

Estudio de la etapa de fermentación en la producción de etanol orgánico

Study of the fermentation stage in the production of organic ethanol

Eliani Sosa-Gómez¹, Irenia Gallardo Aguilar¹, Yania Correa Cortés¹

¹Facultad de Química y Farmacia/Santa Clara/Cuba; ORCID 0000-0003-2257-7348

DOI: 10.70373/RB/2024.09.03.13

Resumen

Las producciones orgánicas han tomado gran auge en el mercado mundial. En esta investigación se estudia la obtención de alcohol etílico orgánico, empleando dos alternativas de acidificación. Se prescindió de nutrientes y ácidos inorgánicos para ajustar el pH del medio de fermentación. La materia prima empleada fue la miel orgánica de caña de azúcar, la levadura fue la *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada y los acidificantes fueron un cultivo mixto de lacto-bacterias y un concentrado orgánico de jugo de naranja. Se empleó el software Statgraphics Centurion XV.II para la planificación y procesamiento de los experimentos. Comenzó el proceso con la etapa de pre-fermentación, sin cultivo de levadura. Los mejores conteos celulares con $345 \cdot 10^6$ cel/ml se obtuvieron con el concentrado de cítrico, mayor concentración de sustrato y de levadura. En la etapa de fermentación, los mejores resultados se alcanzaron con un grado alcohólico de 7 % vol, con concentración del sustrato en el fermentador de 18°Brix y relación de inoculación de 30 %. Es posible eliminar la etapa de cultivo de la levadura sin afectar la eficiencia y calidad del proceso, al obtener resultados adecuados en los parámetros medidos.

Palabras clave: 1 acidificante; 2 etanol; 3 fermentación; 4 levadura; 5 miel orgánica.

Abstract

Organic production has become very popular in the world market. In this research, the production of organic ethyl alcohol is studied, using two acidification alternatives. Nutrients and inorganic acids were not used to adjust the pH of the fermentation medium. The raw material used was organic sugar cane honey, the yeast was freeze-dried *Saccharomyces cerevisiae* and the acidifying agents were a mixed culture of lacto-bacteria and an organic orange juice concentrate. Statgraphics Centurion XV.II software was used for planning and processing the experiments. The process started with the pre-

fermentation stage, without yeast culture. The best cell counts with 345,106 cells/ml were obtained with the citric concentrate, higher substrate and yeast concentration. In the fermentation stage, the best results were achieved with an alcoholic strength of 7 % vol, substrate concentration in the fermenter of 18°Brix and inoculation ratio of 30 %. It is possible to eliminate the yeast culture stage without affecting the efficiency and quality of the process by obtaining adequate results in the parameters measured.

Key words: 1 acidifier; 2 ethanol; 3 fermentation; 4 yeast; 5 organic honey.

Introducción

Conscientes de los fuertes impactos ambientales que ha venido enfrentando el planeta en los últimos 30 años, se ha generado en la sociedad una nueva tendencia de consumidores que marcan una revolución que va de la mano con el uso responsable de los recursos naturales y promueven una cultura sostenible ¹.

Estas producciones orgánicas alcanzan un elevado precio en el mercado internacional, destacándose Europa como principal productor. Los sectores más destacados son las hortalizas, frutas y los cereales. Los altos precios de estos productos y en especial el azúcar, se deben a que estos poseen una mayor cantidad de vitaminas y minerales y no están contaminados por ningún producto químico. El azúcar ecológico es un producto de características especiales: muy pura, de un grano fino, casi de color blanco y de la cual se puede obtener etanol orgánico ².

Las cadenas de suministro orgánico se han vuelto cada vez más complejas, lo que lleva a casos documentados de fraude orgánico y deficiencias en la supervisión ³.

Desde la década de los 90 Cuba viene trabajando por lograr una agricultura cada vez más ecológica u orgánica, menos dependiente de los costosos insumos de productos químicos y basada en el desarrollo científico-técnico en aras de alcanzar una verdadera racionalidad ecológica y sustentabilidad económica ⁴.

La producción de caña de azúcar orgánica y sus derivados surge como una estrategia del país, teniendo en cuenta el incremento de la demanda de estas producciones a nivel internacional, sus altos precios, así como los beneficios que proporcionan desde el punto de vista ambiental, por la no

utilización de productos químicos contaminantes, la no quema y el uso racional de residuos agroindustriales que permiten cerrar el ciclo productivo ⁴.

