Diseño y construcción de un Biorreactor Batch con control automatizado y su aplicación para el estudio de procesos de fermentación en la industria vitivinícola

Luis Cárdenas Lucero

Resumen

El objetivo del proyecto es lograr la medición de variables y el control automatizado en un proceso biotecnológico de fermentación alcohólica, tendiente a lograr la optimización y replicabilidad en cuanto a calidad de los productos y en la eficiencia económica del proceso de producción de mostos fermentados, para la obtención de vinos y pisco. En la fermentación es donde se generan los componentes volátiles y aromáticos que definen la calidad del pisco. Este proceso se lleva a cabo en un período de 4 a 8 días hasta el descube, constatándose a nivel de bodegas que el control de las variables como son la densidad, ph y temperatura del mosto se realiza en forma manual, registrándose además la ocurrencia de temperaturas en el rango 28 a 32ºC o superiores; que si bien no paralizan el proceso fermentativo tienen efecto negativo por la pérdida del aroma del mosto producido, siendo recomendable mantener la temperatura debajo de los 20° C durante todo el proceso. Para dar solución a la problemática expuesta, se inició la primera etapa del proyecto con un diagnóstico del nivel tecnológico de la fermentación; procediéndose luego al diseño en AUTOCAD y posterior construcción de un biorreactor con sistema de control automatizado de las variables: temperatura, ph, ºBrix, densidad y nivel de oxígeno. Para la prueba del biorreactor, se adquirió 500 Kg de uva variedad quebranta del valle de Mala; procediéndose luego a comparar la fermentación en forma simultanea: método tradicional (control de las variables temperatura, grados ºBrix en forma manual) y haciendo uso del biorreactor (control de las variables en línea de temperatura, Ph, ºBrix, densidad y nivel de oxigeno). El proceso fermentativo tuvo una duración de 6 días, habiéndose determinado en esta prueba preliminar, que el mosto fermentado de uva

quebranta obtenido en el biorreactor automatizado, presenta una mejora de un 25% en relación con el sistema tradicional (referido al grado alcohólico del mosto fermentado).

Palabras Clave: *Biorreactor, sensor, automatización, fermentación, control, proceso, vinos.*

Abstract

The objective of this project is automation and variables measurement in an alcohol fermentation biotechnological process aiming to optimize and replicate quality product production and increase economic efficacy of the production of fermented grape juice for wine and pisco manufacturing. Fermentation is the process responsible for generation of the volatile and aromatic components defining pisco quality. The process takes four to eight days before distillation. Currently, variable control (density, pH and temperature) is manual with a temperature range of 28 to 32 °C and even larger, which does not interrupt fermentation but jeopardizes product quality due to loss of aromatic components. A maximum temperature of 20 °C is desirable. In order to solve the problem, the project was developed in three stages. First, a diagnosis of the technological level of the fermentation process, proceeding to design the process using AUTOCAD and the construction of a bioreactor with automated control for: temperature, pH, ºBrix, density and oxygen level. In order to test the reactor, 500 Kg of quebranta grape from the Mala valley were acquired. The sample was divided in two: a control sample to which the traditional method was applied (manual control of variables) and a second sample with the bioreactor automated control system. Fermentation process occurred over 6 days and the results show the grape juice obtained from the bioreactor yield a 25% improvement over the traditional method (in terms of alcohol contents of fermented grape juice).

Key words: *Bioreactor, sensor, automation, fermentation, control, process, wine.*

INTRODUCCIÓN

En la actualidad nos encontramos frente a una nueva «Revolución Industrial» llamada Biotecnología, basada en la capacidad de los microorganismos de producir fármacos, compuestos químicos industriales, combustibles o alimentos; mecanismos que con la intervención de científicos puede ser orientada y controlada con fines específicos.

Según la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos, la biotecnología es la aplicación de los principios científicos y de la ingeniería al procesamiento de materiales por agentes biológicos para proveer bienes y servicios.

Un biorreactor o fermentador, pieza central de estos procesos, se define como «aquel dispositivo que proporciona un medio ambiente controlado que permite el crecimiento eficaz de las células y la formación de un producto». El medio ambiente adecuado que proporciona un

biorreactor, tiene que tener niveles óptimos de temperatura, ph, sustrato, sales, y oxígeno, para así convertir las materias primas en productos específicos de interés.

Consideramos que los procesos biotecnológicos en el país tienen una gran potencial económico a corto y mediano plazo, sin embargo a pesar del creciente interés en el tema, los estudios básicos y la calidad en los procesos de producción están limitados por la carencia de equipos con la tecnología adecuada para su monitoreo y control automatizado.

Por dar un ejemplo, en los últimos años se ha intensificado la promoción, producción y comercialización del Pisco, bebida tradicional del país y producto de bandera. Esto ha originado una intensificación en los estudios de investigación y en cursos de actualización en las áreas relacionadas principalmente con la verificación de la calidad del producto obtenido.

A pesar de esto, la producción está determinada por la tradición y el empirismo de los productores ya que los estudios sobre el proceso de fabricación del pisco y, en particular el estudio en los procesos de fermentación de la industria vitivinícola no han sido abordados hasta la actualidad con la intensidad que merecen, no sólo para lograr una excelencia en la producción del Pisco, sino también, a futuro, para obtener un tipo de vino que pueda ser indentificado como el del país. Por otro lado, el aporte del estudio de las levaduras nativas, permitirá revalorar esta fortaleza en la fabricación de productos con denominación de origen.

