

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



**PROPUESTA DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA
FERMENTACIÓN SEMICONTINUA DE JUGO DE
FRUTOS ROJOS PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA
BEBIDA ALCOHÓLICA**

Trabajo de graduación en modalidad de trabajo de tesis presentado por

María Alejandra Rodríguez Castañeda

para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química

Guatemala,

2019

**PROPUESTA DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA
FERMENTACIÓN SEMICONTINUA DE JUGO DE
FRUTOS ROJOS PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA
BEBIDA ALCOHÓLICA**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



**PROPUESTA DE UN MODELO CINÉTICO PARA LA
FERMENTACIÓN SEMICONTINUA DE JUGO DE
FRUTOS ROJOS PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA
BEBIDA ALCOHÓLICA**

Trabajo de graduación en modalidad de trabajo de tesis presentado por

María Alejandra Rodríguez Castañeda

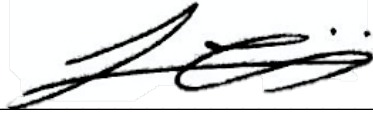
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química

Guatemala,

2019

Vo. Bo.:

(f)



(Ing. Luis Núñez)

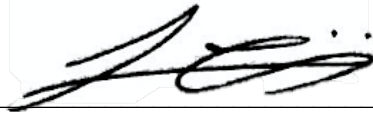
Tribunal Examinador:

(f)



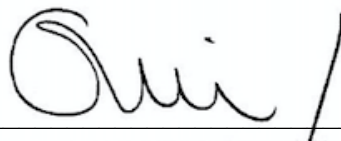
(Ing. Gabriel Zambrano)

(f)



(Ing. Luis Núñez)

(f)



(Ing. Cristián Rossi)

Fecha de aprobación: 5 de diciembre del 2019

PREFACIO

Agradecimientos:

A mi asesor, el ingeniero Luis Núñez y a la Licenciada Ana Luisa Mendizábal de Montenegro por sus consejos y orientaciones y por estar siempre disponibles en el momento adecuado, que ha sido imprescindible para poder realizar este trabajo.

Al Licenciado Luis Fajardo De León y al ingeniero Cristián Rossi por atenderme y poner a mi disposición toda la documentación y conocimientos.

A mis amigos Lourdes Orozco, Leonel Guerra, Alejandra Alvarez y Gabriela Zelada por empujarme a terminar este trabajo.

A mi madre, por ser un ejemplo de lucha constante, enseñarme a luchar por lo que uno quiere y a nunca rendirse a pesar de los obstáculos que se puedan poner en el camino y por ser el motor de toda mi familia.

A la Universidad del Valle de Guatemala por ser mi casa de estudios y permitirme cumplir una meta en mi vida de graduarme como Ingeniera Química.

ÍNDICE

LISTADO DE CUADROS.....	XII
LISTADO DE GRÁFICAS.....	XIV
LISTADO DE FIGURAS.....	XV
LISTADO DE REACCIONES.....	XIX
LISTADO DE ECUACIONES.....	XX
LISTADO DE CÁLCULOS.....	XXI
LISTADO DE CROMATOGRAMAS.....	XXII
RESUMEN.....	XXVIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
A. GENERALES.....	3
B. ESPECÍFICOS.....	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	4
IV. MARCO TEÓRICO.....	2
A. MATERIAS PRIMAS.....	2
1. LEVADURAS.....	2
2. FRESAS DE TIPO CARTUNO Y MADUREZ TIPO 6.....	4
3. MORAS DE VARIEDAD BRAZOS Y MADUREZ TIPO 6.....	5
4. ARÁNDANO OJO DE CONEJO CON GRADO DE MADUREZ 5.....	6
5. FRAMBUESA HERRITAGE TIPO 6.....	7
6. AZÚCARES BLANCA GRANULADA CAÑA REAL.....	7
A. PÉRDIDAS DE SACAROSA.....	8
B. PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS.....	8
1. ALCOHOL ETÍLICO.....	8
2. DIÓXIDO DE CARBONO.....	9

3.	METANOL.....	9
4.	ÁCIDO LÁCTICO	9
5.	ÁCIDO ACÉTICO	11
6.	ALCOHOL ISOPROPÍLICO	12
C.	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	12
D.	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA.....	13
1.	TEMPERATURA.....	13
2.	OXÍGENO	14
3.	ALCOHOL	14
4.	NUTRIENTES.....	14
5.	LOS COMPUESTOS QUÍMICOS DE ACCIÓN NEGATIVA	15
6.	PH.....	15
E.	MECANISMO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	15
1.	REACCIONES	17
2.	MECANISMO PARA FERMENTACIÓN.....	17
	PASO 1. PRODUCCIÓN DE FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATO.....	17
	PASO 2. GENERACIÓN DE GLICERALDEHÍDO-3-FOSFATO.....	18
	PASO 3. PRODUCTO INTERMEDIO 3-FOSFOGLICERATO.....	18
	PASO 4. GENERACIÓN DE PIRUVATO.....	19
	PASO 5. PRODUCCIÓN DE ETANOL	19
F.	PROCEDIMIENTO EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	20
1.	INFORMACIÓN BÁSICA SOBRE EL PROCESAMIENTO DE FRUTAS	20
2.	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	21
3.	CONTROL DE CALIDAD EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN.....	23
4.	BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA BPM.....	24
G.	BIORREACTOR	25
H.	CINÉTICA.....	26
1.	MICROORGANISMOS EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y CINÉTICA DE CRECIMIENTO CELULAR	26

2.	FASE LAG	27
3.	FASE EXPONENCIAL Y ESTACIONARIA	28
4.	FASE DE MUERTE.....	30
5.	MODELO DE MONOD.....	31
A.	EFEECTO DE LOS DESECHOS NOCIVOS	31
6.	TÉCNICAS DE LINEALIZACIÓN	32
A.	LINEWEAVER-BURK	32
B.	EADIE-HOFSTEE	33
C.	AGUSTINSON	34
I.	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	35
A.	REFRACTÓMETRO	35
J.	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS.....	36
1.	CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA.....	36
2.	CROMATÓGRAFO LÍQUIDO DE ALTA RESOLUCIÓN.....	36
K.	EQUIPOS ESPECIALES DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	37
L.	ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD.....	39
V.	ANTECEDENTES.....	40
A.	PRINCIPALES AZÚCARES EN LA FERMENTACIÓN DE FRUTOS ROJOS, SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA	40
1.	PARA LA FRESA	40
2.	PARA LA MORA.....	40
3.	PARA LA FRAMBUESA	41
4.	PARA EL ARÁNDANO	42
B.	PRODUCCIÓN DE VINO EN GUATEMALA	42
C.	NORMAS APLICABLES A LAS BEBIDAS FERMENTADAS.....	44
1.	AGUA	44
2.	BEBIDAS ALCOHÓLICAS.....	45
D.	LEVADURA LALVIN EC-1118.....	46

E.	LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	47
1.	EXPERIMENTOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	47
VI.	METODOLOGÍA	50
A.	EQUIPOS, REACTIVOS Y CRISTALERÍA	50
1.	CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS ROJOS Y JUGO	50
2.	PREPARACIÓN DE INÓCULO.....	50
3.	FERMENTACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA BEBIDA FERMENTADA.....	50
4.	VALIDACIÓN DE MÉTODO MUSE	51
B.	METODOLOGÍA GENERAL	51
1.	CARACTERIZACIÓN DE LOS FRUTOS ROJOS.....	51
2.	INÓCULO.....	52
3.	FERMENTACIÓN.....	52
4.	ANÁLISIS DE ALCOHOL MICROORGANISMOS Y AZÚCARES.....	53
5.	COMPARACIÓN DEL MÉTODO MUSE CON EL MÉTODO RIZHOBIA PARA CONTEO DE MICROORGANISMOS.....	53
C.	METODOLOGÍA POR OBJETIVO.....	53
1.	AZÚCARES FERMENTABLES	53
2.	CUANTIFICACIÓN DE ALCOHOLES.....	54
3.	MODELO MATEMÁTICO CON RESPECTO AL SUSTRATO	54
4.	CÉLULAS VIVAS Y TENDENCIA CON EL TIEMPO.....	54
VII.	RESULTADOS.....	55
VIII.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	60
IX.	CONCLUSIONES	67
X.	RECOMENDACIONES	69
XI.	BIBLIOGRAFÍA	70
XII.	ANEXOS	76
A.	DATOS ORIGINALES.....	76
B.	CÁLCULOS DE MUESTRA.....	87

1.	GENERALES.....	87
2.	CÁLCULOS PARA LA FASE DE CRECIMIENTO CELULAR.....	90
3.	CÁLCULOS PARA LA FASE DE DECRECIMIENTO CELULAR.....	93
C.	ANÁLISIS DE ERROR	94
D.	DATOS CALCULADOS	96
E.	FIGURAS	111
F.	CROMATOGRAMAS	126
1.	CROMATOGRAMAS PARA ALCOHOLES CON GC-FIS	126
2.	CROMATOGRAMAS PARA AZÚCARES CON HPLC	134
XIII.	GLOSARIO	145
XIV.	ABREVIATURAS.....	147

LISTADO DE CUADROS

CUADRO 1. COMPOSICIÓN DE LA MORA POR CADA 100G DE PORCIÓN COMESTIBLE	5
CUADRO 2. CICLO DEL CULTIVO DEL ARÁNDANO	6
CUADRO 3. PROPIEDADES FÍSICAS DEL ALCOHOL ETÍLICO.....	8
CUADRO 4. PROPIEDADES FÍSICAS DEL DIÓXIDO DE CARBONO	9
CUADRO 5. CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL HPLC	36
CUADRO 6. CLASIFICACIÓN GENERAL DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS SEGÚN LA NORMA MEXICANA NOM-142-SSA1/SCFI-2014.....	45
CUADRO 7. ESPECIFICACIONES DE LA BEBIDA FERMENTADA CON SUS LÍMITES DE ACUERDO A LA NORMA NOM-142-SSA1/SCFI-2014	45
CUADRO 8. CLASIFICACIÓN DE UN VINO O BEBIDA FERMENTADA SEGÚN SU CANTIDAD DE AZÚCARES RESIDUALES SEGÚN LA NORMA NOM-142-SSA1/SCFI-2014	46
CUADRO 9. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ENOLÓGICAS DE LA LEVADURA LALVIN EC-1118.....	46
CUADRO 10. DETERMINACIÓN DE AZÚCAR, DENSIDAD Y pH DE LOS JUGOS DE FRUTAS EMPLEADOS EN LA FORMULACIÓN DE CUATRO FRUTOS ROJOS PARA EL MOSTO FINAL A FERMENTAR	55
CUADRO 11. CONCENTRACIÓN DE AZÚCAR AGREGADA PARA TENER UN PRODUCTO COMERCIAL DE ACUERDO CON LA NORMA NOM-142-SSA1/SCFI-2014.....	55
CUADRO 12. VARIACIONES PROMEDIO DEL MODELO AL PREDECIR LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO, MICROORGANISMOS Y ETANOL EN FASE DE CRECIMIENTO A 28°C, EMPLEANDO LA CEPA LALVIN EC-1118	59
CUADRO 13. VARIACIONES PROMEDIO DEL MODELO AL PREDECIR LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO, MICROORGANISMOS Y ETANOL EN LA FASE DE DECRECIMIENTO CELULAR A 28°C, EMPLEANDO LA CEPA LALVIN EC-1118	59
CUADRO 14. ANÁLISIS DEL AGUA PROVENIENTE DEL FILTRO DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS	77
CUADRO 15. PROPIEDADES DEL JUGO DE FRAMBUESA	77
CUADRO 16. PROPIEDADES DEL JUGO DE MORA	78
CUADRO 17. PROPIEDADES DEL JUGO DE ARÁNDANOS.....	78
CUADRO 18. PROPIEDADES DEL JUGO DE FRESA.....	78
CUADRO 19. PROPIEDADES DEL JUGO A FERMENTAR	79
CUADRO 20. MICROORGANISMOS PRESENTES SEGÚN EL EQUIPO MUSE.....	79

CUADRO 21. ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA REALIZADA A CONDICIONES DE TEMPERATURA DE 28 °C Y AGITACIÓN DE 100 RPM DETECTADOS POR UN GC-FIS	81
CUADRO 22. AZÚCARES FERMENTABLES PRESENTES DURANTE TODA LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA REALIZADA A CONDICIONES DE TEMPERATURA DE 28 °C Y AGITACIÓN DE 100 RPM, DETECTADOS CON UN HPLC CON COLUMNA HI PLEX CA 300X7.8 MM Y UTILIZANDO COMO FASE MÓVIL AGUA.	84
CUADRO 23. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES DE CADA JUGO DE FRUTO ANALIZADO EN EL JUGO DE FERMENTACIÓN	96
CUADRO 24. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL JUGO	96
CUADRO 25. COMPARACIÓN DEL MÉTODO DE CONTEO DE MICROORGANISMOS CON EL MÉTODO MUSE	97
CUADRO 26. CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS CON LA CORRECCIÓN A UNA CONCENTRACIÓN DE MASA/VOLUMEN	97
CUADRO 27. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOLES CON CORRECCIÓN POR VOLUMEN UTILIZADO	98
CUADRO 28. APORTE DE TIEMPO EN LA FERMENTACIÓN DE LAS FASES DE CRECIMIENTO CELULAR .	101
CUADRO 29. TIEMPO PRODUCTIVO EN TODO EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA DE 15 L.	101
CUADRO 30. AJUSTES AL MODELO CINÉTICO EN LA FASE DE CRECIMIENTO.....	102
CUADRO 31. AJUSTES AL MODELO CINÉTICO EN LA FASE DE DECRECIMIENTO	102
CUADRO 32. PARÁMETROS DEL MODELO CINÉTICO EN LA FASE DE CRECIMIENTO	102
CUADRO 33. PARÁMETROS DEL MODELO CINÉTICO EN LA FASE DE DECRECIMIENTO.....	103
CUADRO 34. VARIABLES PARA DETERMINAR EL COMPORTAMIENTO DURANTE LA FASE DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS, SUSTRATO Y PRODUCTO	103
CUADRO 35. VARIABLES PARA DETERMINAR EL COMPORTAMIENTO DURANTE LA FASE DE DECRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS, SUSTRATO Y PRODUCTO	104

LISTADO DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1. CONCENTRACIÓN DE ETANOL CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BioFLO 415 OPERANDO A 28 °C Y 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO UNA CEPA LALVIN EC-1118	56
GRÁFICA 2. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BioFLO 415 OPERANDO A 28 °C Y 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO UNA CEPA LALVIN EC-1118.....	57
GRÁFICA 3. COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BioFLO 415 OPERANDO A 28 °C Y 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO UNA CEPA LALVIN EC-1118.....	58
GRÁFICA 4. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA AZÚCAR BLANCA GRANULADA.....	76
GRÁFICA 5. CURVA DE CALIBRACIÓN DE ETANOL CON GC	80
GRÁFICA 6. CURVA DE CALIBRACIÓN DE AZÚCARES CON HPLC.....	83
GRÁFICA 7. MICROORGANISMOS PRESENTES DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE UNA FORMULACIÓN DE FRUTOS ROJOS REALIZADA A CONDICIONES DE TEMPERATURA DE 28 °C Y AGITACIÓN DE 100 RPM UTILIZANDO UN CONTADOR DE CÉLULAS MUSE	85
GRÁFICA 8. AZÚCARES FERMENTABLES PRESENTES DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA REALIZADA A 28 °C Y 100 RPM CON UNA DURACIÓN DE CUATRO SEMANAS.....	86
GRÁFICA 9. COMPORTAMIENTO DE LOS ALCOHOLES TOTALES PRESENTES DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE UNA FORMULACIÓN DE FRUTOS ROJOS A 28 °C Y 100 RPM	87
GRÁFICA 10. COMPORTAMIENTO DEL LOGARITMO NATURAL DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS.....	120
GRÁFICA 11. COMPORTAMIENTO DE LA DERIVADA DEL LOGARITMO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS.....	120

LISTADO DE FIGURAS

FIGURA 1. CLASIFICACIÓN DE LOS GÉNEROS DE LEVADURAS MÁS FRECUENTES EN MOSTOS Y VINOS ..	3
FIGURA 2. COMPETENCIA POR EL AZÚCAR ENTRE BACTERIAS Y LEVADURAS	10
FIGURA 3. ESQUEMA DE EMBDEN-MEYERHOFF	15
FIGURA 4. DIAGRAMA DE BLOQUES	21
FIGURA 5. REACTOR CSTR	25
FIGURA 6. CRECIMIENTO CELULAR EN UN AMBIENTE AMIGABLE.....	26
FIGURA 7. FASES EN EL COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	27
FIGURA 8. FASE LAG DEPENDIENTE DEL ENVEJECIMIENTO DE LAS CÉLULAS MICROBIANAS	28
FIGURA 9. MECANISMO DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS LIMITADO POR EL SUSTRATO ..	29
FIGURA 10. MECANISMO DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS LIMITADO POR ENVENENAMIENTO	29
FIGURA 11. MECANISMO DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS DE MANERA GENERAL	30
FIGURA 12. COMPORTAMIENTO DEL COEFICIENTE DE MONOD CON EL ENVENENAMIENTO POR PRODUCTOS.....	32
FIGURA 13. LINEALIZACIÓN DE LINEWEAVER-BURK.....	33
FIGURA 14. LINEALIZACIÓN DE EADIE-HOFSTEE	34
FIGURA 15. LINEALIZACIÓN DE AUGSTINSON	35
FIGURA 16. REPRESENTACIÓN DE DE LA REFRACCIÓN DE LUZ	35
FIGURA 17. EQUIPO MUSE CON SUS PARTES.....	37
FIGURA 18. PARTES DEL RECIPIENTE DEL FERMENTADOR BIOFLO 415 UBICADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	38
FIGURA 19. CABINA DE CONTROL Y PANTALLA TÁCTIL EN EL FERMENTADOR BIOFLO 415 DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	39
FIGURA 20. EVOLUCIÓN DE LA LEVADURA (◆) Y LOS CAMBIOS EN EL CONSUMO DE LOS AZÚCARES (GLUCOSA [□], SACAROSA [x]Y FRUCTOSA [Δ]) DURANTE LA FERMENTACIÓN DE LA FRESA	40
FIGURA 21. AZÚCARES PRESENTES EN LAS MORAS DETERMINADO POR HPLC DATOS EN (MG/G DE EXTRACTO)	41
FIGURA 22. CONCENTRACIÓN (G/L) DE AZÚCARES, ÁCIDOS ORGÁNICOS, GLICEROL Y ETANOL EN EL JUGO DE FRAMBUESAS Y EN BEBIDA FERMENTADA DE FRAMBUESA.....	41
FIGURA 23. CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE AZÚCARES EN LOS DISTINTOS TIEMPOS DE MADURACIÓN EN EL ARÁNDANO.....	42

FIGURA 24. EVOLUCIÓN DE LAS VENTAS DE VINO EN GUATEMALA POR CATEGORÍA DEL 2014 AL 2018	43
FIGURA 25. LÍMITES PERMISIBLES Y ACEPTABLES SEGÚN LA NORMA COGUANOR 29001	44
FIGURA 26. COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS A DISTINTAS TEMPERATURAS	47
FIGURA 27. CONCENTRACIÓN DE ETANOL CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BIOFLO 415 OPERANDO A CONDICIONES DE TEMPERATURA DE 28 °C Y AGITACIÓN DE 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA A PARTIR DE NARANJA UTILIZANDO LA CEPA LALVIN EC-1118	48
FIGURA 28. CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BIOFLO 415 OPERANDO A 28 °C Y 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA PARTIENDO DE NARANJA UTILIZANDO UNA CEPA LALVIN EC-1118	48
FIGURA 29. CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL TIEMPO EN EL FERMENTADOR BIOFLO 415 OPERANDO A 28 °C Y 100 RPM PARA UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA A PARTIR DE NARANJA UTILIZANDO UNA CEPA LALVIN EC-1118	49
FIGURA 30. LINEALIZACIÓN DE LINEWEAVER-BURK PARA LA FASE DE CRECIMIENTO	100
FIGURA 31. LINEALIZACIÓN DE LINEWEAVER-BURK PARA LA FASE DE DECRECIMIENTO	100
FIGURA 32. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DE REPRODUCCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN LA FASE DE CRECIMIENTO CELULAR	105
FIGURA 33. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DEL CONSUMO DE LOS SUSTRATOS EN LA FASE DE CRECIMIENTO CELULAR	106
FIGURA 34. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DE FORMACIÓN DEL ETANOL EN LA FASE DE CRECIMIENTO CELULAR	107
FIGURA 35. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DEL MANTENIMIENTO CELULAR DE LOS MICROORGANISMOS EN LA FASE DE DECRECIMIENTO CELULAR	108
FIGURA 36. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DEL CONSUMO DE LOS SUSTRATOS EN LA FASE DE DECRECIMIENTO CELULAR	109
FIGURA 37. MODELO DEL COMPORTAMIENTO DE FORMACIÓN DEL ETANOL EN LA FASE DE DECRECIMIENTO CELULAR	110
FIGURA 38. SISTEMA DE LA INOCULACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN LA LEVADURA LALVIN EC-1118 COLOCADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	111
FIGURA 39. SISTEMA DE ANÁLISIS DE MUESTRAS	111

FIGURA 40. EJEMPLO DE MUESTREO EN EL EQUIPO ANALIZADOR DE CÉLULAS MUSE MILLIPORE UBICADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	112
FIGURA 41. CROMATÓGRAFO HPLC UTILIZANDO COLUMNA HI PLEX CA 300X7.08MM UBICADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL AVANZADO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	112
FIGURA 42. CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA UBICADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL AVANZADO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA EN LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	113
FIGURA 43. MUESTRAS TOMADAS DEL FERMENTADOR BioFLO 415 PARA ANÁLISIS DE ALCOHOLES EN EL EQUIPO GC-FIS UBICADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL AVANZADO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA EN LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	113
FIGURA 44. MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE AZÚCARES FERMENTABLES PRESENTES EN HPLC EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL AVANZADO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	114
FIGURA 45. PRENSA HIDRÁULICA UTILIZADA EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE JUGO DE LOS FRUTOS ROJOS UBICADA EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA EN LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	114
FIGURA 46. AUTOCLAVE DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA EN LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	115
FIGURA 47. REFRACTÓMETRO CON BAÑO TÉRMICO UBICADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	115
FIGURA 48. POTENCIÓMETRO FISHER SCIENTIFIC UBICADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	116
FIGURA 49. CONGELADOR UTILIZADO PARA LA CONCENTRACIÓN DE LAS FRUTAS A UTILIZAR	116
FIGURA 50. MICROSCOPIO FISHER SCIENTIFIC Y CELDA NEUBAUER UBICADO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA	117
FIGURA 51. BIORREACTOR BioFLO 415 UBICADO EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	117
FIGURA 52. CONTEO DE CÉLULAS EN MICROSCOPIO.....	118

FIGURA 53. PICNÓMETRO DE VIDRIO CON CAPACIDAD DE 25ML MARCA KIMAX	118
FIGURA 54. MANTA PARA FILTRO DE FRUTOS ROJOS CON UN MESH DE	118
FIGURA 55. LEVADURA UTILIZADA MARCA LALVIN EC-1118	119
FIGURA 56. CENTRIFUGA DE 8 TUBOS UBICADA EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA.....	119
FIGURA 57. ESTUDIO DE MERCADO SOBRE COMPOSICIÓN DEL MOSTO FERMENTABLE	121
FIGURA 58. DULZOR DEL PRODUCTO TERMINADO POR MEDIO DE ENCUESTAS AL MERCADO OBJETIVO	121
FIGURA 59. COMPORTAMIENTO DE LA TEMPERATURA DENTRO DEL REACTOR BioFlo 415	122
FIGURA 60. COMPORTAMIENTO DEL pH DENTRO DEL REACTOR BioFlo 415	122
FIGURA 61. TIPOS DE MADUREZ EN EL CRECIMIENTO DE LA FRESA.....	123
FIGURA 62. TIPO DE MADUREZ EN EL CRECIMIENTO DE LA MORA	123
FIGURA 63. TIPOS DE MADUREZ EN EL CRECIMIENTO DE LA FRAMBUESA	123
FIGURA 64. TIPOS DE MADUREZ EN EL CRECIMIENTO DE LOS ARÁNDANOS.....	124
FIGURA 65. BALANCE DE MASA DEL SISTEMA EN GENERAL	124
FIGURA 66. BALANCE DE MASA DE LA SOLUCIÓN INICIAL SIN AZÚCAR AGREGADA	124
FIGURA 67. BALANCE DE MASA DE LA SOLUCIÓN FERMENTABLE	125

LISTADO DE REACCIONES

REACCIÓN 1. FERMENTACIÓN DE LA GLUCOSA Y SACAROSA	7
REACCIÓN 2. FERMENTACIÓN DE LA SACAROSA	7
REACCIÓN 3. REACCIÓN GENERAL DE FERMENTACIÓN	13
REACCIÓN 4. REACCIÓN ESPECÍFICA DE FERMENTACIÓN	13
REACCIÓN 5. FASE DE RESPIRACIÓN.....	17
REACCIÓN 6. FASE DE FERMENTACIÓN.....	17

LISTADO DE ECUACIONES

ECUACIÓN 1. VELOCIDAD DE REACCIÓN PARA LOS MICROORGANISMOS	27
ECUACIÓN 2. MODELO MONOD	31
ECUACIÓN 3. EFECTO DE LOS PRODUCTOS EN EL MODELO DE MONOD.....	31
ECUACIÓN 4. TASA MÁXIMA DE CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO	32
ECUACIÓN 5. LINEALIZACIÓN DE LINEWEAVER-BURK.....	33
ECUACIÓN 6. LINEALIZACIÓN DE EADIE-HOFSTEE	34
ECUACIÓN 7. LINEALIZACIÓN DE AUGSTINSON	34
ECUACIÓN 8. ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	35
ECUACIÓN 9. MODELO CINÉTICO PARA LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO (AZÚCARES FERMENTABLES) EN FASE DE CRECIMIENTO A 28°C, EMPLEANDO LA CEPA LAVIN EC-1118.....	59
ECUACIÓN 10. MODELO CINÉTICO PARA LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO (AZÚCARES FERMENTABLES) EN FASE DE DECRECIMIENTO A 28°C, EMPLEANDO LA CEPA LALVIN EC-1118	59

LISTADO DE CÁLCULOS

CÁLCULO 1. CANTIDAD DE AZÚCAR PARA MOSTO CON CONCENTRACIÓN DE 17% (G/ML).....	87
CÁLCULO 2. DENSIDAD.....	88
CÁLCULO 3. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES CON ÍNDICE DE REFRACCIÓN	88
CÁLCULO 4. DENSIDAD CELULAR	88
CÁLCULO 5. CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS PARA EQUIPO MUSE	89
CÁLCULO 6. CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS CON EL MÉTODO DE RHIZOBIA.....	89
CÁLCULO 7. CORRECCIÓN DE ETANOL CON GC.....	89
CÁLCULO 8. AZÚCAR AGREGADO PARA DULZOR FINAL.....	90
CÁLCULO 9. PORCENTAJE PRODUCTIVO EN LA LÍNEA DE PRODUCCIÓN	90
CÁLCULO 10. COMPORTAMIENTO DEL SUSTRATO CON RESPECTO AL TIEMPO	91
CÁLCULO 11. COMPORTAMIENTO DEL CONJUNTO DE SUSTRATO.....	91
CÁLCULO 12. RENDIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL SUSTRATO.....	91
CÁLCULO 13. PRIMER PASO PARA EL DIFERENCIAL DEL TIEMPO RESPECTO AL DIFERENCIAL DE SUSTRATO.	92
CÁLCULO 14. SEGUNDO PASO PARA EL DIFERENCIAL DEL TIEMPO RESPECTO AL DIFERENCIAL DE SUSTRATO	92
CÁLCULO 15. DIFERENCIAL DEL SUSTRATO CON RESPECTO AL TIEMPO	92
CÁLCULO 16. DIFERENCIAL DEL SUSTRATO.....	92
CÁLCULO 17. DIFERENCIAL DE LOS MICROORGANISMOS.....	93
CÁLCULO 18. CONCENTRACIÓN FINAL	93
CÁLCULO 19. DIFERENCIAL DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL TIEMPO	93
CÁLCULO 20. PROMEDIO	94
CÁLCULO 21. PROPAGACIÓN DE ERROR DE LA SUMA Y RESTA.....	94
CÁLCULO 22. PROPAGACIÓN DE ERROR DE LA MULTIPLICACIÓN Y DIVISIÓN	95
CÁLCULO 23. VARIACIÓN	95

LISTADO DE CROMATOGRAMAS

CROMATOGRAMA 1. MUESTRA 1 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	126
CROMATOGRAMA 2. MUESTRA 2 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	126
CROMATOGRAMA 3. MUESTRA 3 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	126
CROMATOGRAMA 4. MUESTRA 4 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	126
CROMATOGRAMA 5. MUESTRA 5 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	127
CROMATOGRAMA 6. MUESTRA 6 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	127
CROMATOGRAMA 7. MUESTRA 7 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	127
CROMATOGRAMA 8. MUESTRA 8 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	127
CROMATOGRAMA 9. MUESTRA 9 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	128
CROMATOGRAMA 10. MUESTRA 10 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	128
CROMATOGRAMA 11. MUESTRA TOMADA 11 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	128
CROMATOGRAMA 12. MUESTRA 12 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	128
CROMATOGRAMA 13. MUESTRA 13 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	129
CROMATOGRAMA 14. MUESTRA 14 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	129

CROMATOGRAMA 15. MUESTRA 15 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	129
CROMATOGRAMA 16. MUESTRA 16 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	129
CROMATOGRAMA 17. MUESTRA 17 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	130
CROMATOGRAMA 18. MUESTRA 18 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	130
CROMATOGRAMA 19. MUESTRA 19 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	130
CROMATOGRAMA 20. MUESTRA 20 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	130
CROMATOGRAMA 21. MUESTRA 21 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	131
CROMATOGRAMA 22. MUESTRA 22 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	131
CROMATOGRAMA 23. MUESTRA 23 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	131
CROMATOGRAMA 24. MUESTRA 24 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	131
CROMATOGRAMA 25. MUESTRA 25 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	132
CROMATOGRAMA 26. MUESTRA 26 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	132
CROMATOGRAMA 27. MUESTRA 27 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	132
CROMATOGRAMA 28. MUESTRA 28 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	132
CROMATOGRAMA 29. MUESTRA 29 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	133

CROMATOGRAMA 30. MUESTRA 30 TOMADA SEGÚN LA FIGURA 38, PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	133
CROMATOGRAMA 31. MUESTRA DE ALCOHOLES DE LA MUESTRA CON PROPÓSITO COMERCIAL	133
CROMATOGRAMA 32. MUESTRA 1 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	134
CROMATOGRAMA 33. MUESTRA 2 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	134
CROMATOGRAMA 34. MUESTRA 3 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	134
CROMATOGRAMA 35. MUESTRA 4 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	135
CROMATOGRAMA 36. MUESTRA 5 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	135
CROMATOGRAMA 37. MUESTRA 6 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	135
CROMATOGRAMA 38. MUESTRA 7 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	136
CROMATOGRAMA 39. MUESTRA 8 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	136

CROMATOGRAMA 40. MUESTRA 9 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	136
CROMATOGRAMA 41. MUESTRA 10 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	137
CROMATOGRAMA 42. MUESTRA 11 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	137
CROMATOGRAMA 43. MUESTRA 12 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	137
CROMATOGRAMA 44. MUESTRA 13 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	138
CROMATOGRAMA 45. MUESTRA 14 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	138
CROMATOGRAMA 46. MUESTRA 15 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	138
CROMATOGRAMA 47. MUESTRA 16 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	139
CROMATOGRAMA 48. MUESTRA 17 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	139
CROMATOGRAMA 49. MUESTRA 18 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	139

CROMATOGRAMA 50. MUESTRA 19 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	140
CROMATOGRAMA 51. MUESTRA 20 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	140
CROMATOGRAMA 52. MUESTRA 21 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	140
CROMATOGRAMA 53. MUESTRA 22 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	141
CROMATOGRAMA 54. MUESTRA 23 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	141
CROMATOGRAMA 55. MUESTRA 24 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	141
CROMATOGRAMA 56. MUESTRA 25 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	142
CROMATOGRAMA 57. MUESTRA 26 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	142
CROMATOGRAMA 58. MUESTRA 27 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	142
CROMATOGRAMA 59. MUESTRA 28 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	143

CROMATOGRAMA 60. MUESTRA 29 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	143
CROMATOGRAMA 61. MUESTRA 30 TOMADA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	143
CROMATOGRAMA 62. AZÚCARES RESIDUALES EN MUESTRA CON PROPÓSITOS COMERCIALES	144

RESUMEN

Este trabajo de investigación se enfoca en el estudio de la cinética de la reacción de fermentación en la producción de una bebida alcohólica de jugo a partir de frutos rojos, obteniendo un modelo que predice el comportamiento de formación en la fase de crecimiento y decrecimiento del etanol, los microorganismos y de los azúcares fermentables con el tiempo. Este modelo se ajusta a una formulación comercial de cuatro frutos rojos (fresa, frambuesa, mora y arándanos) con distintas concentraciones de azúcares fermentables y puede emplearse en procesos de diseño, modelado, automatización o escalamiento de equipos.

La experimentación se inició con una concentración de azúcares fermentables del 25.40% (m/v) con los aportes de los frutos del 30%, 30%, 35% y 5% para arándano, fresa, mora y frambuesa, respectivamente y se obtuvo una concentración final de azúcares del 5.52% (m/v), de manera que la bebida fermentada se clasificó como de tipo seco pero, para cumplir con la demanda del mercado, se enriqueció el fermentado con azúcares para propiciar la producción de una bebida fermentada semi seca. Además, se determinó que el producto obtenido no cumple con la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014 al tener una concentración final de metanol de 0.013% (m/v) y una producción de etanol del 12.54% (m/v).

Empleando condiciones controladas en un biorreactor automatizado BioFlo 415 y con el uso de la cepa Lalvin EC-1118, se obtuvo modelos cinéticos que predicen el comportamiento del consumo de sustratos, producción de microorganismos y formación de etanol con variaciones de 9.90%, 3.62% y 12.33% para la fase de crecimiento y con variaciones del 2.3%, 8.18% y 2.97% para la fase de muerte celular.

Se recomienda utilizar otras cepas con cinéticas parecidas como la Vitileuvre LB Rouge o la cepa So Delight y determinar cuál es la que mejor se adapta al medio. También se recomienda estudiar el comportamiento con la presencia de inhibidores de crecimiento celular y comparar los resultados de dicho efecto.

I. INTRODUCCIÓN

La industria de bebidas alcohólicas tiene una gran demanda de consumo a nivel mundial, tanto de las bebidas destiladas como de las no destiladas. La bebida fermentada es una bebida alcohólica producida a partir de la fermentación microbiana de cualquier fruta que no sea uva. Es una bebida muy producida en los países de España, Francia, Inglaterra, Bélgica, Irlanda, Alemania y Uruguay por sus ricos contenidos de minerales en la tierra, que propician el crecimiento de frutos con las características más buscadas de dulzura y acidez.

En la antigüedad, la forma en la se obtenía el jugo con el mosto era aplastando los frutos por una cantidad de tiempo larga y con un grupo de personas, generalmente las mujeres de la familia, las cuales se paraban en las frutas con los pies descalzos y caminaban hasta obtener el jugo. Luego, se dejaba el jugo tapado con una manta por dos semanas y al final ya se tenía el producto (la bebida fermentada). Hoy en día se produce de dos maneras: artesanal e industrial, las cuales se diferencian principalmente en la escala, equipos y nivel de tecnificación.

La etapa fundamental de la producción de una bebida fermentada es la fermentación alcohólica, la cual es una manera de producir etanol a partir de frutas y un microorganismo llamado levadura. Este proceso se lleva a cabo en un fermentador a condiciones determinadas. Normalmente los fermentadores son tanques cerrados que no permiten el ingreso de aire, por ser un proceso anaeróbico. Tienen también un sistema de agitación para evitar la sedimentación y asegurar la homogeneidad del sistema.

La tecnificación de los procesos ha permitido que los costos de la bebida fermentada sean cada vez menores y que la bebida pueda comercializarse efectivamente. Esto es muy importante para llevar el proceso de una escala a nivel laboratorio a una implementación de una planta industrial.

Los modelos cinéticos sirven para poder utilizar de una manera más eficiente los microorganismos ya que estos ayudan a mejorar el rendimiento de los productos microbianos, al aumento de la velocidad de formación de los productos, mantenimiento de la calidad del producto microbiano y la uniformidad que se tiene en el proceso. Dichos modelos consisten en ecuaciones matemáticas que permiten calcular los avances reactivos y el escalamiento de las fermentaciones, y para el caso de las fermentaciones enzimáticas, las formas básicas del modelo se representan con variaciones de la ecuación de Monod.

Este trabajo se muestran las determinaciones cinéticas y analíticas realizadas a una bebida fermentada de frutos rojos, incluyendo la justificación de los estudios, los objetivos determinados, los resultados obtenidos y su respectivo análisis, las conclusiones y recomendaciones del trabajo y los datos empleados para elaborarlo en una sección de anexos.

II. OBJETIVOS

A. Generales

Propuesta de un modelo cinético de la reacción de fermentación semicontinua de una formulación de frutos rojos en la producción de una bebida alcohólica utilizando la cepa Lalvin EC-1118, para predecir el comportamiento de las variables de fermentación en función del tiempo.

B. Específicos

1. Determinar el pH, concentración de azúcares y densidad de los jugos de frutos rojos individuales y de la mezcla de los mismos en la formulación empleada, para obtener la cantidad de azúcares fermentables iniciales y calcular el porcentaje de azúcar comercial a utilizar.
2. Determinar la concentración de alcohol producido durante la fermentación a 28 °C y 100 rpm, usando cromatografía de gases con detector de ionización de llama, para estudiar el comportamiento con respecto al tiempo.
3. Determinar la concentración de azúcares fermentables durante la fermentación alcohólica a 28 °C y 100 rpm, usando cromatografía líquida de alta resolución, para establecer el modelo matemático.
4. Determinar el número de células vivas de la cepa empleada en la fermentación alcohólica durante las fases de crecimiento celular, utilizando técnicas de conteo microbiano para estudiar la tendencia presentada con el modelo de Monod.
5. Generar un modelo matemático que prediga la cinética de la reacción de fermentación alcohólica de acuerdo con la concentración de azúcares fermentables, crecimiento de microorganismos y producción de etanol, empleando la gráfica de Lineweaver-Burk.

III. JUSTIFICACIÓN

Según el Banco de Guatemala, en el inciso de comercio exterior, Guatemala tiene una importación total de US \$48,508 por año, en sidra proveniente de España, Estados Unidos de América y México y US \$9,073, 322 por año, en vino proveniente de varios países extranjeros lo cual representa el 0.08% de la importación total anual según la lista arancelaria para el 2019 (Guatemala, 2019).

Según el Banco de Guatemala, en el inciso de comercio general, Guatemala exporta, de manera anual, un total de US \$9, 716, 546 correspondiente a mora, arándanos y frambuesa, y US \$2, 935, 727 a fresa, equivalente a una producción de 5, 648, 775 kg de fresa y 3, 498, 462 kg de mora, arándanos y frambuesa a los siguientes países: México, Marruecos, Serbia, Estados Unidos y la Unión Europea lo cual representa el 0.14% de la exportación total anual basado en la lista arancelaria para el 2019 (BANGUAT, 2019).

El consumidor guatemalteco promedio no tiene una cultura edónica desarrollada. Los principales consumidores de vino son los adultos con nivel socioeconómico medio-alto. Por lo general, los hombres prefieren vinos con cuerpo y las mujeres, vinos afrutados. El aumento en la venta del vino blanco y rosado se manifiesta durante los meses de marzo y abril, por la temporada de verano, ya que el consumidor requiere de bebidas más refrescantes, en cambio, el aumento en vino rojo es durante los meses de noviembre y diciembre, especialmente en el período navideño (ICEX, 2019).

El consumidor final toma en cuenta las recomendaciones que proporcionan los distribuidores debido a la poca educación del vino y no muchos tienen el conocimiento suficiente para distinguir las variedades que existen. Los principales agentes en el mercado, realizan catas para fomentar la cultura del vino. Estos son las distribuidoras especializadas como Catador Foindesa, La Vinoteca, Distribuidora Alcazarén y La Torre, que proporcionan junto con la venta, información adicional y descuentos (ICEX, 2019).

En el proceso de producción de bebida fermentada, la etapa de fermentación representa el 97% del tiempo de producción. La tecnificación de dicha etapa, aporta mejoras como la pasteurización para la eliminación de microorganismos presentes no deseados, el control de agitación y aseguramiento de calidad por proceso anaeróbico, por lo que estudiar el comportamiento de esta etapa es una de las formas de incrementar la productividad y reducir costos. Con el fin de tener un producto distintivo en el mercado y debido al aumento de competidores, las vinícolas ofrecen vinos que aporten sensaciones diferentes al

consumidor, cada vez más exigente y abierto a innovaciones sensoriales, por lo que en este trabajo se muestra el análisis de una bebida fermentada semi dulce, con el fin de cumplir con los requisitos mencionados del mercado guatemalteco.

Además, estudiar el comportamiento de la fermentación, permite controlar y predecir el comportamiento de los procesos y mantener o adquirir ventajas competitivas, además, permite escalar procesos. Para dicho estudio, el generar modelos matemáticos predictivos es necesario, ya que las técnicas de escalamiento y diseño dependen de los mismos. Es por esto, que este trabajo se enfoca en el estudio de la cinética de la reacción de fermentación alcohólica, para obtener un modelo que pueda predecir la producción de etanol, formación de microorganismos y consumo de los azúcares fermentables con el tiempo, tanto en la fase de crecimiento como decremento celular.

Al realizar un estudio de mercado, se determinó la formulación más aceptada por el consumidor tenía cuatro tipos de frutos rojos (fresa, frambuesa, mora y arándanos). Debido a esto, el modelo propuesto se ajustó utilizando una formulación comercial con la mezcla de dichos frutos.

Determinar la concentración de los productos y sustratos en los modelos es importante ya que proporciona el rendimiento del producto de interés y los datos necesarios para el balance de masa del proceso.

