

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y MANUFACTURERA



"PRODUCCION DE ALCOHOL ETILICO Y VINAGRE
A PARTIR DE LA FERMENTACION BACTERIANA
DEL PLATANO"

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUIMICO

PRESENTADO POR:

LUIS ALBERTO TO SHIKI MATAYOSI
FREDY VICENTE HUAÑA SOCANTAYPE

LIMA-PERU

1993

PRODUCCION DE ALCOHOL ETILICO Y VINAGRE A PARTIR DE LA
FERMENTACION BACTERIANA DEL PLATANO

CAPITULO I : INTRODUCCION

1.1 Planteamiento del problema

2.1 Conclusiones

CAPITULO II : ESTUDIO DE LA MATERIA PRIMA

2.1 Descripción

2.2 Morfología General

2.3 Cultivares de Plátano existentes en el
Perú y América

2.4 Clones de Plátanos cultivados en el país

2.5 Composición Químicas del Plátano

CAPITULO III : FERMENTACION BACTERIANA

3.1 Definición

3.2 Clases de fermentación bacteriana

3.2.1 Fermentación anaeróbica

3.2.2 Fermentación aeróbica

3.3 Microorganismos en la fermentación
alcohólica y acética

3.3.1 Características del microorganismo

3.3.1.1 Características generales de
la levadura

3.3.1.2 Características generales
de la bacteria acética

3.3.2 Elección del microorganismo apropiado

3.4 Factores que afectan la fermentación
bacteriana

3.4.1 Temperatura

3.4.2 pH

3.4.3 Oxígeno disuelto

3.4.4 Nutrientes

CAPITULO IV : CINETICA DE LA FERMENTACION BACTERIANA

4.1 Introducción

4.2 Modelos Cinéticos de la Fermentación

4.2.1 Modelo cinético del crecimiento
celular

4.2.2 Modelo cinético del consumo de
sustrato

4.2.3 Modelo cinético de la formación del
producto

CAPITULO V : PRUEBAS EXPERIMENTALES

5.1 Método de cultivo de la levadura

5.2 Procedimiento experimental para la
obtención de alcohol y vinagre

5.2.1 Equipos experimentales

5.2.2 Método Experimental

5.3 Control de la fermentación alcohólica

5.3.1 Consumo de sustrato

5.3.2 Formación de producto

- 5.4 Determinación de los parámetros cinéticos
 - 5.4.1 Cálculo del (μ_{max}) y t_d
 - 5.4.2 Cinética del consumo de sustrato
 - 5.4.3 Cinética de la formación del producto
- 5.5 Control de la fermentación acética
- 5.6 Determinación del rendimiento

CAPITULO VI : TECNOLOGIA DE LA PRODUCCION DE ALCOHOL Y
VINAGRE

- 6.1 Tratamiento previo de la Materia Prima
- 6.2 Hidrólisis enzimática
- 6.3 Fermentación alcohólica
- 6.4 Acondicionamiento del mosto alcohólico
- 6.5 Fermentación acética
 - 6.5.1 Método Orleáns
 - 6.5.2 Método rápido "Quick"
 - 6.5.3 Método del Crecimiento Sumergido
- 6.6 Acabado del vinagre
- 6.7 Balance de Materia del proceso

CAPITULO VII : EVALUACION ECONOMICA DEL PROCESO DE OBTENCION
DEL VINAGRE

- 7.1 Introducción
- 7.2 Costo de Inversión
 - 7.2.1 Costo de Capital Fijo
 - 7.2.2 Costo de Capital de Trabajo
 - 7.2.3 Inversión Total
- 7.3 Costo de Producción

7.3.1 Costos Variables

7.3.2 Costos Fijos

7.3.3 Gastos Generales

7.3.4 Costo Total de Producción

7.4 Rentabilidad

APENDICE

BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I

1.- INTRODUCCION

1.1 Planteamiento

El presente proyecto de tesis tiene como base el desarrollo una técnica conocida desde tiempos antiguos que es el de la fermentación para obtener alcohol y ácido acético (vinagre comercial).

El enfoque del trabajo en los siguientes conceptos :

- a) El tratamiento desde el punto de vista biotecnológico.
- b) Utilización y aprovechamiento de los recursos naturales del medio.
- c) Estudio de pre-factibilidad técnico - económico de la producción de vinagre a partir de la pulpa del plátano.

El tratamiento desde el punto biotecnológico , es obtener en el laboratorio los parámetros que relacionan los diversos estadios conceptuales :la biología bioquímica y la ingeniería de procesos químicos.

La utilización de los recursos naturales o biomasa que se encuentra en abundancia en las regiones tropicales del país.

El plátano es una parte de esta enorme biomasa , es una de las frutas que más se cultivan en la Selva peruana siendo una fuente amilácea para la cual la biotecnología en este campo desarrolla alternativas energéticas, como es principalmente la obtención de alcohol ,para aten-

der a un mundo cada vez mas escaso de fuentes energéticas (básicamente petróleo).

El estudio de pre-factibilidad , enmarca un concepto más amplio que el que pueda observarse, porque implica la alternativa de una política de desarrollo agroindustrial , crear polos de desarrollo en zonas predominantemente rurales, utilización de biomasa que por razones de clima , vias de comunicación ú otros medios, no son adecuadamente aprovechadas.Hay también pues un carácter descentralista, que por las razones esgrimidas implica mayores fuentes de trabajo y de desarrollo social.

1.2 Conclusiones

- El proyecto es de carácter ecológico, pues la obtención de alcohol etílico vinagre y los desechos de este proceso no representa peligro alguno para el ecosistema.
- Para la fermentación alcohólica se ha utilizado la levadura *saccharomyces cerevisiae*, porque es un microorganismo de fácil manipulación y de bajo costo.
- Los parámetros cinéticos que se obtuvieron estan dentro de los estándares . Se considera por tanto aceptables.
- Los rendimientos dados en el proceso se consideran buenos ellos pueden ser mejorados en función de un menor costo económico de la producción.

- El proyecto no es factible económicamente, para la producción de alcohol etílico por evaluaciones primarias realizadas.
- El volúmen de producción de la planta (120,000 lt anuales) ,se consideró en función del monto de inversión de la planta (159,400 dólares americanos), para un período de 10 años y solamente el mercado nacional tiene una demanda de 540,000 lt de vinagre anuales.
- La producción de vinagre es factible técnica y económicamente tanto a pequeña o gran escala , lo cual implica organización desde micro-empresas hasta inversión de grandes capitales.
- La planta se ubicará en el valle del Huallaga , dentro de una política de Desarrollo Alternativo de zonas cocaleras para lo cual se piensa en un mercado seguro para los productos ya sea en los E.E. U.U. como en la Comunidad Económica Europea, en el credito blando de largo plazo por ejemplo los créditos de la AID (Agency International of Development) de los EE.UU., o en su defecto con financiamientos propios , el proyecto es válido para otras zonas de similares características geográficas.

1.3 Recomendaciones

- Conectar un equipo de computación mediante una interface a la salida en paralelo y un software apropiado, al fer-

mentador Bioflo IIC, para poder registrar automáticamente los parámetros de fermentación.

- Los parametros físicos que se han dado en el proceso, deben ser tomadas con precisión , para obtener un desarrollo óptimo de la levadura.
- Se recomienda hacer un mejor estudio al proceso de fermentación acética, en especial en la demanda de oxígeno óptima para las acetobacter.
- El agua potable utilizada para el proceso de fermentación debe ser preferiblemente desclorada , porque el hipoclorito tiene acción fungicida.
- Es preferible añadir levadura seca activada, en vez de la levadura contenida en un caldo Sabouraud, para el proceso de obtención de vinagre , por las propiedades y características organolépticas.
- En el proceso de fermentación alcoholica es necesario agitar cada cierto periodo de tiempo, para que la levadura sea mantenida en contacto con el sustrato.
- El proceso de separación del mosto alcoholico, por filtración debe ser mejorado y optimizado, igualmente por la decantación centrífuga, que es necesario utilizar un equipo cuyo motor genere mayor r.p.m., que a su vez producirá una mayor fuerza centrífuga y así aumentar el rendimiento.
- Es mejor procesar el plátano maduro , por su alto contenido de azúcares fermentables y tener una menor can-

tividad de almidón para hidrolizar.

- Este proceso es aplicable a otro tipo de frutas tropicales.
- Para una mayor rapidez y exactitud en la determinación cuantitativa , de etanol, azúcares y ácidos orgánicos, se utilizará un equipo HPLC (Cromatógrafo Líquido).

La evaluación técnico-económica se basa principalmente en los datos experimentales , a partir de un scale-up teórico , se recomienda entonces realizar una corrida a nivel planta piloto.

CAPITULO II

2. ESTUDIO DE LA MATERIA PRIMA

2.1 Descripción

La materia prima principal de nuestro proyecto lo constituye el plátano maduro.

El plátano es un frutal nativo del Sud Este asiático ,probablemente originado en una región situada entre la India y el este de la península Malaya.

El cultivo del plátano, debido a la amplia aceptación de su fruto y la facilidad con que se propaga por via vegetativa, ha alcanzado gran difusión en las áreas tropicales del mundo, donde constituye un elemento básico en la dieta de la población.

Esta especie frutal se encuentra difundida en casi cada uno de los ambientes tropicales y aun en zonas áridas; el plátano puede ser cultivado bajo riego, y por ello el abastecimiento de frutas se lleva a cabo en casi todo el año. (1)

Después de los cítricos, el plátano constituye la especie más importante en el comercio internacional de frutas, representando el sostén principal en la economía de muchos países. (2)

2.2 Morfología General

Los cultivares comerciales de plátano se caracterizan por tener una consistencia herbácea de cuyos tallos subterráneos surgen pseudo tallos aéreos. Estos están constituidos por las bases envolventes de las hojas en cuyo centro aparece después de cierto tiempo el eje floral. El tallo subterráneo reúne características de un rizoma y también de un cormo. En adelante el tallo subterráneo del plátano será mencionado como el cormo.

El cormo además del pseudotallo aéreo, subterráneamente da lugar a una o más yemas las mismas que a su vez originan otros cormos. La planta crece así en sentido longitudinal y radial de modo que en torno del primer pseudotallo hay varios brotes de diversas formas y edades. Uno o más pseudotallos cuyas hojas al inicio del crecimiento son angostas de acuerdo al manejo de la plantación formarán racimos; no así los denominados "hijuelos de agua" los que desde el inicio de su crecimiento presentan hojas anchas y cortas. Estos "hijuelos de agua" son eliminados en las labores de deshije.

El cormo original o central luego de la maduración de los frutos en el racimo se desintegra. Nuevos brotes se extienden en todas las direcciones formando pseudotallos cada vez más superficiales sobrepasando en mu-

chos casos el nivel del suelo.

En estas condiciones el anclaje de las plantas es precario tornándose susceptible a un fácil volcamiento delseudotallo después de cierta altura en su crecimiento. En plantaciones sujetas a un manejo tecnificado la práctica de deshije también llamado "raleo", "poda" o entresaque, que se efectúa cada 3 a 4 meses, permite el crecimiento vigoroso de pocas yemas laterales que forman ejes deseudotallos que sucesivamente producirán racimos comerciales. El cormo se compone básicamente de tejidos parenquimatosos en los que se distingue una región cortical más clara y un cilindro oscuro y compacto. La región cortical es angosta y está recorrida por haces que se dirigen en forma irregular hacia las hojas al cilindro central o directamente a las raíces. Las células parenquimatosas tienen alto contenido de almidón y taninos. Canales de mucílago están presentes en el cormo al igual que en las otras partes de la planta. El sistema vascular se distribuye en forma irregular dentro del cormo.

Elseudotallo es la parte aérea de la planta y estos están formados por las vainas envolventes de las hojas. El verdadero tallo aéreo que se eleva del cormo lleva numerosas hojas y termina en la inflorescencia. La forma y altura que alcanza elseudotallo varían según el cultivar; es ligeramente cónico casi cilíndrico y alcanza hasta más de 5m en el seda; corto, grueso y marcadamente cónico

en el "cavendish enano".

En la inflorescencia las brácteas que son caedizas a excepción de las 3 ó 4 primeras, poseen glomérulos florales en las axilas. Estas brácteas al extremo de la inflorescencia forman una masa compacta que recibe distintas denominaciones como "badajo", "bellota", etc.

El eje de la inflorescencia es cilíndrico en la parte superior y aristado en el resto; los glomérulos florales denominados "manos" aparecen ya sean en grupos aislados o en una espiral continua.

Cada glomérulo floral está formado de dos filas de flores con cuatro a ocho flores por fila colocada en posición alternada; la de una fila con las de la siguiente. Están las flores al principio adheridas al eje de la inflorescencia luego al desarrollarse en frutos conocidos comúnmente como "dedos" se separan y crecen en ángulos divergentes.

Las flores son de tres clases: pistiladas en los glomérulos iniciales que corresponden a las manos superiores del racimo; flores mixtas o hermafroditas en las cuales el ovario es corto y no se desarrolla ocupan la parte central del eje del racimo; y por último las flores estaminadas están localizadas en la parte terminal del racimo.

El fruto se desarrolla mediante el aumento en volumen de la pared de las tres celdas del ovario de las flores pistiladas. Los óvulos abortan y se ennegrecen y en poco tiempo los tejidos del pericarpio incrementan su grosor. La acti-

vidad de los canales de látex decrece a medida que se desarrolla el fruto hasta cesar a la madurez del mismo.

La forma y el color del fruto a la madurez varía según el cultivar. Existen frutos de color verde, amarillo, rojo bronceado, listado de amarillo y verde, etc.

La parte comestible que resulta del engrosamiento de las paredes del ovario comprende tejido paranquimatoso con células con un contenido alto de carbohidratos.

2.3 Cultivares de plátano en el Perú y América

El número total de cultivares de plátano se calcula aproximadamente en 300, de los que la mitad serían clones primarios y la otra mitad mutantes somáticos.

Los cultivares de plátanos existentes en el país y en las Américas se han originado de *Musa Acuminata* y de la mediante la formación de híbridos con *Musa Balbisiana*.

Un primer grupo comprende cultivares que se derivan de *Musa Acuminata*. Estos cultivares son :

- AA Plátano "moquicho" también conocido en otros países con los nombres de "azucarado", "bocadillo", "orito".
- AAA Plátanos "seda" o "gross michell" este es sub-grupo incluye a "cocos" e "highgate".

"Cavendish" este subgrupo comprende al "Cavendish enano" y "Cavendish gigante" habiendo entre ambos un rango de estatura.

"Lacatán americano", "valery", "rojo" o "morado" y sus mutantes verdes. "Lujugira", del este de Africa, presente

también en países de Sudamérica, como es el caso de "sao tomé" en Brasil.

- AAAA Plátano "IC₂" producto del cruce de "seda" con Musa Acuminata silvestre.

Un segundo grupo que comprende clones de la especie Musa Balbisiana. De este grupo no se tiene cultivares en el país, pero existen clones silvestres de la fórmula BB en otras zonas tropicales del mundo.

Un tercer grupo incluye a los híbridos triploide.

- AAB incluye a los cultivares conocidos como "inguin", "dominico" o "largo", que desarrollan racimos de frutos numerosos y de tamaño mediano.

"Bellaco" o "hartón", con racimos formados por frutos grandes y en número reducido.

A este subgrupo también pertenecen los plátanos "Silk" conocido como "manzano", "apple" o "maca".

Asimismo, "pome" o "prata", que tiene mutantes en algunos países con frutos mas grandes, como es el caso de, "pacovan" en Brasil.

"Mysore", es un híbrido muy importante en el Sur de la India, pero está siendo difundido en el Brasil.

- ABB dentro de estos híbridos triploides se incluye al "blugoe", "chato", etc. Estos plátanos presentan poca variabilidad en las Américas, en cambio alta variabilidad en la India.

"Pisang awak" o "Kluai namwa" , etc. se encuentran dispersos en los países de Asia y también en Africa. Dentro de los híbridos de este subgrupo se tiene al cultivar "isla", del cual; se distingue por lo menos cuatro clones con ciertas diferencias entre ellos son cultivados tanto en áreas de la selva ,como de la costa del país. (3)

2.4 Clones de plátanos cultivados en el país

Los clones de plátanos mas importantes en el país son mayormente triploides de Musa Acuminata (AAA) o híbridos de la Musa Acuminata con la Musa Balbisiana (AAB y ABB). Dentro de cada uno de estos híbridos existen varios clones derivados de mutaciones que se han perpetuado en diversas localidades.

- " Seda" conocido en otros lugares como plátano de "guayaquil" o "gross michell"; apareció en cultivo en Burma ,Tailandia ,Malasya, Indonesia, Sri Lanka.

Este clon muestra un seudotallo de color verde, con manchas oscuras, alcanzando en promedio, una altura de 5m y un diámetro con base de 25 cm. Las brácteas de la inflorescencia son lanceoladas y se desarrollan antes de su desprendimiento del eje del racimo, dejando una base prominente. Las flores femeninas, en grupos, forman manos simétricas. Las flores masculinas presentan un color crema uniforme. A la madurez comercial el racimo , en promedio , tiene 160 dedos los mismos que alcanzan un peso individual de 190 g. A la madurez fisiológica ,el fruto es de color amarillo intenso,

relativamente largo y delgado, curvado.

Este cultivar muestra mejor adaptación a las regiones tropicales, especialmente a las áreas húmedas y de subsuelo fértiles. En áreas del Alto Huallaga existen dos clases de este cultivar, que además de variaciones en el vigor de la planta, color del seudotallo y característica del eje de la inflorescencia, presenta diferencias en su tolerancia o susceptibilidad a las plagas.

- "Cavendish enano", cultivares llevado desde el Sur de la China hacia diversas áreas tropicales y subtropicales del mundo a logrado una nueva buena adaptación, especialmente en esta últimas áreas.

Este clon presenta un seudotallo de color verde-rosado, alcanza en promedio una altura de 1.8m y un diámetro en su base de 21 cm. La baja estatura de la planta la hace menos susceptible a los daños por el viento y facilita la aplicación de pesticidas.

Las brácteas de la inflorescencia son lanceoladas rectas y varias de ellas, las más próximas al badajo, persisten en el eje de la inflorescencia. Las flores masculinas tienen un color amarillo. Al alcanzar la madurez comercial el racimo tiene 180 dedos, con un peso de 180 g por dedo en promedio. A la madurez fisiológica el fruto es de color verde amarillento.

- "Cavendish gigante", conocido como "nanicao", presenta un seudotallo de color verde con manchas oscuras en promedio

una altura de 2.10m y un diámetro en su base de 20 cm. Las brácteas de la inflorescencia son rectas y varias de ellas las más próximas al badajo persisten en el eje de la inflorescencia.

El racimo de la madurez comercial tiene 170 dedos, con un peso de 180 g por dedo, en promedio. A la madurez fisiológica, el fruto es de color verde amarillento, de menor que el de "seda".

