



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**“REALIZAR EL DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN FERMENTADOR  
PARA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA REMOLACHA”**

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de:  
**INGENIERO QUÍMICO**

**AUTORES:** Angel Geovanny Moyano Barahona  
Oscar Enrique Quisingo Toasa  
**TUTOR:** Ing. Hannibal Brito M.PhD.

Riobamba – Ecuador

2015

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE ING. QUÍMICA**

El Tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: “REALIZAR EL DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN FERMENTADOR PARA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA REMOLACHA”, de responsabilidad de los señores egresados Angel Geovanny Moyano Barahona y Oscar Enrique Quisingo Toasa, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Hannibal Brito M. PhD. <b>DIRECTOR DE TESIS</b>	-----	-----
Ing. Mario Villacres <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	-----	-----
DOCUMENTALISTA <b>SISBIB ESPOCH</b>	-----	-----
Nota de Tesis Escrita	.....	

Yo Angel Geovanny Moyano Barahona y Oscar Enrique Quisingo Toasa, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados, expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

Angel Geovanny Moyano Barahona

---

Oscar Enrique Quisingo Toasa

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación va dedicado primero a DIOS, quien me ha dado la sabiduría y prudencia para poder administrar mi vida, en segundo lugar se lo dedicamos a nuestros Padres., quienes con amor, cariño y dedicación nos han convertido en unos hombres de bien, hechos y derechos, en tercer lugar se lo dedicamos a nuestros Abuelos., quienes son nuestro orgullo, y compañía desde el cielo y la tierra, por último a toda nuestra familia y amigos quienes con esmero siempre nos han brindado su caluroso apoyo incondicional.

Angel Moyano., Oscar Quisingo

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo quien a través de la Facultad de Ciencias y Escuela de Ingeniería Química, nos han acogido en su seno para educarnos con sus conocimientos, valores, principios y ética profesional. A todos los Docentes de la Facultad que contribuyeron con sus conocimientos, experiencias y anécdotas, gracias por su tiempo y por su paciencia. Un agradecimiento especial a nuestros Padres, quienes con su AMOR, cariño, paciencia, afecto y respeto han sabido guiarnos por el buen camino a lo largo de nuestras vidas. En general a todos nuestros mejores amigos, quienes han compartido con nosotros muchas experiencias universitarias, nunca cambien.

Angel Moyano., Oscar Quisingo

## CONTENIDO

	pp.
RESUMEN .....	i
ABSTRACT.....	ii
INTRODUCCIÓN .....	iii
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>1</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Remolacha .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Fermentación .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.1. Microorganismos .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.2. Características generales de los microorganismos.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.2.1. Unidad de tamaño y relación superficie/volumen.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2.2.2. Relación superficie volumen.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2.2.3. Flexibilidad fisiológica.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.2.4. Expansión de los microorganismos.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.3. Aplicación tecnológica e industrial de los microorganismos.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.3.1. Procesos microbiológicos clásicos.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3.2. Producción de antibióticos.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3.3. Procesos microbiológicos actuales .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3.4. Situación exclusiva de los microorganismos.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.4. Mecanismos de fermentación.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.5. Vías de Fermentación.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.6. Fermentación alcohólica por levaduras y bacterias .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.7. Formación de etanol por levaduras .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.8. Aspectos generales de los procesos de fermentación .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.10. Selección, mantenimiento y mejoramiento de microorganismos de interés industrial .....</b>	<b>10</b>

1.2.10.1.	<i>Selección</i> .....	10
1.2.10.2.	<i>Aislamiento directo</i> .....	11
1.2.10.3.	<i>Enriquecimiento del cultivo</i> .....	11
<b>1.2.11.</b>	<b><i>Medios de fermentación</i></b> .....	12
1.2.11.1.	<i>Macronutrientes</i> .....	12
1.2.11.2.	<i>Micronutrientes</i> .....	12
1.2.11.3.	<i>Factores de crecimiento</i> .....	12
1.2.11.4.	<i>Diseño de los procesos de fermentación</i> .....	12
<b>1.2.12.</b>	<b><i>Microorganismos fermentativos</i></b> .....	13
1.2.12.1.	<i>Propiedades</i> .....	13
<b>1.2.12.2.</b>	<b><i>Morfología</i></b> .....	14
1.2.12.3.	<i>Formas de multiplicación</i> .....	14
1.2.12.4.	<i>Propiedades del medio de desarrollo</i> .....	15
1.2.12.5.	<i>Fisiología</i> .....	15
1.2.12.6.	<i>Caracterización de las levaduras</i> .....	15
1.2.12.7.	<i>Criterios para la selección de los microorganismos fermentativos</i> .....	16
<b>1.2.13.</b>	<b><i>Clasificación de las levaduras</i></b> .....	17
1.2.13.1.	<i>Levaduras de inicio de fermentación</i> .....	17
1.2.13.2.	<i>Levaduras de poder fermentativo medio-alto</i> .....	17
1.2.13.3.	<i>Levaduras de elevado poder fermentativo</i> .....	17
<b>1.2.14.</b>	<b><i>Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica</i></b> .....	18
1.2.14.1.	<i>Temperatura</i> .....	18
1.2.14.2.	<i>Aireación</i> .....	19
1.2.14.3.	<i>pH</i> .....	19
1.2.14.4.	<i>Nutrientes y activadores</i> .....	19
1.2.14.5.	<i>Inhibidores</i> .....	20
1.2.14.6.	<i>Concentración inicial de azúcares</i> .....	20

<b>1.2.15.</b>	<b><i>Efectos de la fermentación etílica</i></b> .....	20
<b>1.3.</b>	<b>Diseño</b> .....	21
<b>1.3.1.</b>	<b><i>Biorreactor o fermentador</i></b> .....	21
<b>1.3.2.</b>	<b><i>Equipo básico para el proceso de fermentación</i></b> .....	21
<b>1.3.2.1.</b>	<i>Fermentador o cuba madre</i> .....	21
<b>1.3.2.2.</b>	<i>Tapón de fermentación</i> .....	21
<b>1.3.2.3.</b>	<i>Cubierta de goma para el tapón</i> .....	22
<b>1.3.2.4.</b>	<i>Airlock</i> .....	22
<b>1.3.3.</b>	<b><i>Cálculos</i></b> .....	22
<b>1.3.4.</b>	<b><i>Dimensionado del equipo</i></b> .....	22
<b>1.3.4.1.</b>	<i>Determinación del diámetro interno del reactor</i> .....	22
<b>1.3.4.2.</b>	<i>Determinación de la altura del reactor</i> .....	23
<b>1.3.4.4.</b>	<i>Determinación del volumen máximo del reactor</i> .....	24
<b>1.3.5.</b>	<b><i>Dimensionamiento del sistema de mezclado</i></b> .....	24
<b>1.3.5.1.</b>	<i>Diámetro total de las paletas</i> .....	25
<b>1.3.5.2.</b>	<i>Altura de las paletas</i> .....	25
<b>1.3.5.3.</b>	<i>Ancho de las paletas</i> .....	26
<b>1.3.5.4.</b>	<i>Largo de las paletas</i> .....	26
<b>1.3.5.5.</b>	<i>Ancho de las placas deflectoras</i> .....	26
<b>1.3.6.</b>	<b><i>Cámara de calefacción</i></b> .....	27
<b>1.3.6.1.</b>	<i>Diámetro de la chaqueta de calentamiento</i> .....	27
<b>1.3.6.2.</b>	<i>Espesor de la cámara de calentamiento</i> .....	27
<b>1.3.6.3.</b>	<i>Altura de la cámara de calentamiento</i> .....	27
<b>1.3.6.4.</b>	<i>Calculo del volumen total del reactor</i> .....	27
<b>1.3.6.5.</b>	<i>Calculo del volumen de la cámara de calentamiento</i> .....	28
<b>1.3.7.</b>	<b><i>Determinación experimental de la velocidad de reacción de la fermentación</i></b> .....	28



1.3.8.	<i>Determinación del tiempo de residencia</i> .....	28
<b>I. CAPITULO</b>		<b>II</b>
.....		30
<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLOGICO</b> .....	30
<b>2.1.</b>	<b>Parte Experimental</b> .....	30
<b>2.2.</b>	<b>Muestreo</b> .....	30
<b>2.3.</b>	<b>Metodología</b> .....	30
<b>2.3.1.</b>	<b>Métodos y técnicas</b> .....	30
2.3.1.1.	<i>Métodos</i> .....	30
2.3.1.1.1.	<i>Método Empírico</i> .....	32
<b>2.3.1.2.</b>	<b>TÉCNICAS</b> .....	32
2.3.1.2.1.	<i>Técnicas de recopilación de la información</i> .....	32
2.3.1.2.2.	<i>Técnicas analíticas</i> .....	33
<b>2.4.</b>	<b>DATOS EXPERIMENTALES</b> .....	33
<b>2.4.1.</b>	<b>Diagnóstico</b> .....	33
<b>2.4.2.</b>	<b>Datos</b> .....	37
2.4.2.1.	<i>Determinación del porcentaje de agua requerido para la preparación del mosto</i> .....	37
2.4.2.2.	<i>Determinación de la velocidad de reacción de fermentación</i> .....	38
<b>2.5.</b>	<b>Datos adicionales</b> .....	41
<b>2.5.1.</b>	<b>Carbohidratos presentes en la remolacha</b> .....	41
<b>II. CAPITULO</b>		<b>III</b>
.....		49
<b>3.</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS Y RESULTADOS</b> .....	49
<b>3.1.</b>	<b>Diseño</b> .....	49
<b>3.2.</b>	<b>Cálculos</b> .....	49
<b>3.2.1.</b>	<b>Dimensionado del equipo</b> .....	49
3.2.1.1.	<i>Determinación del diámetro interno del reactor</i> .....	49

3.2.1.2.	<i>Determinación de la altura del reactor</i> .....	49
3.2.1.4.	<i>Determinación del volumen máximo del reactor</i> .....	50
<b>3.2.2.</b>	<b><i>Dimensionamiento del sistema de mezclado</i></b> .....	<b>50</b>
3.2.2.1.	<i>Diámetro total de las paletas</i> .....	50
3.2.2.2.	<i>Altura de las paletas desde el fondo del reactor hasta la mitad de las laminas</i> .....	50
3.2.2.3.	<i>Ancho de las paletas</i> .....	50
3.2.2.4.	<i>Largo de las paletas</i> .....	51
3.2.2.5.	<i>Ancho de las placas deflectoras</i> .....	51
<b>3.2.3.</b>	<b><i>Cámara de calefacción</i></b> .....	<b>51</b>
3.2.3.1.	<i>Diámetro de la chaqueta de calentamiento</i> .....	51
3.2.3.2.	<i>Espesor de la cámara de calentamiento</i> .....	52
3.2.3.3.	<i>Altura de la cámara de calentamiento</i> .....	52
3.2.3.4.	<i>Calculo del volumen total del reactor</i> .....	52
3.2.3.5.	<i>Calculo del volumen de la cámara de calentamiento</i> .....	52
<b>3.2.4.</b>	<b><i>Determinación experimental de la velocidad de reacción de la fermentación</i></b> .....	<b>53</b>
<b>3.2.5.</b>	<b><i>Determinación de ecuación cinética de la reacción de fermentación en el equipo</i></b> .....	<b>54</b>
<b>3.3.</b>	<b><i>Determinación del tiempo de residencia</i></b> .....	<b>56</b>
<b>3.4.</b>	<b><i>Balance de materia</i></b> .....	<b>56</b>
<b>3.5.</b>	<b><i>Balance energético</i></b> .....	<b>57</b>
3.5.1.	<i>Determinación del régimen de flujo</i> .....	57
3.5.2.	<i>Determinación del calor consumido</i> .....	58
3.5.3.	<i>Determinación del calor perdido</i> .....	58
3.5.4.	<i>Calculo de la energía total suministrada al equipo</i> .....	58
<b>2.2.</b>	<b><i>Resultados</i></b> .....	<b>59</b>

<b>I.CAPITULO</b>	<b>IV</b>
.....	60
<b>4. PROPUESTA</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	
<b>RECOMENDACIONES</b>	
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

$C_{ST}$ :	Contenido de solidos totales, (%)
$D_r$ :	Diámetro del reactor, (m)
$D_a$ :	Diámetro total de las paletas, (m)
$D_c$ :	Diámetro de la chaqueta de calefacción, (m)
$E$ :	Energía,(J)
$E_c$ :	Espesor de la cámara de calentamiento, (m)
$f$ :	Flujo molar,(mol/h)
$H$ :	Altura de las paletas, (m)
$h_r$ :	Altura real, (m)
$h_t$ :	Altura teórica, (m)
$h_{fs}$ :	Factor de seguridad
$h_c$ :	Altura de la cámara de calentamiento, (m)
$J$ :	Ancho de las placas deflectoras, (m)
$K$ :	Constante de velocidad
$N_{RE}$ :	Número de Reynold
$Q$ :	Calor, (J)
$R$ :	Radio, (m)
$r_f$ :	Velocidad de reacción de la fermentación (mol/L*h)
$t$ :	Tiempo, (s)
$V$ :	Volumen, (L)
$V_{max}$ :	Volumen máximo, (L)
$V_c$ :	Volumen de la cámara de calentamiento, (m)
$V_t$ :	Volumen total del reactor, (L)

- $\alpha$ :** Coeficiente estequiométrico de los reactivos
- $\beta$ :** Coeficiente estequiométrico de los productos
- $\rho$ :** Densidad, (g/MI)
- $\tau$ :** Tiempo de residencia, (s)
- $\mu$ :** Viscosidad,(Pa\*s)

## INDICE DE FIGURAS

	pp.
<b>Figura 1-1</b> Mecanismo de fermentación normal de la glucosa por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . .....	8
<b>Figura 2-1</b> Esquema del sistema de mezclado .....	48
<b>Figura 3-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de orden cero.....	53
<b>Figura 4-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.....	53
<b>Figura 5-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.....	54
<b>Figura 6-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de orden cero.....	54
<b>Figura 7-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.....	55
<b>Figura 8-3</b> Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.....	55
<b>Figura 9-4</b> Diagrama del equipo para fermentación de mosto obtenido a partir de remolacha.....	61
<b>Figura 10-4</b> Diagrama del proceso de fermentación.....	65
<b>Figura 11-4</b> Velocidad de reacción experimental frente a la velocidad de reacción del equipo.....	67
<b>Figura 12-4</b> Tiempo de residencia experimental frente al tiempo de residencia del equipo necesario para transformar el 80% de la sacarosa del mosto. ....	68

## INDICE DE CUADROS

	pp.
<b>Tabla 1-1</b>	Tasa de respiración específica de diferentes materiales biológicos. .... 2
<b>Tabla 2-1</b>	Programa de muestreo ..... 31
<b>Tabla 3-2</b>	Determinación de solidos totales ..... 35
<b>Tabla 4-2</b>	Determinación de la velocidad de reacción ..... 36
<b>Tabla 5-2</b>	Formulación de los ensayos para determinar el agua requerida en la preparación del mosto. .... 37
<b>Tabla 6-2</b>	Contenido de solidos ensayos para determinar el agua requerida en la preparación del mosto. .... 37
<b>Tabla 7-2</b>	Resultados de la determinación de la velocidad de reacción de la fermentación ..... 39
<b>Tabla 8-2</b>	Resultados de la determinación de la velocidad de reacción de fermentación del equipo (validación) ..... 40
<b>Tabla 9-2</b>	Contenido de carbohidratos en la remolacha ..... 41
<b>Tabla 10-2</b>	Densidad de una solución de sacarosa en función al porcentaje de sacarosa ..... 42
<b>Tabla 11-2</b>	Valores de k para impulsores en tanques de agitación con baffles ..... 42
<b>Tabla 12-2</b>	Valores tabulados de la viscosidad del agua vs los valores de la temperatura (viscosidad dinámica) ..... 43
<b>Tabla 13-2</b>	Valores tabulados de la densidad del agua frente a la temperatura ..... 44
<b>Tabla 14-2</b>	Propiedades de algunos materiales para la construcción de fermentadores ..... 45
<b>Tabla 15-2</b>	Dimensiones para el sistema de mezclado. .... 48
<b>Tabla 16-2</b>	Concentración de sacarosa en el mosto frente al tiempo de fermentación ..... 54
<b>Tabla 17-2</b>	Determinación de la velocidad de reacción de fermentacion ..... 55
<b>Tabla18-2</b>	Determinación del orden de reacción considerando órdenes de 0, 1 y 2 ..... 56
<b>Tabla 19-3</b>	Resultados de la validación del equipo referente a la determinación de la velocidad de fermentación ..... 59
<b>Tabla 20-4</b>	Determinación del orden de reacción considerando órdenes de 0; 1 y 2 ..... 60
<b>Tabla 21-4</b>	Corrientes de alimentación y descarga en el equipo ..... 57

<b>Tabla 22-4</b>	Propuesta del proceso de obtención de alcohol a partir de la remolacha con la utilización del equipo de fermentación.....	62
-------------------	---	----



## RESUMEN

La presente investigación consistió en el diseño, construcción y posterior implementación de un equipo para la fermentación alcohólica de mosto de remolacha inoculado con levadura, considerando las variables de proceso y las condiciones de fermentación más óptimas. Para los cálculos de diseño se partió de la capacidad del fermentador, igual a 100 L, parámetro de diseño establecido dentro de los objetivos de la investigación, posteriormente se determinó las condiciones de operación para favorecer a la fermentación, las cuales fueron establecidas en función a las condiciones ideales de desarrollo de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, microorganismo inoculado al mosto para la fermentación, posteriormente se realizó a escala de laboratorio el proceso de fermentación que llevara a cabo el equipo, para determinar la formulación adecuada del mosto. En base a los resultados obtenidos previamente, se aplicó los cálculos de ingeniería para realizar el dimensionamiento del equipo, y para su posterior construcción e implementación en el laboratorio de Procesos Industriales de la Facultad de Ciencias. Finalmente se realizó la validación del equipo, obteniendo un 12% de rendimiento, para lo cual se realizó un proceso dentro del fermentador y se comparó con los resultados obtenidos experimentalmente, estableciéndose que las condiciones de operación del equipo fueron superiores a las establecidas experimentalmente.

**Palabras Clave:** <[*Saccharomyces Cerevisiae*] LEVADURA DE CERVEZA>, <CONSTRUCCION DE FERMENTADOR>, <FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA>, <INOCULADO>, <PARÁMETROS DEL PROCESO>, <[Mosto] ZUMO DE REMOLACHA>.

## ABSTRACT

The present research consisted in the design, building, and implementation of an alcoholic fermentation equipment of wort beetroot inoculated with yeast, considering the process variables and the conditions of more optimal fermentation. For the calculations of the design was based on the ability of the fermenter, equal to 100 L, design parameter established inside the objectives of the investigation, subsequently operating conditions were determined to favor the fermentation, which were established in function according to the ideal conditions for the development of yeast *Saccharomyces Cerevisiae*, microorganism inoculated to the wort for fermentation, subsequently it performed in laboratory scale fermentation process carried out by the computer to determine the proper formulation of the wort. Based on the results previously obtained, calculations Engineering applies for equipment sizing and for its subsequent construction and implementation in the Process Laboratory, of the Faculty of Sciences. Finally the validation of the instrument was carried, obtaining a 12% yield, for which a process is performed within the fermenter and was compared with the results experimentally obtained, establishing that the operating conditions of the equipment were superior than those established experimentally.

KEY WORDS: < [*Saccharomyces Cerevisiae*] BEER YEAST>, <CONSTRUCTION FERMENTER>, <ALCOHOLIC FERMENTER>. <INOCULATED>, <PROCESS PARAMETERS>, <[WORT] BEET JUICE>

## **INTRODUCCIÓN**

Los procesos de fermentación alcohólica tienen como principal finalidad el transformar un mosto (principalmente preparados de extractos y zumos de frutas y hortalizas) en alcohol por medio de la acción de microorganismos que utilizan las reacciones de fermentación como vía metabólica para obtener energía y materia indispensable para su desarrollo. La fermentación se la puede realizar sin la utilización de instrumentos y equipos de precisión diseñados para obtener la máxima eficiencia, pero esto conlleva a mayores tiempos de fermentación, baja calidad de los productos, posibles pérdidas de lotes de producción por la acción de fermentación láctica y productos tóxicos que no hacen posible un proceso viable y de calidad. La fermentación debe ser realizada en equipos que sean diseñados para aprovechar el máximo el acción de los microorganismos sobre las azúcares del mosto transformándolas en alcohol, biomasa y demás productos de fermentación, para ello se debe conocer las condiciones ideales en las cuales los microorganismos fermentativos se desarrollan en su máxima expresión. El factor principal en el diseño de un equipo para realizar la fermentación radica en el mantener la temperatura y la agitación ideal para que los microorganismos se desarrollen y consumen a tasas elevadas los sustratos transformándolos en los productos deseados, en este caso alcohol.

La remolacha por su composición es rica en azúcares susceptibles a fermentación, y es utilizada mundialmente en la fabricación de alcohol a nivel tanto artesanal como industrial. Para fomentar la producción de dicho producto dentro de nuestro entorno es necesario en primera instancia el construir un equipo que albergue al mosto en fermentación en las condiciones ideales de operación y permita la experimentación para proyectar a escala industrial los procesos de obtención del alcohol a base de la remolacha y poder determinar las variables de procesos más adecuadas para la obtención de productos de calidad, con el menor consumo energético, mano de obra, costos operacionales y que brinde al productor las mayores ganancias posibles.

## **ANTECEDENTES**

En el transcurso del siglo XVIII la demanda de azúcar creció notablemente y se generó una brecha entre la producción de azúcar de caña y la demanda de la misma, lo que derivó en la necesidad de implementar nuevos procesos de obtención de azúcar a partir de productos agrícolas distintos a la caña. En 1798 inició la búsqueda por estructurar un proceso para la obtención de azúcar a partir de la remolacha, cuyos principales avances surgieron en Alemania, no obstante, los descubrimientos referentes a la utilización de la remolacha como materia prima se plasmaron en Francia cuando al conocer los productos de la fabricación del azúcar, se optó por sembrar vastas áreas con remolacha.

La remolacha era utilizada principalmente en la producción de azúcar, y los subproductos no tenían un valor tecnológico ni económico bajo el criterio de los productores y el único producto con valor agregado que se producía a partir de la remolacha era el azúcar, a partir del siglo XIX en los Estados Unidos y en Francia se buscó tecnificar los procedimientos de obtención del alcohol a partir de la remolacha, actualmente la remolacha es utilizada ampliamente en la producción de alcohol principalmente en Europa.

En el Ecuador la producción de la remolacha principalmente es utilizada directamente como producto alimenticio sin pasar previamente en un proceso de transformación industrial, aplicación seguida de la utilización de la misma para la producción de azúcar, alcohol y finalmente como producto base para la fabricación de piensos. La remolacha producida en el Ecuador es destinada en su mayor proporción al consumo directo, y los productos derivados de la misma son importados principalmente de países europeos, entre mencionados productos se encuentra el alcohol derivado de la hortaliza, sin existir una gran industria establecida que se dedique a la transformación de la remolacha en subproductos con valor agregado, los cuales podrían ser introducidos en nichos específicos de mercados internacionales.