IV. MARCO TEÓRICO

A. MATERIAS PRIMAS

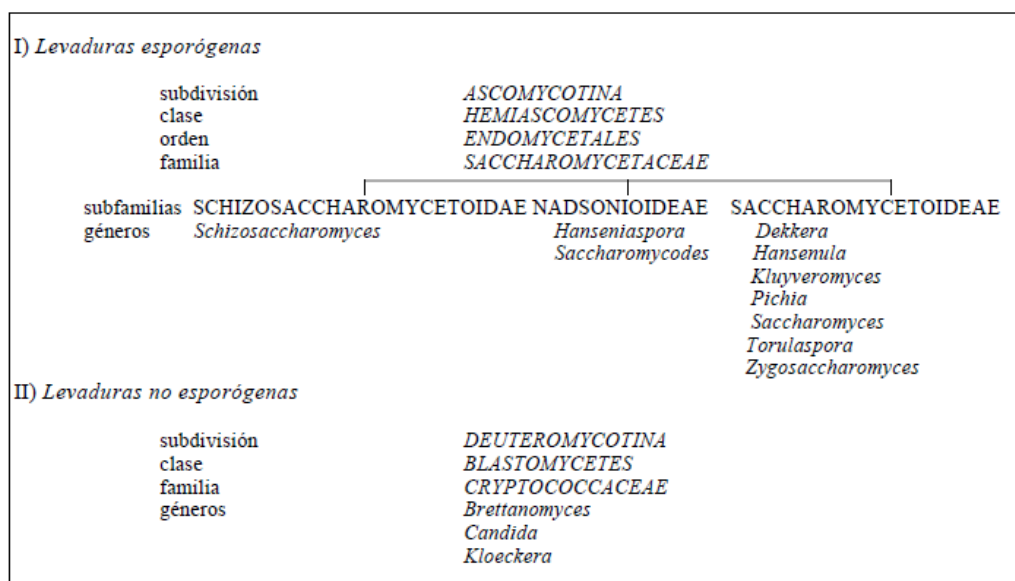
1. Levaduras

Las levaduras son hongos mono-celulares que no son visibles al ojo humano, estos son presenciados por un microscopio y se encuentra entre los primeros microorganismos en identificarse, aislarse y asignarles nombre. Estos hongos son capaces de formar esporas en el interior de un asca. En el microscopio se pueden diferenciar por su estructura física ya que presentan formas variadas. Las esféricas como las *Torula*, las alargadas como *Torulopsis stellata*, las apiculadas que tienen una forma de limón como las *Hanseniaspora* y las elípticas tienen forma de huevo y se presentan en las *Saccharomyces* (Mesas & Alegre, 1999).

Se tienen clasificaciones dependiendo sus características bioquímicas entre ellas se encuentran:

- a. El tipo de azúcares que pueden fermentar
- b. El rendimiento en alcohol
 - i. Las que hay para producir 1 grado de alcohol que consumen 17 a 18 gramos de azúcar
 - ii. Las que tienen un menor rendimiento al metabolizar 21 a 22 gramos de azúcar.
- c. El grado máximo que pueden alcanzar en alcohol.
 - i. Altas, que tienen un máximo de 17 a 18 (% m/v) de alcohol
 - ii. Bajas, que tienen un máximo de 5 (% m/v) de alcohol
- d. Productos secundarios en la fermentación
- e. Resistencia al anhídrido sulfuroso
- f. Capacidad para asimilar diferentes sustancias nitrogenadas (Mesas & Alegre, 1999).

Figura 1. Clasificación de los géneros de levaduras más frecuentes en mostos y vinos.



(Mesas & Alegre, 1999)

Las levaduras que mayor alcohol producen, siendo de carácter esporógenas son:

1. *Saccharomyces Cerevisiae*: Esta se caracteriza por fermentar la mayor parte de los azúcares del mosto. Su poder alcohológeno es elevado, llega a un 17% Vol. Y es muy resistente al SO₂ hasta unos 250mg/L.
2. *Saccharomyces Bayanus*: Tiene características semejantes al *Cerevisiae* con la diferencia que este puede producir más de 18% alcohol.
3. *Saccharomyces Acidifaciens*: Este tiene un máximo de 10% alcohol, pero tiene una mayor resistencia al SO₂ de 250mg/L a 400 mg/L lo que ayuda a iniciar la fermentación en mostos muy sulfitados.
4. *Torulaspora Rosei*: Este tiene un rango de producción de alcohol entre 8% y 14% en volumen. Se caracteriza por fermentar de manera lenta los azúcares con los niveles de acidez volátil producidos menores (Mesas & Alegre, 1999).

Entre las levaduras asporógenas que producen una gran cantidad de compuestos secundarios enriquecedores de sabor y aroma al vino son destacados dos, los cuales son:

1. *Kloeckera apiculata*: Es la más encontrada en los mostos y tiene una capacidad de producción de alcohol entre 4% y 5% vol. Produce mucha acidez volátil por lo que no es recomendable para las fermentaciones, pero es fácilmente eliminado por SO₂ ya que tiene poca resistencia a ella.
2. *Candida Stellata*: Tiene una producción en un rango de 10% y 11% de alcohol en términos de volumen y se presenta más en las uvas atacadas por podredumbre (Mesas & Alegre, 1999).

La levadura *Saccharomyces Cerevisiae* puede realizar fermentaciones anaeróbicas como respiración oxidativa. Cuando se encuentra en modo oxidativo, la levadura crece y se reproduce con mucha eficiencia, pero sin producir alcohol. Removiendo de manera vigorosa se estimula la proliferación de las levaduras, aportando de esta manera la aireación. El alcohol sólo se produce en la fermentación sin oxígeno, sin embargo, es esencial que se produzca una pequeña cantidad de aireación. “El crecimiento de las levaduras para al cabo de varias generaciones de ausencia completa de oxígeno” (observan Phaff, Miller y Mrak en su libro *Life of Yeast*). La levadura puede fermentar por un tiempo sin oxígeno, pero es necesario agregar una pequeña dosis de oxígeno para seguir con la fermentación. De esta manera es fácil explicar por qué al pasar de un envase a otro en forma de trasiego por sifón activa de nuevo el proceso de fermentación. Las levaduras pueden ser de dos tipos, heterotáticas, cuando es necesario reproducirse sexualmente o homotáticas cuando son autofértiles (Katz, 2019).

2. Fresas de tipo Cartuno y madurez tipo 6

Algo que caracteriza a estos frutos es su aroma que puede percibirse a la distancia. Poseen una alta riqueza de minerales como el hierro y el magnesio. Se percibe un 17% de hierro y un 9% de magnesio. Se recomienda mucho en los tratamientos de déficit nutricionales por su alta concentración de minerales. Posee una alta cantidad de Vitaminas C, K y ácido fólico (Leonor, 2010).

Existen más de 1,000 variedades de fresas debido a que estas se hibridizan muy rápido por lo que se tienen distintos tipos de fresa los cuales son:

- **Tudla:** Esta tiene una alta resistencia a la clorosis férrica y se adapta de buena manera al transporte. La planta es vigorosa, con un follaje erecto, producción precoz, frutos grandes, aromáticos, alargados y de color rojo intenso. Tiene una alta producción y se adapta bien en todos los climas.
- **Camarosa:** Esta se adapta bien a los cambios de clima y produce frutos durante 6 meses al año con un fruto grande, firme, de color rojo oscuro y de forma cónica. Tiene una producción temprana pero con una calidad alta de fruto.
- **Oso grande:** Es una tipo de fresa que viene de California que a pesar de tener un fruto rajado, presenta una buena resistencia al transporte y es apto para el mercado en fresco. Tiene un color rojo-anaranjado, de calibre grueso y de buen sabor.
- **Cartuno:** Tiene forma cónica con un calibre uniforme, color rojo brillante, ligeramente más precoz que el Oso grande y tiene un sabor más azucarado. Su producción tiene una curva homogénea durante toda la época.
- **Reina de los valles:** Es la más común de todas y sus frutos son pequeños, de color rojo claro o rojo brillante, con una pulpa dulce y aromática.

- **Diamante:** Tiene un gran sabor y gran calidad de fruto. Tiene un color claro por el interior y una textura firme la cual es resistente a los ácaros.
- **Carisima:** Esta es una variedad rústica y se adapta a todos tipos de suelos y climas, es precoz pero muy productiva. (Leonor, 2010)

3. Moras de variedad brazos y madurez tipo 6

La mora es una fruta perteneciente al grupo de las bayas; es muy perecedera, rica en vitamina C y con un alto contenido de agua. Además de ser de bajo contenido calórico, las bayas se caracterizan por su abundancia en pigmentos naturales de acción antioxidante. Se conocen cerca de 300 tipos de variaciones de mora en Europa, Norteamérica y Asia central. La mora es un fruto constituido por pequeñas durpas o granos que se agrupan entre sí. A continuación, se presenta un cuadro de la composición de la mora por cada 100 g de porción comestible (Maksimović, 2017).

Cuadro 1. Composición de la mora por cada 100g de porción comestible

Parámetro	Porcentaje
Agua (% aporte)	88.50
Energía (kcal/100g)	43.00
Proteína (% aporte)	1.39
Grasa (% aporte)	0.49
Carbohidratos (% aporte)	9.61
Calcio (mg)	29.00
Fósforo (mg)	22.00
Hierro (mg)	0.62
Magnesio (mg)	20.00
Ácido ascórbico (mg)	21.00

(Maksimović, 2017)

Es originaria de las zonas altas tropicales de América, Asia y Europa. Dependiendo del manejo y cuidado de la plantación, la planta presenta un período de 10 o más años de producción. Entre las variedades de mora recomendadas para Centroamérica están:

- **Brazos:** Se desarrolló en 1959 en Texas. Es muy popular en Guatemala, vigorosa, el fruto es grande y la planta de gran expansión, de racimo pequeño.
- **Cherokee:** Se desarrolló en 1974 en Arkansas y es vigorosa y productiva. El fruto es mediano-grande y la planta erecta.
- **Rosborough:** Se originó en 1977 en Texas. Se adapta a un gran rango de condiciones climáticas y de suelo, es una buena opción para áreas secas y calientes. La fruta es grande, firme, dulce y las semillas son pequeñas.
- **Thornless Evergreen:** Se desarrolló en 1926 en Oregon. Esta variedad es rastrera, vigorosa, tardía y el fruto es grande, firme y de buena calidad.
- **Womack:** Se originó en Texas en 1977. Los racimos tienen un crecimiento moderado y la fruta es firme, dulce y la semilla pequeña.
- **Kiowa:** La fruta es resistente al manejo de siembra y la cosecha dura un período de 8 meses. Necesita entre 200 y 250 horas de frío y la planta tiene un crecimiento moderado.
- **Tupy:** La planta es erecta y vigorosa. Debe tener 12 grados brix para poder exportar. También necesita entre 200 y 250 horas de frío. (Maksimović, 2017)

4. Arándano ojo de conejo con grado de madurez 5

Es un fruto jugoso con un sabor medio ácido y al madurar, sus frutos poseen un polvo blanco insoluble en agua el cual le da un tinte azul-celeste. Son una gran fuente de vitamina C y fibra, estos no contienen colesterol o grasas y son bajos en calorías (Tax, 2004).

Cuadro 2. Ciclo del cultivo del arándano

Tiempo	Descripción
1 a 2 años	Crecimiento y desarrollo
3 a 4 años	Primeras cosechas
7 años	Estabilización de la cosecha
8 a 30 años	Adulto productivo
90 días	Período de floración (variedad HighBush)
90 a 120 días	Período de floración (variedad ojo de conejo)

(Tax, 2004).

5. Frambuesa Herritage tipo 6

Es una planta de origen Europeo y tiene un fruto agregado con reproducción vegetativa. Es una gran fuente de vitamina C y de minerales como el potasio y el magnesio. Se tienen tres variedades de frambuesas en Centro América, ya que estas se producen en climas fríos y en suelos ricos en nitrógeno (Gutierrez, 1999).

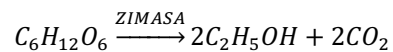
- **Autumm Bliss:** Se produce en otoño y son frutos grandes y con altas cosechas. Este tipo de frambuesas son más precoces que las Heritage.
- **Summit:** Este tipo se caracteriza por ser cosechada antes de la Heritage con un fruto más fuerte y con un sabor más dulce pero, es más pequeña que la Heritage.
- **Heritage:** Es un fruto de mediano a grande de color rojo y muy firme. Tiene una cosecha de aproximadamente 5 semanas y es la variedad que más se cultiva en California debido a su alta concentración de minerales. (Gutierrez, 1999)

6. Azúcares blanca granulada Caña Real

Los azúcares monosacáridos son los únicos que pueden fermentarse directamente ya que son los más simples y estos forman parte de los azúcares más complejos. Los compuestos disacáridos, como la sacarosa, son azúcares compuestos por dos monosacáridos (fructosa y glucosa). Los azúcares pueden fermentarse de manera natural por medio de una enzima, zimasa, que proviene de la levadura la cual es la responsable de fermentar la glucosa y fructosa (Rosal, 2013).

Reacción 1. Fermentación de la glucosa y sacarosa

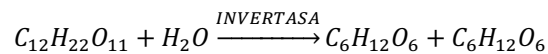
Glucosa o Fructosa → Alcohol Etílico + Dióxido de carbono



Para poder fermentar un disacárido es necesario una hidrólisis por medio de una hidrolasa invertasa a partir de la cual ocurre la fermentación de la glucosa y de la fructosa. Una mezcla en equilibrio de la glucosa y fructosa es conocida como una azúcar invertida ya que rota la luz polarizada en dirección opuesta a la sacarosa (Rosal, 2013).

Reacción 2. Fermentación de la sacarosa

Sacarosa + Agua → Glucosa + Fructosa



a. Pérdidas de sacarosa

La acción microbiana de *Leuconostoc Mesenteriodes* causa pérdidas de sacarosa en el azúcar de caña ya que induce la inversión y descomposición de la glucosa en ácido acético y/o ácido láctico, disminuyendo el pH del jugo o miel aparte de producir una enzima llamada dextransacarasa que al polimerizarse, se produce la dextrana. La dextrana produce una especie de película superficial, aumentando la viscosidad del mosto a fermentar, disminuye la cantidad de azúcares fermentables y en producciones excesivas, puede ocasionar taponamientos de líneas y equipos de producción (Rosal, 2013).

B. PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS

Los productos de una fermentación alcohólica anaeróbica son: alcohol etílico y dióxido de carbono, estos tienen distintos usos y propiedades.

1. Alcohol etílico

Es un compuesto químico conocido comúnmente como etanol, este es un alcohol con apariencia líquida incolora e inflamable. Su fórmula química es C_2H_6O y es el principal producto de las fermentaciones de vino y cerveza. Su uso es aplicable como disolvente de grasas, medio de extracción de solventes, fabricación de productos intermedios, colorantes, drogas sintéticas, elastómeros, detergentes, cosméticos, anticongelante, antisépticos y medicina (S.A., 2000).

Para ser considerado apto para el consumo humano en una bebida alcohólica proveniente de la fermentación esta tiene que tener una concentración no mayor a 20% (m/v) según la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014.

Cuadro 3. Propiedades físicas del alcohol etílico

Descripción	Valor
Gravedad específica	0.7893
Punto de ebullición (°C)	79
Punto de fusión (°C)	-114
Solubilidad en agua	Miscible

(S.A., 2000)

2. Dióxido de carbono

El dióxido de carbono es un producto de la fermentación alcohólica ya que la levadura, al producir alcohol libera CO₂. Su estado es gaseoso y es utilizado en la industria para las bebidas carbonatadas, agente extintor de fuegos, envasado de productos alimenticios y neutralización de productos alcalinos (Linde, 2012).

Cuadro 4. Propiedades físicas del dióxido de carbono

Descripción	Valor
Punto de fusión (°C)	-56.6
Punto de ebullición (°C)	-78.6
Color	Incoloro
Olor	Inoloro

(Linde, 2012)

3. Metanol

Es un subproducto de la fermentación alcohólica con apariencia líquida incolora e inflamable. Este es un producto tóxico con límites máximo permisible para una bebida alcohólica del 0.003 g/mL para el consumo humano. Su uso es para combustible, extracción de aceites, anticongelante, producción de formaldehído, producción de pinturas, cementos, tintas, cosméticos, plásticos y colorantes (CORQUIVEN, 1997).

El metanol es un compuesto alcohólico derivado de la madera que al momento de ser ingerido ocasiona ceguera permanente ya que destruye el nervio óptico de manera irreversible. Al ingerir una dosis mayor a 30ml puede causar la muerte (Paz, 2005).

4. Ácido láctico

El ácido láctico es un subproducto de la fermentación alcohólica causada por la contaminación bacteriana ácido lácticas ya que compiten por factores de crecimiento necesarios para el proceso fermentativo de la levadura produciendo ácido láctico el cual inhibe el crecimiento de la levadura y disminuyendo su productividad (Díaz, 2015).

El proceso consiste en la oxidación parcial de hidratos de carbono los cuales son los responsables de producir el ácido láctico. Los agentes de esta fermentación son los *Lactobacillus* y *Streptococcus*. Estas bacterias se reproducen de una mejor manera en temperaturas elevadas de 30°C a 45°C (Vela & Reyes Muro, 2015).

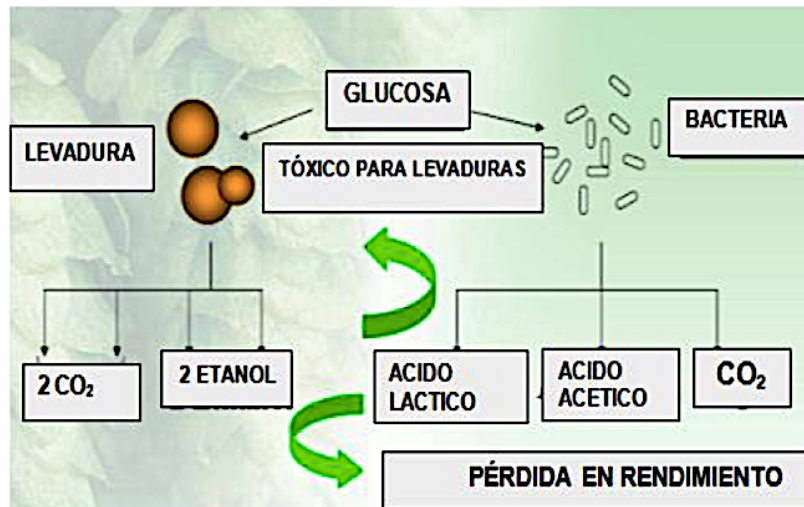
El ácido láctico es muy estable y da signos de calidad al estar presente en el vino cuando este es producido por la degradación biológica de la acidez y no por alteraciones microbianas debido a que, al alterar el vino, se agregan otros productos que provocan sabores poco agradables en el vino (Vega, 2011).

Las propiedades del ácido láctico son las siguientes:

Descripción	Valor
Color	Incoloro
Olor	Inodoro
Aspecto	Líquido viscoso
Punto de ebullición (°C)	122
Punto de fusión (°C)	16.8 a 18
Solubilidad	Miscible en agua

(GTM, 2014)

Figura 2. Competencia por el azúcar entre bacterias y levaduras



(Díaz, 2015)

5. Ácido acético

La producción de ácido acético en las fermentaciones alcohólicas es debido a presencia de oxígeno, es decir por un mal control en el proceso y como se puede ver en Figura 2, da una pérdida de rendimiento en el proceso (Díaz, 2015).

La presencia de este ácido puede provenir de la oxidación del aldehído acético el cual es un producto intermedio de la transformación de azúcar en alcohol. En su mayoría se produce en fermentación acética por las bacterias *Acetobacter* y su presencia es detectada por el olor característico del vinagre (Vela & Reyes Muro, 2015).

El ácido acético es el ácido que se presenta en la acidez volátil ya que los demás son los ácidos fijos debido a que, al momento de destilar el vino, estos quedan en forma de residuo sin evaporarse. Este ácido es muy volátil por lo que puede separarse por medio de destilaciones (Vega, 2011).

Este es formado de la misma manera que el ácido láctico más otras por bacterias acéticas:

Por fermentación alcohólica. El ácido acético es un producto secundario de la fermentación. Por fermentación baja se forman [0.15-0.3]g/L expresado en ácido sulfúrico. Estas dependen de la composición del mosto y de las condiciones de la fermentación. **Por fermentación malo-láctica.** Va acompañada por ácido acético de [0.1-0.2]g/L proveniente del ácido cítrico y pentosas o **por alteraciones bacterianas.** Si se producen más de 0.4g/L entonces hay presencia de bacterias de enfermedades. Las bacterias con aire oxidan el alcohol y producen ácido acético. Al no tener acidez volátil, los niveles normales de acidez son tan pequeños que no se perciben (Vega, 2011).

La acidez volátil es un conjunto de ácidos grasos, principalmente el ácido acético. Es importante determinarlo ya que este es el que provoca un olor desagradable en los vinos. Tiene que tener un valor no mayor a 0.6g/L de ácido acético (García & Xirau, 2010).

Las propiedades del ácido acético son:

Descripción	Valor
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Olor	Vinagre
Punto de ebullición (°C)	118
Punto de fusión (°C)	16.6
Solubilidad	Miscible en agua
Viscosidad (cP)	1.22

(Transmerquim, 2016)

6. Alcohol isopropílico

El alcohol isopropílico es un subproducto de la fermentación alcohólica, tiene un olor muy intenso y contiene propiedades de limpieza y desinfección. Es el alcohol más sencillo de todos los tipos de alcoholes secundarios y se utiliza mucho para la limpieza tanto del hogar como industrialmente (ArQuimi, 2018).

Las propiedades de este alcohol son:

Descripción	Valor
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro
Olor	Alcohol
Punto de ebullición (°C)	83
Punto de fusión (°C)	-89
Solubilidad	Miscible en agua

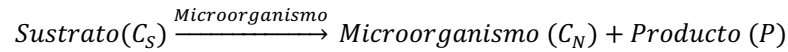
(Universal, 2018)

C. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

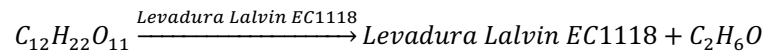
La fermentación alcohólica es anaeróbica y su función es degradar la glucosa para producir alcohol y dióxido de carbono. La única forma de extraer energía es por medio de glucólisis donde el piruvato producido no continua con la oxidación en el ciclo de acetaldehído, sino que la molécula NADH pasa sus electrones al acetaldehído para producir etanol y NAD⁺ para mantener la glucólisis y el suministro de piruvato (Levenspiel, 2016).

El tipo de fermentación que ocurre en este proceso es microbiano en donde se da una limitación por el sustrato. Si el alimento es correcto, los microorganismos se lo comerán, se multiplicarán y generarán producto que en este caso es alcohol. En algunos casos, como en este, el producto inhibe a los microorganismos sin importar la cantidad de sustrato que esté presente y a esto se le llama envenenamiento por producto (Levenspiel, 2016).

Reacción 3. Reacción general de fermentación



Reacción 4. Reacción específica de fermentación



Con el paso del tiempo, la formación de alcohol aumenta y la reproducción de células disminuye, generalmente las células dejan de reproducirse al llegar al 12% (v/v) de alcohol etílico, en este caso, la producción de alcohol máxima para producción de microorganismos es del 18% (v/v) debido a las propiedades de la levadura utilizada (Levenspiel, 2016).

D. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA

1. Temperatura

La levadura puede resistir temperaturas muy bajas, quedándose dormida de una manera estable sin embargo, unas temperaturas muy altas puede matarlas. Un mosto con una temperatura mayor de 35°C no da un ambiente reproductivo sino que uno aniquilador de las levaduras tipo *Saccharomyces Cerevisiae* (Taracena, 2011).

Al aumentar la temperatura, las levaduras disminuyen su actividad por lo que se debe de bajar la temperatura de manera gradual ya que con cambios bruscos esta se inactiva. A una temperatura de 18°C, la levadura realiza su trabajo de una manera eficiente. Mientras más alta se tenga la temperatura, la fermentación es menos pura por lo que se produce menos etanol y más cantidad de compuestos secundarios que a menudo disminuyen la calidad del producto final (Taracena, 2011).

La temperatura óptima de trabajo es alrededor de los 30°C pero encima de los 35°C la actividad decrece de manera rápida, alrededor de los 45°C mueren y por debajo de los 10°C la mayoría de levaduras son inactivas (Taracena, 2011).

A pesar de que la acción térmica en tratamientos del jugo o miel puede eliminar la mayoría de los microorganismos, puede ocasionar la descomposición de la sacarosa para formar compuestos poliméricos y/o de color por medio de la reacción de Maillard que constituye los azúcares no fermentables o amino azúcares en el jugo o miel perjudados en rendimiento tanto en la producción de azúcar como en la fermentación alcohólica (Rosal, 2013).

2. Oxígeno

Para todo organismo vivo, el oxígeno es vital para poder vivir y multiplicarse, la diferencia entre las levaduras y los humanos es que ellas pueden vivir sin él por un tiempo razonable. Airear la fermentación en blanco asegura una buena cantidad de levaduras para su multiplicación y esto ayuda para cuando el aire falte (Taracena, 2011).

3. Alcohol

La *Saccharomyces Cerevisiae* trabaja bien en medios alcohólicos, como los mostos para su producción de vino pero, no resiste extremos. Cada levadura tiene un límite de resistencia al alcohol y con valores más altos que 14%, su trabajo se realiza de una manera más lenta (Taracena, 2011).

4. Nutrientes

Hay dos tipos de nutrientes, el primero es el azúcar ya que es una fuente de carbono y de energía para las levaduras. Estas se deben encontrar con una concentración mayor a 20 g/L para que la fermentación alcohólica se lleve a cabo a su velocidad máxima (Taracena, 2011).

El otro tipo de nutriente son las sustancias nitrogenadas que son las sales y las vitaminas que se encuentran en el mosto en concentraciones suficientes para el desarrollo de las levaduras. En caso de vendimias atacadas por podredumbre, los mohos consumen parte de los nutrientes por lo que es necesario adicionar al mosto complejos vitamínicos y sales de amonio (Taracena, 2011).

5. Los compuestos químicos de acción negativa

La acumulación de los productos en la fermentación alcohólica puede alentar el proceso, a esto se le llama inhibición por producto. Otro compuesto que da acción negativa son los taninos o pesticidas ya que pueden actuar como inhibidores del crecimiento de las levaduras (Taracena, 2011).

6. pH

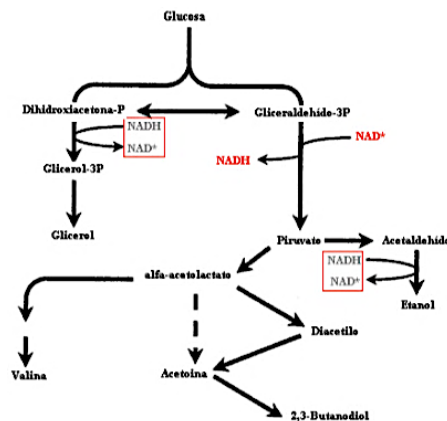
La mayoría de las levaduras se desarrollan mejor con un pH entre 3 y 4, sin embargo, las *Saccharomyces Cerevisiae* se ven favorecidas por un pH aproximado de 3.5 a 4.5 y no se desarrollan bien en medios alcalinos a menos que este se haya adaptado al mismo. Estas levaduras tienen una tolerancia alta a las variaciones de pH a partir de los sustratos habitualmente usados en el medio de cultivo, pero forman productos ácidos que influyen en el crecimiento celular, producción enzimática y utilización de glucosa (Vela & Reyes Muro, 2015).

E. MECANISMO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Las levaduras reaccionan para formar piruvato, que es descarboxilado en las levaduras por una enzima que utiliza pirofosfato de tiamina como una enzima. Un producto intermedio, derivado de hidroxietiltiamina, se descompone y libera acetaldehído libre al medio y se reduce por el NADH a etanol (Barrios, 2013).

Hay un mecanismo anaeróbico de la glucosa en las etapas de fosforilación inicial, síntesis del glucógeno, conversión en triosa, la etapa oxidativa y la formación de etanol (Barrios, 2013).

Figura 3. Esquema de Embden-Meyerhoff



(Barrios, 2013)

La glucosa pasa por una fosforilación obligada como primer paso del metabolismo, la cual es catalizada por una subclase de enzimas “quinasas irreversibles”. Luego, reaccionan las enzimas con ATP, glucosa y magnesio para producir glucosa-6-fosfato de una manera irreversible, debido a la formación de un éster fosfato a expensas del enlace de fosfato rico en energía. Este paso es muy importante ya que genera muchas rutas metabólicas (Barrios, 2013).

Se forma ácido láctico al final del metabolismo anaeróbico de la glucosa precedida de un desdoblamiento del esqueleto de la hexosa en triosa. La glucosa-6-fosfato se convierte en fructosa-6-fosfato por medio de un catalizador fosfohexosaisamerasa (Barrios, 2013).

La fructosa-6-fosfato se fosforiliza por el ATP en presencia de magnesio y fosfofructocinasa para producir fructosa-1,6-difosfato. Este producto se desdobra en dos moléculas de fosfotriosa al reaccionar con la hexosa.difosfato aldosa produciendo gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona (Barrios, 2013).

La conversión de este aldehído en ácido-1,3-difosfoglicérico es la primera de las dos reacciones de la glucólisis donde se generan enlaces de fosfato rico en energía. El aldehído se condensa con el sulfidrilo de la enzima luego, el producto se deshidrogena convirtiéndose en un compuesto de tipo mercaptano de ácido o tioéster. Los dos átomos de hidrógeno reaccionan con el NAD y la reacción de intercambio con fosfato inorgánico produce un fosfato carboxílico rico en energía (Barrios, 2013).

El fosfato producido en la oxidación se convierte en ATP con una fosfogliceraticinasa en presencia de magnesio. La cinasa transfiere el carboilfosfato del ácido difosfoglicérico al ADP para formar ATP y ácido-3-fosfoglicérico por reacción con la fosfogliceromutasa, la cual utiliza como enzima el ácido-2,3-difosfoglicérico (Barrios, 2013).

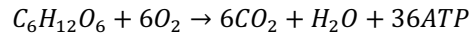
Este ácido se deshidrata de manera reversible a ácido fenolpirúvico por la acción de enolasa con magnesio. El fosfato del fosfoenolpirúvico es transferido al ADP por la piruvatocinasa en presencia de magnesio, produciendo el ácido pirúvico, en esta etapa la ruta metabólico se bifurca y el camino que se tome depende del organismo particular (Barrios, 2013).

En las levaduras hay una pirúvicodescarboxilasa anaerobia que desdobra el ácido pirúvico en CO₂ y acetaldehído. El acetaldehído se deriva a etanol (producto final de la fermentación alcohólica), por medio de una alcoholdehidrogenasa que actúa en sentido inverso. El NADH necesario para que se de esta reducción proviene de la etapa oxidativa. Todo este proceso es para la

fermentación de la glucosa, cuando se fermentan disacáridos, se admite la existencia de la hidrolasa que realiza la hidrólisis correspondiente para empezar el proceso normal (Barrios, 2013).

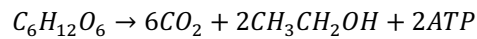
1. Reacciones

Reacción 5. Fase de respiración



Esta reacción describe la degradación completa de los azúcares hasta formar CO_2 y agua con gran liberación de energía por medio de la vía oxidativa.

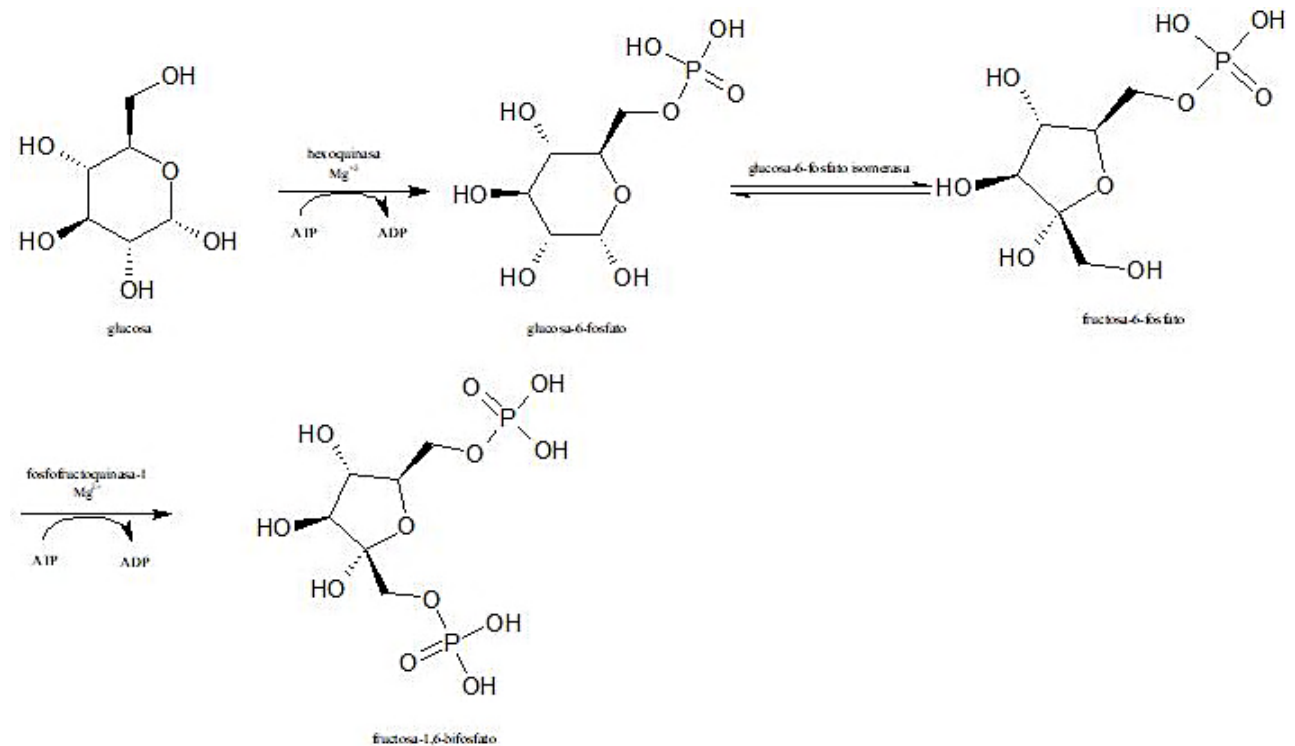
Reacción 6. Fase de fermentación



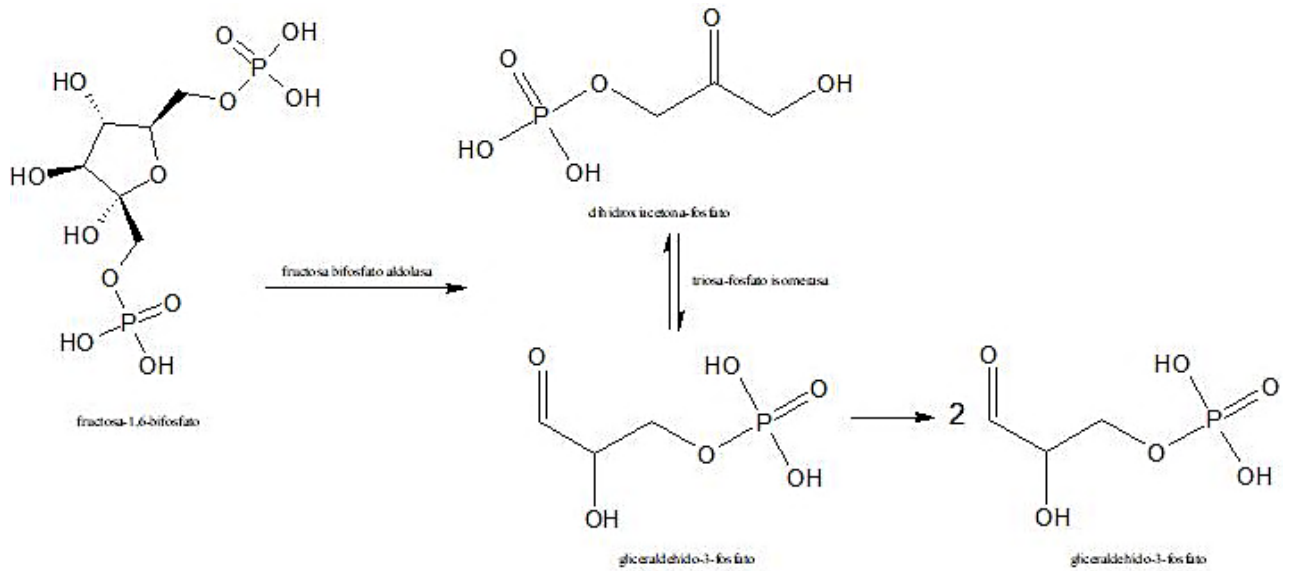
Esta reacción describe que en ausencia de oxígeno se produce la degradación incompleta de azúcares hasta CO_2 y etanol con una escasa liberación de energía. En este caso las levaduras transforman azúcar en alcohol para cubrir sus necesidades energéticas.

2. Mecanismo para fermentación

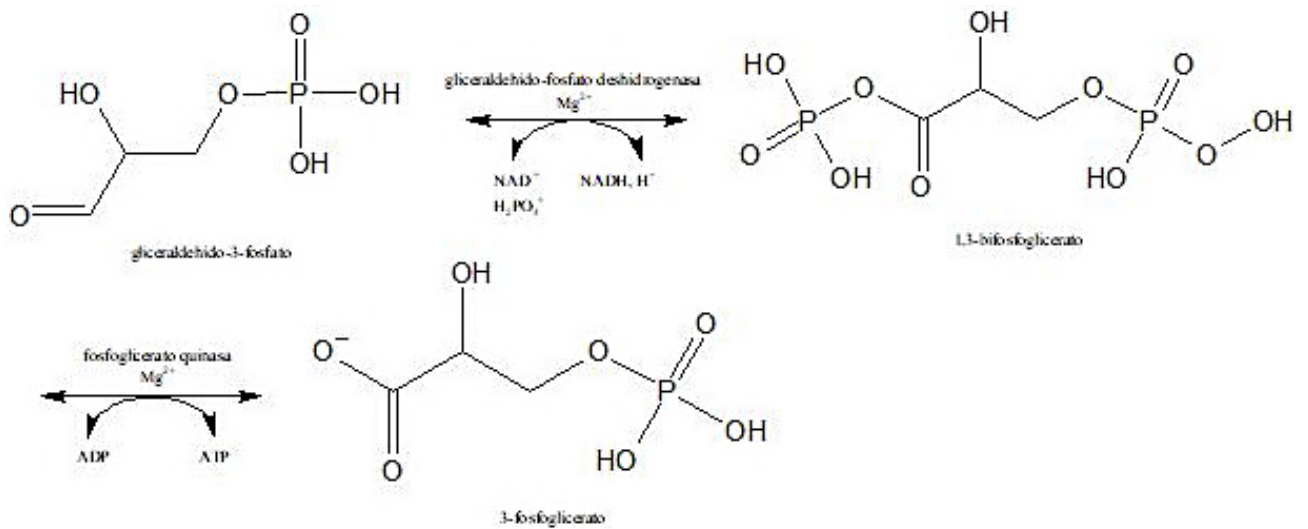
Paso 1. Producción de fructosa-1,6-bifosfato



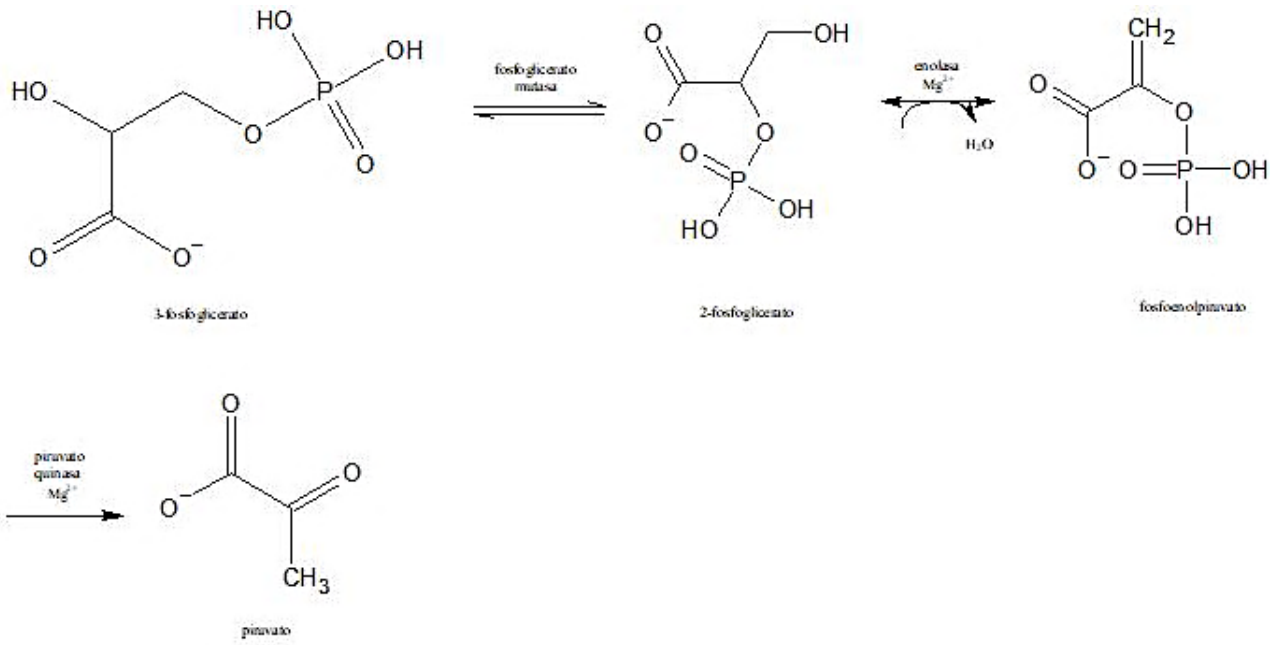
Paso 2. Generación de gliceraldehido-3-fosfato



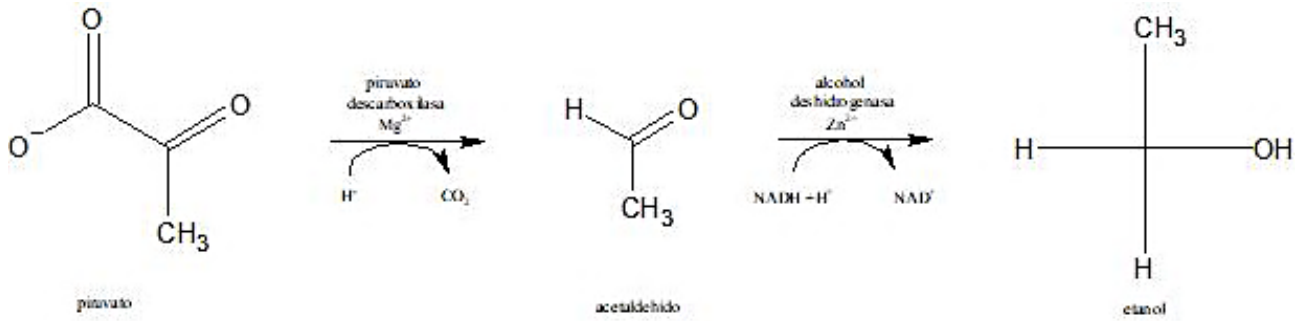
Paso 3. Producto intermedio 3-fosfoglicerato



Paso 4. Generación de piruvato



Paso 5. Producción de etanol



F. PROCEDIMIENTO EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

1. Información básica sobre el procesamiento de frutas

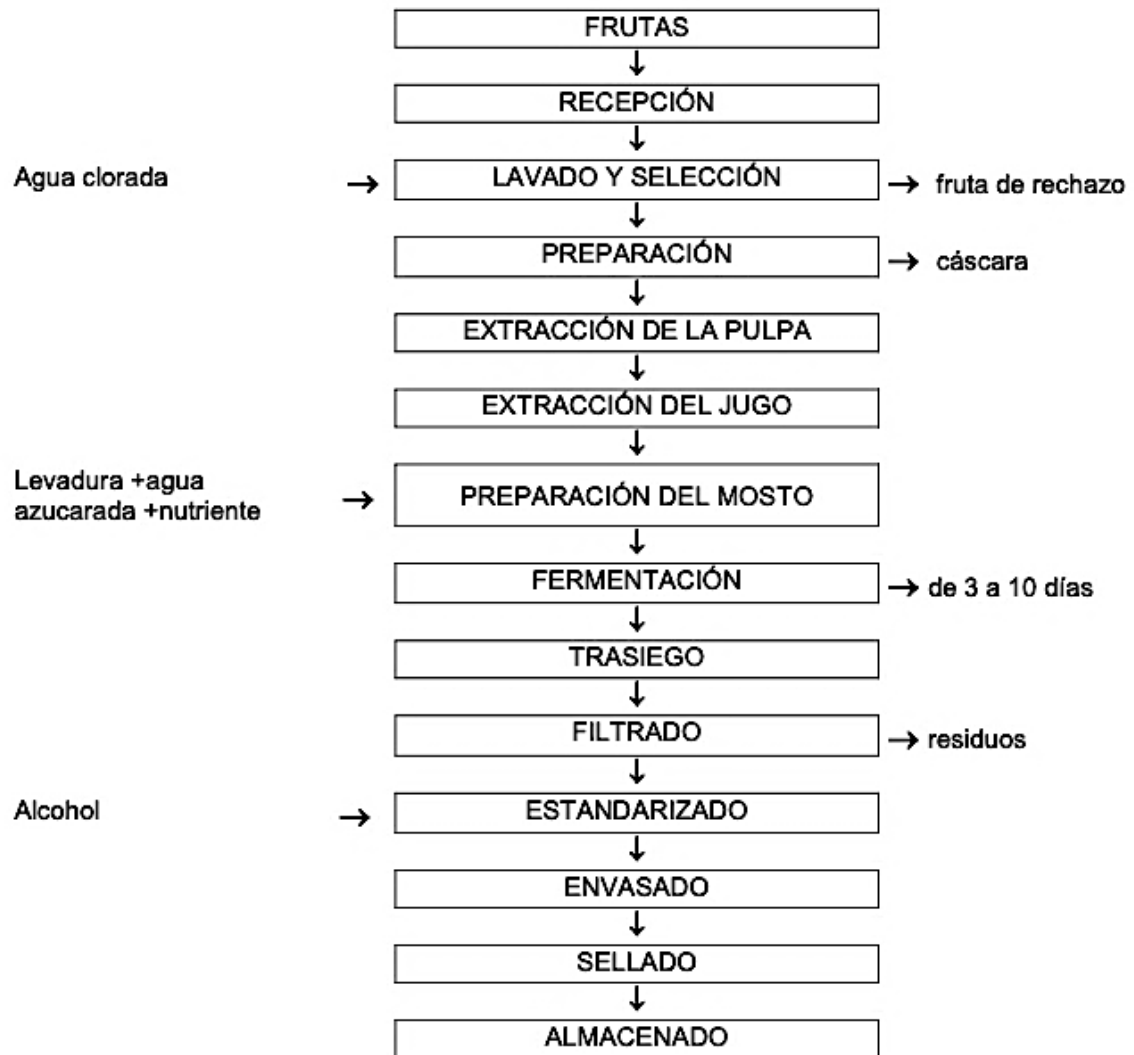
El alimento es cualquier sustancia o producto de cualquier naturaleza que por sus características, aplicaciones, componentes, preparación y estado de conservación son susceptibles de ser utilizados en la nutrición humana. Estos se pueden clasificar como simples y complejos. Los alimentos simples son los que nos ofrece la naturaleza sin necesidad de la manipulación, en cambio, los complejos son los resultantes de la manipulación de los alimentos simples hasta formar nuevos productos (Chacón, 2006).