- "Isla", es un cultivar con buena adaptación en las zonas tropicales y subtropicales del país; aún en áreas desérticas sujetas a irrigación.

Este clon hasta cuatro mutantes que muestran variación en altura de planta, tamaño del racimo y de frutos, número de manos y de dedos por racimo. Así, el "isla", del Alto Huallaga muestra un pseudo tallo verde rosado, con una altura de planta de 2.6m y un diámetro de base de 16 cm, como promedio respectivamente. Las flores masculinas son de color amarillo y la maduración comercial tiene 110 dedos por racimo en promedio. El peso promedio por fruto es de 140 g. A su madurez fisiológica el fruto adquiere el color amarillo. La pulpa del fruto es rosada, algo consistente y aromática.

En zonas de selva con alta precipitación pluvial, como es el caso del Alto Huallaga este clon presenta resistencia a las plagas. La fruta tiene alta demanda en el mercado.

Así puede especificarse en detalle las características físicas de las otras variedades, en nuestro medio sólo se

cultiva las variedades detalladas anteriormente en mayor volumen. (1)

2.5 Características Químicas

El plátano en su composición es pobre en proteínas (1.1 g), casi no tiene grasa (0.2 g), tiene 22.8 g de carbohidratos , de los cuales 0.6 g son de fibra y agua 75.7 g, por su alto contenido de carbohidratos es que se ha tomado como materia prima en el presente proyecto.

En los cuadros 2.1 ,2.2 ,2.3 y 2.4 se resume la composición de la pulpa de plátano y la comparación de esta fruta con respecto a otras fuentes amiláceas y de azúcares fermentables vista en el cuadro 2.5.

2.6 Estudio de mercado

El objetivo del estudio del mercado consiste en estimar la cuantía de los bienes o servicios provenientes de una nueva unidad de producción que la comunidad estaría dispuesta a adquirir.

2.6.1 Materia Prima

La materia principal es el plátano cuya producción nacional se muestra en el mapa y la superficie cultivada en el cuadro 2.6. El plátano es procesado en la industria para obtener puré, harina, licor , vinagre y en la industria de la confitería.

CUADRO 2.1

Los mayores componentes del plátano

COMPONENTES MAYORES*

Calorías	82.2 Kcal
Agua	75.7 g
Proteínas	1.1 g
Grasas	0.2 g
Carbohidratos	22.8 g
Fibra	0.6 g

* Por cada 100 g de plátano

FUENTE : ABOUA F. (4)

CUADRO 2.2

Composición de minerales en el plátano

MINERALES	mg
Sodio	1.00
Calcio	8.00
Fósforo	28.00
Azufre	12.00
Cloro	7.90
Magnesio	33.00
Potasio	370.00
Hierro	0.70
Cobre	0.20
Zinc	0.15

* Por cada 100 g de plátano

FUENTE : ABOUA F. (4)

CUADRO 2.3

Composición de Vitaminas en el plátano

VITAMINAS	mg
Tiamina	0.05
Riboflamina	0.06
B6	0.32
Niacina	0.60
C (Acido Ascórbico)	10.00
Acido Palogénico	0.20
Tocoferol	0.20

* Por cada 100 g de plátano

FUENTE : ABOUA F. (4)

CUADRO 2.4

ESCALA DE MADURACION DEL PLATANO

ASPECTO DE LA FRUTA	Almidón (%)	Azúcar (%)
Fruta verde	21.5 - 19.5	0.1 - 2.0
Fruta verde con puntos amarillo	19.5 - 16.5	2.0 - 5.0
Fruta mas verde que amarilla	18.0 - 14.5	3.5 - 7.0
Fruta mas amariilla que verde	15.0 - 9.0	6.0 - 12.0
Fruta amarilla, extremos verdes	10.5 - 2.5	10.0 - 18.0
Fruta enteramente amarilla	4.0 - 1.0	16.5 - 19.5
Fruta amarilla con pequeñas manchas pardas	2.5 - 1.0	17.5 - 19.0
Fruta amarilla con grandes manchas pardas	1.5 - 1.0	18.5 - 19.0

* % : porcentaje en peso

FUENTE: COOPER (5)

CUADRO 2.5

RENDIMIENTO DE ETANOL DE ALGUNAS FUENTES AMILACEAS Y DE AZUCARES

MATERIA PRIMA	Contenido en % peso		Rendimiento de etanol
	Almidón	Azúcar	
Almidón puro	100		60.0 - 67.0
Arroz	70	---	42.0 - 46.9
Cebada	58	---	34.8 - 37.5
Maíz	60	---	36.0 - 40.2
Malta seca	56	---	33.6 - 37.5
Papas frescas	16	---	9.6 - 10.7
Trigo	62	---	37.2 - 41.6
Plátano verde	21	---	8.0 - 10.0
Azúcar de caña	---	100	58.0 - 64.0
Melaza de caña	---	55	31.9 - 35.2
Azúcar de remolacha	---	16	9.3 - 10.2
Melaza de remolacha	---	50	29.0 - 32.0

* FUENTE: TIANDE CAI (6)

[CUADRO 2.6]

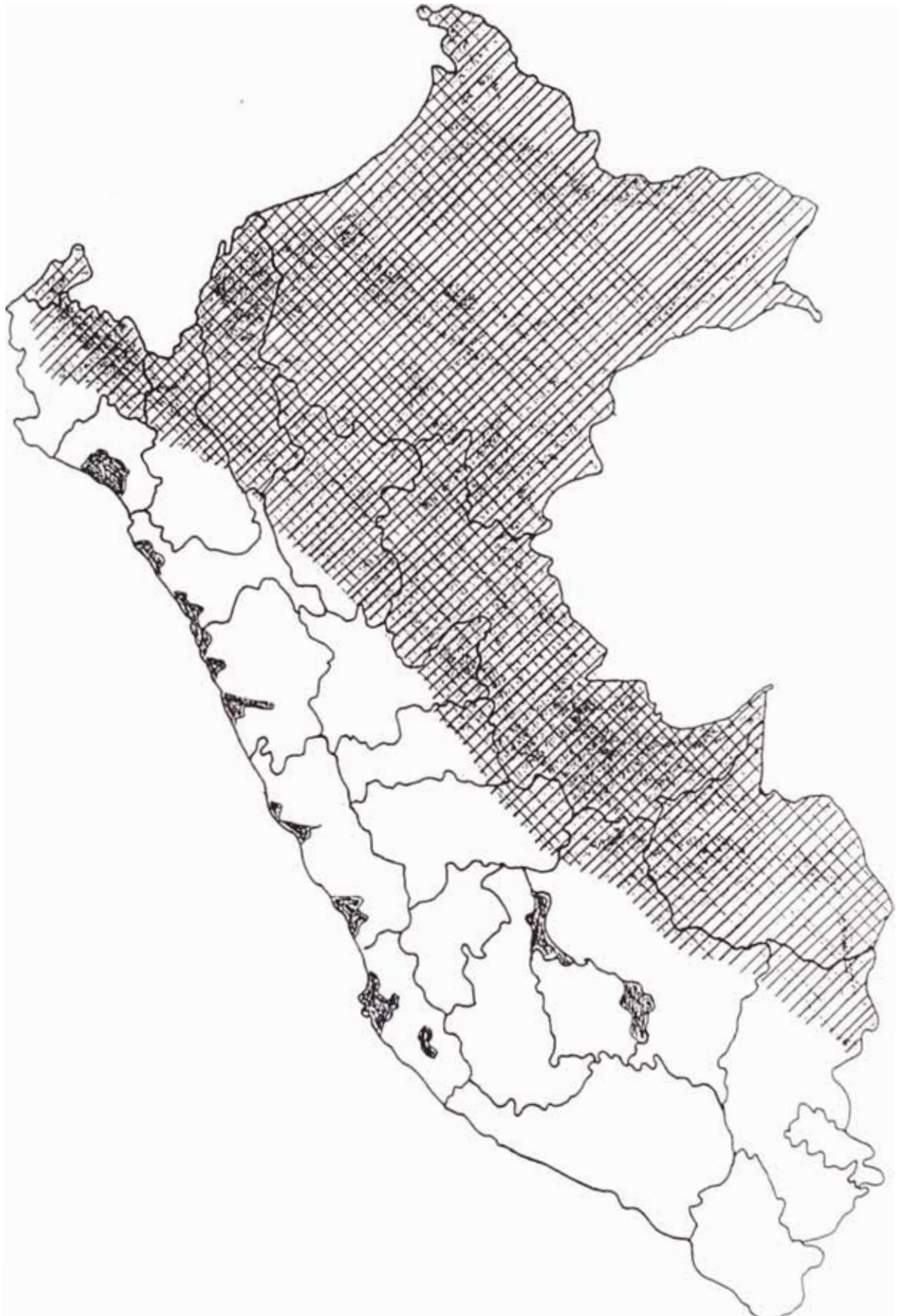
PRINCIPALES CENTROS DE
CULTIVO Y PRODUCCION DE PLATANO EN EL PERU

DEPARTAMENTO	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992
LORETO	ha	5,219	10,124	14,007	14,134	14,118	---	---	---
	TM	55,321	63,019	98,903	112,530	112,404	---	---	---
SAN MARTIN	ha	17,000	11,146	12,100	5,605	7,151	11,382	10,958	---
	TM	87,000	86,530	65,991	34,258	43,705	69,565	66,969	---
UCAYALI	ha	4,110	8,455	9,096	6,028	6,904	9,940	12,422	---
	TM	41,110	31,080	30,816	34,290	39,275	56,545	70,668	---
HUANUCO	ha	6,010	5,562	5,609	3,462	3,571	5,728	17,677	---
	TM	90,070	24,990	33,636	29,396	30,328	48,643	150,120	---
JUNIN	ha	4,887	4,930	5,010	5,497	5,074	4,734	3,325	---
	TM	45,184	46,268	46,426	51,116	47,182	44,021	30,916	---
PASCO	ha	1,895	1,845	1,685	2,123	2,619	---	---	---
	TM	24,634	13,240	29,955	26,852	33,138	---	---	---
CAJAMARCA	ha	9,020	6,771	6,807	6,897	9,453	---	---	---
	TM	69,687	51,208	37,377	47,772	65,480	---	---	---
AMAZONAS	ha	3,896	4,782	5,071	7,279	2,846	---	---	---
	TM	7,091	21,203	24,646	26,966	10,542	---	---	---
PIURA	ha	3,747	4,167	4,990	9,270	11,847	24,027	---	---
	TM	23,289	29,510	37,572	64,353	82,245	166,803	---	---
TUMBES	ha	1,926	3,624	3,955	3,152	4,331	5,178	5,068	---
	TM	---	99,720	117,521	90,210	123,928	148,178	145,012	---
CUSCO	ha	908	989	1,102	1,301	1,353	380	3,355	863
	TM	9,173	24,503	19,437	13,555	9,377	4,133	5,199	9,272
MADRE DE DIO	ha	897	513	661	838	499	624	695	---
	TM	10,764	9,132	10,512	6,008	7,009	8,440	4,084	---

FUENTE : INEI (7)

FIGURA 2.1

ZONAS CULTIVABLES DE PLATANO EN EL PERU



2.6.2 Alcohol y Subproducto

El alcohol que se tiene es obtenido por fermentación de sustancias azucaradas o feculantes tales como la uva, melaza, caña de azúcar, plátano y cereales, etc.

Después de haber concluido la fermentación y filtrado se tiene un subproducto de alto contenido de minerales y fermentos que pueden ser utilizados como fertilizantes o comida balanceada para todo tipo de animales.

El alcohol destilado y rectificado tiene múltiples usos: solventes (en la industria de perfumes , farmacéutica, rayón, nitrocelulosa), licores y calefacción. Los productos de cabeza y cola después de la destilación es utilizado en la fuerza motriz, barnices, preparación de compuestos como éter, cloroformo, etc.

2.6.3 Demanda de alcohol

Actualmente la producción de etanol en nuestro medio es producido a partir de la caña de azúcar y melaza porque el rendimiento es alto con respecto a otros productos como se muestra en el cuadro 2.7.

La escasez de alcohol se debe a la falta de melaza y es suplido, importando melaza de países vecinos, como Colombia y Brasil.

La demanda nacional se muestra en el cuadro 2.7

CUADRO 2.7

PRODUCCION Y VENTA DE ALCOHOL ETILICO

AÑOS	PRODUCCION		VENTA	
	CANTIDAD (lt)	VALOR (US\$)	CANTIDAD (lt)	VENTA (US\$)
1990	23491646	8456992.56	22264032	8015051.52
1989	23811986	7143595.80	23058452	6917535.60
1988	26410305	7658988.45	23618359	6849324.11
1987	28998848	7249712.60	28792374	7198093.50
1986	29664130	9492521.60	29858250	9347253.44
1985	29129847	10195446.45	29210167	10223558.45

FUENTE: MICTI (8)

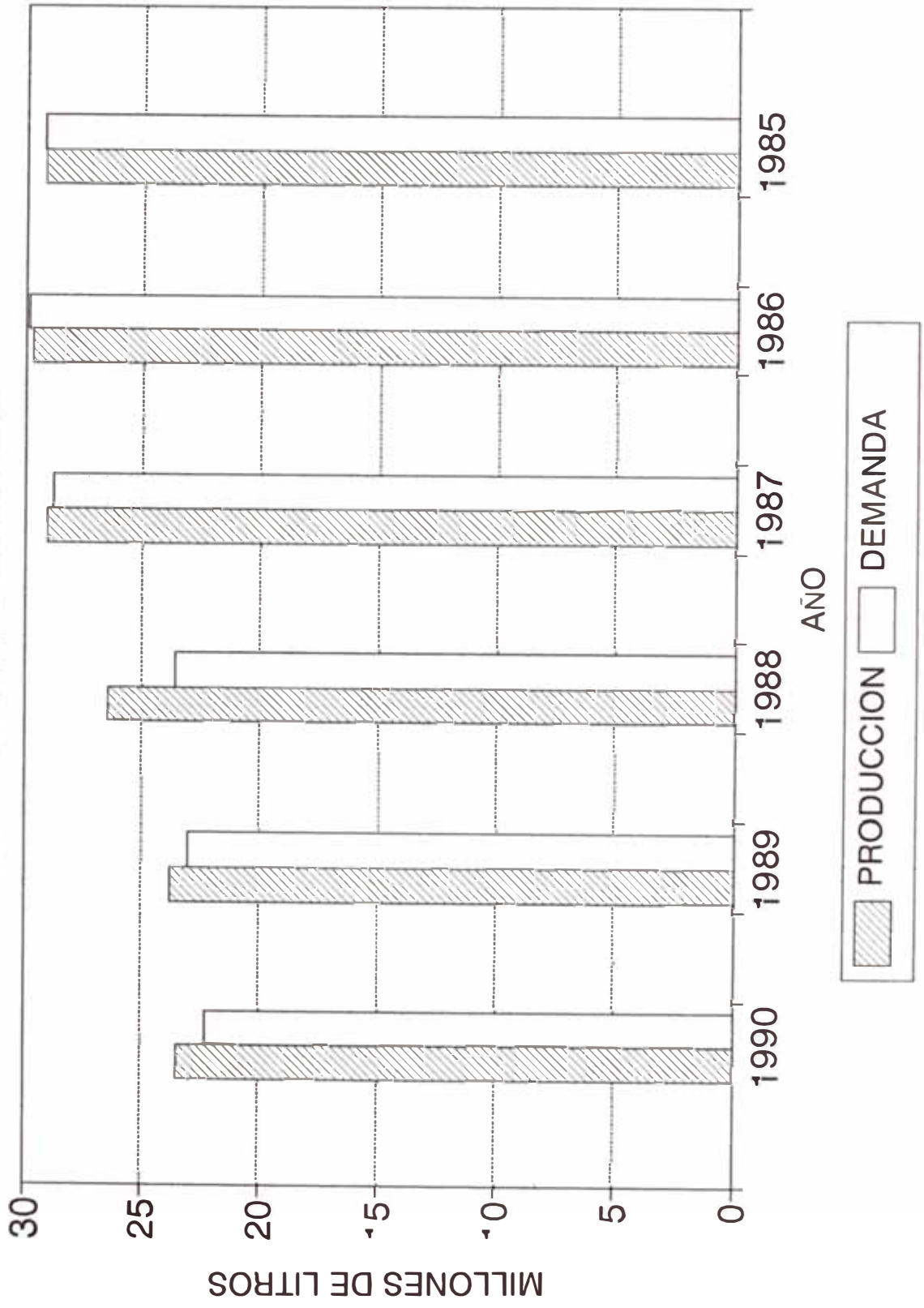
Empresas Informantes:

Rectificación de Alcoholes M. Capurro S.A.
Alcohol del Norte y Derivados S.A.

Sociedad Pomalca Ltda.
Sociedad Pomalca Vda. de Piedra S.A.

FIGURA 2.2

PRODUCCION Y DEMANDA DE ALCOHOL ETILICO EN EL PERU



2.6.4 Acido Acético

El ácido proviene del alcohol etílico oxidado en presencia de un fermento. Este ácido desempeña un papel en histología, para la fijación de los tejidos. El ácido acético es muy activo por si mismo y constituye uno de los productos orgánicos mas importantes de la industria química, es usada en la industria de los cosméticos, rayón, acetatos metálicos, etc.

El ácido acético diluído al 5 % (w/v), es denominado vinagre su uso principal es en la industria alimentaria (mostaza, curtido, etc.) en un 80 %, y el resto en uso doméstico.

2.6.5 Demanda del ácido acético

La producción en nuestro medio de acuerdo a los datos obtenidos mayormente son de uva y manzana.

El vinagre a granel es obtenido del ácido acético concentrado (derivado del petróleo) y diluído (5 a 9 gramos de ácido acético por cada 100 cm cúbicos), dicha producción no está registrada en el Ministerio de Industria (MICTI). La producción la demanda se muestran en el cuadro 2.8. Cabe resaltar que dicha producción sólo es de las empresas informantes se calcula que la producción real es el doble de lo indicado.