Impacto esperado

En la primera etapa de desarrollo del proyecto, el disponer de un biorreactor con agitación mecánica, alimentación de oxígeno y medición y control automatizado de las principales variables de proceso, incidirá profundamente en los estudios de fermentación de mostos de uvas, pronosticando mayor desarrollo de la actividad pisquera del país en base a innovación tecnológica, que permitirá un mejor posicionamiento con base en calidad y precio.

Usuarios directos e indirectos

Se beneficiarán con el resultado de la innovación tecnológica :

1. Las «Bodegas Técnicas Artesanales», que son productores artesanales «líderes»: (3000-5000 litros de producción), así como las empresas vitivinícolas (+ de 50,000 litros de producción), que utilizan alta

tecnología y son empresas que producen generalmente vinos y pisco.

2. Los investigadores y estudiantes universitarios de carreras como: biología, química, ingenierías química, industrial, alimentaria y agrícola, farmacia y bioquímica.

Marco teórico y estado del arte de la fermentación en la actividad pisquera

Existen biorreactores continuos y por lotes. Estos últimos tienen ventajas para los programas de investigación básica y aplicada por el bajo costo de su operación y por la facilidad de trabajar con cantidades variables de sustrato. Los biorreactores o fermentadores con agitación mecánica consisten de un tubo cilíndrico con un agitador en el fondo o en la parte superior siendo los más usados debido a su fácil operación, confiabilidad y duración.

Los procesos que cumplen estos biorreactores son los de homogeneización, para mantener la temperatura y distribución de las concentraciones de las diferentes sustancias uniformes. El biorreactor tendrá un serpentín interno que permitirá controlar la temperatura del sustrato dentro de los límites deseados.

La instrumentación y control de un biorreactor requiere de sensores que midan las variables de un proceso fermentativo, y sistemas que ajusten el equipo a un punto óptimo de operación. Idealmente, los sensores deben de estar en línea, para medir las propiedades físicas, químicas y biológicas del cultivo. Se está considerando la medición y control en: temperatura, ph, grados Brix, presión parcial de oxígeno y anhídrido carbónico.

El caso de aplicación en la primera etapa, es la fermentación alcohólica de mostos de uvas con el fin de obtener pisco. Los vinos y piscos se obtienen a partir de la fermentación de sus jugos, los cuales tienen cantidades diferentes de azúcares principalmente glucosa y fructuosa y de otras sustancias que le dan las características propias de cada variedad.

Existen ocho tipos de uva consideradas pisqueras entre las que destacan: quebranta, italia, uvina y torontel.

La fermentación alcohólica es la transformación de los azúcares presentes en el jugo de las uvas por los microorganismos presentes en él. Así en este caso tenemos que considerar los procesos metabólicos que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1
Procesos metabólicos en la fermentación alcohólica

SUSTRATO	MICROORGANISMO	PRODUCTO
Azúcares	***Saccharomyces cerevisiae***	Etanol + CO_2
Ácido málico	***Bacteria Láctica***	Ácido Láctico
Etanol	***Acetobacteria o Gluconobacteria***	Ácido Acético

El desarrollo y avance de cada reacción estará determinada por diversos factores tales como: la cinética del crecimiento microbiano, la composición del sustrato, la temperatura, el ph del medio, el contenido de oxígeno disuelto, el tiempo de fermentación, la acidez, el contenido alcohólico etc., mencionando además que existen diversos tipos entre las clases señaladas anteriormente y que los mismos microorganismos pueden mutar de acuerdo al medio.

Otros temas a considerar son: fermentación tradicional y controlada, así como la presencia de metanol en los fermentos. La fermentación tradicional con levaduras nativas tiene como ventaja obtener pisco y vinos propios de la zona, con características que los hacen insustituibles, donde no se garantiza la replicabilidad del producto. Con la fermentación controlada se evita dicho problema.

Esto hace que el estudio sea complicado y requiera de un equipo multidisciplinario de investigadores y de los equipos e instalaciones que permitan el estudio en condiciones lo más cercanas posible a la fabricación industrial.

Este tipo de estudios biotecnológicos están siendo enfrentados en el estudio de los procesos vitivinícolas en países como Estados Unidos, Australia, Francia y Chile, sin embargo en Perú, a pesar de los contactos establecidos con otras instituciones, no encontramos que se haya abordado este tema con la intensidad que se requiere.

Objetivos del proyecto en su primera etapa

El propósito principal es el diseño y construcción de un biorreactor batch con control automatizado y su aplicación para el estudio de procesos de fermentación en la industria vitivinícola. Para este proyecto se han trazado dos objetivos principales:

1. El diseño y construcción de un biorreactor automatizado multipropósito, el cual permitirá no sólo controlar las variables de los diferentes procesos biotecnólogicos involucrados en el estudio, sino

también permitirá un monitoreo en línea permanente, con las enormes ventajas que eso proporciona en el estudio de la evolución de la población microbiana y en sus procesos de fermentación.

2. Estudio básico de los procesos de fermentación para la fabricación del pisco peruano, de la selección de los microorganismos, así como de los parámetros en los procesos de crecimiento poblacional y los procesos metabólicos de fermentación, que permitirán en un futuro optimizar el proceso en tiempo y economía.

MÉTODO

1. PRIMERA ETAPA

- Búsqueda bibliográfica extensa y actualizada, así como contactos con grupos interesados en el tema.
- Visita técnica a bodegas representativas a fin de evaluar prototipos de fermentadores en actual uso.
- Diseño del biorreactor en sus consideraciones mecánicas: dimensionamiento, materiales a utilizar, sistema de agitación, sistema de intercambio de calor.
- Diseño de los sistemas de medición y control electrónico: selección de sensores, tarjetas de adquisición de datos.
- Construcción del biorreactor multipropósito.
- Prueba de funcionamiento del biorreactor.