La cualidad de los alimentos se debe a las proteínas, lípidos, hidratos de carbono, sustancias minerales, vitaminas y agua y son conocidos como nutrientes de los alimentos y son los responsables de mantener y contruir los tejidos corporales, así como suministrar la energía necesaria para la vida. Una alimentación de manera adecuada puede dar trastornos importantes de la salud y enfermedades graves que pueden llegar hasta provocar la muerte (Chacón, 2006).

La calidad tienen distintas definiciones, una de ellas es lo que el consumidor está dispuesto a pagar, pero Neumann lo describe como "el nivel de las propiedades determinantes de su valor de uso, referentes a los parámetros de valor nutritivo, valor culinario, madurez para el consumo y forma de presentación" (Chacón, 2006).

2. Descripción del proceso

Figura 4. Diagrama de bloques



(FAO, 2010)

- **Recepción:** En este proceso se cuantifica la fruta que entra al proceso y se debe de realizar utilizando recipientes adecuados, con balanzas calibradas y limpias.
- **Lavado:** Se realiza para eliminar las bacterias superficiales, residuos de insecticidas y suciedad adherida a la fruta, normalmente se realiza con agua clorada.
- **Selección:** En este paso se elimina la fruta que no posea el grado de madurez adecuado o que presente golpes o magulladuras.
- **Preparación de la fruta:** Esta depende de la fruta con la cual se quiera realizar la bebida fermentada y es la eliminación de la cáscara para ablandar de una manera más rápida la fruta, así como para

obtener un producto de mejor calidad. Esta operación puede realizarse de dos maneras, mecánica o manual, pero de realizarlo mecánicamente, existen modelos de peladoras o se pueden construir de forma casera. La preparación puede incluir escaldado para desactivar la enzima y ablandar los tejidos de la fruta para su mejor extracción de la pulpa.

- **Extracción de la pulpa:** Se realiza con un despulpador o un licuado de la fruta.
- **Extracción del jugo:** En este proceso se puede utilizar una prensa hidráulica o manual, así como también se puede pasar la pulpa del proceso anterior por un colador para obtener el jugo. Esta debe de estar a 70 °C para no oscurecerse y garantizar sus propiedades organolépticas.
- **Preparación del mosto:** El jugo obtenido de la etapa anterior es modificado con los siguientes aspectos, agregarle una solución de agua azucarada al 20% y levadura al 2% en relación al mosto. Otro componente es el nutriente, que generalmente es fosfato de amonio y se agrega en una proporción de 1 gramo por litro aproximadamente.
- **Preparación de inóculo:** Esta involucra el desarrollo de una población de microorganismos desde su estado de conservación hasta la suspensión de microorganismos viables para reproducirse y producir metabolitos a escala industrial. Este tiene que encontrarse en condiciones parecidas con las que se va a trabajar la fermentación con un valor máximo a 30 °C ya que de lo contrario los microorganismos no serían capaces de reproducirse.
- **Fermentación:** Se debe de colocar una trampa de aire para evitar su oxidación y producción de vinagre. La mezcla se deja fermentar en barriles entre 3 y 7 días como mínimo a una temperatura de 30 °C y se le dá fin al no tener producción de gas.
- **Trasriego:** Este separa la fase superior del fermentado mediante succión. En la fermentación se realiza una separación de fases donde el vino queda en la parte superior y los residuos de la fruta y levadura en la parte inferior de la misma.
- **Filtrado:** Se pasa la solución fermentada por una tela fina o colador previamente esterilizado para eliminar la levadura y pulpa residuales.
- **Estandarizado:** Esta es una etapa opcional en donde se agrega alcohol en diferentes proporciones, que dependen de la clase de bebida producida requerida. Al ser un vino generoso, el volumen de alcohol se encuentra entre 15% (v/v) y 25% (v/v), pero si es una bebida espirituosa, el contenido se encuentra entre 30% (v/v) y 50% (v/v).
- **Envasado:** Generalmente se realiza en botellas de vidrio y deben de ser sumergidos en agua caliente a 95 °C durante 10 minutos para ser esterilizados adecuadamente.
- **Sellado:** Puede realizarse manual o mecánicamente y es precuente que el tapón de la botella sea de corcho.

(FAO, 2010)

3. Control de calidad en el proceso de elaboración

El control de calidad en la línea de producción abarca desde la inspección en la recepción de materia prima hasta el etiquetado por lo que es muy importante tomar en cuenta lo siguiente:

- **Selección e inspección:** Los frutos deben de ser firmes y con un grado de madurez que depende del producto a elaborar, deben de ser libres de picaduras de insectos o mordidas de roedores y sin pobredumbre. Es uno de los puntos más críticos del proceso ya que para tener un producto final de buena calidad, se debe partir de materia prima sana y de alta calidad.
- **Pesado:** Se debe de realizar al recibir la materia prima y registrar las masas usando báscula de plataforma o de reloj.
- **Lavado:** Se realiza con abundante agua y en algunos casos con solución desinfectante como yodo, cloro, entre otros.
- **Pelado:** Hay dos formas de realizar este proceso, de manera manual o utilizando químicos como soda cáustica.
- **Corte:** El corte se realiza para reducir el tamaño de la fruta con el objetivo de facilitar la siguiente etapa del proceso, esta puede ser cortada en trozos, rodajas, etc.
- **Escaldado:** Técnica donde se usa agua caliente donde la fruta se inmerse y el tiempo de contacto de la fruta depende de la misma. El proceso suaviza la pulpa y facilita el proceso de despulpado, siendo un proceso opcional ya que este cambia el color y sabor provocando pérdida de nutrientes e inactiva las enzimas no deseables del proceso.
- **Extracción de pulpa:** La calidad de esta depende del tamaño del tamiz y pueden usarse pulperos con distintos calibres en las mallas, una gruesa y una fina. Se pueden utilizar coladores plásticos o de metal que se encuentran en los supermercados.
- **Envasado:** Las prácticas de higiene respectivas son muy importantes, es preferible que el producto a envasarse esté caliente para garantizar su esterilidad y consistencia para facilitar el llenado. Los frascos de vidrio al ser nuevos pueden solo lavarse con agua caliente pero de no ser así deben de ser tratados para garantizar su inocuidad.
- **Esterilización:** Se puede realizar con agua hirviendo y los tiempos de contacto dependen del tamaño del envase y tipo de alimento con un rango entre 5 a 30 minutos.
- **Etiquetado:** Las etiquetas deben de estar limpias y los recipientes totalmente secos para facilitar el pegado de la misma. La etiqueta tiene que cubrir con los requerimientos mínimos de etiquetado y en algunos casos los envases llevan impresas el etiquetado.
- **Análisis de control de calidad:** Los más importantes son acidez, pH, porcentaje de sal, viscosidad y grados brix pero se deben de realizar todos los necesarios para el producto terminado.

(Chacón, 2006)

Para las instalaciones, el local debe de ser lo suficientemente grande para albergar las áreas de recepción de fruta, proceso, empaque, bodega, laboratorio, oficina, servicios sanitarios y vestidores. Las construcciones deben de ser en bloc repellido con acabado sanitario en las uniones del piso y pared de modo que facilite la limpieza del mismo (FAO, 2010).

Los pisos deben de ser recubiertos de losetas o resina plástica con un desnivel para el desagüe. El techo debe de ser de una estructura metálica con zinc y cielorraso, las puertas de metal o vidrio y los ventanales deben de ser completamente de vidrio. Como último, se recomienda tener el uso de cedazo en las puertas y ventanas (FAO, 2010).

4. Buenas prácticas de manufactura BPM

Estas prácticas involucran tanto al personal como al establecimiento, equipo y sistemas de producción. Hay 10 principios de las BPM que se deben de tener en cuenta siempre al trabajar en una planta de procesamiento de alimentos, estas son:

- Lavarse las manos antes de entrar a la planta y siempre deben de mantenerse limpias.
- Se debe de utilizar en todo momento un cubre cabello, redecillas en las orejas y de ser necesario, utilizar guantes y mascarilla.
- No comer, fumar o escupir en áreas de proceso.
- Mantener las uñas cortas, limpias y sin esmaltes.
- No utilizar joyas u otros artículos que ocasionen atascos en los equipos o contaminación al producto.
- No utilizar maquillaje
- Utilizar la indumentaria proporcionada incluyendo las botas de hule.
- No correr dentro de las instalaciones ni subirse a los equipos.
- No introducir las manos ni otra parte del cuerpo en equipos en funcionamiento.
- Es prohibido tocarse con las manos las siguientes partes del cuerpo:
 - Frente
 - Nariz
 - Orejas
 - Oídos
 - Fosas nasales
 - Rascarse en cualquier área (Chacón, 2006)

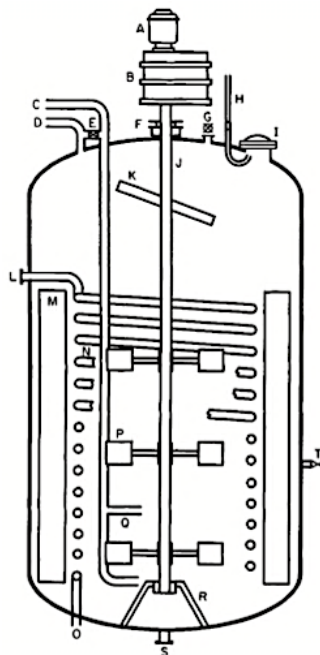
G. BIORREACTOR

Es uno de los equipos fundamentales en la microbiología industrial. Es un recipiente donde el ambiente tiene que ser uniforme y adecuado para los microorganismos y debe de cumplir con mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen del cultivo, para prevenir la sedimentación o flotación, mantener la temperatura de una manera constante y uniforme. El diseño debe ser tal que permita mantener el cultivo puro, una vez que todo el sistema haya sido esterilizado. Para esto es necesario tener sistemas de control de la temperatura y la agitación (Barrios, 2013).

En el tanque agitado “CSTR”, la agitación se realiza de manera mecánica usando de un eje provisto de turbinas, accionado por un motor, el aire se inyecta por la parte superior y es distribuido de manera regular por unos orificios y sale por la parte de abajo para difundir hacia el seno del líquido. El sistema de agitación tiene de cuatro a seis deflectores que cortan el movimiento circular que proporcionan las turbinas al líquido generando mayor turbulencia y una mezcla homogénea (Barrios, 2013).

El tanque tiene una chaqueta con recirculación de agua para controlar la temperatura. Para tanques mayores de 2000 L, el sistema ya no es eficiente y se reemplaza con un serpentín que circula de manera adyacente a la pared interior del tanque. La cantidad necesaria de calor es directamente proporcional al volumen del cultivo por lo que se requiere una mayor área de refrigeración. Los tanques son de acero inoxidable y están pulidos a fin de facilitar la limpieza y esterilización (Barrios, 2013).

Figura 5. Reactor CSTR



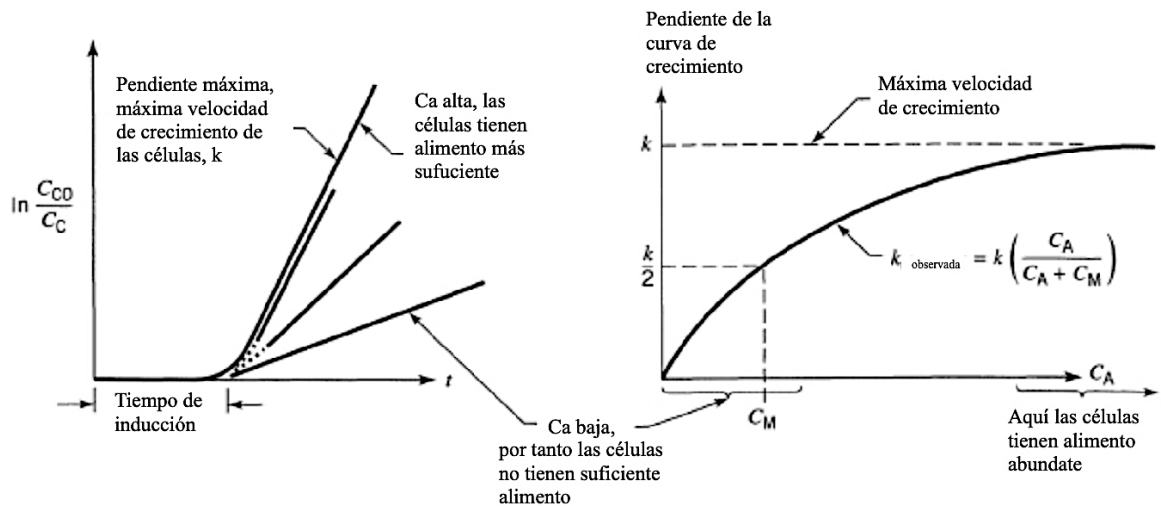
Las partes del reactor son A: Motor del agitador, B: Reductor de velocidad, C: Entrada de aire, D: Salida de aire, E: Válvula de paso del aire, F: Sello mecánico, G: Luz de la mirilla, H: Limpieza de mirilla, I: Mirilla, J: Eje del agitador mecánico, K: Paleta rompedora de espuma, L: Salida de agua fría a chaqueta, M: Baffles, N: Serpentín de enfriamiento, O: Entrada de agua fría, P: Mezclador, Q: Sparge, R: Cojinete de eje y de soporte, S: Sello de vapor y T: Válvula de muestra. (Perry, 2008)

H. CINÉTICA

1. Microorganismos en la fermentación alcohólica y cinética de crecimiento celular

Cuando se tiene una concentración inicial de microorganismos (C_C o C_N) en un ambiente amigable y de concentración constante de sustrato (C_A o C_S), el comportamiento de los microorganismos es primero adaptarse al ambiente en el que se encuentran, luego crecen de manera exponencial. Este comportamiento se muestra en la Figura 6 (Levenspiel, 2016).

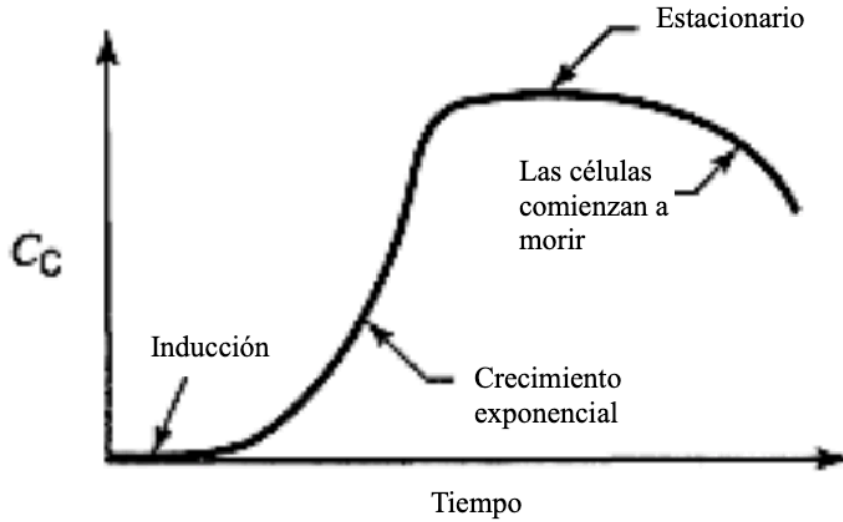
Figura 6. Crecimiento celular en un ambiente amigable



(Levenspiel, 2016)

En un proceso por lotes, las células se reproducen, la composición del sustrato cambia y el producto es formado durante un período de tiempo. Generalmente se miran las cuatro fases del proceso las cuales son: lag, crecimiento exponencial, período estacionario y la fase de muerte. Todas estas fases son mostradas en la Figura 7 y el comportamiento está descrito por la Ecuación 1, donde es importante recalcar que k_c depende de la temperatura, presencia de vitaminas, sustancias tóxicas, intensidad de la luz, entre otros factores (Levenspiel, 2016).

Figura 7. Fases en el comportamiento de los microorganismos



(Levenspiel, 2016)

Ecuación 1. Velocidad de reacción para los microorganismos

$$-r_{C_N} = \frac{k_S C_S C_N}{C_S + C_M}$$

Donde:

C_S es la concentración de sustrato

C_N es la concentración de microorganismos

k_S es la constante de la reacción en términos del sustrato

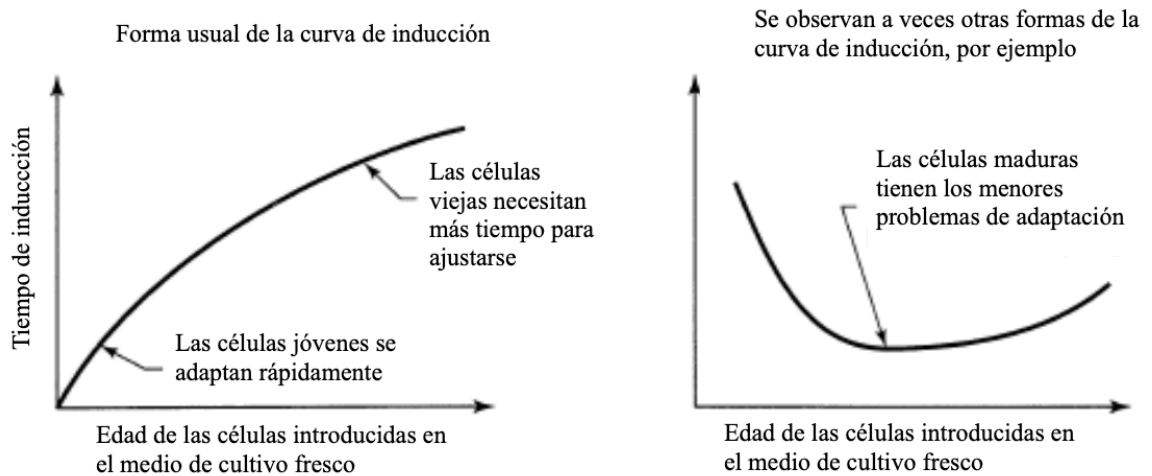
C_M es la concentración de sustrato donde las células se reproducen a $\frac{1}{2}$ de tasa máxima

(Levenspiel, 2016)

2. Fase lag

El proceso en esta fase es la adaptación que tienen las células microbianas en un distinto ambiente que contiene alimento. A medida que el sustrato se consume, las células dejan de reproducirse, su actividad enzimática decrece y las células cambian de carácter. Las células envejecen y cuando se introducen en un ambiente nuevo, se observa un retraso en el tiempo debido a que se re manufacturan los productos químicos necesarios para el crecimiento y reproducción. En general cualquier cambio en el ambiente resulta en un período de inducción a medida que las células microbianas se ajustan (Pérez, 2017).

Figura 8. Fase lag dependiente del envejecimiento de las células microbianas



(Levenspiel, 2016)

La fase de retardo se debe al agotamiento de constituyentes esenciales por las células que los consumen. Se puede dar por células dañadas por tratamiento con calor, radiación o sustancias químicas tóxicas al igual que puede ocurrir cuando una población se transfiere de un medio de cultivo rico a uno más pobre (Lee, 1992).

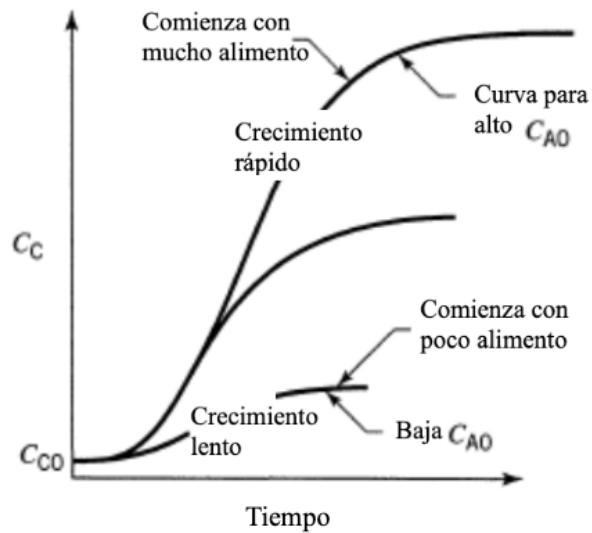
3. Fase exponencial y estacionaria

En la fase exponencial, cada una de las células se divide y forma dos células el proceso continua con este crecimiento de manera exponencial durante un período de tiempo que depende de los recursos disponibles y de otros factores. Estas células se encuentran en su estado más saludable, pero con una velocidad de crecimiento variada. En esta fase se tiene una velocidad de división máxima y constante, y su tiempo de generación es el más corto pero constante igual (Lee, 1992).

La velocidad de crecimiento en esta fase está influenciada por la temperatura, composición del medio de cultivo y las características genéticas del organismo. Mientras más pequeñas sean las células, mayor es su capacidad de intercambio de nutrientes y desechos lo que proporciona una ventaja metabólica que puede afectar dramáticamente su velocidad de crecimiento (Lee, 1992).

En un fermentador de tipo por lotes, el medio cambia por lo que la tasa de crecimiento cambia. La caída del crecimiento puede ser por dos factores, por agotamiento de comida o por acumulación de materiales tóxicos a las células (Levenspiel, 2016).

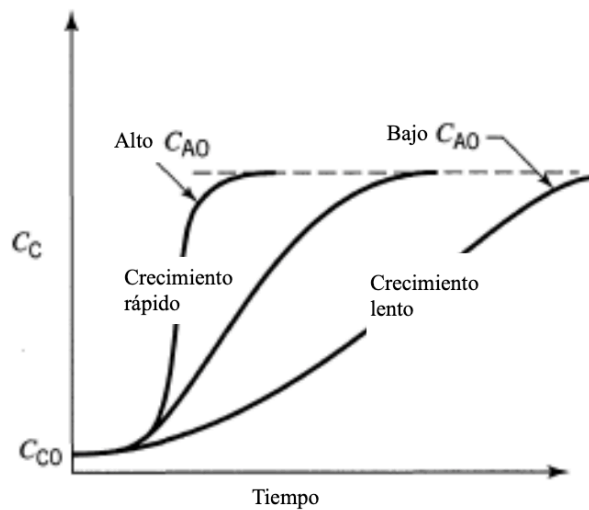
Figura 9. Mecanismo de crecimiento de los microorganismos limitado por el sustrato



(Levenspiel, 2016)

La curva de arriba se presenta cuando se tiene una alta concentración inicial de sustrato por lo que se tiene un crecimiento rápido, para la curva intermedia se tiene un crecimiento moderado y para la curva de abajo se da un crecimiento lento ya que tiene una concentración de sustrato muy pobre. La concentración final de microorganismos depende de la cantidad de alimento inicial que se tenga, pero el producto no afecta la tasa de crecimiento (Levenspiel, 2016).

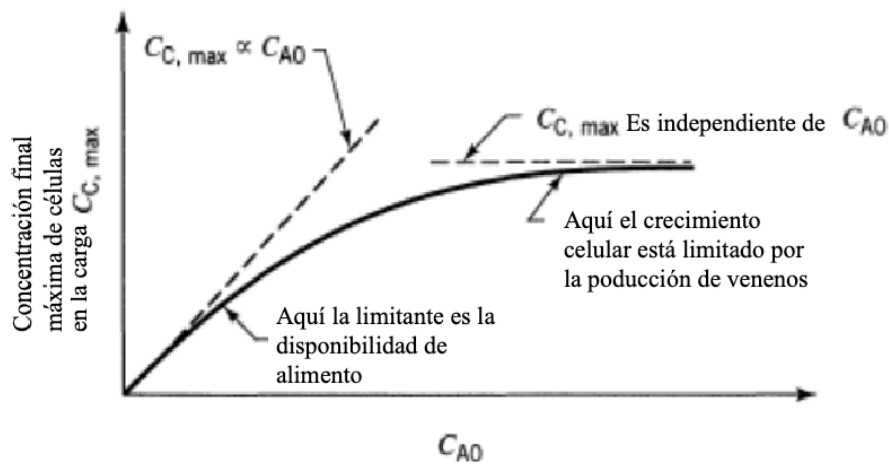
Figura 10. Mecanismo de crecimiento de los microorganismos limitado por envenenamiento



(Levenspiel, 2016)

La concentración final de los microorganismos siempre es la misma, sin importar la concentración inicial de sustrato ya que la velocidad de crecimiento de las células es distinta, este se basa en el control del sistema que se tenga en cada uno y la nutrición de estos. Este caso se basa en la producción de producto ya que con forme la reacción se da, los productos aumentan y la reacción disminuye la velocidad hasta parar por completo (Pérez, 2017).

Figura 11. Mecanismo de crecimiento de los microorganismos de manera general



(Levenspiel, 2016)

Para una concentración inicial de sustrato en un proceso batch, el crecimiento máximo de células posibles es representado en este gráfico donde se presenta el caso por sustrato y el caso por envenenamiento en ambas (Levenspiel, 2016).

4. Fase de muerte

Esta es la última fase del ciclo de vida de los microorganismos, donde estos ya envejecieron al punto en el que ya no son capaces de reproducirse ni de reaccionar para producir alcohol, por lo que se mueren poco a poco con el tiempo (Pérez, 2017).

Después de alcanzar la fase estacionaria, las células permanecen vivas por un breve tiempo luego, comienzan a morir. En algunos casos, esta fase es acompañada por lisis celular real. Esta fase tiene un comportamiento exponencial, pero con una velocidad celular más lenta que la de crecimiento exponencial (Levenspiel, 2016).

5. Modelo de Monod

La ecuación de Monod es una expresión muy utilizada para el efecto que tiene la concentración del sustrato en μ . Esta ecuación es una expresión empírica que se basa en la ecuación normalmente asociada con la cinética enzimática o adsorción de gas (Lee, 1992).

Ecuación 2. Modelo Monod

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

Donde

C_S es la concentración de sustrato limitante

K_S es el coeficiente de afinidad del sustrato

μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento celular (Levenspiel, 2016)

Este modelo simplifica el comportamiento del crecimiento celular pero también es usado para predecir el comportamiento durante toda la cinética de fermentación cuando las concentraciones de los componentes que inhiben el crecimiento celular son bajos. Monod también establece que un aumento en la concentración del nutriente después de haber alcanzado la velocidad máxima en el crecimiento no afecta la tasa de crecimiento específica pero la tasa de crecimiento específico disminuye conforme aumenta la concentración de sustrato más allá de cierto nivel (Lee, 1992).

a. Efecto de los desechos nocivos

La producción de productos afecta el crecimiento celular, la manera en la que Monod lo explica es por medio de un coeficiente (k_{obs}) que decrece al aumentar la concentración de productos (P). La Ecuación 3 lo ejemplifica (Levenspiel, 2016).

Ecuación 3. Efecto de los productos en el modelo de Monod

$$k_{obs} = k \left(1 - \frac{C_P}{C_P^*} \right)^n$$

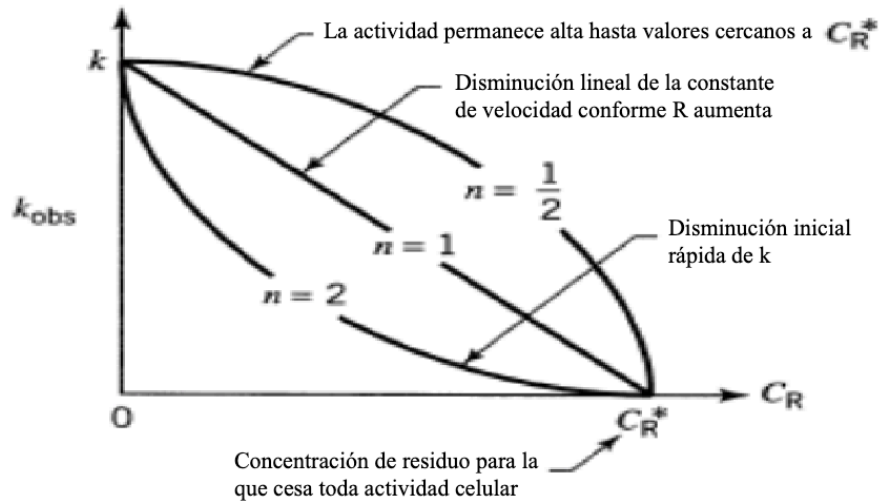
Donde:

k es el coeficiente de cambio en la ausencia de desechos nocivos

n es el orden de envenenamiento por productos

C_p^* es la concentración de productos dónde la actividad celular paró. En este caso $k_{obs} = 0$ (Levenspiel, 2016)

Figura 12. Comportamiento del coeficiente de Monod con el envenenamiento por productos.



(Levenspiel, 2016)

En un proceso por lotes, se tiene que inicialmente la concentración de sustrato (C_S) es alta y la de los microorganismos (C_C) es baja. Con el paso del tiempo, la concentración de los microorganismos tienden a cero por lo que la tasa máxima de concentración se describe en la Ecuación 4, donde se recomienda tener un flujo mixto para tener una concentración de sustrato adecuada en todo el proceso (Pérez, 2017).

Ecuación 4. Tasa máxima de concentración de sustrato

$$C_{S_{m\acute{a}x.}} = \sqrt{C_M^2 + C_M \left(C_{S_0} + \frac{dC_C}{dC_S} C_{C_0} \right)} - C_M$$

6. Técnicas de linealización

a. Lineweaver-Burk

La ecuación de Michaelis-Menten se puede colocar de otra forma para facilitar la expresión de los datos experimentales tomando dobles recíprocos de la ecuación se tiene lo siguiente:

Ecuación 5. Linealización de Lineweaver-Burk

$$V_o = \frac{V_{max} C_S}{K_M + C_S}$$

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M + C_S}{V_{max} C_S}$$

$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{C_S} \right) + \frac{C_S}{V_{max} C_S}$$

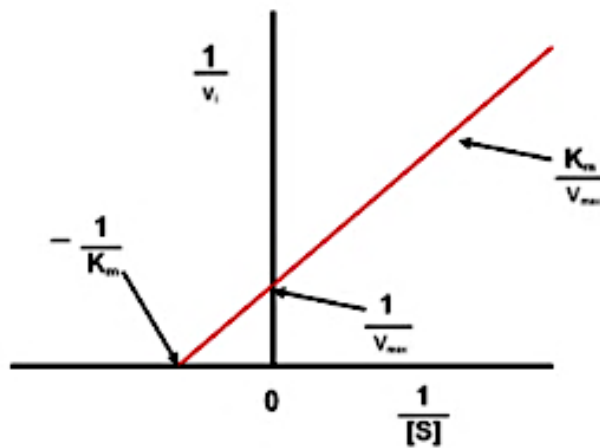
$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{C_S} \right) + \frac{1}{V_{max}}$$

Se grafica $1/V_{max}$ contra $1/C_S$ para determinar los parámetros K_M y V_{max} donde el punto de corte con el eje de las ordenadas es equivalente a la inversa de V_{max} y el corte con el eje de las abcisas es igual a $-1/K_M$.

Donde:

K_M/V_{max} es la pendiente

Figura 13. Linealización de Lineweaver-Burk



(Nacional, 2010)

b. Eadie-Hofstee

Otro tipo de transformación de la ecuación de Michaelis-Menten en donde se multiplica V_{max} la ecuación de Lineweaver. En este se grafica V contra V/C_S donde se identifica los parámetros cinéticos de K_M y V_{max} . Donde V_o es la velocidad de reacción.

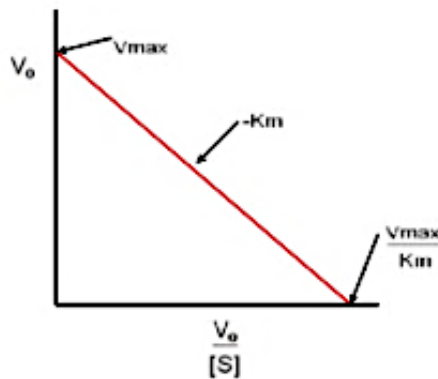
Ecuación 6. Linealización de Eadie-Hofstee

$$V_o C_S = V_{max} C_S - K_M V_o$$

$$V_o = \frac{V_{max} C_S}{C_S} - \frac{K_M V_o}{C_S}$$

$$V_o = V_{max} - K_M \frac{V_o}{C_S}$$

Figura 14. Linealización de Eadie-Hofstee



(Nacional, 2010)

c. Agustinson

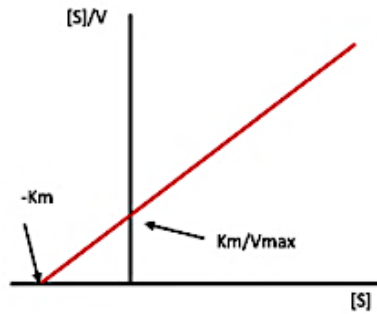
Este tipo de linealización se representa graficando C_S/V_o contra C_S donde sólo se compone la ecuación de Michaelis-Menten pero no se multiplica nada.

Ecuación 7. Linealización de Agustinson

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M + C_S}{V_{max} C_S}$$

$$\frac{C_S}{V_o} = \frac{K_M}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} C_S$$

Figura 15. Linealización de Augstinson



(Nacional, 2010)

I. MÉTODOS ANALÍTICOS

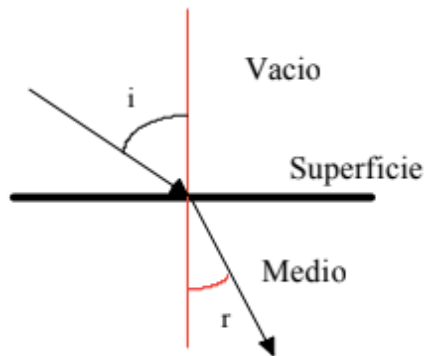
a. Refractómetro

El fenómeno de la refracción consiste en la desviación de la trayectoria que sufre un haz de radiación monocromática al pasar desde el vacío a otro medio material de distinta densidad. A nivel molecular este fenómeno se debe a la interacción entre el campo eléctrico de la radiación y los electrones de las moléculas, originándose temporalmente momentos dipolares inducidos (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

Ecuación 8. Índice de refracción

$$n = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r}$$

Figura 16. Representación de de la refracción de luz



(Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

J. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

1. Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama

Es una técnica muy común con un uso muy aplicado en petroquímicos, fármacos y gas natural. Utiliza una llama de aire o hidrógeno oxidando las moléculas orgánicas de la muestra produciendo partículas con carga eléctrica. Estos iones se recogen y se produce una señal eléctrica la cual es medida por un programa. Es muy sensible a las impurezas de hidrocarburo del suministro de hidrógeno y aire de la llama, aumentando el ruido de la línea base y reduciendo la sensibilidad del detector (Metállicos, 2019).

2. Cromatógrafo líquido de alta resolución

La fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. La separación cromatográfica es el resultado de las interacciones específicas entre las moléculas de la muestra en ambas fases. La difusión es de 10^4 veces menor que en gases por lo que se realiza en columnas empacadas (Belmonte, 2016).

Este equipo se puede aplicar en la separación de cualquier compuesto que sea soluble en una fase líquida, es más versátil y la retención de solutos depende de la interacción con la fase móvil y la fase estacionaria. Pero, está sujeta a mayor ensanchamiento de bandas, tiene una menor resolución que el cromatógrafo de gases y se utilizan altas presiones de trabajo (Belmonte, 2016).

Este equipo debe de estar alejado de ventanas y de líquidos y sus condiciones de operación son:

Cuadro 5. Condiciones de operación del HPLC

Descripción	Valor
Temperatura de operación (°C)	0 – 55
Línea de voltaje (V.AC)	100, 120 o 220

(Belmonte, 2016)

Aplicaciones:

- **Fármacos:** Antibióticos, sedantes y analgésicos
- **Bioquímica:** Proteínas, carbohidratos y lípidos
- **Industria alimenticia:** Edulcorantes artificiales, antioxidantes y aditivos

- **Industria química:** Tenso activos, colorantes y aromáticos
- **Química forense:** Drogas, narcóticos y venenos
- **Medicina clínica:** Metabolitos de drogas, extractos de orina y estógenos

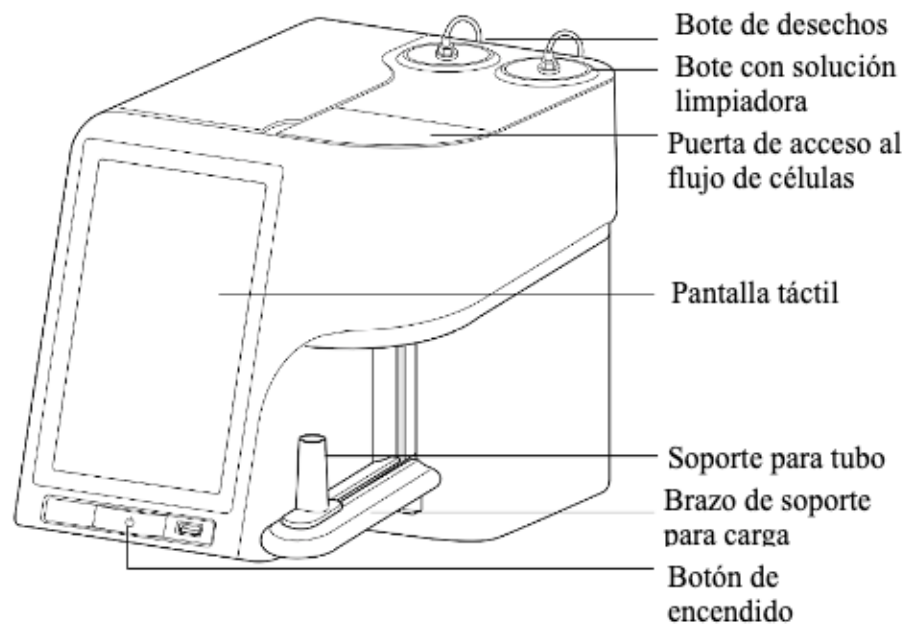
K. EQUIPOS ESPECIALES DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

1. Analizador de células MUSE de marca Millipore Sigma

Recientemente la Universidad del Valle de Guatemala ha adquirido un equipo analizador de células con detección de fluorescencia y tecnología micro capilar que proporciona análisis cuantitativos de la células en suspensión y de células en adheridas en un diámetro de 2 a 60 micrómetros. El equipo se muestra en la Figura 40.

El MUSE cuenta con un láser que cumple con la FDA para la salud de radiología con una operación de 532-nm de longitud de onda y con una potencia máxima de 23 mW. El límite que tiene este equipo es que es de uso exclusivamente para investigación, es decir, no se puede usar para diagnósticos o para procedimientos terapéuticos.

