólidos aerométricos disueltos estuvieron entre 89 y 80 °Brix para las muestras de los diferentes centrales azucareros, ratificando que todas las mieles estudiadas provenientes de los distintos ingenios, cumplen con los requerimientos técnicos para ser empleadas en la producción de etanol mediante fermentación.

En un estudio realizado por Otero-Rambla *et al.*<sup>(15)</sup> evaluaron la producción de bioetanol por *Saccharomyces cerevisiae* Turbo (GertStrand AB) a partir de mezclas de jugos secundarios de la producción de azúcar, utilizando jugos diluidos y jugos de filtros de cachaza, suplementados con pequeñas cantidades de melazas de caña y sales nutritivas; y observaron que la producción de etanol decreció, en la medida que los azúcares reductores totales procedentes de los jugos de filtros de cachaza, aumentó desde 50 a 100 %, sugiriendo que la pureza aparente del sustrato es un factor de importancia en la producción de bioetanol. Según los autores del estudio antes referido, la concentración de bioetanol en el medio fue superior a 7 % (v/v) en todos los experimentos, pero superiores en aquellos de menor contribución de jugos de filtro de cachaza. El análisis de regresión aplicado a la

eficiencia del proceso mostró, que una concentración en el entorno de 113 g/L de azúcares reductores totales, fue óptima para la bioconversión de estos en etanol a la concentración celular de inoculación (100 millones de células/mL).

Por otro lado, Lamas Pérez *et al.*<sup>(16)</sup> realizaron un estudio en la etapa de fermentación alcohólica relacionado con el empleo de mezcla de jugo de los filtros, miel final y meladura; para ello, prepararon medios de cultivos, unos como base y el resto son combinaciones de ellos, siendo la variable de respuesta el porcentaje alcohólico. Los mostos fermentados con miel final y meladura, alcanzaron entre 5,22 % y 5,50 % de alcohol; mientras que, al emplear el jugo de los filtros, se obtuvieron los niveles más bajos de concentración alcohólica en el medio.

## Resultados de las evaluaciones a escala de laboratorio

El efecto de los diferentes volúmenes de inóculos evaluados en el medio de propagación de 80 g/L de solución de melaza sobre el rendimiento de la fermentación alcohólica se muestra en la [Tabla 2](#).

En las proporciones de los volúmenes de inóculos evaluados, la eficiencia de fermentación estuvo entre 82,0-89,9 %; mientras, la eficiencia de recuperación de alcohol se mantuvo en un rango similar, 82,6-89,6 %. La proporción de inóculo de 100 mL (inoculación del 20 % del volumen de fermentación) fue la que alcanzó los valores más altos de eficiencia.

**Tabla 2-** Comportamiento de la fermentación alcohólica con diferentes tasas de volumen de inóculo

Volumen de melaza en el medio de cultivo (mL)	°Bx		pH		Grado alcohólico (%)	Azúcares reductores residuales (%)	Eficiencias	
	Inicial	Final	Inicial	Final			Fermentación (%)	Recuperación de alcohol (%)
50	10,3±0,01	3,9±0,03	4,1±0,01	3,7±0,01	3,7±0,02	10,8±1,1	82±1,2	82,6±1,0
100	10,3±0,02	3,9±0,02	4,3±0,02	3,8±0,01	4,1±0,03	9,3±0,9	89,9±0,9	89,6±0,8
120	10,3±0,01	3,6±0,01	4,2±0,01	3,6±0,02	4,1±0,01	6,4±0,5	86,1±1,3	86,07±1,0
140	10,3±0,01	3,7±0,01	4,5±0,03	3,8±0,01	4,2±0,02	4,6±0,3	86,4±1,1	86±0,9
50	10,3±0,01	3,9±0,03	4,1±0,01	3,7±0,01	3,7±0,02	10,8±1,1	82±1,2	82,6±1,0

El incremento de la tasa de inoculación, no modificó significativamente los grados Brix y el pH al final de la fermentación; pero, sí se observó el aumento del grado alcohólico (desde 3,7 % hasta 4,2 %); incremento que puede explicarse, por la mayor de cantidad de moléculas de etanol que se generan a medida que avanza la fermentación. También se observó una disminución de los azúcares reductores residuales (desde 10,8 % hasta 4,6 %), indicando una relación directamente proporcional entre la cantidad de enzimas (inóculo) y la transformación de azúcares en etanol. Los parámetros de eficiencias utilizados (fermentación y recuperación), aumentaron cuando se incrementó la cantidad de levaduras en el medio de fermentación.