## **JUSTIFICACIÓN**

En base a los planes actuales de gobierno se busca impulsar la producción nacional, es decir, se busca la generación de nuevas tecnologías que transformen nuestra materias primas en productos de calidad por medio de procesos eficientes y ambientalmente amigables, para lo cual se parte de la experimentación con procesos a pequeña escala, en los cuales por medio de pruebas, ensayos y replicados obtener la información del comportamiento del proceso y poder conocer las directrices necesarias para formular el proceso a nivel industrial, apoyando a desarrollo económico y social de los productores de la remolacha, del alcohol y los restantes beneficiarios indirectos que incrementarían sus ganancias al dar un valor agregado a su producto y abrir, por la calidad de los mismos, nichos en mercados internacionales. En vista a los datos previstos por Sigagro se conoce que en el 2009 a nivel nacional se cosecharon 614 hectáreas de plantaciones dedicadas a la producción de la remolacha, de las cuales el 99.80% se entraban en la sierra, principalmente en las provincias de Chimborazo, Azuay, Tungurahua, Pichincha e Imbabura, y el porcentaje restante en la zona insular<sup>1</sup>. La remolacha se desarrolla se produce en países que cuentan con cuatro estaciones al año, realizándose una cosecha al año, sin embargo dentro del Ecuador, por poseer dentro de la región andina una clima templado y con intensidades altas de luz, la remolacha puede cosecharse dos veces al año obteniéndose rendimientos anuales de hasta 66 ton/ha de raíz de remolacha (TITUANA, 2011), lo que implica que anualmente se puede alcanzar una producción de hasta 40524 ton, producto agrícola que se transforma en materia prima dentro de cadenas de producción agroindustrial que aumentan el valor de los mismos y generan mercados. Para lograr industrializar a la remolacha se puede optar principalmente por la producción de azúcar, piensos para ganadería y la obtención de alcohol, lo que evitaría la exportación de la materia prima y la importación de los productos con un valor mayor, es por ello que es necesario el implementar dentro de la investigación equipos que permitan experimentar a escala de laboratorio con las condiciones de operación, para por medio de los resultados obtenidos, formular plantas a nivel industria que transformen la remolacha en alcohol.

## **OBJETIVOS**

### **General**

- Diseñar y construir un fermentador para producción de alcohol a partir de remolacha.

### **Específicos**

- Seleccionar la remolacha más idónea para obtener alcohol.
- Identificar las variables presentes en el diseño del equipo.
- Determinar la cantidad de alcohol producido.
- Evaluar el funcionamiento del equipo.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Remolacha

Remolacha: La remolacha (*Beta vulgaris*) es una planta de la familia de las Quenopodiáceas. La remolacha es una planta bianual. Durante el primer año forma su raíz y constituye las reservas. En el curso del segundo año aparecen sus flores agrupadas en espigas en la extremidad de los tallos. Lo que corrientemente se conoce como semilla es en realidad un glomérulo, es decir, la reunión de varios frutos, en general en número de 2 a 4, recubiertos de una envoltura leñosa poco permeable al agua. (UNIVERSIDAD DE SEVILLA, 2014)

Esta es muy exigente para las condiciones de su germinación en lo más importante, temperatura, aireación y humedad. De acuerdo a esto el terreno requiere unas cualidades muy específicas para la producción de esta. Se estima que para producir 40 toneladas de raíz el cultivo puede evaporar 7.000 metros cúbicos de agua por ha, lo que equivale al agua caída en una lluvia de 700 l/m<sup>2</sup>. La remolacha azucarera se siembra en la primavera y se recoge en otoño. La raíz de la remolacha se hunde en el suelo a una gran profundidad. Prefiere los suelos que permanecen frescos durante el verano. Por este motivo, el cultivo de la remolacha azucarera se practica en regiones de veranos húmedos y suelos blandos. En el cultivo de la remolacha es muy importante la intensidad de iluminación, que permite el buen ejercicio de la función clorofílica y condiciona la importancia de la elaboración del azúcar. (Universidad Nacional del Sur, 2014)

#### 1.2. Fermentación

##### 1.2.1. *Microorganismos*

Los microbios son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental y en su mayoría son unicelulares.

##### 1.2.2. *Características generales de los microorganismos*

La característica de los microorganismos que se expresa en su nombre es el pequeño tamaño del individuo. Las pequeñas dimensiones no constituyeron tan sólo el motivo primitivo de la separación de los microorganismos de las plantas y los animales, sino que tienen también consecuencias

esenciales en lo que respecta a la morfología, la actividad, y la flexibilidad del metabolismo, de la expansión ecológica y de su manejo en el laboratorio.

#### 1.2.2.1. Unidad de tamaño y relación superficie/volumen

Las dimensiones de las cianobacterias pequeñas, levaduras y protozoos se mantienen también por debajo de los 10  $\mu\text{m}$ . En estos organismos pequeños la relación de superficie con respecto al volumen es muy grande. Si se divide un cubo de 1 cm de arista (= 1  $\text{cm}^3$ ) en cubos que tengan 1 mm de arista, se obtienen 1012 cubos, cada uno de 1  $\mu\text{m}^3$ . La superficie de estos cubos es 10 000 veces superior a la del cubo compacto; 1  $\text{mm}^3$  es el volumen de una célula bacteriana media.

#### 1.2.2.2. Relación superficie volumen

La alta relación superficie/volumen tiene como consecuencia una gran interrelación con el entorno, y fundamenta también el elevado intercambio de materia de algunos microorganismos. El gasto de energía de los animales en reposo no es proporcional a su masa, sino a su superficie. Si se extrapola el sentido de dicha regla al comportamiento de los tejidos y de las células pequeñas, tendrían que esperarse actividades metabólicas que se diferenciases entre sí en varias potencias de diez. En el cuadro 1 se muestran la dependencia esperada de la actividad metabólica de los microorganismos y tejidos, medida por el consumo de oxígeno, del tamaño de los tejidos y las células. También son proporcionalmente elevadas las tasas de crecimiento de los microorganismos. Al lector que esté preocupado por la alimentación de la creciente población humana debe interesarle que un buey de 500 kg produce en 24 horas unos 0,5 kg de proteína, mientras que 500 kg de células de levadura pueden producir en el mismo lapso de tiempo más de 50 000 kg de proteína.

**Tabla 1-1** Tasa de respiración específica de diferentes materiales biológicos.

<b>MATERIAL BIOLÓGICO</b>	<b>TEMPERATURA, (°C)</b>	<b>TASA RESPIRATORIA ESPECIFICA</b>
<i>Azotobacter</i>	28	2000
<i>Acetobacter</i>	30	1800
<i>Pseudomonas</i>	30	1200
Levaduras	28	110
Riñones e hígado	37	10-20
Raíces, hojas	20	0,5-4

**Fuente:** (SCHLEGEL, 1997)



### *1.2.2.3. Flexibilidad fisiológica*

Las plantas y los animales superiores son relativamente rígidos en lo que se refiere a su equipo enzimático; el conjunto de enzimas cambia durante el desarrollo individual, pero se modifica poco si cambia el medio. En los microorganismos la flexibilidad metabólica es muy superior. Para las bacterias resulta necesario poseer una gran capacidad de adaptación, necesidad que puede atribuirse a sus reducidas dimensiones. Una célula de un micrococo sólo tiene espacio para unas 100 000 moléculas proteicas. Los enzimas no necesarios no pueden por tanto almacenarse. Algunos enzimas necesarios para la utilización de los nutrientes se producen únicamente cuando el nutriente se encuentra en el entorno de la célula. Los enzimas inducidos pueden suponer hasta el 10% del contenido proteico de la célula. Los mecanismos de regulación celular tienen pues en los microorganismos un papel considerablemente superior que en los demás seres vivos.

### *1.2.2.4. Expansión de los microorganismos*

Las pequeñas dimensiones son también de importancia ecológica. Antes de que el hombre las propagase, muchas especies de plantas y animales se hallaban circunscritas a determinados continentes. Las bacterias y las cianobacterias son ubiquestas. Se encuentran en las regiones árticas, en el agua, y en los altos estratos de la atmósfera. La distribución de especies en todos estos hábitats es semejante a la que se presenta en los suelos. Debido a su poco peso, los microorganismos pueden difundirse con facilidad por corrientes de aire. Por ello, en condiciones naturales no hay ningún hábitat ni ningún sustrato que tenga que ser inoculado. Este hecho es el que se aprovecha con la técnica del cultivo de enriquecimiento. En general basta un gramo de suelo de un jardín para encontrar una bacteria que pueda utilizar una sustancia natural cualquiera. Hay microorganismos en todas partes; únicamente el medio decide cuál es el tipo que se reproducirá. Estableciendo las condiciones selectivas correspondientes en un tubo de ensayo se pueden enriquecer y aislar en cultivo puro la mayoría de los microorganismos conocidos a partir de una pequeña cantidad de tierra o de barro, o a partir de material procedente de otros hábitats en casos especiales.

### *1.2.3. Aplicación tecnológica e industrial de los microorganismos*

El profano reconoce la importancia práctica de los microorganismos en primer lugar en los perjuicios que causa al hombre, a los animales y a las plantas. De estos microorganismos causantes de enfermedades, o patógenos, y de sus características especiales se ocupa la Microbiología médica y veterinaria, así como la Fitopatología. Si bien los microorganismos se presentan como perjudiciales en otros campos de la naturaleza y de la industria, su papel como beneficiosos supera con mucho al

anterior. Desde hace mucho tiempo los microorganismos se han ganado un sitio fijo en las economías domésticas y en la industria; no podemos pasar sin su capacidad de actuar como “plantas beneficiosas”. Su utilización abarca desde la mejora de productos primarios agrícolas hasta la catálisis de pasos difíciles de reacciones químicas.

#### *1.2.3.1. Procesos microbiológicos clásicos*

Queda claro que los microorganismos pertenecen a las plantas de cultivo más antiguas considerando simplemente los ejemplos de la elaboración de la cerveza y vino mediante levaduras, la elaboración del pan y la preparación de productos lácteos con bacterias del ácido láctico, así como la elaboración de vinagre por bacterias del ácido acético. En Japón e Indonesia se preparan desde antiguo las semillas de soja con mohos. Exceptuando la producción de etanol, hace sólo sesenta años que se han introducido los microorganismos en la producción industrial de compuestos puros. Ya durante la primera guerra mundial se utilizó una fermentación controlada por levaduras para la producción de glicerina. Las grandes cantidades de ácido láctico y ácido cítrico que necesita la industria alimentaria se obtienen con la ayuda de bacterias lácticas o del moho *Aspergillus Níger*. A partir de desechos ricos en hidratos de carbono, baratos, se obtiene acetona, butanol, 2-ropanol, butanodiol, y otros compuestos químicos básicos a través de fermentaciones con clostridios y bacilos.

#### *1.2.3.2. Producción de antibióticos*

El hallazgo de los antibióticos ha iniciado una nueva época de la terapéutica médica y de la industria farmacéutica. Al descubrimiento de la penicilina y de otros productos de excreción de hongos, actinomicetos y de otras bacterias, debe la humanidad el disponer de medios casi infalibles para combatir las infecciones bacterianas. La búsqueda de nuevos antibióticos sigue teniendo éxito. Teóricamente parece también prometedora la lucha con ayuda de antibióticos de las enfermedades víricas y de los tumores provocados por virus.

#### *1.2.3.3. Procesos microbiológicos actuales*

Las fermentaciones clásicas se complementan por nuevas producciones y transformaciones microbianas. Se obtienen carotenoides y esteroides mediante hongos. Desde el descubrimiento de que *Corynebacterium glutamicum* produce en gran cantidad ácido glutámico a partir de azúcar y sales de amonio, se han aislado mutantes y se han desarrollado procesos para obtener muchos aminoácidos,

nucleótidos y productos bioquímicos a gran escala. El químico introduce microorganismos en la catálisis de procesos parciales de largas cadenas sintéticas; las transformaciones microbianas superan a las químicas en especificidad y rendimiento; a partir de cultivos de microorganismos se obtienen amilasas para la hidrólisis del almidón, proteinasas para trabajar el cuero, pectinasas para clarificar zumos de frutas, y otros enzimas de aplicación industrial.

#### *1.2.3.4. Situación exclusiva de los microorganismos*

Es de destacar que algunas de las materias primas disponibles, sobre todo en grandes cantidades, como el petróleo, el gas natural, o la celulosa, sólo pueden ser utilizadas por los microorganismos, y pueden ser transformadas en material celular (biomasa) o en productos intermedios, que son excretados por la célula. Los microorganismos ocupan por ello una posición monopólica en el “ennoblecimiento” de las materias primas no convencionales, tales como el petróleo, el gas natural y el carbón. La explotación de estas materias primas mediante procesos biológicos acaba de empezar.

Tecnología genética. La elucidación de los mecanismos de transferencia genética en las bacterias y la participación de elementos extra-cromosómicos han abierto posibilidades a la transferencia de DNA extraño a las bacterias. La manipulación genética permite introducir en bacterias pequeños fragmentos de información genética de un portador, por ejemplo, el hombre, para que éstas puedan sintetizar la proteína correspondiente. Es posible sintetizar hormonas, antígenos, anticuerpos y otras proteínas con ayuda de bacterias. Caracteres de resistencia, como por ejemplo frente a plagas de insectos (escarabajo de la patata) o de hongos, pueden transferirse a plantas de cultivo mediante manipulación genética. También se tra baja en la transferencia de la capacidad de fijar nitrógeno a plantas superiores. Por último, la tecnología genética ha hecho posible la producción de sondas de DNA con las que identificar fragmentos defectuosos, modificados, tanto en el DNA como en el RNA. La tecnología genética, cuyas herramientas proceden de las bacterias, conduce a una nueva era de la evolución biológica.

#### *1.2.4. Mecanismos de fermentación*

Se encuentran microorganismos fermentadores en todos aquellos lugares de la naturaleza donde haya compuestos orgánicos y el oxígeno no esté presente. Las bacterias capaces de fermentar se encargan en la economía de la naturaleza de las degradaciones iniciales de los biopolímeros que han sido transportados a lugares a los que el oxígeno no tiene ningún acceso. Las bacterias fermentadoras se instauran rápidamente en los hábitats sin oxígeno (es decir, anóxicos), siempre que las demás condiciones lo permitan. La celulosa es el polímero más abundante de los sedimentos de lagos y

lagunas, así como en biodigestores, y es degradada por fermentación. Una gran parte de la celulosa consumida en la alimentación por los animales herbívoros se libera de nuevo sin digerir. Si este detritus que contiene celulosa llega a zonas anóxicas, es digerido por clostridios anaeróbicos estrictos. Los productos de fermentación resultantes, entre ellos alcoholes, ácidos orgánicos, anhídrido carbónico e hidrógeno quedan a disposición de otras bacterias, quienes, a través de fermentaciones especiales y respiración anaeróbica, producen finalmente metano y, en presencia de sulfato, sulfhídrico. Las fermentaciones inician así la llamada “cadena alimentaria anaeróbica”.

En los sedimentos de los lagos de agua dulce y en la panza de los rumiantes el hidrógeno y el acetato se transforman en metano por bacterias metanogénicas, y en los ecosistemas marinos anóxicos el hidrógeno y el sulfato se convierten en sulfhídrico por bacterias sulfurógenas (respiradores de sulfato). En la transformación y conservación de alimentos se utilizan los productos de fermentación de los microorganismos desde hace milenios. A modo de representación, citemos la fabricación de la cerveza, vino, ácido láctico y leches ácidas, col fermentada o el ensilado, el queso y la levadura de panadería. Muchos fermentadores son bacterias anaeróbicas estrictas. Otras son anaeróbicas facultativas, que pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. El oxígeno no participa en los procesos fermentativos. El término fermentación ha adquirido una significación más amplia en la Microbiología industrial (también llamada hoy día Biotecnología microbiana). Como los recipientes con agitación en los que tienen lugar las transformaciones aeróbicas son los mismos en los que se realizan las fermentaciones anaeróbicas clásicas, se habla de fermentación cuando se trata de cualquier proceso microbiano para la obtención de productos (metabolitos o biomasa), y a los recipientes se les denomina fermentadores de forma equívoca.

#### ***1.2.5. Vías de Fermentación***

La premisa básica para el metabolismo celular es la obtención de energía metabólica. De las tres posibilidades para regenerar el ATP, respiración, fermentación y fotosíntesis, la fermentación es la más sencilla de todas. La fermentación es un proceso metabólico regenerador de ATP en el que los productos en que se divide el sustrato orgánico sirven a la vez de dadores de hidrógenos y de aceptores de hidrógenos. Las transformaciones que conducen a la fosforilación del ADP son reacciones de oxidación. La célula se libera del carbono oxidado en forma de anhídrido carbónico. Los pasos de oxidación son deshidrogenaciones; el hidrógeno es transferido al NAD. Como aceptores del hidrógeno presente en forma de NADPH<sub>2</sub> actúan productos intermediarios de la degradación del sustrato. En la regeneración del NAD éstos se reducen, y los productos de reducción obtenidos son excretados por la célula.

En la fermentación de los hidratos de carbono y de otros sustratos aparecen -bien aisladamente o mezclados- los siguientes productos: etanol, lactato, propionato, formiato, butirato, succinato, capronato, acetato, *n*-butanol, 2,3-butanodiol, acetona, 2-propanol, anhídrido carbónico e hidrógeno molecular. Según el producto de excreción prioritario en cantidad, o más característico, se diferencia entre fermentación alcohólica, láctica, propiónica, acética, butírica y fórmica.

#### **1.2.6. Fermentación alcohólica por levaduras y bacterias**

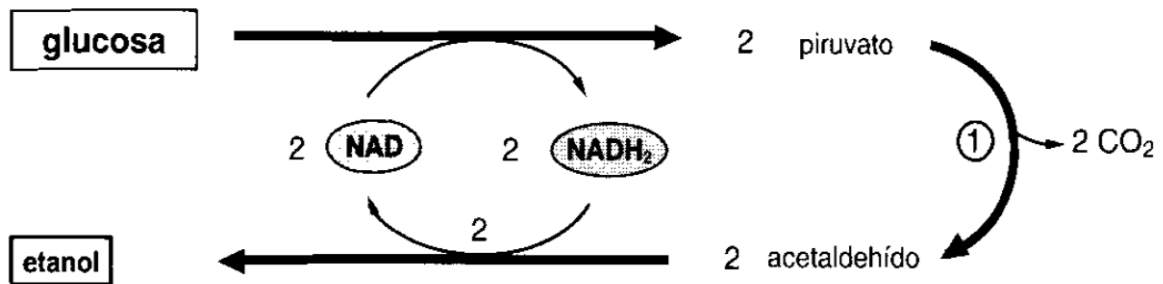
El etanol es uno de los productos de la fermentación de los azúcares más abundante entre los microorganismos. Incluso en las plantas y muchos hongos se almacena etanol en condiciones anaeróbicas. Los principales productores de alcohol son levaduras, sobre todo cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras, al igual que la mayoría de los hongos, son organismos de respiración aeróbica; en ausencia de aire fermentan los hidratos de carbono a etanol y anhídrido carbónico. El alcohol aparece también como producto principal o secundario de la fermentación de hexosas o pentosas en muchas bacterias anaeróbicas y aeróbicas facultativas.

#### **1.2.7. Formación de etanol por levaduras**

Las levaduras han sido un objeto de investigación preferencial en el estudio de las vías del metabolismo básico. La transformación de la glucosa en etanol sigue la siguiente reacción química:



La fermentación normal de la glucosa por la levadura. La fermentación de la glucosa a etanol y anhídrido carbónico por las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) se realiza a través de la vía de la fructosa-bifosfato. La transformación de piruvato a etanol implica dos pasos. En el primero se descarboxila el piruvato por la piruvato-descarboxilasa con participación de la tiaminapirifosfato, formándose acetaldehído; éste se reduce a etanol con  $\text{NADH}_2$  mediante la *alcohol-deshidrogenasa* en el segundo paso, como se muestra en la figura 2.



**Figura 1-1.** Mecanismo de fermentación normal de la glucosa por *Saccharomyces cerevisiae*.

**Fuente:** (SCHLEGEL, 1997)

En esta transferencia de hidrógeno se consume el hidrógeno liberado en la deshidrogenación de la triosa-fosfato; el balance de oxidación-reducción queda así equilibrado.

### 1.2.8. Aspectos generales de los procesos de fermentación

Un proceso de fermentación típico es esencialmente un proceso que se lleva a cabo en un recipiente llamado fermentador o en general, biorreactor mediante el cual determinados sustratos que componen el medio de cultivo son transformados por acción microbiana en metabolitos y biomasa. El microorganismo va aumentando en su concentración en el transcurso del proceso al mismo tiempo que el medio se va modificando y se forman productos nuevos como consecuencia de las actividades catabólicas y anabólicas. Los dos fenómenos crecimiento y formación de producto, tienen lugar durante el desarrollo del proceso simultáneamente o no según los casos.

### 1.2.9. Efectores internos y externos que influyen sobre los procesos de fermentación

El comportamiento de un microorganismo en crecimiento es el resultado de la interacción que se produce entre el microorganismo y el medio ambiente en el reactor, y que en rigor es el resultado de los llamados efectores intra y extra celulares. Los efectores internos están representados por la dotación genética intrínseca del organismo considerado y por sus mecanismos de regulación metabólica. Estos últimos pueden ser modificados por alteraciones del medio ambiente o más precisamente por los efectores externos mientras que la existencia de un gen depende de la especie del microorganismo considerado. Un gen está o no está, sólo su expresión puede modificarse. Con el fin de mejorar la productividad de un proceso de fermentación las cepas empleadas pueden someterse a tratamiento físico o químico de mutación que al alterar algún sector del genoma logran aumentar la producción de un metabolito aunque también pueden disminuirla o incluso suprimirla.

También se puede dotar a un microorganismo de una capacidad genética nueva cuando se efectúa la inserción de sectores del genoma de una especie en los microorganismo, haciéndose éste capaz de producir metabolitos que desde el punto de vista genético de su especie no podría hacerlo. La obtención de imitantes por el uso de agentes mutagénicos o por algún otro mecanismo bioquímico y la construcción de cepas nuevas por ingeniería genética constituyen los reclusos de la genética microbiana, para mejorar la productividad de los microorganismo dado o para dotarlo de una capacidad productiva nueva. Es decir que los efectores internos pueden modificarse para lograr la optimización del proceso fermentativo.

El comportamiento o expresión fenotípica, o sea lo que realmente se observa como respuesta del microorganismo al medio ambiente en el reactor es, además, el resultado de la influencia de las variables de naturaleza física y química que constituyen los efectores externos. Los efectores externos de naturaleza física están vinculados con las condiciones de operación que se utilizan en los reactores y son por ejemplo la temperatura, la agitación, aireación, etc.; es decir, están constituidos por las variables de manipulación física que se fijan o se programan en el curso del proceso de producción.

La modificación de algunos de los efectores físicos como por ejemplo la temperatura, tiene un efecto notable sobre un proceso. Si el valor utilizado no es adecuado puede disminuir o aún impedir la formación de un metabolito determinado. Además la temperatura puede modificar los requerimientos nutritivos de algunos microorganismos, lo que significa que al modificarse el valor de un elector puede cambiar los requerimientos de otro.

Los efectores externos de naturaleza química están representados por la presencia de los componentes de los medios de fermentación, además del  $O_2$  que puede considerarse un nutriente más. Los componentes de los medios deben cumplir con todos los requerimientos nutricionales y además con los requerimientos específicos que son indispensables para la formación de productos.

Los reactores están también estrechamente vinculados al manejo o manipulación de los efectores externos, ya que además de la regulación de las variables físicas permiten según el modo de operarlos fijar o regular la alimentación de componentes de los medios que, como ya se dijo, constituyen los efectores químicos. Tal es el caso cuando se operan los reactores en "batch" o en forma discontinua, (todos los componentes son colocados desde un comienzo en el medio de producción) o cuando se opera el reactor en "batch alimentado" donde la alimentación de los componentes se realiza en forma controlada durante el proceso. Finalmente cuando se opera el reactor en continuo, se alimenta medio completo a una determinada velocidad al mismo tiempo que se deja salir con la misma velocidad

medio fermentado, lo que permite tratar a la velocidad de crecimiento específico como variable independiente.

### ***1.2.10. Selección, mantenimiento y mejoramiento de microorganismos de interés industrial***

#### ***1.2.10.1. Selección***

Debido a que el éxito o fracaso de un proceso fermentativo comienza con el microorganismo utilizado, en la elección del mismo se deberían tener en cuenta ciertos criterios generales que se indican a continuación:

- La cepa a utilizar debe ser genéticamente estable.
- Su velocidad de crecimiento debería ser alta.
- La cepa debe estar libre de contaminantes, incluidos fagos.
- Sus requerimientos nutricionales deberían ser satisfechos a partir de medios de cultivo de costo reducido.
- Debe "ser de fácil conservación por largos períodos de tiempo, sin pérdida de sus características particulares.
- Debería llevar a cabo el proceso fermentativo completo en un tiempo corto.
- Si el objetivo del proceso es un producto, éste debería ser de alto rendimiento y de fácil extracción del medio de cultivo.