Figura 17. Equipo Muse con sus partes



(EDM Millipore Corporation, 2016)

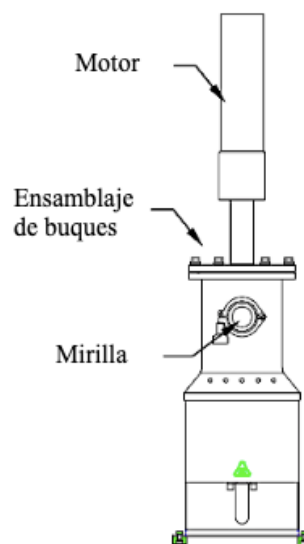
2. Fermentador BioFlo 415

El BioFlo 415 es un fermentador versátil con esterilización en el lugar (SIP) que proporciona un sistema equipado de manera compacta. Se puede utilizar tanto en procesos por lotes como continuos con controles de pH, oxígeno disuelto (OD), agitación, temperatura, anti espuma, entradas y salidas analógicas / digitales y alimentación de bombas (Scientific, 2008).

El equipo cuenta con un recipiente de volumen efectivo de 15 L de acero inoxidable, con una mirilla en la parte frontal con impulsores Rushton y agitadores magnéticos. Tiene puertos en la parte superior para los siguientes usos: inoculación, adición de bases y ácidos, un termopozo para una resistencia con detector de temperatura (RTD), un tubo de muestreo, un condensador de escape y electrodos de pH y OD (Scientific, 2008).

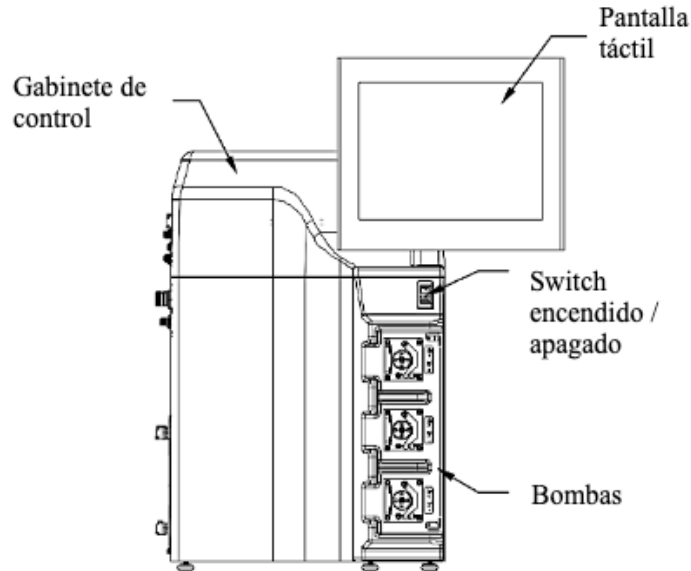
El motor conectado para la agitación tiene un rango de 50 a 1000 rpm con un sistema de control que asegura la velocidad de agitación con una incertidumbre del ± 1 al ± 5 rpm. La temperatura se puede seleccionar entre $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una incertidumbre de $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se controla por medio de un software. Por último, el control del pH varía entre 2 y 12 con una incertidumbre de ± 0.01 y se controla por medio de un software que está conectado con las bombas peristálticas que controlan el pH por medio de adición de base o ácido (Scientific, 2008).

Figura 18. Partes del recipiente del fermentador BioFlo 415 ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



(Scientific, 2008)

Figura 19. Cabina de control y pantalla táctil en el fermentador BioFlo 415 del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



(Scientific, 2008)

L. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

Esta técnica determina como diferentes valores de una variable que es independiente impacta en otra variable dependiente bajo un conjunto de supuestos. Este observa como la incertidumbre en el resultado de un modelo matemático puede asignarse a diferentes fuentes en sus variables de entrada. Sus límites dependen de una o más variables de entrada. Al tener un rango de variables, este tipo de análisis puede predecir el resultado de una decisión. Otra forma en que se puede referir a este análisis es como análisis de simulación ya que al crear un conjunto dado de variables, un analista puede determinar cómo los cambios de una variable afectan el resultado (Pannell, 1997).

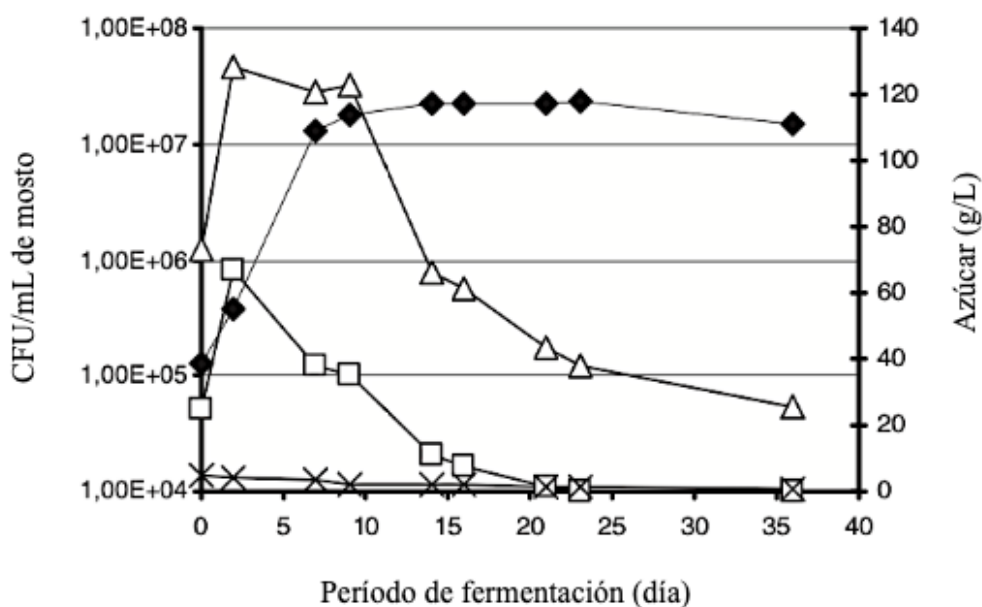
V. ANTECEDENTES

A. PRINCIPALES AZÚCARES EN LA FERMENTACIÓN DE FRUTOS ROJOS, SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA

1. Para la fresa

Según el artículo *Chemical and microbial changes during the natural fermentation of strawberry tree fruits*, los azúcares presentes en la fresa son la glucosa, sacarosa y fructosa con porcentajes de 2.5%, 4.5% y 7.3% respectivamente iniciales para una fermentación.

Figura 20. Evolución de la levadura (♦) y los cambios en el consumo de los azúcares (glucosa [□], sacarosa [×] y fructosa[Δ]) durante la fermentación de la fresa



(Cavaco, Longuinho, Quintas, & De Carvalho, 2006)

2. Para la mora

Según el estudio de azúcares realizado por E.Kafkas en la universidad de Çukurova, la fructosa es el azúcar dominante comparado con los otros tipos de azúcares presentes en esta fruta. La sacarosa es la más baja debido a que esta se puede invertir durante el proceso de fermentación.

Figura 21. Azúcares presentes en las moras determinado por HPLC datos en (mg/g de extracto)

Genotipos	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Total de azúcares
Navaho	33.8 ± 0.3 ^a	26.1 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.1 ^a	62.5 ± 0.6 ^a
C. Thornless	25.1 ± 102 ^c	16.9 ± 0.4 ^c	1.5 ± 0.2 ^c	43.6 ± 1.9 ^c
Jumbo	25.5 ± 0.5 ^c	16.6 ± 0.6 ^d	1.4 ± 0.2 ^{cd}	43.5 ± 1.4 ^c
Bursa 2	21.1 ± 0.8 ^d	15.8 ± 0.8 ^e	1.2 ± 0.1 ^d	38.2 ± 1.1 ^c
Loch Ness	30.2 ± 1.8 ^b	20.3 ± 1.3 ^b	2.0 ± 0.6 ^b	52.5 ± 0.3 ^b

*Los valores de (mg/g) son expresados como medias ± su desviación estándar.

a, b, c, d, e son diferencias estadísticas con $p < 0.05$ y $n = 3$.

(Kafkas, 2005)

3. Para la frambuesa

En el artículo *Fermentative behavior of saccharomyces strains during microvinification of raspberry juice*, se observa como los azúcares presentes en la producción de bebida fermentada de frambuesa son sólo glucosa, sacarosa y fructosa. Dónde el azúcar más presente es la sacarosa seguida por la glucosa y por último, la fructosa con valores de 72.29 g/L, 36.74 g/L y 34.33g/L respectivamente.

Figura 22. Concentración (g/L) de azúcares, ácidos orgánicos, glicerol y etanol en el jugo de frambuesas y en bebida fermentada de frambuesa

Compuestos	Jugo	VR-1	PE-2	61671A	BG	UFLA FW 1183	UFLA FW 1174	SA	UFLA CA 11	UFLA FW 1185	UFLA FW 187	UFLA CA 155	UFLA FW 15	CAT-1	UFLA EU 60.1	S. Bayanus CBS 1505	UFLA FW 1162
Glicerol	ND	10.11 (0.20)	6.54 (0.12)	5.86 (0.42)	6.80 (0.21)	6.90 (0.35)	4.45 (0.26)	9.02 (0.44)	5.57 (0.51)	7.45 (0.07)	7.74 (0.34)	7.06 (0.17)	7.04 (0.11)	7.04 (0.14)	6.42 (0.10)	6.90 (0.15)	4.68 (0.22)
Etanol	ND	71.50 (0.62)	69.34 (0.47)	71.70 (4.32)	71.5 (2.65)	69.77 (5.34)	62.30 (1.89)	68.92 (4.01)	58.92 (2.45)	63.76 (3.12)	70.21 (3.21)	64.26 (1.65)	69.62 (2.71)	66.78 (3.41)	56.94 (0.99)	66.26 (1.57)	55.49 (3.04)
Ácido succínico	3.57 (0.23)	6.20 (0.09)	2.58 (0.19)	7.26 (0.76)	5.79 (0.31)	5.70 (0.23)	6.36 (0.34)	6.00 (0.36)	6.22 (0.32)	5.30 (0.18)	6.07 (0.39)	5.16 (0.43)	7.07 (0.81)	5.31 (0.18)	6.13 (0.26)	5.31 (0.33)	5.46 (0.10)
Ácido acético	ND	2.27 (0.12)	0.72 (0.21)	0.87 (0.11)	0.71 (0.09)	0.88 (0.05)	0.86 (0.03)	1.03 (0.14)	1.03 (0.04)	0.79 (0.04)	1.15 (0.13)	0.52 (0.10)	0.58 (0.09)	0.69 (0.01)	0.43 (0.03)	0.67 (0.09)	0.38 (0.01)
Ácido málico	2.11 (0.08)	0.61 (0.06)	0.54 (0.08)	1.39 (0.34)	0.67 (0.12)	1.34 (0.07)	0.94 (0.02)	0.38 (0.10)	0.22 (0.00)	0.77 (0.08)	0.29 (0.04)	0.32 (0.03)	0.62 (0.00)	0.12 (0.02)	0.21 (0.03)	0.11 (0.00)	0.70 (0.11)
Sacarosa	72.29 (3.26)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10.93 (0.59)
Glucosa	36.74 (1.93)	ND	ND	ND	ND	ND	0.40 (0.00)	ND	0.30 (0.06)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.38 (0.74)
Fructosa	34.33 (1.36)	1.50 (0.11)	0.34 (0.12)	0.31 (0.12)	0.13 (0.03)	0.41 (0.01)	2.17 (0.19)	0.48 (0.03)	0.92 (0.09)	0.28 (0.03)	0.34 (0.02)	0.23 (0.03)	0.67 (0.05)	0.27 (0.04)	0.17 (0.01)	1.58 (0.19)	9.78 (0.40)

*Valores entre paréntesis corresponden a las desviaciones estándares

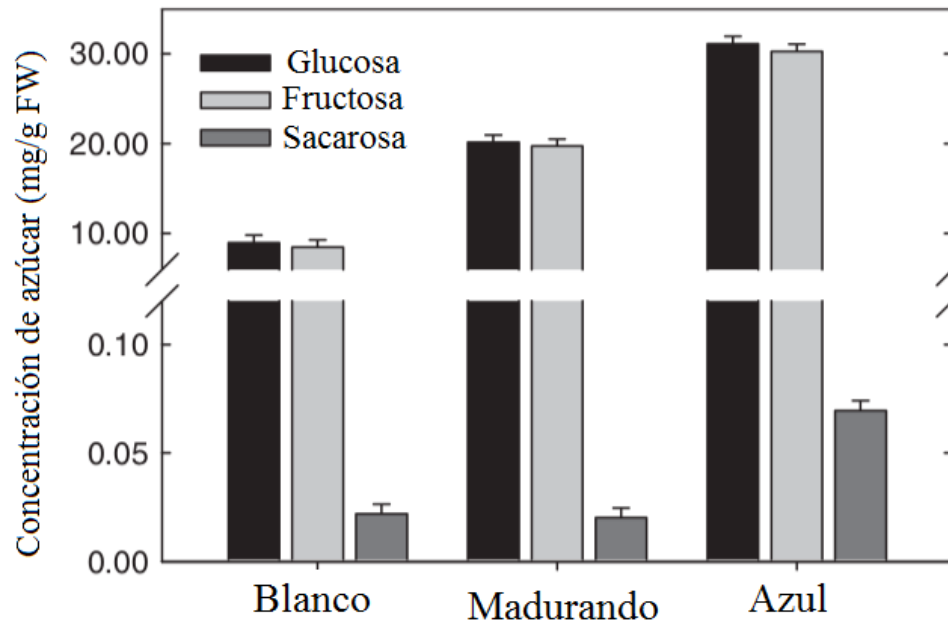
*ND significa valor No Detectado

(Duarte, 2010)

4. Para el arándano

Charles y Wilhelmina determinaron que los azúcares presentes en el arándano son glucosa, fructosa y sacarosa. Los primeros dos se encuentran en cantidades iguales, en cambio la sacarosa es menor debido a que esta sufre de inversión por la enzima invertasa.

Figura 23. Concentración promedio de azúcares en los distintos tiempos de maduración en el arándano



(Forney & Kalt, 2012)

B. PRODUCCIÓN DE VINO EN GUATEMALA

Distribuidora Marte y Distribuidora Alcazarén son los principales importadores y distribuidores de bebidas alcohólicas, denominando el mercado de vinos y beneficiándose de la distribución de firmas internacionales.

El vino no es un producto tradicional guatemalteco por no haber producción local. Sin embargo, las importaciones de vino han ido aumentando con los años de manera constante y los consumidores son, en su mayoría, de clase media-alta con una gran disposición de disfrutar de una bebida “sofisticada” como el vino.

Los consumidores buscan una buena relación de calidad y precio en el vino por lo que los vinos de calidad media y con precio medio son los más populares. El vino tinto y el blanco tienen un crecimiento en el consumo debido al crecimiento de jóvenes que consumen y exploran alternativas de bebidas alcohólicas más conocidas en el país.

El vino es percibido como una bebida sofisticada con la que se puede adaptar a muchas ocasiones y presupuestos. Estos consumidores buscan de manera constante las nuevas experiencias y sabores.

Figura 24. Evolución de las ventas de vino en Guatemala por categoría del 2014 al 2018

Categoría	2014	2015	2016	2017	2018	%Variación (2018/2017)
22041000						
Vino espumoso	1.175	1.060	1.118	908	1.379	52%
22042100						
Vino en recipientes con capacidad inferior o igual a 2L	8.396	8.517	8.862	8.944	10.199	14%
22042200						
En envases de capacidad superior a 2L	0	0	0	18	16	-13%
22042900						
Demás Vinos	1.393	640	1.200	10892	742	-61%
2204300						
Demás mostos de uva	29	10	35	12	49	306%
Total Ventas Vino	10.993	10.228	11.214	11.775	12.385	5.2%

Según BANGUAT, las ventas de vino en Guatemala aumentaron 5.2% en los años 2017 y 2018.

La MAGA y el ICTA realizaron estudios de pre-factibilidad a cargo de técnicos españoles para los cultivos de uvas en Guatemala para la producción de vinos y se determinó que el único vino producido totalmente en Guatemala se llama Château De Fay y puede ser tinto, blanco o rosado. Está elaborado con mezclas de las uvas más conocidas, Cabernet Sauvignon, Merlot y Shiraz para tintos. Para blancos la mezcla es de Pinot Gris y Riesling. Los vinos que produce Château De Fray son: Angie's Blend, Chardonnay, White Merlot y Cabernet Sauvignon. (Ramos, 2019)

C. NORMAS APLICABLES A LAS BEBIDAS FERMENTADAS

1. Agua

El agua tiene que tener unas características específicas para que pueda ser denominada como potable y apta para el consumo humano, es por ello que se estableció una norma que abarca toda agua para el consumo humano, preparación de alimentos y uso doméstico que proviene de pozos, nacimientos, ríos entre otras y que puede estar en una red de distribución, reservorios o depósitos. Esta norma excluye el agua purificada envasada y el agua carbonatada, las cuales son cubiertas por otras normas.

Figura 25. Límites permisibles y aceptables según la norma COGUANOR 29001

Descripción	LMA	LMP
pH	7.00	8.00
Solidos disueltos totales	500.00	1,000.00
Conductividad eléctrica	750.00	1,500.00
Color aparente	5.00	35.00
Turbidez	5.00	15.00
Calcio	75.00	150.00
Magnesio	50.00	100.00
Dureza total	100.00	500.00
Cloro	100.00	250.00
Cloro residual	0.50	1.00
Nitratos	-	50.00
Nitritos	-	3.00
Sulfatos	100.00	250.00

(COGUANOR, 2001)

2. Bebidas alcohólicas

Debido a que Guatemala no tiene una norma específica para las bebidas alcohólicas a partir de frutos, se utilizó una norma mexicana en donde según la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014, para ser considerado una bebida fermentada natural, se tiene que cumplir con los siguientes requerimientos.

Cuadro 6. Clasificación general de bebidas alcohólicas según la norma mexicana NOM-142-SSA1/SCFI-2014

Clasificación	Contenido alcohólico %(m/v)
Bebidas alcohólicas fermentadas	2% a 20%
Bebidas alcohólicas destiladas	32% a 55%
Licores o cremas	13,5% a 55%
Cocteles	12% a 32%
Bebidas alcohólicas preparadas	2% a 12%

Cuadro 7. Especificaciones de la bebida fermentada con sus límites de acuerdo a la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014

Especificaciones	Límites	
	Mínimo	Máximo
Contenido de alcohol a (20 °C) (% m/v)	3	6
Extracto seco (g/L)	12	–
Cenizas (g/L)	1	–
Azúcares o azúcares reductores totales (g/L)	–	90
Metanol (mg/100mL de alcohol anhidro)	-	300
Acidez total (como ácido málico en g/L)	3,5	7,5
Acidez tolátil (como ácido acético en g/L)	–	1,2
Densidad relativa a 20 °C	1,01	1,045
Bióxido de azufre libre (mg/L)	–	100
Bióxido de azufre total (mg/L)	–	300

Especificaciones	Límites	
	Mínimo	Máximo
Presión de CO ₂ a 293 K (20 °C) (kPa)	–	294
Volúmenes de CO ₂ disueltos (Vol. de CO ₂ /vol. Del líquido)	–	5
$\delta^{13}C_{VPDB}$	-29	-26

Cuadro 8. Clasificación de un vino o bebida fermentada según su cantidad de azúcares residuales según la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014

Tipo de bebida fermentada	Azúcar total (g/L)
Seco	≤ 4
Semi seco	$9 < x \leq 12$
Semi dulce	$12 < x \leq 45$
Dulce	> 45

(NOM142-SSA1/SCFI, 2014)

La fermentación alcohólica es el procedimiento por el cual las levaduras transforman azúcar en alcohol, siendo el principal el etanol con una proporción aproximada de 1° alcohol por cada 17g de azúcar metabolizada, obteniéndose además otros productos secundarios (Crealiza, 2019).

D. LEVADURA LALVIN EC-1118

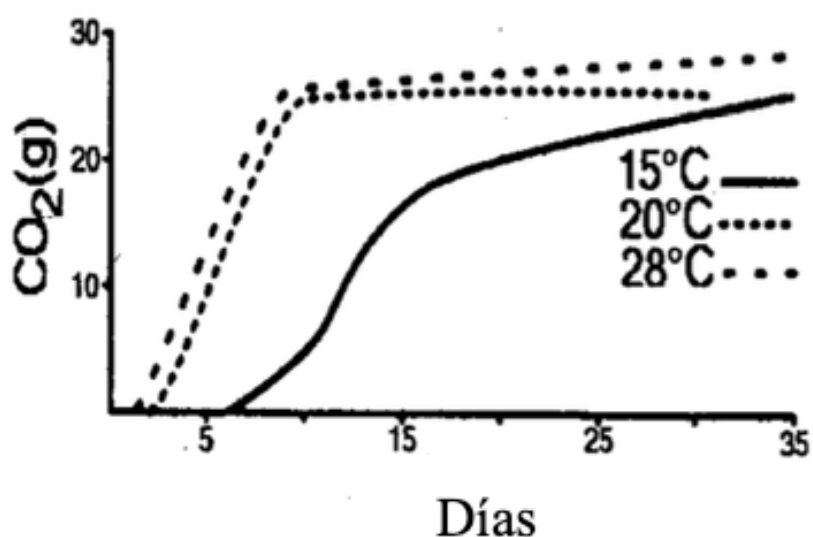
El uso de esta levadura está validado por CIVC, tiene la habilidad de fermentar a bajas temperaturas con buenas fluctuaciones y una excelente tolerancia al alcohol por lo que se recomienda su uso para producción de bebidas fermentadas.

Cuadro 9. Características microbiológicas y enológicas de la levadura Lalvin EC-1118

Descripción	Valor
Cepa	Saccharomyces Cerevisiae Bayanus
Factor	Competitivo
Tolerancia al alcohol	Hasta 18% (%m/v)
Fase lag	Corta
Rango de temperaturas de fermentación	15 °C a 30 °C

Descripción	Valor
Requerimiento de nitrógeno	Bajo
Requerimiento de oxígeno	Bajo
Producción de ácidos volátiles	Bajo
Producción de espuma	Bajo
Rango de pH	3 a 5

Figura 26. Comportamiento de los microorganismos a distintas temperaturas



(Lalvin, 2008)

E. LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

1. Experimentos realizados en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala

En la Universidad del Valle de Guatemala se realizan fermentaciones alcohólicas en el Departamento de Ingeniería Química como parte del aprendizaje en el último año de la carrera de Ingeniería Química. Las opciones a fermentar son naranja, manzana, piña, almidón y azúcar de caña y se tiene el propósito de generar alcohol con una concentración mínima del 80% (v/v) a partir de la fermentación alcohólica.

Se realizó una fermentación alcohólica con una relación (40:60) de naranja y solución de agua y azúcar al 15% (m/v) y se obtuvo los comportamientos siguientes:

Figura 27. Concentración de etanol con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a condiciones de temperatura de 28 °C y agitación de 100 rpm para una fermentación alcohólica a partir de naranja utilizando la cepa Lalvin EC-1118

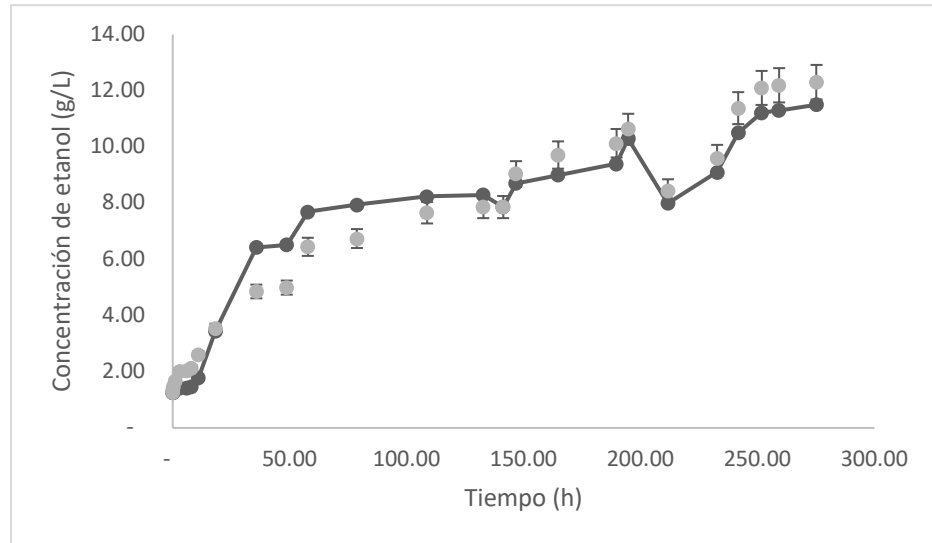


Figura 28. Concentración de sustrato con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a 28 °C y 100 rpm para una fermentación alcohólica partiendo de naranja utilizando una cepa Lalvin EC-1118

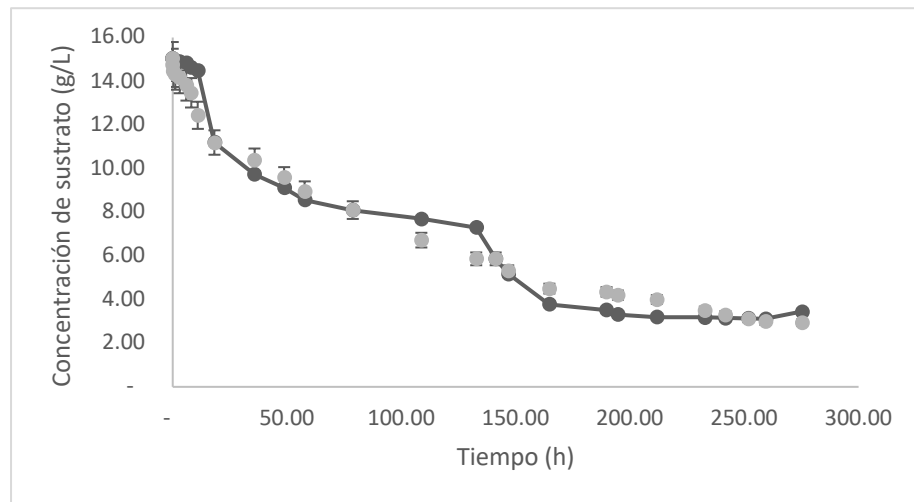
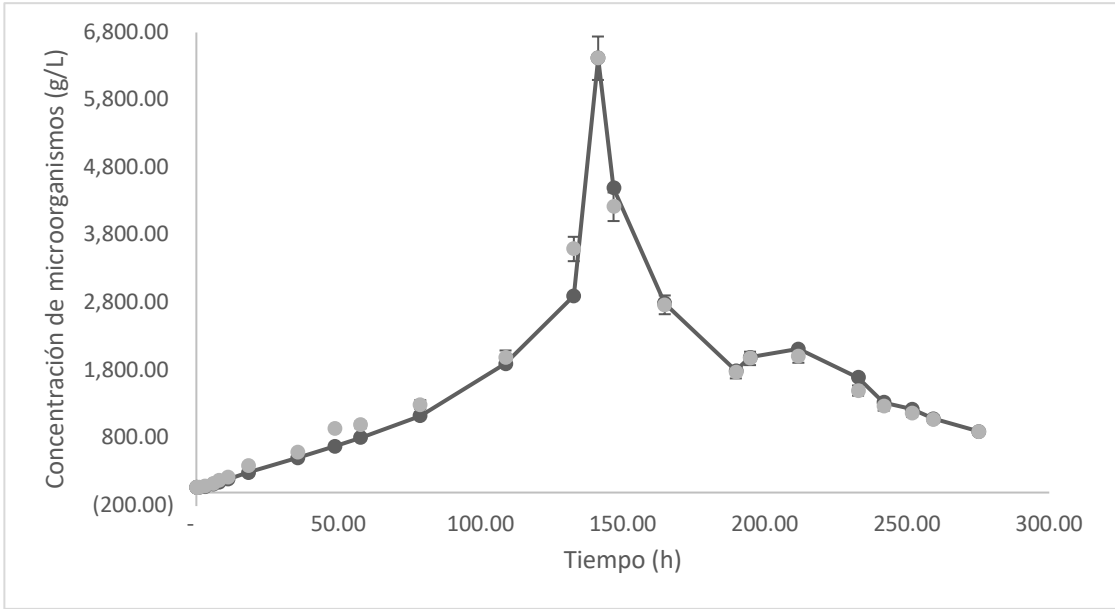


Figura 29. Concentración de microorganismos con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a 28 °C y 100 rpm para una fermentación alcohólica a partir de naranja utilizando una cepa Lalvin EC-1118



VI. METODOLOGÍA

A. EQUIPOS, REACTIVOS Y CRISTALERÍA

1. Caracterización de frutos rojos y jugo

- a. Congelador marca White-Westinghouse mostrado en la Figura 49 en Anexos
- b. Agua potable con las características descritas en la Figura 25
- c. Desinfectante de frutas marca Sanavida
- d. Manta para filtrar mostrado en la Figura 54 en Anexos
- e. Prensa hidráulica marca Carver 3850-0C mostrado en la Figura 45 en Anexos
- f. Recipientes de vidrio de boro silicato con fondo plano resistentes al calor de 500 mL.
- g. Potenciómetro marca Fisher Scientific AB15 Plus mostrado en la Figura 48 en Anexos.
- h. Picnómetro de 25 mL marca Pyrex mostrado en la Figura 53 en Anexos.
- i. Refractómetro con baño térmico marca Thermo Scientific mostrado en la Figura 47 en Anexos.
- j. Autoclave Market Forge Sterilmatic mostrado en la Figura 46 en Anexos.
- k. Fresas tipo Cartuno con tipo de madurez 6 mostrado en la Figura 61 en Anexos.
- l. Moras tipo Brazoz con tipo de madurez 6 mostrado en la Figura 62 en Anexos.
- m. Frambuesas tipo Herritage con tipo de madurez 6 mostrado en la
- n. Figura 63 en Anexos.
- o. Arándanos tipo ojo de conejo con tipo de madurez 5 mostrado en la Figura 64 en Anexos.

2. Preparación de inóculo

- a. Agua potable con las características descritas en la Figura 25 en Anexos.
- b. Azúcar blanca granulada marca Caña Real.
- c. Levadura Lalvin EC-1118 mostrado en la Figura 55 en Anexos con especificaciones mostradas en el Cuadro 9.
- d. Matraz de vidrio de 2 L marca Pyrex
- e. Globo de látex de 17.5 cm de largo y 25.0 cm ancho mostrado en la Figura 38

3. Fermentación y caracterización de la bebida fermentada

- a. Reactor de fermentación marca BioFlo 415 Benchtop SIP mostrado en la Figura 51

- b. Tubos de ensayo de vidrio de 22 mL con rosca y tapa
 - c. Potenciómetro marca Fisher Scientific AB15 Plus mostrado en la Figura 48
 - d. Picnómetro de 25 mL marca Pyrex mostrado en la Figura 53 en Anexos.
 - e. Centrifugador “Weg CFW500 Vector” mostrado en la Figura 56
 - f. Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) marca Hewlett-Packard (HP) como se representa en la Figura 41
 - g. Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (GC/FID) marca Agilent con la columna DB-624 de longitud y diámetro de 50 m y 0.530 mm respectivamente. El rango del equipo es de -20 °C a 260 °C y se muestra en la Figura 42.
 - h. Analizador de Células “MUSE” representado en la Figura 40.
4. Validación de método MUSE
- a. Microscopio “Micromaster” Fisher Scientific con lente de aumento de 40 y se muestra en la Figura 50
 - b. Cámara contadora de células “Neubauer improved” Mariendfield de área 0.0025 mm² y profundidad de 0.100 mm

B. METODOLOGÍA GENERAL

1. Caracterización de los frutos rojos
- a. Se lavó la fresa, mora, arándano y frambuesa obtenida de tégpan para la fresa y mora y de supermercado La Torre para arándano y frambuesa, con los porcentajes de aporte del 30%, 30%, 35% y 5% respectivamente, por separado con agua y Sanavidas (aplicable sólo a la fresa) y se colocó en el congelador especificado anteriormente por un día. Antes de prensar, se sacó la fruta una hora antes para mejorar la concentración de los azúcares.
 - b. Con un día de anticipación se lavó con jabón y agua una manta para filtrar, y se dejó en remojo para eliminar los aprestos de esta.
 - c. Se limpió la prensa hidráulica para eliminar microorganismos presentes que puedan influir en la medición posterior.
 - d. Se prensó la fruta por separado con el uso de una prensa hidráulica y se colocó el jugo de estas en cuatro recipientes, uno por jugo de fruta, previamente esterilizado en el equipo autoclave a 100 °C por 30 minutos.
 - e. Se pasteurizó cada jugo por separado en el autoclave a 85 °C por 25 minutos, para evitar la interacción de otros microorganismos presentes en el experimento.

- f. Se caracterizó cada jugo por separado con análisis de pH, densidad e índice de refracción a una temperatura de 20 °C utilizando un baño térmico.
- g. Se realizó una mezcla homogénea de los jugos y se caracterizó de la misma manera que para los jugos por separado.

2. Inóculo

- a. Se realizó una solución homogénea con 650 mL de agua y 15 (% g/mL) de azúcar.
- b. Se agregó 12 g de levadura y se mezcló hasta su homogenización por medio de una agitación con una paleta de madera en un Erlenmeyer de 2 L.
- c. Se colocó una trampa de CO₂, como se muestra en la Figura 38 y se dejó en reposo en una mesa por un día a una temperatura promedio de 25 °C.

3. Fermentación

- a. Se utilizó un reactor fermentador con una capacidad operativa de 15 L del jugo mezclado.
- b. Se realizó una limpieza con agua tratada, con agitación automática a 150 rpm y realizar un ciclo de esterilización a una temperatura de 120 °C por cuatro horas.
- c. Se calibró el sensor de pH con las soluciones buffer de 4.0, 7.0 y 12.0 utilizando como base el potenciómetro ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de química de la Universidad del Valle de Guatemala. Luego, se vació el reactor para poder empezar a utilizarlo.
- d. Se agregó 15 L del jugo y se inició el ciclo de esterilización, este es de 30 minutos. Con una temperatura de 85 °C. Luego, se esperó a llegar a la temperatura deseada (28 °C) para agregar el inóculo.
- e. Se agregó el inóculo y se colocaron los parámetros de control de operación. Temperatura a 28 °C y agitación constante de 100 rpm proporcionando un número de Reynold de 1840 en régimen laminar. La temperatura establecida es debido a que la levadura trabaja de manera eficiente en un rango de temperatura de 15 °C a 48 °C.
- f. Se colocó el sensor de pH al sistema para mantener un control en todo momento.
- g. Se determinó el período de análisis de cada muestra, mostrada en la Figura 39 de manera de tener datos exponenciales en la fase de crecimiento.
- h. Se realizó una filtración por centrifugación y se determinó la masa seca de los microorganismos del inóculo. El equipo se encontró a 20 rev/s y por una hora para asegurar la separación de los sólidos suspendidos.

4. Análisis de alcohol microorganismos y azúcares
 - a. Se recolectaron muestras de 10 mL en tubos de ensayo y se refrigeró a 5 °C para disminuir la actividad microbiana y posterior a esto, realizar el conteo de microorganismos con el equipo de control de células *Muse cell Analyzer*, siguiendo la metodología del mismo.
 - b. Para cuantificar el contenido de etanol y metanol en cada una de las muestras, se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama.
 - c. Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución para cuantificar el contenido de alcoholes.
 - d. Se realizó una curva de calibración para determinar sacarosa, glucosa y fructosa con estándares de 3, 4, 12 y 15 (% m/v), obteniendo un R^2 de 0.99938 y se prepararon muestras en viales con un volumen de 5 mL.
5. Comparación del método MUSE con el método Rizhobia para conteo de microorganismos
 - a. Se realizó el procedimiento basado en el método de *Petroff-Hausser Counting Chamber* del libro Handbook for Rhizobia. Que consta de los siguientes pasos:
 - i. Se diluyó la muestra por un factor de 10 con agua destilada.
 - ii. Se colocó una gota de la muestra diluida en la celda “Neubauer improved” mostrada en la Figura 50.
 - iii. Se colocó la celda en el microscopio y realizar conteo de células en cuatro cuadros, se promedió y se realizó la ecuación del Cálculo 6.
 - iv. Se compararon los valores dados por el MUSE y por este y se determinó la variación del mismo.

C. METODOLOGÍA POR OBJETIVO

1. Azúcares fermentables
 - a. Después de realizar el paso B.4.d de la metodología general, se utilizó el cromatógrafo líquido HPLC utilizando viales de 2 mL con muestras de 1.5 mL.
 - b. Se graficó el comportamiento de los tres azúcares contra el tiempo y se observó su comportamiento para determinar la concentración de azúcares presentes y su forma diaúxica, multicomponentes o de un solo sustrato.

2. Cuantificación de alcoholes

- a. Se realizó una curva de calibración con estándares de etanol, metanol y el estándar interno de isopropanol con el equipo GC-FIS con un tiempo de elución de 12 minutos.
- b. Se tomaron muestras de 10 mL y se prepararon con 40% isopropanol. Se colocó en el cromatógrafo de gases con un tiempo de elución de 12 minutos por muestra.

3. Modelo matemático con respecto al sustrato

- a. Se graficó la concentración de microorganismos contra el tiempo y se determinó la fase de crecimiento y la fase de decrecimiento.
- b. Se realizó una linealización utilizando Lineweaver-Burk y se determinó velocidad máxima y la constante de afinidad al sustrato con la ecuación 11.
- c. Por medio de las ecuaciones de modelo, descritas en la sección de análisis de datos, se obtuvo las concentraciones de los microorganismos, sustratos y productos en todo momento y se realizó el modelo respectivo tanto para la fase de crecimiento como para la fase de decrecimiento celular (en donde se incluye las variables K_p y C_p para la fase de decrecimiento celular).

4. Células vivas y tendencia con el tiempo

- a. Se colocó en un vial de 2 mL una solución de agua destilada y muestra de bebida fermentada tomada con una relación (1:1).
- b. Se realizó el procedimiento del manual del contador de microorganismos “Cell Analyzer MUSE” de marca Millipore Sigma.
- c. Es importante mencionar que este procedimiento se realizó 3 veces.
- d. Con los datos obtenidos, se prosiguió con el Cálculo 5 que se encuentra en la sección de cálculos de muestra.
- e. Se realizó el modelo matemático con respecto al tiempo pero con enfoque a los microorganismos en lugar del sustrato.
- f. Se realizó el balance de masa del proceso y se puede encontrar en la Figura 66 y la Figura 67 n la sección de Anexos.

VII. RESULTADOS

Cuadro 10. Determinación de azúcar, densidad y pH de los jugos de frutas empleados en la formulación de cuatro frutos rojos para el mosto final a fermentar

Descripción	Azúcar ($\pm 0.01\%$ (m/v))	Densidad (± 0.0005 g/mL)	pH (± 0.001)
Jugo de fresa	4.03	1.0601	3.667
Jugo de mora	6.32	0.9960	2.954
Jugo de arándano	11.90	1.0171	3.048
Jugo de frambuesa	8.07	1.0033	2.879
Jugo sin azúcar agregado	7.81	1.0019	3.150
Jugo con azúcar agregado	25.40	1.1082	3.200

*Todos los frutos fueron procesados en una prensa hidráulica para extraer la pulpa por lo que los jugos son libres de pulpa. El jugo no modificado se refiere a la unión de todos los jugos de los frutos y el jugo modificado se refiere a cuando se agrega azúcar para su fermentación.

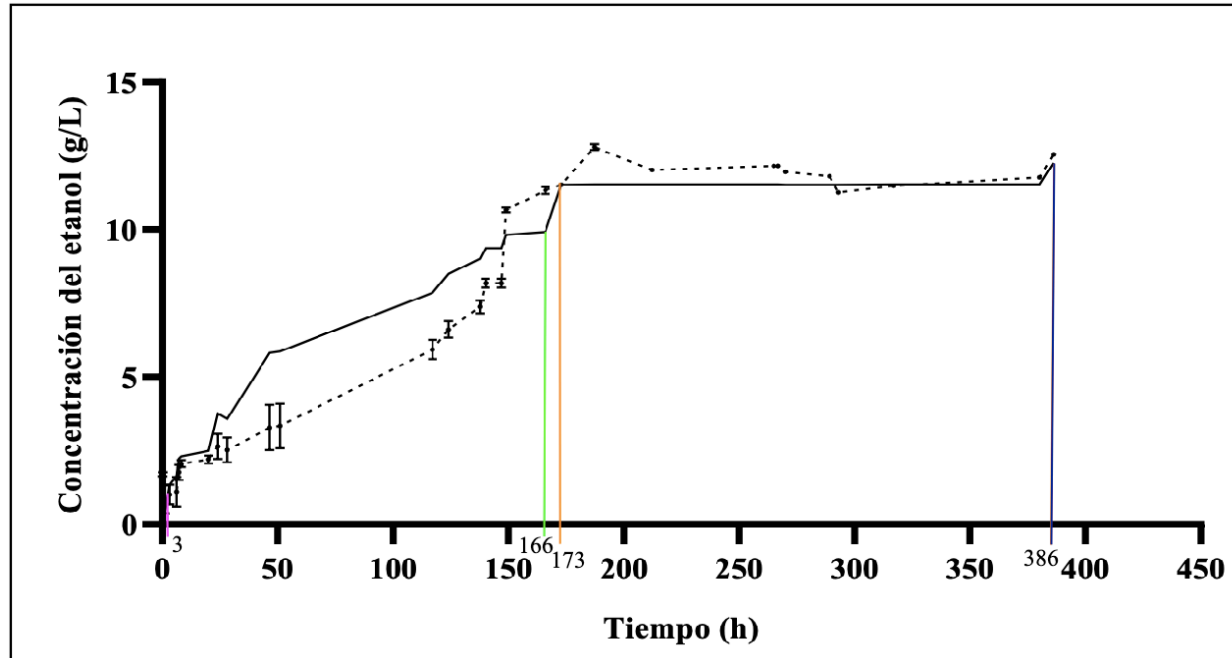
*Los frutos fueron adquiridos en distintos lugares, la fresa y mora proviene de Tecpán, los arándanos y las frambuesas del supermercado PriceMart. Se trabajó a una temperatura promedio de 25 °C y con distintos grados de madurez, para la fresa, mora y frambuesa de tipo 6 y para el arándano de tipo 5.

Cuadro 11. Concentración de azúcar agregada para tener un producto comercial de acuerdo con la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2014

Concentración de azúcar	Valor
Muestra final (± 0.00001 g/L)	5.95161
Azúcar agregada (± 0.0001 g)	1,281.5598
Muestra comercial (± 0.00001 g/L)	14.33542

*La muestra final se refiere al último punto tomado en la cinética en un plazo de cuatro semanas previo a su venta y donde la muestra comercial se refiere a la muestra con una mayor concentración de azúcares para cumplir con el mercado objetivo y poder comercializarlo.