Los resultados demuestran, que el aumento del inóculo incrementa, hasta un valor límite, los parámetros de eficiencia en los reactores de fermentación alcohólica; a mayores volúmenes de inóculos no se observan incrementos significativos en la producción de etanol, llegando a disminuir por efectos de competencia entre las levaduras ante la escasez de nutrientes.<sup>(17)</sup>

Este comportamiento podría explicarse, si se tiene en cuenta que al aumentar la concentración de las enzimas (volumen de inóculo), se acelera la reacción, siempre que se disponga de sustrato al cual unirse. Una vez que todo el sustrato esté adherido, la reacción deja de acelerarse, puesto que existen menos opciones, para que otras enzimas adicionales compitan entre ellas por el sustrato. Las enzimas (inóculo) se encuentran en una menor proporción que el sustrato (melaza), actúan como biocatalizadores y se regeneran en el proceso, por tanto, la cantidad de inóculo para utilizar tiene un valor crítico.<sup>(18)</sup>

Cuando se incrementa la concentración de enzimas, la velocidad de la reacción (conversión de azúcares en alcohol) aumenta hasta cierto valor, para este estudio fue de 100 mL de inóculo. En los primeros momentos, la velocidad del proceso tiene una dependencia lineal del volumen de inóculo, pero si este último sigue incrementándose, la velocidad de la reacción alcanza un valor constante, sin que se produzcan más incrementos.<sup>(19)</sup>

Considerando que la proporción de 100 mL de inóculo fue la más adecuada para obtener altas eficiencias de fermentación y de producción de alcohol, se realizó un nuevo experimento estudiando el efecto del incremento de la concentración de melaza en el medio de cultivo. Para ello, se evaluaron tres dosis de adición de melaza para el mismo volumen dilución: 100, 120 y 140 g/L. La finalidad de este ensayo fue determinar un punto de equilibrio que facilitara el escalado eficiente de la fermentación del medio, para reducir el consumo de recursos ([Tabla 3](#)).

La [Tabla 3](#) muestra los resultados del comportamiento de la fermentación alcohólica con las dosis seleccionadas. Como regla general, el incremento de la concentración de melaza en el medio de cultivo provocó una disminución en ambas eficiencias; la dosis de 100 g/L alcanzó la mayor eficiencia de fermentación y de producción de alcohol.

El aumento de la concentración de melaza en el medio de cultivo, tampoco provocó modificaciones significativas en los grados Brix y pH, después de concluida la fermentación. Similar comportamiento tuvo el grado alcohólico y los azúcares reductores residuales, los cuales se mantuvieron en los rangos de 5,2-5,6 % y 6-8 %, respectivamente.

**Tabla 3-** Comportamiento de la fermentación alcohólica con distintas dosis de melaza en el medio de cultivo

Volumen de melaza en el medio de cultivo (mL)	°Bx		pH		Grado alcohólico (%)	Azúcares reductores residuales (%)	Eficiencias	
	Inicial	Final	Inicial	Final			Fermentación (%)	Recuperación de alcohol (%)
<b>Inóculo 100 mL</b>								
100 g L <sup>-1</sup>	12,6±0,2	4,1±0,9	4,0±0,2	3,6±0,3	5,2±0,1	6,0±0,5	85,5±1,2	85,4±1,0
120 g L <sup>-1</sup>	14,3±0,1	4,7±0,7	3,9±0,2	3,5±0,2	5,5±0,1	7,0±0,9	75,3±1,5	75,0±1,5
140 g L <sup>-1</sup>	14,3±0,1	4,0±0,5	4,0±0,1	3,6±0,3	5,6±0,1	8,0±1,0	65,5±1,9	65,5±1,3
<b>Inóculo 120 mL</b>								
100 g L <sup>-1</sup>	11,7±0,2	4,1±0,8	3,9±0,2	3,6±0,1	5,4±0,1	6,4±0,7	89,0±0,9	89,1±0,9
120 g L <sup>-1</sup>	14,3±0,2	4,7±0,7	3,9±0,1	3,5±0,2	5,4±0,1	6,0±0,8	73,3±1,1	73,0±1,0
140 g L <sup>-1</sup>	14,3±0,1	3,5±0,7	4,0±0,1	3,6±0,1	6,0±0,2	7,0±0,9	69,7±1,2	69,7±1,1