Los microorganismos que se utilizan en un proceso, pueden ser obtenidos por aislamiento a partir de fuentes naturales o de una colección de cultivos. A nivel industrial, en general, cada firma posee su propia colección de organismos, muchos de los cuales han sido mejorados a través de técnicas clásicas de mutación o de ingeniería genética. Sin embargo, estas cepas sólo son empleadas por la industria que las posee, debido al gran valor comercial de las mismas. En algunos casos se dispone de organismos modificados genéticamente para llevar a cabo reacciones específicas de biosíntesis, degradación o biocatálisis, los cuales están protegidos por patentes. Esto significa que un gran porcentaje de organismos aislados o modificados no son disponibles para uso general en laboratorios.

Si el organismo a utilizar es aislado de fuentes naturales como agua, suelo, plantas y desechos, la elección del material de partida puede hacerse teniendo en cuenta que el organismo exprese en ese ambiente las propiedades que son de interés. Por ejemplo, en suelos tratados con pesticidas se podrían encontrar organismos adaptados a la degradación de estos productos químicos; o en larvas de insectos



muerdos agentes causales de la muerte. Elegida la fuente de aislamiento, las posibilidades de éxito dependen de la técnica elegida para el mismo; en este caso las alternativas son:

- Aislamiento directo.
- Enriquecimiento del cultivo con.
- No pre-tratamiento de la muestra.

#### *1.2.10.2. Aislamiento directo*

En este caso es deseable que el medio que se utiliza para el aislamiento permita la máxima expresión del material genético del organismo. Si se busca por ejemplo un organismo con acción antimicrobiana, se puede crecer al potencial productor, en una caja de petri en presencia del o los organismos contra los cuales se requiere la acción antimicrobiana, observándose la producción del inhibidor por las zonas de inhibición de crecimiento.

#### *1.2.10.3. Enriquecimiento del cultivo*

Esta técnica consiste en incrementar en una población mixta el número de organismos de interés en relación al resto. De esta forma se busca favorecer el crecimiento de un tipo dado de microorganismos mediante condiciones de cultivo adecuadas al mismo, o de condiciones inapropiadas para el desarrollo de los otros. Esto se logra mediante el empleo de sustratos específicos o ciertos inhibidores. Para mantener la fuerza selectiva del medio, el cual se modifica por el crecimiento del organismo buscado, se realizan sub-cultivos periódicos en un medio fresco. Esto lleva a que el organismo de interés sea el dominante de la población, lo cual facilita su posterior aislamiento en medio sólido. Se debe considerar en este caso el efecto del medio sobre la velocidad específica de crecimiento.

La selección de un organismo por este procedimiento depende de su valor de velocidad de crecimiento específica comparado con los de los otros organismos. Evidentemente el dominante de la población será el que posea el mayor valor de velocidad de crecimiento para las condiciones de cultivo empleadas. Sin embargo no necesariamente será más útil un organismo de velocidad de crecimiento más alto; puede ser deseable uno con mayor afinidad por el sustrato. El problema de selección puede ser superado empleando el sistema de cultivo continuo, donde la fuerza de selección se mantiene a un nivel constante y el organismo dominante será seleccionado por su afinidad por el sustrato, más que por su velocidad de crecimiento máxima

### *1.2.11. Medios de fermentación*

La preparación de medios para el desarrollo de procesos de fermentación es una etapa fundamental para asegurar la productividad de los mismos. Los componentes de los medios constituyen los efectores externos de naturaleza química que desempeñan un rol esencial en los procesos ya que deben cumplir con los requerimientos del crecimiento y de formación de productos y además suministrar energía para la síntesis de metabolitos y para el mantenimiento celular. No obstante que los microorganismos varían considerablemente respecto de los nutrientes que pueden necesitar es posible efectuar la distinción de las siguientes categorías de componentes:

#### *1.2.11.1. Macronutrientes*

Agregados en cantidades de gramos por litro que están representados por las fuentes de C, N, S, P, K y Mg.

#### *1.2.11.2. Micronutrientes*

Elementos trazas representados por las sales de Fe, Mn, Mo, Ca, Zn y Co que se agregan a los medios en cantidades de miligramos o microgramos por litro.

#### *1.2.11.3. Factores de crecimiento*

Están constituidos generalmente por componentes orgánicos suministrados en baja concentración y que no son sintetizados ni metabolizados por las células, sino incorporados a estructuras celulares y de función metabólica específica, como vitaminas, algunos aminoácidos, ácidos grasos no saturados, etc.

#### *1.2.11.4. Diseño de los procesos de fermentación*

El diseño de un medio de fermentación tiene como finalidad la elección de los componentes necesarios para lograr el crecimiento y la formación de productos correspondientes al proceso a desarrollar. Con tal objeto se debe tener en cuenta todos aquellos aspectos relacionados con el microorganismo, el proceso y los sustratos a ser empleados como son los requerimientos nutricionales del microorganismo y algunos específicos del proceso, la disponibilidad real de los componentes y consideraciones sobre las materias primas. Otros aspectos que son también importantes se refieren a todos los procesos y operaciones previas y posteriores a la etapa de

fermentación y al conocimiento de los mecanismos bioquímicos que regulan la formación de algunos productos, como es el caso de la importancia del anión  $\text{PO}_4$ , según ya se explicó. Trataremos especialmente de los tres primeros.

### ***1.2.12. Microorganismos fermentativos***

Las levaduras se han definido como hongos microscópicos, unicelulares, la mayoría se multiplica por gemación y algunas por escisión. Este grupo de microorganismos comprende alrededor de 60 géneros y unas 500 especies. Históricamente, los estudios sobre microbiología enológica se han centrado en las levaduras pertenecientes al género *Saccharomyces*, que son las responsables de la fermentación alcohólica. Anteriormente se creía que sólo ellas participaban en el proceso de producción de alcohol, sin embargo, las diferentes levaduras no-*Saccharomyces*, especialmente durante la fase inicial de la fermentación, pueden influir en las propiedades organolépticas de las bebidas alcohólicas. El papel de las levaduras como agentes fermentadores no fue reconocido sino hasta 1856 por Luis Pasteur. Las teorías científicas de esa época reconocían la presencia de éstas en la fermentación alcohólica, pero eran consideradas como compuestos químicos complejos, sin vida. Esta era la teoría mecanística liderada por los químicos alemanes von Liebig y Wöhler. Luis Pasteur, propuso la teoría vitalística y demostró que las células viables de levaduras causan fermentación en condiciones anaerobias; durante la cual el azúcar presente en el jugo es convertido principalmente en etanol y  $\text{CO}_2$ .

Las levaduras son los agentes de la fermentación y se encuentran naturalmente en la superficie de las plantas, el suelo es su principal hábitat encontrándose en invierno en la capa superficial de la tierra. En verano, por medio de los insectos, polvo y animales, son transportados hasta el fruto, por lo que su distribución se produce al azar. Existe un gran número de especies que se diferencian por su aspecto, sus propiedades, sus formas de reproducción y por la forma en la que transforman el azúcar. Como todos los seres vivos, tienen necesidades precisas en lo que se refiere a nutrición y al medio en que viven. Son muy sensibles a la temperatura, necesitan una alimentación apropiada rica en azúcares, elementos minerales y sustancias nitrogenadas, tienen ciclos reproductivos cortos, lo que hace que el inicio de la fermentación sea tan rápido, pero así como se multiplican, pueden morir por la falta o el exceso de las variables mencionadas.

#### ***1.2.12.1. Propiedades***

Las levaduras se clasifican en base a sus caracteres morfológicos, aunque para algunos microbiólogos, sus propiedades fisiológicas tienen mayor importancia. La mayoría de las levaduras

son hongos unicelulares sencillos microscópicos, la mayoría se reproducen asexualmente por gemación, y otras especies lo hacen por fisión múltiple. Las levaduras que pueden reproducirse sexualmente se conocen como “verdaderas”, este proceso implica la formación de ascosporas, sirviendo la propia levadura como asca, de aquí que ellas se clasifican como Ascomycetos; por el contrario las “falsas” que no producen ascosporas, pertenecen a los hongos imperfectos.

#### **1.2.12.2. Morfología**

Los caracteres morfológicos de las levaduras se determinan mediante su observación microscópica. Además, los criterios morfológicos se basan en el modo de reproducción vegetativa de la morfología celular. La forma de la levadura puede ser desde esférica a ovoide, en forma de limón, piriforme, cilíndrica, triangular, e incluso alargada formando un verdadero micelio o un falso micelio. También se diferencian en cuanto a su tamaño, miden de 1-10  $\mu\text{m}$  de ancho por 2-3  $\mu\text{m}$  de longitud. Son partes observables de su estructura, la pared celular, el citoplasma, las vacuolas, los glóbulos de grasa, y los gránulos, los cuales pueden ser metacromáticos, de albúmina o de almidón. Para poder observar el núcleo es preciso utilizar tinciones especiales. El núcleo está rodeado de una membrana que persiste durante la división celular. El número de cromosomas es variable de unas a otras. Las levaduras en ningún caso son móviles.

#### *1.2.12.3. Formas de multiplicación*

La mayoría de las levaduras se reproducen por gemación multicelular o por gemación polar, que es el mecanismo en el cual una porción del protoplasma sobresale de la pared de la célula y forma una protuberancia, la cual aumenta de tamaño y se desprende como una nueva célula de levadura. En las levaduras que forman película, la yema crece a partir de una prolongación tubuliforme de la célula madre. La reproducción sexual de las levaduras verdaderas (Ascomycotina) da lugar a la producción de ascosporas, desempeñando la función de asca, la propia célula de la levadura. En la mayoría de las especies de levaduras verdaderas, la formación de ascosporas tiene lugar tras la conjugación de dos células, aunque algunas pueden producir ascosporas sin que exista conjugación previa, teniendo lugar después la conjugación de las ascosporas. Tanto el número y el aspecto de esporas por asca, son típicos de cada especie de levadura, y se pueden diferenciar por su color, rugosidad o lisura de su pared y por su forma (redondeada, ovalada, arriñonada, falciforme, forma de Saturno o de sombrero, hemisférica, angular).

#### 1.2.12.4. *Propiedades del medio de desarrollo*

En la mayoría de los casos, el crecimiento en masa de las levaduras no resulta apropiado para su identificación. En los cultivos con agar, es difícil diferenciar las colonias de levaduras de las colonias bacterianas, por lo que la observación microscópica es la única forma segura que existe para poderlas diferenciar. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas, y es posible que tengan aspecto harinoso. La mayoría de las colonias son blanquecinas, algunas tienen un color crema o rosado. Algunas colonias cambian poco de aspecto cuando envejecen, otras se secan y se vuelven rugosas. Las levaduras son oxidativas, fermentativas, o bien su actividad metabólica es a la vez de ambos tipos.

#### 1.2.12.5. *Fisiología*

Las distintas especies de levaduras pueden ser muy diferentes en cuanto a su fisiología, la mayoría necesitan más humedad para crecer y desarrollarse. El intervalo de temperatura de crecimiento de las levaduras es en general, parecido al de los hongos, con una temperatura óptima en torno a los 25 a 30°C y una temperatura máxima en torno a los 35 a 47°C. Una reacción ácida del medio, próxima a un pH de 4 a 4,5; estimula el crecimiento de la mayoría de las levaduras, mientras que en medios básicos, no crecen bien a no ser que se hayan adaptado a los mismos. En general, los azúcares son la fuente energética más apropiada para las levaduras, aunque en las oxidativas, por ejemplo, las formadoras de película oxidan los ácidos orgánicos y el alcohol.

#### 1.2.12.6. *Caracterización de las levaduras*

La clasificación de las levaduras es compleja, no obstante el desarrollo de nuevas técnicas basadas en Biología Molecular, ha permitido separar o reagrupar las especies. Las levaduras pertenecen al Reino *Fungi* y dentro de él a la división *Eumicota* que agrupa a los hongos verdaderos. En esta división, las levaduras se incluyen en 2 de las 5 subdivisiones de los *Eumicetos*, la *Ascomycotina* representada por las levaduras capaces de producir ascosporas, llamadas por ello esporógenas, y la *Deuteromycotina* representadas por las levaduras incapaces de formar esporas llamadas no esporógenas. Los géneros de las levaduras esporógenas englobados todos ellos en la familia *Saccharomycetaceae*, se distribuyen en 3 subfamilias. Los géneros de las levaduras no esporógenas

constituyen la familia *Cryptococcaceae*. Los principales criterios utilizados para la clasificación e identificación de las levaduras son los siguientes:

- Producción de ascosporas
- Aspecto de las células vegetativas: forma, tamaño, color, inclusiones
- Forma de reproducción asexual
- Producción de micelio
- Forma de película en medio líquido
- Color de la colonia
- Propiedades fisiológicas: producción de ácido, actividad ureásica
- Caracterización bioquímica

#### *1.2.12.7. Criterios para la selección de los microorganismos fermentativos*

El estudio de la dinámica, cuantificación y composición de la microbiota responsable de las fermentaciones espontáneas, ha mostrado diferencias tanto cualitativas como cuantitativas, en las levaduras aisladas en una misma zona vitivinícola e incluso dentro de los depósitos de una misma bodega. Las causas de esta variabilidad pueden ser: cambios en las técnicas de aislamiento, cambios en las condiciones climáticas, etc. Las levaduras seleccionadas se han utilizado con excelentes resultados en muchos países, obteniéndose productos finales de calidad más uniforme que los que se producían con las fermentaciones espontáneas. Este último punto es el que genera el debate acerca de la utilización o no de inóculos, ya que garantizan repetitividad a expensas de perder algo de complejidad en el producto. A pesar de que existen levaduras comerciales para realizar las fermentaciones, es más efectivo el uso de cultivos puros de levaduras que procedan de la zona donde se van a utilizar, lo que se conoce como levaduras locales seleccionadas, ya que se cree que las levaduras que se encuentran en una microzona son específicas del área, totalmente adaptadas a las condiciones climáticas de la zona y a la materia prima, es decir al mosto a fermentar, son responsables al menos parcialmente, de las características únicas de los productos obtenidos.

Las características propias de la zona pueden ser por tanto, un aspecto interesante a la hora de seleccionar una levadura, aunque hay muchos otros que también se tienen que tomar en cuenta. La importancia de estos parámetros puede ser relativa, dependiendo del producto para el cual quieren ser utilizados, algunos de los criterios utilizados para seleccionar levaduras se pueden observar más adelante. Por tanto, la selección de la cepa adecuada para cada tipo de fermentación es una estrategia muy importante para garantizar por un lado una fermentación correcta, así como para mejorar las

características del producto final, ya que las levaduras pueden producir compuestos que den un toque de distinción al producto obtenido, tales como el glicerol, ésteres, alcoholes superiores, etc.

### **1.2.13. Clasificación de las levaduras**

Las levaduras fermentativas se pueden clasificar en tres grandes grupos con relación a su influencia dentro de este proceso:

#### **1.2.13.1. Levaduras de inicio de fermentación**

Se trata generalmente de levaduras apiculadas, es decir con forma de limón, que tienen un bajo poder fermentativo (hasta 4-5 % Vol.). Muchas de ellas son poco beneficiosas ya que producen bastante acidez volátil, a excepción de *Schizosaccharomyces veronae*. Podemos citar *Kloeckera apiculata* como la levadura de este tipo más común en la mayoría de las vinificaciones.

#### **1.2.13.2. Levaduras de poder fermentativo medio-alto**

Una vez que se han superado los 4-5 % Vol. de alcohol, otras especies de levaduras dominan el proceso como es el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces pastorianus*, y otras.

#### **1.2.13.3. Levaduras de elevado poder fermentativo**

Al alcanzar los 10-11% Vol de alcohol, hay otras especies de levaduras que comienzan a ejercer su predominio debido a que gozan de un elevado poder fermentativo como son *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces bayanus*, y otros *Saccharomyces ellipsoideus*, entre otras. Exceptuando micro vinificaciones de laboratorio en las que se han llegado a alcanzar hasta 18-20 % Vol. de alcohol, lo habitual es que no puedan fermentar más allá de los 13,5-14,5 % Vol. de alcohol. Dentro de las levaduras post-fermentativas se distinguen dos grandes grupos, uno sumamente perjudicial y otro sumamente beneficioso. Las primeras son levaduras aeróbicas de bajo poder fermentativo denominadas "flores del vino" que forman un delgado velo blanquecino en la superficie de los vinos de poca graduación conservados en malas condiciones. Son sumamente perjudiciales debido a que forman gran cantidad de ácido acético y de acetato de etilo (aroma a pegamento) a partir del etanol, preparando el terreno para un posterior picado acético bacteriano. Las segundas, denominadas "levaduras de flor", son las levaduras típicas de los vinos de crianza biológica como son finos, manzanillas y amontillados en su crianza biológica. Forman un velo mucho más grueso, amarillento,

muy floculante. Se trata de levaduras con un alto poder fermentativo que forman el velo una vez ha concluido la fermentación del mosto a diferencia de las anteriores que lo hacen desde el principio. Se trata de *Saccharomyces moltuliensis*, *Saccharomyces italicus* y *Saccharomyces beticus* principalmente.

Estas levaduras forman acetaldehído (aroma a almendra) a partir del etanol, y acetales a partir de etanol más acetaldehído; consumen prácticamente toda la glicerina y favorecen el potencial de óxido-reducción del mosto bajo el velo para realizar la fermentación malo-láctica, entre otras muchas cosas. Es por ello por lo que los vinos base de estas elaboraciones se encabezan hasta los 15-15,5 % Vol. con alcohol vínico con el fin de evitar otras especies de levaduras y que pueda formarse el velo característico de la crianza biológica en las botas.

#### *1.2.14. Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica*

Para el desarrollo adecuado de las levaduras y para generar una fermentación adecuada se requiere las siguientes condiciones del medio.

##### *1.2.14.1. Temperatura*

Las levaduras son microorganismos mesófilos, esto hace que la fermentación pueda tener lugar en un rango de temperaturas desde los 13-14°C hasta los 33-35°C. Dentro de este intervalo, cuanto mayor sea la temperatura mayor será la velocidad del proceso fermentativo siendo también mayor la proporción de productos secundarios. Sin embargo, a menor temperatura es más fácil conseguir un mayor grado alcohólico, ya que parece que las altas temperaturas que hacen fermentar más rápido a las levaduras llegan a agotarlas antes. La temperatura más adecuada para realizar la fermentación alcohólica se sitúa entre los 18-23°C y es la que se emplea generalmente en la elaboración de vinos blancos. Sin embargo, para elaborar vinos tintos es necesaria una maceración de los hollejos (y pepitas) de las uvas con el fin de extraer antocianos y taninos principalmente, de forma que se fermenta a temperaturas más elevadas (24-31°C) para buscar una mayor extracción de estos compuestos.

Por encima de 33-35°C el riesgo de parada de fermentación es muy elevado, al igual que el de alteración bacteriana ya que a estas elevadas temperaturas las membranas celulares de las levaduras dejan de ser tan selectivas, emitiendo substratos muy adecuados para las bacterias.



#### *1.2.14.2. Aireación*

Durante mucho tiempo se pensó que las levaduras eran microorganismos anaerobios estrictos, es decir, debía realizarse la fermentación en ausencia de oxígeno. Sin embargo, es un hecho erróneo ya que requieren una cierta aireación. Esta oxigenación se consigue en los procesos previos a la fermentación. Una aireación sumamente excesiva es totalmente absurda ya que, entre otras consecuencias en el vino, no obtendríamos alcohol sino agua y anhídrido carbónico debido a que las levaduras, cuando viven en condiciones aeróbicas, no utilizan los azúcares por vía fermentativa sino oxidativa, para obtener con ello mucha más energía.

#### *1.2.14.3. pH*

El pH del vino (3,1- 4) no es el más adecuado para la vida de las levaduras, menos para la de las bacterias, prefiriendo convivir con valores más elevados (entre 4 y 6). Cuanto menor es el pH peor lo tendrán las levaduras para fermentar, aunque más protegido se encuentra el vino ante posibles ataques bacterianos. Además, más elevada será la fracción de sulfuroso que se encuentra libre.

#### *1.2.14.4. Nutrientes y activadores*

Las levaduras fermentativas necesitan los azúcares para su catabolismo, es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales, pero además necesitan otros substratos para su anabolismo como son nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas, especialmente ti amina (vitamina B1). Por ello es de vital importancia que el medio disponga de una base nutricional adecuada para poder llevar a cabo la fermentación alcohólica. El nitrógeno es de todos el más importante, siendo necesario que el mosto contenga inicialmente nitrógeno amoniacal y en forma de aminoácidos por encima de 130-150 ppm. Una deficiencia de estos nutrientes hará que "no les quede más remedio" que atacar contra su pesar las gigantescas proteínas, liberándose H<sub>2</sub>S (aroma a huevos podridos). La presencia de esteroides y ácidos grasos insaturados es también necesaria obteniéndolos inicialmente del mosto y posteriormente de las células madres. Esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga son necesarios fundamentalmente para que sus membranas celulares puedan ser funcionales.

#### 1.2.14.5. *Inhibidores*

Entendemos por inhibición como la detención de la actividad de las levaduras, retardo e impedimento de su desarrollo, y por lo tanto, de la fermentación. La fermentación ralentiza e incluso se para, principalmente por 2 razones:

- Agotamiento de algún elemento necesario (oxígeno, sustancias nitrogenadas, etc.)
- Formación o presencia de sustancias inhibidoras (alcohol, CO<sub>2</sub>, etc.)

#### 1.2.14.6. *Concentración inicial de azúcares*

No podemos pensar en fermentar un mosto con una concentración muy elevada de azúcares. En estas condiciones osmófilas las levaduras simplemente estallarían al salir bruscamente el agua de su interior para equilibrar las concentraciones de solutos en el exterior y en el interior de la célula, es decir, lo que se conoce como una plasmólisis. Esta es la base de la elaboración de mostos concentrados estables microbiológicamente ( $^{\circ}\text{Be} > 29$ ), si bien determinadas especies de levaduras como *Saccharomyces Ludwigii* y *Schizosaccharomyces pombe*, entre otras, son capaces de resistir.

#### 1.2.15. *Efectos de la fermentación etílica*

Los efectos de la fermentación etílica se derivan de los productos resultantes del proceso que son liberados de una forma u otra al medio ambiente: el etanol y el dióxido de carbono. Los efectos de la fermentación dependerán de cómo se trate cada uno de estos subproductos. Uno de los efectos más sorprendentes se encuentra en la contaminación etílica existente en algunos insectos que se alimentan de frutas y del néctar de las flores, un ejemplo claro son las abejas. De la misma forma puede intoxicar a los pájaros que se alimentan de algunas bayas maduras ya parcialmente fermentadas. La fermentación alcohólica en pequeña escala se produce de la misma forma en las raíces de algunas plantas que son regadas de manera muy frecuente, la falta de aireación del terreno hace que las condiciones anaeróbicas que necesitan las levaduras actúen pudiendo envenenar el suelo mediante un aumento de la concentración de etanol lo que se traduce en una disminución de la capacidad de producción de las mismas. Otro aspecto importante es el efecto que produce en el cuerpo humano el consumo reiterado en los humanos de bebidas alcohólicas procedentes de la fermentación etílica ya que el etanol es una potente droga psicoactiva con un nivel de efectos secundarios además de la adicción que genera su consumo habitual. Los lugares donde se realiza la fermentación de algunas

bebidas alcohólicas (generalmente sótanos) suelen ser peligrosos ya que el dióxido de carbono desplaza al oxígeno pudiendo causar asfixia a las personas que se encuentren en estos lugares.

### **1.3. Diseño**

#### ***1.3.1. Biorreactor o fermentador***

Por lo general, un biorreactor es un recipiente cilíndrico de doble pared, de vidrio o de acero inoxidable (para el control de la temperatura y esterilización en línea), cubierto de una platina de acero inoxidable. La platina está dotada de entradas y salidas que permiten agregar substratos, nutrientes y sustancias como ácidos o bases, extraer productos, o bien, hacer mediciones en línea. La platina permite acoplar un sistema de agitación para mantener la homogeneidad y facilitar, en su caso, la transferencia de oxígeno y nutrientes. El Biorreactor es el elemento central para la realización de la fermentación alcohólica.