Para la evaluación del funcionamiento del biorreactor con control automatizado de variables se desarrolló la siguiente metodología:

- Llevar a cabo el proceso fermentativo de una variedad de uva pisquera por el método tradicional y haciendo uso del biorreactor automatizado diseñado y construido por la Escuela de Ingeniería Industrial.
- Se contactó con un productor de uva de la localidad de Mala, a fin de disponer de 500 Kg de uva quebranta.
- Se implementó en el Taller de Ingeniería Industrial la línea de extracción y fermentación tradicional y de fermentación utilizando el biorreactor construido; llevándose a cabo los procesos fermentativos en forma simultánea con repetición.

- La agitación y control de las variables se llevó a cabo en forma manual en el proceso tradicional. En el proceso mejorado (haciendo uso del biorreactor) estos controles se llevaron a cabo en forma automatizada.
- En ninguno de los proceso de fermentación llevados a cabo en el experimento se usó levadura externa ni nutrientes.

En cada uno de los procesos de fermentación (tradicional y utilizando el biorreactor con sistema de control automatizado) llevados a cabo se evaluó:

- Respecto al zumo extraído: º Brix.
- En el proceso de fermentación: ºBrix, ph y temperatura durante el periodo de fermentación (6 días).

Equipos y Materiales

a. Fase de extracción de jugo y acondicionamiento:
   - Balanza de plataforma
   - Recipientes de plástico
   - Pulpeadora de acero inoxidable
   - Tamizadora
   - Prensa hidráulica
   - Refractómetro

b. Fase de Fermentación Tradicional
   - Probetas graduadas
   - Termómetro
   - Mostímetro
   - Cinta de ph

c. Fase de Fermentación utilizando el biorreactor
   - Sensor de temperatura LM335
   - Sensor de ph digital
   - Refractómetro en línea

2. SEGUNDA ETAPA

- Identificación de «levaduras nativas» de uvas pisqueras y determinación de las curvas cinéticas de la fermentación: contenido de azúcar, grados alcohólicos, población microbiana, pH, etc. contra el tiempo.
- Elaboración de informes parciales y finales.
- Transmisión de los resultados obtenidos a los responsables de procesos de fermentación de bodegas representativas asi como a investigadores involucrados en la actividad.

RESULTADOS

Visita y contacto con personal responsable de bodegas representativas

Con la finalidad de conocer la infraestructura usada en la actualidad en el proceso fermentativo para la obtención de pisco y vinos, así como de establecer el nivel tecnológico, se llevaron a cabo visitas a bodegas representativas como es el caso de Tacama, «El Tabernero», Nueva Generación, El Chino así como las instalaciones del CITEvid.

En el marco de lo expuesto se puede concluir, que en el proceso de fermentación existen mayores problemas de orden tecnológico y de infraestructura física que en el proceso de destilación. Las bodegas no disponen de mecanismos de control de las variables del proceso, mismas que realizan manualmente y en base a la experiencia; llevándose a cabo en función de las condiciones climáticas y « bondades» del conjunto de levaduras que se desarrollan en forma natural en las uvas. Existen excepciones como es el caso de Tacama y El Tabernero.

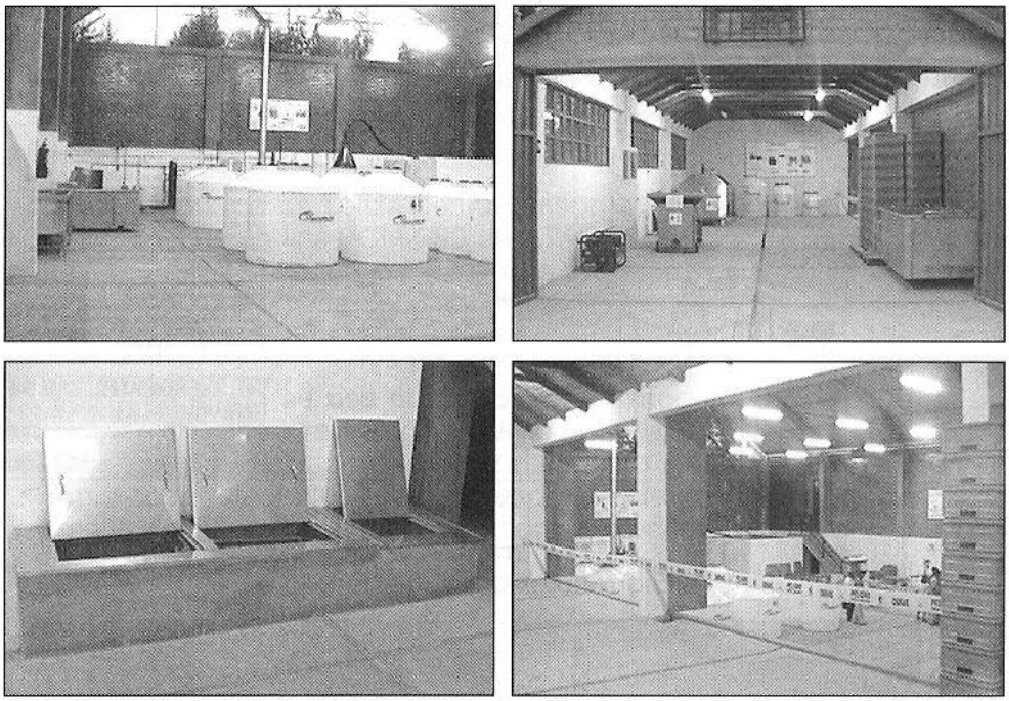
Diseño del biorreactor en sus consideraciones mecánicas y de capacidad de funcionamiento.