En Cuba, los primeros pasos por desarrollar las producciones orgánicas se han dado en la industria azucarera, con la producción de azúcar orgánica. La más avanzada de éstas, se realiza en la Empresa Agroindustrial Azucarera “Carlos Baliño” de Villa Clara, aunque también se han procesado cosechas ecológicas en la Planta Piloto “José Martí” de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. De dicho proceso, se obtiene también miel orgánica, una excelente materia prima para la obtención de etanol orgánico ⁵.

La producción de alcohol etílico se realiza convencionalmente por vía fermentativa de fuentes azucaradas, se estudian materias primas de bajo costo como los residuos lignocelulósicos, cultivos agrícolas con alto contenido de almidón, algas y otras fuentes, las cuales son degradadas por la acción de los microorganismos^{6,7,8}.

El proceso está formado por tres etapas principales⁹: la etapa de cultivo o propagación de la levadura, la fermentación con dos subetapas, prefermentación y fermentación, siendo la fermentación la etapa principal del proceso pues, en ella es donde se produce el etanol deseado y por último la destilación y rectificación, para separar el etanol del agua y del resto de las impurezas que lo acompañan y obtener el producto final, con la menor cantidad de impurezas, de acuerdo a la calidad del etanol a obtener, por ejemplo, en la producción de aguardiente el nivel de impurezas como esteroides, alcoholes superiores aldehídos, etc., son superiores a los de etanol fino ⁹. Otros autores incluyen una cuarta etapa, la de preparación de la materia prima en dependencia de la fuente de la materia prima; como es el caso de almidones a partir de maíz para alcohol de primera generación(1G) y de materias lignocelulosicas para etanol de segunda generación(2G)¹⁰, que necesitan acción de catalizadores como son las enzimas exógenas para la hidrólisis. Si se produce etanol como combustible se incluye una quinta etapa de deshidratación.

Otra variante que se ha puesto en práctica con éxito en varias destilerías cubanas, consiste en eliminar la etapa de cultivo e iniciar el desarrollo de levadura en el pre-fermentador, utilizando como inóculo o iniciador cierta cantidad de levadura liofilizada. Este método tiene la ventaja de eliminar todo el

proceso de laboratorio de preparación de inóculo y cultivo, cosa que es de particular importancia cuando no se disponen de los medios técnicos y humanos apropiados¹¹.

La certificación orgánica es la garantía de que un cultivo se manejó siguiendo las normas de la producción orgánica. Porque cuando el consumidor observa el sello de la agencia certificadora lo reconoce y le da la confianza de que el producto es orgánico. La certificación es útil al consumidor, pero también es útil al productor, porque le ayuda a vender mejor sus productos diferenciados^{13,23}.

La producción de alcohol etílico con la denominación de orgánico, prescinde del empleo de diversos compuestos químicos que son empleados tradicionalmente para la producción de etanol en las destilerías del país. Tal es el caso del sulfato de amonio, fosfato de amonio y nutrientes para levaduras, empleados para favorecer el crecimiento de biomasa en las etapas de propagación. Asimismo, se evita el empleo de ácido sulfúrico u otros, con el objeto de disminuir el pH del medio y controlar la contaminación bacteriana.^{13,14}

Se reportan estudios previos para la obtención de etanol orgánico empleando cultivos mixtos de *Saccharomyces cerevisiae* y lacto bacterias a partir de un inóculo al 1 % v/v. El sustrato empleado como medio de propagación es la miel orgánica previamente clarificada y diluida hasta un contenido de azúcares reductores totales (ART) de 30 g/L. Luego se incrementa el volumen del medio, variando la razón de inoculación. El crecimiento y la multiplicación de los microorganismos dependen del valor alimenticio del medio, de las condiciones físico-químicas del cultivo, de la composición fisiológica de este (edad) y de las formas de contacto entre las fases¹⁵.

Correa y colaboradores estudiaron la obtención de etanol orgánico, variando la concentración de azúcares y sin desarrollar la etapa de cultivo de la levadura¹³.

Teniendo todo esto en cuenta la presente investigación tiene como objetivo:

Estudiar la obtención de etanol orgánico, empleando dos alternativas de acidificación.

Materiales y métodos

Para el desarrollo de este estudio se empleó como materia prima miel tipo B la cual se caracterizó para evaluar sus parámetros y conocer su composición en base a azúcares. Los resultados se muestran

en la Tabla 1. La que presenta resultados diferentes a estudios reportados con mieles finales de caña de azúcar¹⁴

La levadura empleada fue la *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada la cual ha sido empleada históricamente a nivel mundial en la producción de alcohol etílico ofreciendo resultados satisfactorios

15.