#### ***1.3.2. Equipo básico para el proceso de fermentación***

El equipo básico para realizar la fermentación puede consistir en las siguientes piezas para su correcta operación:

##### ***1.3.2.1. Fermentador o cuba madre***

Suele ser un recipiente de gran volumen de 100 L (es preferible que tenga escala graduada en sus paredes). Este recipiente (generalmente de polietileno) se puede llenar de agua con sacarosa o cualquier zumo de fruta (pudiendo poner incluso fruta madura en su interior). El recipiente debe ser amplio en su boca superior para que el dióxido de carbono pueda liberarse y facilitar su limpieza posterior. Se denomina a veces a este recipiente como simplemente 'fermentador' y es el espacio en el que se realiza la fermentación. Debe ser de un tamaño tal que permita ser removido de vez en cuando.

##### ***1.3.2.2. Tapón de fermentación***

El recipiente, o fermentador, debe tener un calibre de 'boca' suficiente para que pueda enroscarse un tapón de fermentación con un agujero sobre el que se pueda introducir un airlock. Este tapón debe garantizar la estanqueidad del proceso, permitiendo tan sólo acceso a través del airlock.

### *1.3.2.3. Cubierta de goma para el tapón*

Se debe hacer notar que el tapón debe ser cubierto con una funda de goma para que garantice la estanqueidad del fermentador durante el proceso. Este accesorio no es realmente necesario y su función es la de garantizar la estanqueidad que debe proporcionar el tapón.

### *1.3.2.4. Airlock*

La misión de este dispositivo es la de permitir la salida del dióxido de carbono generado mientras que al mismo tiempo se evita la entrada de aire en el 'fermentador' y evitar así la contaminación del proceso (que oxidaría el alcohol etílico en ácido acético). El bloqueo de este aparato se hace mediante el empleo de agua introducida en unas ampollas comunicadas, estas ampollas permiten la salida del CO<sub>2</sub> pero no la entrada del aire (O<sub>2</sub>). Este dispositivo puede encontrarse elaborado en vidrio o en plástico. Se suele comercializar para poder hacer la mezcla inicial diferentes productos con levaduras deshidratadas en su interior, la elección del producto dependerá fundamentalmente del tipo de azúcar empleado. Las levaduras deshidratadas deben pasar un periodo de hidratación de unas horas antes de ser añadido al sustrato. Se debe considerar que la fermentación debe empezar aproximadamente a las 10 horas de componer el sistema y suele durar entre dos y cuatro días. A veces se incluyen además esencias diversas que se añaden en la elaboración final de estas bebidas caseras con el objeto de aromatizar o proporcionar diferentes sabores. En el kit de desarrollo debe incluirse un termómetro y un densímetro. Este proceso es normalmente asociado el proceso de destilación para aumentar la pureza del alcohol resultante, permitiendo de esta manera producir aguardientes y otras bebidas de alto contenido alcohólico.

## **1.3.3. Cálculos**

### **1.3.4. Dimensionado del equipo**

#### *1.3.4.1. Determinación del diámetro interno del reactor*

Considerando que se desea procesar un volumen de operación igual a 100 litros o 0,1m<sup>3</sup>, estipulado dentro de los objetivos de la investigación, por cada carga de materia prima al equipo, además utilizando la relación descrita por Mc CABE, W. (1998) para dimensionamiento de reactores mezclados donde se indica que  $h_t/D_r = 1$  se determina por medio de la ecuación:

$$R = \frac{D_r}{2}$$

Y la ecuación:

$$V = \pi * (R)^2 * h_t$$

Sustituyendo:

$$V = \pi * \left(\frac{D_r}{2}\right)^2 * h_t$$

Conociendo que:

$$h_t = D_r \quad (3.4)$$

Sustituyendo:

$$V = \pi * \left(\frac{D_r}{2}\right)^2 * D_r$$

Despejando:

$$D_r = \sqrt[3]{\frac{4V}{\pi}} \quad (1.1)$$

#### *1.3.4.2. Determinación de la altura del reactor*

Partiendo de la ecuación:

$$\frac{h_t}{D_r} = 1$$

Despejando se obtiene:

$$h_t = D_r \quad (1.2.)$$

#### *1.3.4.3. Aplicación de factores de seguridad*

Para favorecer la adecuada operación del equipo se considera que en la altura de las paredes verticales del reactor se adicione un factor de seguridad igual 30%, por lo que la altura final del equipo será:

$$h_{fs} = 30\% (h_r) \quad (3.3)$$

$$h_r = h_t + h_{fs}$$

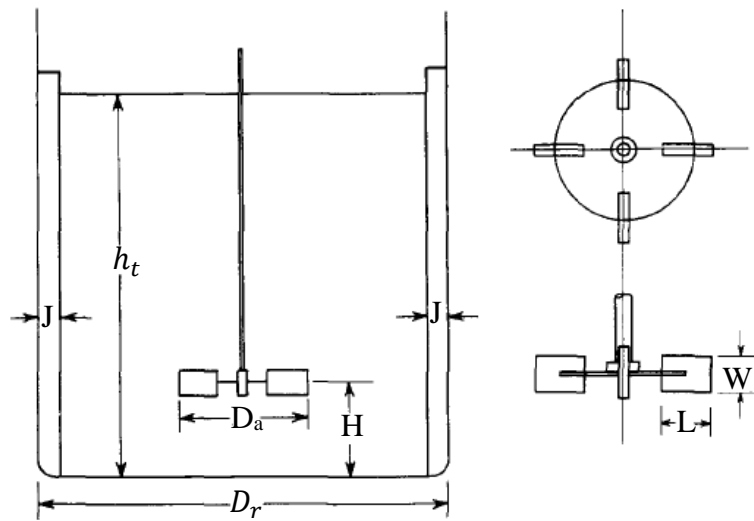
#### *1.3.4.4. Determinación del volumen máximo del reactor*

Para determinar volumen máxima que podrá contener el equipo se parte de la ecuación de volumen adaptada:

$$V_{max} = \pi * \left(\frac{D_r}{2}\right)^2 * h_r$$

#### *1.3.5. Dimensionamiento del sistema de mezclado*

En base a la relación de las medidas descritas en el cuadro 1 y figura 2 se establece la siguiente relación:



**Figura 3-1:** Esquema del sistema de mezclado

Fuente: (McCABE & SMITH, 1998)

**Tabla2-1.** Dimensiones para el sistema de mezclado.

$\frac{D_a}{D_r} = \frac{1}{3} \quad (3.7)$	$\frac{H}{D_a} = 1 \quad (3.8)$	$\frac{J}{D_r} = \frac{1}{12} \quad (3.9)$
$\frac{h_t}{D_a} = 1 \quad (3.10)$	$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5} \quad (3.11)$	$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4} \quad (3.12)$

Fuente: (McCABE & SMITH, 1998)

#### 1.3.5.1. Diámetro total de las paletas

En base a las referencias de diseño se tiene:

$$\frac{D_a}{D_r} = \frac{1}{3}$$

Reemplazando:

$$D_a = \frac{D_r}{3} \quad (1.4)$$

#### 1.3.5.2. Altura de las paletas

Partiendo de las ecuaciones de referencia:

$$\frac{H}{D_a} = 1$$

Se obtiene:

$$H = D_a \quad (1.5)$$

#### *1.3.5.3. Ancho de las paletas*

Partiendo de las ecuaciones de diseño referenciales:

$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5}$$

$$W = \frac{D_a}{5} \quad (1.6)$$

#### *1.3.5.4. Largo de las paletas*

En base a la ecuación de referencia para el diseño:

$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4}$$

$$L = \frac{D_a}{4} \quad (1.7)$$

#### *1.3.5.5. Ancho de las placas deflectoras*

Partiendo de la ecuación de diseño referencial:

$$\frac{J}{D_r} = \frac{1}{12} \quad (1.8)$$



### *1.3.6. Cámara de calefacción*

Para el proceso de fermentación se requiere que el fermentador se mantenga a una temperatura de 30°C durante un lapso mayor a 12 horas. Para lograr mantener el interior del fermentador a dicha temperatura se requirió incorporar una chaqueta de calentamiento que recubra el contenido del fermentador y que utilice agua como fluido de transferencia de calor y una resistencia eléctrica como fuente de calor.

#### *1.3.6.1. Diámetro de la chaqueta de calentamiento*

Partiendo de la ecuación:

$$D_c = D_r + 0,3 * D_r \quad (1.8)$$

#### *1.3.6.2. Espesor de la cámara de calentamiento*

Los cálculos se obtienen partiendo de la ecuación:

$$E_c = \frac{D_c - D_r}{2} \quad (1.9)$$

#### *1.3.6.3. Altura de la cámara de calentamiento*

Par ale cálculo se parte de la ecuación:

$$h_c = h_r + E_c \quad (3.10)$$

#### *1.3.6.4. Calculo del volumen total del reactor*

Para la determinación de la variable se parte de la ecuación:

$$V_t = \pi * \left(\frac{D_c}{2}\right)^2 * h_c \quad (3.11)$$

#### 1.3.6.5. *Calculo del volumen de la cámara de calentamiento*

Para el cálculo se parte de la ecuación:

$$V_c = V_t - V_{max} \quad (3.12)$$

#### 1.3.7. *Determinación experimental de la velocidad de reacción de la fermentación*

Para determinar la velocidad de reacción se aplicó la ecuación que describe el concepto de velocidad de reacción:

$$(3.13) \quad r_f = \frac{dC_{ST}}{dt}$$

Para la resolución de la ecuación aplico los datos experimentales obtenidos de replicar la fermentación que se producirá dentro del equipo, tomando en cuenta las condiciones de operación establecidas previamente. Para determinar la velocidad de reacción en un lapso de fermentación igual a 12 horas se promedió los resultados de la velocidad determinados en cada intervalo parcial de tiempo de 1, obteniéndose que la velocidad de reacción de fermentación a las condiciones especificadas es igual a -0.0003 mol/L\*h de sacarosa (determinada por solidos totales).

#### 1.3.8. *Determinación del tiempo de residencia*

Para la determinación del tiempo de residencia se parte del echo que se desea una eficiencia del equipo igual a 80%, es decir se busca transformar el 80% de la sacarosa (azúcar representativa de la remolacha) en etanol, para ello se parte de la concentración inicial registrada en la validación del equipo, la cual fue de 0,24 mol/L. posteriormente y considerando la eficiencia establecida se espera transformar el 80% del total de sacarosa presente en el mosto, es decir que se desea que el equipo fermente 0,192 mol/L de sacarosa y transformarlo en etanol y los restantes productos de fermentación, lográndose una concentración final de 0,048 mol/L de azúcar.

Para la determinación del tiempo de residencia se parte de la siguiente ecuación:

$$\tau = \frac{C_{ST_0} - C_{ST_f}}{r_f} \quad (3.14)$$

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLOGICO

#### 2.1. Parte Experimental

#### 2.2. Muestreo

Para realizar los análisis de sólidos totales presentes en el mosto en fermentación se tomaron muestras representativas de la matriz bajo el programa de muestreo representado en el cuadro 2.

#### 2.3. Metodología

##### 2.3.1. *Métodos y técnicas*

##### 2.3.1.1. *Métodos*

Por la naturaleza de la investigación se requirió establecer previo al desarrollo de la misma el método de investigación adecuado, dentro de los modelos establecidos por la bibliografía, que contenga las características, componentes, herramientas y lineamientos necesarias para poder cumplir con los objetivos planteados y formular las correctas conclusiones en función a los resultados y observaciones experimentales obtenidas que se llevó a cabo en el desarrollo de la investigación.

En vista a que el estudio contemplo en primera fase conocer las condiciones operacionales que debe cumplir el equipo, en función a la capacidad y tipo de operación que debe llevar a cabo, y posteriormente validar dichas condiciones se utilizó un método que implicara la utilización de mediciones y observaciones de las condiciones del objeto de estudio (mosto de remolacha y producto de fermentación) e integrar dichas condiciones con las variables manipulables por el experimentador (dimensión, capacidad y variables de operación de equipo) para poder formular respuestas en función a dicha interacción. El método de investigación que más se ajusta a los objetivos y metas establecidas en la presente investigación es el método empírico.

**Tabla 3-2.** Programa de muestreo

<b>ANÁLISIS</b>	<b>TIPO DE MUESTREO</b>	<b>FRECUENCIA DE LA TOMA DE LA MUESTRA</b>	<b>NUMERO TOTAL DE MUESTRAS</b>	<b>VOLUMEN DE CADA MUESTRA</b>	<b>CONSERVACIÓN</b>	<b>ZONA DE TOMA DE MUESTRA</b>	<b>IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA</b>
Determinación del porcentaje de agua necesario para la preparación del mosto	Instantáneo	Se debe tomar una sola muestra de cada preparación de mosto	Según el número de mostos preparados en función al porcentaje de agua adicionado.	20 ml	Ninguna en visa a que la muestra será analizada inmediatamente después de ser recogida.	La muestra debe ser tomada en la mitad del recipiente que contiene el mosto previa homogenización.	Fecha de la toma de la muestra. Tipo de análisis. Porcentaje de agua adicionado en la preparación del mosto.
Determinación de la velocidad de reacción	Instantáneo	Se debe tomar una muestra cada 1 hora durante 12 horas	12 Muestras	20 ml	Ninguna en visa a que la muestra será analizada inmediatamente después de ser recogida.	La muestra debe der tomada en el centro del contenedor del mosto en fermentación.	Fecha de la toma de la muestra. Tipo de análisis. Hora de la toma de la muestra. Número de muestra.
Validación del equipo	Instantáneo	Se debe tomar una muestra cada 1 hora durante 12 horas	12 muestras	20 ml	Ninguna en visa a que la muestra será analizada inmediatamente después de ser recogida.	La muestra debe der tomada desde la válvula de descarga del equipo previa homogenización.	Fecha de la toma de la muestra. Tipo de análisis. Hora de la toma de la muestra Número de la muestra.

**Fuente:** Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

#### 2.3.1.1.1. *Método Empírico*

Dentro de la presente investigación se utilizó principalmente el método científico para lograr alcanzar los objetivos planteados, en vista a que se analizará de manera experimental la respuesta de los análisis realizados en la validación del equipo diseñado para inferir en las conclusiones. El fundamento del método empírico radica en la percepción directa del objeto de investigación y del problema.

Las metodologías implícitas dentro del método empírico y que fueron aplicadas dentro de la presente investigación son:

- **LA MEDICIÓN:** Fue aplicó con el objetivo de obtener la información numérica acerca de las propiedades o cualidades del objeto de estudio. La medición es la atribución de valores numéricos a las propiedades de los objetos mediante la comparación de patrones con las características del objeto de estudio. En la medición se tomó en cuenta el objeto y la propiedad que se va a medir, la unidad y el instrumento de medición, y los resultados que se buscó alcanzar.

#### 2.3.1.2. **TÉCNICAS**

Las técnicas aplicadas dentro de la presente investigación se clasifican principalmente en:

##### 2.3.1.2.1. *Técnicas de recopilación de la información*

Representadas por las herramientas, procedimientos e instrumentos aplicados dentro de la investigación para la obtención de información necesaria para el cumplimiento de los objetivos. Las técnicas de recopilación de datos utilizadas fueron:

- Observación directa
- Recopilación bibliográfica
- Diarios de campo
- Recolección de datos
- Análisis de datos

#### 2.3.1.2.2. *Técnicas analíticas*

Las técnicas analíticas permitieron realizar la medición de las características y condición de los objetos de estudio presentes en la investigación. Las técnicas analíticas utilizadas fueron:

- Planes de muestreo.
- Determinación de sólidos totales.
- Destilación fraccionada.
- Métodos volumétricos.
- Medición directa.

### **2.4. DATOS EXPERIMENTALES**

#### **2.4.1. *Diagnóstico***

Para el diseño del equipo se partió de la determinación de la velocidad de reacción de fermentación. Para lo cual, previamente se determinó el porcentaje de agua necesario para añadir a un volumen de zumo de remolacha y obtener un mosto con un porcentaje de sólidos del 20%. La remolacha fue adquirida en el Mercado de Productores San Pedro de Riobamba, ubicado en la ciudad de Riobamba en la provincia de Chimborazo, se adquirió 5 quintales de un mismo proveedor. Se buscó un lote de remolacha que provenga del mismo sistema de cultivo, presente el mismo tiempo de cosecha, presente el mismo sistema de fumigación, en fin se procuró obtener una materia prima lo más homogénea e idónea posible para el sistema de fermentación. Una vez determinadas las cantidades de zumo de remolacha y agua se procedió a la medición de la velocidad de reacción, para lo cual se preparó 100 litro de mosto, se añadió 200 g de levadura, previamente disuelta en 500 ml de agua a 32°C, 200 g de sulfato de amonio y se procedió a fermentar en a una temperatura de 30° por un lapso de 12 horas. Cada hora se tomó una muestra del mosto de 20 ml y se determinó el contenido de sólidos totales de la misma, hasta haber obtenido 12 datos. A continuación por cálculos se determinó la velocidad de fermentación del mosto.

Con el valor de la velocidad de reacción de fermentación y conociendo que se busca que el equipo tenga una capacidad nominal de 100 L se procedió a realizar los cálculos de diseño del equipo, para conocer las dimensiones, capacidades y condiciones de operación del mismo. Una vez determinadas todas las variables de diseño del equipo se procedió a la construcción del mismo, utilizando materiales inoxidables, considerando factores de seguridad, factibilidad de mantenimiento y limpieza

del equipo, evitando posibles fugas de mosto y energía y procurando que la construcción del mismo asegure un tiempo de vida útil aceptable (mayor a 5 años).

Una vez construido el equipo bajo las especificaciones determinadas en el diseño se procedió a la verificación del mismo, para lo cual se preparó un 100 L de mosto para fermentación, es decir, 100 L del mosto con 11 a 12% de sólidos totales más 200g de levadura hidratada y activada y 200 g de sulfato de amonio, se incorporó el mosto al equipo, se arrancó el equipo en las condiciones de operación establecidas (30°C).

Se tomó una muestra del mosto en fermentación cada hora y se determinó el contenido de sólidos totales en cada una de las muestras para posteriormente determinar la velocidad de reacción, tiempo de residencia y eficiencia del equipo.



**Tabla 4-2.** Determinación de sólidos totales

FUNDAMENTO	MATERIALES	PROCEDIMIENTO	CÁLCULOS	TOMA Y ALMACENAJE DE MUESTRAS
<p>La determinación de los sólidos totales permite estimar los contenidos de materias disueltas y suspendidas presentes en muestras de alimentos, pero el resultado está condicionado por la temperatura y la duración de la desecación. Su determinación se basa en una medición cuantitativa del incremento de peso que experimenta una cápsula previamente tarada tras la evaporación de una muestra y secado a peso constante a 103-105°C.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cápsulas de evaporación adecuadas al volumen de la muestra.</li> <li>• Estufa.</li> <li>• Desecador con sílica azul como indicador colorimétrico de humedad.</li> <li>• Balanza analítica.</li> <li>• Agitador magnético.</li> <li>• Placa calefactora.</li> <li>• Probetas de diferentes volúmenes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encender la estufa a 103-105°C.</li> <li>• Llevar las cápsulas al desecador hasta que se vaya a emplear.</li> <li>• Pesarla inmediatamente antes de usar y registrar el dato (Peso A).</li> <li>• Mezclar bien la muestra y depositar en la capsula un volumen de 20 ml y pesar (peso B).</li> <li>• Llevar la muestra evaporada a la estufa a 103-105°C por 2 horas. Enfriar la cápsula en el desecador.</li> <li>• Pesar rápidamente (Peso C).</li> </ul>	$ST = \frac{(C - A) * 1000}{V}$ $\%ST = \frac{B - A}{C - A} * 100$ <p>Donde:                      %ST: Porcentaje de sólidos totales en la muestra (P/P)                      ST: sólidos totales (mg/L)                      V: volumen de muestra (mL)                      A: peso de la cápsula de evaporación vacía (mg)                      B: Peso de la muestra húmeda.                      C: peso de la cápsula de evaporación más residuo seco (mg)</p>	<p>Las muestras deben recolectarse en frascos plásticos o de vidrio. Realizar el análisis lo antes posible, y en caso de requerirse almacenamiento, hacerlo a temperatura de 6°C por un tiempo máximo de 7 días.</p>

Fuente: (ZUMBADO, 2002)

**Tabla 5-2.** Determinación de la velocidad de reacción

FUNDAMENTO	MATERIALES Y REACTIVOS	PROCEDIMIENTO	CÁLCULOS	TOMA Y ALMACENAJE DE MUESTRAS
<p>La velocidad de reacción se define como el índice de cambio con el tiempo de algún reactivo o producto que interviene en la reacción de interés. Para determinar la velocidad de reacción del fermentador se debe preparar el mosto y fermentar el mismo por un lapso de tiempo de 12 horas. Cada 1 se toma una muestra del mosto y se determina la concentración de solidos totales de cada una. Posteriormente a las 12 horas se realiza los cálculos de la velocidad de reacción.</p>	<p><b>MATERIALES:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fermentador.</li> <li>• Tubos de ensayo</li> <li>• Gradillas.</li> <li>• Capsulas.</li> <li>• Pipetas.</li> <li>• Balanza analítica.</li> <li>• Estufa.</li> <li>• Termómetro.</li> </ul> <p><b>REACTIVOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mosto.</li> <li>• Levadura.</li> <li>• Sulfato de aluminio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparar un volumen de mosto de 100 L bajo la formulación adecuada.</li> <li>• Adicionar 200 g de sulfato de amonio.</li> <li>• Adicionar 200 g de levadura.</li> <li>• Verter en el fermentador el mosto.</li> <li>• Encender el equipo y regular la temperatura a 30°C</li> <li>• Cada hora retirar una muestra de 20 ml y proceder a la determinación de los sólidos.</li> <li>• Anotar los resultados.</li> </ul>	$r_f = \frac{dC_{ST}}{t}$ <p>Donde:  <math>r_f</math>: Velocidad de reacción del fermentador (mol/l*h).  <math>dC_{ST}</math>: Variación de la concentración de los sólidos totales.  <math>t</math>: Tiempo (h).</p>	<p>Las muestras deben recolectarse en tubos de ensayo con tapa de volumen mayor a 20 ml. La determinación de la velocidad de reacción debe ser inmediatamente después de la toma de cada muestra, no se puede almacenar las muestras.</p>

Fuente: (LEVENSPIEL, 2004)

## 2.4.2. Datos

### 2.4.2.1. Determinación del porcentaje de agua requerido para la preparación del mosto

Para determinar la cantidad de agua necesaria para preparar el mosto se formuló 5 ensayos, en los cuales cada uno contenía 50 g de remolacha y agua según la formulación descrita en el cuadro 5.

**Tabla 6-2.** Formulación de los ensayos para determinar el agua requerida en la preparación del mosto.

<b>ENSAYO</b>	<b>PESO REMOLACHA, g</b>	<b>PORCENTAJE AGUA, %</b>	<b>CANTIDAD AGUA, L</b>
1	50	12	0,006
2	50	14	0,007
3	50	16	0,008
4	50	18	0,009
5	50	20	0,01

**Fuente:** Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

Posteriormente se determinó la cantidad de sólidos presentes cada muestra obteniéndose los resultados descritos en el cuadro 6.

**Tabla 7-2.** Contenido de sólidos ensayos para determinar el agua requerida en la preparación del mosto.

<b>ENSAYO</b>	<b>PESO CRISOL VACÍO Y TARADO, g</b>	<b>PESO CRISOL CON LA MUESTRA, g</b>	<b>PESO MUESTRA, g</b>	<b>PESO CRISOL FINAL, g</b>	<b>PESO SOLIDOS, g</b>	<b>CONTENIDO SOLIDOS, %</b>
1	24.95	34.25	9.66	25.91	1.32	13,66
2	81.37	91.66	10.29	82.59	1.22	11,85
3	31.35	41.94	10.59	32.64	1.29	12,18
4	31.96	42.35	10.39	33.17	1.21	11,64
5	31.12	41.15	10.03	32.15	1.03	10,26

**Fuente:** Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

Es decir que para preparar el mosto se deben adicionar 14% de agua para obtener un contenido de sólidos dentro del rango adecuado de 11 a 12%.