Teniendo en cuenta que la Escuela de Ingeniería Industrial de la USMP diseñó y construyó en el período 2002-2003, un destilador con automatización del control de variables de proceso con capacidad de carga de 60 litros; se consideró oportuno dimensionar la capacidad del biorreactor para el funcionamiento en línea a nivel de planta piloto, en 90 litros de mosto de carga efectiva.

Con la finalidad de lograr uniformizar la temperatura y la aireación en el biorreactor se diseñó e instaló un agitador de paletas de 45 rpm. Para el mantenimiento de la temperatura del mosto en valores preestablecidos conforme a las necesidades se cuenta con una unidad de generación de agua fría y/o caliente; además de un serpentín interior.

El material de construcción del equipo y de sus accesorios es de acero inoxidable.

Figura 1
Área de Fermentación de Mostos de Uva del CITEvid



En el diseño del equipo se han considerado puntos de entrada para la instalación de mecanismos y accesorios de control de variables del proceso en línea, como es el caso de: ph, temperatura, de nivel de presencia de oxígeno, de CO_2, de grados brix y de densidad .

En las Figuras 2 y 3 se presenta, respectivamente, el plano del fermentador elaborado en AUTOCAD en el Taller de la Escuela de Ingeniería Industrial de la USMP (con sus especificaciones técnicas y puntos de acoples de accesorios.) y el equipo construido.

Figura 2
Diseño en Autocad del Biorreactor

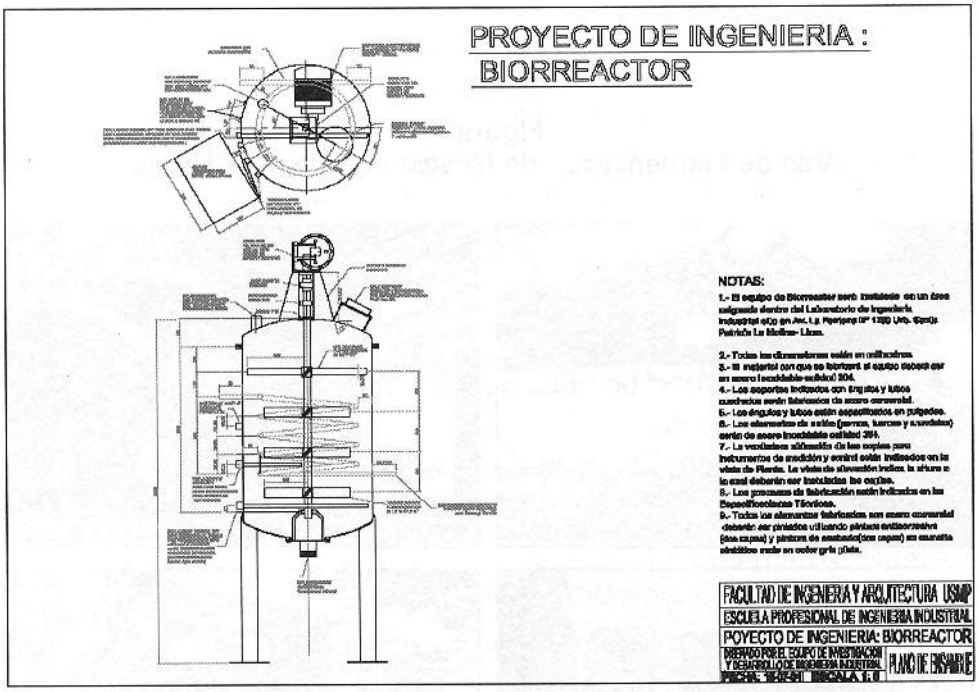
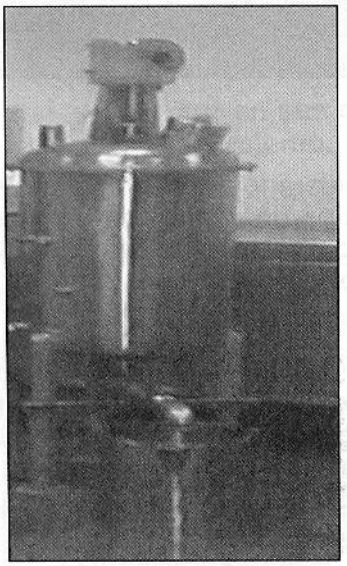
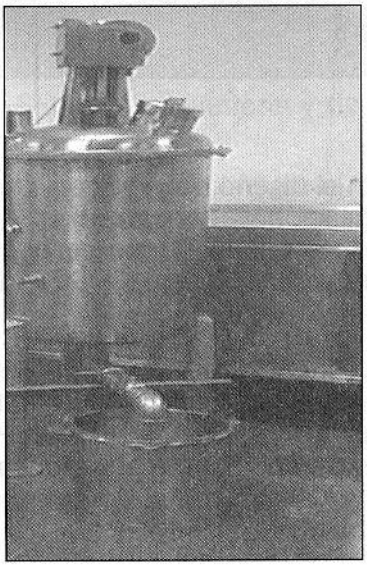


Figura 3
Biorreactor construido





Diseño de la automatización del biorreactor.

El desarrollo del módulo de automatización comprende tres etapas:

1. Control y monitoreo de la temperatura

   En esta etapa se utiliza el sensor de temperatura LM 335 que entrega la información de la temperatura actual al microcontrolador que es comparada con un valor de referencia programada aproximadamente de 16 °C, con esta información el microcontrolador acciona el mecanismo de control encargado de la apertura de las electro válvulas de agua fría y caliente dependiendo de las condiciones del proceso.