Tabla 1. Caracterización de la miel orgánica B

Parámetros	Valor
Brix	86,12
Pol (%)	50,16
Pureza (%)	58,24
Reductores totales (%)	62,75
Reductores normales (%)	13,13
Reductores invertidos (%)	49,62
Sacarosa real (%)	47,12
Azúcares totales (%)	60,27
Cenizas (%)	9,78

Las alternativas estudiadas de acuerdo a los acidificantes fueron:

- ✓ Un cultivo mixto de bacterias: Proveniente de un medio lácteo compuesto por *Lactobacillus acidophilus* y el *Streptococcus thermophilus*. Este cultivo fue desarrollado a partir de una pastilla liofilizada para la obtención de bioyogurt, leche en polvo diluida hasta garantizar un total de Sólidos no grasos en un intervalo de 9–9,4 y una densidad aproximadamente a 1,036 g/L. Se incubó de 4-5 horas a 43 °C y posteriormente se refrigeró 24 horas, listo para ser usado.
- ✓ Un jugo concentrado de cítrico orgánico: El mismo presentó especificaciones tales como: sólidos solubles (°Brix) 65,0 + 0,5, acidez valorable (% ácido cítrico) 2,0 – 7,0, aceite esencial (ml/l) 0,090 máx, ácido ascórbico 200 mg/l mín, pH 4,5 máx., sodio 30 (mg/l) máx y potasio 1300-2500 mg/l. Se realizaron pruebas iniciales para observar la influencia de la adición de estos acidificantes en el pH de las mieles diluidas para 10 y 13 °Brix. Con estas pruebas se corroboró que ambos productos

disminuyen el pH de la miel diluida, y se pudo determinar la cantidad de cada acidificante a añadir para que el pH ajustado, esté en el valor entre 4,2 y 4,5 para el trabajo de la levadura.

Para la producción de etanol orgánico fue necesario efectuar el estudio en dos etapas: pre-fermentación y fermentación. Las variables y niveles estudiados fueron tomados de los estudios realizados por ¹³ y por ^{2,15}

Para la pre-fermentación se realizó un diseño experimental factorial multinivel 2^3 con réplicas a cuatro experimentos al azar, empleando las variables independientes reflejadas en la tabla 2. Las variables respuestas que se analizaron fueron el tiempo de pre-fermentación (h), el grado alcohólico ($^{\circ}$ GL) y el número de células (10^6 cel/ml).

La pre-fermentación se desarrolló en condiciones aeróbicas. Primeramente, se diluyó la miel con agua destilada hasta el $^{\circ}$ Brix establecido para cada ensayo, luego se añadió el acidificante correspondiente a cada experimento y se midió el pH en un pHmetro de marca HANNA pH 213. Posteriormente, se esterilizaron las muestras en una autoclave de marca LDZM-80KCS para eliminar todos los microorganismos indeseados. La etapa se controló, dando seguimiento al brix de la batición y se concluyó cuando este descendió a la mitad más uno de su valor inicial¹⁷.

De acuerdo al análisis de esta etapa, se fijaron las mejores condiciones y se procedió al desarrollo de los experimentos en la etapa de fermentación. Se hizo un diseño experimental factorial multinivel 2^2 con un punto central empleando las variables independientes reflejadas en la tabla 2 y fijando un tiempo de fermentación de 30 horas de acuerdo a ¹³ citado en ². La variable respuesta analizada fue el grado alcohólico en porcentaje en volumen ($^{\circ}$ GL).

Para la planificación y procesamiento de los resultados de los experimentos y estudiar la influencia de cada una de las variables independientes sobre las variables respuestas se empleó el software Statgraphic Centurion XV. II. El diseño experimental quedó de la manera mostrada en la tabla 2

Tabla 2. Variables y niveles empleados

Variables independientes (Pre-fermentación)	Niveles	Variables independientes (Fermentación)	Niveles
--	----------------	--	----------------

Tipo de acidificante (X ₁)	Lacto-bacterias (+) Concentrado de cítrico (-)	Relación de inoculación (X ₁)	30 % (+) 15 % (-)
Concentración de sustrato en el pre-fermentador (X ₂)	13°Brix (+) 10°Brix (-)	Concentración del sustrato en la fermentación (X ₂)	18°Brix (+) 14°Brix (-)
Concentración de la levadura en la pre-fermentación (X ₃)	3,0 g/L (+) 2,5 g/L (-)	-	-

Resultados

Etapa de pre-fermentación

Durante la pre-fermentación se observó un descenso del Brix, un aumento de células y un pH cercano al intervalo establecido. Los resultados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la etapa de pre-fermentación