#### *2.4.2.2. Determinación de la velocidad de reacción de fermentación*

En la determinación de la velocidad de reacción de la fermentación se obtuvieron los datos establecidos en las tablas 8 y 9.

(Se considera que el contenido de sólidos totales está representado por sacarosa ya que representa el carbohidrato más abundante en la remolacha).

**Tabla 8-2** Resultados de la determinación de la velocidad de reacción de la fermentación.

<b>TIEMPO</b>	<b>CONCENTRACIÓN SOLIDOS TOTALES, %</b>	<b>DENSIDAD DEL MOSTO, g/mL</b>	<b>CONCENTRACIÓN DE SACAROSA, g/mL<sup>2</sup></b>	<b>CONCENTRACIÓN DE SACAROSA, mol/L</b>
0	13,2100	1,044914	0,13803314	0,40326372
1	13,1800	1,044812	0,13770622	0,40230863
2	13,1400	1,044676	0,13727043	0,40103546
3	13,1189	1,04460426	0,13704059	0,40036398
4	13,0800	1,044472	0,13661694	0,39912629
5	13,0465	1,0443581	0,13625218	0,39806065
6	13,0500	1,04437	0,13629029	0,39817197
7	12,9800	1,044132	0,13552833	0,39594593
8	12,9544	1,04404496	0,13524976	0,39513208
9	12,9437	1,04400858	0,13513334	0,39479196
10	12,9040	1,0438736	0,13470145	0,39353019
11	12,8735	1,0437699	0,13436972	0,39256104
12	12,8316	1,04362744	0,1339141	0,39122995

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

<sup>2</sup> Se considera que el contenido de solidos totales está representado por sacarosa ya que representa el carbohidrato más abundante en la remolacha.

**Tabla 9-2.** Resultados de la determinación de la velocidad de reacción de fermentación del equipo (validación).

<b>TIEMPO</b>	<b>CONCENTRACIÓN SOLIDOS TOTALES, %</b>	<b>DENSIDAD DEL MOSTO, g/mL</b>	<b>CONCENTRACIÓN DE SACAROSA, g/mL<sup>3</sup></b>	<b>CONCENTRACIÓN DE SACAROSA, mol/L</b>
0	8,073	1,027	0,083	0,242
1	7,820	1,027	0,080	0,235
2	7,430	1,025	0,076	0,223
3	7,290	1,025	0,075	0,218
4	7,309	1,025	0,075	0,219
5	7,250	1,025	0,074	0,217
6	7,161	1,024	0,073	0,214
7	7,144	1,024	0,073	0,214
8	7,180	1,024	0,074	0,215
9	7,070	1,024	0,072	0,212
10	7,027	1,024	0,072	0,210
11	7,010	1,024	0,072	0,210
12	6,987	1,024	0,072	0,209

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

<sup>3</sup> Se considera que el contenido de solidos totales está representado por sacarosa ya que representa el carbohidrato más abundante en la remolacha.

## 2.5. Datos adicionales

### 2.5.1. Carbohidratos presentes en la remolacha

Para determinar el azúcar representativo se utilizó el contenido de carbohidratos presentes en la remolacha, descrito en el cuadro 8.

**Tabla 10-2.** Contenido de carbohidratos en la remolacha.

<b>CARBOHIDRATO</b>	<b>CANTIDAD, g/100g remolacha</b>
Azúcares totales	8,38
Fructosa	0,25
Galactosa	0
Glucosa	0,27
Lactosa	0
Maltosa	0
Oligosacáridos	0
Sacarosa	7,86
Almidón	0,00
Almidón resistente	0
Celulosa	0,80
Lignina	0,31
Polisacáridos no celulósicos insolubles	0,94
Polisacáridos no celulósicos solubles	0,48

**Fuente:** (Los Alimentos, 2014)

### 2.5.2. Densidad de soluciones de sacarosa a diferentes concentraciones

Para determinar la concentración del mosto en función de la concentración de sacarosa (representada por el contenido de sólidos totales) se utilizó los datos descritos en el cuadro 10.

**Tabla 11-2.** Densidad de una solución de sacarosa en función al porcentaje de sacarosa

<b>CONCENTRACIÓN SACAROSA, %</b>	<b>DENSIDAD DE LA SOLUCIÓN, g/mL</b>
5	1,017
6	1,0204
7	1,0238
8	1,0272
9	1,0306
10	1,034
11	1,0374
12	1,0408
13	1,0442
14	1,0476
15	1,051

**Fuente:** (Guarnizo, 2008)

**Tabla 12-2.** Valores de k para impulsores en tanques de agitación con baffles.

<b>IMPULSOR</b>	<b>K</b>
Hélice, <i>pitch</i> cuadrado, 3 aletas*	0,32
Hélice <i>pitch</i> = 2, 3 aletas	1,00
Turbina, 6 aletas planas	6,30
Turbina, 6 aletas curvas	4,80
Turbina ventilador, 6 aletas	1,65
Turbina 6 aletas punta de flecha	4,00
Turbina paletas planas, 2 paletas	1,70
Turbina de impulsor encerrado, 6 aletas curvas	1,08
Turbina de impulsor encerrado con estator (sin bailes)	1,12

**Fuente:** (ROMERO, 1999)



**Tabla 13-2.** Valores tabulados de la viscosidad del agua vs los valores de la temperatura (viscosidad dinámica).

<b>TEMPERATURA,</b> °C	<b>VISCOSIDAD DINÁMICA,</b> kg/m*s
0,00	0,0018
1,00	0,0017
2,00	0,0017
3,00	0,0016
4,00	0,0016
5,00	0,0015
6,00	0,0015
7,00	0,0014
8,00	0,0014
9,00	0,0013
10,00	0,0013
11,00	0,0013
12,00	0,0012
13,00	0,0012
14,00	0,0012
15,00	0,0011
16,00	0,0011
17,00	0,0011
18,00	0,0011
19,00	0,0010
20,00	0,0010
21,00	0,0010
22,00	0,0010
23,00	0,0009
24,00	0,0009
25,00	0,0009
26,00	0,0009
27,00	0,0009
28,00	0,0008
29,00	0,0008
30,00	0,0008

31,00	0,0008
32,00	0,0008
33,00	0,0007

Fuente: (VaxaSoftwar, 2014)

**Tabla 14-2** Valores tabulados de la densidad del agua frente a la temperatura

<b>TEMPERATURA</b> °C	<b>DENSIDAD</b> kg/m <sup>3</sup>
0 (hielo)	917,00
0	999,82
1	999,89
2	999,94
3	999,98
4	1000,00
5	1000,00
6	999,99
7	999,96
8	999,91
9	999,85
10	999,77
11	999,68
12	999,58
13	999,46
14	999,33
15	999,19
16	999,03
17	998,86
18	998,68
19	998,49
20	998,29
21	998,08
22	997,86
23	997,62
24	997,38
25	997,13

26	996,86
27	996,59
28	996,31
29	996,02
30	995,71
31	995,41
32	995,09

Fuente: (VaxaSoftwar, 2014)

**Tabla 15-2.** Propiedades de algunos materiales para la construcción de fermentadores

MATERIAL	PROPIEDAD			
	$\rho$	$c_p$	k	$\alpha \cdot 10^6$
	(kg/m <sup>3</sup> )	(J/kg* $K$ )	(W/m* $K$ )	(m <sup>2</sup> /s)
Acero puro	7870	447	80.2	23.1
Acero al carbono	7854	434	60.5	17.7
Acero al carbono-silicio	7817	446	51.9	14.9
Acero al carbono-Manganeso-silicio	8131	434	41.0	11.6
Acero con cromo (bajo)	7822	444	37.7	10.9
Acero inoxidable. AISI302	8055	480	15.1	3.9
Acero inoxidable. AISI 304	7900	477	14.9	3.9
Acero inoxidable. AISI 316	8238	468	13.4	3.5
Acero inoxidable. AISI 347	7978	480	14.2	3.7
Aluminio puro	2702	903	237.0	97.1
Aluminio, aleación 2024-T6	2770	875	177.0	73.0
Aluminio, aleación 195. vaciado	2790	883	168.0	68.2
Armco (99.75% puro)	7870	447	72.7	20.7
Berilio	1850	1825	200.0	59.2
Bismuto	9780	122	7.86	6.6
Boro	2500	1107	27.0	9.8
Cadmio	8650	231	96.8	48.4
Cinc	7140	389	116.0	41.8
Circonio	6570	278	22.7	12.4
Cromo	7160	449	93.7	29.1
Cobalto	8862	421	99.2	26.6
Cobre puro	8933	385	401.0	117.0

Bronce comercial (90% Cu. 10% Al)	8800	420	52.0	14.0
Bronce fosforoso (89% Cu, 11 % Sn)	8780	355	54.0	17.0
Latón (70% Cu. 30% Zn)	8530	380	110.0	33.9
Constantan (55% Cu. 45% Ni)	8920	384	23.0	6.7

Fuente: (INCROPERA & DeWITT, 1999)

**Tabla 16-2.** Concentración de sacarosa en el mosto frente al tiempo de fermentación.

TIEMPO, h	CONCENTRACIÓN DE SACAROSA mol/L
0	0,40326372
1	0,40230863
2	0,40103546
3	0,40036398
4	0,39912629
5	0,39806065
6	0,39817197
7	0,39594593
8	0,39513208
9	0,39479196
10	0,39353019
11	0,39256104
12	0,39122995

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

**Tabla 17-2.** Determinación de la velocidad de reacción de fermentación

TIEMPO, h	$C_{ST}$ , mol/L	$dC_{ST}$ , mol/L	$dt$ , h	$r_f$ , mol/L*h
0	0,40326372	-	-	-
1	0,40230863	-0,00032692	1	-0,00032692
2	0,40103546	-0,0004358	1	-0,0004358
3	0,40036398	-0,00022984	1	-0,00022984
4	0,39912629	-0,00042365	1	-0,00042365

5	0,39806065	-0,00036476	1	-0,00036476
6	0,39817197	3,8105E-05	1	3,8105*10 <sup>-5</sup>
7	0,39594593	-0,00076195	1	-0,00076195
8	0,39513208	-0,00027857	1	-0,00027857
9	0,39479196	-0,00011642	1	-0,00011642
10	0,39353019	-0,00043189	1	-0,00043189
11	0,39256104	-0,00033173	1	-0,00033173
12	0,39122995	-0,00045562	1	-0,00045562

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

**Tabla 18-2.** Determinación del orden de reacción considerando órdenes de 0; 1 y 2

TIEMPO, h	$C_{ST}$	$\frac{1}{C_{ST}}$	$-\ln \frac{C_{ST0}}{C_{ST}}$
0	0.40326372	2.47976683	0
1	0.40230863	2.48565385	0.00237121
2	0.40103546	2.49354511	0.0055409
3	0.40036398	2.49772716	0.00721665
4	0.39912629	2.50547264	0.01031286
5	0.39806065	2.51218	0.01298637
6	0.39817197	2.51147762	0.01270674
7	0.39594593	2.52559735	0.01831307
8	0.39513208	2.53079931	0.02037065
9	0.39479196	2.53297967	0.02123181
10	0.39353019	2.54110109	0.02443295
11	0.39256104	2.54737455	0.02689871
12	0.39122995	2.55604155	0.03029526

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

**Tabla 19-2.** Resultados de la validación del equipo referente a la determinación de la velocidad de fermentación

<b>TIEMPO, h</b>	<b>CONCENTRACIÓN SOLIDOS, %</b>	<b>DENSIDAD DE LA SOLUCIÓN, g/mL</b>	<b>CONCENTRACIÓN SOLIDOS, g/MI</b>	<b>CONCENTRACIÓN SACAROSA, mol/L</b>	$dC_{ST}$ , mol/L	$dt$ , h	$r_f$ , mol/L*h
0	8.073	1.02744776	0.08294454	0.24232242	-	-	-
1	7.820	1.026588	0.08027918	0.23453557	-0.00266536	1	-0.00266536
2	7.430	1.025262	0.07617697	0.22255096	-0.00410222	1	-0.00410222
3	7.290	1.024786	0.0747069	0.21825616	-0.00147007	1	-0.00147007
4	7.309	1.02484973	0.07490363	0.21883092	0.00019673	1	0.00019673
5	7.250	1.02465	0.07428713	0.21702978	-0.00061651	1	-0.00061651
6	7.161	1.02434745	0.07335367	0.21430269	-0.00093346	1	-0.00093346
7	7.144	1.02428843	0.07317165	0.21377092	-0.00018202	1	-0.00018202
8	7.180	1.024412	0.07355278	0.2148844	0.00038113	1	0.00038113
9	7.070	1.02403636	0.07239444	0.21150031	-0.00115834	1	-0.00115834
10	7.027	1.02389135	0.07194749	0.21019453	-0.00044696	1	-0.00044696
11	7.010	1.02383509	0.07177413	0.20968806	-0.00017336	1	-0.00017336
12	6.987	1.02375621	0.07153109	0.20897802	-0.00024304	1	-0.00024304

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE ANÁLISIS Y RESULTADOS

#### 3.1. Diseño

#### 3.2. Cálculos

##### 3.2.1. Dimensionado del equipo

###### 3.2.1.1. Determinación del diámetro interno del reactor

$$(3.1) \quad D_r = \sqrt[3]{\frac{4 * (0,1)}{\pi}}$$

$$D_r = 0,51m$$

###### 3.2.1.2. Determinación de la altura del reactor

$$(1.2.) \quad h_t = D_r$$

$$h_t = 0,51m$$

Para favorecer la adecuada operación del equipo se considera que en la altura de las paredes verticales del reactor se adicione un factor de seguridad igual 30%, se obtiene:

$$h_r = h_t + h_{fs} \quad (3.3)$$

###### 3.2.1.3. Aplicación del factor de seguridad

$$(3.3) \quad h_{fs} = 30\% (h_r)$$

$$h_{fs} = 30\% (0,51)$$

$$h_{fs} = 0,153 m$$

$$(3.4) \quad h_r = h_t + h_{fs}$$

$$h_r = 0,51m + 0,153m$$

$$h_r = 0,66m$$

#### 3.2.1.4. Determinación del volumen máximo del reactor

$$V_{max} = \pi * \left(\frac{0,51m}{2}\right)^2 * 0,66m$$

$$V_{max} = 0,14m^3$$

### 3.2.2. Dimensionamiento del sistema de mezclado

#### 3.2.2.1. Diámetro total de las paletas

$$(1.4) \quad D_a = \frac{D_r}{3}$$

$$D_a = \frac{0,51m}{3}$$

$$D_a = 0,17m$$

#### 3.2.2.2. Altura de las paletas desde el fondo del reactor hasta la mitad de las laminas

$$(1.5) \quad H = D_a$$

$$D_r = 0,17m$$

#### 3.2.2.3. Ancho de las paletas

$$(1.6) \quad W = \frac{D_a}{5}$$



$$W = \frac{0,17}{5}$$

$$W = 0,04m$$

#### 3.2.2.4. Largo de las paletas

$$(1.7) \quad L = \frac{D_a}{4}$$

$$L = \frac{0,17}{4}$$

$$L = 0,05m$$

#### 3.2.2.5. Ancho de las placas deflectoras

$$(1.8) \quad \frac{J}{D_r} = \frac{1}{12}$$

$$J = \frac{0,51}{12}$$

$$J = 0,04m$$

### 3.2.3. Cámara de calefacción

#### 3.2.3.1. Diámetro de la chaqueta de calentamiento

$$(3.8) \quad D_c = D_r + 0,3 * D_r$$

$$D_c = 0,51 + (0,3 * 0,51)$$

$$D_c = 0,66m$$

### 3.2.3.2. Espesor de la cámara de calentamiento

$$(1.9) \quad E_c = \frac{D_c - D_r}{2}$$

$$E_c = \frac{0,66 - 0,51}{2}$$

$$E_c = 0,075m$$

### 3.2.3.3. Altura de la cámara de calentamiento

$$h_c = h_r + E_c \quad (3.14)$$

$$h_c = 0,66 + 0,075$$

$$h_c = 0,74m$$

### 3.2.3.4. Calculo del volumen total del reactor

$$(3.11) \quad V_t = \pi * \left(\frac{D_c}{2}\right)^2 * h_c$$

$$V_t = \pi * \left(\frac{0,66}{2}\right)^2 * 0,74$$

$$V_t = 0,25 m$$

### 3.2.3.5. Calculo del volumen de la cámara de calentamiento

$$(3.12) \quad V_c = V_t - V_{max}$$

$$V_c = 0,25 - 0,14$$

$$V_c = 0,11m^3$$

### 3.2.4. Determinación experimental de la velocidad de reacción de la fermentación

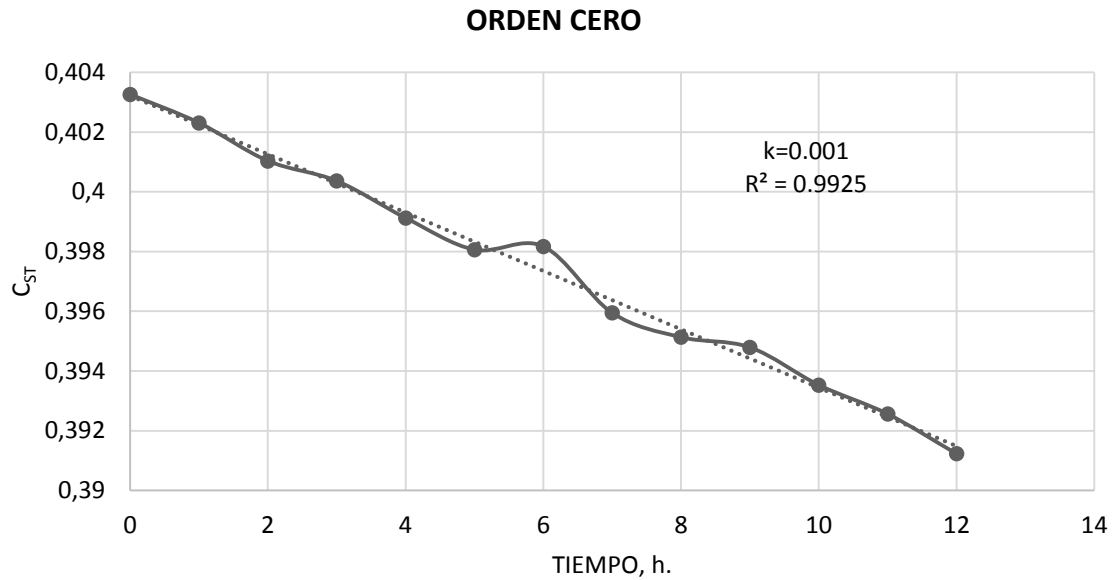


Figura 4-3. Ensayo para la ecuación cinética de orden cero.

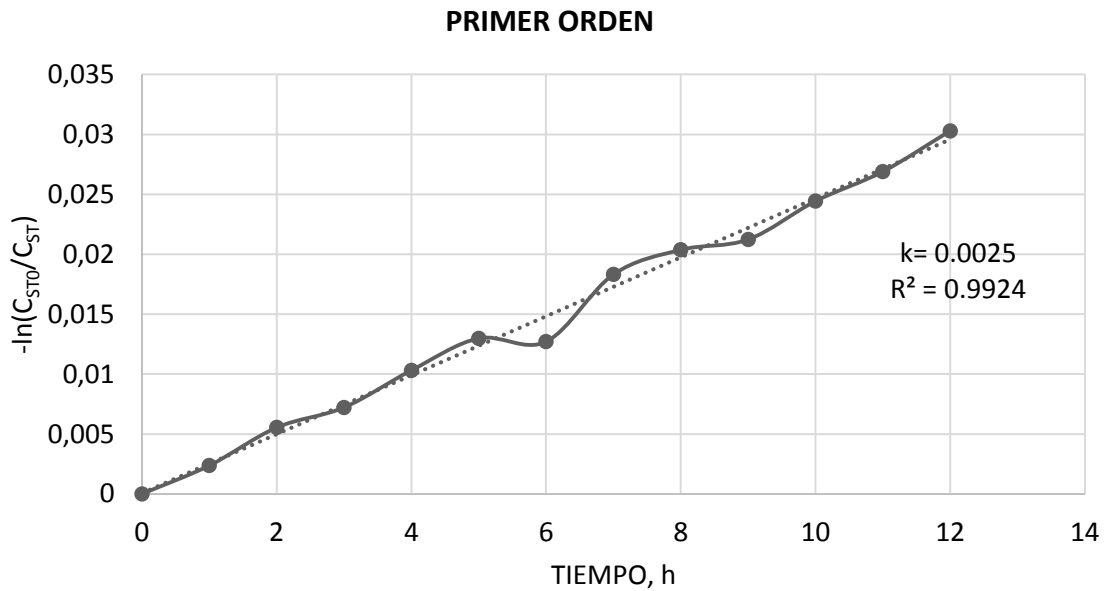
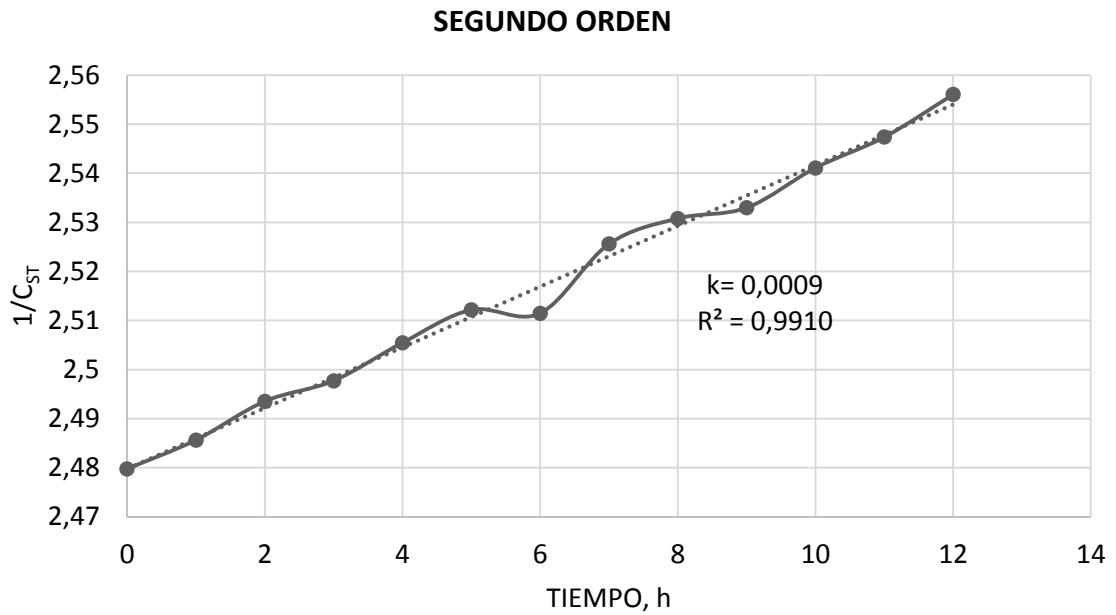


Figura 5-3. Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.