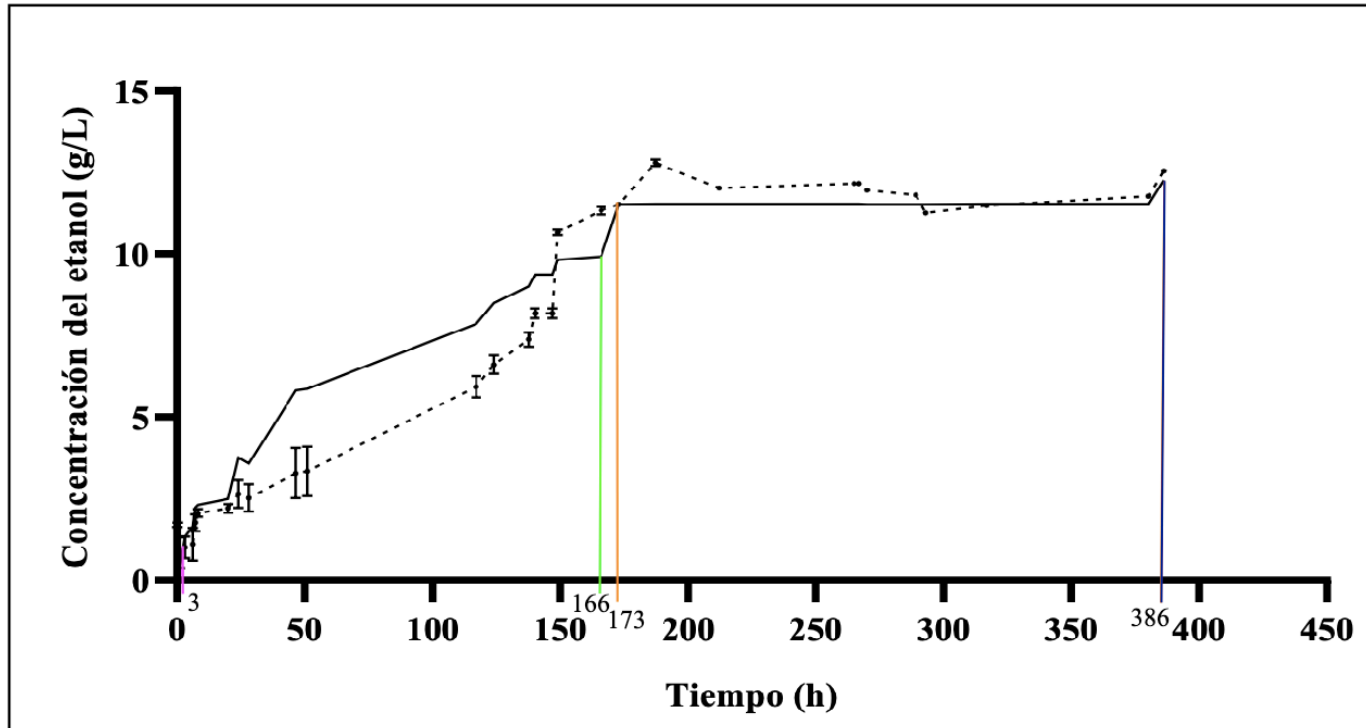
Gráfica 1. Concentración de etanol con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a 28 °C y 100 rpm para una fermentación alcohólica utilizando una cepa Lalvin EC-1118



*Representación gráfica del modelo y su comportamiento con respecto al etanol producido donde la línea sólida representa el modelo generado y la línea punteada representa los valores experimentales tanto en el proceso de crecimiento celular como en el decrecimiento de este. El proceso se realizó en el biorreactor BioFlo 415 con la metodología descrita anteriormente en la sección VII.B.3.

*La línea morada representa el fin del período de la fase lag en el crecimiento, la fase exponencial de crecimiento se encuentra entre la línea morada y la línea verde, la fase estacionaria de crecimiento se presenta entre las líneas verde y naranja, por último, la fase entre las líneas naranja y azul representa la fase de decrecimiento celular.

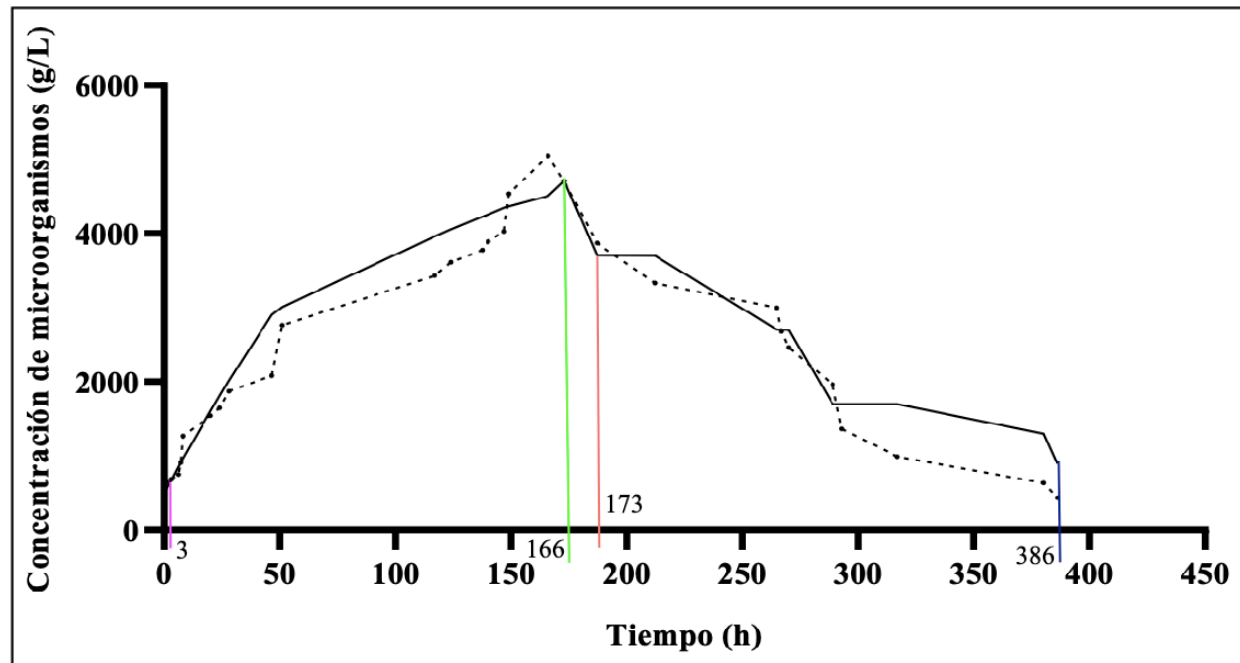
Gráfica 2. Concentración de azúcares fermentables con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a 28 °C y 100 rpm para una fermentación alcohólica utilizando una cepa Lalvin EC-1118



*Representación gráfica del modelo y su comportamiento con respecto al sustrato donde la línea sólida representa el modelo generado y la línea punteada representa los valores experimentales tanto en el proceso de crecimiento celular como en el decrecimiento de este. El proceso se realizó en el biorreactor BioFlo 415 con la metodología descrita anteriormente en la sección VII.B.3.

*La línea morada representa el fin del período de la fase lag en el crecimiento, la fase exponencial de crecimiento se encuentra entre la línea morada y la línea verde, la fase estacionaria de crecimiento se presenta entre las líneas verde y naranja, por último, la fase entre las líneas naranja y azul representa la fase de decrecimiento celular.

Gráfica 3. Comportamiento de los microorganismos con respecto al tiempo en el fermentador BioFlo 415 operando a 28 °C y 100 rpm para una fermentación alcohólica utilizando una cepa Lalvin EC-1118



*Representación gráfica del modelo y su comportamiento con respecto a los microorganismos donde la línea sólida representa el modelo generado y la línea punteada representa los valores experimentales tanto en el proceso de crecimiento celular como en el decrecimiento de este. El proceso se realizó en el biorreactor BioFlo 415 con la metodología descrita anteriormente en la sección VII.B.3.

*La línea morada representa el fin del período de la fase lag en el crecimiento, la fase exponencial de crecimiento se encuentra entre la línea morada y la línea verde, la fase estacionaria de crecimiento se presenta entre las líneas verde y naranja, por último, la fase entre las líneas naranja y azul representa la fase de decrecimiento celular.

Ecuación 9. Modelo cinético para la concentración de sustrato (azúcares fermentables) en fase de crecimiento a 28°C, empleando la cepa Lavin EC-1118

$$\frac{ds}{dt} = \frac{8.83 \times 10^{-6} C_s x}{22 + C_s}$$

Ecuación 10. Modelo cinético para la concentración de sustrato (azúcares fermentables) en fase de decrecimiento a 28°C, empleando la cepa Lalvin EC-1118

$$\frac{dS}{dt} = \frac{3.10 \times 10^{-5} C_s x}{-25 + C_s} * \frac{0.02}{0.02 + C_p}$$

Cuadro 12. Variaciones promedio del modelo al predecir la concentración del sustrato, microorganismos y etanol en fase de crecimiento a 28°C, empleando la cepa Lavin EC-1118

Descripción	Modelo generado	Dato experimental	%Error
Sustrato (± 0.00001 g/L)	17.18493	15.63642	9.90%
Microorganismo ($\pm 10\%$ g/L)	2,432.60	2,347.70	3.62%
Producto (± 0.00001 g/L)	4.92145	4.38108	12.33%

*El cuadro anterior muestra la predictibilidad que tiene el modelo para los datos experimentales en la fermentación alcohólica de una formulación de frutos rojos durante la fase de crecimiento celular.

Cuadro 13. Variaciones promedio del modelo al predecir la concentración del sustrato, microorganismos y etanol en la fase de decrecimiento celular a 28°C, empleando la cepa Lalvin EC-1118

Descripción	Modelo generado	Dato experimental	%Variación
Sustrato (± 0.00001 g/L)	5.88973	5.75346	2.37%
Microorganismo ($\pm 10\%$ g/L)	2,500.49	2,311.45	8.18%
Producto (± 0.00001 g/L)	11.59293	11.94783	2.97%

*El cuadro anterior muestra la predictibilidad que tiene el modelo para los datos experimentales en la fermentación alcohólica de una formulación de frutos rojos durante la fase de decrecimiento celular.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis presentado en este trabajo de graduación, se realizó con una fermentación alcohólica con un tiempo total de cuatro semanas para obtener una bebida fermentada a una concentración de alcohol de al menos 11% (m/v) y que fuera de una característica semi-seco o dulce, ya que al compararlo con un estudio de mercado realizado en Ciudad Cayalá (mostrado en la Figura 58), se concluyó que el mercado objetivo prefería una bebida fermentada de este tipo.

Además, se escogieron cuatro frutos rojos (fresa, frambuesa, mora y arándanos), ya que al iniciar con el proceso de formulación, se realizaron varias pruebas con distintos frutos y cantidades y con un estudio de mercado mostrado en la Figura 57, se concluyó que la más aceptada por el consumidor fue una mezcla de los frutos propuestos.

En el Cuadro 10 se presenta la cantidad de azúcares fermentables obtenidos en el jugo de cada fruto. Se observa que tiene la mayor cantidad de azúcares las tiene el jugo de arándano con un 11.90% (m/v), seguida por el jugo de frambuesa con un 8.07% (m/v), el jugo de mora con 6.32% (m/v) y por último, el jugo de fresa con 4.03% (m/v). Tomando en cuenta los costos de cada fruto, la empresa que proveyó la fórmula, realizó un desarrollo que satisface al consumidor en características y precio buscado. De manera que la formulación estándar que mezcla los jugos de las cuatro frutas, presenta una cantidad de azúcares fermentables con un valor de 7.81% (m/v), provocando que para poder llegar al objetivo de fermentación de al menos 11% (m/v) de etanol, se necesitar agregar una solución de agua y azúcar para llegar a una concentración inicial de 25.40% (m/v). Esto con el fin de asegurar que la conversión de azúcar/alcohol sea lo más eficaz posible, ya que el rendimiento de producto en función del consumo de sustrato es de 1.45.

Existe una relación estequiométrica simple entre la velocidad de formación del producto y las velocidades de utilización del sustrato que permite observar que la cinética de la formación de producto es asociativa al crecimiento microbiano. Esto permite hacer la simplificación mostrada en el cálculo de

muestra y de esa forma calcular la velocidad de formación del producto. Tomando en cuenta que la conversión teórica de azúcares a etanol es por 17 gramos consumidos, se produce 1 grado de alcohol, se espera tener una conversión final del 16% pero como se puede observar en el Cuadro 35, la concentración de etanol final es del 12.53939% (m/v) esto se debe a que el azúcar agregado inicialmente también se utiliza como fuente principal del mantenimiento de los microorganismos, para la generación de biomasa y para la producción de los productos que en su mayoría es etanol.

Para poder cumplir con los requisitos de sanidad e inocuidad, se realizó un análisis al agua utilizada en el proceso. Esta agua es proveniente del filtro del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala y como se observa en el Cuadro 14, este cumple con los requisitos establecidos por la norma COGUANOR 29001 asegurando que sea un agua potable y aceptable para el uso de fermentación alcohólica.

El pH del jugo fermentable usado como materia prima fue de 3.20 por lo que no fue necesario acidificar el medio ya que se encuentra dentro de los límites de una fermentación alcohólica para el uso de *Saccharomyces Cerevisiae* (comercializada como Lalvin EC-1118) los cuales son de 3 y 5, mostrados en la sección de antecedentes en el Cuadro 9. La importancia de mantener un control del pH en el medio, es debido a que en un pH básico, los microorganismos responsables de la fermentación optan por producir glicerol en lugar de alcohol pero, al tener un pH muy ácido también se tienen problemas de que la levadura se reproduce en una tasa menor, porque el medio se protege más ante posibles ataques bacterianos y se inhibe la reacción, por ello no se recomienda trabajar con un pH menor a 3. La manera en la que se tiene constancia del monitoreo del pH durante toda la fermentación es por medio del sensor en el reactor en el cual se muestra que se mantuvo dentro de los rangos establecidos mostrado en la Figura 60.

Como se observa en la Gráfica 2, la cantidad de azúcares residuales es de 5.52% (m/v) al transcurrir las cuatro semanas de fermentación alcohólica, lo que le da una característica a la bebida fermentada de tipo seco comparado con los rangos del cuadro 8. Se busca producir una bebida fermentada dentro de los márgenes de aceptación del público establecidos en la Figura 57 y Figura 58 por lo que la fermentación se debe terminar con el valor de etanol del 12.79107% (m/v). Para cumplir con lo establecido por el cuadro 8, se agregó azúcar para llegar a una bebida fermentada de carácter semi-seco causando una disminución de alcohol en el producto final a una concentración de 12.5014% (m/v) el cual se encuentra dentro de los márgenes de aceptación del mercado objetivo de azúcares y etanol.

También en la Gráfica 2, se observa el comportamiento de la glucosa y fructosa muestran un decaimiento pronunciado y similar debido a que estos dos azúcares son isómeros lo cual representa el consumo que se tiene de estos dos monosacáridos debido a la preferencia que tiene la cepa EC-1118. En cambio, para la sacarosa se tiene un comportamiento característico desde el inicio de la fermentación debido a la hidrólisis que sufre desde el tiempo cero. A partir de las 173 horas, los azúcares dejan de ser consumidos para la producción de etanol y son utilizados sólo para el mantenimiento de los microorganismos ya que como se muestra en el gráfico, la concentración del etanol tiene pequeñas fluctuaciones entre 11% y 12%.

Según la Gráfica 1, se observa que la tendencia que tiene el etanol es creciente desde el inicio hasta llegar a un punto (hora 149) donde comienza a presentar un comportamiento constante. Al compararlo con las azúcares, se puede observar que tiene una tendencia inversamente proporcional y que también presenta el comportamiento constante a la misma hora. Por ello el alcohol dejó de aumentar su concentración y se mantuvo en el valor del 12% (m/v).

La levadura utilizada, *Saccharomyces Cerevisiae*, oxida a los carbohidratos de una manera diferente por sus distintos enlaces entre los sacáridos, y las enzimas que produce solo puede oxidar carbohidratos específicos por lo que algunos sustratos no pueden ser metabolizados. Por esta razón la generación de dióxido de carbono no se tomó en cuenta para el empleo del modelo cinético y sólo se determinó el rendimiento según el etanol producido.

El comportamiento de los microorganismos se representa en la Gráfica 3, donde se puede observar las fases del crecimiento microbiano. La fase lag se muestra desde el tiempo 0 hasta el tiempo 3 en horas, la fase exponencial de crecimiento se presenta desde la hora 3 hasta la hora 166 donde se puede mostrar el punto máximo de crecimiento microbiano con una concentración de 1.19×10^5 g/L. Luego, se tiene la fase estacionaria desde la hora 166 hasta la hora 173. Por último, la fase de muerte que es donde los microorganismos ya se han acabado los azúcares fermentables y comienzan a morir, el cual ocurre desde la hora 173 hasta la hora 381.

La fase lag es el resultado del choque entre las células con el cambio de ambiente, este es el tiempo que se tardan los microorganismos en adaptarse para empezar a reproducirse. Se tiene una fase lag corta, de tres horas, debido a que se preparó un inóculo con anticipación, para que los microorganismos

podieran adaptarse y comenzar el ciclo de reproducción celular antes de ser ingresados al sistema. Este inóculo se preparó con una concentración inicial de azúcar del 17% (m/v) y 12 gramos de la levadura; y se dejó reposar como se muestra en la Figura 38. Teóricamente preparar un inóculo ayuda a que el metabolismo del microorganismo se ajuste a las condiciones a las que será sometido posteriormente en el sistema y como se puede observar en el Cuadro 28, esta fase da un aporte del 0.79% del tiempo de fermentación por lo que se puede decir que es la fase lag tiene el menor aporte en tiempo de fermentación y que la preparación anticipada del inóculo funcionó de la manera esperada.

La fase exponencial del crecimiento de los microorganismos se presenta desde la hora 3 hasta la hora 166 en donde las células se reproducen. Estas células se encuentran en su estado más saludable por lo que la ventaja metabólica que presenta favorable a su velocidad de crecimiento. También se muestra que hay un mayor consumo de sustrato (ver Gráfica 2), debido a que hay una mayor cantidad de microorganismos y la velocidad de reacción es más rápida. Al llegar a la hora 166 se observa que el crecimiento microbiano disminuye y es debido a la elevación de la concentración de alcohol por lo que se empieza a presentar la inhibición por producto en esta fase. El aporte que tiene esta fase sobre la fermentación alcohólica es del 42.78%, siendo la segunda más grande según el Cuadro 28, por lo que tener un control durante todo el proceso es de vital importancia ya que es la fase en donde los microorganismos favorecen la producción de alcoholes.

La fase estacionaria es una etapa pasajera en donde el aumento de células no es significativo, ya que se encuentra en equilibrio la cantidad de células en crecimiento y en decrecimiento, dando como resultado un crecimiento crítico. Esta inicia en la hora 16 y tiene una duración de siete horas aportando un 1.84% de tiempo durante la etapa de fermentación.

La fase de muerte tiene una duración de 208 horas la cual representa el 54.59% del tiempo producido durante la fermentación, siendo el más grande según el Cuadro 28, esto es debido a que las células permanecen vivas y continúan consumiendo azúcares a pesar de no producir alcohol ya que es utilizado para el mantenimiento celular. Esta fase es característica por el decremento de las células de una manera exponencial debido a la progresiva tasa de mortalidad la cual alcanza un valor sostenido desde la hora 187. En el Cuadro 32 y el Cuadro 33, se observa que la velocidad de decrecimiento celular es mucho menor que la proporcionada por el crecimiento celular y esto es debido a la cantidad de sustrato presente en el medio y a las características de la cepa empleada.

El modelo de Monod solo toma en cuenta la fase de crecimiento de las células por lo que no siempre es el mejor método para considerar todas las fases de un comportamiento celular. Monod relaciona el crecimiento celular con el consumo de sustrato y como inicialmente no se tiene alcohol presente en la fermentación, este modelo puede predecir el comportamiento hasta llegar al final de la fase de crecimiento exponencial. Luego de esta fase, se presenta una inhibición por producto, ocasionando que se tenga otra variable presente en la ecuación que evita que se prediga de una manera correcta el comportamiento en la fase de decrecimiento celular con el modelo de Monod.

Para poder utilizar el modelo de Monod en la fase de decrecimiento, se debe de modificar agregando las variables del producto (K_P y C_P) tal como se muestra en la Ecuación 3, para que el modelo tome en cuenta el efecto por inhibición del producto. Con este se puede observar que el comportamiento del etanol es el que mejor se predice (ver Cuadro 13) con respecto a las otras variables de microorganismos y sustrato.

El modelo de crecimiento celular explica el aumento que se tiene de la población del cultivo microbiano debido a su división y propagación celular donde se puede ver que la velocidad específica de crecimiento celular (μ) proporciona la relación de crecimiento de las células en función de los nutrientes del medio (sustrato) con un valor de velocidad de crecimiento específica máxima de 0.0042 g/L.h, una constante de afinidad al sustrato de 22 L/g.h y con rendimientos promedio de 26.82% y 60.38% para la producción y/o mantenimiento de los microorganismos y formación producto respectivamente, lo que indica que en promedio el 60.38% de los azúcares en esta fase son utilizados para la formación de alcohol y un 26.82% para el mantenimiento celular.

Esto se realiza hasta llegar a la fase de decrecimiento microbiano en donde se explica cómo la población celular disminuye con respecto al tiempo hasta llegar a un mínimo. En esta fase no se tiene producción de alcohol, ya que, al momento de llegar a una concentración baja de sustrato, los microorganismos sólo consumen lo necesario para el mantenimiento de estas. Se tiene una velocidad específica de decrecimiento celular (μ) máxima de 0.05 g/L.h, una constante de afinidad al sustrato más alta, con un valor de 25 L/g.h, una constante de afinidad al producto de 0.02 L/g.h y rendimientos promedio de 2.85% para la formación de alcohol y 5.15% para el mantenimiento celular y como se puede observar en la sección de anexos, este valor es más alto que en la fase de crecimiento debido a que ya se presenta la inhibición por producto y se requiere de más microorganismos viables para producir alcohol.

La ecuación del modelo cinético basado en el sustrato predice el comportamiento de la reacción y como se puede observar en la Gráfica 1, Gráfica 2 y Gráfica 3 y en los cuadros Cuadro 12 y Cuadro 13, las variaciones para la fase de crecimiento son 9.90%, 3.62% y 12.33% para el sustrato, microorganismos y etanol respectivamente y para la fase de decrecimiento se tienen variaciones de 2.37%, 8.18% y 2.97% para el sustrato, microorganismos y etanol respectivamente, demostrando de esta manera que la predictibilidad del modelo es aceptable para la experimentación realizada.

Al graficar el comportamiento de los alcoholes con el paso del tiempo, se observó en la Gráfica 9 que el metanol no es significativo por lo que no se toma en cuenta para el modelo cinético esto se debe a que se realizaron todos los controles apropiados para propiciar la formación preferente de etanol, (ver Figura 59 y Figura 60) evidenciando mínimas fluctuaciones de temperatura y pH respectivamente. El metanol se forma en condiciones donde hay presencia de madera durante una fermentación alcohólica y con una hidrólisis de las pectinas esterasas presentes en las frutas, y al tener un sistema cerrado se tiene una cantidad mínima de este producto (ver Cuadro 27), evidencia de esto está en la Figura 51 donde se presenta el biorreactor utilizado y las figuras anteriormente mencionadas en este párrafo. Comparando con lo mostrado en el Cuadro 27 que presenta un valor del 0.01332% (m/v) y el Cuadro 7, se observa que el valor no se encuentra dentro del rango permitido para el consumo humano.

Es importante mencionar que los métodos analíticos (HPLC y GC-FIS) empleados se encuentran validados para asegurar que los datos utilizados en este experimento sean certeros; en el caso del conteo microbiano que es el que proporciona los datos más sensibles a la cinética, por lo que se efectuó una comparación contra el método de conteo en microscopio que permitió establecer un porcentaje de error del 2.12%, mostrado en el Cuadro 25, con lo que el método presenta resultados repetitivos y pueden validarse.

La experimentación a escala laboratorio se llevó a cabo en un biorreactor marca BioFlo 415. Este sistema asegura que la reacción se lleve a cabo en su totalidad de manera anaerobia. El reactor también tiene la ventaja de que la temperatura y la agitación sean constantes usando un lazo de control y que el pH sea monitoreado en todo momento. El control de agitación permite tener un rango controlado en que se previene la lisis celular en la levadura, esto es importante debido que no se quiere un rompimiento celular, ya que esto produciría una disminución en la formación de alcoholes y una variación en el

consumo de sustrato. También es importante debido a que como se muestra en el Cuadro 25, la muerte es la fase que más aporta en el tiempo de fermentación con un valor de 54.59% y para asegurar que este no aumente se debe de evitar una fuerza cortante que propicie la lisis celular.

Se debe de tener un control estricto de las condiciones de operación en los experimentos realizados a escala laboratorio para asegurar la calidad de la bebida fermentada. Además, de la agitación, es importante minimizar las variaciones de temperatura para propiciar el crecimiento microbiano. Esto se aseguró con el biorreactor ya que posee una chaqueta con controles automáticos por lo que la temperatura tuvo fluctuaciones mínimas durante toda la experimentación como se puede ver en la Figura 59.

Durante una fermentación alcohólica en un proceso por lotes, la concentración del sustrato disminuye con el paso del tiempo y como consecuencia se tiene un crecimiento de microorganismos y alcohol. Como se puede observar en la Figura 33, luego de la fase de adaptación de la cepa utilizada, el sustrato se consume a una mayor velocidad. Esto es debido a que las células se dedican a realizar procesos de mantenimiento con las que sobreviven a las condiciones de operación.

Finalmente, se puede mencionar que, con la experimentación realizada, el modelo que se presenta en la Ecuación 9 y Ecuación 10, es funcional para escalar el proceso, siempre que se garanticen las mismas condiciones y se controlen la transferencia de masa, calor y momentum.

IX. CONCLUSIONES

1. Se determinó con el equipo HPLC, que la cantidad de azúcares fermentables del jugo fue de $25.35599 \text{ g/L} \pm 0.00001 \text{ g/L}$. Estos produjeron una concentración final de azúcares residuales de $5.52161 \text{ g/L} \pm 0.00001 \text{ g/L}$, debiendo enriquecer el fermentado con $1,281.5598 \text{ g} \pm 0.0001 \text{ g}$ de azúcar para propiciar la producción de una bebida fermentada semi dulce.
2. El comportamiento de producción del alcohol durante las cuatro semanas de fermentación mostrado en la Gráfica 9, presenta que se obtiene una concentración final de 12.53939% (m/v) y que sigue el modelo establecido de Monod de $\frac{dS}{dt} = \frac{8.83 \times 10^{-6} C_S x}{22 + C_S}$ por el comportamiento asociativo a la concentración de sustrato.
3. Utilizando la Gráfica 8, se determinó el comportamiento que tienen los azúcares durante una fermentación del jugo de los frutos rojos siendo este $\frac{dS}{dt} = \frac{3.10 \times 10^{-5} C_S x}{-25 + C_S} * \frac{0.02}{0.02 + C_P}$, la cual disminuye gradualmente, mostrando el consumo que se tiene durante el proceso hasta obtener una concentración de 5.52161% (m/v) y la hidrólisis que presenta la sacarosa desde el inicio de la fermentación.
4. El número de células vivas de la cepa empleada en la fermentación alcohólica varía según la fase del ciclo de crecimiento que se encuentre, estableciendo que se inició con una concentración de 520.30 g/L para la fase lag, luego una concentración de 657.90 g/L para la fase de crecimiento exponencial, $4,988.00 \text{ g/L}$ para la fase estacionaria y por último, una concentración de $4,300 \text{ g/L}$ cuando se inicia la fase de decrecimiento celular.

5. La ecuación del modelo cinético en la fase de crecimiento celular ($\frac{dS}{dt} = \frac{8.83 \times 10^{-6} C_S x}{22 + C_S}$) predice el comportamiento de sustrato, microorganismos y etanol, con variaciones de 9.90%, 3.62% y 12.33% entre el modelo y los datos experimentales.
6. La ecuación del modelo cinético en la fase de decrecimiento celular ($\frac{dS}{dt} = \frac{3.10 \times 10^{-5} C_S x}{-25 + C_S} * \frac{0.02}{0.02 + C_P}$) predice el comportamiento del sustrato, microorganismos y etanol, con variaciones de 2.37%, 8.18% y 2.97% entre el modelo y los datos experimentales.

X. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio económico que permita evidenciar si es factible la implementación de una planta productora de bebida fermentada a partir de frutos rojos y si su proceso es rentable utilizando la cinética proporcionada y dimensionamiento de equipos y procesos que permitan efectuar el estudio.
2. Evaluar otras cepas como la *Vitileuvre LB Rouge* y la levadura *So Delight* ya que presentan cinéticas parecidas de manera que se pueda hacer un análisis comparativo y determinar cuál es la que mejor se adapta a las condiciones empleadas y al medio de cultivo.
3. Estudiar el comportamiento de una reacción fermentativa de alcohol con la presencia de un inhibidor del crecimiento microbiano para las levaduras sensibles y compararla con los resultados de las cepas que no presentan dicho efecto (como la usada en este trabajo).
4. Realizar un estudio completo del consumo de los azúcares reductores al incrementar el tiempo de reacción para el aprovechamiento total de azúcares fermentables.
5. Evaluar la cinética de la fermentación alcohólica utilizando la misma proporción de frutos rojos, pero a otras condiciones de temperatura (25 °C y 30 °C) y compararlas con la establecida en este trabajo (28 °C) para establecer la temperatura óptima de la cepa *Lalvin EC-1118*.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- ArQuimi. (16 de septiembre de 2018). *Usos del alcohol isopropílico*. Obtenido de El arte de la química: <https://www.arquimi.com/blog/p13031-usos-del-alcohol-isopropilico.html>
- BANGUAT. (2019). *Exportaciones realizadas por país comprador, producto y partida*. Guatemala: Comercio General de Guatemala.
- Barrios, H. M. (Julio de 2013). *Determinación de la eficiencia de fermentación referida a los azúcares fermentables de los 4 fermentadores de una destilería de 300,000 litros de alcohol por día, utilizando como materia prima melaza*. Obtenido de Universidad de San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1352_Q.pdf
- Belmonte, M. I. (2016). *Cromatografía de líquidos HPLC*. Obtenido de Laboratorio de técnicas instrumentales UVA: <http://laboratorioteccnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-de-lquidos-hplc>
- Cavaco, T., Longuinho, C., Quintas, C., & De Carvalho, I. S. (1 de Diciembre de 2006). *Chemical and Microbial changes during the natural fermentation of strawberry tree fruits*. Obtenido de University of Algarve: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1745-4514.2007.00138.x>
- Chacón, S. A. (2006). *Manual de procesamiento de frutas tropicales a escala artesanal*. Obtenido de Ministerio de agricultura y ganadería <http://repiica.iica.int/DOCS/B0635E/B0635E.PDF>
- COGUANOR. (2001). *Agua para consumo humano (agua potable). Especificaciones*. Obtenido de Comisión Guatemalteca de Normas. Ministerio de Economía: <http://www.ecosistemas.com.gt/wp-content/uploads/2015/07/04-COGUANOR-NTG-29-001-1a-Revision.pdf>
- CORQUIVEN, C. q. (1997). *Hoja de seguridad del alcohol metílico*. Obtenido de MSDS: <http://www.uacj.mx/IIT/CICTA/Documents/Quimicos/metanol.pdf>

- Crealiza. (2019). *Fermentación alcohólica del vino*. Obtenido de Aprender de vino: <https://www.aprenderdevino.es/fermentacion-alcoholica/>
- Data, C. A. (9 de mayo de 2019). *Estudio de mercado*. Obtenido de Red de Negocios Centroamericana: <https://www.centralamericadata.com/es/tsearch?q=alcohol>
- Díaz, Y. R. (Mayo de 2015). *Evaluación del impacto del uso de lúpulo como agente bactericida en el proceso de fermentación alcohólica de melaza por lotes a nivel industrial*. Obtenido de Universidad de San Carlos de Guatemala: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3079/1/Yessenia%20Roxana%20Tzarax%20D%C3%ADaz.pdf>
- Duarte, W. F. (2010). *Fermentative behavior of Saccharomyces strains during microvinification of raspberry juice*. *International Journal of Food Microbiology*.
- EDM Millipore Corporation, I. (2016). *MUSE Cell Analyzer*. Millipore Sigma, 142.
- FAO. (2010). *Fichas técnicas de procesados de frutas*. Obtenido de Vino de frutas: <http://www.fao.org/3/a-au168s.pdf>
- Forney, C. F., & Kalt, W. (2012). *Blueberry and cranberry fruit composition during development*. Obtenido de *Journal of Berry Research 2*: <https://content.iospress.com/download/journal-of-berry-research/jbr034?id=journal-of-berry-research%2Fjbr034>
- García, J., & Xirau, M. (2010). *Técnicas usuales de análisis en enología*. Obtenido de Panreac: http://www.linlabrioja.com/_pdf/enologia_tecnicas.pdf
- GTM. (Agosto de 2014). *Hoja de datos de seguridad del ácido láctico*. Obtenido de Grupo Transmerquim: <http://www.gtm.net/images/industrial/d/DL-ACIDO%20LACTICO.pdf>
- Guatemala, B. d. (2019). *Importaciones realizadas por partida y país de origen*. Guatemala: Comercio General de Guatemala.
- Gutierrez, A. S. (Febrero de 1999). *Situación actual de los límites tecnológicos en la producción de frambuesa y mora de acuerdo al tamaño de la explotación en los departamentos de*

- Guatemala, Chimaltenango y Sacatepequez*. Obtenido de Universidad San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1765.pdf
- ICEX. (2019). *El mercado del vino en Guatemala*. Obtenido de Estudio de Mercado: https://www.icex.es/icex/wcm/idc/groups/public/documents/documento/mde5/odi3/~edis p/doc2019827185.pdf?utm_source=RSS&utm_medium=ICEX.es&utm_content=19-07-2019&utm_campaign=Estudio%20de%20mercado.%20El%20mercado%20del%20vino%20en%20Guatemala%202019
- Kafkas, E. (2005). *Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey*. Turkia: El Sevier.
- Katz, S. E. (2019). *La levadura*. En S. E. Katz, *El arte de la fermentación* (págs. 101-102). España: Artes Gráficas COFÁS, S.A.
- Lalvin. (2008). *Lalvin EC-1118*. The original "Prise de Mousse". Lalvin S.A.
- Lee, J. M. (1992). *Biochemical Engineering*. Washington State University: Prentice-Hall.
- Leonor, L. C. (2010). *Evaluación del rendimiento en el cultivo de fresa*. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4745/1/UPS-CT001855.pdf>
- Levenspiel, O. (2016). *Ingeniería de las reacciones químicas*. México: Limusa.
- Linde. (2012). *Hoja de seguridad del material Dióxido de Carbono comprimido*. Obtenido de SDS: http://www.linde-gas.ec/en/images/HOJA%20DE%20SEGURIDAD%20DIÓXIDO%20DE%20CARBON O%20COMPRIMIDO_tcm339-98275.pdf
- Martín, O. (2010). *Cromatografía de gases/masas (GS-MS)*. Obtenido de UCM: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02-gases%20masas.pdf>
- Mesas, J., & Alegre, M. (1999). *El papel de los microorganismos en la elaboración del vino*. Asociación de Licenciados en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de Galicia, 174-183.

- Metálicos, C. (2019). *Aplicaciones para laboratorios de analítica*. Obtenido de Grupo Air Products: <http://www.carbuos.com/Industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/gc-with-flame-ionization-detector-gc-fid-analytical-laboratories.aspx?itemId=D6D6641C668A47139A6F1960D9441B93>
- Nacional, I. P. (2010). *Métodos de linealización*. Obtenido de Enzinetiic UPIIG: <https://sites.google.com/site/enzinetiicupiig/6-2-metodos-de-linealizacion>
- NOM142-SSA1/SCFI. (2014). *Norma oficial mexicana NOM-142-SSA1/SCFI-2014, Bebidas alcohólicas. Especificaciones Sanitarias. Etiquetado Sanitario y Comercial*. Obtenido de Gobierno de México: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5386313&fecha=23/03/2015
- Pannell, D. J. (1997). *Sensitivity analysis: Strategies, methods, concepts, examples*. Obtenido de School of Agricultural and Resource Economics, University of Western Australia: dpannell.finas.uwa.edu.au
- Paz, L. A. (septiembre de 2005). *Determinación de metanol en bebidas alcohólicas fermentadas tradicionales y populares de mayor consumo en dos regiones de la república de Guatemala por cromatografía de gases*. Obtenido de Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de ciencias químicas y farmacias: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2379.pdf
- Pérez, D. M. (2017). *Bioingeniería*. México: Alfa Omega.
- Perry, R. H. (2008). *Chemical Engineer HandBook 8th edition*. New York: McGraw Hill.
- Ramos, B. R. (17 de Julio de 2019). *El mercado del vino en Guatemala*. Obtenido de España Exportación e Inversiones: https://www.icex.es/icex/wcm/idc/groups/public/documents/documento/mde5/odi3/~edisp/doc2019827185.pdf?utm_source=RSS&utm_medium=ICEX.es&utm_content=19-07-2019&utm_campaign=Estudio%20de%20mercado.%20El%20mercado%20del%20vino%20en%20Guatemala%202019

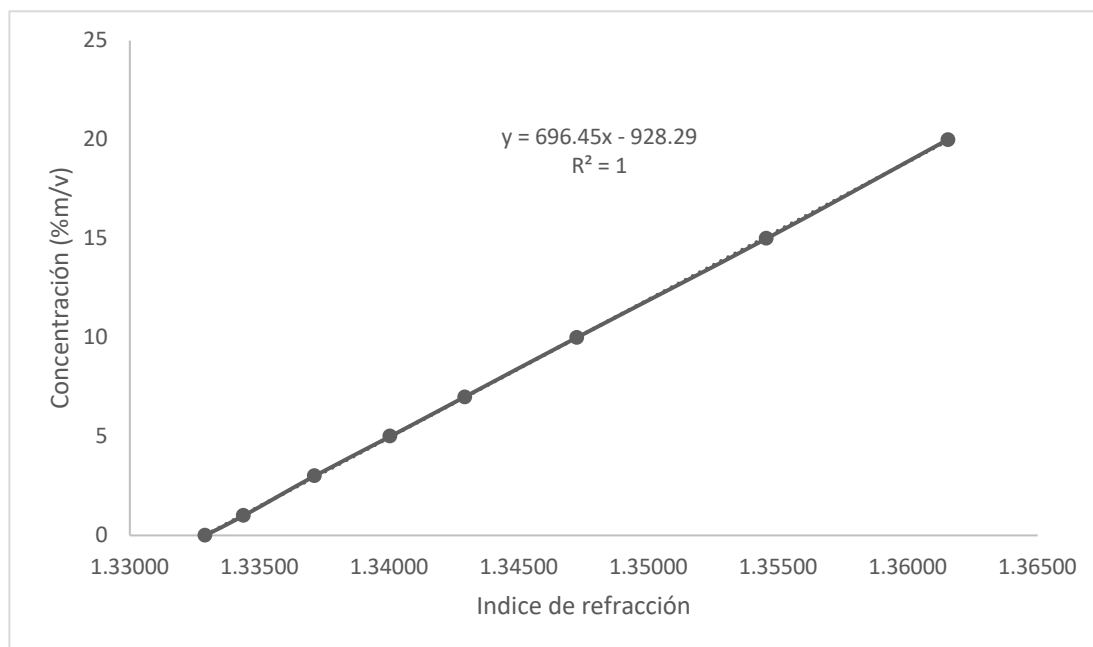
- Río, D. M. (13 de junio de 2017). *Evolución de la tecnología de elaboración de vino y su influencia en el diseño de bodegas*. Obtenido de Universidad de la Rioja: <https://www.interempresas.net/Vitivinicola/Articulos/185012-Evolucion-de-la-tecnologia-de-elaboracion-de-vino-y-su-influencia-en-el-diseno-de-bodegas.html>
- Rosal, R. F. (Febrero de 2013). *Diseño de la investigación de evaluación de efectividad del complejo catalizador efymol+ en la productividad de la fermentación alcohólica de melaza*. Obtenido de Universidad de San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1292_Q.pdf
- S.A., C. Q. (2000). *Hoja de Seguridad del alcohol etílico*. Obtenido de MSDS: http://iio.ens.uabc.mx/hojas-seguridad/alcohol_etilico.pdf
- Schumacher, R. L. (2014). *Nuevas tecnologías vitícolas y enológicas para la obtención de vinos de calidad*. Obtenido de UCLM. Repositorio Universitario Institucional de Recursos Abiertos: <https://ruidera.uclm.es/xmlui/handle/10578/4013>
- Scientific, N. B. (2008). *Manual de operación del fermentador BioFlo 415*. New Brunswick Scientific. Benchtop SIP, 164.
- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental*. México: Cengage Learning Editores.
- Taracena, G. M. (Noviembre de 2011). *Mejoramiento de los procesos de fermentación alcohólica y acética para la elaboración de vinagre a partir de azúcar, Industria alimenticia guatemalteca*. Obtenido de Universidad San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1213_Q.pdf
- Tax, A. J. (Noviembre de 2004). *Micropropagación de tres variedades de arándano*. Obtenido de Universidad San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2137.pdf
- Transmerquim, G. G. (Febrero de 2016). *Hoja de seguridad del ácido acético*. Obtenido de Responsible Care: <http://www.gtm.net/images/industrial/a/ACIDO%20ACETICO.pdf>

- Universal, Q. (Agosto de 2018). *Alcohol isopropílico*. Obtenido de Hoja de datos de seguridad de productos químicos (HDS): <https://quimicauniversal.cl/www/wp-content/uploads/2017/06/ALCOHOL-ISOPROPIŁICO-18.pdf>
- Vega, D. F. (20 de enero de 2011). *Elaboración y control de vino Arazá*. Obtenido de Tesina de fin de master: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/94/1/Elaboraci%C3%B3n%20y%20control%20de%20vino.pdf>
- Vela, R. N., & Reyes Muro, J. L. (2015). *Optimización de los parámetros del proceso de fermentación del jugo de caña para obtenr bioetanol en la planta piloto de alcohol de la facultad de ingeniería química-unap*. Obtenido de Universidad nacional de la amazonía peruana: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4160/Richar_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

XII. ANEXOS

A. DATOS ORIGINALES

Gráfica 4. Curva de calibración para azúcar blanca granulada



*El gráfico anterior muestra la relación entre la concentración de azúcar con el índice de refracción para determinar la concentración presente y caracterizar los jugos previamente filtrados.

*Esta gráfica tiene una pequeña variación al utilizar un cromatógrafo HPLC como se puede observar en la Gráfica 6 debido a que en este se miden todos los sólidos disueltos y el HPLC mide los azúcares de interés.