Exp	Inicio			Final				
	Brix	pH	N° de células 10 ⁶ cel/ml	Brix	pH	N° de células 10 ⁶ cel/ml	°GL	Tiempo
1(+++)	13	4,76	195	7	4,20	320	2,45	17h-55min
2(++-)	13	4,53	125	8	4,59	190	3,31	18h-15min
3(+++)	10	4,77	165	6	4,00	180	2,45	17h-55min
4(--+)	14,6	4,57	145	8,3	4,38	315	3,31	22h-30min
5(+--)	10	5,38	185	6	4,79	165	1,34	21h-45min
6(--+)	12,3	4,37	175	7	4,29	265	3,02	14h
7(--+)	15	4,51	105	8,5	4,63	345	3,90	16h-55min
8(---)	11,2	4,43	105	6,6	4,56	270	3,31	21h
9(--+)	10	4,81	120	5	4,33	200	2,45	18h
10(---)	10	4,82	100	6	4,35	170	1,06	23h-30min

11(+++)	12	4,09	155	7	4,12	305	3,00	14h-15min
12(+++)	12	4,10	115	7,5	4,28	255	3,30	21h-15min

Al analizar los resultados obtenidos, se observa que el experimento 7 ofreció los mejores resultados, donde se empleó como acidificante el concentrado cítrico. En este experimento se obtuvo el mayor conteo celular y grado alcohólico en un tiempo aceptable y en los intervalos de pH establecidos entre (4,4-4,8)²⁰.

Efectuando una comparación con los estudios realizados por ², quien realizó sus experimentos con y sin lacto-bacterias, se aprecia que los mejores resultados se obtuvieron para los experimentos sin lacto-bacterias, por lo que se puede decir que el mejor conteo celular con $345 \cdot 10^6$ cel/ml se obtuvo con el concentrado de cítrico.

Se obtuvo un conteo celular factible de acuerdo a la Figura 1 ya que 11 reportan que el pre-fermentador debe alcanzar una población de levadura de unos 150 millones de células por mililitro y todos los experimentos arrojaron valores superiores a este valor. Con este resultado se corrobora que no es necesaria la etapa de desarrollo de cultivo empleada por ², puesto que se obtiene el número de células deseadas.

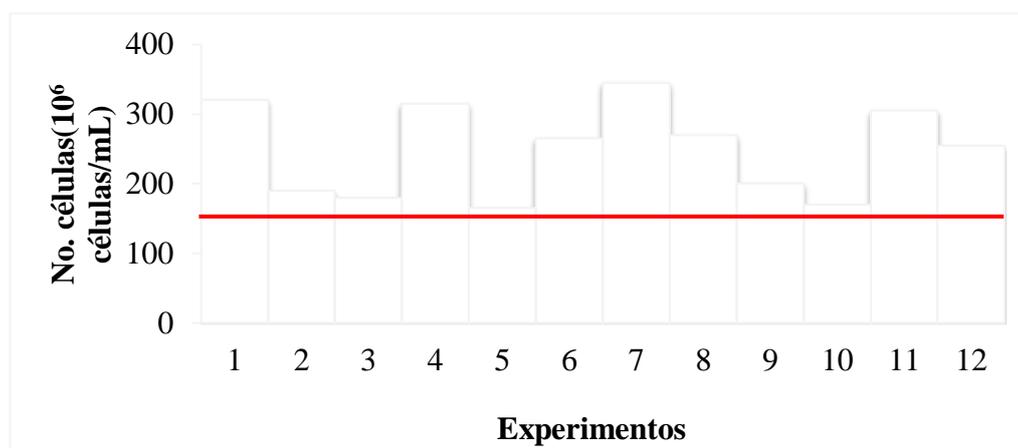


Figura 1. Comportamiento del conteo celular en cada experimento

Análisis estadísticos de los resultados obtenidos

De acuerdo con el análisis estadístico se obtuvieron las ecuaciones que se ajustan a los modelos de cada variable respuesta estudiada. Los Diagramas de Pareto muestran la influencia de las variables

independientes. El comportamiento del tiempo de pre-fermentación se explica a partir del modelo de la ecuación 1 con $R^2=81,6 \%$

$$\text{Tiempo} = 1131,25 - 32,5 * X_1 - 6,25 * X_2 - 128,125 * X_3$$

(1)

El Diagrama de Pareto de la figura 2 muestra la existencia de un parámetro significativo: la concentración de levadura la cual influye de forma negativa, es decir de forma inversa. Esto se debe a que mientras mayor sea la población de células en el medio mayor será el consumo de azúcares en el tiempo¹¹.