Este resultado puede explicarse por la posible saturación de sustrato. En las reacciones catalizadas por enzimas, la concentración del sustrato es mucho mayor que la concentración de la enzima; cuando la concentración de esta se mantiene constante, la adición de más sustrato aumentará la velocidad de la reacción. Sin embargo, si la concentración del sustrato es muy alta, puede saturar todas las moléculas de la enzima, y a partir de este momento añadir más sustrato no incrementará la producción de etanol, quedando un remanente de azúcares sin fermentar.<sup>(20)</sup>

El aumento en la concentración de sustrato solo incrementa la velocidad de la reacción (conversión de melaza en alcohol) hasta cierto valor, a partir del cual no habrá incremento en la velocidad del proceso. Por tanto, utilizar una mayor cantidad de melaza no sería económicamente rentable, pues con ello no se logaría incrementar la tasa de producción de alcohol. Por otra parte, las cepas de levadura pueden ser más resistentes a altas concentraciones de melaza, pero no aumentaría la eficiencia de producción de alcohol.

Valorando los resultados alcanzados, se realizó un nuevo experimento para evaluar el efecto del incremento de la tasa de inoculación hasta 120 mL (24 % del volumen de fermentación) sobre el aumento de la concentración de melaza en el medio de cultivo (**Tabla 3**). De forma similar, también el incremento de la concentración de melaza en el medio provocó la disminución de los parámetros, que caracterizan la eficiencia de la fermentación alcohólica; sin embargo, a la concentración de 100 g L se lograron acrecentar los indicadores de la fermentación y producción de alcohol hasta 89,0 % y 89,1 %, respectivamente.

En cuanto al grado de alcohol, no se observan diferencias estadísticamente significativas cuando se variaron las cantidades de inóculo y melaza; los valores oscilaron entre 5,2-6,0 %. Estos resultados pudieran deberse al fenómeno de saturación de sustrato, que no permite incrementar la producción de etanol al aumentar la cantidad de melaza. Por tanto, el volumen óptimo de melaza en el medio de cultivo fue de 120 mL, lo que representa 24 % del volumen de fermentación.

Por tal motivo, y para los experimentos posteriores, una tasa de inoculación de 24 % y la concentración de 100 g L de melaza en el medio de cultivo, fueron los parámetros establecidos para alcanzar indicadores de eficiencia alrededores del 89 %. Los resultados sugieren que la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada en la destilería, no admite altas concentraciones de azúcares en el mosto; no obstante, se logró alcanzar un punto de equilibrio para obtener valores adecuados de eficiencia de fermentación y de recuperación. Estos resultados son similares a los reportados por otros autores.<sup>(21,22)</sup>

## Resultados de las evaluaciones a escala piloto

La **Figura 2** muestra el comportamiento de los grados Brix iniciales y finales, tomado como valor promedio la medición realizada de treinta días de operación, durante los once meses evaluados. Como regla, la conversión de los azúcares fermentables a alcohol fue estable, los grados Brix iniciales se mantuvieron en el rango de 8,44-10,28, y los grados Brix finales entre 2,82-4,72.

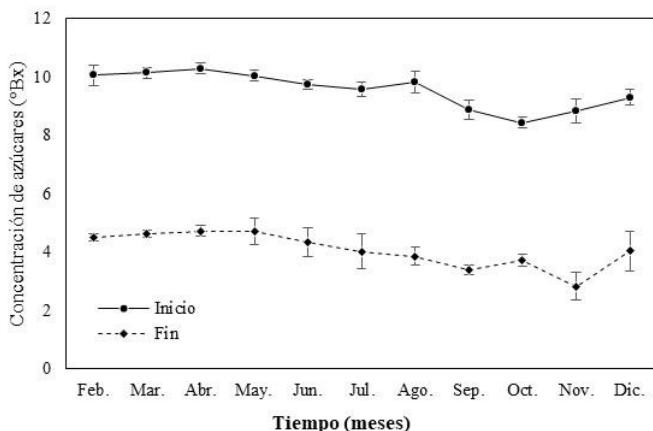


Fig. 2- Comportamiento de los grados Brix promedios al inicio y final de la fermentación

De manera general, las concentraciones de azúcares en el mosto listo para fermentar son bajas, al compararlas con las reportadas por otras destilerías, donde han utilizado concentraciones de 16 °Bx;<sup>(23)</sup> pero los resultados demuestran que si se incrementan los grados Brix en el medio de fermentación, el proceso no sería eficiente, ya que disminuiría el rendimiento.