CUADRO 2.8

PRODUCCION Y VENTA DE VINAGRE

AÑOS	PRODUCCION		VENTA	
	CANTIDAD (lt)	VALOR (US\$)	CANTIDAD (lt)	VENTA (US\$)
1990	207657	213886.71	207020	213230.60
1989	233018	237678.36	210456	214665.12
1988	264196	250986.20	214152	203444.40
1987	233018	237678.36	231123	235745.46
1986	258379	330725.12	258225	330528.04
1985	212078	162990.98	204845	186408.95

FUENTE: MICTI (8)

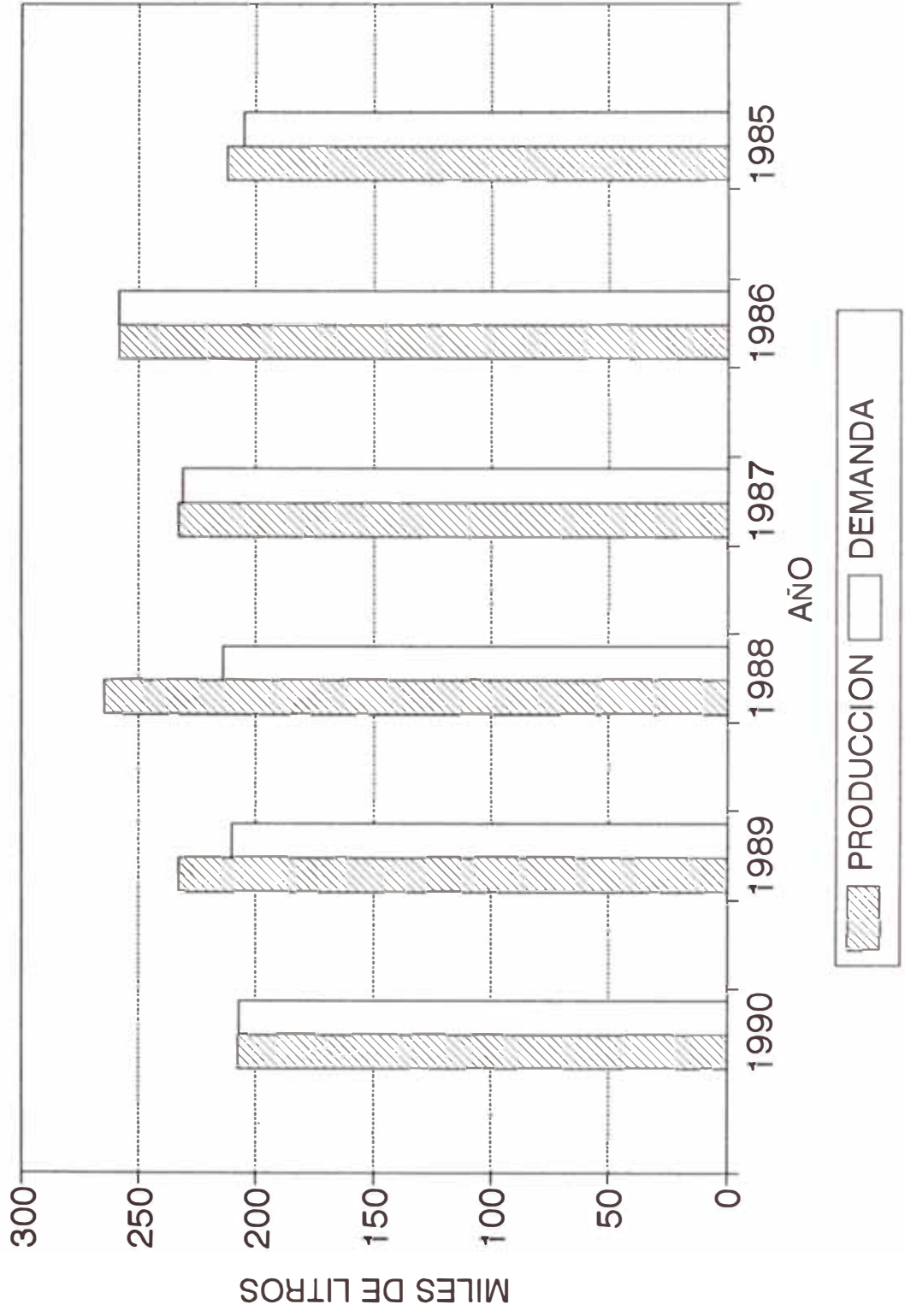
Empresas Informantes:

Vinagre y Encurtidos S.A.
Cía. Vitivinícola "La Cabaña"
SPICA S.A.

Dante S. Vasallo S.A.
Cía. Agroindustrial Sosa S.A.

FIGURA 2.3

PRODUCCION Y DEMANDA DE VINAGRE EN EL PERU



CAPITULO III

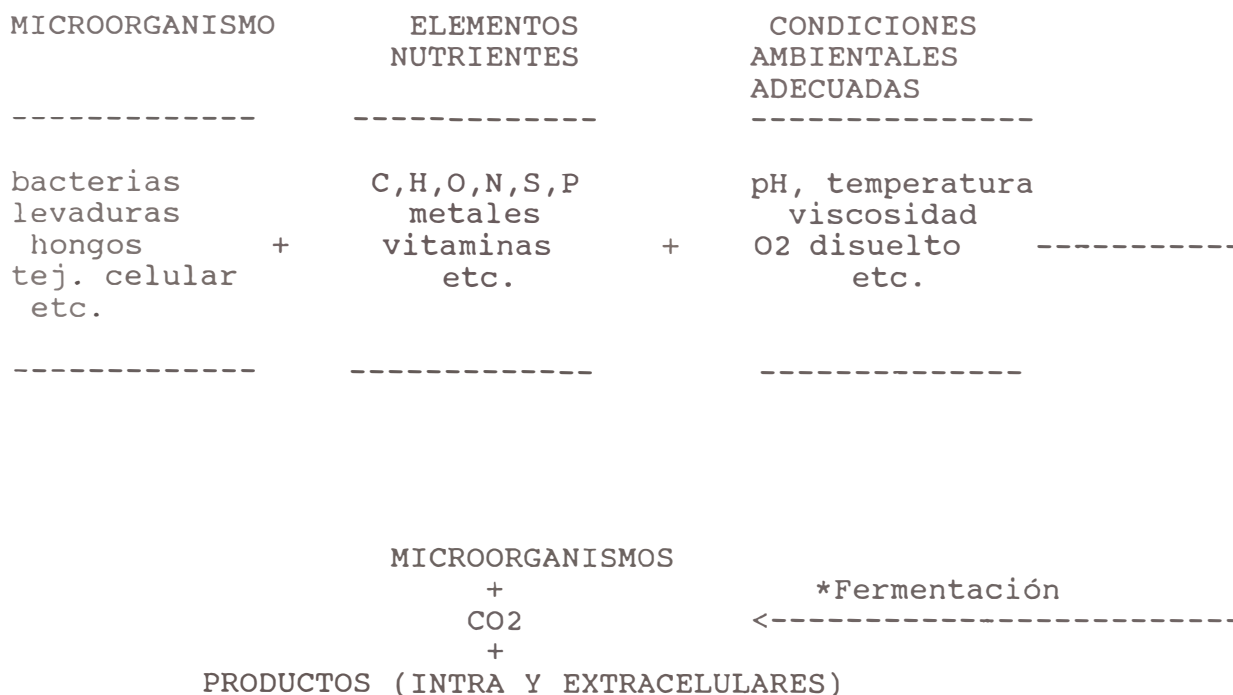
3.- FERMENTACION BACTERIANA

3.1 Definición

La fermentación es un proceso metabólico que se caracteriza por la degradación incompleta de los hidratos de carbono. Por esta razón, la energía que se libera durante un proceso fermentativo es mucho menor que la energía liberada en un proceso respiratorio. Citemos como ejemplo que con la degradación respiratoria de una molécula gramo de glucosa a anhídrido carbónico y agua se liberan 673 kcal mientras que con la fermentación a anhídrido carbónico y etanol solamente unas 20 calorías o sea sólo un 3.4 % aproximadamente de la cantidad de calor cedida durante la respiración. Las cifras mencionadas son valederas para la totalidad térmica en la respiración y fermentación, respectivamente. La respiración y la fermentación no son procesos fundamentalmente diferentes. La respiración introduce oxígeno libre en el proceso, mientras que la fermentación o es anaerobia por completo o no es capaz de realizar la oxidación hasta el estado en que todos los átomos de carbono del carbohidrato se oxidan a anhídrido carbónico.

Las industrias de procesos bioquímicos se encargan del aprovechamiento, bajo condiciones controladas, de materiales biológicos tales como microorganismos, tejido celular animal, productos microbianos y enzimas. Los procesos asociados con la producción de microorganismos y de algunos productos específicos son importantes en la industria de la fermentación.

Como todos los seres vivos, los microorganismos crecen, se reproducen y segregan algunos compuestos bioquímicos de importancia para el hombre. Estas son las características en que se ha basado la utilización de los microorganismos como productores de fermentación, la que de una manera esquemática se puede representar así:



* Cuando se provee de oxígeno molecular al sistema la fermentación se denomina aeróbica y hay desprendimiento de CO_2 ; cuando el oxígeno molecular está ausente, se denomina anaeróbica.

Es decir para que una fermentación se realice son necesario los siguientes requisitos: tener un microorganismo de características idóneas para el proceso y/o producto particular proveer un medio de cultivo adecuado (que contenga todo los nutrientes esenciales en las proporciones y cantidades óptimas de producción) , finalmente establecer controlar las condiciones fisicoquímicas necesarias para el desarrollo de la fermentación. Como resultado se obtendrá una cantidad de microorganismos mayor que la inicial y diversos productos (enzimas, ácidos orgánicos, etc.). Todas estas variables son las que interaccionan deben optimizar para lograr un proceso adecuado. En el el caso de la proteína microbiana por ejemplo lo que que se pretende es obtener la cantidad máxima de células minimizar la producción de CO_2 o de cualquier otro producto extracelular; en la producción de antibióticos por el contrario se trata de obtener el máximo de productos específicos extracelulares.

No debe olvidarse, sin embargo que un proceso de fer-

mentación comprende en un sentido más amplio, no sólo las reacciones bioquímicas efectuadas por microorganismos y/o por enzimas sino que además considera las características físicas de operación del recipiente en donde se lleva a cabo -el fermentado- y las operaciones que se efectúan antes y después de la fermentación. La Figura 3.1, presenta el diagrama de flujo de una fermentación típica. Se puede distinguir tres áreas principales: laboratorio, fermentación y extracción. Pero debe hacerse hincapié en que todas ellas funcionan como un todo, al evaluarse una fermentación siempre deberá tenerse en mente la totalidad del proceso. (10)

3.2 Clases de fermentación bacteriana

Para clasificar la fermentación. La ausencia o abundancia del oxígeno permite una selección tanto del microorganismo como de productos del metabolismo. Cuando el cultivo se produce en presencia de oxígeno molecular, la fermentación se denomina AEROBICA, cuando éste carece de oxígeno, ANAEROBICA. Si la fermentación es anaeróbica la mayor parte del carbono se emplea como energía y sólo 2% se asimila como material celular. El cuadro 3.1 presenta algunos datos que dan una idea general de lo que sucede. (10)

CUADRO 3.1

CARBON ASIMILADO Y DESASIMILADO COMO FUENTE
ENERGIA

ORGANISMO	CONDICIONES	CGA %	GDPE %
Streptococcus Faecalis	Medio rico, anaeróbico	2	98
Saccharomyces Cerevisiae	Medio rico, anaeróbico	2	98
Saccharomyces Cerevisiae	Medio rico, aeróbico	10	90
Aerobacter Cloacae	Medio rico, aeróbico	55	45

CGA % : Carbono de glucosa asimilada %

GDPE % Glucosa desasimilada para proveer energía %

FUENTE: QUINTEROS (9)

3.2.1 Fermentación Anaeróbica

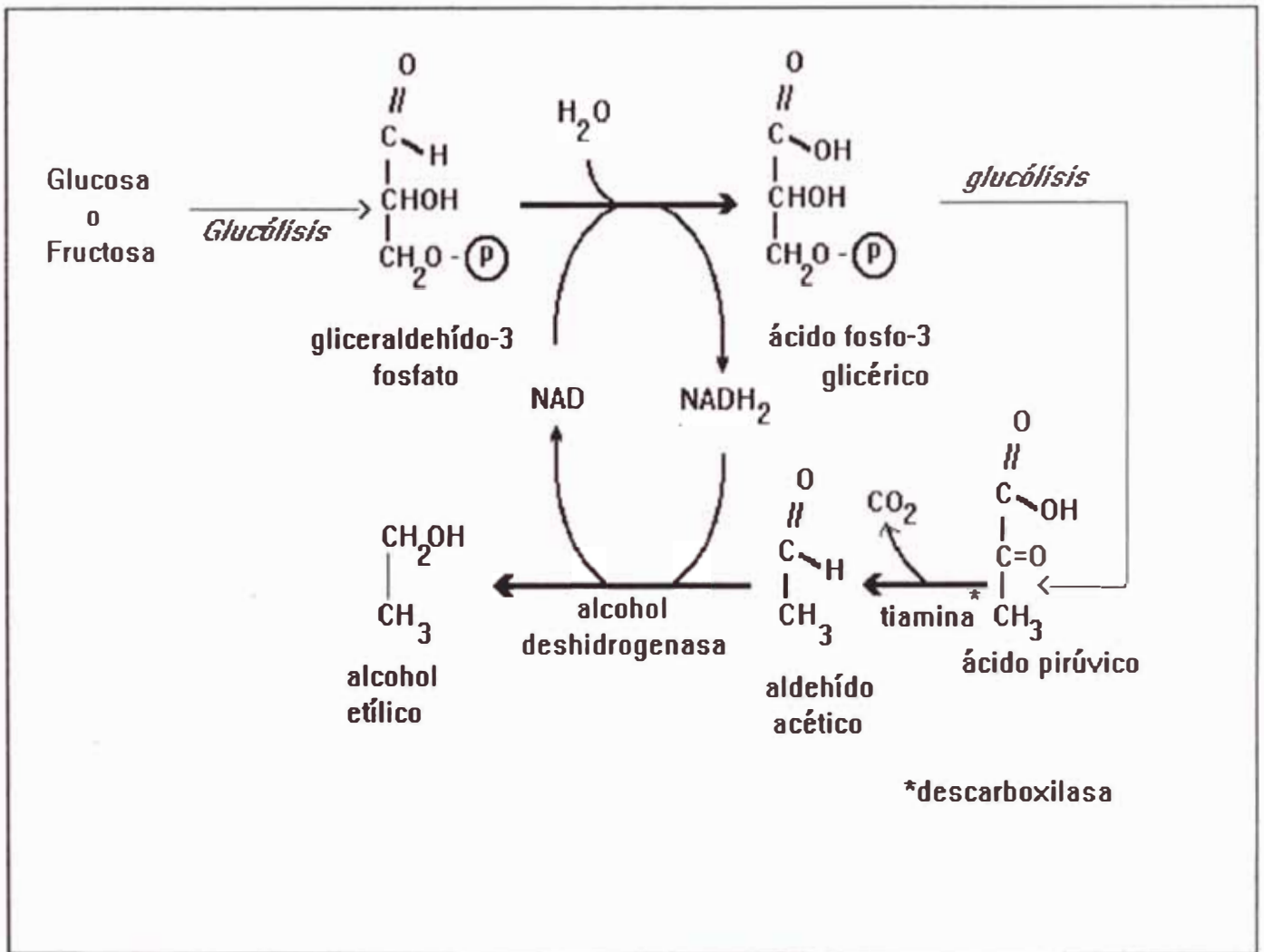
La fermentación alcohólica es la que realiza anearóticamente en nuestro trabajo, la cual se explica a continuación; La glucólisis constituye el primer acto químico de la fermentación alcohólica. El ácido pirúvico que aparece está descarboxilado bajo forma de aldehído acético (acetaldéhído), reducido en alcohol etílico. Esta reacción se realiza por la forma reducida del NAD que aparece durante la oxidación del gliceraldehído-3 fosfato. Las dos reacciones correspondientes están pues en pareja; constituyen una oxidorreducción. Se comprende la necesidad de la reoxidación de NADH_2 , pues de no ser así la glucólisis se detendría cuando todo el NAD presente en la célula se hubiese reducido (Figura 3.2).

3.2.2 Fermentación Aeróbica

La transformación esencial que provocan las bacterias acéticas es la oxidación del alcohol etílico en ácido acético, es decir la acescencia* acética. Se habla corrientemente de "fermentación acética", aunque el fenómeno es aerobio, necesita gran cantidad de oxígeno.

FIGURA 3.2

ESQUEMA DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA



Quedó establecido que en las bacterias acéticas existen dos vías de oxidación del etanol con pasaje por el acetaldehído, correspondientes a complejos enzimáticos diferentes. Uno de estos complejos es soluble, se encuentra en el extracto del triturado bacteriano; hace intervenir la alcoholdehidrogenasa y la aldehíodeshidrogenasa, que se acoplan con NAD, según el mecanismo de la figura 3.3 que corresponde a la ecuación global. La reoxidación de NADH_2 se efectúa a expensas del oxígeno del aire con la ayuda de una cadena respiratoria que comporta muchos sistemas transportadores de electrones: esta reoxidación va acompañada de una producción de energía en forma de moléculas de ATP.

La otra vía de oxidación del alcohol recuerda un complejo enzimático insoluble, en forma de partículas transportadoras de hidrógeno (o de electrones) fijadas a la membrana citoplasmática de las bacterias; el mecanismo global de la oxidación del etanol permanece igual. La existencia de estos dos complejos enzimáticos es responsable de la capacidad de las bacterias para oxidar el alcohol a velocidades diferentes en medio ácido o neutro.