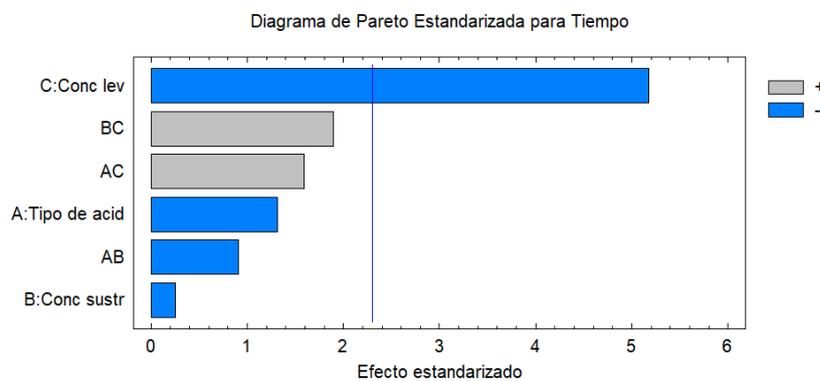


Figura 2. Relación entre el tiempo de pre-fermentación y las variables: tipo de acidificante, concentración de sustrato y concentración de la levadura

Para el número de células se obtuvo el modelo mostrado en la ecuación 2 con $R^2=92,8 \%$:

$$N^{\circ} \text{células} = 255,313 - 39,0625 * X_1 + 29,065 * X_2 + 23,4375 * X_3$$

(2)

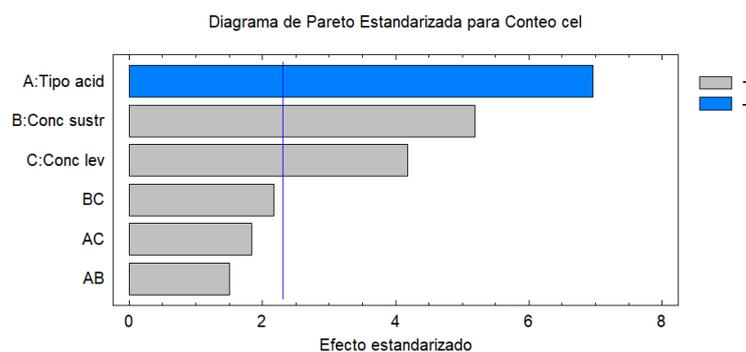


Figura 3. Relación entre el número de células y las variables: tipo de acidificante, concentración de sustrato y concentración de la levadura

El Diagrama de Pareto de la fig. 3 muestra la existencia de tres parámetros significativos: el tipo de acidificante que influye de forma negativa, la concentración de levadura y la concentración del sustrato que influyen de forma positiva. Se aprecia que, el número de células se favorece empleando el concentrado de jugo de naranja y aumentando la concentración de levadura y la concentración de sustrato, esta última incrementa la cantidad de nutrientes y de azúcares contenidos en la miel, favoreciendo de esa forma el desarrollo de la levadura en el medio y que constituye la única fuente de nitrógeno para la levadura,

Para el grado alcohólico se obtuvo el modelo mostrado en la ecuación 3 con $R^2=76,8\%$.:

$$\text{Grado alcohólico} = 2,83 - 0,55 * X_1 + 0,33875 * X_2 + 0,08 * X_3$$

(3)

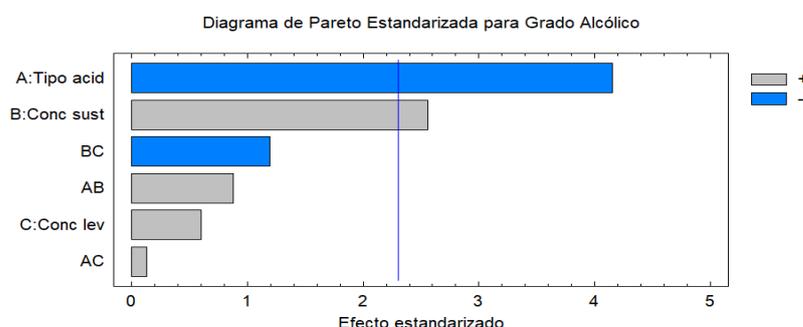


Figura 4. Relación entre el grado alcohólico y las variables: tipo de acidificante, concentración de sustrato y concentración de la levadura

En el Diagrama de Pareto de la fig. 4 se aprecia la existencia de dos parámetros significativos, la concentración del sustrato la cual influye de forma positiva y el tipo de acidificante de forma negativa. Aunque el propósito fundamental de la etapa de pre-fermentación es la propagación de la levadura, es inevitable la formación de alcohol etílico, pero el grado alcohólico alcanzado entre 2,5- 3,5 % v/v, es algo superior al reportado para esta etapa por Rodríguez², en el rango de 1,9 -3,3 %v/v, lo que pudiera provocar un efecto de inhibición de la levadura, lo cual es necesario continuar estudiando. Para evitar este suceso sería necesario un suministro lento y progresivo de azúcar, proporcionado a la velocidad con que la levadura es capaz de consumir los Azúcares fermentables.