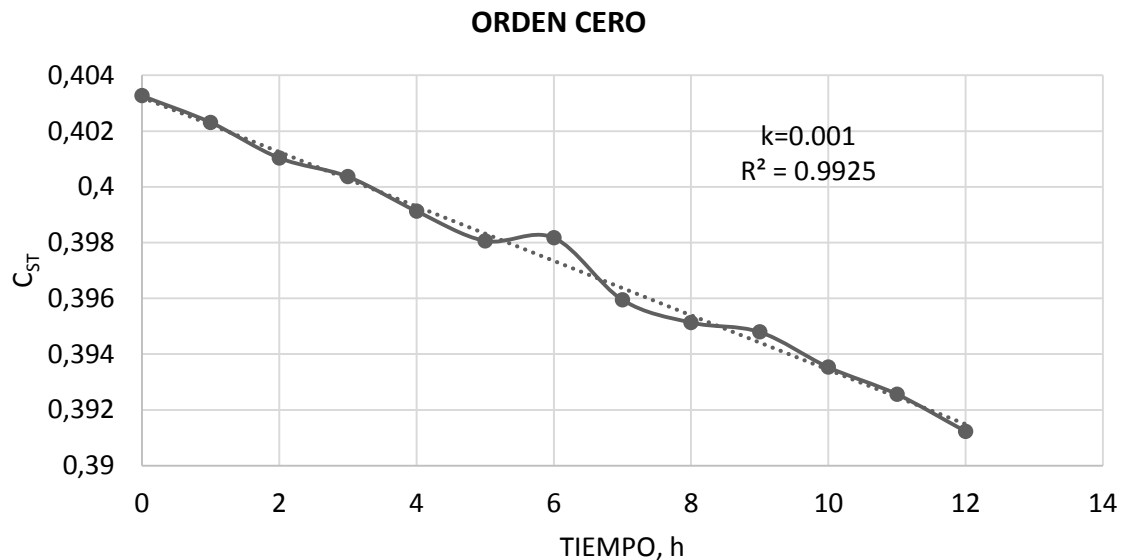


**Figura 6-3.** Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.

Considerando los coeficientes de determinación de cada ensayo se determinó que el orden de reacción de fermentación experimental es igual a 0, por ende el valor de la constante de velocidad (k) es igual a 0,001. La ecuación cinética se traduce a:

$$-r_f = 0.01C_{ST}^0$$

### 3.2.5. Determinación de ecuación cinética de la reacción de fermentación en el equipo



**Figura 7-3.** Ensayo para la ecuación cinética de orden cero.

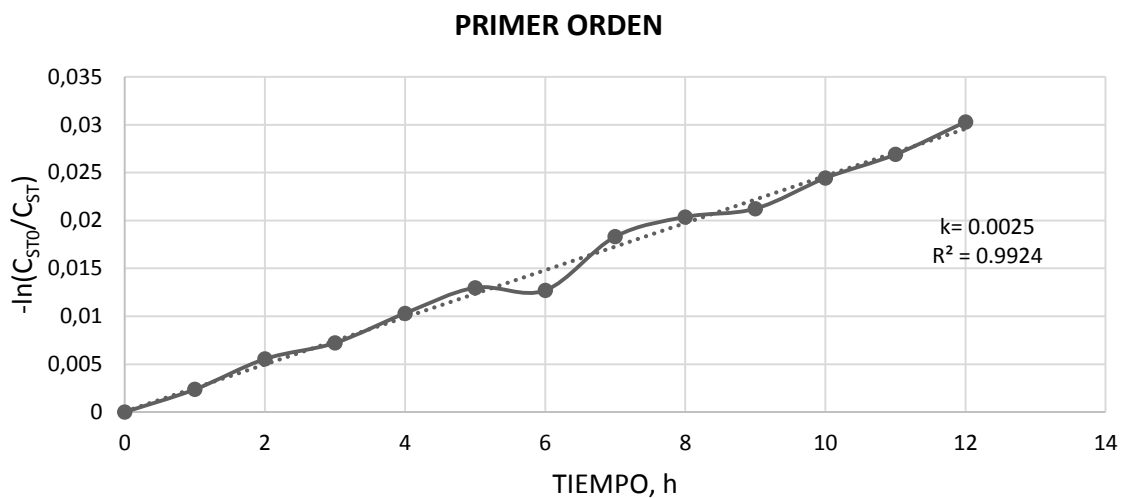


Figura 8-3. Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.

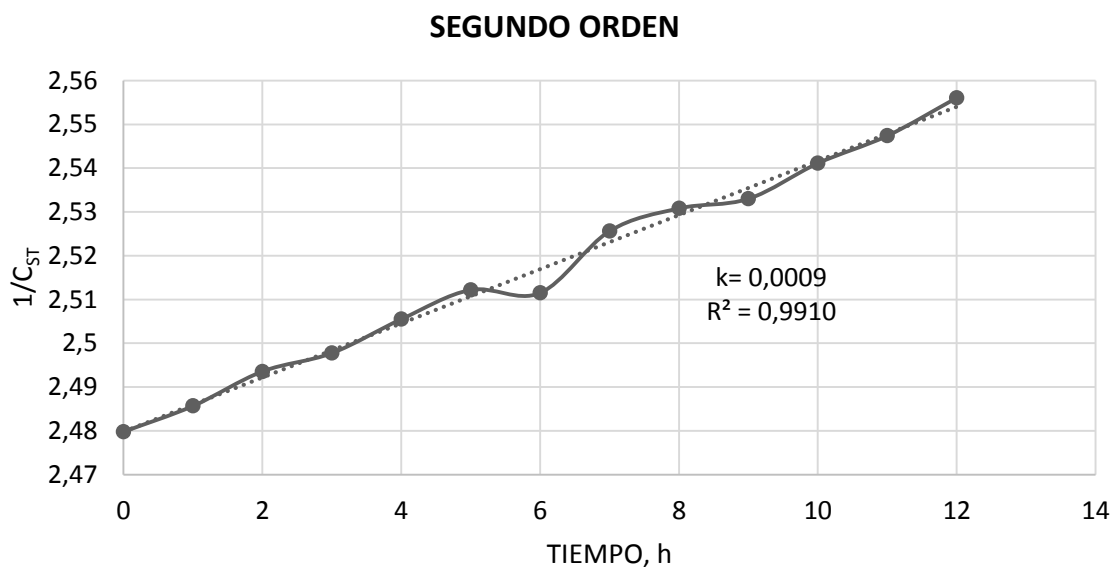


Figura 9-3. Ensayo para la ecuación cinética de primer orden.

En función al mayor coeficiente de determinación se estableció que el orden y la constante de velocidad de reacción, formulándose la ecuación cinética de reacción para la fermentación dentro del equipo:

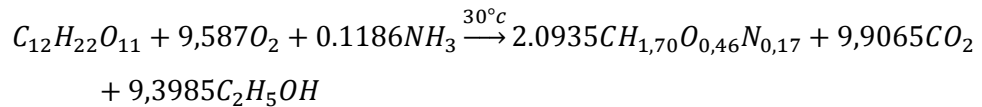
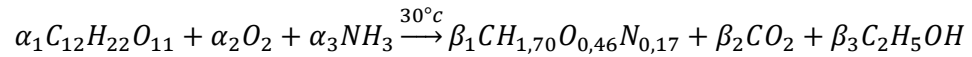
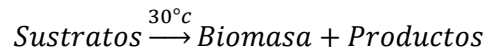
$$-r_f = 0.01C_{ST}^0$$

### 3.3. Determinación del tiempo de residencia

$$(3.18) \quad \tau = \frac{C_{ST_0} - C_{ST_f}}{r_f}$$

$$\tau = 6.49h$$

### 3.4. Balance de materia



$$f_{C_{12}H_{22}O_{11}} = V * r_f \quad (3.19)$$

$$f_{C_{12}H_{22}O_{11}} = 100L * 0,001 \text{ mol}/L * h$$

$$f_{C_{12}H_{22}O_{11}} = 1 \text{ mol}/h$$

$$f_{C_{12}H_{22}O_{11}} = 1 \text{ mol}/h * \frac{342,29265g C_{12}H_{22}O_{11}}{1 \text{ mol} C_{12}H_{22}O_{11}} = 342,29265 \text{ g}/h C_{12}H_{22}O_{11}$$

$$f_{O_2} = 306,5926 \text{ g} / h$$

$$f_{NH_3} = 2,0162 \text{ g / h}$$

$$f_{CH_{1,70}O_{0,46}N_{0,17}} = 49,062 \text{ g/h}$$

$$f_{CO_2} = 435,66588 \text{ g / h}$$

$$f_{C_2H_5OH} = 169,079 \text{ g / h}$$

Tabla 20-3. Corrientes de alimentación y descarga en el equipo.

TIPO DE CORRIENTE	COMPONENTE	FLUJO, g/h	FLUJO, Kg/h
Alimentación	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,29265	0.34
	$O_2$	306,5926	0.31
	$NH_3$	2,0162	0.00
Descarga	$CH_{1,70}O_{0,46}N_{0,17}$	49,062	0.05
	$CO_2$	435,66588	0.44
	$C_2H_5OH$	169,079	0.17

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

### 3.5. Balance energético

#### 3.5.1. Determinación del régimen de flujo

$$N_{RE} = \frac{\rho N d^2}{\mu}$$

$$N_{RE} = \frac{995,71 \text{ kg/m}^3 * 0,33 \text{ 1/s} * (0,17\text{m})^2}{0,000798 \text{ kg/m} * \text{s}}$$

$$N_{RE} = 11899,857$$

$$P = k \rho N^3 d^5$$

$$P = 1,70 * 995,71 * (0,33)^3 * (0,17)^5$$

$$P = 0,008687 W$$

$$\varepsilon = \frac{P}{P_c} * 100 \quad (3.22)$$

$$P_c = \frac{P}{\varepsilon} * 100$$

$$P_c = \frac{1,008687W}{80} * 100$$

$$P_c = 0,010W$$

### 3.5.2. *Determinación del calor consumido*

$$Q_{ca} = Q_{pe}$$

### 3.5.3. *Determinación del calor perdido*

$$Q_{pe} = 2\pi kH \frac{(T_i - T_e)}{\ln(r_e/r_i)}$$

$$Q_{pe} = 2 * 3,1416 * 15,1 W/K * m * 0,51m \frac{(286k - 303k)}{\ln(0,256m/0,255m)}$$

$$Q_{ca} = Q_{pe} = 208776W$$

### 3.5.4. *Calculo de la energía total suministrada al equipo*

$$E = Q_{pe} + P_c$$

$$E = 208776W + 0,010W$$

$$E = 208776,01W = 208,77601KW$$



## **2.2. Resultados**

Como principal resultado de la presente investigación se obtuvo la implementación del equipo para fermentación de mosto ha obtenido a partir de la remolacha, el cual está dispuesto bajo el diagrama enlistado en la figura 8, el mismo que tiene una capacidad nominal de 100 litros por carga, logrando fermentar un mosto de remolacha (preparado con 14% de agua, 200 g de sulfato de amonio y 200 g de levadura activa), a una temperatura de operación de 20°C con una velocidad de fermentación de  $-0,00095 \text{ mol/L} \cdot \text{h}$  de sacarosa.

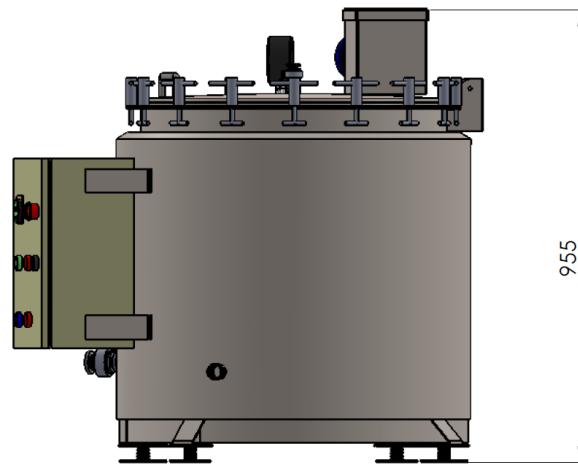
Considerando además una eficiencia del 80% (en función a la cantidad de sacarosa que se desea transformar en alcohol etílico y restantes sub-productos de fermentación) el equipo debe operar con un tiempo de residencia de 6.49h lográndose la eficiencia deseada.

## CAPITULO IV

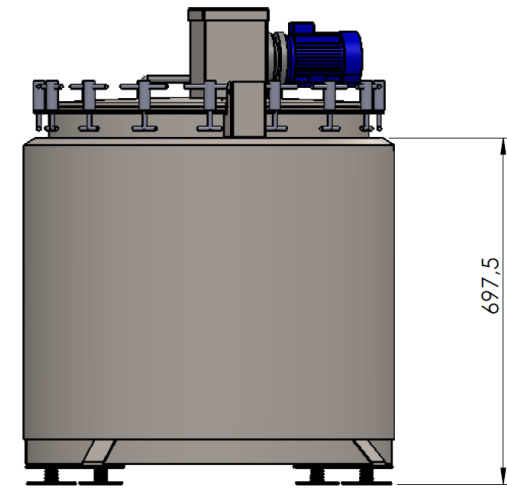
### 4. PROPUESTA

Dentro de la propuesta se establece el proceso para la obtención de etanol a partir de remolacha con la utilización del equipo objeto de estudio de la presente investigación.

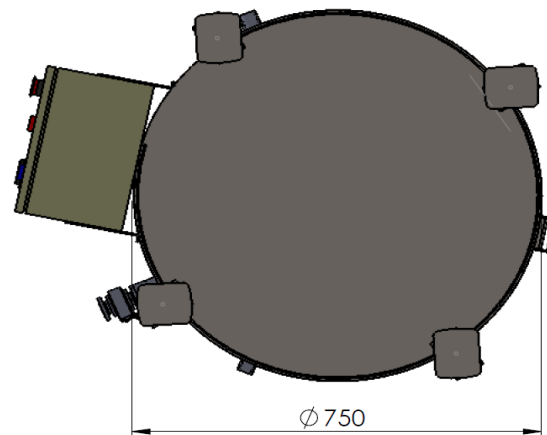
El principal resultado de la experimentación lo comprenden el equipo diseñado bajo el modelamiento especificado en base a los objetivos y el sistema de producción de alcohol a base de un mosto de remolacha inoculado con levadura (*saccharomyces cerevisiae*). El equipo posee como principales componentes los especificados en el cuadro 23.



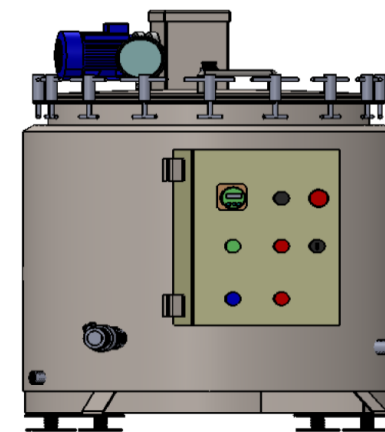
VISTA FRONTAL



VISTA LATERAL DERECHA



VISTA PLANTA



VISTA AUXILIAR

Figura 10. Diagrama del equipo para fermentación de mosto obtenido a partir de remolacha.

**Tabla 21-4.** Propuesta del proceso de obtención de alcohol a partir de la remolacha con la utilización del equipo de fermentación.

ETAPA	OPERACIÓN	CONDICIONES
Preparación del zumo	Para la preparación del mosto se debe extraer el zumo de remolacha azucarera <i>Beta vulgaris L.</i> para obtener un volumen de zumo de 86 L. el zumo debe ser preparado por licuefacción de remolacha previamente lavada y cortada los tallos y cualquier imperfección, posteriormente tamizada para retener la fracción de sólidos de tamaño considerable. Todas las operaciones se deben realizar en condiciones asépticas y con materiales previamente lavados para asegurar la inocuidad del producto.	--
Preparación del mosto	Para la preparación del mosto se debe adicionar a los 86 litros de zumo de remolacha previamente preparados 14 litros de agua para obtener la concentración de sólidos deseada, el agua debe estar previamente tratada para asegurar la inocuidad del producto. La mezcla del agua y el zumo de remolacha se puede realizar en el equipo, previamente a el lavado del mismo.	Concentración de sólidos entre 11 a 12%
Inoculado del mosto	Una vez adicionado el agua en conjunto con el zumo de remolacha se procede a adicionar la levadura activada (200 g de levadura sólida disuelta en agua a 30 °C hasta eliminar la totalidad de grumos) mas 200 g de sulfato de amonio como agente bioestimulante.	30°C
Fermentación del mosto	Para la fermentación del mosto se debe cerrar el equipo con la tapa hermética procurando que los empaques no se dañen, ajustar los tornillos de sujeción evitando el sobreesfuerzo de los mismos para limitar los daños internos por la dilatación de los mismos. Posteriormente se conecta el equipo, se enciende el mismo y se configura para que la temperatura se mantenga en 30°C. Para lograr fermentar el 80% de la sacarosa se debe mantener un tiempo de fermentación de 7 horas por carga.	20°C
Rectificación del producto	Para incrementar el grado alcohólico y la pureza del producto de la fermentación se debe realizar una destilación fraccionada hasta el grado alcohólico deseado.	En función del grado alcohólico deseado en el rectificado

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

Tabla 22-4. Componentes principales del equipo

<b>COMPONENTE</b>	<b>NUMERO</b>	<b>FUNCIÓN</b>	<b>IMPORTANCIA SOBRE EL PROCESO</b>
Cuerpo de fermentación	1	Contener el mosto en fermentación para que se produzca la transformación de las azúcares de la remolacha en alcohol y los correspondientes sub-productos	Alta
Tapa de fermentación	1	Mantener la presión del fermentador en el valor especificado. Aislar el cuerpo de fermentación del medio por la parte superior del mismo. Sirve de soporte para el sistema de agitación	Media
Camisa de calefacción	1	Sirve como sistema de calentamiento para mantener el cuerpo de calefacción y si contenido en el rango de temperatura ideal para la fermentación	Alta
Sistema de agitación	1	Mantener la agitación y mezcla de manera continua y permite que los componentes del mosto en fermentación se encuentren en una composición homogénea en todas las zonas del fluido.	Alta
Sistema de control electrónico	1	Permite accionar el sistema de mezclado y mantener la homogeneidad en la intensidad del mezclado durante el lapso de fermentación. Controlar los accionadores y calefactores del sistema de calefacción para regular la temperatura del mosto	Alta
Sistema de descarga	1	Permite la descarga del contenido del fermentador para la obtención de los productos. Regular la salida de los productos en caso que se quiera experimentar con un sistema de flujo continuo.	Media

Fuente: Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015

#### 4.1. Análisis y discusión de resultados

Dentro de la discusión de los resultados se puede detallar que el equipo fue diseñado y construido bajo las especificaciones determinadas experimentalmente, donde se consideró tomar los valores de control de las variables de proceso más óptimos, buscando que los microorganismos se encuentren en condiciones favorables para su desarrollo (temperatura, presión, concentración de sustratos y nutrientes y agitación), condiciones cuya idoneidad fue evaluada al comparar las condiciones de operación y resultados del equipo con las condiciones de operación y resultados registrados del proceso experimental que sirvió como proceso piloto y base para los cálculos de diseño. Por lo cual podemos inferir que el sistema de producción de etanol a partir de la remolacha con la aplicación del equipo diseñado es eficiente en cuanto a que al aplicar el equipo en la fermentación se logran velocidades de fermentación mayores a las obtenidas de forma experimental, aplicando las mismas variables de proceso. Como principal resultados se obtuvo el equipo de fermentación de mosto de remolacha para la obtención de etanol, el cual fue diseñado para operar en condiciones que se determinaron experimentalmente, en las cuales se proyectó que el equipo procesaría la sacarosa (azúcar representativa de la remolacha) a una velocidad de reacción de  $-0,0003 \text{ mol/L}\cdot\text{h}$ , bajo una temperatura de operación de  $30^{\circ}\text{C}$ , lográndose transformar el 80% de la sacarosa en productos de fermentación con un tiempo de residencia de 10,75 h. Una vez construido e implementado el equipo se procedió a la validación del mismo, para lo que se replicó las condiciones de fermentación que se utilizó en la determinación de la velocidad experimental, determinándose que la velocidad de reacción promedio a la cual opera el equipo es igual a  $-0,0009 \text{ mol/L}\cdot\text{h}$ .

Los componentes del equipo fueron construidos en función a las especificaciones establecidas en los cálculos, en los cuales se buscó mantener las condiciones de operación homogéneas, los que implica un incremento en la estabilidad del desarrollo microbiano de las especies que transforman las azúcares en alcohol, manteniéndose el consumo de sustrato constante y elevando la velocidad de reacción.

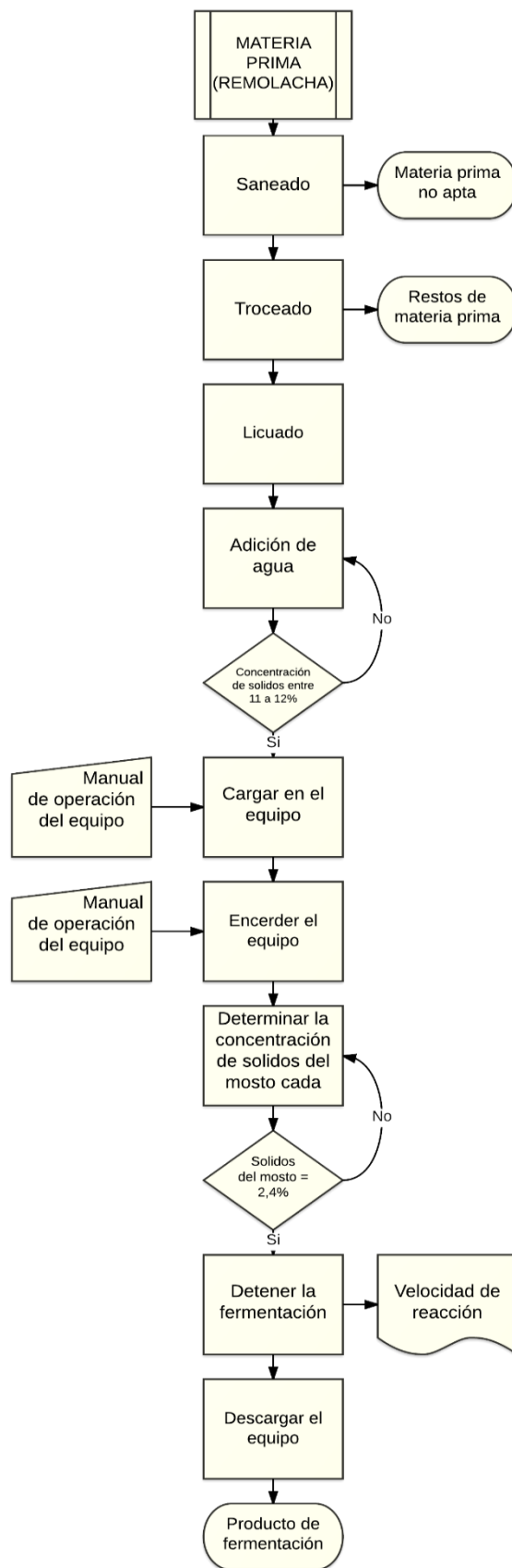


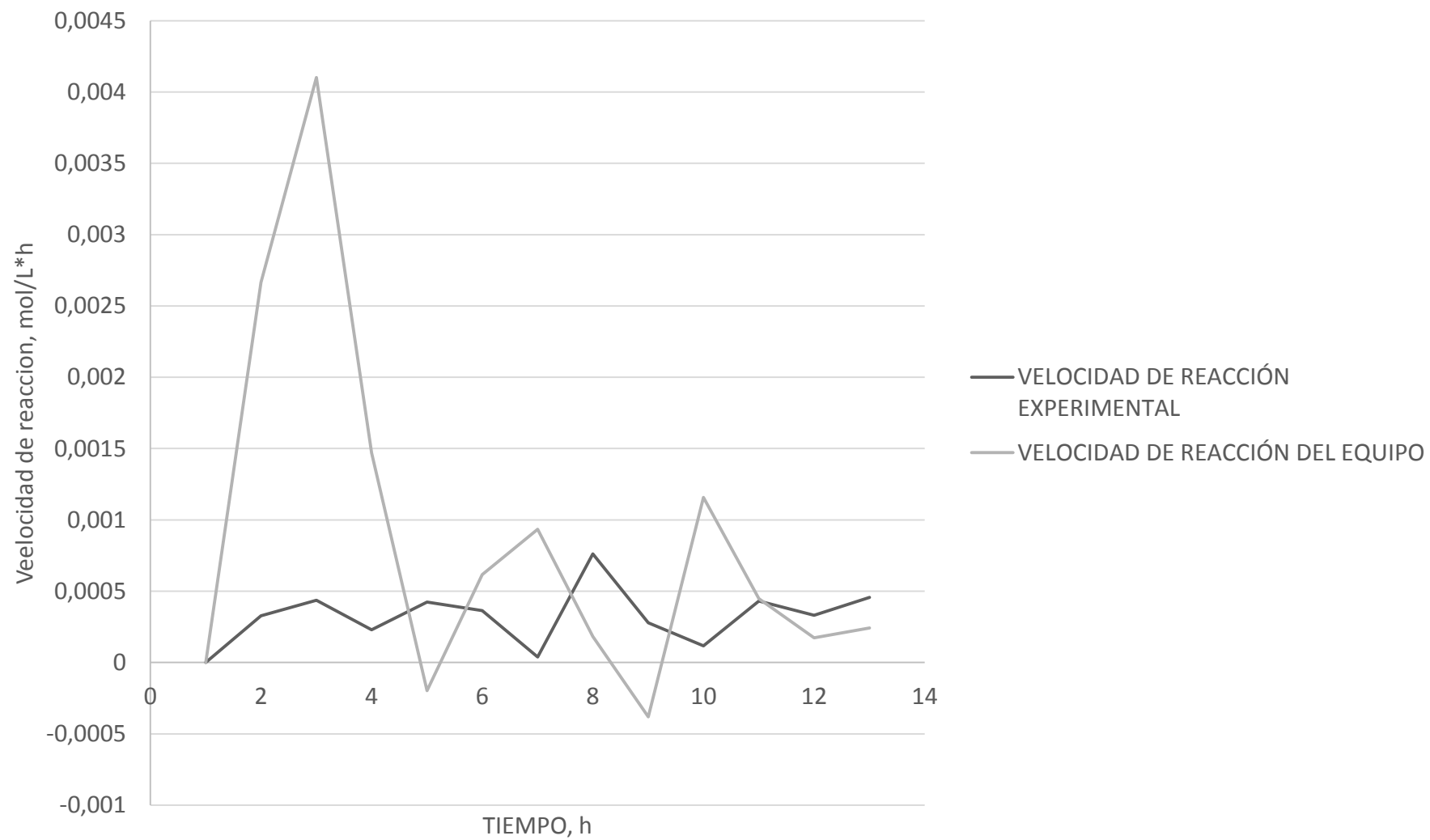
Figura 11-4. Diagrama del proceso de fermentación.