Algunas bacterias pueden realizar la oxidación

parcial del ácido acético en CO_2 y H_2O , y el carácter correspondiente sirve de prueba de clasificación; la ecuación se escribe:



Entonces la ecuación global de la fermentación acética es:



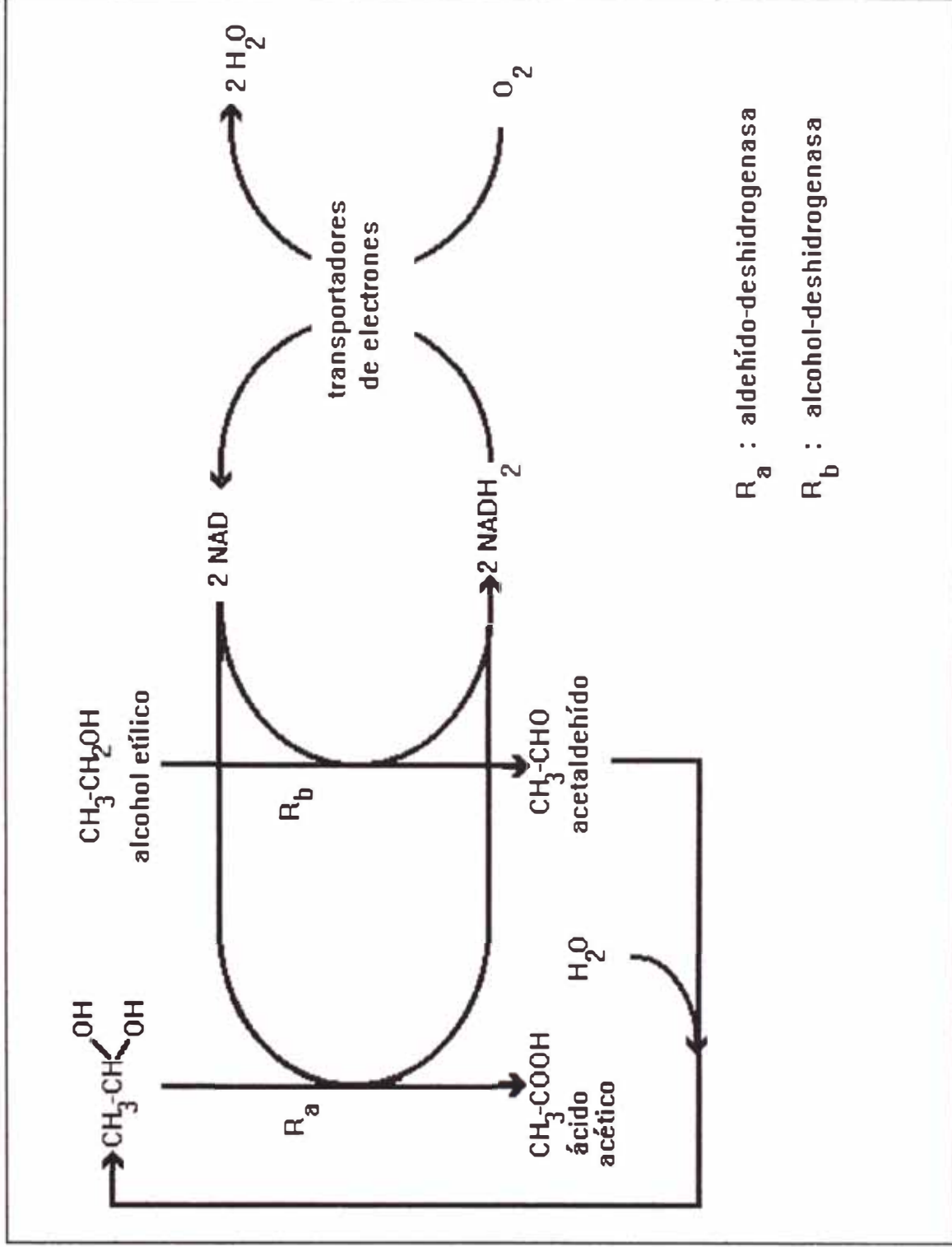
Del mismo modo, las bacterias acéticas provocan una esterificación parcial del ácido acético por el alcohol etílico según la reacción:



El acetato de etilo desempeña un papel importante en enología; es el responsable de los caracteres organolépticas particulares en la producción de vinagre atacados de acescencia (figura 3.3) (10)

FIGURA 3.3

OXIDACION DEL ALCOHOL EN ACIDO ACETICO



3.3 Microorganismos en la fermentación alcohólica y acética

En el proceso de fermentación tanto alcohólica como acética se ha de utilizar levaduras en el primer caso luego acetobacterias que se explicaran con mayor detalle en los siguientes subcapítulos.

3.3.1 Características de los microorganismos

3.3.1.1 Características generales de la levadura

Las levaduras están muy difundidas en la naturaleza se encuentran en las frutas, los granos y otras materias nutritivas que contienen azúcares; en el suelo (especialmente en los viñedos en los huertos), en el aire, en la piel en el intestino de los animales, y en algunos insectos. Se diseminan por intermedio de portadores y por el viento. Las levaduras no contienen clorofila por consiguiente dependen de las plantas superiores de los animales para obtener su energía, la cual pueden conseguir por desasimilación oxidante aerobia o por fermentación anearobia. Algunas son sa-

profitas (es decir, viven sobre materia orgánica muerta), otros parásitos(viven en otros seres vivos a expensas de ellos) Las levaduras son por lo general organismos monocelulares se preseentan en formas muy variadas desde las esféricas, ovoides y elipsoidales o las cilíndricas que pueden ser muy alargadas y aun filamentosas. Estas formas aunque diversas según las especies son lo bastante características para ser base de clasificación.

Ejemplo. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* forma por lo normal células redondeadas o elipsoideas. *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus* tiene por lo general células elípticas, *Saccharomyces pastorianus* normalmente son células alargadas muchas veces en forma de salchichas.

MORFOLOGIA DE LA LEVADURA

En general las células de las levaduras son mayores que la mayor parte de las bacterias aunque las levaduras más pe-

queñas no son tan grandes como las bacterias de más tamaño. Este varía en las levaduras que pueden medir entre 1 a 5 micras de ancho por 5 a 30 micras o más de longitud. Por lo común tienen forma ovoide, aunque algunas veces son alargadas o esféricas. Cada una de las diversas especies tienen forma característica pero aún en los cultivos puros, las células individuales ofrecen notable variedad en el tamaño y la forma, según la edad y el medio. Las levaduras no poseen flagelos ni otros órganos de locomoción.

Pared Celular: La pared celular es muy fina en las células jóvenes, pero se va haciendo más gruesa con la edad. Los constituyentes principales son los polisacáridos, glucano y manano, que suponen alrededor de los dos tercios de la sustancia celular; el resto consiste en proteínas y grasas. También se ha encontrado en la pared celular de las levaduras glucosamina, que existe asimismo en la pared de los hongos filamentosos.

Parte del elemento proteico es con toda

probabilidad, es de carácter enzimático comprobándose además que la pared contiene invertasa.

Membrana Citoplasmica: El funcionamiento de esta <barrera osmótica> es el mismo que se ha descrito respecto a las células bacterianas. Tienen un espesor aproximado de 80 Å, y consiste en dos capas electrónicamente densas, que están separados por otra menos densa. Se supone que la capa interna es de grasa y la externa de proteína ; es decir, una estructura citoproteica que se acepta, en general como demostrada para otros tipos de células. La forma en que los solutos atraviesan esta barrera (mecanismo de transporte) suscita gran interés y es objeto de intensa investigación. Se trata, desde luego, de un fenómeno biológico fundamental.

Constituyentes Protoplasmicos: El protoplasma de la célula típica de levadura está constituido por una masa semi fluida, con elementos de material orgánico, finamente granular, en suspensión en una solución de varias sales. En toda biblio-

grafia consultada, cada una da su versión con respecto a la estructura específica que constituye el núcleo de la célula, o si es una estructura funcional primaria o completamente desarrollada. Se han identificado estructuras de membrana nuclear. Los cambios que experimentan el núcleo durante la reproducción no están bien definidos. Sin embargo, el núcleo interviene en la reproducción de la célula y se divide al formarse las células hijas, a las que emigran los gránulos intranucleares. Cada célula contiene una o más vacuolas que están delimitadas por su correspondiente membrana. Las mitocondrias se presentan como sistemas de membrana de aspecto filamento plegado.

Consisten principalmente en lipoproteínas con pequeñas cantidades de RNA.

Las mitocondrias contienen enzimas respiratorias y por este motivo se les ha denominado <centrales generadoras> de la célula. Se supone que las mitocondrias contienen además el factor extranuclear citoplásmico que impulsa el mecanismo hereditario encargado de mantener ciertos caracteres como las actividades bioquímicas, que no están

controladas por mutación de genes. Las levaduras viejas contienen sustancias nutritivas de reserva, como hidratos de carbono, grasas, proteínas, y paredes gruesas excepcionalmente resistente a las condiciones desfavorables de calor, luz, desecación y acción química. Algunas especies encierran gránulos de volutina (polifosfato), y otras almacenan grandes cantidades de gases. Otras especies son fuente de glicógeno, enzimas, vitaminas para otros microorganismos y otras en suplementos alimenticios humanos y de piensos. (11)

3.3.1.2 Características generales de la bacteria acética

Los agentes de la acetificación y de la picadura acética, que en el lenguaje corriente se denominan indistintamente fermentos del vinagre, bacterias acéticas, acetobacterias o acetobacter, son bacterias pertenecientes al género ACETOBACTER.

Al microscopio, las bacterias acéticas desarrolladas sobre el vino se presentan bajo

el aspecto de pequeñas células cilíndricas, muy cortas, alineadas en cadenas y agrupadas a veces de a dos en forma de ocho. Son gramnegativas y forman en la superficie del vino un velo blancusco de aspecto diferente según la especie; su desarrollo es rápido y el velo cubre muy pronto toda la superficie disponible. Las bacterias acéticas están muy difundidas en la naturaleza. Se les encuentra sobre las uvas maduras, más comúnmente sobre los racimos podridos, aunque en forma menos abundante que las levaduras. En la clasificación de acetobacter corresponde a bacterias capaces de oxidar el etanol en ácido acético. Los acetobacter se clasifican en cuatro especies según su metabolismo oxidativo y su poder cetógeno: peroxydans, oxydans, mesoxydans y suboxydans. Esta división se basa sobre tres propiedades fundamentales:

- a) La presencia de catalasa para oxydans, mesoxydans y suboxydans.
- b) La oxidación del ácido acético y del ácido láctico para peroxydans, oxydans y mesoxydans.

c) El poder cetógeno (formación de dioxiacetona a partir de la glicerina) para mesoxydans y suboxydans.

Factores del desarrollo de las bacterias acéticas

La presencia de acetobacter en los vinos no es una condición suficiente para determinar la alteración ; en efecto, se advierte que vinos expuestos al aire presentan aptitudes variables para contraer la enfermedad de la acescencia, de ahí la necesidad de llevar a la práctica , para prever la conservación del vino, se debe proceder a ensayos situándolo al aire en condiciones favorables para la multiplicación de las bacterias acéticas.

Los diversos factores de ese desarrollo, entre otros la importancia de la población al comienzo de la fermentación , la temperatura , pH, grado alcohólico , los oligoelementos, los componentes fenólicos, la riqueza en azúcares reductores y en glicerina, etc.

La multiplicación de los acetobacter se hace únicamente a partir de las células que quedan en la superficie, en particular las

retenidas por las fuerzas capilares en contacto con las paredes y el líquido. Por el contrario cuando el velo está constituido el resultado final es independiente de esta población del comienzo . En la práctica de la conservación se tiene interés en limitar en el mayor grado posible el número de las bacterias acéticas que contienen el vino por las técnicas apropiadas de clarificación ; pero un vino siempre tiene suficientes bacterias como para explicar su alteración cuando se expone al aire.

- La temperatura es un factor determinante bien conocido; la acescencia es mucho más rápida a temperaturas elevadas. Por ejemplo , la formación de la acidez volátil es dos veces más rápida, al comienzo de la alteración, a 28 que a 23°C.

- El pH es el factor esencial del desarrollo. La experiencia demostró que la acescencia era extremadamente rara en mostos ácidos.

El límite de desarrollo de las bacterias acéticas; es a pH 3.0 a pH 3.1 el desarrollo es muy lento y a partir de pH 3.2 es prácticamente tan rápido como a pH 3.8.

- Las bacterias acéticas necesitan abun-

dante aire para multiplicarse y cumplir la fermentación acética. Para formar 1 g de ácido acético es decir aumentar la acidez volátil de un litro de vino en 0.8 g , las bacterias fijan el oxígeno en un mínimo de 2 lt de aire. La alteración del vino por acescencia necesita pues el amplio contacto con el aire o al menos un contacto prolongado.

La formación de ácido acético por las bacterias acéticas va siempre acompañada de una esterificación, y se verá también el importante papel gustativo que desempeña el acetato de etilo sustancia responsable de los verdaderos caracteres de la acescencia.

3.3.2 Elección del microorganismo apropiado

Evidentemente para elegir el microorganismo se conjugan diferentes factores tales como rendimiento del producto deseado facilidad de manipulación del microorganismo pues en la actualidad existen microorganismos con una alta capacidad de producción de alcohol.

Los microorganismos utilizados en la fermentación alcohólica son principalmente del género *Saccharomyces* y también *Schizosaccharomyces* que fermentan

una una amplia gama de azúcares. Pero con el empleo de materiales lignocelulósicos como sustrato de fermentación se obtienen hexosas y pentosas entre éstas últimas están las xilosas procedentes de la hidrólisis; la xilosa no es fermentable por la levadura citada. En razón a este hecho se han investigado otros géneros o especies de levaduras entre ellas *Kluyveromyces*, *Candida* y *Pachysolen tanophilus*, aunque la cantidad de etanol que producen por fermentación de xilosa no es demasiado elevada. (12)

Algunas bacterias que comenzaron a utilizarse en fermentación teóricamente rinden más etanol por mol de glucosa que las levaduras produciendo menos biomasa y menos subproducto. Así, adquiere creciente importancia la especie *Zymomonas mobilis*, utilizada sobre todo en procesos a escala de laboratorio. Con esta bacteria se ha conseguido obtener altos rendimientos. Pero las bacterias, hasta ahora tropiezan con dificultades en procesos a escala industrial, pues exigen un pH de trabajo en torno a 6 (en las levaduras es alrededor de 4) , con el consiguiente agravamiento del problema de contaminación debido a la cual prácticamente siempre hay que esterilizar el sustrato lo que hace que la operación se encarezca considerable. Además la variedad de azúcar que

fermentan es limitada ,reduciéndose a glucosa, fructosa y sacarosa.

Los hongos son poco utilizados en fermentación alcohólica, si bien se emplean sus células (caso de *Trichoderma resei* o *trichoderma viridae*); también se conocen hongos fermentadores de pentosas como *Fusarium Oxysporum*.

En los últimos tiempos se está consiguiendo gran cantidad de mejoras microbiológicas: selección de microorganismos altamente tolerantes al alcohol (incluso a mayores temperaturas de las normales en fermentación), obtención de cepas microbianas resistentes a altas concentraciones de azúcar y de especies autofloculantes, lo que asegura una mayor densidad celular a lo largo del proceso.

3.4 Factores que afectan la fermentación bacteriana

3.4.1 Temperatura

Por lo general los microorganismos se dividen en tres categorías según un comportamiento en las condiciones de temperatura lo que refleja la adaptación o la resistencia de su equipamiento enzimático a este factor. Se llaman psicrófilos , mesófilos y termófilos los microorganismos cuyo desarrollo óptimo se efectúa respectivamente por debajo de 20 °C,

entre 20 y 45 °C y por encima de 45°C. Las levaduras pertenecen a las dos primeras categorías.

La temperatura es un factor importante en la actividad de todas las levaduras; se dan condiciones óptimas , mínimas y máximas para cada una de las diferentes funciones de la célula de levadura: respiración, fermentación, crecimiento.

En efecto estos límites dependen de la especie de levadura y aún de la cepa; también influyen otras condiciones : aireación , composición del medio y sobre todo la presencia de alcohol que dibujan así una zona más o menos ancha donde son posibles la multiplicación de las levaduras y la fermentación del azúcar.

Se observa la importancia considerable de la temperatura sobre el metabolismo de las levaduras que puede traducirse por esta regla aproximativa : La fermentación del azúcar es dos veces más rápido a 30 °C que a 20 °C , o también por grado suplementario de temperatura las levaduras transforman el 10% más de azúcar en el mismo tiempo. Algunas fracciones de grado de temperatura tienen una influencia sensible.

3.4.2 pH

Se sabe que uno de los factores esenciales del desarrollo de las bacterias es la concentración en

iones hidrógeno del medio. Para cada cepa el crecimiento es posible en una gama de pH comprendida entre el pH mínimo de crecimiento (umbral de pH) y el pH máximo. Entre estos dos límites se sitúa el pH óptimo de crecimiento para el cual la multiplicación es más rápida.

El pH para una especie presenta generalmente un máximo denominado pH óptimo. En bacterias el pH óptimo varía entre 6.0 y 8.0 ; en levaduras entre 4.0 y 6.0 y en mohos entre 3.0 y 7.0.

3.4.3 Oxígeno Disuelto

En el terreno de la aplicación práctica, así como en la fisiología de las fermentaciones numerosos autores establecieron desde hace tiempo la importancia de la aireación para el desarrollo de las levaduras. Las levaduras son sensibles al oxígeno ; oxígeno; al mismo tiempo confirmaron que la multiplicación de las levaduras la disminución del nitrógeno del mosto y la rapidez de fermentación del azúcar están directamente relacionados con las levaduras. En el curso de diversos procesos de fermentación, la cantidad 1 a 3 mg por hora por millar de levaduras. Este consumo es considerable ; una población de un millón de levaduras por centímetro cubico puede hacer desaparecer en 4 horas la totalidad del oxígeno de un mosto alcohólico saturado

de aire a la presión atmosférica. (10)

3.4.4 Nutrientes

Como todos los organismos vivos las levaduras tienen necesidad de nitrógeno asimilable para formar su célula y reproducirse. En efecto la levadura seca contiene del 4 al 10 % de su peso en nitrógeno o sea 25 a 60 % de materias nitrogenadas. Se puede entonces considerar el crecimiento de las levaduras esencialmente como un fenómeno de proteosíntesis; en la medida en que la levadura puede utilizar el nitrógeno del medio que regulan su multiplicación y su actividad. Se advierte que al comienzo de la fermentación las levaduras consumen y fijan rápidamente una gran proporción de nitrógeno del mosto. Se demostró que el 50 al 60 % del nitrógeno asimilable. Las levaduras de vino son capaces de utilizar el nitrógeno utilizar el nitrógeno de fuentes diferentes: catión amonio, aminoácido, amidas, pequeños polipéptidos. Por el contrario las bases nitrogenadas adenina, guanina, timina, uracilo y xantina, agregadas a un medio nutritivo simple no activan la fermentación del azúcar. Ciertas formas del nitrógeno se utilizan más rápido en especial el nitrógeno amoniacal o catión amonio. La forma amoniacal del nitrógeno puede bastar completamente a las necesidades de *Saccharomyces*. Ciertas especies provistas de pro-

teasa atacan las moléculas polipeptidas o proteicas pero por el contrario utilizan mal el nitrógeno mineral: tal es el caso de las levaduras apiculadas.

(9)

CAPITULO IV

- CINETICA DE LA FERMENTACION BACTERIANA.

4.1 Introducción

Para el estudio cuantitativo de la cinética de procesos de fermentación, hay que tener presente el modo de reproducción de las células procarióticas y eucarióticas de interés.

- Las células Procarióticas, estas bacterias se reproducen por fisión binaria, proceso que se inicia con la replicación del cromosoma y culmina con la separación de las células idénticas, sin que sea posible diferenciar una célula madre de una célula hija. Por ello la edad máxima de cada célula bacteriana es el lapso comprendido entre dos replications sucesivas. Otra característica importante de este tipo de población es que las células se presentan en forma individual o en asociaciones débiles de pocos individuos, pudiendo ser dispersados homogéneamente en el medio líquido de cultivo.

- En el caso de los organismos eucarióticos, se deben distinguir las levaduras y los hongos filamentosos o mohos. Las levaduras se desarrollan en células individuales fácilmente dispersables que se reproducen por yemación en condiciones de pleno crecimiento, aunque también poseen un ciclo de reproducción mediante esporas.

En el caso de yemación se reproduce una célula hija y permanece viable la célula madre por lo que un cultivo de levaduras se puede considerar heterogénea en cuanto a la edad asimismo el estado fisiológico de las células que lo componen. Después de un determinado número de yemaciones la célula pierde viabilidad.

En los mohos se acentúa la importancia de la reproducción asexual y sexual mediante esporas.

Cinética de Cultivo por Lote:

El comportamiento cinético de una población está determinado por un complejo conjunto de factores genéticos y ambientales. Entre estos últimos destacan las llamadas condiciones de operación (composición del medio, temperatura, pH, etc) y la modalidad del cultivo, entre las que distinguimos el cultivo por lotes.