Cuadro 14. Análisis del agua proveniente del filtro del Laboratorio de Operaciones Unitarias

Descripción	Promedio	Desviación	Cumple con la norma
pH	7.00	-	SI
Sólidos disueltos totales (<i>mg/L</i>)	7.88	0.59	SI
Conductividad eléctrica ($\mu\text{s/cm}$)	674.11	5.67	SI
Color aparente (P_t/C_o)	2.10	0.13	SI
Turbidez ($\pm UNT$)	3.00	-	SI
Calcio (<i>mg/L</i>)	0.03	0.01	SI
Magnesio (<i>mg/L</i>)	4.22	0.47	SI
Dureza total (<i>mg/L</i>)	4.26	0.44	SI
Cloro (<i>mg/L</i>)	12.89	0.91	SI
Cloro residual (<i>mg/L</i>)	0.03	0.01	SI
Nitratos (<i>mg/L</i>)	8.18	0.18	SI
Nitritos (<i>mg/L</i>)	0.44	0.03	SI
Sulfatos (<i>mg/L</i>)	3.00	-	SI

*Verificación del cumplimiento de la norma COGUANOR tomando en cuenta distintos parámetros del agua proveniente de un pozo y tratada con un filtro en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.

*La cantidad de muestras analizadas es de 3 y se analiza a temperatura ambiente de 26 °C utilizando el HACH.

Cuadro 15. Propiedades del jugo de frambuesa

Iteración	pH (± 0.001)	Índice de refracción (± 0.00001)	Masa ($\pm 0.0005\text{g}$)
1	2.883	1.34444	25.1142
2	2.880	1.34446	25.0484
3	2.873	1.34453	25.0885

*Caracterización del jugo de frambuesa con de tres parámetros con el fin de determinar la concentración de azúcares fermentables, acidez y densidad mostrado en la sección de resultados en el Cuadro 10.

Cuadro 16. Propiedades del jugo de mora

Iteración	pH (± 0.001)	Índice de refracción (± 0.00001)	Masa ($\pm 0.0005g$)
1	2.957	1.34198	24.9001
2	2.955	1.34198	24.8880
3	2.951	1.34195	24.9147

*Caracterización del jugo de mora con de tres parámetros con el fin de determinar la concentración de azúcares fermentables, acidez y densidad mostrado en la sección de resultados en el Cuadro 10.

Cuadro 17. Propiedades del jugo de arándanos

Iteración	pH (± 0.001)	Índice de refracción (± 0.00001)	Masa ($\pm 0.0005g$)
1	3.046	1.34998	25.4031
2	3.051	1.35000	25.4337
3	3.047	1.34997	25.4490

*Caracterización del jugo de arándanos con de tres parámetros con el fin de determinar la concentración de azúcares fermentables, acidez y densidad mostrado en la sección de resultados en el Cuadro 10.

Cuadro 18. Propiedades del jugo de fresa

Iteración	pH (± 0.001)	Índice de refracción (± 0.00001)	Masa ($\pm 0.0005g$)
1	3.665	1.33873	26.5047
2	3.666	1.33866	26.5006
3	3.669	1.33862	26.5045

*Caracterización del jugo de fresa con de tres parámetros con el fin de determinar la concentración de azúcares fermentables, acidez y densidad mostrado en la sección de resultados en el Cuadro 10.

Cuadro 19. Propiedades del jugo a fermentar

Iteración	pH (± 0.001)	Índice de refracción (± 0.00001)	Masa (± 0.0005 g)
1	3.154	1.34410	25.0525
2	3.15	1.34410	25.0469
3	3.147	1.34412	25.0440

*Determinación de las propiedades de la mezcla de jugos a fermentar con tres parámetros con el fin de determinar la concentración de azúcares fermentables, acidez y densidad mostrado en la sección de resultados en el Cuadro 10.

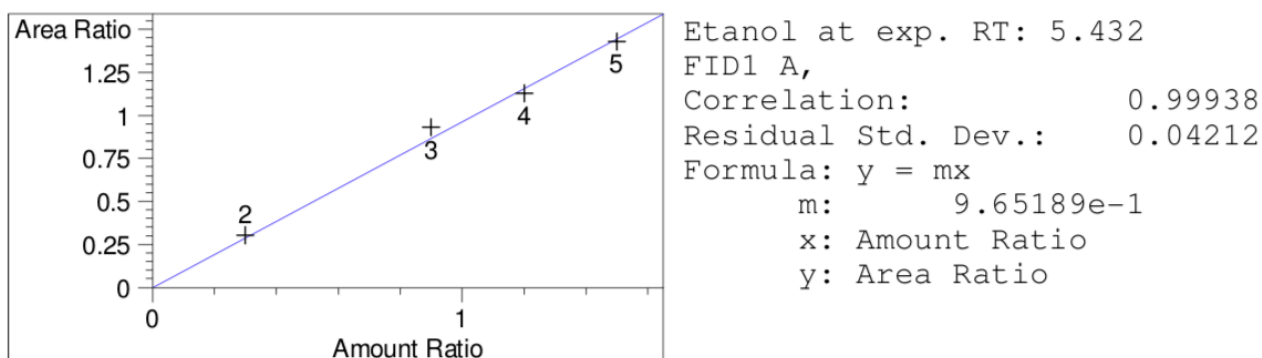
Cuadro 20. Microorganismos presentes según el equipo MUSE

Tiempo (h)	Microorganismos viables ($\times 10^4$ cel/mL)	Incertidumbre	($\pm \times 10^3$ cel/mL)
-	1.09		1.09
0.25	1.21		1.21
1.00	1.47		1.47
3.00	1.48		1.48
6.00	1.53		1.53
7.00	1.65		1.65
8.00	1.82		1.82
20.00	2.39		2.39
24.00	3.50		3.50
28.00	3.67		3.67
46.50	4.00		4.00
51.00	4.70		4.70
117.00	4.98		4.98
124.00	7.86		7.86
137.50	8.10		8.10
140.00	8.70		8.70
147.00	8.86		8.86
149.00	9.24		9.24
166.00	9.50		9.50

Tiempo (h)	Microorganismos viables ($\times 10^4$ cel/mL)	Incertidumbre	($\pm \times 10^3$ cel/mL)
173.00	1.16		1.16
187.00	1.19		1.19
212.00	1.00		1.00
237.00	8.00		8.00
257.00	7.51		7.51
259.00	6.43		6.43
281.00	6.02		6.02
286.00	5.43		5.43
309.00	3.70		3.70
325.00	2.64		2.64
348.00	1.95		1.95

*Conteo celular de los microorganismos presentes durante el proceso de fermentación de una formulación de frutos rojos por medio del equipo MUSE Cell Analyzer con su desviación estándar con el fin de conocer el comportamiento de los microorganismos con el paso del tiempo.

Gráfica 5. Curva de calibración de etanol con GC



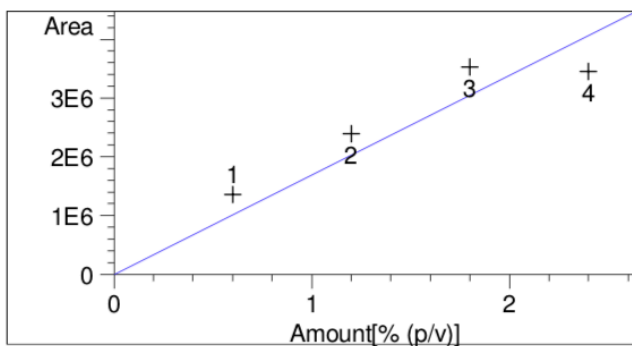
Cuadro 21. Alcoholes presentes en la fermentación alcohólica realizada a condiciones de temperatura de 28 °C y agitación de 100 rpm detectados por un GC-FIS

Tiempo (h)	Etanol (± 0.00001 mL/mL)	Metanol (± 0.00001 mL/mL)
-	0.47463	-
0.25	0.60261	-
1.00	0.63041	-
3.00	0.75874	-
6.00	0.82664	-
7.00	1.32259	-
8.00	1.54489	-
20.00	1.65216	-
24.00	1.98259	-
28.00	1.89215	-
46.50	2.46343	-
51.00	2.50363	0.03501
117.00	4.44863	0.03552
124.00	4.95837	0.05750
137.50	5.53468	0.10944
140.00	6.13605	0.11079
147.00	6.13848	0.14183
149.00	7.99364	0.31399
166.00	8.49602	0.37314
173.00	8.64167	0.59156
187.00	9.59330	0.98826
212.00	9.01365	0.01003
265.00	9.11365	0.01003
267.00	9.11410	-

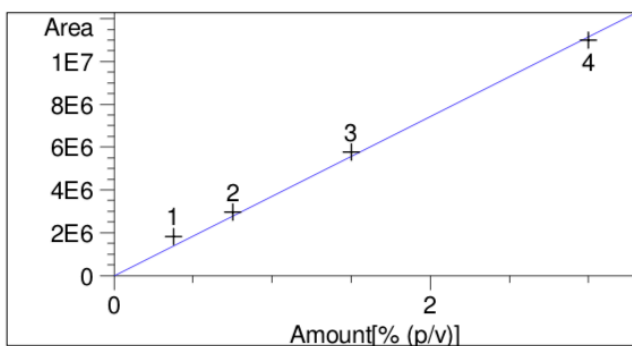
Tiempo (h)	Etanol (± 0.00001 mL/mL)	Metanol (± 0.00001 mL/mL)
270.00	8.96956	0.02627
289.00	8.85017	0.31105
293.00	8.43816	0.00538
317.00	8.60649	0.38151
380.00	8.82431	0.18505
381.00	9.40454	0.00999

*El cuadro anterior muestra la cantidad de alcoholes que detecta el cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama sin la corrección respectiva utilizando el Cálculo 7 en la sección de cálculos debido al volumen utilizado de la muestra en el equipo para el análisis.

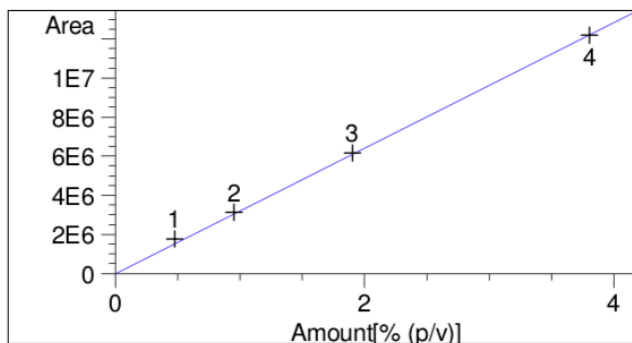
Gráfica 6. Curva de calibración de azúcares con HPLC



Sacarosa at exp. RT: 9.492
RID1 A, Refractive Index Signal
Correlation: 0.98654
Residual Std. Dev.: 533685.79749
Formula: $y = mx$
m: 1.69704e6
x: Amount [% (p/v)]
y: Area



Glucosa at exp. RT: 11.761
RID1 A, Refractive Index Signal
Correlation: 0.99924
Residual Std. Dev.: 290878.02714
Formula: $y = mx$
m: 3.72736e6
x: Amount [% (p/v)]
y: Area



Fructosa at exp. RT: 15.521
RID1 A, Refractive Index Signal
Correlation: 0.99983
Residual Std. Dev.: 150565.30213
Formula: $y = mx$
m: 3.21711e6
x: Amount [% (p/v)]
y: Area

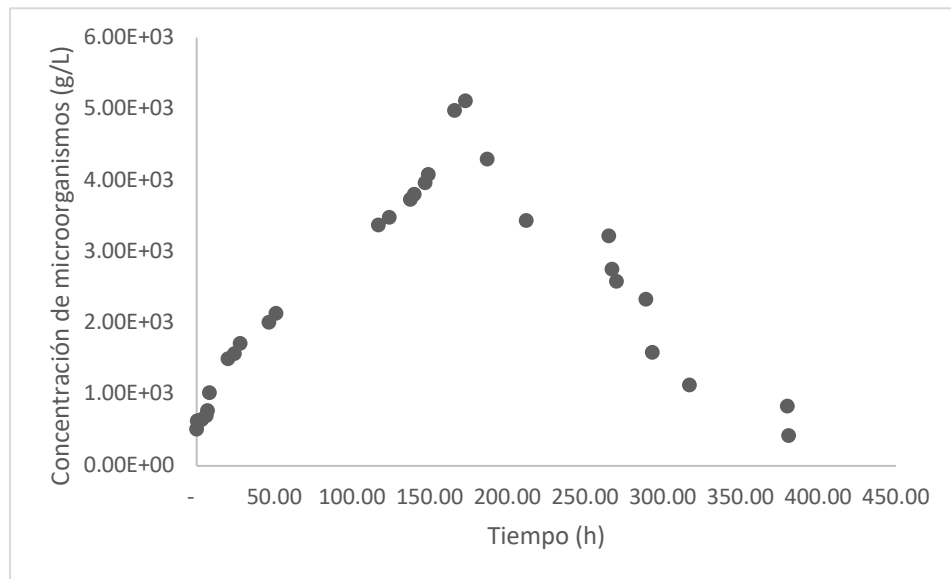
Cuadro 22. Azúcares fermentables presentes durante toda la fermentación alcohólica realizada a condiciones de temperatura de 28 °C y agitación de 100 rpm, detectados con un HPLC con columna Hi Plex Ca 300X7.8 mm y utilizando como fase móvil agua.

Tiempo (h)	Glucosa (± 0.00001 g/L)	Sacarosa (± 0.00001 g/L)	Fructosa (± 0.00001 g/L)
-	8.39563	0.41602	12.54434
0.25	8.57237	0.36875	12.40956
1.00	8.80670	0.36335	12.36746
3.00	8.72132	0.35792	12.31245
6.00	8.55412	0.35392	12.30438
7.00	8.93360	0.36733	11.94856
8.00	8.71363	0.37045	11.94449
20.00	8.09005	0.37222	11.56437
24.00	7.75232	0.39349	11.80574
28.00	7.53815	0.41349	11.78432
46.50	7.02608	0.42005	11.77200
51.00	6.81578	0.41050	11.56774
117.00	4.69713	0.40984	6.49417
124.00	4.51182	0.43458	6.31846
137.50	4.04741	0.43011	6.03242
140.00	3.87449	0.42157	5.63986
147.00	3.82754	0.41325	5.74414
149.00	3.2825	0.31202	5.63984
166.00	1.82001	0.31937	4.34514
173.00	1.83708	0.33679	4.43156
187.00	1.83246	0.34111	4.39304
205.00	1.74087	0.44257	4.28574
245.00	1.6358	0.00000	4.2542
252.00	1.52958	0.29956	4.19964
270.00	1.47978	0.31308	4.16226
289.00	1.5496	0.34215	4.13012
293.00	1.46002	0.31219	4.10652
317.00	1.46226	0.31935	4.08672

Tiempo (h)	Glucosa (± 0.00001 g/L)	Sacarosa (± 0.00001 g/L)	Fructosa (± 0.00001 g/L)
380.00	1.49996	0.34043	4.0627
381.00	1.51945	0.33219	4.00216

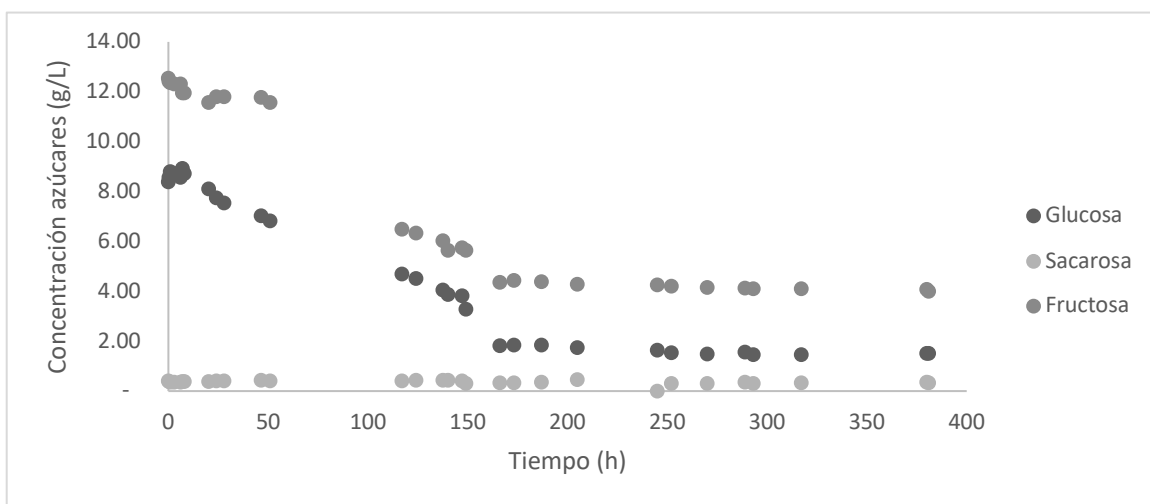
*Se muestra la cantidad de azúcares fermentables que se tienen durante todo el proceso de fermentación y su comportamiento durante el mismo. Se tomaron la glucosa, sacarosa y fructosa como los únicos azúcares fermentables presentes en la fermentación debido a lo mostrado en la sección de antecedentes.

Gráfica 7. Microorganismos presentes durante la fermentación alcohólica de una formulación de frutos rojos realizada a condiciones de temperatura de 28 °C y agitación de 100 rpm utilizando un contador de células MUSE



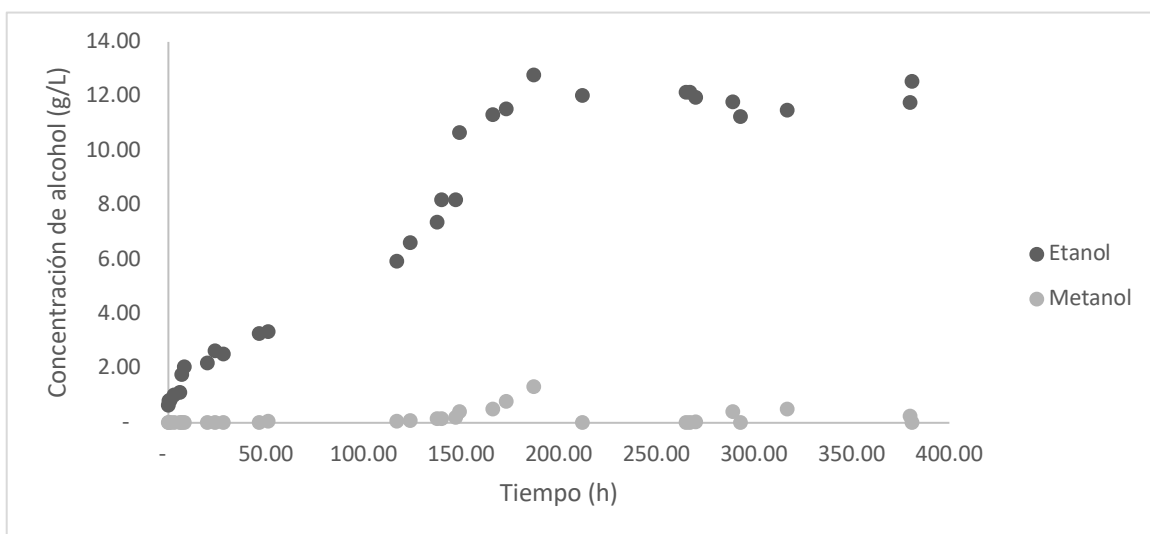
*Gráfico demostrando el comportamiento presente que se tiene de los microorganismos durante todo el proceso de fermentación alcohólica con los datos del Cuadro 20. Se observan todas las fases de crecimiento (lag, exponencial de crecimiento, estacionario) y la fase de decrecimiento exponencial.

Gráfica 8. Azúcares fermentables presentes durante la fermentación alcohólica realizada a 28 °C y 100 rpm con una duración de cuatro semanas



*Se demuestra el comportamiento que tienen los tres azúcares fermentables presentes durante la fermentación alcohólica de una formulación de frutos rojos en un tiempo total de cuatro semanas. Donde el comportamiento de la glucosa y la fructosa son similares por ser isómeros y la sacarosa tiene una concentración más baja debido a la hidrólisis sufrida en la experimentación.

Gráfica 9. Comportamiento de los alcoholes totales presentes durante la fermentación alcohólica de una formulación de frutos rojos a 28 °C y 100 rpm



*Se muestran los dos tipos de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica y se determinó que la concentración de metanol no se encuentra dentro el rango establecido por la norma identificada en la sección de Anexos con una concentración final del 0.013% (m/v) y con el comportamiento del etanol demostrando su fase de crecimiento hasta llegar a un punto máximo donde se mantiene con fluctuaciones bajas.

B. CÁLCULOS DE MUESTRA

1. Generales

Cálculo 1. Cantidad de azúcar para mosto con concentración de 17% (g/mL)

$$\text{Azúcar gramos} = \text{Aporte\%} \times \text{Volumen solución} \times \text{Densidad}$$

Para los gramos de azúcar necesarios para el inóculo

$$\text{Azúcar gramos} = 650 \text{ mL solución} \times \frac{1 \text{ g solución}}{1 \text{ mL solución}} \times \frac{17 \text{ g azúcar}}{100 \text{ g solución}} = 110.5 \text{ g azúcar}$$

(Se realizó el mismo cálculo para la solución de agua y azúcar para la fermentación)

Cálculo 2. Densidad

$$\rho = \frac{\text{Masa del jugo de fruta}}{\text{Volumen picnómetro}}$$

Para la densidad de la primera corrida del jugo de mora

$$\rho = \frac{24.9001g \pm 0.0005g}{25mL} = 0.9960 \pm 0.0005g$$

(Se aplicó a todas las muestras)

Cálculo 3. Concentración de azúcares con índice de refracción

$$\text{Azúcar} \left(\% \frac{m}{v} \right) = \frac{(y - \text{Intercepto})}{\text{Pendiente}}$$

Para la concentración de azúcares aportada por la mora en la primera corrida

$$\text{Azúcar} \left(\% \frac{m}{v} \right) = \frac{(1.34198 - 1.33289)}{0.0014358} = 6.33071\% \approx 6.33\%$$

(Se aplicó a todas las muestras)

Cálculo 4. Densidad celular

$$\rho_{c_0} = \frac{\text{masa seca del inóculo}}{\text{Células viables [cel/mL]}}$$

Densidad celular del inóculo

$$\rho_{c_0} = \frac{0.4687g \pm 0.0005g}{1.09 \times 10^4 \text{cel/mL}} = 4.30 \times 10^{-5} \pm 4.30 \times 10^{-6} g/cel$$

(Único cálculo)

Cálculo 5. Concentración de microorganismos para equipo MUSE

$$C_N = \rho_{C_0} \times C_i$$

Donde:

C_i es la concentración de las células viables en cada muestra

Concentración de la muestra en el tiempo cero

$$C_N = 4.30 \times 10^{-5} \times 1.21 \times 10^4 = 5.20 \times 10^2 \pm 7.36 \times 10^1 \text{ g/L}$$

(Se aplicó a todas las muestras)

Cálculo 6. Concentración de microorganismos con el método de Rhizobia

$$C_x = \text{factor de dilución} \times \text{células por cuadro} \times \text{factor por cuadro}$$

Para la concentración de la muestra 5

$$C_x = 100 \times 22 \times 7.27 = 1.60 \times 10^4 \text{ células/mL}$$

(Se aplicó a las muestras 13 y 28 de microorganismos)

Cálculo 7. Corrección de etanol con GC

$$\text{Etanol corregido} = \text{Valor cromatógrafo} \times \frac{\text{Volumen Mezcla isopropanol}}{\text{Volumen Mezcla muestra}}$$

Para los alcoholes corregidos de la primera corrida en el tiempo cero

$$\begin{aligned} \text{Etanol corregido} &= 4.75 \times 10^{-1} \% (m/v) \times \frac{2 \text{ mL isopropanol}}{1.5 \text{ mL bebida fermentada}} \\ &= 0.63284 \% (m/v) \pm 0.00001 \% (m/v) \text{ etanol} \end{aligned}$$

(Se aplicó a todas las muestras de alcohol)

Cálculo 8. Azúcar agregado para dulzor final

$$\text{Azúcar agregada (g)} = \text{Volumen solución} \times \text{Molaridad Sacarosa} \times \text{peso molecular}$$

Azúcar agregada al producto para fines comerciales

$$\begin{aligned} \text{Azúcar agregada (g)} &= 13\text{L solución sac.} \times \frac{0.288 \text{ mol sacarosa}}{1\text{L sacarosa}} \times \frac{342.2965\text{g sacarosa}}{1 \text{ mol sacarosa}} \\ &= 1,281.5581\text{g} \pm 0.0001\text{g azúcar} \end{aligned}$$

Donde se utilizó la molaridad para una solución final del 9.50% (m/v) de sacarosa basado en las tablas del libro Chemical Engineer Handbook 6th edition con un valor de 5.3 de pH.

(Único cálculo)

Cálculo 9. Porcentaje productivo en la línea de producción

$$\text{Porcentaje productivo} = \frac{\text{Tiempo por etapa (h)}}{\text{Tiempo total (h)}} \times 100$$

Para la etapa de fermentación

$$\text{Porcentaje productivo} = \frac{720 \text{ h}}{735.5 \text{ h}} \times 100 = 97.89\%$$

(Se realizó para todas las etapas de producción generales y para los aportes de las fases de crecimiento microbiano)

2. Cálculos para la fase de crecimiento celular

Donde

μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento celular

C_S es la concentración de sustrato

x es la concentración de microorganismos

k_S es la consrante por afinidad al sustrato

$Y_{x/S}$ es el rendimiento de la concentración de los microorganismos basado en la concentración del sustrato

Cálculo 10. Comportamiento del sustrato con respecto al tiempo

$$\frac{dC_s}{dt} \text{ general} = \frac{C_s - C_{s0}}{T - T_0}$$

Para el diferencial de tiempo en las muestras 1 y 2 en el sustrato

$$\frac{dC_s}{dt} \text{ general} = \frac{(12.40956 - 12.54434)g/L}{(0.25 - 0.00)h} = -0.53912 \pm 0.00001g/L.h$$

(Se aplicó al comportamiento con respecto al tiempo de los microorganismos y etanol)

Cálculo 11. Comportamiento del conjunto de sustrato

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{dC_s}{dt} \text{ glucosa} + \frac{dC_s}{dt} \text{ fructosa}$$

Para el comportamiento de las muestras 1 y 2 de los monosacáridos

$$\frac{dC_s}{dt} = (-0.53912 + 0.70696)g/L.h = 0.16784g \pm 0.00001g/L.h$$

(Único cálculo)

Cálculo 12. Rendimiento de los microorganismos con respecto al sustrato

$$Y_{x/s} = \frac{dx}{dt} / \frac{dC_s}{dt}$$

Para el rendimiento en las muestras 1 y 2 de los microorganismos

$$Y_{x/s} = \frac{447.20g/L.h}{0.16784 g/L.h} = 2,664.44 \pm 266.60g/L.h$$

(Se realizó para intervalos de tiempo determinados y para el rendimiento del etanol con respecto al sustrato)

Cálculo 13. Primer paso para el diferencial del tiempo respecto al diferencial de sustrato

$$A = \frac{-\mu_{max}}{Y_{x/s}} \frac{C_s}{k_s + C_s}$$

Para las corridas 1 y 2

$$A = \frac{0.0042}{2,664.44} \times \frac{21.07805}{-22.00 + 21.07805} = 3.60 \times 10^{-5}$$

(Se realizó para los distintos intervalos de tiempo)

Cálculo 14. Segundo paso para el diferencial del tiempo respecto al diferencial de sustrato

$$\frac{dt}{dC_s} = \frac{Y_{x/s}}{-\mu_{max}} \left(\frac{k_s}{C_s} + 1 \right) \times \frac{1}{x}$$

Para las muestras 1 y 2

$$\frac{dt}{dC_s} = \frac{2,664.44}{0.0042} \times \left(\frac{-22.00}{21.07805} + 1 \right) \times \frac{1}{634.25} = 43.75 \text{ h. L/g}$$

(Se realizó para todos los intervalos de tiempo)

Cálculo 15. Diferencial del sustrato con respecto al tiempo

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{\frac{dt}{dC_s}}$$

Para las muestra 1 y 2

$$\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{43.75} = 0.02 \text{ g/L.h}$$

(Se realizó para todos los intervalos de tiempo)

Cálculo 16. Diferencial del sustrato

$$dC_s = \frac{dC_s}{dt} \times dt$$

Para el diferencial del sustrato en la muestra 2

$$dC_s = 0.02g/L \cdot h \times (0.25 - 0.00)h = 0.01g/L$$

(Se realizó para todos los intervalos de tiempo)

Cálculo 17. Diferencial de los microorganismos

$$dx = dC_s \times Y_{x/s}$$

Para el diferencial de los microorganismos en la muestra 2

$$dx = 0.01 \times 2,664.44 = 15.23g/L$$

(Se realizó en todos los intervalos de tiempo)

Cálculo 18. Concentración final

$$C_{sf} = C_{s0} + dC_s$$

Para la concentración final en la muestra 2 para el modelo generado

$$C_{sf} = (20.94 + 0.01)g/L = 20.95g/L$$

(Se realizó para los microorganismos y etanol)

3. Cálculos para la fase de decrecimiento celular

Cálculo 19. Diferencial de la concentración de los microorganismos con respecto al tiempo

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_{\max} C_s x}{C_s + K_s} \frac{K_p}{K_p + C_p}$$

Para el diferencial en las muestras 21 y 22

$$\frac{dx}{dt} = \frac{0.05 \times 6.126055 \times 3870}{6.126055 - 25} \times \frac{0.02}{0.02 + 12.791067} = -0.08049 \text{ g/L.h}$$

(Se realizó para todos los intervalos de tiempo)

C. ANÁLISIS DE ERROR

Cálculo 20. Promedio

$$\bar{X} = \frac{\sum_1^n X}{n}$$

Para el promedio de las concentraciones del sustrato del modelo generado en la fase de crecimiento

$$\bar{X} = \frac{20.94 + 20.94 + 20.95 + 23.09 + 22.35 + 21.76 + 21.78 + 21.73 + 20.39 + 20.11 + 19.77 +$$

21

$$\frac{18.24 + 17.87 + 12.33 + 12 + 11.50 + 11.24 + 11.27 + 11.15 + 10.72 + 10.76}{21} = 17.18 \text{ g/L}$$

(Se realizó para todas las concentraciones)

Cálculo 21. Propagación de error de la suma y resta

$$S_y = (A \pm a)(B \pm b) = A \pm B \left(\pm \sqrt{a^2 + b^2} \right)$$

Propagación de error de la suma de las derivadas de los azúcares glucosa y fructosa

$$S_y = (105.98000 - 102.20000) \sqrt{(\pm 25.72366)^2 + (\pm 24.80280)^2} = \pm 0.92878 \text{ g/L}$$

(Se aplicó a todas las sumas y restas realizadas)

Cálculo 22. Propagación de error de la multiplicación y división

$$S_x = (A \pm a)(B \pm b) = (A \cdot B) \pm \left[A \cdot B \cdot \sqrt{\left(\frac{a}{A}\right)^2 + \left(\frac{b}{B}\right)^2} \right]$$

Propagación de error de la concentración celular

$$S_x = 4.69 \times 10^2 g/L \times \sqrt{\left(\frac{\pm 1.09 \times 10^4 g/L}{1.09 \times 10^5 g/L}\right)^2 + \left(\frac{\pm 4.30 \times 10^{-5} cel/L}{4.30 \times 10^{-4} cel/L}\right)^2} = \pm 6.63 \times 10^1 g/L$$

(Se aplicó a todas las multiplicaciones y divisiones realizadas)

Cálculo 23. Variación

$$\%Variación = \frac{Teórico - Experimental}{Teórico} \times 100$$

Para la variación de la comprobación de los microorganismos con el método de Rhizobia

$$\%Variación = \left(\frac{1.60 \times 10^4 - 1.65 \times 10^4}{1.60 \times 10^4} \right) cel/mL \times 100 = 3.13\%$$

(Se realizó para la comprobación del modelo de la fase de crecimiento y decrecimiento)

D. DATOS CALCULADOS

Cuadro 23. Concentración de azúcares fermentables de cada jugo de fruto analizado en el jugo de fermentación

Iteración	Mora		Fresa		Arándano		Frambuesa	
	Azúcar (%m/v)	Densidad (± 0.0005 g/mL)	Azúcar (%m/v)	Densidad [± 0.0005 g/mL]	Azúcar (%m/v)	Densidad (± 0.0005 g/mL)	Azúcar (%m/v)	Densidad (± 0.0005 g/mL)
1	6.33	0.996	4.07	1.0602	11.9	1.0161	8.04	1.0046
2	6.33	0.9955	4.02	1.06	11.92	1.0173	8.06	1.0019
3	6.31	0.9966	3.99	1.0602	11.9	1.018	8.11	1.0035
Media	6.32	0.996	4.03	1.0601	11.9	1.0171	8.07	1.0033

*El cuadro anterior muestra la concentración de azúcares fermentables que posee el jugo de mora, fresa, arándano y frambuesa y la densidad que aporta cada uno con el fin de establecer la concentración a utilizar de cada uno para una formulación de frutos rojos a usar en la fermentación alcohólica.

Cuadro 24. Concentración de azúcares fermentables en el jugo

Iteración	Mezcla antes de agregar azúcar		Mezcla después de agregar azúcar	
	Azúcar (%m/v)	Densidad (± 0.0005 g/mL)	Azúcar (%m/v)	Densidad (± 0.0005 g/mL)
1	7.81	1.0021	25.39	1.1081
2	7.81	1.0019	25.41	1.1081
3	7.82	1.0018	25.42	1.1083
Media	7.81	1.0019	25.40	1.1082

*Con la formulación establecida, se tiene una concentración de azúcares fermentables no ideales para la cantidad de alcohol deseado por lo que se agrega azúcar para obtener la cantidad de azúcares fermentables aceptadas por la conversión de alcohol establecida en la sección de antecedentes.

Cuadro 25. Comparación del método de conteo de microorganismos con el método MUSE

Muestra tomada	Dato Muse ($\times 10^4$cel/mL)	Dato microscopio ($\times 10^4$cel/mL)	%Variación
5	1.65	1.60	3.13%
13	2.64	2.70	2.22%
28	7.86	8.10	2.96%
Media	4.05	4.13	2.77%

*Se compara el uso del método de conteo celular del equipo MUSE con el del conteo celular con microscopio basado en el método de Rizhobia para determinar la variación del uso del equipo MUSE. Se tienen variaciones bajas no mayor al 4% y un valor promedio del 2.77% por lo que si se acepta el método.

Cuadro 26. Concentración de microorganismos con la corrección a una concentración de masa/volumen

Tiempo (h)	Concentración de microorganismos (g/L)	Incertidumbre (\pmg/L)
-	468.70000	66.28419
0.25	520.30000	73.58153
1.00	632.10000	89.39244
3.00	636.40000	90.00055
6.00	657.90000	93.04111
7.00	709.50000	100.33845
8.00	782.60000	110.67635
20.00	1,027.70000	145.33873
24.00	1,505.00000	212.83914
28.00	1,578.10000	223.17704
46.50	1,720.00000	243.24473
51.00	2,021.00000	285.81256
117.00	2,141.40000	302.83969
124.00	3,379.80000	477.97590
137.50	3,483.00000	492.57058
140.00	3,741.00000	529.05729

Tiempo (h)	Concentración de microorganismos (g/L)	Incertidumbre (\pmg/L)
147.00	3,809.80000	538.78708
149.00	3,973.20000	561.89533
166.00	4,085.00000	577.70624
173.00	4,988.00000	705.40972
187.00	5,117.00000	723.65308
212.00	4,300.00000	608.11183
237.00	3,440.00000	486.48947
257.00	3,229.30000	456.69199
259.00	2,764.90000	391.01591
281.00	2,588.60000	366.08332
286.00	2,334.90000	330.20472
309.00	1,591.00000	225.00138
325.00	1,135.20000	160.54152
348.00	838.50000	118.58181

*En el cuadro anterior se presenta el comportamiento de los microorganismos con el paso del tiempo a una concentración de gramos/litros en lugar de células/litro mostrada en la sección de datos originales con el fin de tener todas las concentraciones con las mismas dimensionales para una facilidad de cálculo.

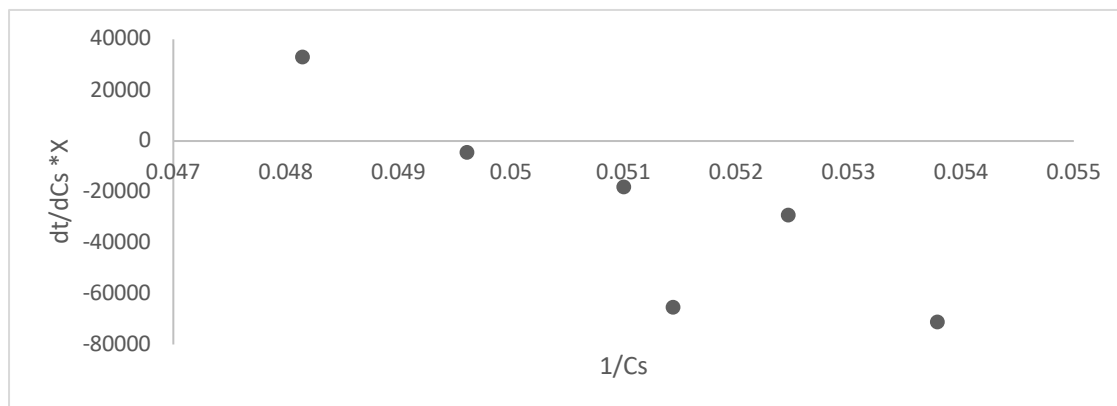
Cuadro 27. Concentración de alcoholes con corrección por volumen utilizado

Tiempo (h)	Etanol (\pm0.00001m/v)	Metanol (\pm0.00001 m/v)
-	0.63284	-
0.25	0.80348	-
1.00	0.84054	-
3.00	1.01165	-
6.00	1.10219	-
7.00	1.76345	-
8.00	2.05985	-
20.00	2.20288	-
24.00	2.64346	-
28.00	2.52287	-

Tiempo (h)	Etanol (± 0.00001 m/v)	Metanol (± 0.00001 m/v)
46.50	3.28457	-
51.00	3.33817	0.04668
117.00	5.93151	0.04736
124.00	6.61116	0.07667
137.50	7.37957	0.14593
140.00	8.18140	0.14772
147.00	8.18464	0.18910
149.00	10.65819	0.41866
166.00	11.32803	0.49752
173.00	11.52223	0.78875
187.00	12.79107	1.31768
212.00	12.01820	0.01338
265.00	12.15153	0.01338
267.00	12.15213	-
270.00	11.95941	0.03502
289.00	11.80023	0.41473
293.00	11.25088	0.00718
317.00	11.47532	0.50868
380.00	11.76575	0.24674
381.00	12.53939	0.01332

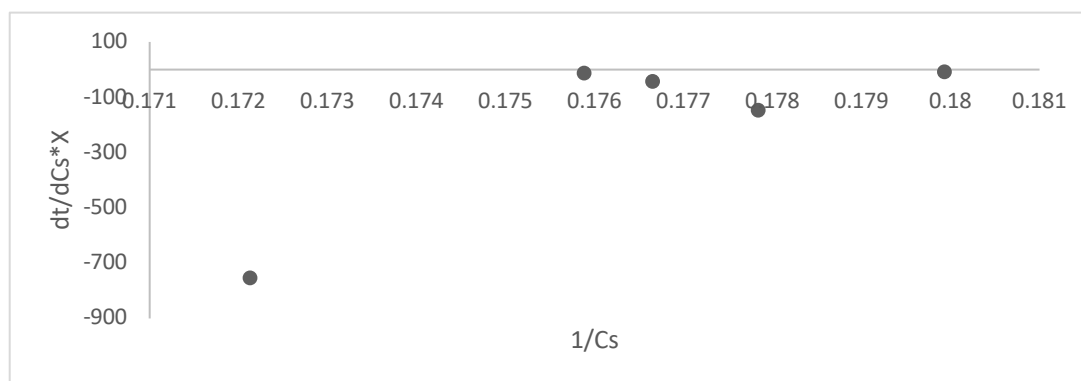
*Se muestran los valores reales de la concentración de alcoholes realizadas con la corrección como se muestra en la sección de cálculos de muestra, en Anexos, debido a la relación utilizada con la inyección del estándar interno (isopropanol) y el volumen de muestra.

Figura 30. Linealización de Lineweaver-Burk para la fase de crecimiento



*La figura anterior muestra la linealización que se le proporciona al modelo por medio de Lineweaver-Burk para la determinación de los parámetros cinéticos (velocidad máxima de crecimiento celular y la constante por afinidad al sustrato) en la fase de crecimiento microbiano con una correlación del 0.7811.

Figura 31. Linealización de Lineweaver-Burk para la fase de decrecimiento



* La figura anterior muestra la linealización que se le proporciona al modelo por medio de Lineweaver-Burk para la determinación de los parámetros cinéticos (velocidad máxima de crecimiento celular y la constante por afinidad al sustrato) en la fase de decrecimiento microbiano con una correlación del 0.6964.

Cuadro 28. Aporte de tiempo en la fermentación de las fases de crecimiento celular

Fase	Tiempo (h)	Aporte
Lag	3.00	0.79%
Exponencial	163.00	42.78%
Estacionaria	7.00	1.84%
Muerte	208.00	54.59%

*Se tienen los porcentajes de aporte durante la fermentación alcohólica para identificar la fase del ciclo de crecimiento microbiano que ocupa la mayor cantidad de tiempo donde se determinó que la mayor es la fase de muerte con un 54.59% seguida por la fase de crecimiento exponencial con un 42.78%.

Cuadro 29. Tiempo productivo en todo el proceso de producción de una bebida fermentada de 15 L.

Etapas	Tiempo (h)	Aporte (%)
Lavado	1.00	0.14%
Prensado	5.00	0.68%
Pasteurizado	0.50	0.07%
Fermentación	720.00	97.89%
Filtrado	4.00	0.54%
Envasado y encorchado	5.00	0.68%

*De manera general, se muestran las etapas que constituyen un proceso de fermentación alcohólica y el tiempo que estas tardan en ser realizadas. Se tienen los porcentajes de aporte en tiempo productivo para la determinación del proceso que más tiempo requiere de atención.

*Las etapas de lavado, prensado, filtrado y envasado y encorchado se realizan a condiciones de presión y temperatura ambiente.

*La etapa de pasteurización se realiza a 85 °C y la etapa de fermentación se realiza a 28 °C y 100 rpm.

Cuadro 30. Ajustes al modelo cinético en la fase de crecimiento

	Descripción	Valor calculado	Valor ajustado
	Ks (L/g.h)	-22.300	-22.000
$\mu_{m\acute{a}x}$	(g/L.h)	0.00054	0.00420

*Los ajustes que se realizan a los parámetros cinéticos es para tener una mejor relación entre los datos medidos y el modelo generado para la predicción de los mismos. Se presentan con pequeñas variaciones.

Cuadro 31. Ajustes al modelo cinético en la fase de decrecimiento

	Descripción	Valor calculado	Valor ajustado
	Ks (L/g.h)	-25.600	-25.000
	(g/L.h)	0.06690	0.05000

*Los ajustes que se realizan a los parámetros cinéticos es para tener una mejor relación entre los datos medidos y el modelo generado para la predicción de los mismos. Se presentan con pequeñas variaciones.