Se puede observar, que existe una disminución de la concentración de sólidos solubles, lo que evidencia el consumo de sustratos por parte de *Saccharomyces cerevisiae*, principalmente los azúcares fermentables presentes en el medio.<sup>(16)</sup> Las levaduras como la *Saccharomyces cerevisiae* tienen diversas fuentes de carbono (por ejemplo, polioles, alcoholes, ácidos orgánicos y aminoácidos) que pueden metabolizar, pero prefieren azúcares. Además, las levaduras pueden utilizar estas otras fuentes de carbono como bloques constructores de moléculas orgánicas.<sup>(21)</sup> Esto, además de la disminución del contenido de azúcares durante el proceso, podría explicar la disminución de sólidos solubles durante la fermentación.

A través del proceso de fermentación alcohólica, el pH debe ser ligeramente ácido, con el fin de que las levaduras puedan realizar su actividad, asegurando a su vez, la estabilidad microbiológica y las características organolépticas. Un rango óptimo de pH durante la fermentación se encuentra entre pH 4,3-4,7.<sup>(22)</sup> Para la levadura, son inaceptables los valores neutros y alcalinos, así como los de acidez extrema. Sus actividades enzimáticas típicas tienen un rango de pH en el que se desempeñan de manera óptima, donde la actividad enzimática es máxima.<sup>(18)</sup>

Los valores promedios de pH en el medio para fermentar, estuvieron entre 4,51-5,29; lo que es muy adecuado, considerando que la actividad fermentativa tiende a incrementar la concentración de los iones

hidrógenos, y durante el curso de la fermentación, el pH disminuyó hasta 3,97-4,94, que son valores óptimos para la levadura (Figura 3).

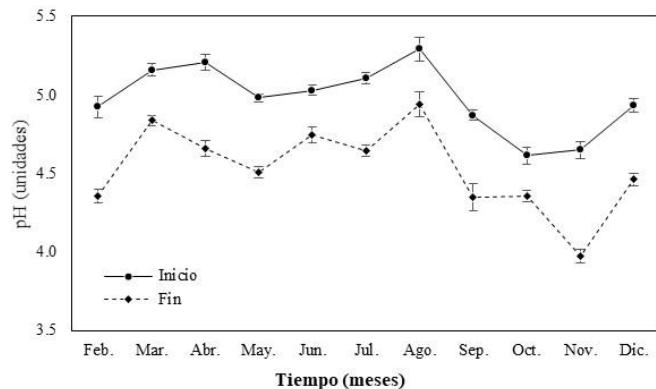


Fig. 3- Comportamiento de los valores promedios de pH al inicio y final de la fermentación del período evaluado

Se puede apreciar, cómo este parámetro presenta una tendencia a la disminución durante la fermentación, además de la producción de etanol genera dióxido de carbono, que al disolverse en el medio, produce ácido carbónico, además de otros subproductos como el glicerol y ácidos orgánicos débiles, como los ácidos succínico y acético, los que crean un ambiente ácido y pueden disminuir el pH del medio de cultivo. El pH puede limitar la tasa de crecimiento de las levaduras, al alterar la actividad enzimática, la permeabilidad celular y la disponibilidad de iones metálicos.<sup>(24)</sup> Por tal motivo, se hace necesario el control del mismo para evitar la formación de subproductos y afectaciones en la viabilidad de la levadura. Este comportamiento puede deberse a condiciones estresantes que afronta la levadura en el medio de fermentación, que estimulan al microorganismo a producir ácidos, como una forma de regular su actividad metabólica, así como para eliminar microorganismos del medio.<sup>(25)</sup>