Se puede definir el cultivo por lotes como aquel que se realiza sin intercambio de materia con los alrededores, salvo lo referente a los gases (aireación, producción de CO₂ y otros gases) que se suministran y se retiran del sistema en forma continua. En esta modalidad de cultivo se cargan los nutrientes inicialmente luego se inocula con una determinada cantidad de células viables.

Se inicia así el cultivo que transcurre en su forma característica dada por la llamada curva de crecimiento, hasta que algún evento tal como el agotamiento de un nutriente esencial, lo detiene.

En la figura 4.1 muestra una típica curva de crecimiento. La forma que se aprecia se da siempre que se cumplan ciertas condiciones: el cultivo se realiza por lotes, todas las células que componen la población se reproducen a intervalos regulares, no existen en el medio de cultivo sustancias inhibitoras del crecimiento y su composición es simple en especial en relación a las fuentes de carbono y nitrógeno.

La curva presentan varias zonas o fases a saber.

a) Fase de Latencia: Fase en la cual se produce el rea-comodo de la composición macromolecular al nuevo ambiente en que se encuentra las células inoculadas.

b) Fase de Crecimiento Exponencial o Logarítmica: Las células se encuentran en plena reproducción a una velocidad que es la máxima para el juego de condiciones existentes, por no existir limitaciones de nutrientes.

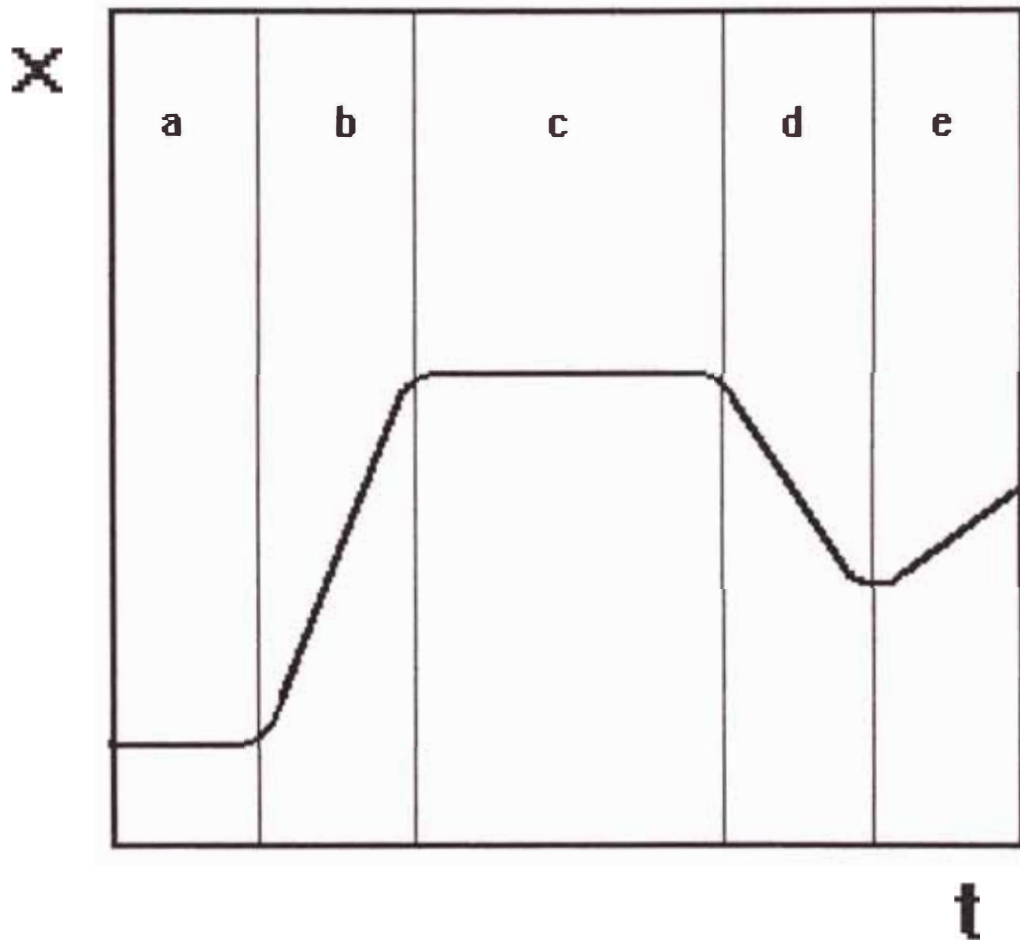
c) Fase Estacionaria: Se alcanza cuando se agota un nutriente, razón por la cual se detiene el crecimiento.

d) Fase de Muerte o Decaimiento: Esta fase se presenta en aquellos cultivos en los que se inducen enzimas acetolíticas en condiciones de inanición.

e) Fase de Crecimiento Criptico: En algunos cultivos es posible apreciar una zona de crecimiento lento después de la de muerte. El contenido citoplasmático liberado por las células ligadas proporcionan los nutrientes requeridos para el crecimiento. (13)

FIGURA 4.1

CURVA DE CRECIMIENTO EN CULTIVO
POR LOTES



x : ln concentración celular
t : tiempo

4.2 Modelos Cinéticos de la Fermentación Bacteriana

4.2.1 Modelo Cinético de crecimiento Celular

El crecimiento unicelular en los cultivos Batch, son los que tienen mayor importancia comercial, es expresado en términos de la concentración celular X , la del sustrato limitante S_0 y la de un inhibidor I_0 .

Debe considerarse que las condiciones de temperatura, fuerza iónica y pH, que se establecen al principio de la fermentación es muy probable que varíen en el transcurso de la misma y dichos parámetros tienen que permanecer constante.

Una expresión general es:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, S_0, I_0, T, pH, etc.)$$

donde : x es concentración celular

S_0 : Concentración inicial del sustrato (% en peso)

T : temperatura

I : concentración de inhibidores de fermentación

En 1942 Monod estableció un modelo de crecimiento bacteriano empírico:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_0}{K_S + S_0}$$

El crecimiento de una población bacteriana puede ser representado por:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \dots \dots \dots (4.1)$$

La velocidad específica de crecimiento μ , es constante durante la fase de crecimiento exponencial.

$$\mu = \left(\frac{1}{x} \right) \left(\frac{dx}{dt} \right) = \frac{d \ln x}{dt} \dots \dots \dots (4.2)$$

En la fase exponencial es posible integrar la ecuación (4.1)

$$\ln \left(\frac{x}{x_0} \right) = \mu t \dots \dots \dots (4.3)$$

o bien

$$x = x_0 e^{\mu t} \dots \dots \dots (4.4)$$

Relacionado con μ existe otro parámetro cuya interpretación física puede aparecer en forma más directa.

El Tiempo de Duplicación: t_d , definido como el intervalo de tiempo entre dos duplicaciones sucesivas.

Si imponemos esos límites para integrar la ecuación (4.1) resulta.

$$td = \frac{\ln 2}{\mu} , , , , (4 . 5)$$

Tiempos de duplicación característicos

Tabla N°1

Tipo de célula	td (h)
Bacterias	0.2-2.0
Levaduras	1.0-4.0
Hongos Filamentosos	2.0-7.0
Microalgas	18 - 35
Células animales en vitro	20 - 40

FUENTE: ACEVEDO (14)

Cuando el crecimiento de un cultivo por lote sólo está limitado por la cantidad inicial de sustrato, la curva de crecimiento puede expresarse en términos de los parámetros de crecimiento.

La bien conocida ecuación de MONOD, describe la relación entre la velocidad específica de crecimiento μ y la concentración del nutriente limitante S_0 .

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S_0}{K_s + S_0} \dots \dots \dots (4.6)$$

μ_{\max} : Velocidad específica máxima de crecimiento

K_s : Constante de saturación.

Identificando las ecuaciones (4.1) y (4.6) relacionando obtenemos:

$$\frac{dx}{x} = \left(\frac{\mu_{\max} S_0}{K_s + S_0} \right) dt$$

La velocidad específica se mantiene constante en la fase de crecimiento, integrando se tiene:

$$\ln \left(\frac{x}{x_0} \right) = \mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) (t - t_0)$$

o tambien

$$x = x_0 e^{\mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) (t - t_0)} \dots \dots \dots (4.7)$$

donde:

x_0 : Concentración inicial de células

t_0 : Tiempo de inicio de la fase de crecimiento logarítmico.

4.2.2 Modelo Cinético de Consumo de Sustrato

En el transcurso de la fermentación se verifica la disminución de la concentración de sustrato debido a la acción enzimática.

Esta ecuación que expresa la variación de la concentración de sustrato con el tiempo definimos la velocidad específica de consumo de sustrato (μ_s).

$$\mu_s = -\frac{1}{S} \left(\frac{dS}{dt} \right), \dots, \dots, (4.8)$$

Donde "S" es la concentración de sustrato que varía con el tiempo.

El crecimiento celular está asociado directamente al consumo de sustrato. Se define la siguiente ecuación.

$$\mu_s = K_1 \mu, \dots, \dots, (4.9)$$

donde:

μ_s : Velocidad específica de consumo de sustrato
(1/hr)

μ : Velocidad específica de crecimiento celular
(1/hr)

K_1 : Constante de proporcionalidad.

Substituyendo la ecuación (4.8) en la ecuación (4.9) obtenemos.

donde:

$$-\frac{1}{S} \frac{dS}{dt} = K_1 \mu$$

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right) = K_1 \mu (t - t_0) \dots \dots (4.10)$$

S_0 : Concentración inicial de sustrato

t_0 : Tiempo de fase de latencia.

Reemplazando la ecuación (4.6) en la ecuación (4.10) obtenemos.

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right) = K_1 \mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) (t - t_0) \dots \dots (4.11)$$

Esta ecuación representa el modelo cinético propuesto para el consumo de sustrato en función del tiempo.

4.2.3 Modelo Cinético de la Formación de Producto

Para determinar la ecuación cinética de la formación del producto se asume que la formación de producto está asociada con el crecimiento celular, cuando un sustrato se convierte estequiométricamente en un solo producto QUINTEROS (9) de la siguiente forma:

$$\frac{dP}{dt} = K_p \left(\frac{dx}{x dt} \right)^\alpha = K_p \mu^\alpha \dots \dots \dots (4.12)$$

Donde:

P : Concentración del alcohol etílico

μ : Velocidad específica de crecimiento celular

K_p : Constante de proporcionalidad (mg*Hr/ml)

α : Constante adimensional.

Si la concentración de "S₀" se mantiene constante y el valor de " α " y " K_p " aumentan; esto significa que la actividad celular se incrementa debido a la presencia de cofactores* dando como resultado una mayor velocidad de formación de producto.

Reemplazando la ecuación(4.6) en la ecuación (4.12) obtenemos:

$$\frac{dP}{dt} = K_p \left(\mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_0 + S_0} \right) \right)^\alpha$$

Integrando:

$$P - P_0 = K_p \left(\mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) \right)^\alpha (t - t_0) \dots \dots \dots (4.13)$$

Donde:

t_0 : Es la fase de latencia (hr)

P_0 : 0 durante la fase de latencia.

$K_{p,\alpha}$: Se obtienen experimentalmente.

* Se conoce la intervención de las enzimas en la catálisis de las reacciones bioquímicas. Para ejercer su actividad catalítica cierto número de ellas tienen necesidad de un cofactor que puede ser según los casos: un ión metálico, un agrupamiento prostético sólidamente ligado, en consecuencia no dissociable de la proteína enzimática o una coenzima cuyo modo de acción es similar al precedente, pero que al no estar ligada a la proteína o al estarlo poco, se comporta como un sustrato de la reacción.

CAPITULO V

5.- PROCEDIMIENTOS Y PRUEBAS EXPERIMENTALES

5.1 Método de cultivo de la levadura

El cultivo de levaduras, se lleva a cabo utilizando el medio Agar Sabouraud

Requerimientos principales :

- Autoclave
- Cámara Aséptica
- Incubadora
- Mechero de alcohol
- Mechero Bunsen
- Equipos de vidrio: pipetas de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml; matraz de 400 ml; caja petri.
- Asa de col.
- HCl 0.1 N
- Agar Sabouraud (ver apéndice)

Método:

- 1.-Preparación del agar Sabouraud.
- 2.-Se colocan en la autoclave los equipos de vidrio, debidamente forrados con papel; incluyendo el matraz que contiene el agar Sabouraud. El autoclavado se lleva a cabo a una temperatura de 120 °C, durante 15 minutos.
- 3.-Se colocan los equipos en la cámara aséptica, que previamente a sido descontaminada con luz ultravioleta, y se mantiene cerrada la cámara aséptica durante 10 mi-

nutos.

- 4.-Transvasar el agar Sabouraud, contenida en el matraz a las cajas petri en un volúmen de 15 ml.
- 5.-Inocular en las cajas petri , con la cepas contenidas en los tubos de ensayo utilizando el asa de col.
- 6.-Incubar el cultivo de levaduras a una temperatura de 30 °C durante 24 horas.
- 7.-Preparación del inóculo caldo Sabouraud (ver apéndice)
Añadir HCl 0.1 N, para obtener un pH aproximado a 5, y 1 mg de pulpa de plátano.
- 8.-Se procede a esterilizar el caldo Sabouraud y los equipos de vidrio , procedimiento 2.
- 9.-Inocular la cepa en el caldo Sabouraud.
- 10.-Instalar el caldo Sabouraud en la incubadora manteniendo agitación constante a una temperatura de 30 °C durante 48 horas.
- 11.-Inocular el medio fermentable.

5.2 Procedimiento experimental para la obtención de alcohol y vinagre

5.2.1 Equipos experimentales

Los equipos utilizados son :

- Bioflo IIc : fermentador para uso múltiple , utilizado en fermentaciones aeróbicas y anaeróbicas, cuenta con control automático de presión, temperatura, pH, oxígeno disuelto, potencia de agitación.

El fermentador será utilizado para realizar las primeras corridas .(Ver foto en apéndice).

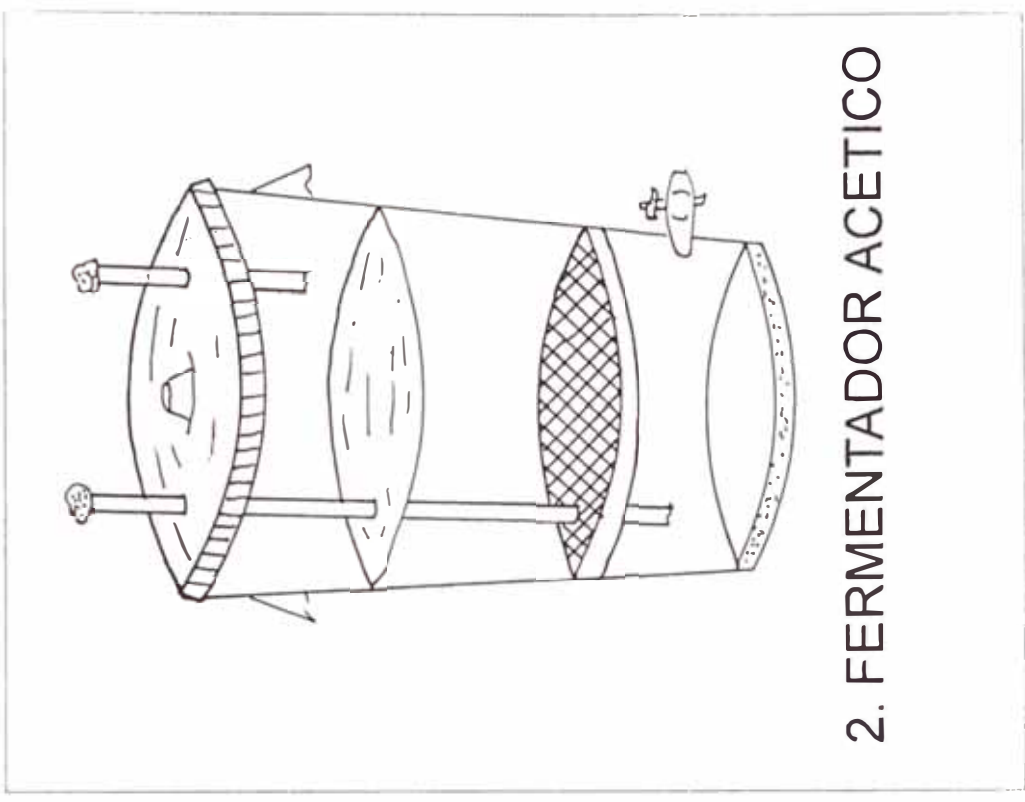
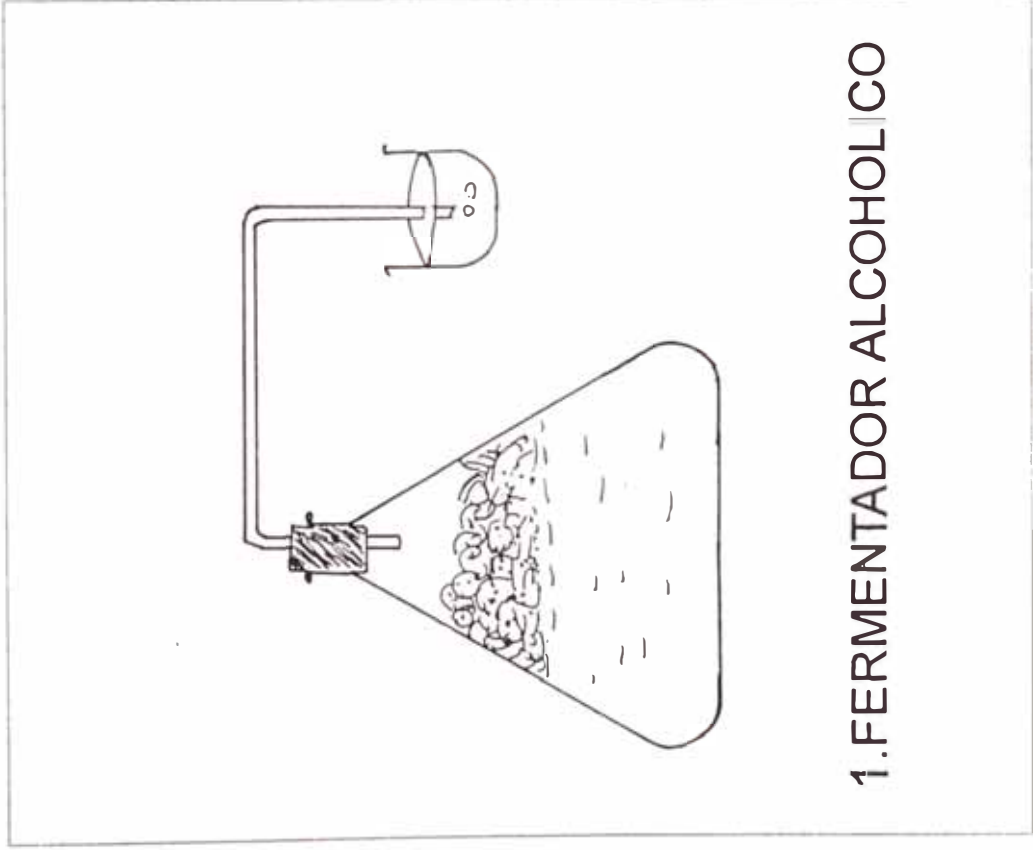
- Fermentador alcohólico: recipiente de vidrio con un tapón de jebe horadado , que permite conectar por medio de una manguera a una cuba hidro-neu- mática, la salida del CO₂.(ver figura 5.1)
- Licuadora: para triturar la pulpa de plátano.
- Equipo de baño maría
- Agitador
- Equipo de fermentación acética: recipiente de plástico habilitando en su interior una rejilla de madera, para evitar la inmersión de la capa de acetobacterias , dos orificios en la tapa y un caño para poder retirar el vinagre. El recipiente de fermentación contiene dos tubos de vidrio que atraviesan la tapa en la parte superior , un tubo debe llegar casi hasta el fondo , atravesando re- jilla de madera,que tiene como finalidad no rom- per la capa de acetobacterias formadas en la su- perficie del mosto alcohólico,el otro estará por encima del nivel del líquido, que se utilizará para airear.(ver figura 5.1)
- Separador decantador - centrífugo: de 4000 rpm y máxima fuerza centrífuga 900 veces la gravedad.