Etapa de fermentación

Como se dijo para la etapa de fermentación se tomó el mejor experimento obtenido en la pre-fermentación. Los resultados obtenidos para esta etapa, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la etapa de fermentación

Inicio				Final				
	Brix	pH	N° de células 106 cel/ml	Brix	pH	N° de células 106 cel/ml	°GL	Tiempo
Pre-fermentador								
	13,5	4,64	100	7,5	4,54	200	4,50	17h15min
Exp	Fermentador							
1(++)	15,5	5,27	-	9,5	5,24	-	7,08	30h
2(--)	13,5	5,55	-	9	5,32	-	6,41	30h
3(+/-)	12,5	5,21	-	8,4	5,17	-	5,76	30h
4(++)	15,5	5,26	-	7,5	4,68	-	5,13	30h
5(00)	14,3	5,35	-	9,3	5,02	-	6,09	30h

* Los brix iniciales en el fermentador fueron los obtenidos de las mezclas de pre-fermento con el brix de la solución preparada

Los mejores resultados se obtuvieron para el Experimento 1 en el cual se observa el mayor grado alcohólico, aunque todos los experimentos tuvieron valores de grado alcohólico superiores a 5 °GL o por ciento volumen. El experimento de peores resultados resultó ser el experimento 4 con el grado alcohólico más bajo, lo que parece indicar que hubo azúcares que no se convirtieron por ser menor el volumen de pre-fermento y por tanto de levaduras en el fermento.

En la tabla 5 se muestran también varios parámetros que se determinaron para evaluar la calidad de la fermentación, parámetros determinados por balances de mezclas, utilizando el software Excel.

Análisis estadísticos de los resultados obtenidos

Se obtuvo la ecuación que ajusta el modelo de la variable respuesta estudiada y el Diagramas de Pareto que muestra la influencia de las variables independientes

Para el grado alcohólico se obtuvo el modelo mostrado en la ecuación 4.

$$\text{Grado alcohólico} = 6,09 + 0,325 * X_1 + 0,65 * X_1 * X_2 \quad (4)$$

El Diagrama de Pareto fig. 5 refleja la existencia de dos parámetros significativos, la interacción entre la relación de inoculación y la concentración del sustrato y la relación de inoculación, ambas de forma positiva. Esto significa que se ve favorecido el grado alcohólico cuando ambas variables tienen iguales niveles, ya sea ambas variables con alto nivel o bajas, lo cual es lógico, pues se emplea un número de células adecuadas a la cantidad de sustrato a utilizar y de la cantidad de nutrientes contenidos en la miel que se añade.

Tabla 5. Parámetros de calidad medidos en la fermentación

Exp	ART inicial (g/L)	ARTfinal (g/L)	Vol. Final (L)	Eficiencia (%)	Rendimiento (Y P/S) (%)	Prod. (g/L-h)
1	146,11	70,15	0,700	74,99	74,25	1,9
2	126,70	66,12	0,600	78,60	83,19	1,68
3	118,56	61,28	0,625	75,45	78,53	1,5
4	161,11	54,02	0,750	49,57	37,53	1,34
5	138,20	68,53	0,600	68,50	68,97	1,60

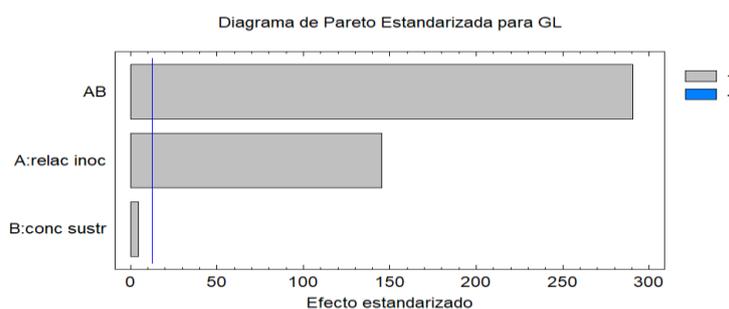


Figura 5. Relación entre el grado alcohólico: relación de inoculación y concentración de sustrato.