Cuadro 32. Parámetros del modelo cinético en la fase de crecimiento

	Descripción	Valor
	Ks (L/g. h)	22.00
	$\mu_{m\acute{a}x}$. (g/L.h)	0.0042
	$Y_{X/S}$	26.82%
	$Y_{P/S}$	60.38%

Cuadro 33. Parámetros del modelo cinético en la fase de decrecimiento

Descripción	Valor
K_S (L/g.h)	-25.00
$\mu_{m\acute{a}x.}$ (g/L.h)	0.0500
$Y_{X/S}$	-5.13%
K_P (L/g. h)	0.02
$Y_{P/S}$	-2.85%

Cuadro 34. Variables para determinar el comportamiento durante la fase de crecimiento de los microorganismos, sustrato y producto

Tiempo (h)	S modelo (± 0.00001 g/L)	S real (± 0.00001 g/L)	X modelo ($\pm 10\%$ g/L)	X real ($\pm 10\%$ g/L)	P modelo (± 0.00001 g/L)	P real (± 0.00001 g/L)
0.001	20.94185	20.94185	494.5	494.5	-	-
0	20.94185	20.96095	494.45	576.2	0	0.63
0.25	20.94757	21.07805	509.68	634.25	0.02	0.8
1	23.09395	21.10397	557.69	647.15	0.44	0.84
3	22.3486	20.94614	671.84	683.7	1.34	1.01
6	21.75871	20.87033	845.5	746.05	1.65	1.1
7	21.77949	20.77014	909.71	905.15	2.23	1.76
8	21.72634	20.15627	967.85	1,266.35	2.3	2.06
20	20.38816	19.60624	1,604.21	1,541.55	2.49	2.2
24	20.11081	19.44027	1,814.61	1,649.05	3.76	2.64
28	19.77254	19.06028	2,018.36	1,870.50	3.59	2.52
46.5	18.23626	18.5908	2,900.18	2,081.20	5.82	3.28
51	17.86794	14.78741	3,007.15	2,760.60	5.87	3.34
117	12.33293	11.01079	3,960.20	3,431.40	7.86	5.93
124	11.99651	10.45506	4,056.37	3,612.00	8.49	6.61
137.5	11.49661	9.79709	4,228.23	3,775.40	9.01	7.38
140	11.23933	9.54302	4,259.53	3,891.50	9.37	8.18
147	11.26946	9.24701	4,345.42	4,029.10	9.37	8.18
149	11.15397	7.54375	4,365.31	4,536.50	9.81	10.66
166	10.72107	6.2069	4,507.09	5,052.50	9.92	11.33
173	10.75969	6.24864	4,566.77	5,117.00	10.01	11.52

*Se muestra la predictibilidad que tiene el modelo generado comparando con los datos obtenidos con los equipos de HPLC, GC-FIS y MUSE para la fase de crecimiento celular en la fermentación de una formulación de frutos rojos en un proceso total de cuatro semanas. Dónde se muestran las comparaciones del Sustrato (S), microorganismos (X) y etanol (P).

*S_{modelo}, X_{modelo} y P_{modelo} representan los valores proporcionados por el modelo generado basados en el modelo de Monod.

*S_{real}, X_{real} y P_{real} representan los valores experimentales generados por los equipos HPLC, GC-FIS y MUSE.

Cuadro 35. Variables para determinar el comportamiento durante la fase de decrecimiento de los microorganismos, sustrato y producto

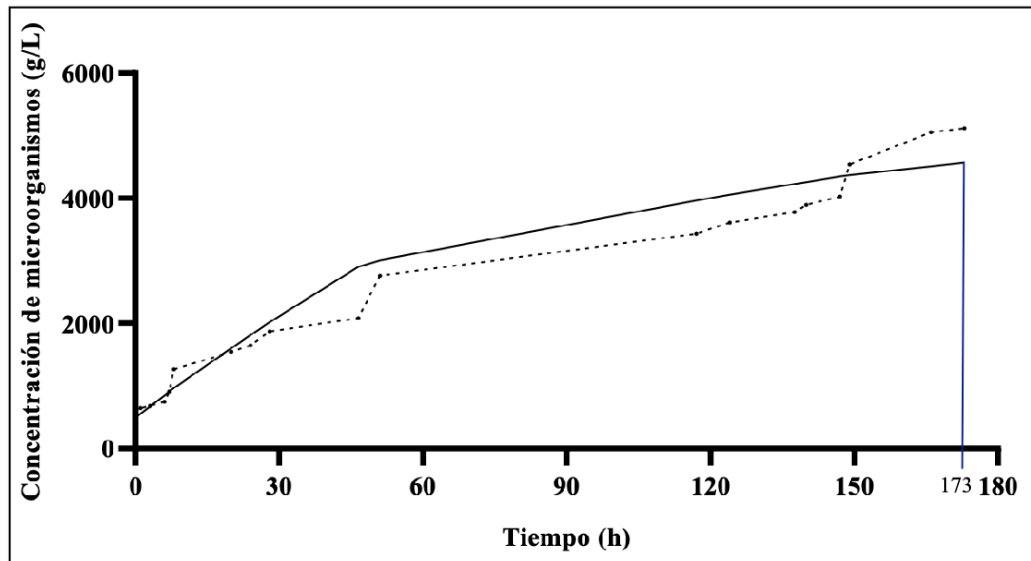
Tiempo (h)	S modelo (± 0.00001 g/L)	S real (± 0.00001 g/L)	X modelo ($\pm 10\%$ g/L)	X real ($\pm 10\%$ g/L)	P modelo (± 0.00001 g/L)	P real (± 0.00001 g/L)
173	6.24707	6.24707	4,708.50	4,708.50	11.52223	11.52223
187	6.24	6.12606	3,706.05	3,870.00	11.52814	12.79107
212	6.18	5.95831	3,701.45	3,334.65	11.52536	12.0182
265	6.04	5.80961	2,701.31	2,997.10	11.52535	12.15153
267	5.98	5.68563	2,701.11	2,676.75	11.52562	12.15213
270	5.77	5.66088	2,699.97	2,461.75	11.52262	11.95941
289	5.71	5.62313	1,699.78	1,962.95	11.52321	11.80023
293	5.63	5.55776	1,698.95	1,363.10	11.51662	11.25088
317	5.67	5.55582	1,697.40	986.85	11.53698	11.47532
380	5.61	5.54214	1,297.31	634.25	11.53702	11.76575
386	5.71	5.52161	893.56	430	12.2591	12.53939

*Se muestra la predictibilidad que tiene el modelo generado comparando con los datos obtenidos con los equipos de HPLC, GC-FIS y MUSE para la fase de decrecimiento celular en la fermentación de una formulación de frutos rojos en un proceso total de cuatro semanas. Dónde se muestran las comparaciones del Sustrato (S), microorganismos (X) y etanol (P).

*S_{modelo}, X_{modelo} y P_{modelo} representan los valores proporcionados por el modelo generado basados en el modelo de Monod.

*S_{real}, X_{real} y P_{real} representan los valores experimentales generados por los equipos HPLC, GC-FIS y MUSE.

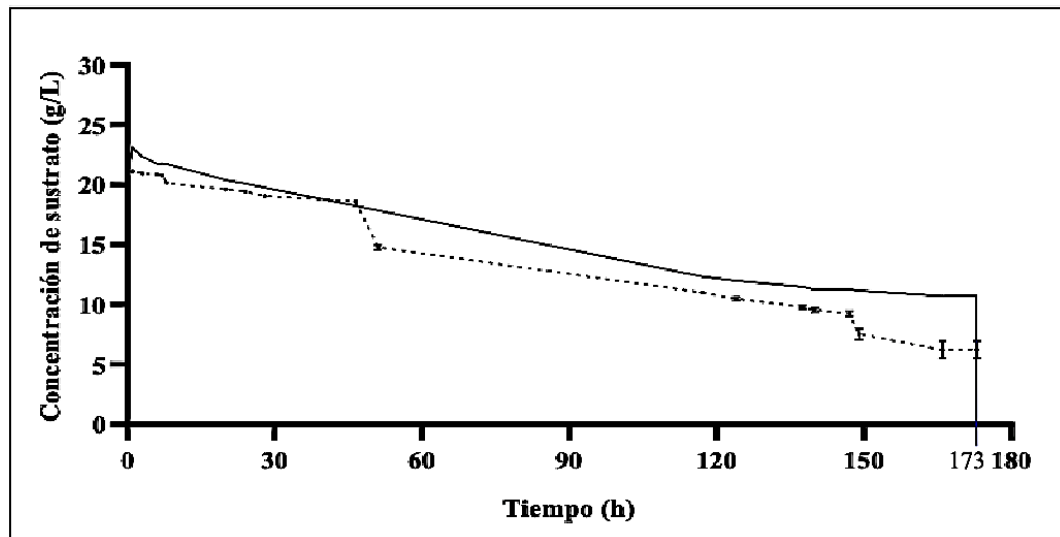
Figura 32. Modelo del comportamiento de reproducción de los microorganismos en la fase de crecimiento celular



*Se presenta el comportamiento de reproducción que tienen los microorganismos únicamente en la fase de crecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea sólida y los datos experimentales por medio de una línea punteada con sus respectivas barras de error.

*Esta fase da inicio a las 0 horas y termina hasta las 173 horas proporcionando una concentración final de microorganismos de 4,567 g/L.

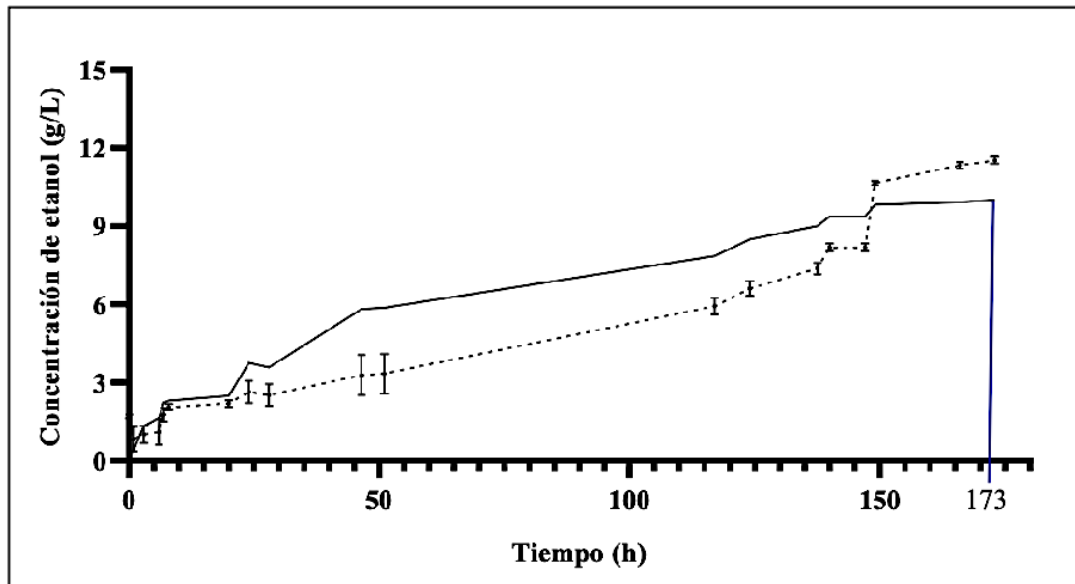
Figura 33. Modelo del comportamiento del consumo de los sustratos en la fase de crecimiento celular



*Se presenta el comportamiento que tiene el consumo del sustrato únicamente en la fase de crecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea y los datos experimentales por medio de una línea punteada con sus respectivas barras de error.

*Esta fase da inicio a las 0 horas y termina hasta las 173 horas proporcionando una concentración final de sustrato de 10% (m/v).

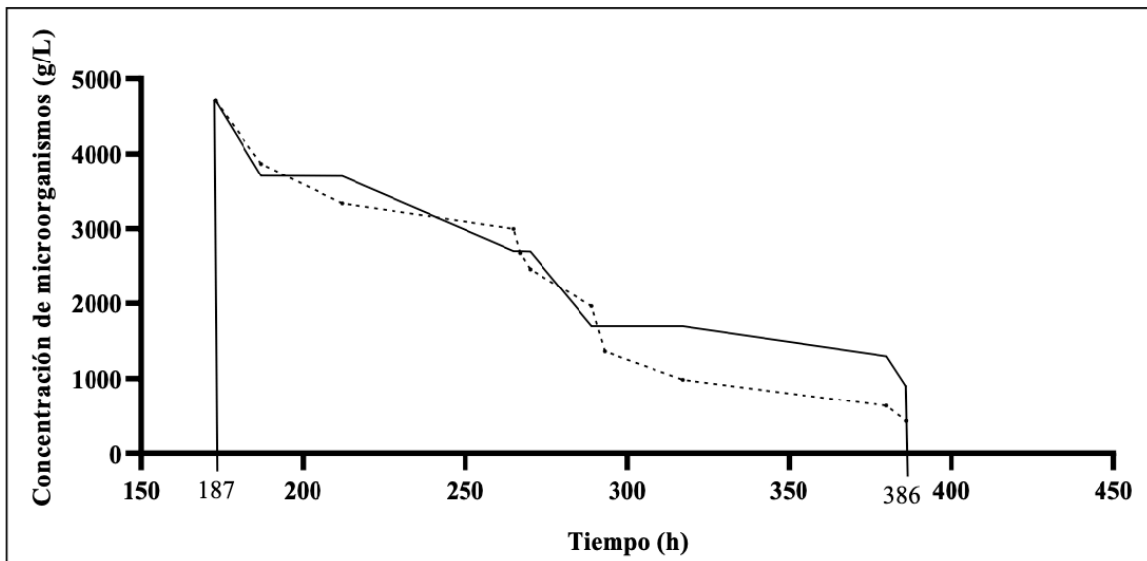
Figura 34. Modelo del comportamiento de formación del etanol en la fase de crecimiento celular



*Se presenta el comportamiento formación que tiene el etanol producido únicamente en la fase de crecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea sólida y los datos experimentales por medio de una línea punteada con sus respectivas barras de error.

*Esta fase da inicio a las 0 horas y termina hasta las 173 horas proporcionando una concentración final de etanol de 10% (v/v).

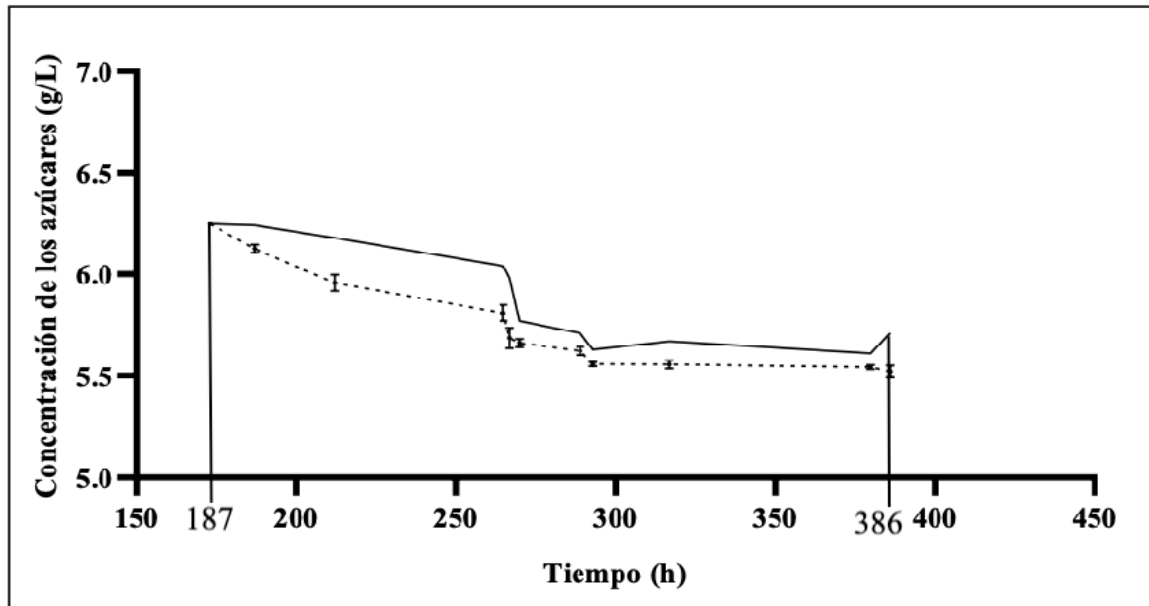
Figura 35. Modelo del comportamiento del mantenimiento celular de los microorganismos en la fase de decrecimiento celular



*Se presenta el comportamiento que tienen los microorganismos únicamente en la fase de decrecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea y los datos experimentales por medio de puntos con sus respectivas barras de error.

*Esta fase comienza a las 187 horas y termina a las 386 horas de operación presentando una concentración final de microorganismos de 893 g/L.

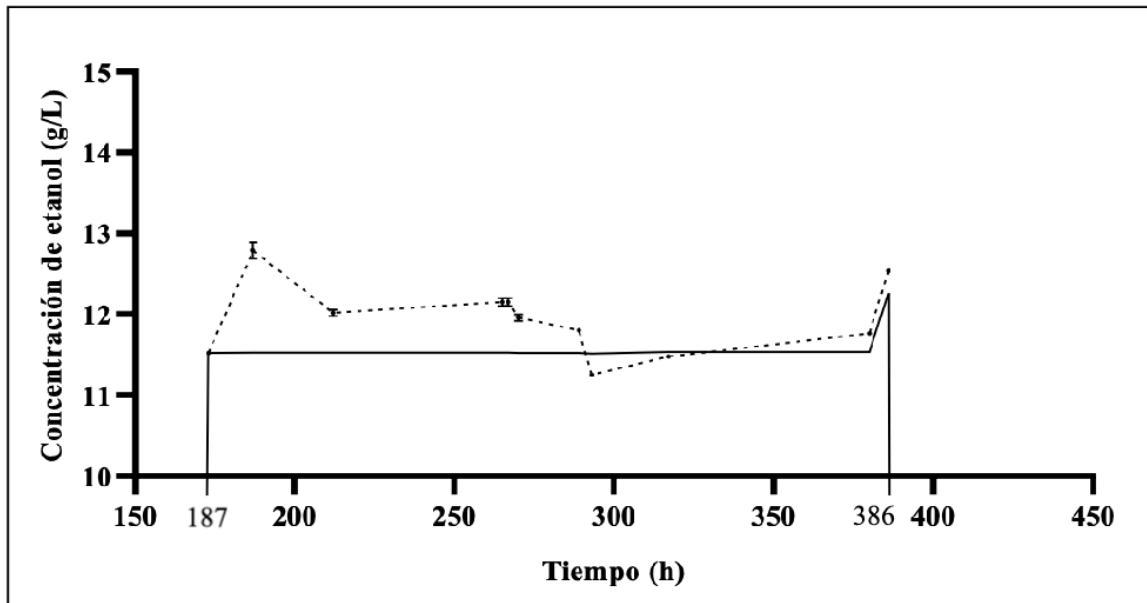
Figura 36. Modelo del comportamiento del consumo de los sustratos en la fase de decrecimiento celular



*Se presenta el comportamiento que tiene el sustrato únicamente en la fase de decrecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea y los datos experimentales por medio de una línea punteada con sus respectivas barras de error.

*Esta fase comienza a las 187 horas y termina a las 386 horas de operación presentando una concentración final de sustrato del 5% (m/v).

Figura 37. Modelo del comportamiento de formación del etanol en la fase de decrecimiento celular



*Se presenta el comportamiento que tiene el etanol producido únicamente en la fase de decrecimiento celular para una mejor visualización en donde el modelo se representa por la línea sólida y los datos experimentales por medio de una línea punteada con sus respectivas barras de error.

*Esta fase comienza a las 187 horas y termina a las 386 horas de operación presentando una concentración final de alcohol del 12% (v/v).

E. FIGURAS

Figura 38. Sistema de la inoculación de los microorganismos en la levadura Lalvin EC-1118 colocado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 39. Sistema de análisis de muestras

SISTEMA DE ANALISIS											
28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17
30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19
13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO
VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO
VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO	VERDADERO
HORARIO											
7:00 p. m.	3:00 p. m.	7:00 p. m.	3:00 p. m.	10:00 a. m.	12:00 p. m.	5:00 p. m.	5:00 p. m.	10:00 a. m.	4:00 p. m.	9:00 a. m.	2:15 p. m.
2:00 p. m.	7:00 p. m.	5:00 p. m.	10:00 a. m.	12:00 p. m.	5:00 p. m.	5:00 p. m.	4:00 p. m.	1:00 p. m.	9:15 p. m.	4:15 p. m.	1:30 p. m.
5pm	3:00 p. m.	8:00 p. m.	9:00 a. m.	7:00 p. m.	10:00 a. m.	8:30 a. m.	11:30 a. m.	5:00 p. m.	8:10 p. m.	7:15 p. m.	1:15 p. m.
DIAS PARA EL MES DE SEPTIEMBRE											
VIERNES 27	MIERCOLES 25	MARTES 9	LUNES 8	JUEVES 5	MIERCOLES 4						
LUNES 30	JUEVES 26	MIERCOLES 25	LUNES 23	JUEVES 19	MARTES 9	LUNES 8	VIERNES 5	JUEVES 5	MIERCOLES 4	MIERCOLES 4	MIERCOLES 4
LUNES 30	JUEVES 26	MIERCOLES 25	VIERNES 20	JUEVES 19	MARTES 9	MARTES 9	VIERNES 5	JUEVES 5	MIERCOLES 4	MIERCOLES 4	MIERCOLES 4
SEMANA 4	SEMANA 3	SEMANA 2	SEMANA 1								
TIEMPO ENTRE MEDICIONES [h]											
317.00	265.00	149.00	117.00	20.00	1.00						
380.00	293.00	267.00	212.00	166.00	147.00	124.00	51.00	24.00	8.00	3.00	0.25
381.00	289.00	270.00	187.00	173.00	140.00	137.50	46.50	28.00	7.00	6.00	-

Sistemas	Ya se analizo?	Tiempo [h]
1	VERDADERO	-
2	VERDADERO	0.25
3	VERDADERO	1.00
4	VERDADERO	3.00
5	VERDADERO	6.00
6	VERDADERO	7.00
7	VERDADERO	8.00
8	VERDADERO	20.00
9	VERDADERO	24.00
10	VERDADERO	28.00
11	VERDADERO	46.50
12	VERDADERO	51.00
13	VERDADERO	117.00
14	VERDADERO	124.00
15	VERDADERO	137.50
16	VERDADERO	140.00
17	VERDADERO	147.00
18	VERDADERO	149.00
19	VERDADERO	166.00
20	VERDADERO	173.00
21	VERDADERO	187.00
22	VERDADERO	212.00
23	VERDADERO	265.00
24	VERDADERO	267.00
25	VERDADERO	270.00
26	VERDADERO	289.00
27	VERDADERO	293.00
28	VERDADERO	317.00
29	VERDADERO	380.00
30	VERDADERO	381.00

Ingresar datos

*LUNES Y MARTES PARA HAER INOCULO Y PREPARAR MUESTRAS

LUNES
MARTES
MIERCOLES
JUEVES
VIERNES
SABADO

SEPTIEMBRE

*Sistema analizado donde se muestra que los análisis se tomaron en distintos tiempos de una manera exponencial y no lineal para tener datos representativos

Figura 40. Ejemplo de muestreo en el equipo analizador de células MUSE Millipore ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 41. Cromatógrafo HPLC utilizando columna Hi Plex Ca 300X7.08mm ubicado en el laboratorio de análisis instrumental avanzado del departamento de química de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 42. Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama ubicado en el laboratorio de análisis instrumental avanzado del departamento de química en la Universidad del Valle de Guatemala.



Figura 43. Muestras tomadas del fermentador BioFlo 415 para análisis de alcoholes en el equipo GC-FIS ubicado en el laboratorio de análisis instrumental avanzado del departamento de química en la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 44. Muestras para análisis de azúcares fermentables presentes en HPLC en el laboratorio de análisis instrumental avanzado del departamento de química de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 45. Prensa hidráulica utilizada en el proceso de obtención de jugo de los frutos rojos ubicada en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química en la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 46. Autoclave del Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química en la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 47. Refractómetro con baño térmico ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 48. Potenciómetro Fisher Scientific ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química de la Universidad del Valle de Guatemala



Figura 49. Congelador utilizado para la concentración de las frutas a utilizar



Figura 50. Microscopio Fisher Scientific y celda Neubauer ubicado en el laboratorio de microbiología del departamento de ingeniería química de la Universidad del Valle de Guatemala

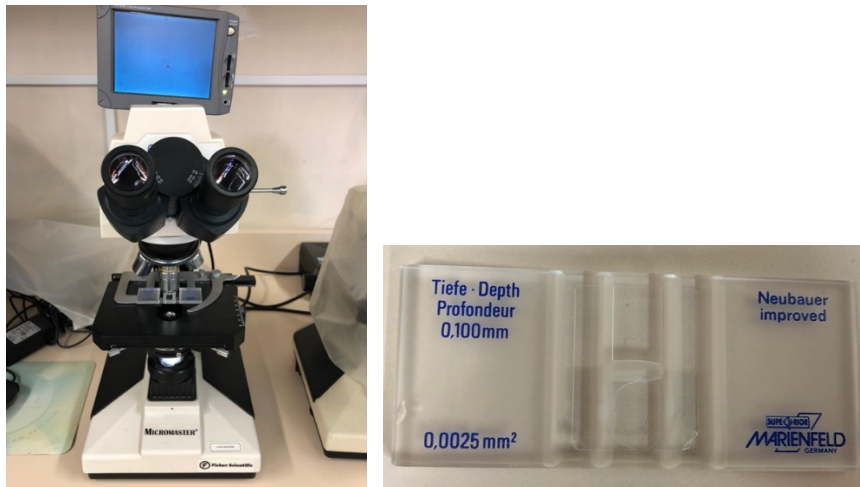


Figura 51. Biorreactor BioFlo 415 ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química de la Universidad del Valle de Guatemala

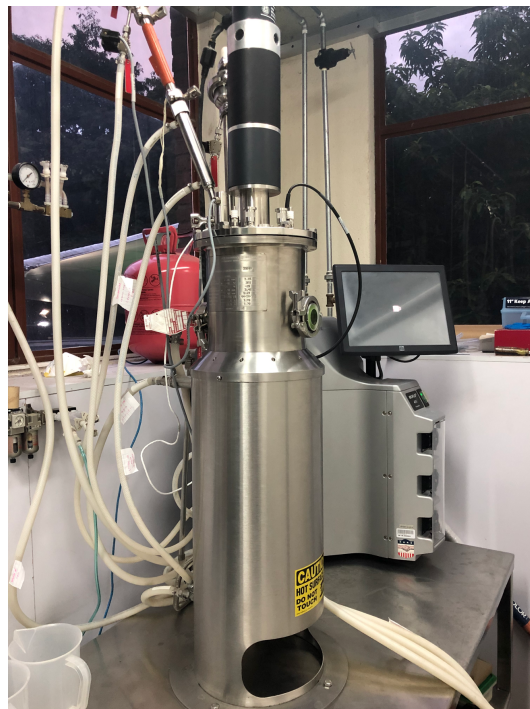


Figura 52. Conteo de células en microscopio

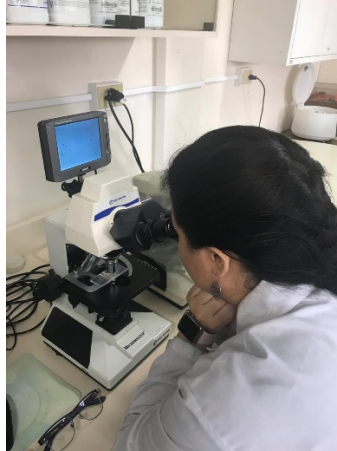


Figura 53. Picnómetro de vidrio con capacidad de 25mL marca Kimax

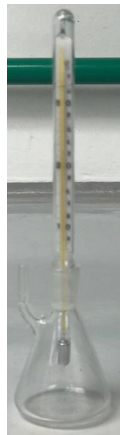


Figura 54. Manta para filtro de frutos rojos



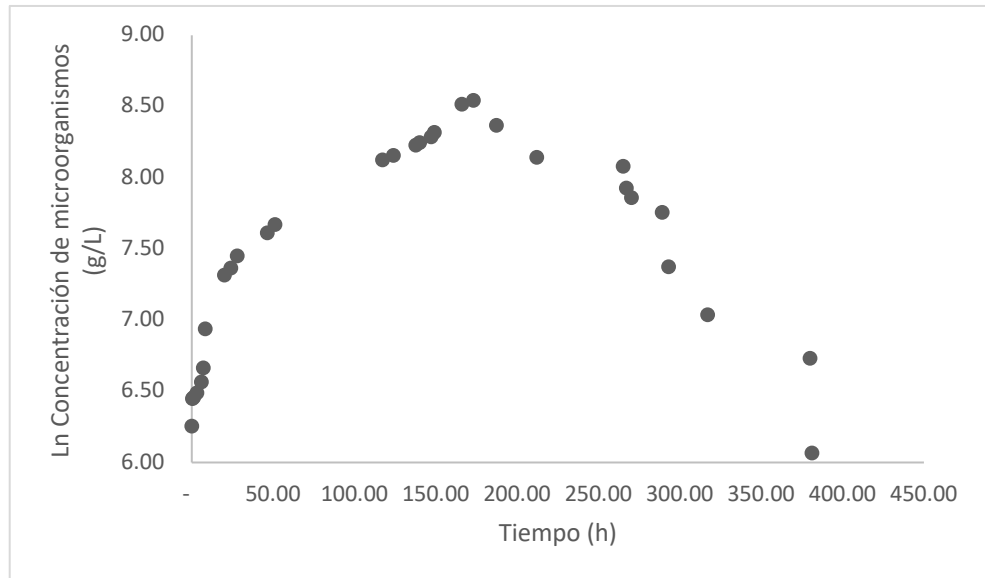
Figura 55. Levadura utilizada marca Lalvin EC-1118



Figura 56. Centrifuga de 8 tubos ubicada en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del departamento de ingeniería química de la Universidad del Valle de Guatemala



Gráfica 10. Comportamiento del logaritmo natural de la concentración de los microorganismos



Gráfica 11. Comportamiento de la derivada del logaritmo de la concentración de los microorganismos

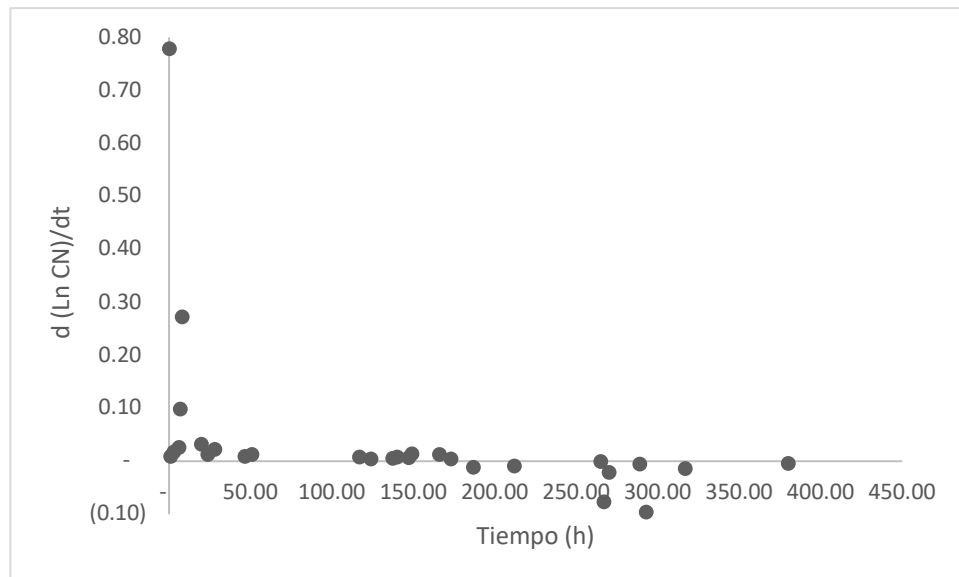


Figura 57. Estudio de mercado sobre composición del mosto fermentable

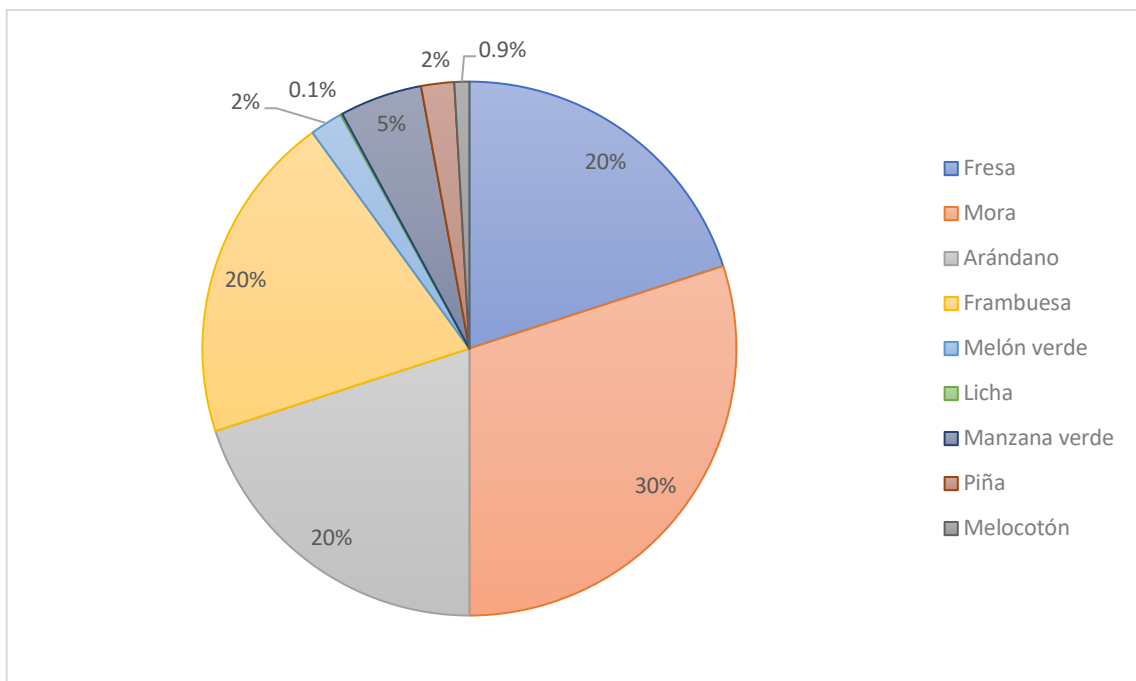


Figura 58. Dulzor del producto terminado por medio de encuestas al mercado objetivo

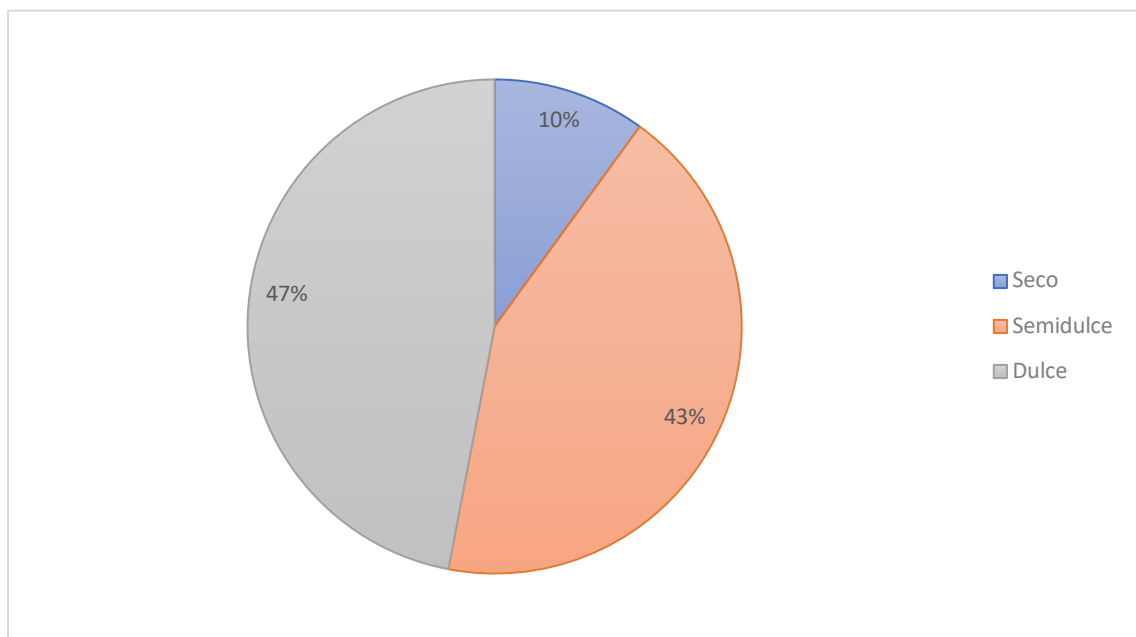


Figura 59. Comportamiento de la temperatura dentro del reactor BioFlo 415

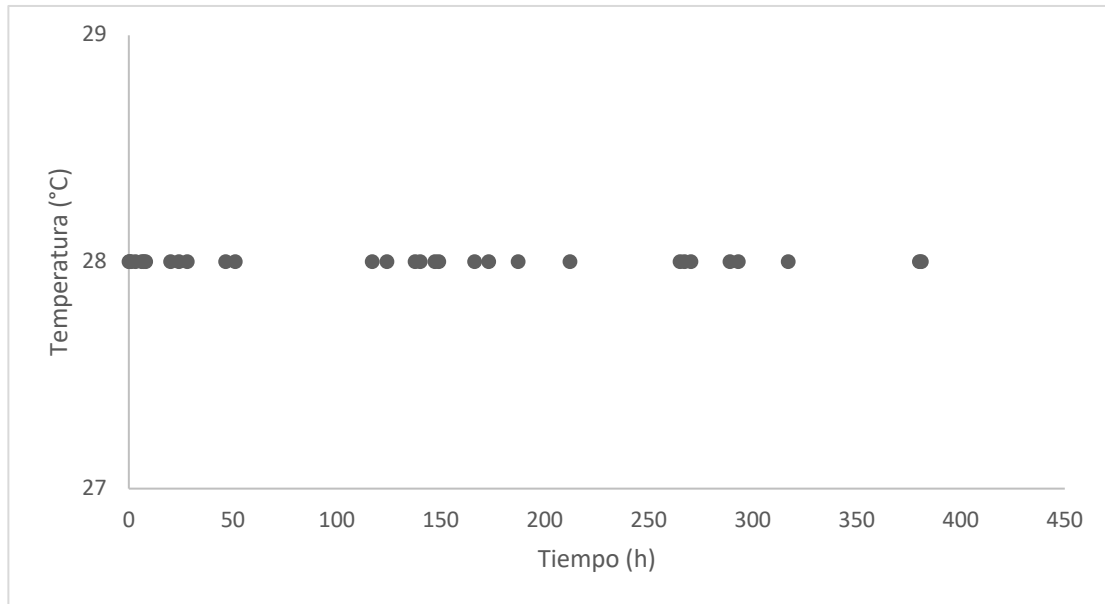


Figura 60. Comportamiento del pH dentro del reactor BioFlo 415

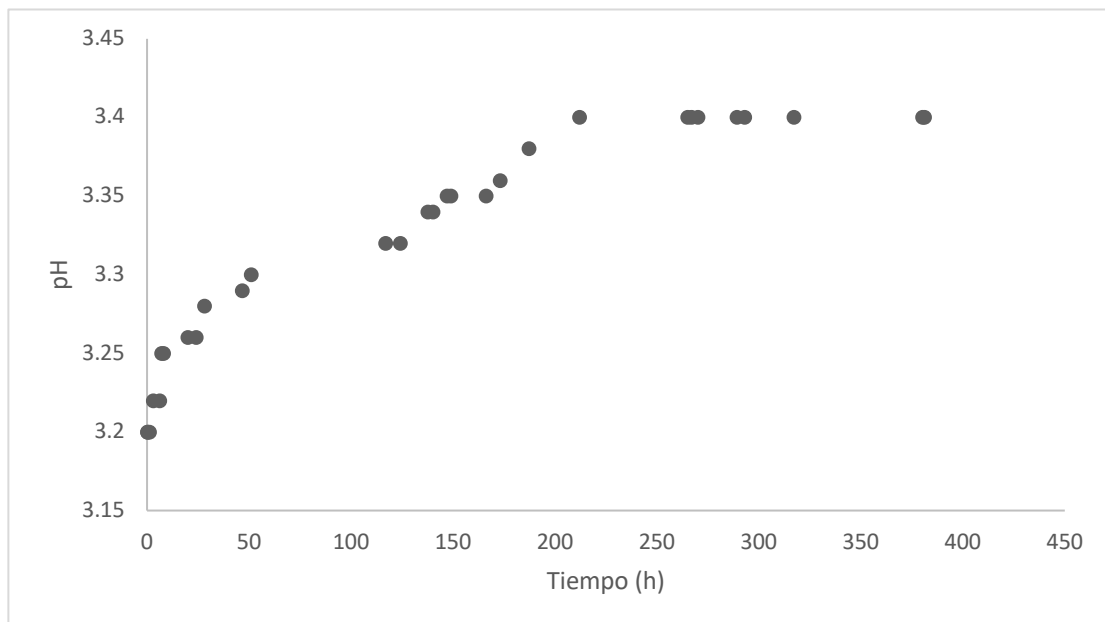


Figura 61. Tipos de madurez en el crecimiento de la fresa

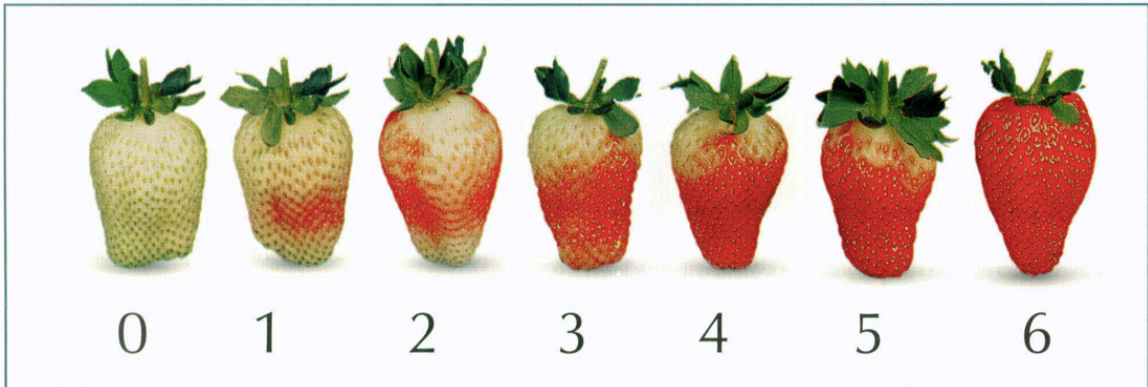


Figura 62. Tipo de madurez en el crecimiento de la mora



Figura 63. Tipos de madurez en el crecimiento de la frambuesa

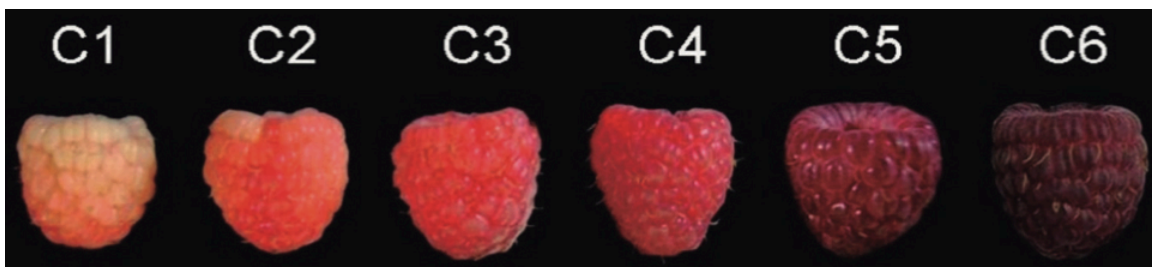


Figura 64. Tipos de madurez en el crecimiento de los arándanos

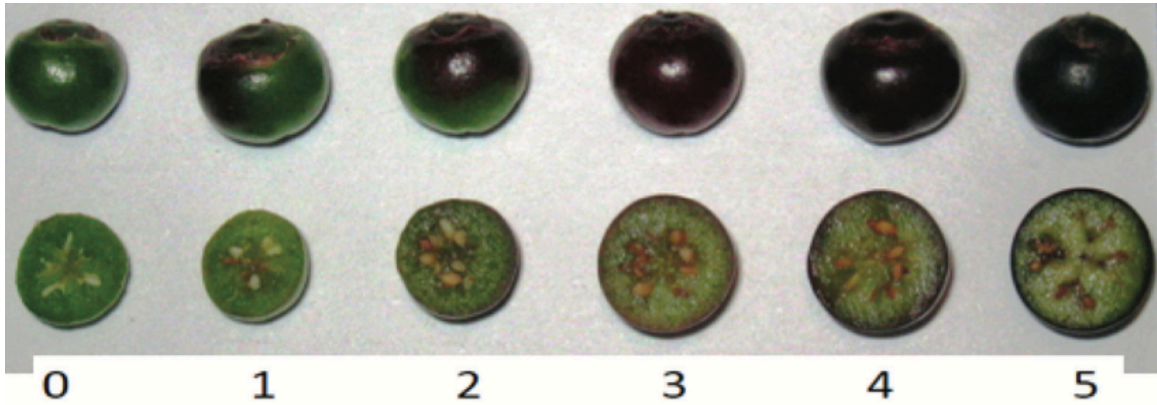


Figura 65. Balance de masa del sistema en general

$$-\frac{dS}{dt_{total}} = -\frac{dS}{dt_{Biomasa}} - \frac{dS}{dt_{Producto}} - \frac{dS}{dt_{Mantenimiento}}$$

$$-\frac{dS}{dt} = mX + \frac{\mu X}{Y_{X/S}} + \frac{dP}{Y_{P/S}}$$

Figura 66. Balance de masa de la solución inicial sin azúcar agregada

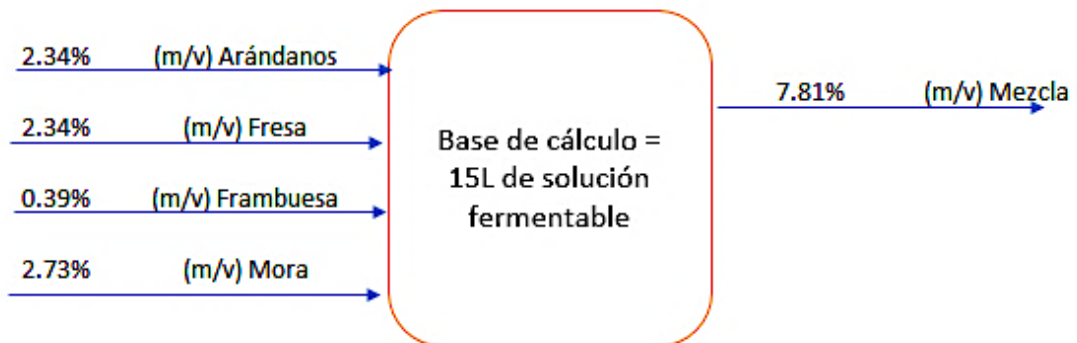
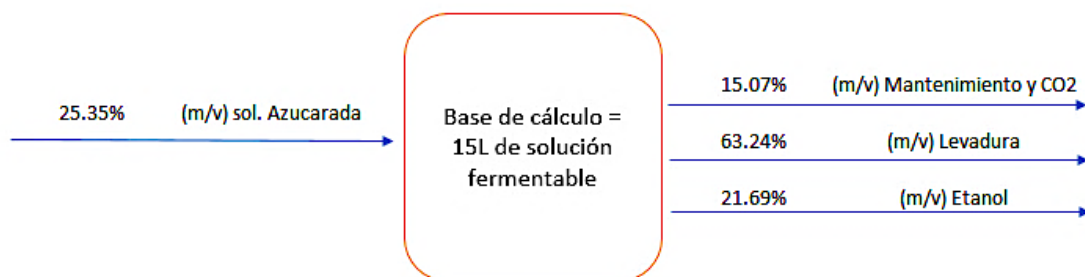