5.2.2 Método experimental

El procedimiento experimental desarrollado en el

FIGURA 5.1

EQUIPOS EXPERIMENTALES DE FERMENTACION



laboratorio de la sgte. manera:

- 1) Pretratamiento de la pulpa.
- 2) Hidrólisis enzimática.
- 3) Fermentación alcohólica.
- 4) Fermentación acética.

- Pretratamiento de la pulpa

Se toma como muestra base 4 kg de plátano , la cual es descascarada y obteniendose un peso de pulpa de 2 kg aproximadamente.

La pulpa es tratada en una licuadora doméstica, añadiendo una cantidad de agua igual al 50 % en peso. Utilizando un vaso de precipitado de 4 lt se vierte la mezcla, la cual es agitada en medio de un baño maría hasta alcanzar una temperatura de 90 °C y con una solución de NaOH 4M en una relación de 7 ml por cada 750 ml de slurry, dicha solución es llevada a un pH de 6.5

- Hidrólisis Enzimática

Establecidas las condiciones para trabajar con la enzima α -amilasa se procede a añadir 400 μ lt por cada litro de solución , donde se mantiene agitación constante durante 60 minutos.

Se procede luego , a acidificar la solución con

ácido clorhídrico concentrado, hasta obtener un pH de 4.5 ,se procede a enfriar la solución a 55 °C , parámetros indispensables para añadir la enzima gluco-amilasa en 400 μ lt por cada litro de solución , durante 30 minutos tiempo en la cual debe mantenerse constante la temperatura y pH.

- Fermentación Alcohólica

Vertir el slurry al fermentador y se enfría hasta una temperatura por debajo de 40 °C, temperatura a la cual puede ser inoculada la levadura(Saccharomyces Cerevisiae o Saccharomyces Uvarum), el cultivo es visto en el diagrama de flujo. Se inocula en una proporción de 0.1 % peso por volumen de solución ,se cierra el sistema para evitar el ingreso de aire y habilitar la salida del anhídrido carbónico que se formará durante la fermentación hacia una cuba hidroneumática, que contiene una solución al 5% de bisulfito de sodio, para evitar el ingreso de contaminantes hacia el fermentador.

Entonces a los 8 días se obtiene una solución cuyo contenido de alcohol es de 7.5 a 10 % en peso.

- Acondicionamiento del mosto alcohólico

A través de un decantador centrífugo o con la ayuda de una prensa se separa los sólidos del mos-

to. El mosto alcohólico que sale del decantador o prensa serán luego colocados en el recipiente de fermentación en el cual se realiza precisamente la fermentación acética.

- Fermentación Acética

El mosto alcohólico es colocado en el recipiente de fermentación para dejar en reposo , el volumen del líquido es aproximadamente dos tercios del volumen del fermentador el mosto será inoculado por "vinagre madre" que contiene acetobacterias y que se desarrollarán a los seis o siete días , formando una película es cuando comienza la formación de ácido acético la acetificación se realizará hasta una exhaustación de alcohol (0.3 % en peso por volumen de alcohol como máximo), la mitad del contenido será removido abriendo el caño, para luego añadir stock alcohólico fresco en igual volumen, a través del tubo que llega hasta el fondo y así poder realizar este procedimiento en forma periódica hasta tener una concentración de ácido acético mayor al 5% , el proceso de iniciación se observa en la cuadro 5.1 . Este procedimiento se denomina el Orleáns Modificado

[CUADRO 5.1]

Iniciación y formación en el proceso de acetificación

DIA	ACIDEZ (% w/v Ac. acético)	ALCOHOL (% w/v)	GK	INICIACION
0	3.42	---	---	250 ml de vinagre madre + 250 ml. de mosto alcohólico
10	6.33	0.67	7.00	Añadir 500 ml. de mosto alcohólico
24	6.70	0.71	7.41	Añadir 1 lt.de mosto
	3.32	3.71	7.03	
28	5.95		5.95	Añadir el volúmen formado a 4 lts. de mosto en un fermentador
	2.13	4.95	7.08	
34	3.40	3.56	6.96	2 lts. de mosto añadido
	2.70	4.32	7.02	
40	6.27	1.28	7.55	Añadir 2.5 lts. de mosto
	4.98	2.24	7.22	
50	6.90	0.98	7.88	Remover 4 lts. de vinagre formado
	4.20	3.23	7.43	Añadir 4 lts. de mosto
60	7.32	0.86	8.18	Remover 4.5 lts. de vinagre formado
	3.99	3.90	7.89	Añadir 4.5 lts. de mosto

5.3 Control de la Fermentación Alcohólica

Se determina la cantidad de azúcares reductores por el método del DNS y la determinación de alcohol por el método de Caputi y Wright , antes y durante el proceso de fermentación alcohólica .

Método del DNS

Este método se utiliza para la determinación de azúcares fermentables en una muestra.

Requerimientos

- Un espectrofotómetro
- Mechero Bunsen
- Erlenmeyer y vaso de precipitado
- Solución de DNS (ver apéndice)
- Glucosa anhidra D(+)

Método:

a) Obtención de la curva patrón:

- 1) Tomando 0.9 g de glucosa por cada 0.9 lt de agua se obtiene una concentración de 1 g/lt luego diluir a 0.8 , 0.6 , 0.4 , 0.2 g/lt
- 2) Con la solución de DNS, entonces se prepara una mezcla de razón: 3 volúmenes de DNS por cada volumen de solución diluída de glucosa. Se toman varias muestras para cada dilución siendo esto más exacto a mayor números de muestras.
- 3) Luego poner las muestras sobre un baño maría de apro-

ximadamente 100 °C durante 5 minutos exactamente luego se procede al enfriamiento en un baño de agua fría a temperatura ambiental durante aproximadamente 20 minutos.

- 4) Luego se procede a determinar la curva entre la concentración de glucosa versus la absorbancia en el espectrofotómetro determinando la absorbancia para un $\lambda=540$ nm.
- 5) Donde puede obtenerse por ejemplo en un análisis realizado en el laboratorio, datos como los mostrados (ver cuadro 5.2).

Datos con la cual se puede determinar una correlación lineal de la forma $y=A+Bx$ donde y = solución DNS-glucosa y x : absorbancia en este caso $y = 0.271045 + 1.193427x$ donde se obtiene un coeficiente de correlación $r=0.9997476$

b) Determinación la concentración de azúcares en la solución fermentable

La solución fermentable o fermento en este caso mostrado es una solución conteniendo la pulpa de plátano. Tomar una muestra de la solución aproximadamente 1 ml. de esta solución, diluirlo en 100 ml Luego se procede a continuar con los pasos 2,3,4 de la determinación de la curva patrón pues una vez determinada la

CUADRO 5.2

Determinación de la curva patrón para
el análisis de azúcares

Solución DNS- glucosa diluída (g/l)	Absorbancia (540 nm)
0.2	0.150
0.2	0.145
0.2	0.145
0.4	0.315
0.4	0.305
0.4	0.315
0.6	0.470
0.6	0.480
0.6	0.480
0.8	0.650
0.8	0.650
0.8	0.650

Regresión lineal: $y=0.271045 + 1.19347x$
 $r= 0.9997476$

absorbancia se correlaciona en la curva patrón donde se obtiene la concentración de azúcares de la solución fermentable.

Método de determinación de alcohol

El método utilizado es el de Caputi y Wright (1969) , ideal para muestras pequeñas.

El alcohol es destilado de la muestra y oxidado a ácido acético por una solución acidulada de dicromato de potasio a 60°C. No siendo necesario que se utilice un baño o calentamiento, porque el volumen escogido de ácido sulfúrico nos permite tener una temperatura de 60°C luego de la mezcla.

El dicromato residual es determinado por una titulación con Sulfato Ferroso en una solución ácida muy fuerte , usando ferroína de indicador.

Requerimientos:

- Un equipo de destilación , con balón de 100 ml
- Mechero bunsen
- Bureta
- 2 Erlenmeyer de 100 ml
- Indicador de ferroína (ver apéndice)
- Dicromato de potasio 0.25N
- Acido sulfúrico aproximadamente 25N
- Sulfato de fierro y amonio (Sal de Mohr), aprox. 0.1N

Método:

Una muestra conteniendo entre 0 y 20 mg de alcohol es añadido a (500 ml:tamaño del recipiente cónico) conteniendo 50 ml de agua destilada. Esta muestra es destilada. El destilado (25 ml) es recolectado en un erlenmeyer de 100 ml conteniendo 10 ml de dicromato de potasio para acelerar la condensación colocar el erlenmeyer de recolección en un baño de hielo.

25 ml. de ácido sulfúrico 25N es agregado al erlenmeyer desde una probeta luego tapado. Después de 30 minutos se añadirá 2 gotas a la mezcla y será titulada con una solución sulfato ferroso amoniacal.

Tambien se titulará un blanco (una solución de dicromato de potasio 0.25N) de 10 ml y 25 ml de ácido sulfúrico 25N.

Si T= Volúmen de la muestra Titulante

B= Volúmen del Titulante en el blanco

de manera que la cantidad de alcohol obtenido se obtiene aplicando la sgte. fórmula :

$\begin{array}{l} \text{mg de} \\ \text{alcohol} = 1.152 * (B-T) * 25 / B \\ \text{etílico} \end{array}$

5.3.1 Consumo de sustrato.

Ver cuadro 5.3 , 5.4 y figura 5.2.

5.3.2 Formación de producto

Ver cuadro 5.5 y figura 5.3.

5.4 Determinación de los Parametros Cinéticos

5.4.1 Calculo de μ_{max} , td

Constante de Saturación (K_s): Para Saccharomyces Cerevisiae (organismo) y Glucosa (sustrato), según Pirt (16):

$$K_s = 25 \text{ mg/lt} = 0.025 \text{ mg/ml}$$

td_1 : Tiempo de duplicación Sin Amilasa

td_2 : Tiempo de duplicación Con Amilasa

De la ecuación (4.5) se tiene:

$$\mu_1 = \frac{\ln 2}{td_1}$$

$$\mu_2 = \frac{\ln 2}{td_2}$$

De la ecuación (4.6) Monod

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right)$$

CUADRO 5.3

CONSUMO DE SUSTRATO SIN AMILASA (AZUCARES)

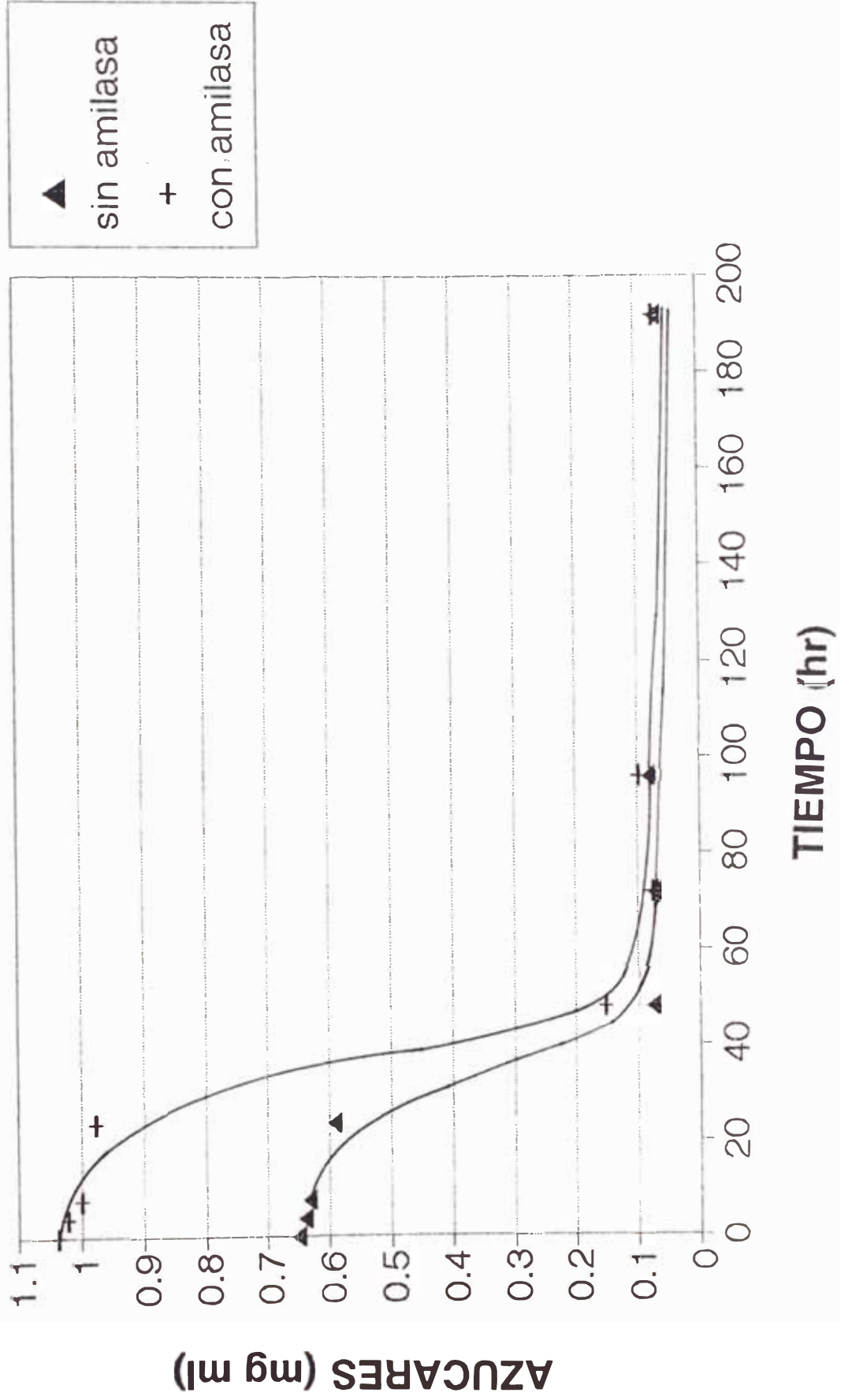
TIEMPO (horas)	AZUCARES PRESENTE (mg/ml)	CONSUMO (mg/ml)	AZUCARES PRESENTE (%)
0	0.65	----	16.03
4	0.64	0.01000	15.78
8	0.632	0.00800	15.58
24	0.5926	0.03940	14.61
48	0.07822	0.51438	1.93
72	0.07275	0.00547	1.79
96	0.08096	0.00000	1.99
192	0.06728	0.01368	1.63

CUADRO 5.4

CONSUMO DE SUSTRATO CON AMILASA (AZUCARES)

TIEMPO (horas)	AZUCARES PRESENTE (mg/ml)	CONSUMO (mg/ml)	AZUCARES PRESENTE (%)
0	1.036	----	20.90
4	1.02	0.01600	20.57
8	1	0.02000	20.17
24	0.9756	0.02440	19.90
48	0.1521	0.82350	3.75
72	0.07549	0.07661	1.86
96	0.09737	0.00000	2.40
192	0.07002	0.02735	1.72

Figura 5.2
Consumo de sustrato (azucres)

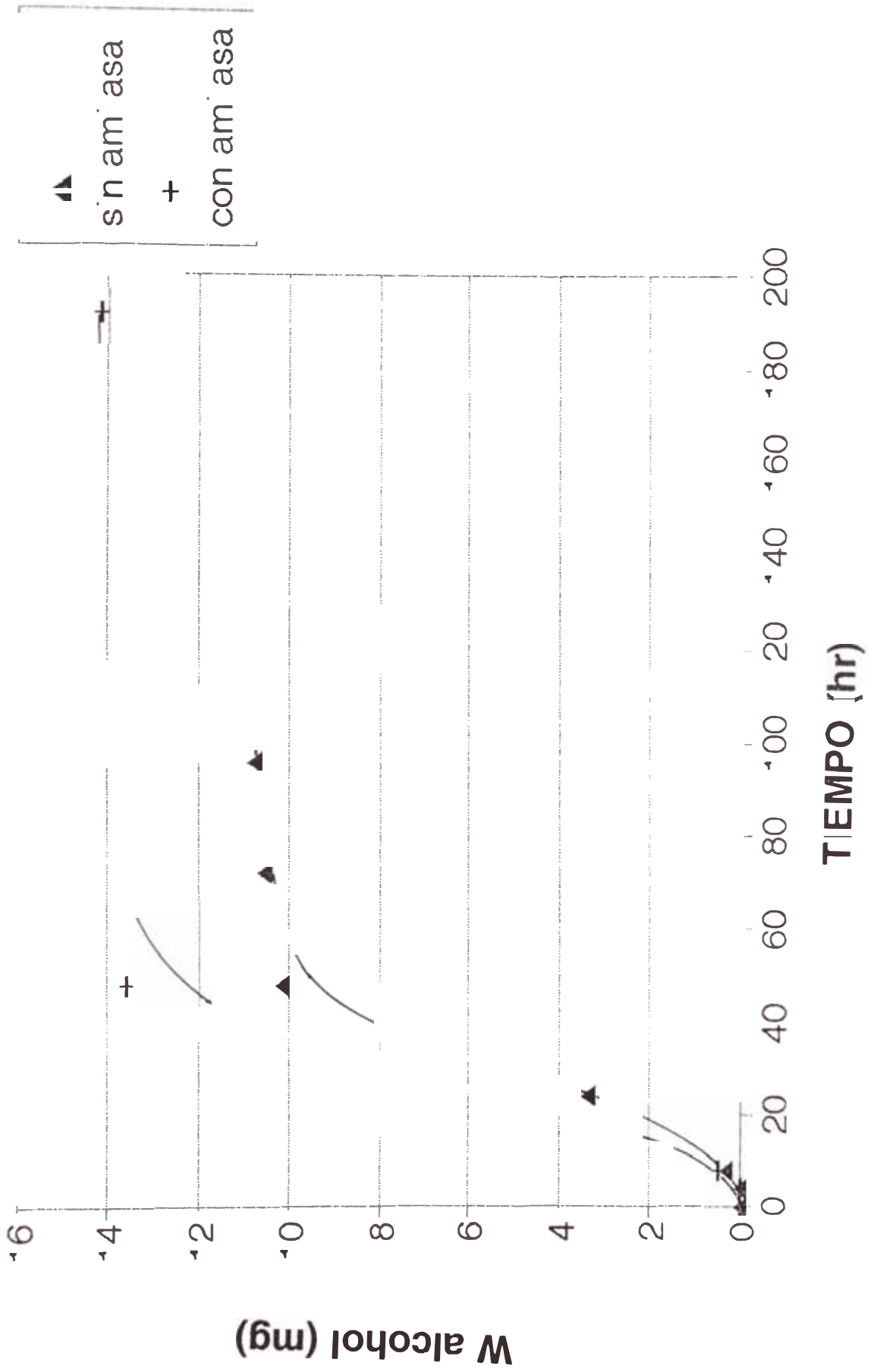


CUADRO 5.5

FORMACION DE PRODUCTO (ETANOL)