2. Monitoreo y registro de grados brix.

   En esta etapa se utiliza como sensor y registrador un monitor de grados brix en línea CM 780 de ATAGO cuyo fundamento físico se basa en la refracción de la luz que produce la sustancia al pasar a través de un prisma del dispositivo.

3. Monitoreo y registro del ph

   En esta etapa se usa el sensor de ph modelo OPF11 que es un electrodo cuyo rango de operación es de 0 a 14. Este sensor proporciona el grado de acidez del mosto y entrega información al microcontrolador para su correspondiente visualización y registro en la memoria de la tarjeta de control o en la PC.

Componentes del equipo

1. Panel de visualización y control

   Este panel es importante ya que en él se encuentran los dispositivos que permiten visualizar el valor de los parámetros del sistema, la señalización de funcionamiento de las partes en un momento específico y los dispositivos que permiten al usuario realizar la programación del equipo.

2. Dispositivos de señalización

   En el panel se tiene lámparas señalizadoras de Neón que permiten indicar la activación o desactivación de los dispositivos que controlan el funcionamiento de las paletas de agitación, cierre y apertura de electro válvula de agua fría (refrigerador), apertura y cierre de la electro válvula de agua caliente (calefactor) y la bomba dosificadora que envía la muestra del mosto al refractómetro en línea.

3. Dispositivos de Comunicación

En el panel de control además se tiene un conector DB9, para la interconexión con la PC para los reportes. Asimismo una salida para el buzzer indicador sonoro de las ocurrencias en el sistema.

4. Tarjeta de Control

La tarjeta de control está formada por:

1 microcontrolador PIC 16F87

1 conector para el teclado

2 conectores para las pantallas del LCD

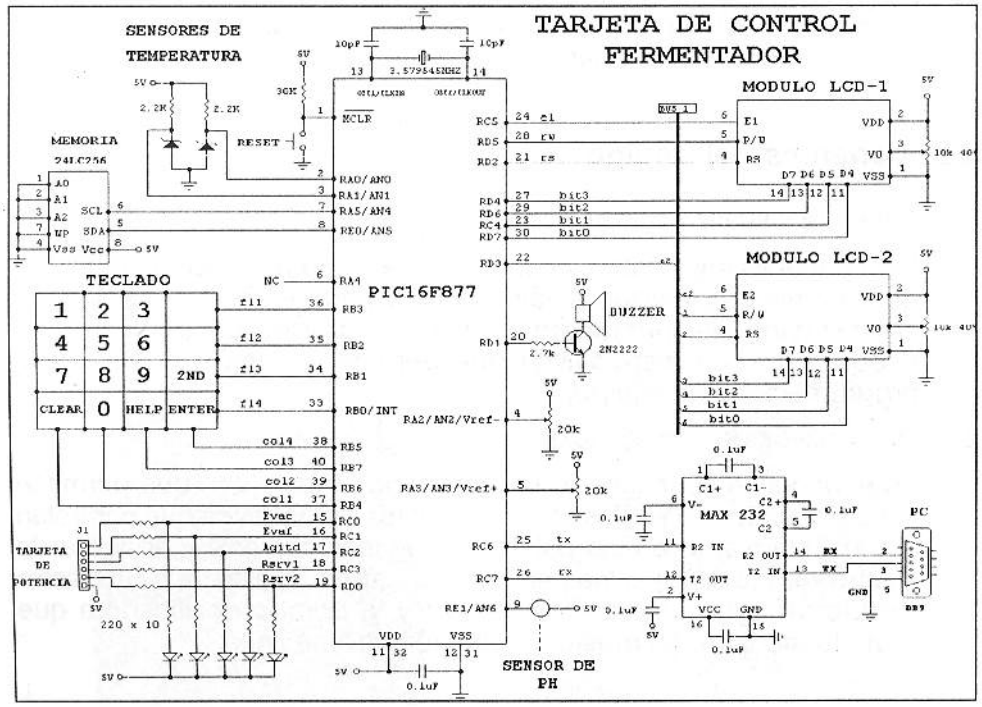
1 memoria serial

1 circuito integrado Max232 para la comunicación con la PC

1 circuito integrado chip calendario

1 conector para un buzzer.

Figura 4
Tarjeta de control de fermentador



5. Tarjeta de potencia

   La tarjeta de potencia (Figura 5) está formada por:

   Opto TRIACs

   TRIACs

   Otros componentes adicionales.

6. Tarjeta de la fuente de alimentación

   Esta formada por: Transformador, diodos, filtros, reguladores y condensadores (Figura 6).

7. Tarjeta Acondicionadora de Ph

   Esta formada por: Amplificadores operacionales TLO82, resistencias, condensadores, potenciómetros y diodo Zener. Esta tarjeta cumple la función de acondicionamiento de la señal entregada por el sensor de ph al nivel adecuado que el microcontrolador requiere.

Figura 5
Diagrama de la tarjeta de potencia.