**Tabla23-3.** Datos comparativos entre la velocidad de reacción experimental y la que registro el equipo en la validación de la fermentación de la remolacha.

<b>TIEMP O, h</b>	<b><math>C_{ST}</math> EXPERIMENTAL, mol/L</b>	<b><math>r_f</math> EXPERIMENTAL, mol/L*h</b>	<b><math>C_{ST}</math> EXPERIMENTAL, mol/L</b>	<b><math>r_f</math> EQUIPO, mol/L*h</b>
1	0,40326372	-	0,24232242	-
2	0,40230863	0,00032692	0,23453557	0,00266536
3	0,40103546	0,0004358	0,22255096	0,00410222
4	0,40036398	0,00022984	0,21825616	0,00147007
5	0,39912629	0,00042365	0,21883092	- 0,00019673
6	0,39806065	0,00036476	0,21702978	0,00061651
7	0,39817197	3,8105E-05	0,21430269	0,00093346
8	0,39594593	0,00076195	0,21377092	0,00018202
9	0,39513208	0,00027857	0,2148844	- 0,00038113
10	0,39479196	0,00011642	0,21150031	0,00115834
11	0,39353019	0,00043189	0,21019453	0,00044696
12	0,39256104	0,00033173	0,20968806	0,00017336
13	0,39122995	0,00045562	0,20897802	0,00024304

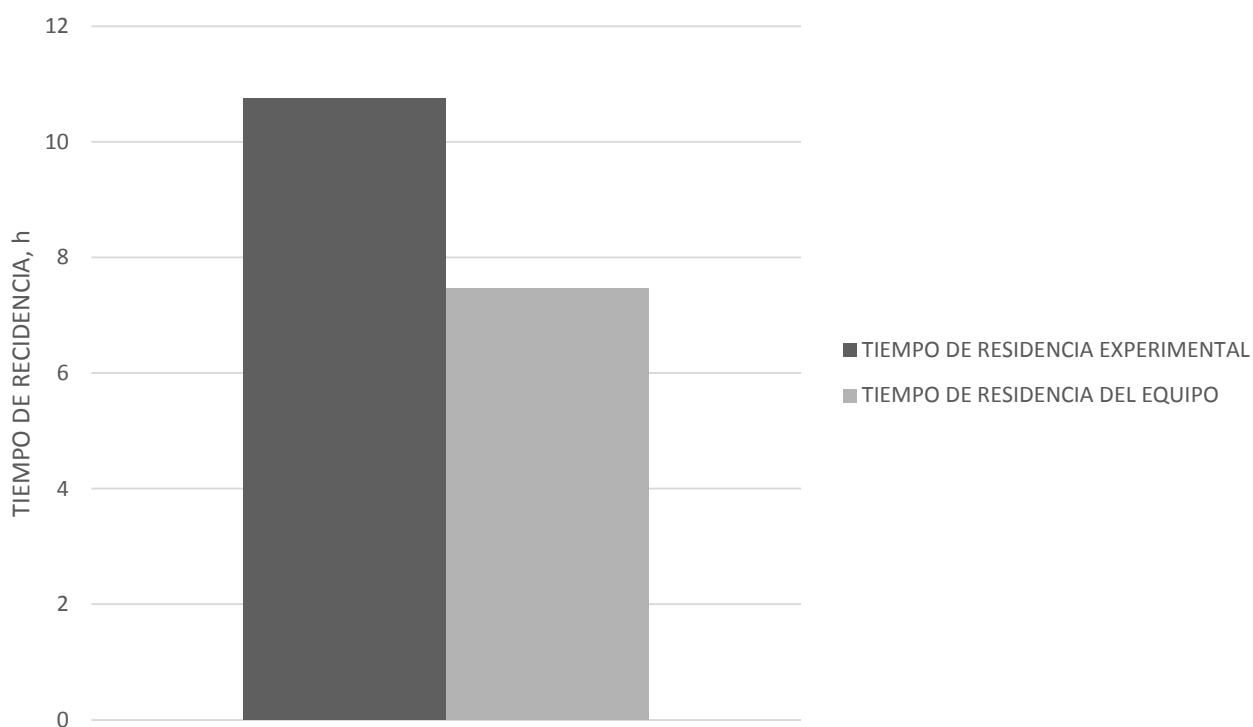
**Fuente:** Moyano, A; Quisingo, O., Lab. Procesos Ind. 2015





**Figura 12-4.** Velocidad de reacción experimental frente a la velocidad de reacción del equipo.

Al comparar la velocidad de fermentación experimental con la velocidad de reacción a la cual opera el equipo se evidencia que el mismo transforma las materias primas e insumos en productos y residuos a una mayor velocidad que la determinada experimentalmente aplicando las mismas condiciones de operación como se ilustra en el cuadro 23 y en la figura 10. En vista a que el equipo supera la velocidad de reacción esperada la cual se proyectó experimentarme el tiempo de residencia del equipo necesario para transformar el 80% de la sacarosa es inferior al tiempo necesario para transformar en la misma proporción la sacarosa del mosto procedente de la remolacha que se determinó experimentalmente, como se ilustra en la figura 10.



**Figura 13-4.** Tiempo de residencia experimental frente al tiempo de residencia del equipo necesario para transformar el 80% de la sacarosa del mosto.

La superioridad en la capacidad de operación que presenta el equipo en la fermentación del mosto de remolacha frente a los datos experimentales se debe principalmente a que el equipo presentó una mayor homogeneidad en la temperatura de operación, la cual debió mantenerse lo más próxima a 30°C para asegurar la fermentación a un régimen continuo, lo que se traduce en una mayor producción, mayor reproducibilidad de los resultados, menor tiempo de operación, menor consumo energético y menor control frente a la obtención del producto de manera experimental.

## CONCLUSIONES

Al finalizar el trabajo de investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se diseñó un equipo para la producción de alcohol a partir de la remolacha, el cual tiene una capacidad máxima de 100 L, de operación tipo Bach.
- Se formuló las cantidades requeridas de materia prima (remolacha 86%) e insumos (agua 14%, sulfato de amonio 200g y levadura activa 200g), tomando en cuenta una temperatura de operación de 30° C con una velocidad de agitación de 20 RPM.
- Se realizó la validación del equipo, obteniendo como producto final de la fermentación y su posterior destilación un alcohol con una concentración del 75 % en volumen (°GL).
- Se implementó el equipo construido bajo las directrices determinadas en el dimensionamiento, utilizando materiales resistentes y componentes de control adecuados para alcanzar una garantía del equipo de 5 años, el cual fue previsto en el laboratorio de Operaciones Unitarias en la Facultad de Ciencias.

## **RECOMENDACIONES**

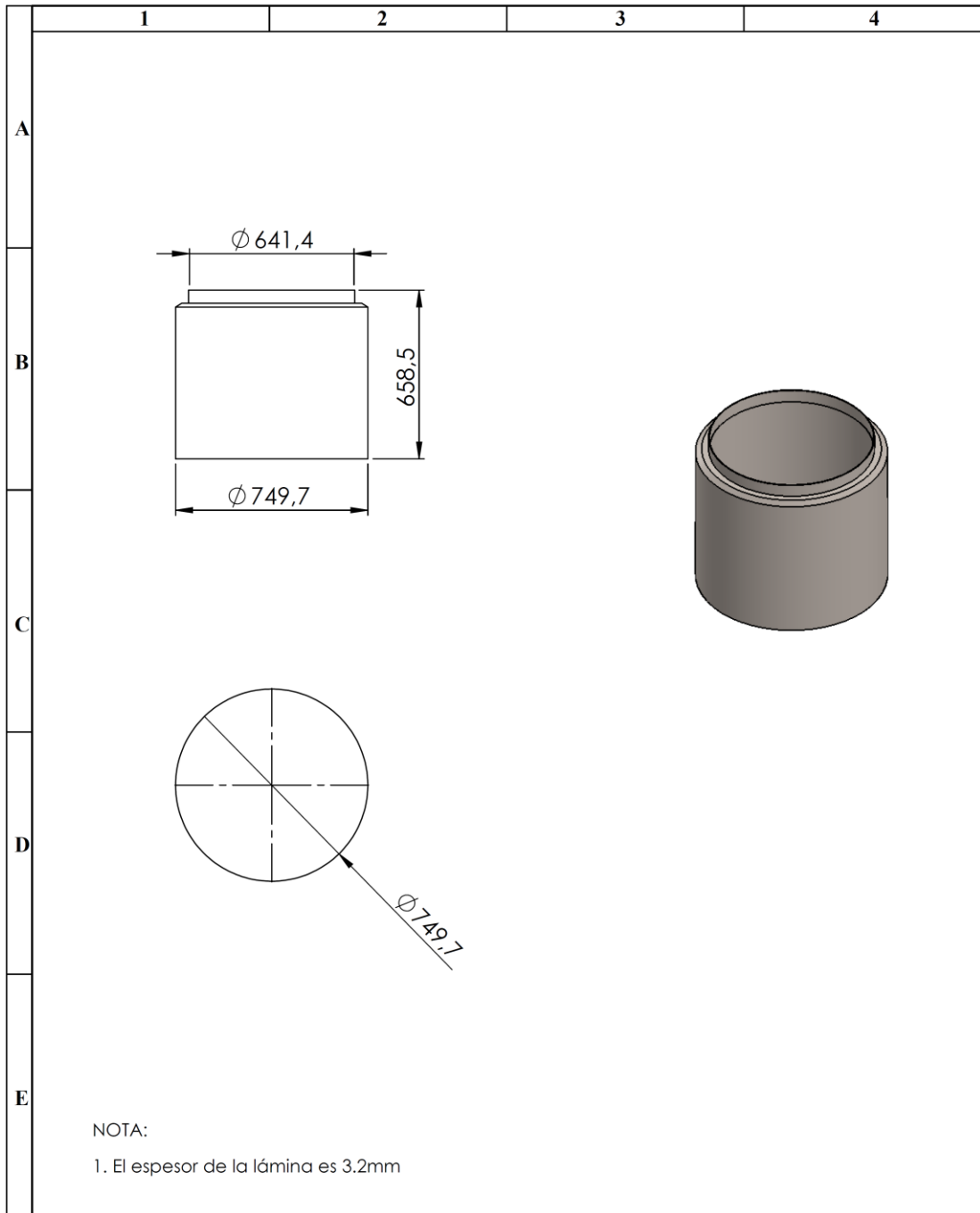
- Replicar los resultados obtenidos se recomienda repetir los protocolos de producción establecido en la propuesta, los cuales aseguran la obtención de los resultados expuestos.
- Realizar el adecuado mantenimiento preventivo al equipo, el cual consiste principalmente en la limpieza de las partes expuestas al producto o a corrientes de materias primas e insumos en cada carga y la lubricación de rodamientos, ejes y engranajes con los que dispone la caja del motorreductor y el motor, solo así se cumplirá con la garantía de 5 años.
- Ejecutar la investigación y desarrollo tecnológico del proceso de obtención de alcohol para generar un producto con valor agregado para incentivar en el desarrollo industrial de la remolacha.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **AGRONEGOCIOSECUADOR.** *Agronegocioecuador.com.ec* Disponible en:  
[http://agronegocioecuador.ning.com/notes/La\\_sierra\\_se\\_colorea\\_con\\_la\\_re\\_molacha](http://agronegocioecuador.ning.com/notes/La_sierra_se_colorea_con_la_re_molacha)
2. **Guarnizo, A.** *Química General*. Armendia: Elizcom. pp. 442-465
3. **INCROPERA, P., & DeWITT, P.** *Fundamentos de la Transferencia de Calor*. México D.F.: Prentice Hall. pp. 333-354
4. **LEVENSPIEL, O.** *Ingeniería de las reacciones químicas*. Mexico D.F.: Limusa. pp. 215-230
5. **LOCANTO.** [Consulta: 15-12-2014]. *El clima en Riobamba*. Disponible en:  
<http://riobamba.locanto.com.ec/clima/>
6. **LOS ALIMENTOS.** [Consulta: 12-10-2014]. Disponible en:  
<http://alimentos.org.es/carbohidratos-remolacha>
7. **McCABE, W., & SMITH, J. P.** *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*. Madrid: McGraw-Hill. pp. 370-400
8. **ROMERO, J. (1999).** *Potabilización del agua*. Mexico D.F.: Alfaomega. pp. 245-280
9. **SCHLEGEL, G.** *Microbiología general*. Barcelona: Omega. pp. 231-260
10. **SEVERICHE, S.** [Consulta: 24-11-2014]. *EUMED.NET*. Obtenido de Enciclopedia y Biblioteca Virtual de las Ciencias Sociales, Económicas y Jurídicas: Disponible en:  
<http://www.eumed.net/libros-gratis/2013a/1326/#indice>

11. **SILVA, B., & TOAPANTA, D. (2011).** *Elaboración de vino de remolacha a partir de dos variedades (beta vulgaris), conditiva y macrohiza, utilizando dos endulzantes naturales stevia (stevia rebaudiana) y miel de abeja.*(Tesis de Pregrado). Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi.
12. **TITUANA, E. (2011).** *Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de remolacha azucarera forrajera (Beta vulgaris) en el cantón Quito, provincia de Pichincha.*(Tesis de Pregrado) Quito: Universidad San Francisco De Quito.
13. **UNIVERSIDAD DE SEVILLA.** *Biblioteca de Ingeniería.* [Consulta: 23-08-2014].  
Disponible en:  
<http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/20005/fichero/1.Memoria%252F1.7.pdf>
14. **Universidad Nacional del Sur.** *Reactores Químicos Y Biológicos.* [Consulta: 05-11 2014]. Disponible en: <http://www.criba.edu.ar/cinetica/reactores/Capitulo8.htm>
15. **VaxaSoftwar.** *VaxaSoftwar.* [Consulta: 23-02-2015] Disponible en:  
[http://www.vaxasoftware.com/doc\\_edu/qui/viscoh2o.pdf](http://www.vaxasoftware.com/doc_edu/qui/viscoh2o.pdf)
16. **ZUMBADO, H.** *Análisis Químico de los Alimentos.* La Habana:Universidad da la Habana. pp. 11-154

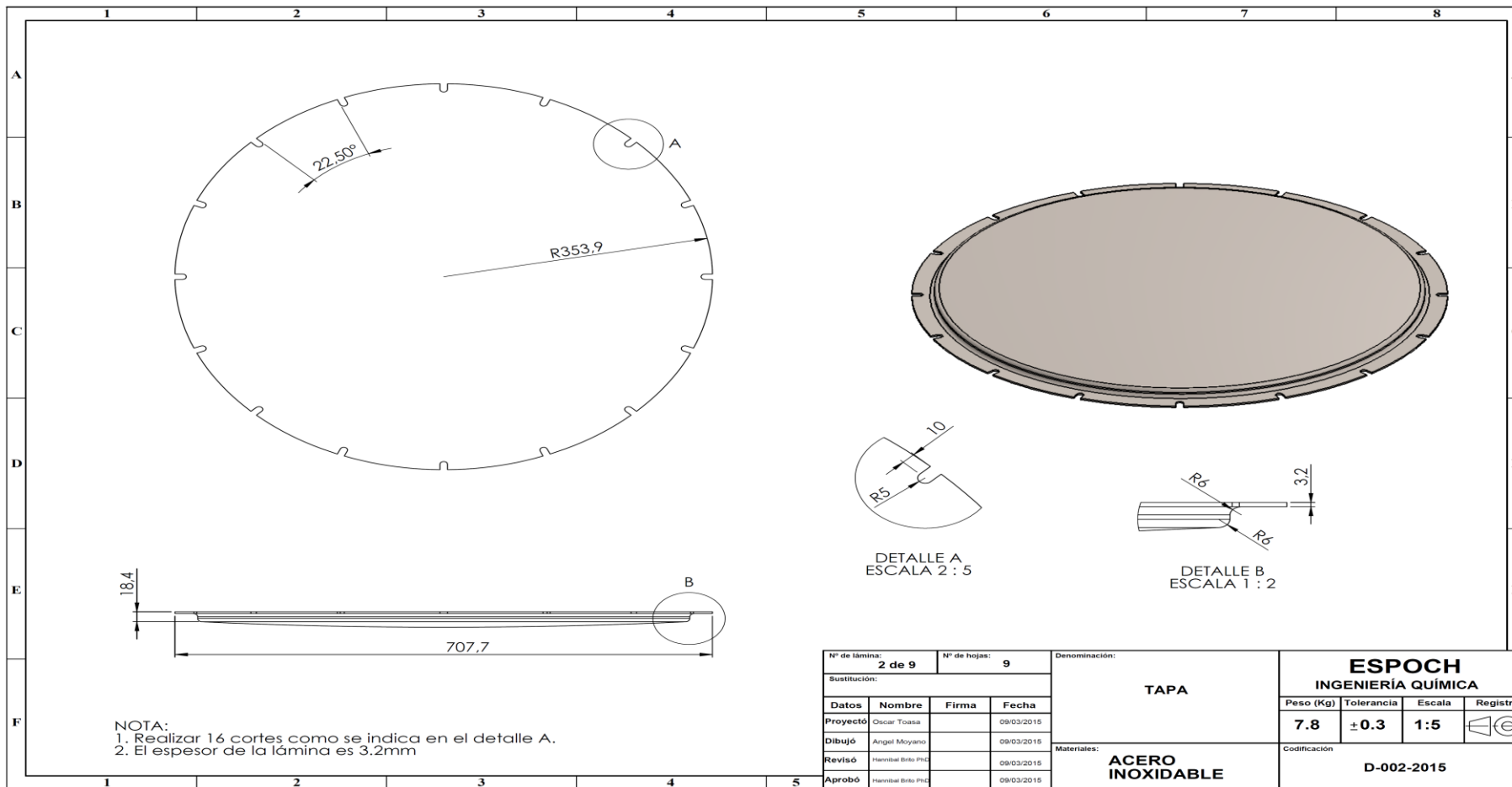
Anexo A. PLANO DEL CUERPO DEL FERMENTADOR



NOTA:  
1. El espesor de la lámina es 3.2mm

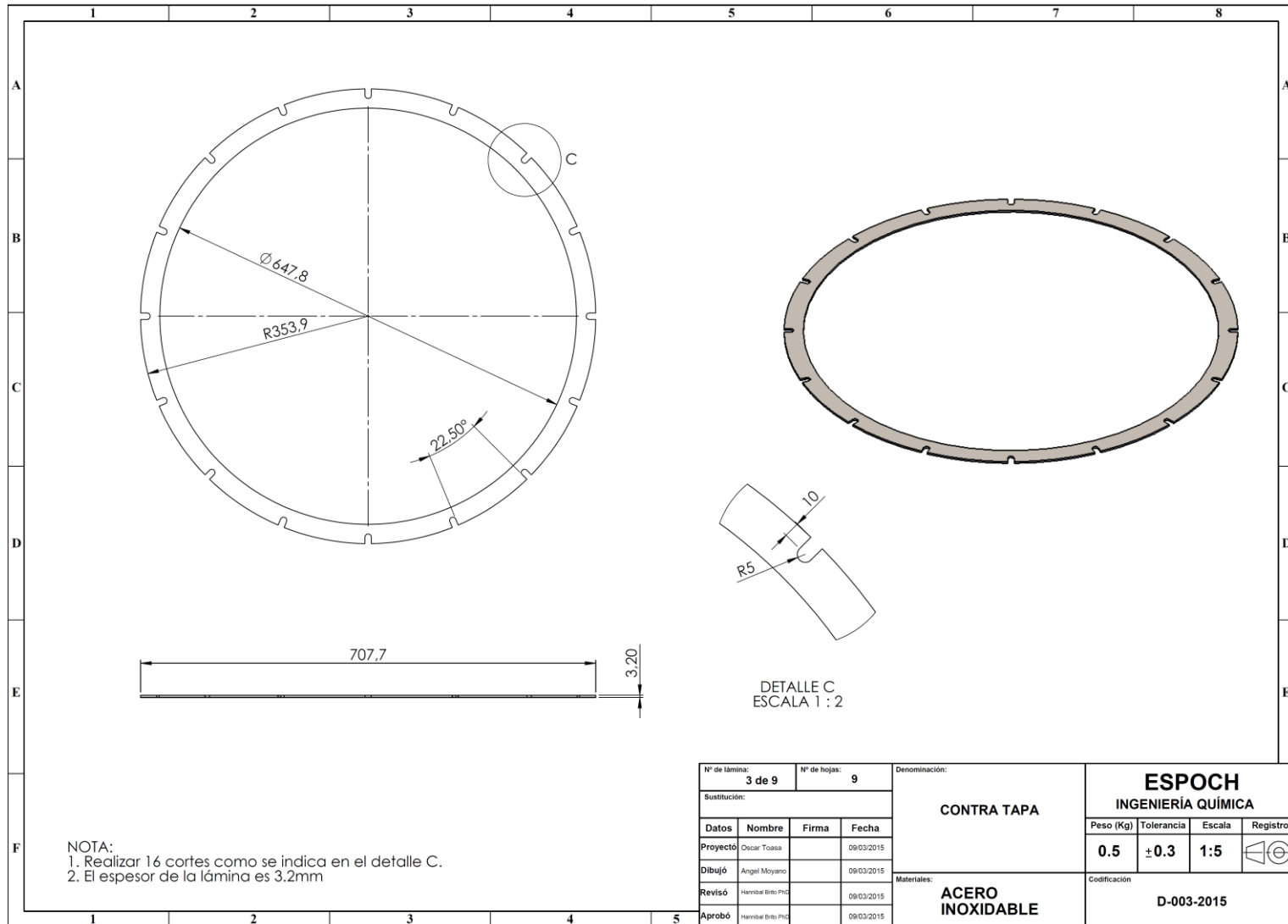
N° de lámina: <b>1 de 9</b>		N° de hojas: <b>9</b>		Denominación:		<b>ESPOCH</b>				
Sustitución:				<b>CUERPO</b>		<b>INGENIERÍA QUÍMICA</b>				
<b>Datos</b>	<b>Nombre</b>	<b>Firma</b>	<b>Fecha</b>			<b>Peso (Kg)</b>	<b>Tolerancia</b>	<b>Escala</b>	<b>Registro</b>	
Proyectó	Oscar Toasa		09/03/2015	<b>Materiales:</b> <b>ACERO INOXIDABLE</b>		<b>6.6</b>	<b>±0.3</b>	<b>1:20</b>	☞ ⊕	
Dibujó	Angel Moyano		09/03/2015			<b>Codificación</b> <b>D-001-2015</b>				
Revisó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015							
Aprobó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015							