Puede apreciarse en el Experimento 2, donde las variables están en los niveles mínimos, que el contenido alcohólico es también muy bueno, sin embargo el Experimento 4, que es el de mayor contenido

de azúcares de partida y donde mayor es el consumo de ART, es el de menor grado alcohólico y el de menor rendimiento de producto sustrato, lo que demuestra que hubo sustrato que no se aprovechó, al igual que en el resto de los experimentos, ya que los rendimientos son bajos, por lo que se puede aumentar la relación de inoculación. Se obtienen valores adecuados para la productividad por ser un trabajo de laboratorio ¹¹.

Discusión

De los resultados obtenidos en ambas etapas de la fermentación, puede apreciarse que los niveles seleccionados para las variables fueron adecuados, obteniéndose los mejores resultados con el concentrado de cítrico como acidificante, la mayor concentración de azúcares 13 Brix en la pre-fermentación, coincidiendo con Correa y para la mayor concentración de levadura, trabajando en el fermentador con 30% de vol de inoculación y la mayor concentración de azúcares dando el mejor grado alcohólico con valor de 7,08 % volumen o °GL, comparados con los obtenidos por Rodríguez² trabajando con la misma relación de inoculación en el fermentador.

En los demás parámetros medidos en la fermentación, se aprecian resultados aceptables en cuanto a eficiencia en el rango de 68-78,6 %, rendimiento producto/sustrato con valores entre 68,9-83,2 % y en la productividad con valores entre 1,5-1,9 (g/L-h), excepto en el experimento 4 de resultados más bajos en todas las variables medidas

Conclusiones

Es viable la eliminación de la etapa de cultivo en el proceso para alcanzar conteos celulares entre 165-345. 10⁶ células/mL, superiores a los que se plantean de 150 millones, directamente en la etapa de pre-fermentación, lo cual tendría un impacto económico positivo por concepto de ahorro de tiempo, trabajo y recursos, al eliminarse esta etapa del proceso.

La mejor alternativa a emplear es el concentrado de jugo de naranja en la pre-fermentación, pues se logra mantener el pH en los intervalos requeridos y se logra un desarrollo celular favorable en comparación con los experimentos realizados con lactobacterias. En la etapa de fermentación se obtuvieron adecuados resultados en los parámetros medidos al proceso fermentativo: con grados alcohólicos entre 5,13 -7,08 % v/v, rendimiento alcohol/sustrato de 68,9-83,2 %, eficiencia entre 68-78,6 % y productividad entre 1,5-1,9 (g/L-h), variables que se encuentran cercanos a los obtenidos en las destilerías cubanas en los procesos convencionales.

Referencias

1. FAO. Organic Agriculture: Preguntas frecuentes sobre agricultura orgánica. 2018.
<http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq8/es/>
2. Rodríguez Ovalle, A. Evaluación de una propuesta tecnológica para la obtención de etanol orgánico en la destilería “Santa Fe”, perteneciente a la UEB Derivados “Heriberto Duquesne”. Tesis de Grado, Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, Cuba, 2016.
<https://1library.co/document/yevr9d0z-evaluacion-propuesta-tecnologica-obtencion-destileria-perteneciente-derivados-heriberto.html>
3. Tucker, J.2023. Introducción a la Norma Final de Fortalecimiento del Cumplimiento Orgánico (SOE por sus siglas en ingles). USDA Agricultural Marketing Service (AMS) National Organic Program (NOP)
4. [Buedo, Mayelin. 2011.](#) Las Producciones Orgánicas como Oportunidades de Negocio para el Central Carlos Baliño. Enfermería [Online], vol. 33. Available: <http://www.re-dalyc.org/pdf/1052/105215401002>.
5. García, R. Cultivo mixto en el desarrollo de la fermentación para la producción de alcohol orgánico. Tesis de Grado, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba, 2006.
6. Alonso-Gómez L, Alexis , Bello-Pérez L. Arturo. Materias primas usadas para la producción de etanol de cuatro generaciones: retos y oportunidades. Agrociencia, Vol.52, No.7, 2018.https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000700967
7. De Armas Martínez, A; Quintero Dallos, V.; Kafarov, Viatcheslav V.; Rodríguez Rodríguez, L.; González Suárez, E. Valoración desde la vigilancia tecnológica de la contribución de las algas a una biorefinería. Centro Azúcar, Vol. 41, Núm. 4, 2014. http://centroazucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/269
8. Fasioli Silva, Rebeca , Mascarenhas, Maria do Socorro 1, Batistote Margareth. Biomass: bioethanol transformation and production process. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, Vol. 9, No. 4, oct./dec.2022.
<https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/7089/5237>