TIEMPO (horas)	SIN AMILASA			CON AMILASA		
	W muestra (g)	W alcohol (mg)	% peso	W muestr (g)	W alcohol (mg)	% peso
0	0.203	0.00	0.00	0.199	0.00	0.00
4	0.198	0.00	0.00	0.201	0.00	0.00
8	0.203	0.30	0.15	0.202	0.46	0.23
24	0.197	3.34	1.70	0.166	4.03	2.42
48	0.202	10.15	5.04	0.201	13.60	6.77
72	0.202	10.52	5.21	0.200	13.60	6.96
96	0.206	10.80	5.24	0.201	13.92	6.92
192	0.201	11.11	5.54	0.202	14.17	7.01

Figura 5.3
Formacion de producto (etano)



De acuerdo a los datos obtenidos se tiene:

$S_{01} = 0.65 \text{ mg/ml}$ (Sustrato inicial Sin amilasa)

$S_{02} = 1.036 \text{ mg/ml}$ (Sustrato inicial Con amilasa)

$$a) \frac{\ln 2}{td_1} = \mu_{\max} \left(\frac{S_{01}}{K_s + S_{02}} \right)$$

$$b) \frac{\ln 2}{td_2} = \mu_{\max} \left(\frac{S_{02}}{K_s + S_{02}} \right)$$

Reemplazando los datos en (a) y (b) y dividiendolos se tiene

$$\frac{td_2}{td_1} = 0.97$$

Asumiendo $td_2 = 4 \text{ hr}^{**}$

se tiene:

$$\mu_{\max} = 0.18 \text{ Hr}^{-1}$$

****Dicho tiempo a sido asumido de acuerdo a los datos tenidos en la tabla N°1 (consumo de sustrato), para sistemas de fermentación con Saccharomyces Cerevisiae.**

5.4.2 Cinética del Consumo de Sustrato

De la ecuación (4.11)

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right) = K \mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) (t - t_0)$$

Se tiene que:

$$\mu_{\max} = 0.18 \text{ y } K_s = 0.025$$

Relacionando $-\ln (S/S_0)$ vs tiempo en el cuadro 5.6

Se tiene:

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right)_1 = 0.1265$$

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right)_2 = 0.1162$$

Dichos datos son obtenidos tomando la pendiente en la fase exponencial (ver figura 5.4)

Calculemos K; remplazando los datos en la ecuación (4.11)

-Se tiene para el consumo de sustrato Sin amilasa

$$0.1265 = K_1 \times 0.18 \left(\frac{0.65}{0.025 + 0.65} \right) \Rightarrow K_1 = 0.7312$$

-Se tiene para el consumo de sustrato Con
amilasa

$$0.1162 = K_2 \times 0.18 \left(\frac{1.036}{0.025 + 1.036} \right) \Rightarrow K_2 = 0.6617$$

Se tomo el valor promedio, y se obtiene K
K= 0.6067

Reemplazando los valores obtenidos en la
ecuación (4.11) obtenemos

$$-\ln \left(\frac{S}{S_0} \right) = 0.1254 \left(\frac{S_0}{0.025 + S_0} \right) (t - t_0), \dots, (5.1)$$

Dicha ecuación relaciona a "S", unicamente
en función de S_0, t tendrá validez en la
fase exponencial.

5.4.3 Cinética de la Formación de Producto

De la ecuación (4.13)

$$P - P_0 = K_P \left(\mu_{\max} \left(\frac{S_0}{K_s + S_0} \right) \right)^\alpha (t - t_0)$$

Al tener dos variables K_s y α , necesitamos
dos ecuaciones simultáneas para resolverla.
De los datos tabulados en el cuadro 5.5
obtenemos las pendientes

CUADRO 5.6

VALORES CALCULADOS DE S (CONC. SUSTRATO)
CON RESPECTO AL TIEMPO

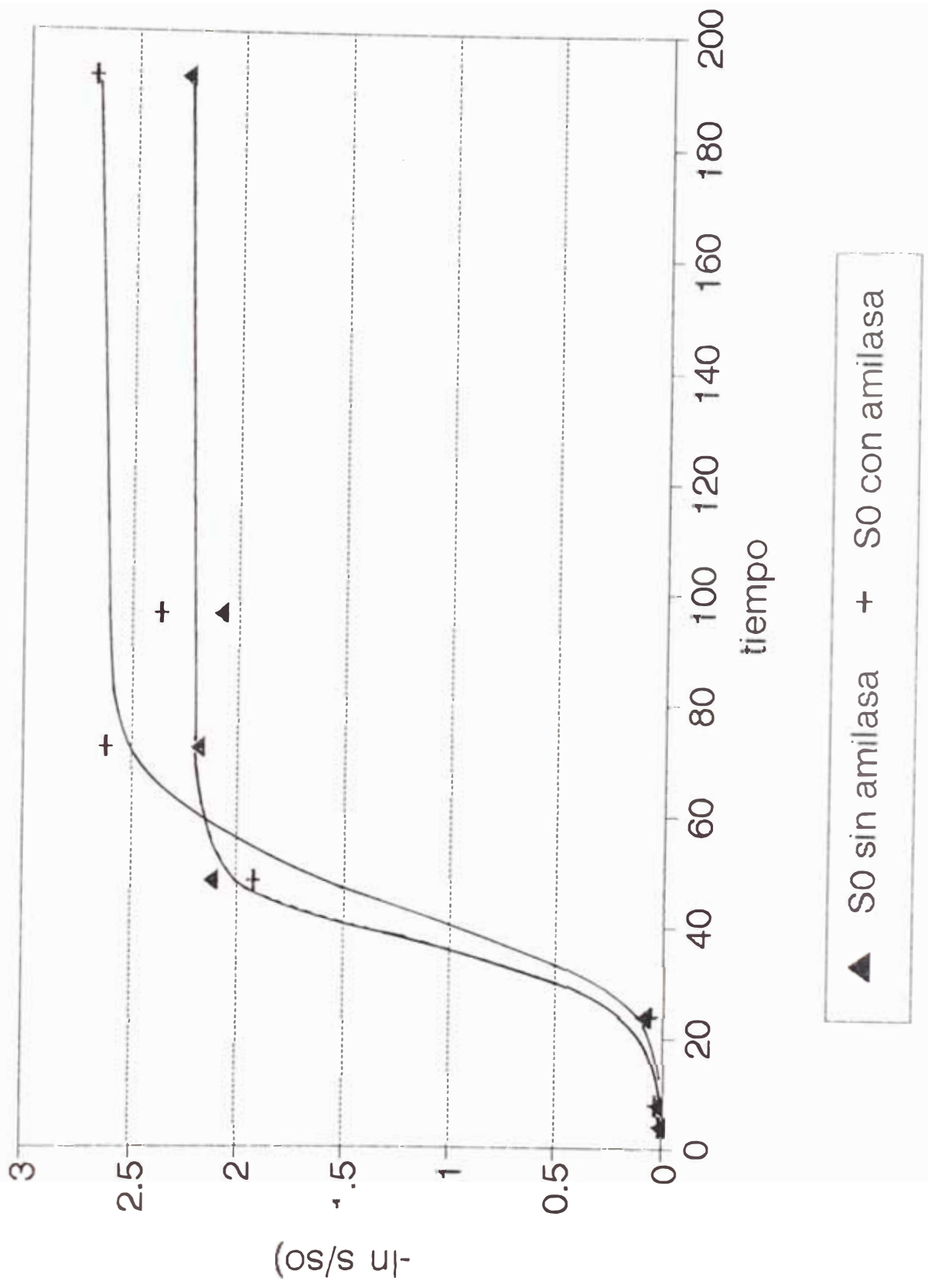
tiempo	s1	$-\ln(s/s_0)_1$	s2	$-\ln(s/s_0)_2$
4	0.64	0.0155	1.02	0.0155
8	0.62	0.0317	1	0.0354
24	0.5926	0.0925	0.9756	0.0601
48	0.0782	2.1177	0.1521	1.9186
72	0.0727	2.1906	0.0755	2.619
96	0.0809	2.0836	0.0974	2.3643
192	0.0673	2.2678	0.07	2.6946

S01: 0.65 (mg/ml)

S02: 1.036 (mg/ml)

tiempo: en horas

Figura 5.4
 $-\ln (s/s_0)$ vs. tiempo



Sin amilasa

$$0.2321 = K_p \left(0.18 \times \frac{0.65}{0.025 + 0.65} \right)^\alpha$$

Con amilasa

$$0.2500 = K_p \left(0.18 \times \frac{1.036}{0.025 + 1.036} \right)^\alpha$$

Dividiendo las expresiones se obtiene:

$$\alpha = 5.54$$

Reemplazando el valor de α en la expresión anterior se obtiene:

$$K_p = 1.53 \times 10^3 \text{ (mg/ml)} \times \text{hr}^{(\alpha-1)}$$

Sustituyendo estos valores en la ecuación (4.13) obtenemos.

$$P - P_0 = 1.53 \times 10^3 \left(0.18 \times \frac{S_0}{0.025 + S_0} \right)^{5.54} (t - t_0) \dots \dots (5.2)$$

Esta ecuación relaciona la concentración de producto para cualquier concentración inicial de sustrato (S_0) y un tiempo (t) determinado.

En el cuadro 5.7 se compara los resultados obtenidos experimentalmente con los valores calculados por el modelo matemático (ecuación 5.2) planteado para este sistema de fermentación.

CUADRO 5.7

Comparación de la Ecuación 5.2
(formación de producto)
con datos experimentales

Tiempo (horas)	Producto 1		Producto 2	
	Experime.	Mod.Mat.	Ex erime.	Mod.Mat.
8	0.15	0	0.23	0
24	1.7	1.48	2.42	1.6
48	5.04	3.72	6.777	4.01
72	5.21	5.94	6.96	6.42
90	5.24	8.83	6.92	8.83

Producto 1: Alcohol desde sustrato sin amilasa (mg/100 ml)

Producto 2: Alcohol desde sustrato con amilasa (mg/100 ml)

5.5 Control de la Fermentación Acética

El control de la fermentación acética se basa únicamente en la determinación de la acidez (contenido de ácido acético) ,por titulación por NAOH el contenido de alcohol por el método de Caputi y Wrigth ,explicado en el capítulo 5. La suma de los porcentajes de acidez y del contenido de alcohol etílico deben permanecer dentro de un rango, esta suma se denomina el GK (Gessamnte Konzentration), visto en el cuadro 5.1

5.6 Determinación del rendimiento

La reacción que establece la conversión teórica está dada por el esquema de la página 102.

La conversión teórica es:

1 g de glucosa

L-----> 0.51 g de alcohol etílico

L-----> 0.67 g de ácido

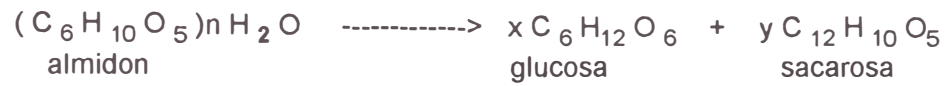
acético

El proceso de hidrolización enzimática del almidón contenido en la pulpa del plátano permite aumentar la cantidad de azúcar fermentable. El promedio se determinó en un 20.9 % en peso.

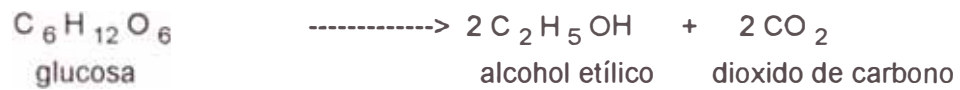
Los resultados obtenidos por cada 1 kg de pulpa de plátano son observados en el cuadro 5.8

ESQUEMA DE PRODUCCION DEL ACIDO ACETICO

Proceso enzimatico



Proceso fermentativo del alcohol



Proceso de acidificación



CUADRO 5.8

RENDIMIENTO DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ALCOHOL Y VINAGRE

Producto	Contenido en:	% del contenido	total
Azúcar Fermentable	1 kg pulpa +	20.9 (w/w)	209 g
Glucosa, fructosa	0.5 lt agua		
Alcohol etílico	1.2 lt de sol.	7.01 (w/w)	84 g
Acido acético	1 lt de sol.	8.00 (v/v)	80 g

Rendimientos:

Azúcar fermentable ----> Alcohol etílico : 78.8 %

Alcohol etílico -----> Acido acético : 72.2 %

*Azúcar fermentable ----> Acido acético | 57.2 %

*El rendimiento total está dada por esta relación

CAPITULO VI

6.- TECNOLOGIA DE LA PRODUCCION DE ALCOHOL Y VINAGRE

6.1 Tratamiento previo de la materia prima

El plátano maduro es pesado seguidamente es pelado en forma manual en las mesas, llevado a la trituradora conteniendo agua en una cantidad igual al 50 % en peso de la pulpa. El slurry o solución obtenida es agitado en una marmita enchaquetada hasta alcanzar una temperatura de 90 °C y adición de NaOH para obtener un pH de 6.5.

6.2 Hidrólisis Enzimática

Dadas las condiciones para la adición de la enzima α -amilasa se procede a añadir a la solución en la marmita donde se mantiene agitación constante durante 60 minutos.

Transcurrido el tiempo necesario se acidifica la solución con ácido clorhídrico concentrado hasta obtener un pH de 4.5 se procede a enfriar la solución a 55 °C son condiciones necesarias para añadir la enzima gluco-amilasa en la solución. Manteniendo agitación constante durante un tiempo a la temperatura y pH, preestablecidos.

6.3 Fermentación Alcohólica

La solución es bombeada al fermentador, aquí se enfría hasta una temperatura por debajo de 40 °C temperatura a la cual puede ser inoculada la levadura (*Saccharomyces Cerevisiae* o *Saccharomyces Uvarum*). Se inocula la levadura y a los 8 días aproximadamente se obtiene una solución alcohólica alrededor de 7.5 a 10 % en peso , todo este proceso bajo condiciones anaeróbicas.

6.4 Acondicionamiento del mosto alcohólico

El mosto alcohólico pasa a través del decantador centrífugo , separando los sólidos . El mosto alcohólico que sale del decantador es bombeado a los tanques fermentadores en las cuales se realiza la fermentación acética.

6.5 Fermentación Acética

Una vez obtenido el mosto alcohólico , se bombea esta solución en un fermentador acético debidamente acondicionado , donde el mosto alcohólico representa un tercio del volumen total del fermentador y este mosto será inoculado por un volumen de "vinagre madre" , que contiene acetobacterias y que se desarrollaran en este

medio , pues una vez formada una película de bacterias acéticas (en seis o siete días) se comienza a producir ácido acético y la acetificación se realizará hasta que haya una exhaustación alcohólica (0.3 % w/v como máximo), la mitad del contenido será removido para luego añadir stock alcohólico fresco en igual volúmen y así realizar en forma periódica , pues con este método obtendremos un vinagre con un contenido mayor a 5% , el método de iniciación se observa en la cuadro 5.1. Este método utilizado es el Orleáns Modificado.

Podemos identificar diferentes procesos para la fabricación del vinagre ,los procesos principales que se explican son: el Método Orleans , el Método rápido " Quick " y el Método de crecimiento sumergido.

6.5.1 Método Orleáns

Este método es el mas antiguo de los métodos lentos y el mejor para la producción de vinagres de mesa. El proceso es como sigue , se verifica en barriles de 200 litros,luego es llenado hasta la tercera parte con el iniciador,consistente en vinagre de buena calidad, añadiendo también de 10 a 15 litros de mosto alcohólico;durante 4 semanas consecutivas a intervalos semanales, se añaden cantidades de mosto de alcohólico análogas a la inicial.Al cabo de 5 semanas se separan de 10 a 15 litros de vi-

vinagre, reemplazándola por la misma cantidad de mosto alcohólico. Se repite sucesivamente esta operación, realizándose así un proceso continuo. El aire entra a los barriles por agujeros practicados en las tapas por encima del nivel de vinagre (los barriles están echados). Los agujeros tienen al menos 2.5 cm de diámetro y están cubiertas con tela metálica. También puede entrar el aire a través del orificio del tapón, cubierto con una malla metálica. Las bacterias acéticas forman una película fina sobre la superficie de la solución, que con el tiempo se hace gruesa y gelatinosa. Esta capa mucilaginosa, que contiene muchas bacterias, es conocida con el nombre de "vinagre madre", si no está enrejado puede caer al fondo y formarse otra capa en la superficie. Aunque el vinagre producido por éste método es de muy buena calidad, el proceso es lento, costoso y requiere mucha atención. Las películas superficiales se rompen fácilmente al añadir el medio alcohólico y extraer el vinagre. Al hundirse consumen las sustancias nutritivas del medio sin producir ácido acético.

Método Orleáns Modificado

Esta modificación se realiza bajo las consideraciones del método Orleáns. Consiste en colocar enrejado de madera o una rejilla soporte, de manera que se e-

vite el hundimiento y ruptura de la capa de bacteria acética, otra modificación es introducir un tubo o ducto que atraviese la película de bacteria acética hasta el fondo del barril .

Las soluciones alcohólicas se añaden a través , del ducto con un efecto perturbador mínimo. Por medio de un segundo tubo de vidrio que pasa través de agujero en el fondo del barril se puede medir el nivel del líquido y al mismo tiempo sirve para la extracción del vinagre sin perturbación de la película bacteriana.

6.5.2 Método Rápido "Quick"

Este método consiste en utilizar relleno en el recipiente de fermentación, el relleno debe ser un material poroso que permita un contacto íntimo de los organismos con el aire. Este método se desarrolla en recipientes llamados generadores.