Durante el proceso de fermentación, la acidez total del medio aumenta y el pH baja, debido a la formación de ácidos, concomitante con la transformación de azúcar en alcohol. El rango de pH se comportó estable dentro de los parámetros permitidos, para que las levaduras puedan reproducirse y transformarse; además, la acidez del medio provoca el proceso de inhibición de las bacterias que son agentes contaminantes.<sup>(26)</sup>

De manera general, se observó una tendencia neta a la disminución de la temperatura en los fermentadores (Figura 4). Los valores de temperatura en la fase inicial de la fermentación estuvieron entre 27,56-32,79 °C, considerados adecuados para la fermentación alcohólica de la levadura, y de 27,3-32,69 °C en la

etapa final de esta. No obstante, se produce tendencia al incremento de la temperatura en los meses de junio hasta agosto, lo cual puede deberse, a que los fermentadores son tanques abiertos de acero al carbono, y están sujetos al incremento de la temperatura ambiental.

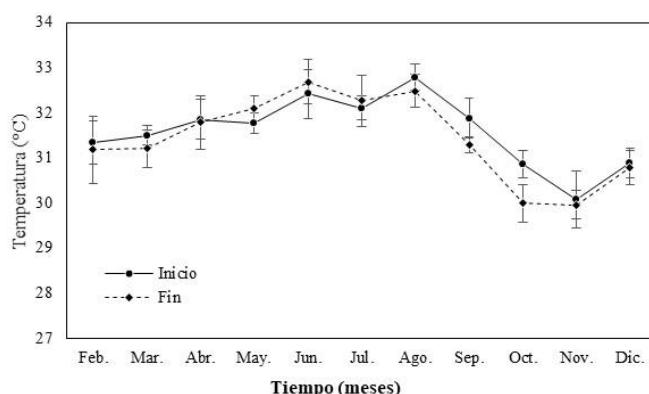


Fig. 4- Evolución de la temperatura al inicio y final de la fermentación

El incremento en la temperatura a medida que avanza la fermentación, puede explicarse al considerar que la fermentación alcohólica es un proceso de generación de energía celular sin el uso de oxígeno, que tiene lugar en el citosol de microorganismos como la levadura. El proceso neto de fermentación es exergónico, en el cual los azúcares presentes son convertidos por levaduras en etanol y dióxido de carbono, liberando energía en forma de calor.

Durante esta transformación, los procesos de glicólisis y fermentación descomponen la glucosa y otros azúcares en un ambiente anaerobio, lo que resulta en la producción de alcohol y la liberación de energía que impulsa las reacciones metabólicas de las levaduras. Sin embargo, a medida que avanza la fermentación, se observa una disminución en la temperatura del sistema, atribuida a la reducción de la velocidad del proceso fermentativo. Esto se debe a que, con el agotamiento de los azúcares fermentables y el aumento de productos como el etanol y el dióxido de carbono, la actividad metabólica de las levaduras disminuye, lo que resulta en una menor generación de calor y, por ende, en una caída de la temperatura del medio, evidenciando la dinámica equilibrada entre producción y consumo de energía en la fermentación.<sup>(17)</sup>

La variación del grado alcohólico durante y la final de la fermentación, se muestran en la Figura 5. Se observó una tendencia estable del grado alcohólico en el período evaluado, los valores mínimos y máximos de

esta variable fueron de 5,05-5,98. La estabilidad del grado alcohólico estuvo acorde con la concentración de sustrato, a la cual se alimentaron los fermentadores del estudio piloto. El grado alcohólico tuvo el mismo comportamiento que el ensayo a escala de laboratorio, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en los valores. Este resultado corrobora, que variaciones en las cantidades de melaza e inóculo, no afectaron el grado alcohólico.

En los ensayos de laboratorio se observan resultados más favorables; sin embargo, debe considerarse, que en la evaluación a escala piloto influyen otros factores importantes, es decir, se tienen otras condiciones operacionales, donde las levaduras tienen que enfrentarse a cualquier anomalía que ocurra en el proceso, y la operación de los especialistas encargados también es de vital importancia para lograr la efectividad del escalado.