Anexo B. PLANO DE LA TAPA DEL FERMENTADOR





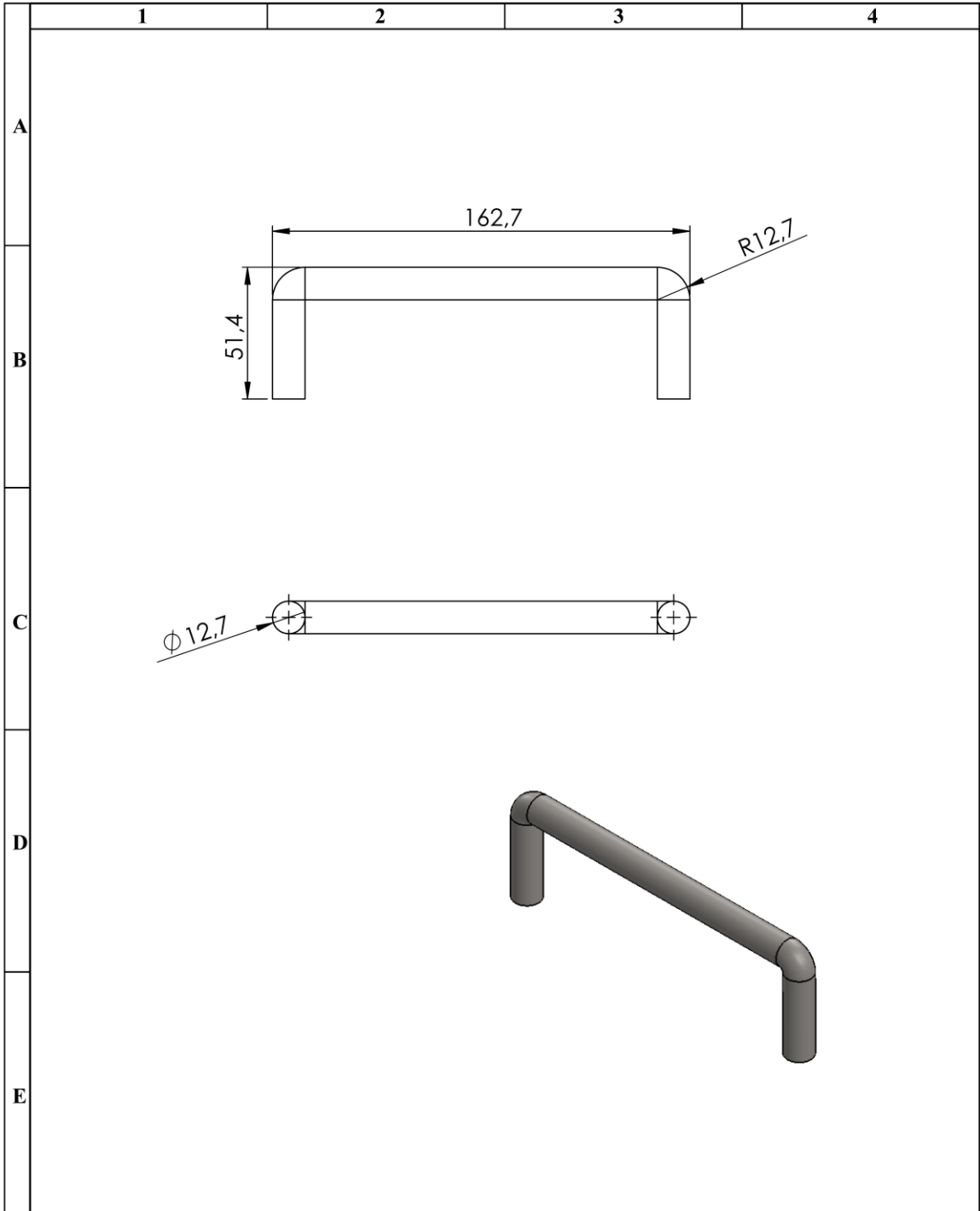
Anexo C. PLANO DE LA CONTRA TAPA DEL FERMENTADOR



NOTA:  
 1. Realizar 16 cortes como se indica en el detalle C.  
 2. El espesor de la lámina es 3.2mm

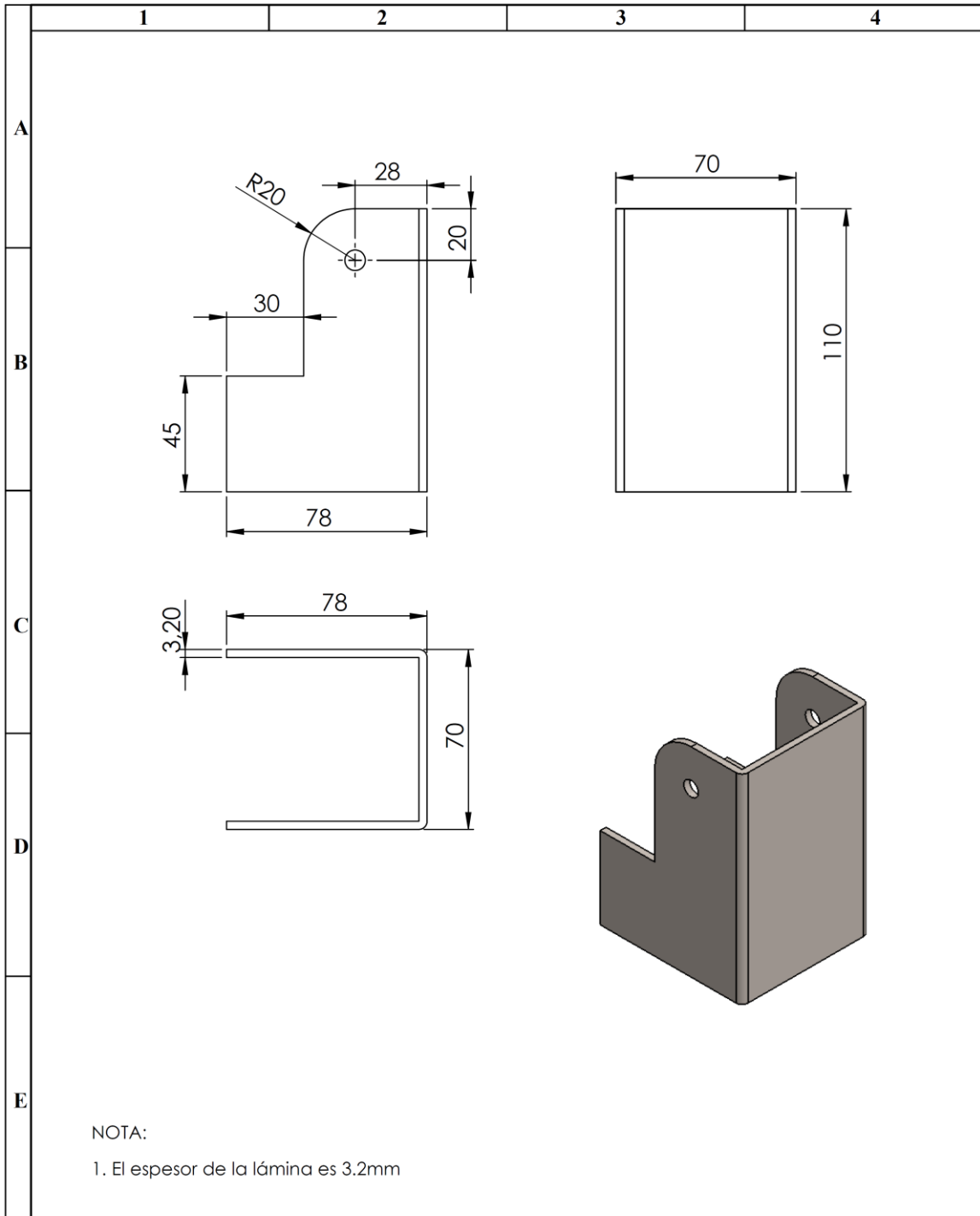
N° de lámina: 3 de 9		N° de hojas: 9		Denominación:			
Sustitución:				CONTRA TAPA		ESPOCH	
						INGENIERÍA QUÍMICA	
Datos	Nombre	Firma	Fecha	Peso (Kg)	Tolerancia	Escala	Registro
Proyecto	Oscar Toasa		09/03/2015	0.5	$\pm 0.3$	1:5	
Dibujó	Angel Moyano		09/03/2015	Materiales:		Codificación	
Revisó	Hanibal Brito Pico		09/03/2015	ACERO INOXIDABLE		D-003-2015	
Aprobó	Hanibal Brito Pico		09/03/2015				

Anexo D. PLANOS DE LA MANIJA DE TAPA DEL FERMENTADOR



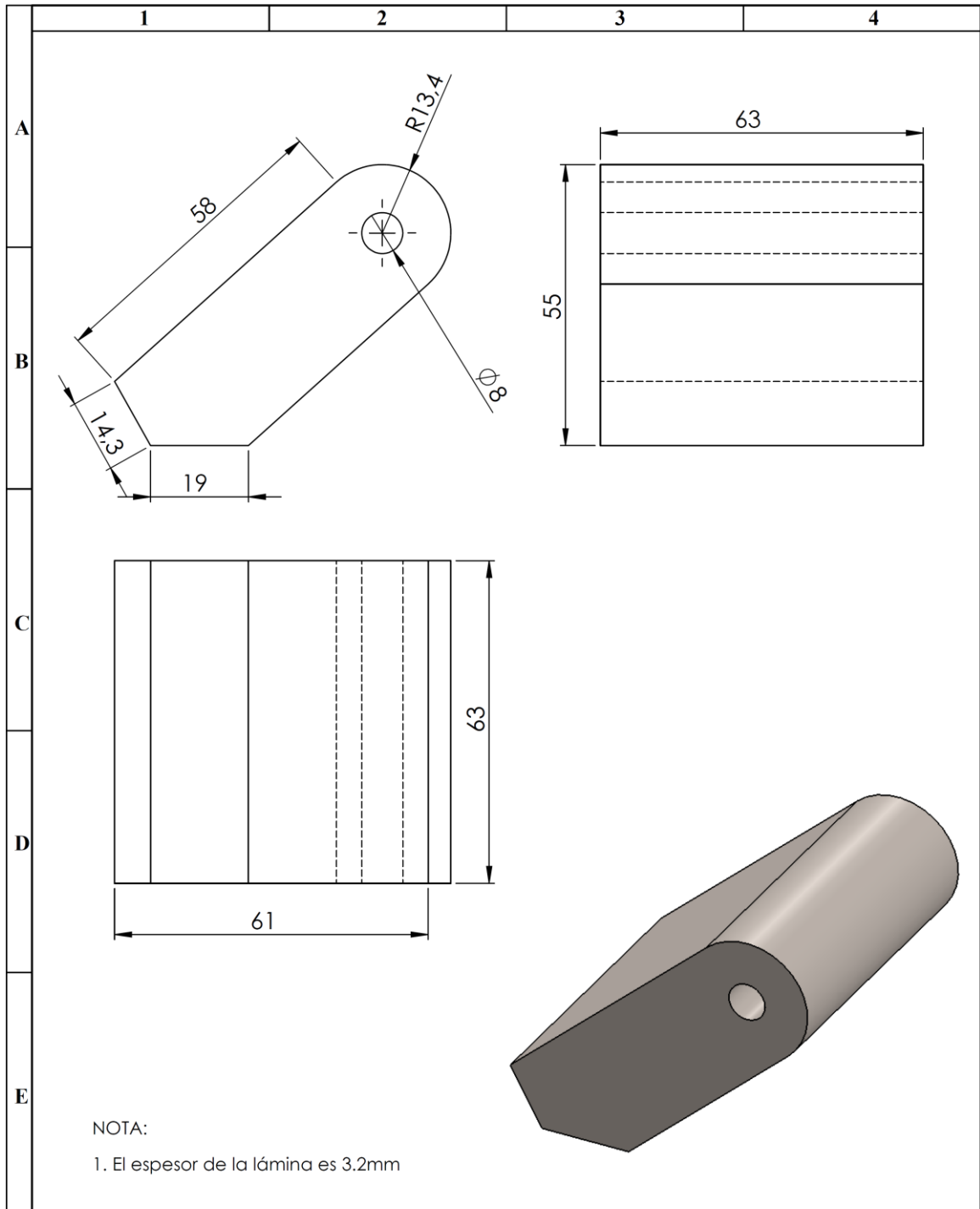
N° de lámina: <b>4 de 9</b>		N° de hojas: <b>9</b>		Denominación:		<b>ESPOCH</b>			
Sustitución:				<b>MANIJA</b>		<b>INGENIERÍA QUÍMICA</b>			
<b>Datos</b>	<b>Nombre</b>	<b>Firma</b>	<b>Fecha</b>			<b>Peso (Kg)</b>	<b>Tolerancia</b>	<b>Escala</b>	<b>Registro</b>
Proyectó	Oscar Toasa		09/03/2015			<b>0.3</b>	<b>± 0.3</b>	<b>1:2</b>	
Dibujó	Angel Moyano		09/03/2015			Materiales:		Codificación	
Revisó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015			<b>ACERO INOXIDABLE</b>		<b>D-004-2015</b>	
Aprobó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015						

Anexo E. PLANOS DE LA BISAGRA DE LA TAPA DEL FERMENTADOR



Nº de lámina: <b>5 de 9</b>		Nº de hojas: <b>9</b>		Denominación:  <b>BISAGRA</b>				<b>ESPOCH</b> <b>INGENIERÍA QUÍMICA</b>											
Sustitución:				Materiales:  <b>ACERO INOXIDABLE</b>				Peso (Kg)		Tolerancia		Escala		Registro					
<b>Datos</b>		<b>Nombre</b>						<b>Firma</b>		<b>Fecha</b>		<b>0.3</b>		<b>±0.3</b>		<b>1:2</b>			
Proyectó		Oscar Toasa								09/03/2015									
Dibujó		Angel Moyano								09/03/2015									
Revisó		Hannibal Brito PhD								09/03/2015									
Aprobó		Hannibal Brito PhD				09/03/2015													
				Codificación				<b>D-005-2015</b>											

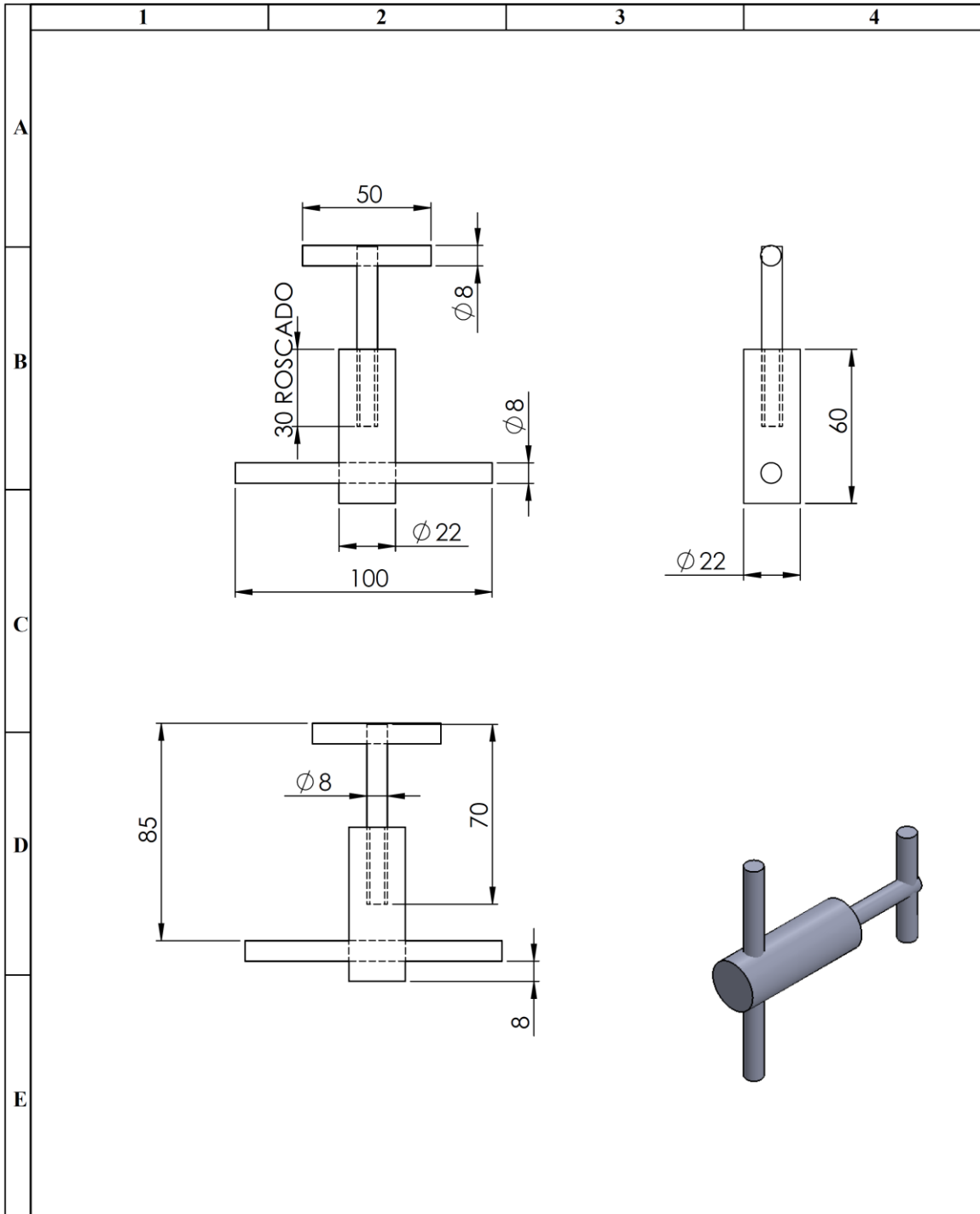
Anexo F. PLANO DE LA PLACA DEL FERMENTADOR



NOTA:  
1. El espesor de la lámina es 3.2mm

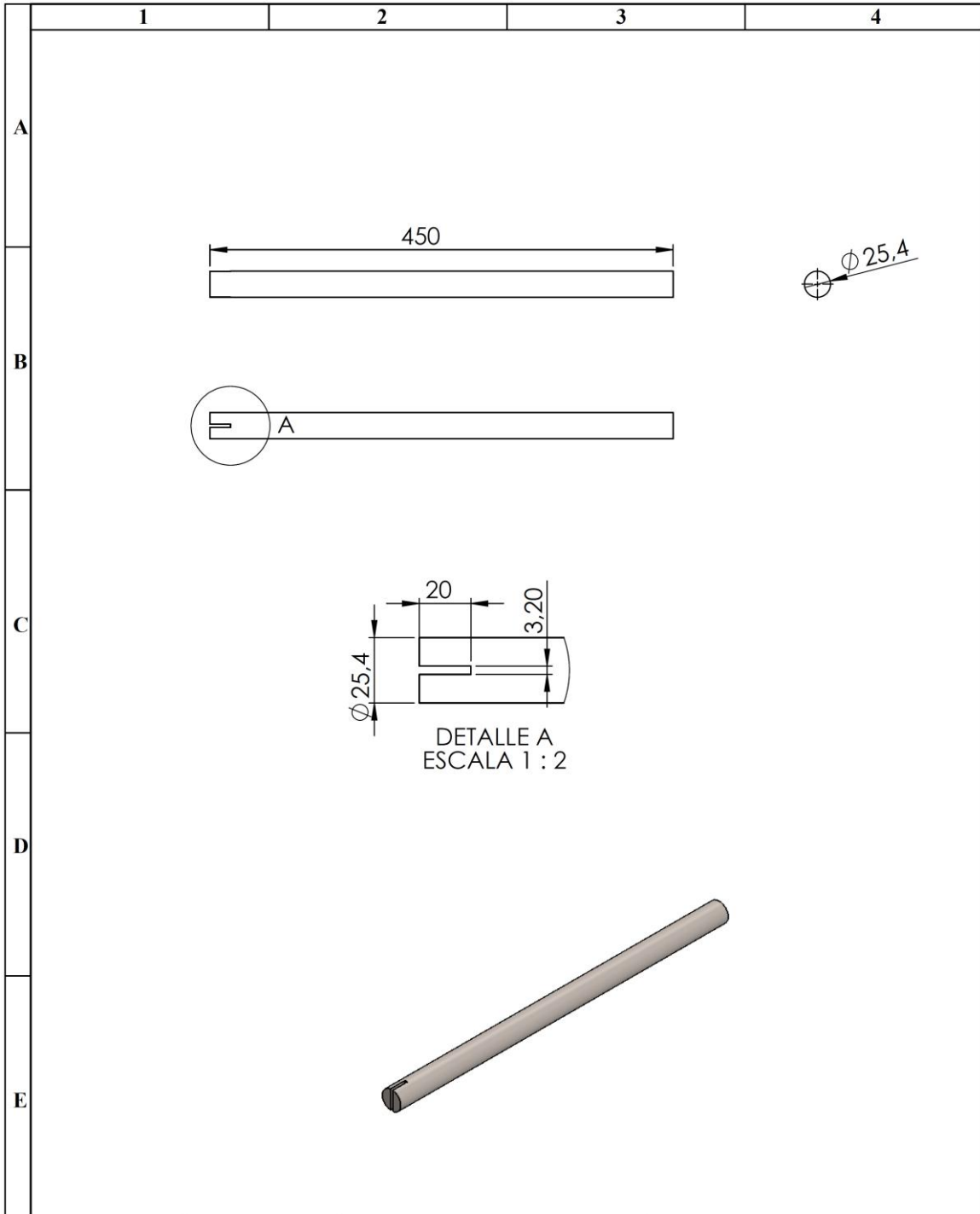
Nº de lámina: <b>6 de 9</b>		Nº de hojas: <b>9</b>		Denominación:					
Sustitución:				<b>PALANCA</b>		<b>ESPOCH</b> INGENIERÍA QUÍMICA			
<b>Datos</b>	<b>Nombre</b>	<b>Firma</b>	<b>Fecha</b>					<b>Peso (Kg)</b>	<b>Tolerancia</b>
Proyectó	Oscar Toasa		09/03/2015	<b>ACERO INOXIDABLE</b>		<b>0.3</b>	<b>±0.3</b>	<b>1:1</b>	
Dibujó	Angel Moyano		09/03/2015			Codificación			
Revisó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015			<b>D-006-2015</b>			
Aprobó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015						

Anexo G. PLANO DEL SUJETADOR DEL EQUIPO



N° de lámina: <b>7 de 9</b>		N° de hojas: <b>9</b>		Denominación: <b>SUJETADOR</b>		<b>ESPOCH</b> INGENIERÍA QUÍMICA			
Sustitución:				Materiales: <b>ACERO INOXIDABLE</b>		Peso (Kg)	Tolerancia	Escala	Registro
Datos	Nombre	Firma	Fecha			<b>0.1</b>	$\pm 0.3$	<b>1:2</b>	
Proyectó	Oscar Toasa		09/03/2015			Codificación <b>D-007-2015</b>			
Dibujó	Angel Moyano		09/03/2015						
Revisó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015						
Aprobó	Hannibal Brito PhD		09/03/2015						

Anexo H. PLANOS DEL EJE DEL SISTEMA DE AGITACIÓN DEL FERMENTADOR



N° de lámina: <b>8 de 9</b>		N° de hojas: <b>9</b>		Denominación:  <b>EJE</b>		<b>ESPOCH</b> <b>INGENIERÍA QUÍMICA</b>				
Sustitución:						Peso (Kg)		Tolerancia	Escala	Registro
<b>Datos</b>	<b>Nombre</b>	<b>Firma</b>	<b>Fecha</b>			<b>1.9</b>	<b>±0.3</b>	<b>1:2</b>		
<b>Proyectó</b>	Oscar Toasa		09/03/2015							
<b>Dibujó</b>	Angel Moyano		09/03/2015							
<b>Revisó</b>	Hannibal Brito PhD.		09/03/2015							
<b>Aprobó</b>	Hannibal Brito PhD.		09/03/2015	<b>Materiales:</b> <b>ACERO INOXIDABLE</b>		<b>Codificación</b> <b>D-008-2015</b>				

Anexo I. PLANOS DEL FERMENTADOR