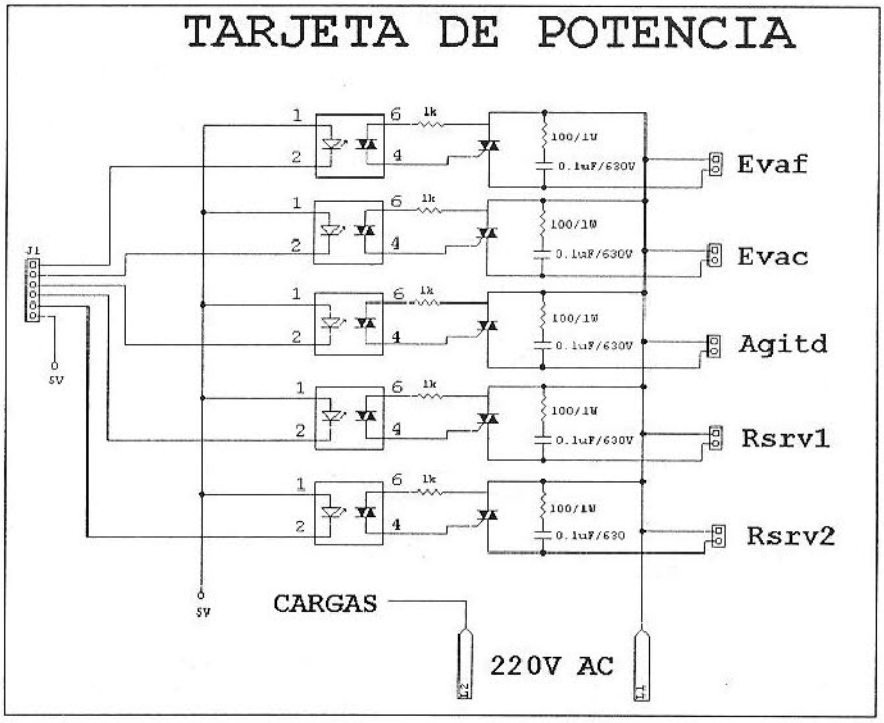
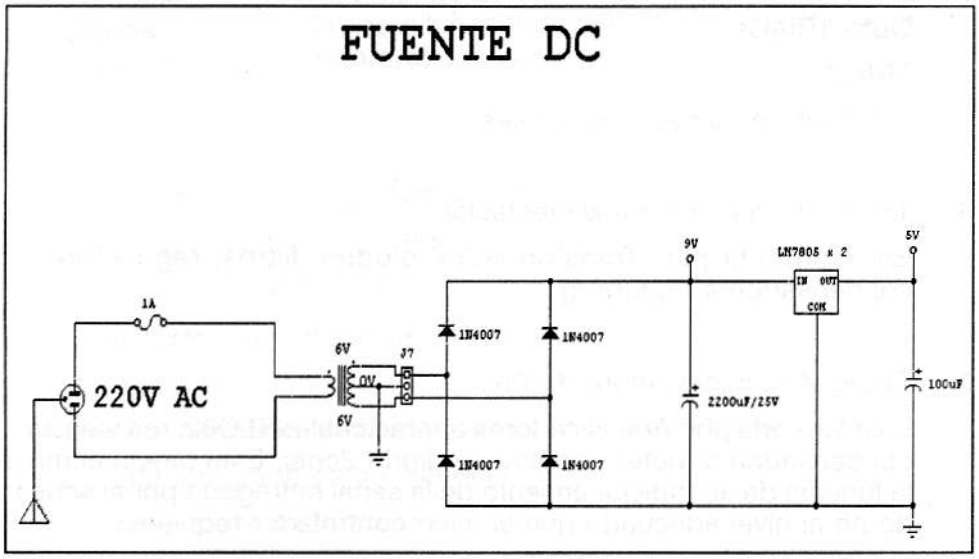


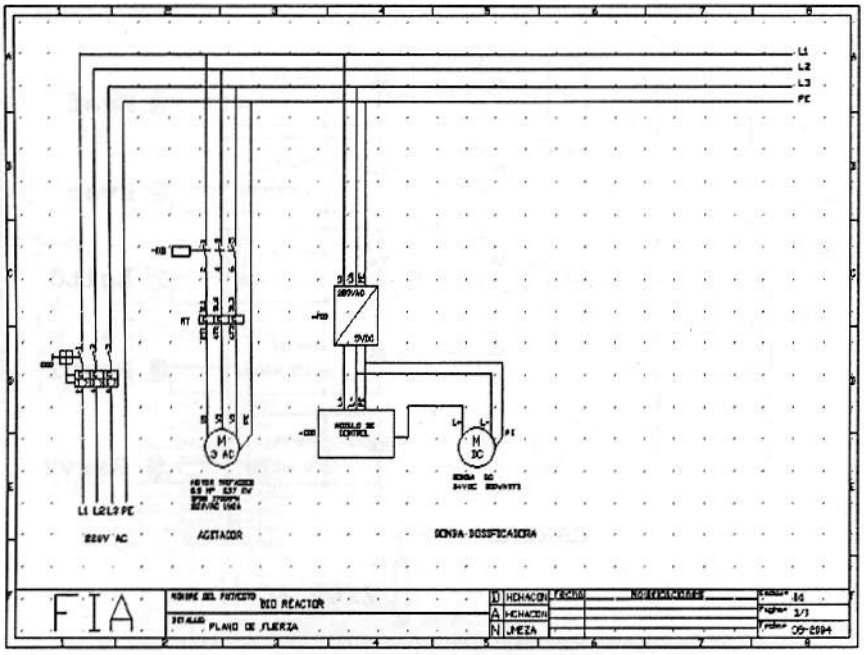
Figura 6
Tarjeta de la fuente de alimentación