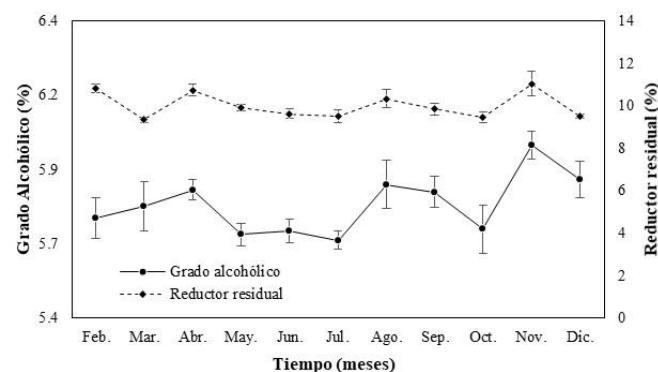


Fig. 5- Comportamiento del grado alcohólico y la concentración de reductores residuales al finalizar la fermentación

Por otra parte, en el proceso de escalado, se dan otras condiciones, incluyendo la mayor cantidad de volúmenes de sustrato e inóculo, las que modifican los factores prefijados en el laboratorio.

Estos resultados preliminares, constituyen un punto de partida para el incremento de la eficiencia en la producción de etanol, utilizando las materias primas disponibles (melaza) y la levadura cultivada en la misma destilería.

## CONCLUSIONES

Las melazas y sus mezclas utilizadas como materia prima en la destilería, cumplen los requisitos de calidad establecidos en normas para su utilización. La investigación desarrollada a escala de laboratorio, permitió evaluar la influencia de la concentración de sustrato y el volumen de inóculo en la eficiencia del proceso fermentativo y rendimiento alcohólico, logrando más del 89 % en ambos parámetros.

A escala piloto, fueron establecidos los mejores valores de concentración de sustrato y volumen de inóculo, para lograr una alta eficiencia de proceso fermentativo y rendimiento alcohólico; mientras que a nivel industrial, aplicando las condiciones determinadas, permitió incrementar la tasa de producción de alcohol en un 23 %.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KAUR, H.; KESHRI, R. "Production of ethanol from sugarcane molasses". *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*. 2020, **7**(5), 93-97. e-ISSN : 2349-8889. DOI: <https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.5.13>
2. PRASAD, S.; CHANDRA, V.; BHATT, R.; DHANYA, M. "Ethanol production from sugarcane: An overview". En: Bhatt, R., Meena, R. S., Hossain, A. (Eds) Input Use Efficiency for Food and Environmental Security. Springer, Singapore. 2021, pp. 665-686. ISBN: 978-981-16-5199-1. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-16-5199-1\\_22](https://doi.org/10.1007/978-981-16-5199-1_22)
3. DA SILVA FERNANDES, F. et al. "Current ethanol production requirements for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *International Journal of Microbiology*. 2022, **1**, 1-14. Article ID 7878830. ISSN: 1687-9198. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/7878830>
4. DELGADO-MORA, I.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J.; DÍAZ-MARCOS, D.; MIGUEL GUERRA-EDUARTE, J. "Evaluación de indicadores de eficiencia en cultivares de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) de la Empresa Agroindustrial Azucarera Ciudad Caracas". *ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 2023, **57**(2), 3-13. e-ISSN: 0138-6204. <https://www.revista.cidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2023/09/articulo-1-1.pdf>
5. VANDENBERGHE, L. et al. "Beyond sugar and ethanol: The future of sugarcane biorefineries in Brazil". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2022, **167**, 112721. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112721>
6. JAMIR, L. et al. "Composition, valorization and therapeutical potential of molasses: a critical review". *Environmental Technology Reviews*. 2021, **10**(1), 131-142. DOI: <https://doi.org/10.1080/21622515.2021.1892203>
7. GEREMEW, M. et al. "Review on the application, health usage, and negative effects of molasses". *Journal of Dietary Supplements*. 2024, **22**(1), 2321984. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2321984>
8. ZOHRI, A. N. A.; SALIMAN, F. M.; IBRAHIM, O. M.; AZIZ, A. M. A. "Deterioration of sugarcane molasses during storage and its effect on ethanol fermentation efficiency in distillery factories". *Egyptian Sugar Journal*. 2022, **18**, 32-39. DOI: <https://doi.org/10.21608/ESUGJ.2022.125012.1004>
9. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Determinación potenciométrica del pH, NC 711: 2009. La Habana. 2009.
10. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Miel Final - Determinación de sólidos aerométricos disueltos, NC 709:2009. La Habana. 2009.
11. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Miel Final - Determinación de ceniza total, NC 709:2009. La Habana. 2009.
12. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Miel final - Determinación de lodos, NC 710: 2013. La Habana. 2013.
13. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Miel final - Determinación de azúcares reductores totales por el método de Lane y Eynon a volumen constante, NC 710: 2009. La Habana. 2009.
14. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. Norma Cubana Bebidas alcohólicas - Determinación del grado alcohólico en alcoholes, bebidas alcohólicas destiladas, vinos, licores, bebidas alcohólicas preparadas, cócteles y extractos hidroalcohólicos, NC 290: 2007. La Habana. 2007.
15. OTERO-RAMBLA, M. et al. "Producción de bioetanol a partir de mezclas de jugos-melazas de caña de azúcar". *ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* . 2009, **XLIII**(1), 17-22. e-ISSN: 0138-6204. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120657003.pdf>
16. LAMAS PÉREZ, Y.; DE ARMAS MARTÍNEZ, A.; ALBERNAS CARVAJAL, Y.; GONZÁLEZ SUÁREZ, E. "Análisis preliminar de la fermentación alcohólica utilizando mezclas de jugos de filtros, miel final y meladura". *Revista Centro Azúcar*. 2023, **50**(3), e1035. e-ISSN: 2223-4861. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2223-48612023000300035](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612023000300035)
17. VAMVAKAS, S. S.; KAPOLOS, J. "Factors affecting yeast ethanol tolerance and fermentation efficiency". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020, **36**, 114. e-ISSN: 1573-0972. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02881-8>