9. Vergel- Alfonso,A.A.; Acosta Martínez,D.R; Arencibia Sanchez , J.A; Rodriguez Felix,F; Reyes Delgado, Y;Gonzalez Morales,R,V; Benitez Sanchez,R; Gonzalez Bravo,A,L; and Tapia Hernandez ,J,A. "Engineering Implementation of the Acosta Fermentation Method to obtain Cuban Schnapps with reduced concentrations of higher alcohols." (22 mayo 2024). <https://doi.org/10.3390/pr12061064>.
10. Arijana Bušić, Nenad Mardetko, Semjon Kundas, Galina Morzak, Halina Belskaya, Mirela Ivančić Šantek, Draženka Komes, Srđan Novak, and Božidar Šantek ,Bioethanol Production from Renewable Raw Materials and Its Separation and Purification: A Review. Food Technology and Biotechnology 56 (3) 289-311 (2018) Review ISSN 1330-9862. doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5546 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6233010/>
11. Montero Oviedo, K. "Estudio de una alternativa tecnológica para la producción de etanol orgánico". Tesis de Grado, Universidad Central "Marta Abreu " de Las Villas, Cuba, 2019. <https://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/19/>
12. Márcio Daniel Nicodemos, Thais Suzane Milessi, Rafael Garcia Candido, Adriano Aguiar Mendes, André Aguiar. Enzymatic catalysis as a tool in biofuels production in Brazil: Current status and perspectives. Energy for Sustainable Development. Volume 68, June 2022, Pages 103-119 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0973082622000412>
13. Orozco,S.2011. MANUAL PARA FAMILIAS PRODUCTORAS: CERTIFICACIÓN ORGÁNICA. PASO A PASO. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) Turrialba, Costa Rica. Materiales de extensión no. 7
14. Correa, Y., Rodríguez, I., & Gallardo, I.. Primeros estudios sobre la obtención de alcohol orgánico o ecológico. Centro Azúcar, Vol. 32, No. 1, 2005, pp 30-38.
15. **Vega Raisa**. Caracterización de mieles finales de ingenios guatemaltecos y su incidencia en la pérdida de miel final, zafra 2019-2020. CENGICAÑA: Memoria Presentación de resultados de investigación Zafra 2019 – 2020

16. Organic Food Production Act.(OFPA). 2021. Subcapítulo M: Disposiciones de la LEY DE PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS ORGÁNICOS. www.ecfr.gov.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Bu%C5%A1i%C4%87%20A%5BAuthor%5D>
17. Lamas, Y., De Armas, A., Albernas, Y., González, E. Análisis preliminar de la fermentación alcohólica utilizando mezclas de jugo de los filtros, miel final y meladura. Centro Azúcar Vol. 50 No. 3. 2023. Online ISSN 223-4861. <http://scielo.sld.cu>
18. Cervantes, Y. T.. Análisis del comportamiento de la etapa de fermentación alcohólica en la destilería ALFICSA. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba. 2010. <https://1library.co/document/q2nkvojq-analisis-comportamiento-etapa-fermentacion-alcoholica-destileria-alficsa.html>
19. Suárez-Machín, Caridad; Garrido-Carralero, Norge Antonio; Guevara-Rodríguez, Carmen Amarilys. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, Vol. 50, No 1, enero-abril, 2016, pp. 20-28. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
20. Ojeda, R. Propuesta de introducción de la tecnología de obtención de alcohol orgánico en la destilería del CAI "Heriberto Duquesne". Tesis de Grado Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba, 2005. <https://1library.co/subject/destileria-de-heriberto-duquesne>
21. Larrazabal, Mariano. ¿Qué son los productos orgánicos? Alimentos ecológicos y saludables. Agromarketing bialar. Gobierno de México. 2018. <https://www.bialarblog.com/productos-organicos-ecologico/>
22. Ruiz-Marín Alejandro, Canedo-López Yunuén, Narváez-García Asteria, Robles-Heredia J. Carlos. Producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis* Coinmovilizadas: propuesta para el uso de desechos orgánicos. Agrocienza, Vol. 50, No.5 pp. 551-563. 2016. <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952016000500551&script=sc>
23. "What to know about organic ethanol." julio 2024. <https://www.ethimex.com/knowledge-articles/what-you-should-know-about-organic-ethanol/>.

/ **Received:** 24 June 2024 / **Accepted:** 28 August 2024 / **Published:** 15 September 2024 /

Citation: Sosa-Gómez, E., Gallardo-Aguila, I., Correa-Cortés, Y. Estudio de la etapa de fermentación en la producción de etanol orgánico. *Bionatura*. **2024**; Volume (9). No 3.

Peer review information: Bionatura thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>

All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately after publication, without subscription charges or registration barriers.

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)