8. Sistema Eléctrico

Conexiones

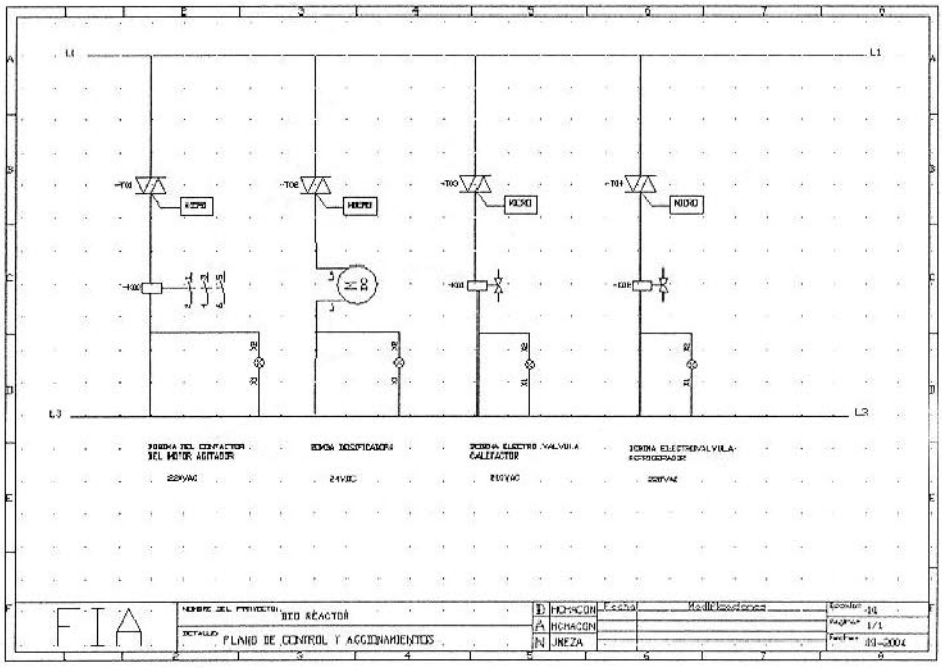
Figura 7



La toma de energía eléctrica de la red se realiza mediante el enchufe industrial para 15 Amp. IP45 de 3P+T, el cual está conectado con un cable vulcanizado 14 AWG 3P+T hasta una llave térmica trifásica que es la protección del sistema, la llave térmica es de 9 Amp. Se toma dos líneas monofásicas hacia la fuente que alimenta al sistema de control.

Accionamientos

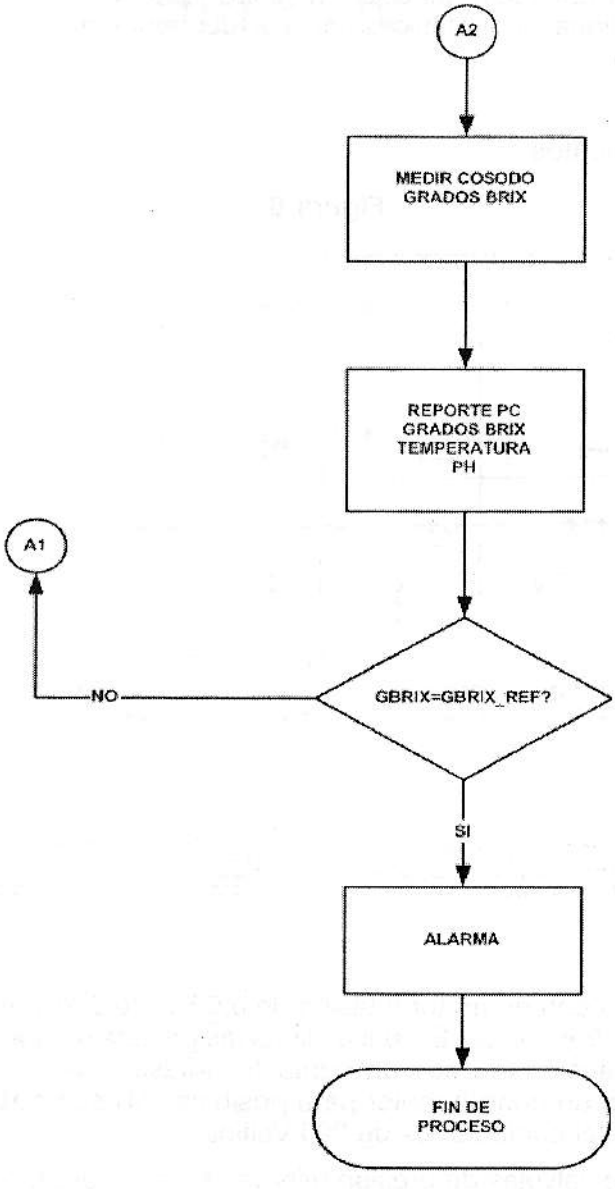
Figura 8



Se conecta con un motor trifásico de 0,5 HP de 220 V AC de voltaje a 60 Hz de frecuencia. El cual acciona las paletas de agitación, dicho motor es accionado con un contactor trifásico de 9 Amp. El cual cuenta con un guarda motor para posibles sobrecargas. Asimismo, la bobina del contactor es de 220 Voltios.