18. VAN-AALST, A. *et al.* "Pathway engineering strategies for improved product yield in yeast-based industrial ethanol production". *Synthetic and Systems Biotechnology*. 2022, **7**(1), 554-566. e-ISSN: 2405-805X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2021.12.010>
19. MICHELSEN, S.; VERCELLI, G.; CORDERO, O.; BACHMANN, H. "Spatially structured microbial consortia and their role in food fermentations". *Current Opinion in Biotechnology*. 2024, **87**, 103102. e-ISSN: 1879-0429. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2024.103102>
20. RAVIKUMAR, G. *et al.* "A review on ethanol tolerance mechanisms in yeast: Current knowledge in biotechnological applications and future directions". *Process Biochemistry*. 2024, **138**, 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.12.024>
21. MARRIAGA, N. "Indicadores de desempeño de la destilación de bioetanol". *Dyna*. 2009, **159**, 85-92. e-ISSN: 2346-2183. DOI: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49611945010>
22. PEREIRA, R. A; *et al.* "A new methodology to calculate the ethanol fermentation efficiency at bench and industrial scales". *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 2020, **59**(30), 12939-12946. e-ISSN: 1939-1242. DOI: <https://doi.org/10.1002/iecr.10052>
23. LIN, N.; XU, Y.; YU, X. "Overview of yeast environmental stress response pathways and the development of tolerant yeasts". *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. 2022, **2**, 232-245. e-ISSN: 2662-7663 DOI: <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00058-4>
24. MAICAS, S. "The Role of Yeasts in Fermentation Processes". *Microorganisms*. 2020, **8**(8), 1142. ISSN: 2076-2607. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>
25. RUSSELL, I.; STEWART, G. "Distilling yeast and fermentation". En: Russell, I; Stewart, G. G. y Kellersohn, J. (Eds). *Whisky and Other Spirits: Technology, Production and Marketing*. Third Edition. Academic Press, 2021, pp. 213-236. ISBN: 978-0-12-822076-4 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822076-4.00030-9>
26. ALCÁNTARA, G. U. *et al.* "Brazilian "Flex Mills": Ethanol from Sugarcane Molasses and Corn Mash". *BioEnergy Research*. 2020, **13**(1), 229-236. e-ISSN: 1939-1242. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10052-3>

## DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERESES

No se declaran conflictos entre los autores

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

**Yans Guardia Puebla:** concepción de investigación, interpretación de datos y escritura.

**Dileynis Suárez Salazar:** adquisición e interpretación de datos y escritura.

**Lázaro Eduardo Valdés Izaguirre:** adquisición e interpretación de datos.

**Robinson Hermosilla Espinosa:** adquisición e interpretación de datos.

**Quirino Arias Cedeño:** interpretación de datos, escritura y revisión final de artículo.