Los generadores son de varios tamaños y formas. Estos generadores llevan un falso fondo perforado , a del cual entra el aire. Los generadores de mayor tamaño tienen otro bastidor perforado aproximadamente a la mitad de la altura, que ayuda a soportar las virutas o el material de relleno empleado, evitando el aplastamiento del mismo sobre el fondo.

Cerca del techo del generador hay una tapa perforada sobre la que descarga un rociador giratorio que distribuye uniformemente el líquido sobre la parte alta del material de relleno. Para obtener la acidez deseada puede pasarse varias veces el líquido en fermentación por el mismo generador o a través de una serie de generadores .

6.5.3 Método del Crecimiento Sumergido

Método sofisticado técnicamente en el cual, el acetobacter se desarrolla sumergido en la solución alcohólica y el oxígeno es suministrado por agitación a alta velocidad, formandose un vortex, y por ende permitiendo la entrada del aire.

Este proceso es rápido y eficiente pero emplea una alta relación capital- costo de equipo y grandes requerimientos de fuerza eléctrica y agua de enfriamiento.

6.6 Acabado del vinagre

Antes del almacenaje ha de permitirse que la fermentación haya cesado, para que el vinagre tenga su máxima fuerza. Si después de esto no se impide la acción de las bacterias, por exclusión de oxígeno o por otros medios , aquellas destruirían gradualmente el vinagre. Para evitarlo se llenan completamente los barriles o depósito en

que se almacena el vinagre, cerrándolos herméticamente para impedir el acceso del aire.

En la maduración se mejora el aroma y la limpidez. Con la formación de ésteres desaparece el sabor áspero del producto reciente. La maduración tiene lugar durante el almacenamiento y puede requerir un mes o más.

Después de la maduración se procede a la clarificación del vinagre donde se realiza por filtración o sedimentación prefiriéndose el primero. El proceso de sedimentación se mezcla con cola de pescado, bentonita o arcilla adsorbente, dejándolo en reposo hasta que se clarifique. El vinagre ya filtrado se lleva a calentar a una temperatura de 70 °C por 15 minutos, para evitar contaminación y que se genere más acidez en el vinagre.

6.7 Balace de Materia del Proceso

El proceso de producción mensual es como sigue:

- Materia prima a procesar: 20,000 kg de plátano de los cuales el 50 % en peso corresponde a la pulpa.
- Proceso de trituración : se le adiciona 5,000 lt de agua (50 % del peso de pulpa).
- Hidrólisis: adición de enzimas y reactivos (cuyo volumen no es representativo para el balance de materia).
- Fermentación alcohólica: adición de cultivos de levadura en pequeña proporción respecto al volumen total.
- Separación Sólido - Líquido : Se separa 3,000 kg de so-

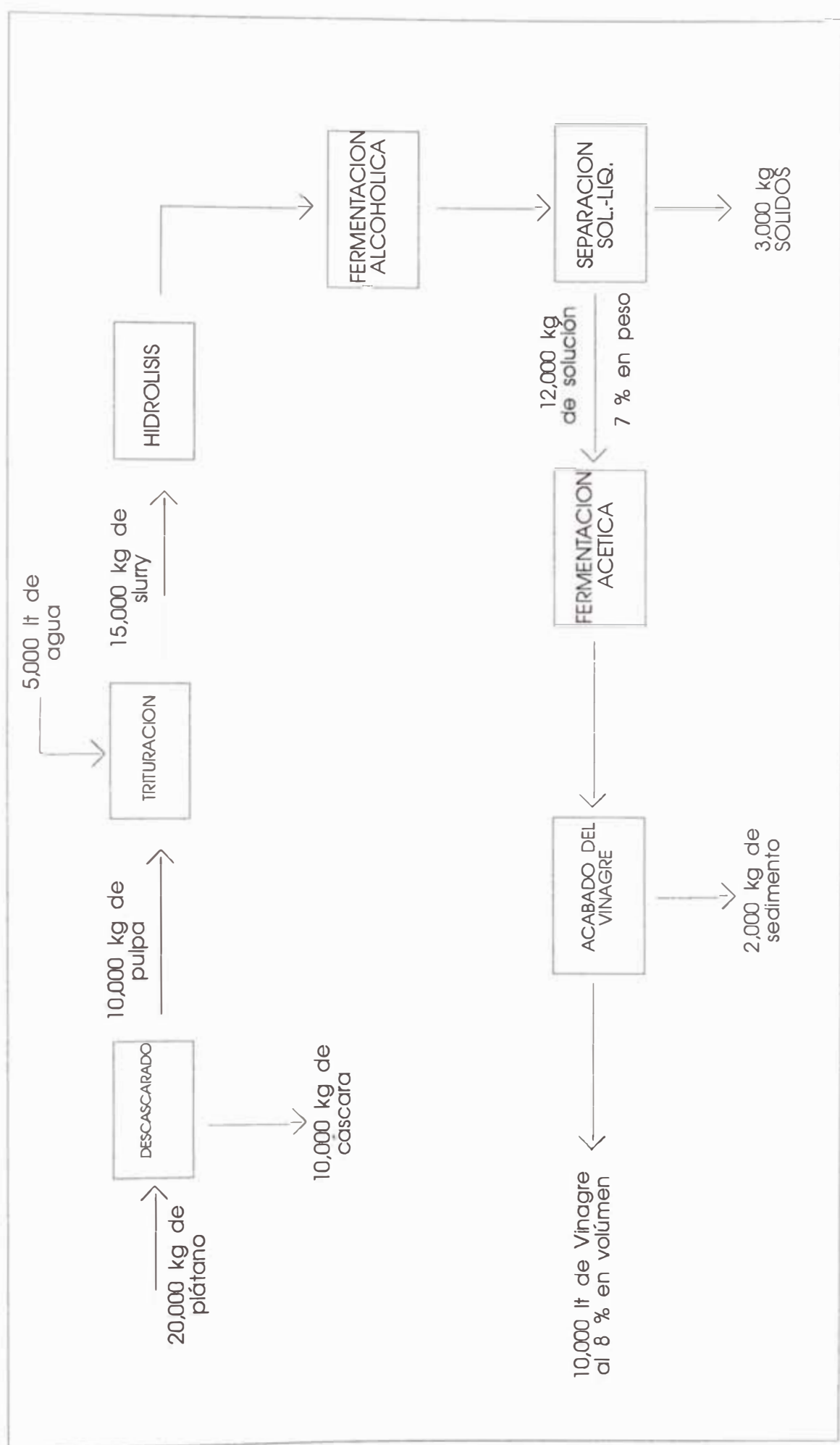
lidos húmedos y se obtiene 12,000 kg de solución alcohólica al 7 % en peso.

- Fermentación acética: solución acética con partículas en suspensión.
- Acabado de vinagre: separación de sedimentos 2,000 kg
- Volúmen de vinagre obtenido: 10,000 lt al 8 % en volúmen.

ver figura 6.1

FIGURA 6.1

DIAGRAMA DEL BALANCE DE MATERIA DEL PROCESO



CAPITULO VII

7.-EVALUACION ECONOMICA

7.1 Introducción

La evaluación económica ha sido desarrollada para trabajar a escala industrial , partiendo de los datos experimentales obtenidos a nivel de laboratorio y producción a pequeña escala.

Se puede identificar a partes importantes como el costo de inversión, el costo de producción , la evaluación del mercado y localización de la planta .

El perfil de nuestro trabajo como puede observarse ha sido principalmente el nivel experimental mas que la evaluación económica propiamente dicha por lo que quizá no exista la rigurosidad en el estudio del mercado.

Cabe señalar que los calculos y las evaluaciones que se muestran a continuación se han hecho para un volúmen de producción de 120,000 lt de vinagre anuales.

7.2 Costos de Inversión

En los costos de inversión podemos identificar a dos rubros importantes:

- Costos de Inversión Fija
- Costos de Capital de Trabajo

7.2.1 Costos de Capital Fijo

Podemos definir al costo de capital fijo al costo que implica al valor de los equipos del proceso , de

los equipos del laboratorio, del terreno, de la construcción de la infraestructura y al montaje de los equipos en general.

Los costos de capital fijo:

- Terreno:

La planta se instalará en Tocache en la zona del Alto Huallaga, Departamento de San Martín.

El costo del terreno es de 3.00 US\$ el metro cuadrado. El terreno donde se ubicará la planta es de 1000 m²

Entonces el costo del terreno es : US\$ 3,000 .

- Construcción:

Los costos implicará los materiales, mano de obra, ingeniería y supervisión, de la construcción de la infraestructura: cercado perimetral, techado de la planta, depósitos de stock, materia prima, laboratorio, oficinas y servicios higiénicos.

El costo es de : US\$ 10,000 .

- Equipos de Proceso:

Los datos han sido proporcionados por fabricantes nacionales: APIN, Azaña S.A., Vega S.A., Limpesa; y por los fabricantes extranjeros : VOGELBUSCH gesellschaft y Alfa Laval. (Ver Cuadro 7.1)

Los equipos que se utilizan son descritos a continuación:

Marmita: marmita enchaquetada de acero inoxidable

de 1200 lt de capacidad , un agitador con motor de 4 HP de potencia , reclinable.

Proveedor: Azaña S.A.

Fermentador: fermentador alcohólico ,de acero inoxidable 316, 2000 lt de capacidad , son 10 unidades,con sistemas de lectura de presión ,nivel de líquido, y visor por la parte inferior y válvula para salida del líquido en la base inferior.

Proveedor: Azaña S.A.

Fermentador Acético: toneles horizontales de material plástico , de 200 lt de capacidad, y válvula para retirar el líquido.

Proveedor: Rubbermaid Colombiana.

Licadora industrial: para triturar la pulpa de plátano , con capacidad de 100 lt con vaso cónico, volcable, motor de 3.5 HP .

Proveedor: APIN S.A.

Decantador centrífugo: separarador sólido-líquido, con un motor de 6000 rpm y fuerza centrífuga máxima de 3050 veces la fuerza de gravedad. Modelo: P-600

Proveedor: Alfa Laval S.A.

Bomba: Bomba Rotativa de desplazamiento positivo, con conexión de 2.54 cm ,y 1 HP de potencia utilizado en el bombeo de slurries.

Modelo: 601-X

Proveedor: Alfa - Laval

Balanza : balanza de plataforma ,para pesar hasta
500 kg.

Proveedor: Vega S.A.

- Equipos de Laboratorio:

El laboratorio consta de los siguientes equipos:

Aparatos de destilación con placa calentadora eléctrica , aerómetros de alcohol, equipos para titular (equipos de vidrio: probetas,erlenmeyer), balanza de de precisión, autoclave,incubadora,cámara aséptica, incubadora, refrigeradora.

El costo se evalua en : US\$ 7,500 .

- Montaje y Accesorios:

En el montaje de la planta se considerará costo de mano de obra, soportes , plataformas , y en los accesorios : tuberías, instrumentos de control , válvulas ,instalaciones eléctricas.

Se asume el 10 % del Capital Fijo.(19)

- Instalación de servicios:

La instalación de servicios principalmente implica el costo del caldero y el ablandador, y los recipientes para combustible.

El costo es de : US\$ 8,790 .

7.2.2 Costo de Capital de Trabajo

El capital de trabajo es representado por la disponibilidad de materia prima ,recursos, y financiamiento, que permita sufragar los gastos por un período por un período de tiempo (que en este caso es el de puesta en marcha) hasta que se obtenga los ingresos suficientes , para reponer por ingresos propios la necesidad del capital circulante.

Se considera tres meses del stock de materia prima ,que equivale a 2,237 US\$.

Financiamiento por stock de producto terminado, producto en proceso , pagos a personal ,servicios, ,etc. por un valor de 15,000 US\$.

7.2.3 Inversión Total

El costo total de la inversión de capital, está dada por la suma del costo de capital fijo mas el costo de capital de trabajo, está mostrada en el cuadro 7.2 .

7.3 Costos de Producción

El costo de producción , es el costo que implica los gastos necesarios para la producción de un bien.

El tipo de clasificación y subdivisión de los rubros en el presupuesto de costos de producción varía según la naturaleza del proyecto, y se acomoda generalmente a la técnica del proceso de producción correspondiente.

7.3.1 Costos Variables

Dicho costo se relaciona con el proceso de producción propiamente dicho. Se subdivide en los rubros: Materia Prima, Servicios, Mano de Obra.

- Materia Prima:

La materia prima constituye un rubro de gran importancia en el proceso de producción.

En el cuadro 7.3 se muestra el costo y la cantidad de materia prima a procesar en la producción de 10,000 litros de vinagre al mes.

El costo es de US\$ 745.89 por mes.

El costo anual US\$ 8950.68

- Servicios:

El costo de servicio implica, los costo de vapor, electricidad, y agua. En el cuadro 7.3 se muestran el volumen de combustible y agua, los Kw-hr consumidos en el proceso.

El costo calculado es US\$ 312.28 por mes.

El costo anual US\$ 3747.45

- Mano de Obra:

Comprende los sueldos del personal superior hasta la mano de obra no calificada , incluyendo todo los beneficios sociales y los impuestos por concepto de seguridad social, asignación al fondo de

pensiones y por FONAVI.

El costo por mes es US\$ 1500.

El costo anual US\$ 18000

7.3.2 Costos Fijos

Son costos que no dependen del volumen de producción, dicho costo siempre estará presente cuando la planta está en producción o en parada.

- Seguros :

Toda compañía asegura sus equipos y sus instalaciones, ante cualquier eventualidad por la cual le permitirá recuperarse de los daños ocasionados, dicho costo varía alrededor del 1% , del costo de capital fijo, se establecerá en este caso el 0.5%.

(19)

- Depreciación :

La depreciación, que se utilizará será la depreciación lineal ,este concepto se aplica con mayor frecuencia en las evaluaciones de proyecto de la característica que se está tratando este trabajo, el valor de rescate de los equipos y edificaciones que se asume comúnmente es que al final del horizonte de planeamiento, es de 10% de su valor inicial (el terreno no se deprecia).

El horizonte de planeamiento proyectado ,es de 20 años.

- Impuesto al Patrimonio Predial :

Todo terreno y su edificación es afectado por el impuesto al patrimonio predial, normalmente las municipalidades consideran el 2 % del costo inicial.

- Mantenimiento :

La totalidad de la planta necesita estar en condiciones aceptables de operación ,para la cual se considera el 2 % de capital fijo.

7.3.3 Gastos Generales :

Son gastos que representan ,sueldos,papeles, consumo de la oficina, servicios de seguridad, propaganda,etc.

Se puede definir en :

- Gastos Administrativos:

Son gastos relacionados con la gerencia y las actividades administrativas,tales como: sueldos de gerente,secretaria, gastos de oficina.

- Gastos de Distribución :

En este rubro se va a considerar, gastos de los agentes distribuidores y propaganda.

7.3.4 Costo Total de Producción

El costo total de producción viene hacer la suma de costos variables, costo fijo y los gastos generales.

Para calcular el Costo Unitario se divide el costo total de producción entre la producción total. En el

cuadro 7.4 se muestra el desgregado del costo total de producción.

7.4 Rentabilidad

La rentabilidad del proyecto está evaluada para un horizonte de planeamiento de 10 años, para una tasa de descuento del 10% ,mediante el cálculo del VAN y TIR (ver cuadro 7.5 y 7.6).

Los resultados son:

VAN: 123,038.42

TIR: 25.54 %

Para el cual observamos que tenemos un VAN positivo y un TIR mayor que la tasa de descuento.

Por lo tanto la inversión se considera rentable.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- RAUL FIGUEROA, GEORGE WILSON, El Cultivo del Plátano en el Perú. FUNDEAGRO. Año 1992, páginas 11,16-31.
- 2.- TOMAS UNGER, artículo sobre El Plátano, diario " El Comercio" ,sección C, Martes 31 de Agosto de 1993.
- 3.- SIMMONDS, N. W. Bananas. London Longmans, Green and Co.,1966, página: 30-60.
- 4.- ABOUA FIRMIN, Chemical and physycal changes in plantains (Musa Paradisiaca) during ripening. Tropical Science,1990 Volúmen 31 N° 5.
- 5.- COOPER, C. E. B. Estudos sobre o armazenamento e maturacao de banana. Coletanea do ITAL 5, 1973/1974, paginas 53-80.
- 6.- TIANDE CAI AND WAI-KIT NIP,Biochemical changes in the development of alcoholic fermented products from banana. Tropical science ,1990 ,Volúmen 30 N° 4 páginas 380-385.
- 7.-INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA E INFORMATICA. Indices de Precio al Consumidor,No 09- 93-INEI ,Setiembre 1993.
- 8.-MINISTERIO DE INDUSTRIA,COMERCIO INTERIOR,TURISMO E INTEGRACION (MICTI), Indicadores del Sector Manufacturero:

Producción y Precios 1987-1990.

- 9.- RODOLFO QUINTEROS RAMIREZ, Ingeniería Bioquímica-Teoría y Aplicaciones. Ediciones Alhambra, 1981, páginas 17,18,36,39-45.
- 10.-JEAN RIBEREAU-GAYON Tratado de Enología, Ciencias y Técnicas del Vino. Hemisferios Sur ,1989,Tomo II, páginas 494-497, 502-505, 511-513, 532-533.
- 11.-PELCZAR M. J. Y REID R.D. Microbiología,Mc Graw-Hill ,1966 páginas 211- 227, 577-594.
- 12.-MARIA JOSE NUÑES y JUAN MANUEL LEMA RODICIO, Avances Microbiológicos y de ingeniería en Fermentación Alcohólica. Revista Ingeniería Química. Octubre,1987 páginas 398- 400.
- 13.-BORZANI, W , Cinética de Fermentaciones, Curso de Biotecnología, Universidad Católica de Valparaíso, 1986 páginas 29-50.
- 14.-ACEVEDO F. Curso de Ingeniería Bioquímica, Curso Latinoamericano de Biotecnología, Valparaíso 1987 página 3.6.
- 15.-ADAMS, M.R. Small-Scale Vinager Producción from Bananas. Tropical Science. 1978, Volumen 20 ,Nº 1.

- 16.-PIRT, S. J. Principles of Microbe and cell Cultivation
Blackwell Scientific, 1975, página 12.
- 17.-IIZUKA M., UENAKAI K., SVENDBY O. AND YAMAMOTO T., Alcohol
Fermentation of Green Banana, Journal of Fermentation
Technology, Vol 63., No 5 , 475-477, 1985.
- 18.-PRESCOTT, S.C. DUNG, C.G. Industrial Microbiology, Mc Graw -
Hill, 1965, páginas 458-469.
- 19.-PETERS M. Y TIMMERHAUS K. .Diseño de Plantas y su evaluación
económica para ingenieros químicos. Editora Géminis 1978
paginas 96-151.
- 20.-WILKE C.R., YANG R.D., SCIAMANNA A.F. AND FREITAS R.P. Raw
Materials Evaluation and Process Development Studies for
Conversión of Biomass to Sugars and Ethanol. Biotechnology
and Bioengineering, 1981 Volúmen 23 , paginas 163-181