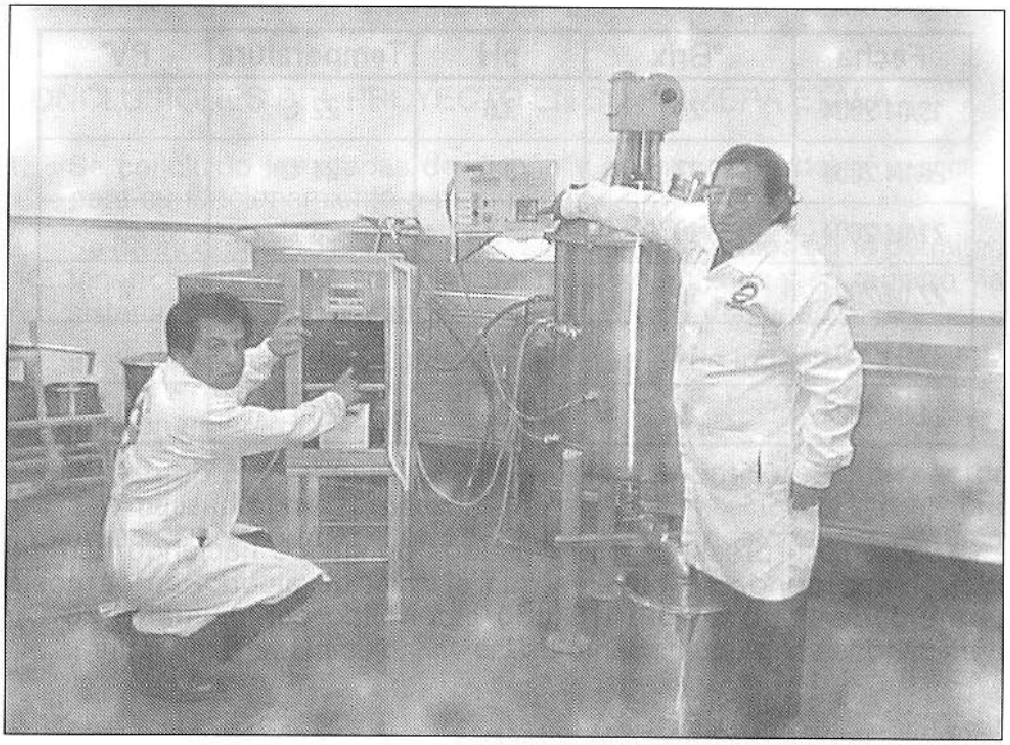
Las electro válvulas de presión diferencial cero para tubo de ½" con rosca NPT, cuyas bobinas son de 220 V, una es destinada para controlar el paso de agua caliente y la otra para controlar el paso de agua fría.

Figura 9
Diagrama de flujo



En la Figura 10 se presentan el equipo fermentador con sus accesorios y equipos de control así como el sistema de control diseñado.

Figura 10
Equipo final



Evaluación del funcionamiento del biorreactor.

La Tabla 2 presenta los resultados obtenidos en la evaluación del proceso fermentativo por el sistema tradicional. Se puede apreciar la actividad de las levaduras autóctonas de la uva en el desdoblamiento de los azúcares, pasando de 24° Brix a 8° Brix.

En el proceso de fermentación se manifiesta el incremento de la acidez hasta de niveles de 3,0 lo que implica un aumento de la acidez volátil debido a la gran cantidad de oxígeno que hay en la masa. La concentración de alcohol en el mosto a partir del sexto día de fermentación se mantiene constante, lo cual se debería a que las levaduras se ven limitadas en su crecimiento por el grado alcohólico desarrollado, requiriéndose mayor tiempo de fermentación para llegar a 0, pero esto implicaría que empiece el predominio de bacterias y que se inicie la fermentación acética, lo cual no es recomendable.

Tabla 2.
Resultados de la evaluación de una fermentación realizada mediante el sistema tradicional.

Fecha	ºBrix	pH	Temperatura	PV*
19/04/2004	24	3.6	22°C	
20/04/2004	22	3.5	24°C	1
21/04/2004	18	3.4	26°C	3
22/04/2004	16	3.3	28°C	4
23/04/2004	14	3.2	26°C	5
24/04/2004	8	3	23°C	8

* = Grado alcohólico centesimal a 20°C

La Tabla 3 presenta los resultados obtenidos haciendo uso del biorreactor, donde se observa que el nivel de alcohol en el mosto fermentado llegó a 10PV (Grado alcohólico centesimal a 20ºC); apreciándose el mantenimiento de las variables pH y Temperatura.

Tabla 3
Evaluación de una fermentación realizada en el biorreactor.

Fecha	ºBrix	pH	Temperatura	PV*
19/04/2004	24	3.6	20°C	
20/04/2004	20	3.6	20°C	2
21/04/2004	16	3.6	20°C	4
22/04/2004	14	3.6	20°C	5
23/04/2004	10	3.6	20C	7
24/04/2004	4	3.6	20°C	10

* = Grado alcohólico centesimal a 20°C

El mayor nivel de alcohol en el mosto en el sexto día se debe al continuo movimiento del agitador que permite uniformizar la acción de las levaduras en la masa del mosto, lo cual no ocurre en el sistema tradicional.

CONCLUSIONES DEL PROYECTO EN SU PRIMERA ETAPA

1. Se concluido las etapas de diseño y construcción del biorreactor, para su funcionamiento a nivel piloto.
2. Se ha incorporado al biorreactor accesorios y equipos que permiten tener control de las variables del proceso en línea y su registro vía sistema de interfase: temperatura, ph, ºBrix y densidad .
3. El equipo se encuentra operativo en el Taller de Ingeniería Industrial de la FIA, donde se vienen llevando a cabo pruebas de funcionamiento.
4. En pruebas preliminares de funcionamiento del biorreactor automatizado en el proceso de fermentación, este reporta mejora en un 25% (respecto al grado alcohólico del mosto fermentado) en relación al proceso tradicional.

RECOMENDACIONES

Realizar coordinaciones con asociaciones de productores de uvas pisqueras a través de CITEvid, a fin de disponer de materia prima suficiente a partir de la vendimia 2005 (Febrero-.Abril), así como de los recursos económicos para los análisis de caracterización de mostos antes y después de la fermentación, y el desarrollo de la segunda etapa del proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍAS

Carberry, J. J. (1986). *Ingeniería de las reacciones catalíticas*. Buenos Aires: Editorial Géminis-McGraw-Hill.

Grosment & Bischoff (1995). *Chemical reactor : Analysis and Design.* Nueva York: John Wiley & Sons.