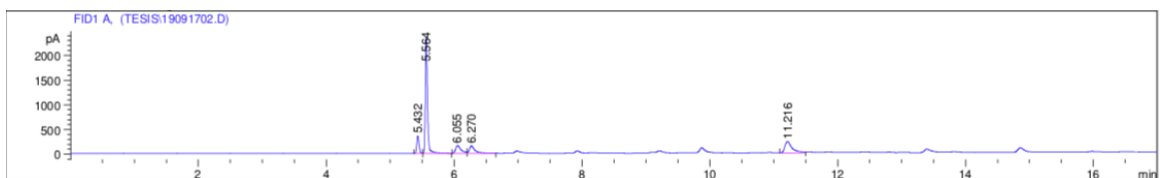
Figura 67. Balance de masa de la solución fermentable



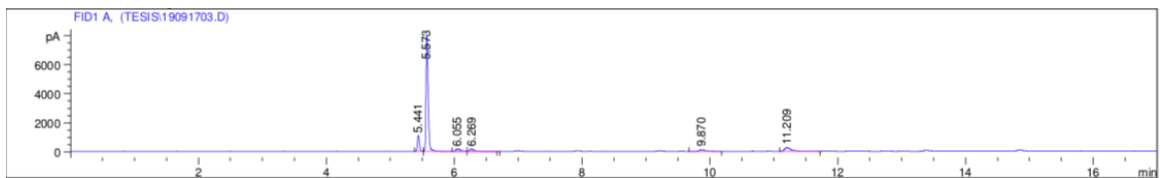
F. CROMATOGRAMAS

1. Cromatogramas para alcoholes con GC-FIS

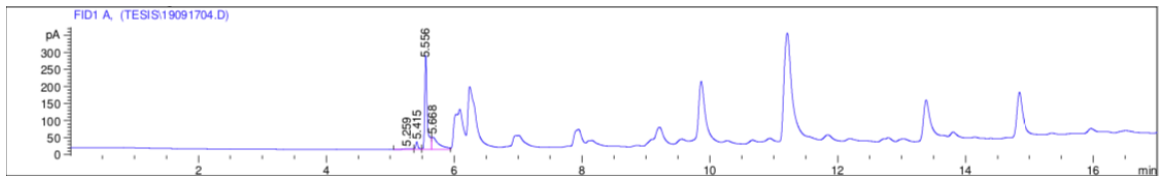
Cromatograma 1. Muestra 1 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



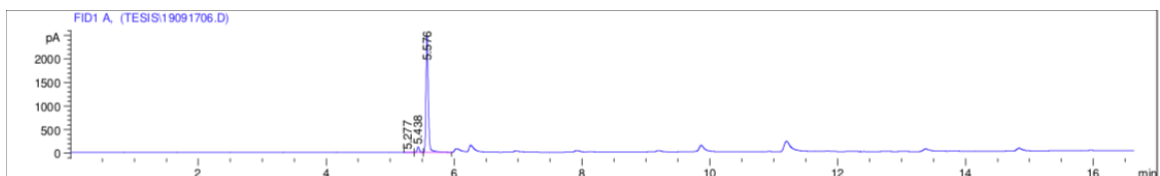
Cromatograma 2. Muestra 2 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



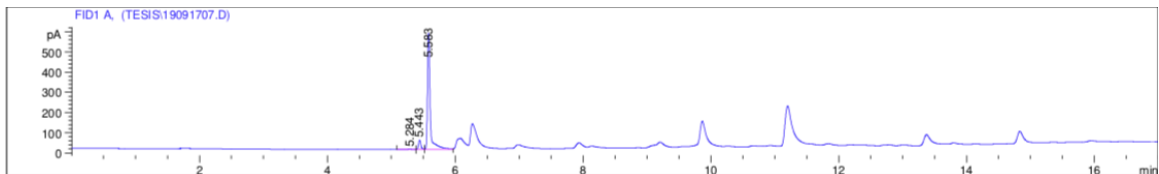
Cromatograma 3. Muestra 3 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



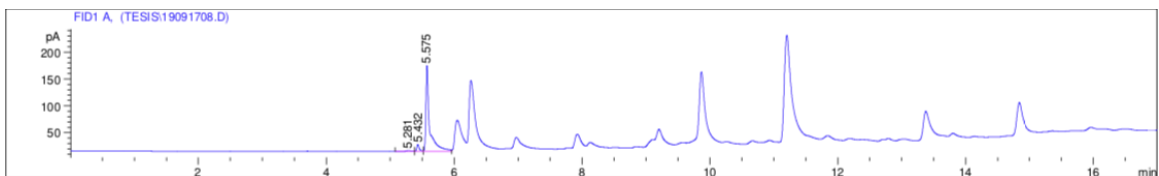
Cromatograma 4. Muestra 4 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



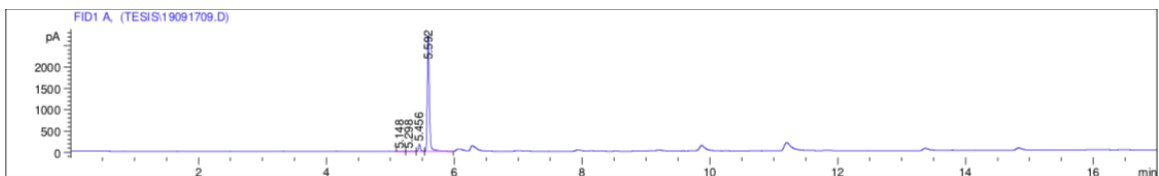
Cromatograma 5. Muestra 5 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



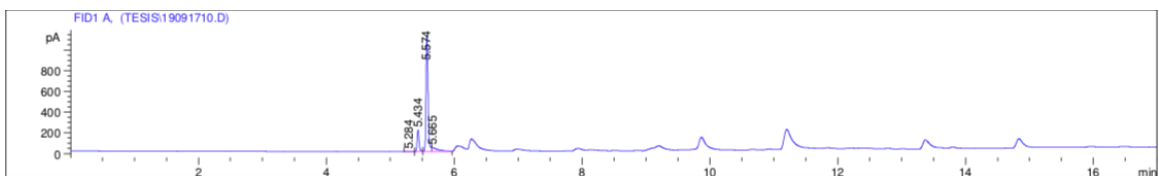
Cromatograma 6. Muestra 6 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



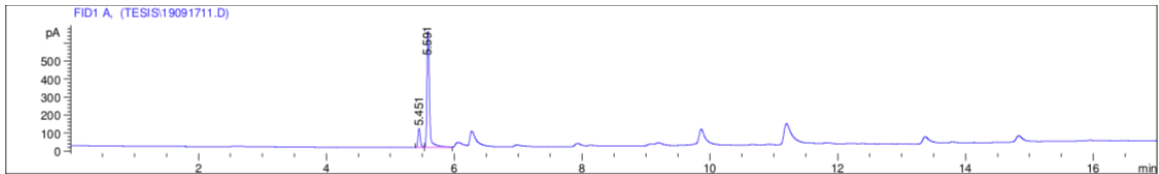
Cromatograma 7. Muestra 7 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



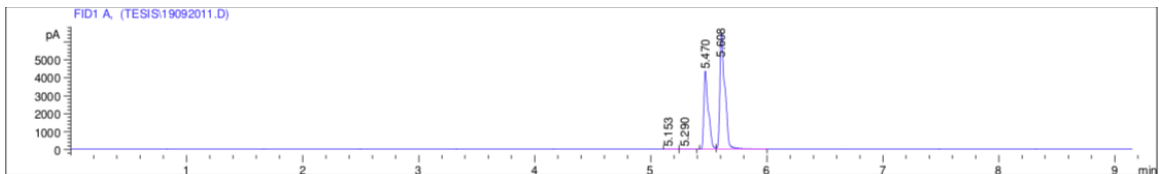
Cromatograma 8. Muestra 8 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



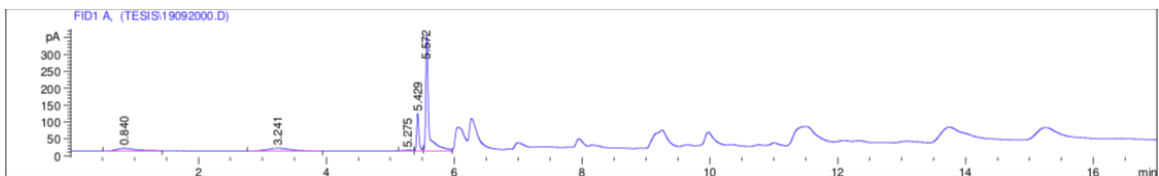
Cromatograma 9. Muestra 9 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



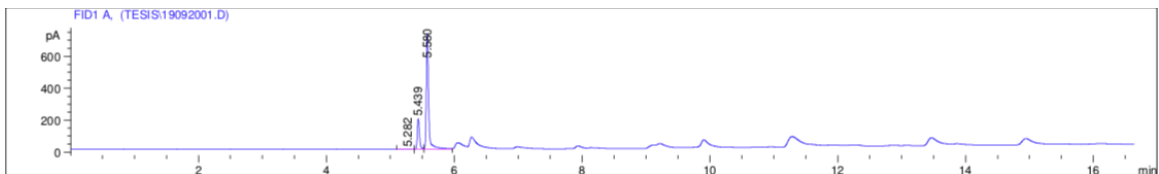
Cromatograma 10. Muestra 10 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



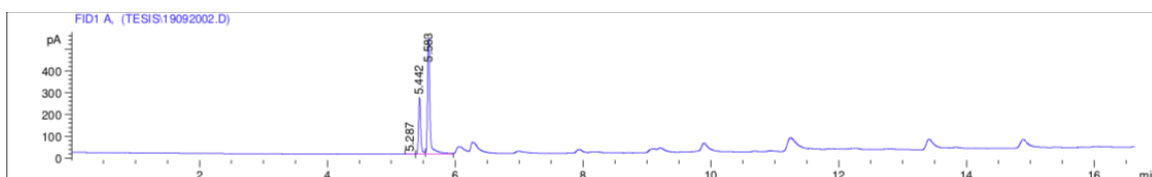
Cromatograma 11. Muestra tomada 11 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



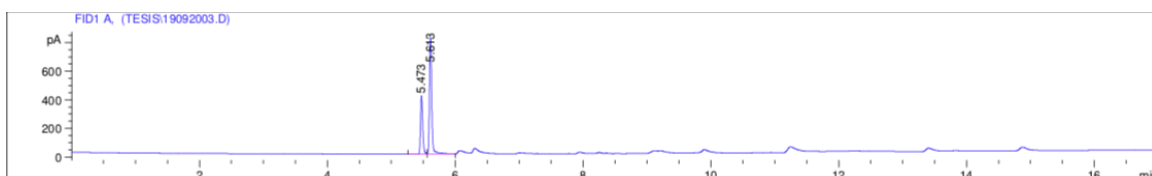
Cromatograma 12. Muestra 12 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



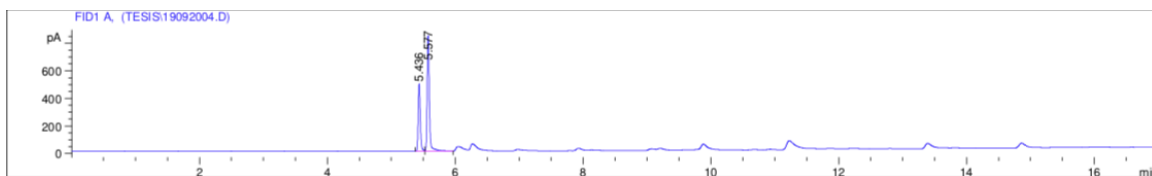
Cromatograma 13. Muestra 13 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



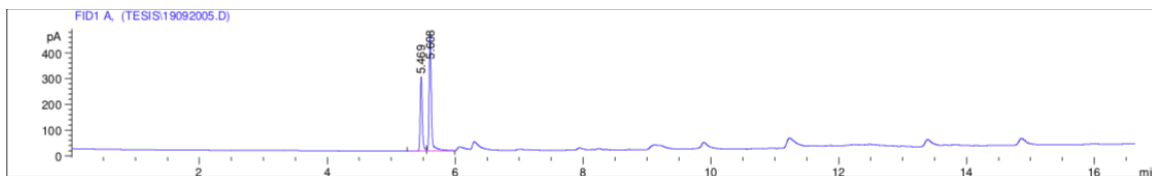
Cromatograma 14. Muestra 14 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



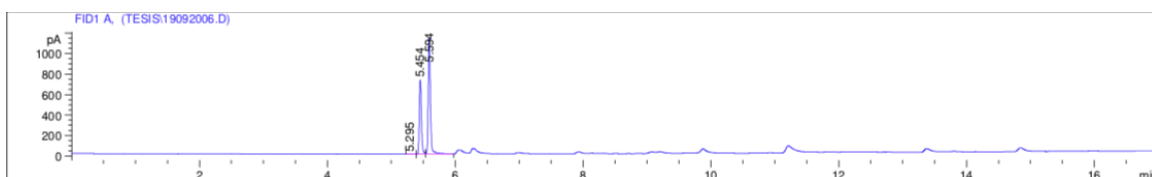
Cromatograma 15. Muestra 15 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



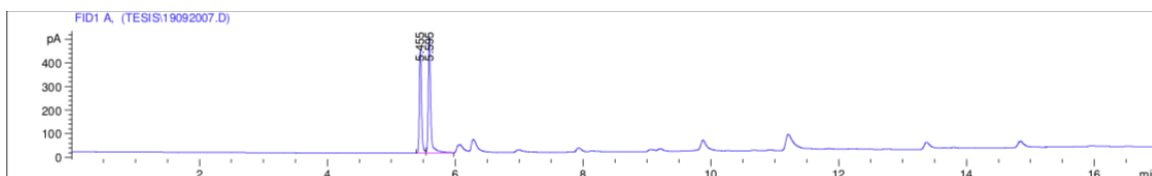
Cromatograma 16. Muestra 16 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



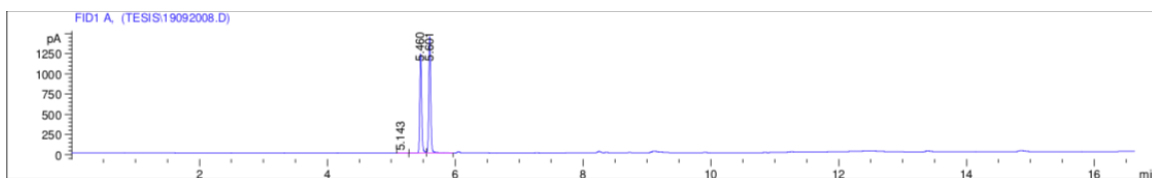
Cromatograma 17. Muestra 17 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



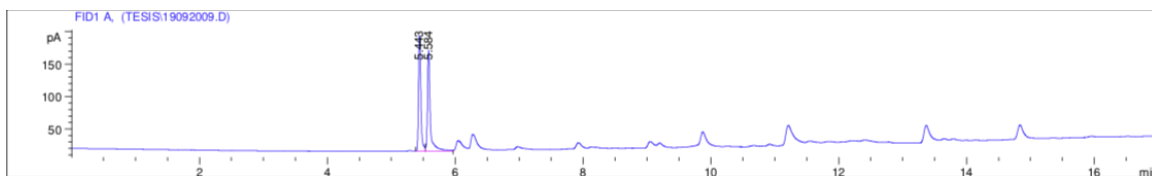
Cromatograma 18. Muestra 18 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



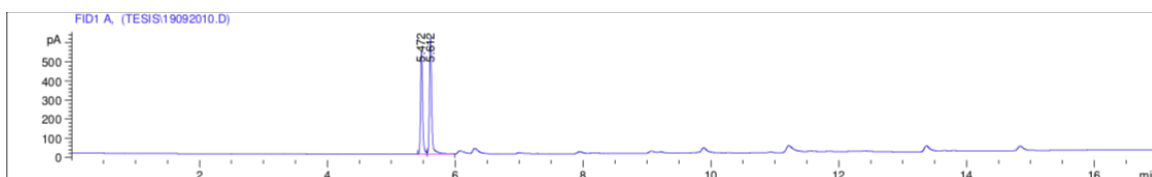
Cromatograma 19. Muestra 19 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



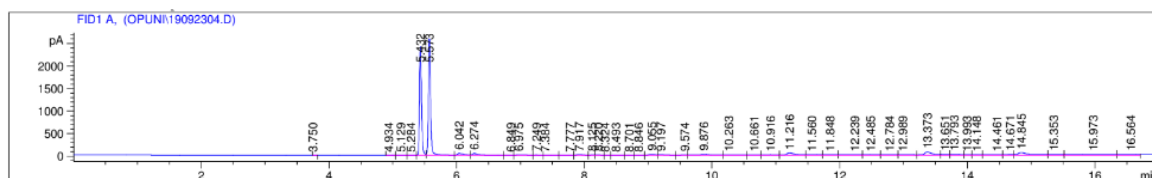
Cromatograma 20. Muestra 20 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



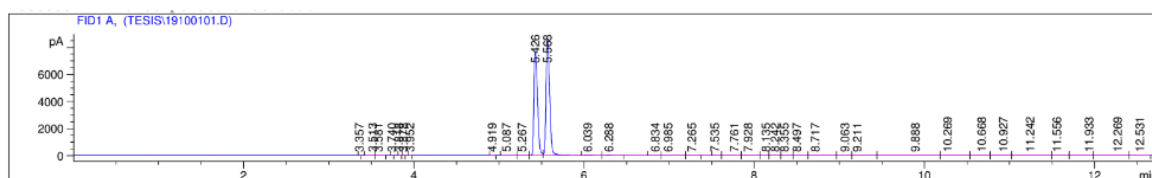
Cromatograma 21. Muestra 21 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



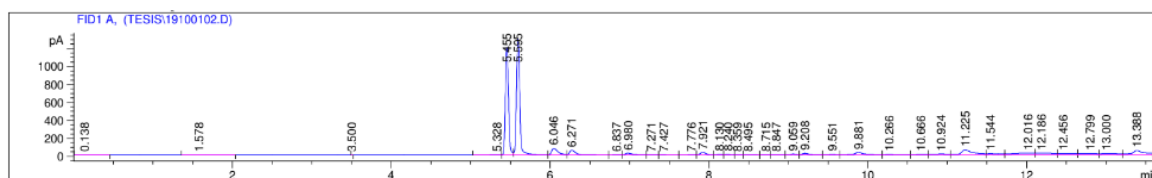
Cromatograma 22. Muestra 22 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



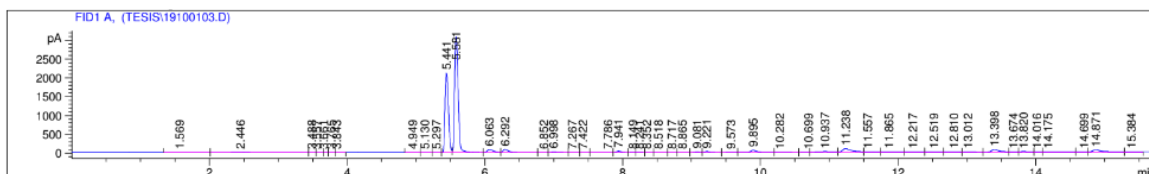
Cromatograma 23. Muestra 23 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



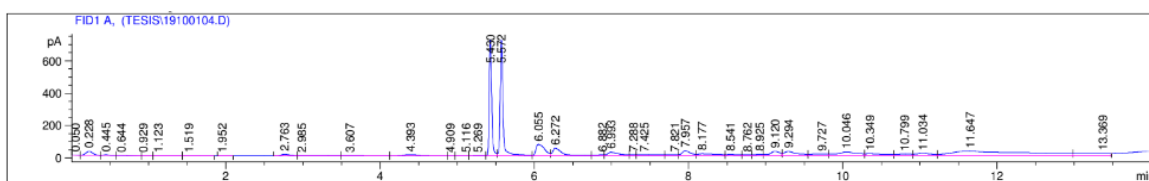
Cromatograma 24. Muestra 24 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



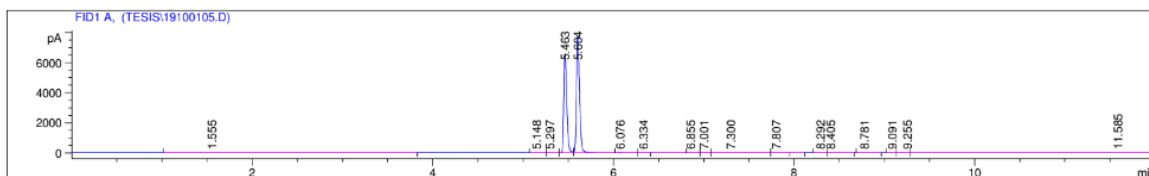
Cromatograma 25. Muestra 25 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



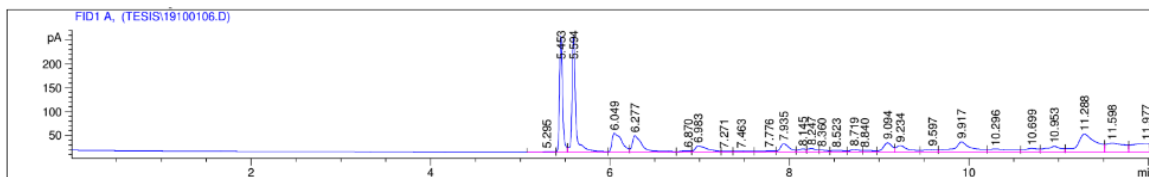
Cromatograma 26. Muestra 26 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



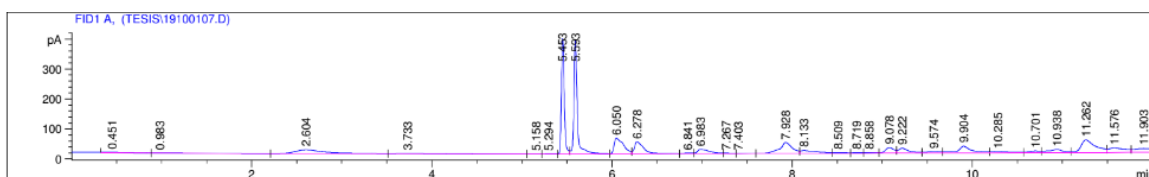
Cromatograma 27. Muestra 27 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



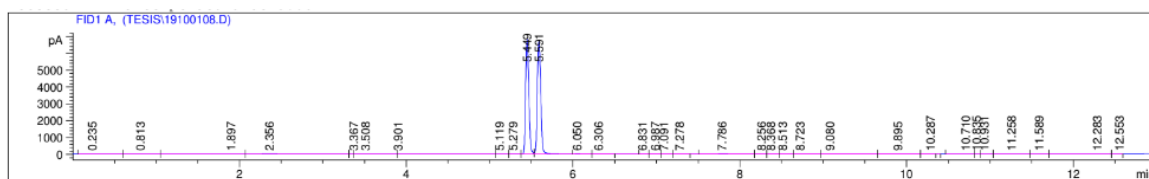
Cromatograma 28. Muestra 28 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



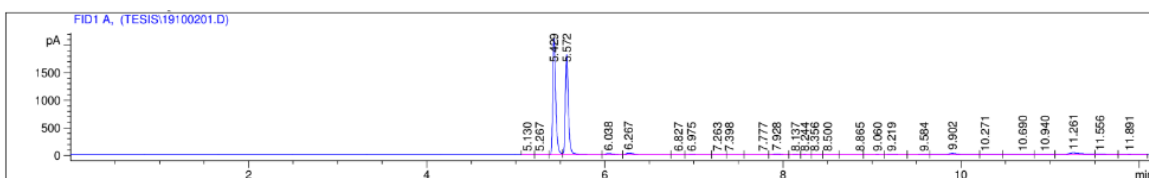
Cromatograma 29. Muestra 29 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica



Cromatograma 30. Muestra 30 tomada según la Figura 39, para la determinación de alcoholes presentes en la fermentación alcohólica

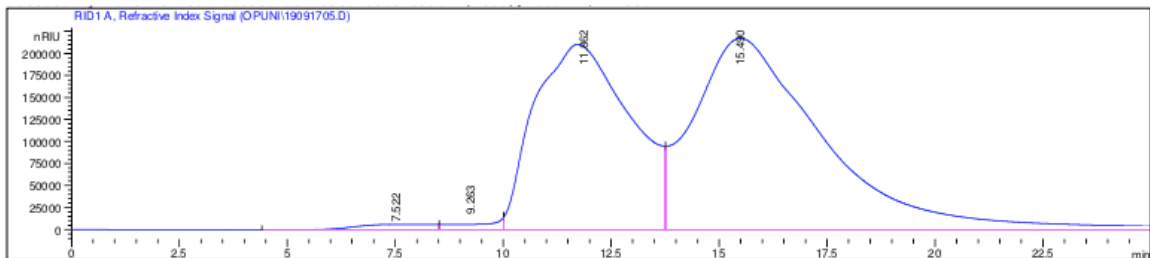


Cromatograma 31. Muestra de alcoholes de la muestra con propósito comercial

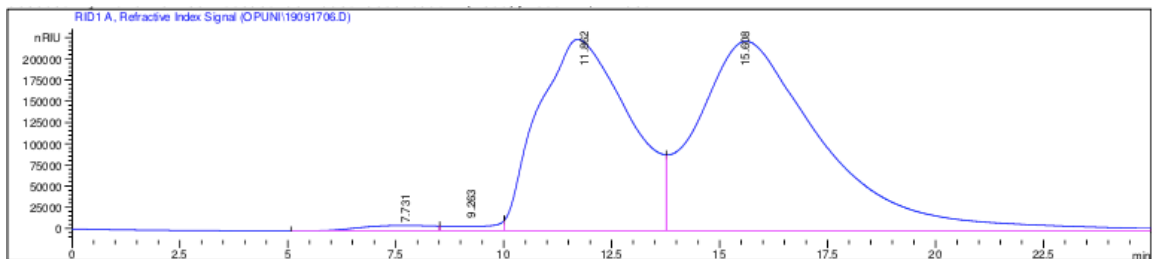


2. Cromatogramas para azúcares con HPLC

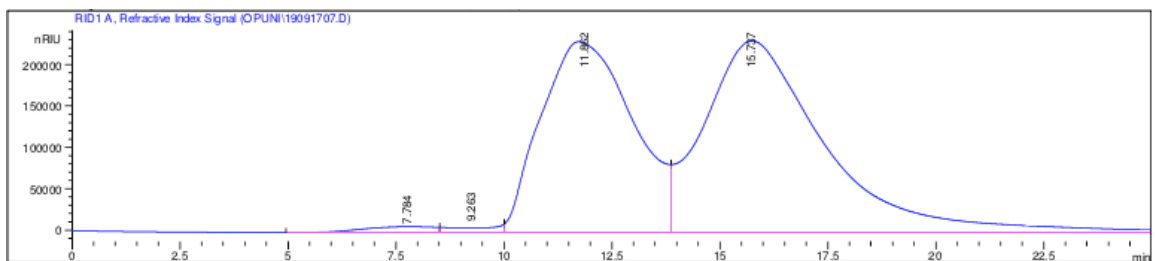
Cromatograma 32. Muestra 1 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



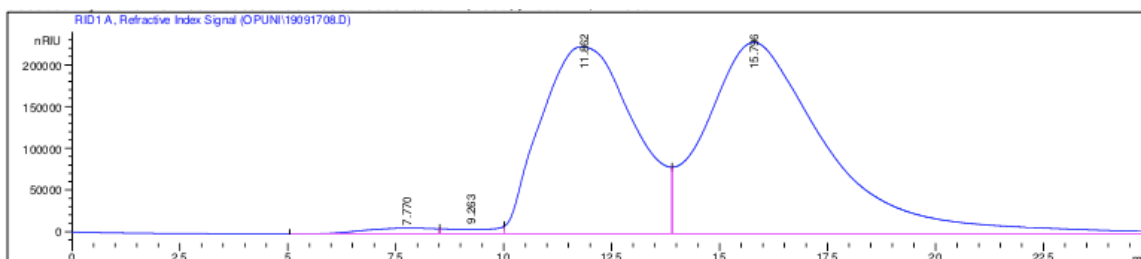
Cromatograma 33. Muestra 2 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



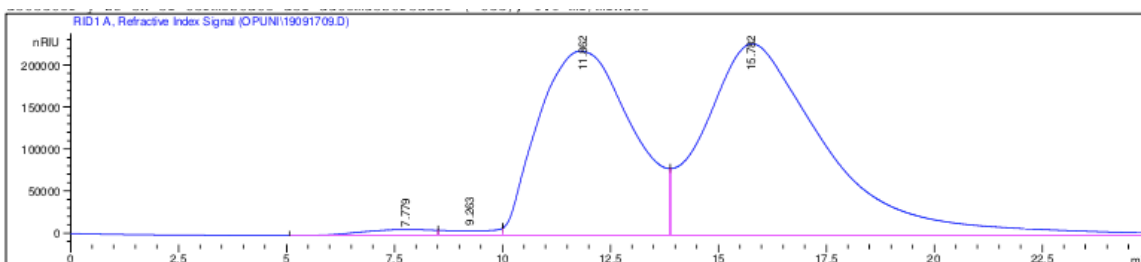
Cromatograma 34. Muestra 3 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



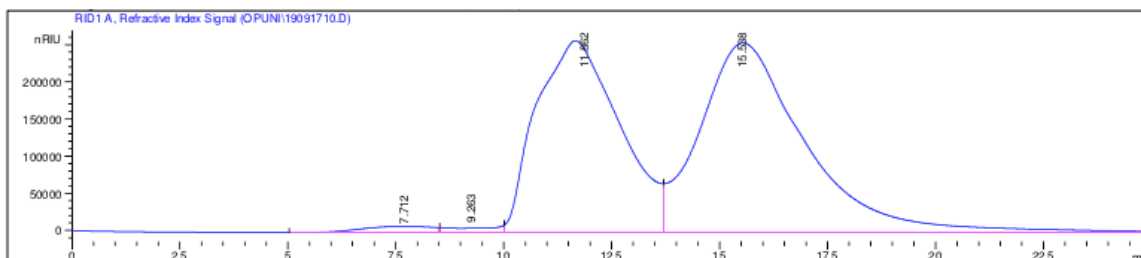
Cromatograma 35. Muestra 4 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



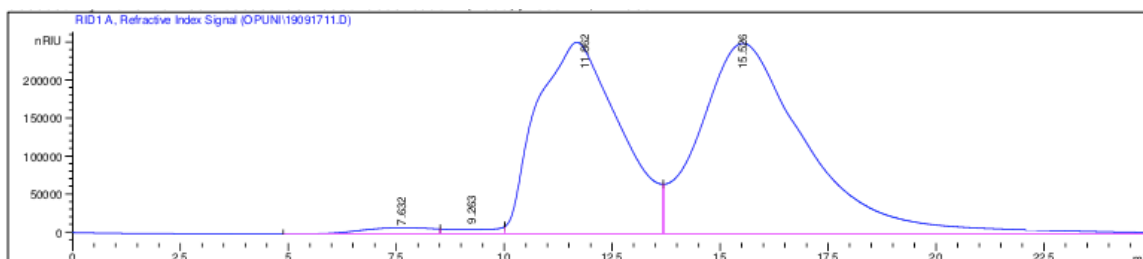
Cromatograma 36. Muestra 5 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



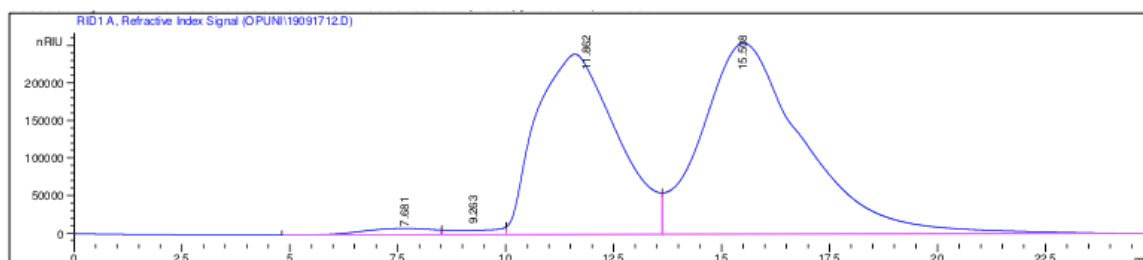
Cromatograma 37. Muestra 6 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



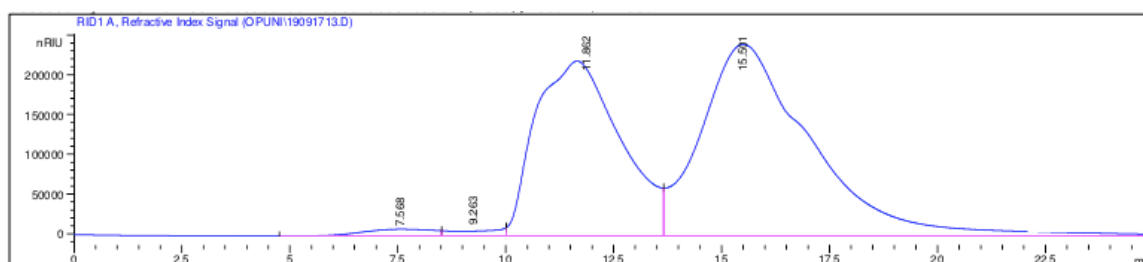
Cromatograma 38. Muestra 7 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



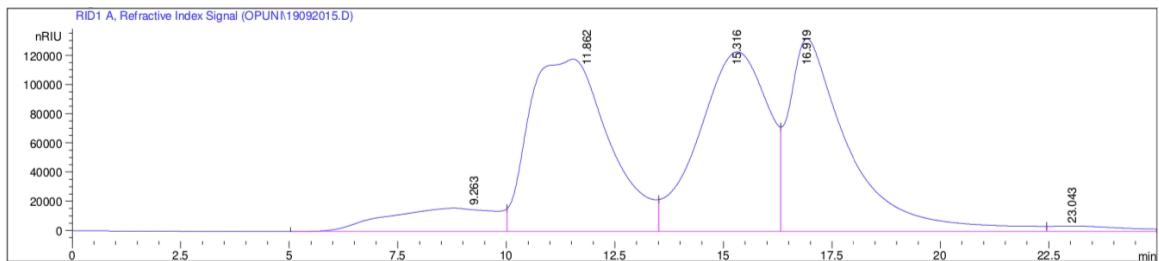
Cromatograma 39. Muestra 8 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



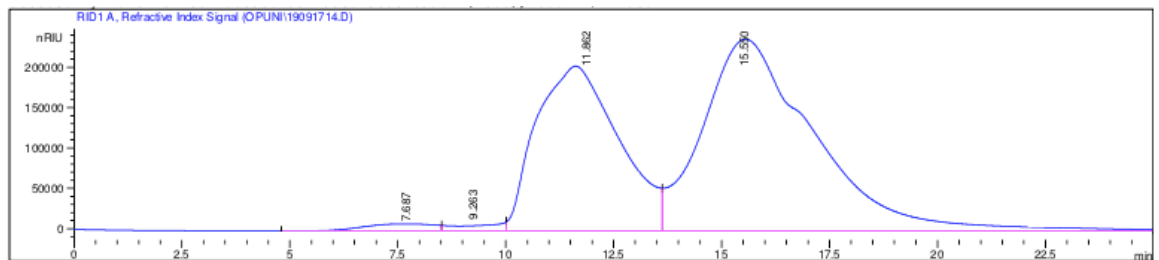
Cromatograma 40. Muestra 9 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



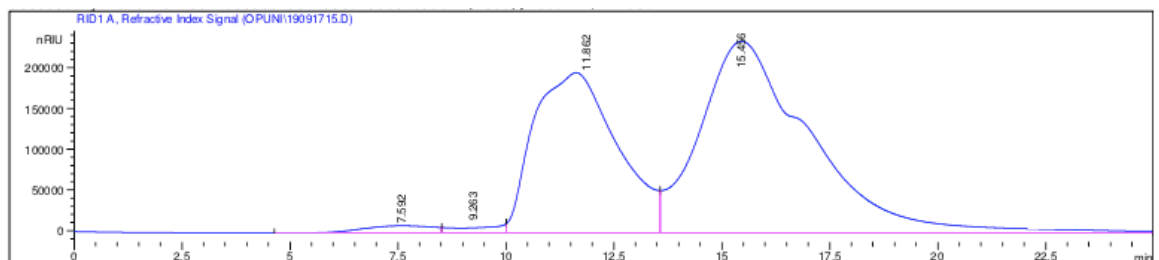
Cromatograma 41. Muestra 10 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



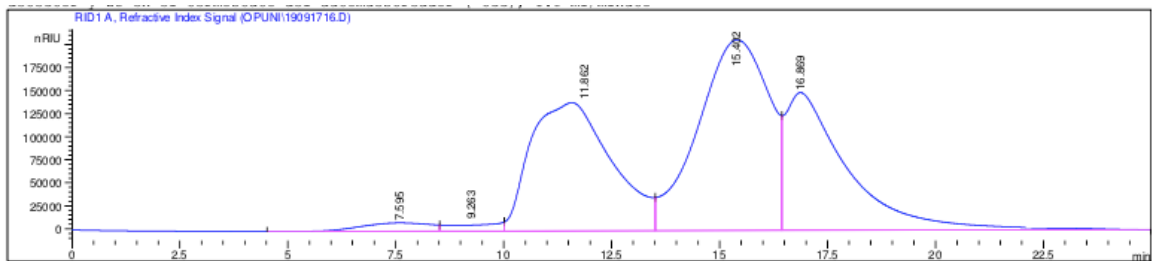
Cromatograma 42. Muestra 11 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



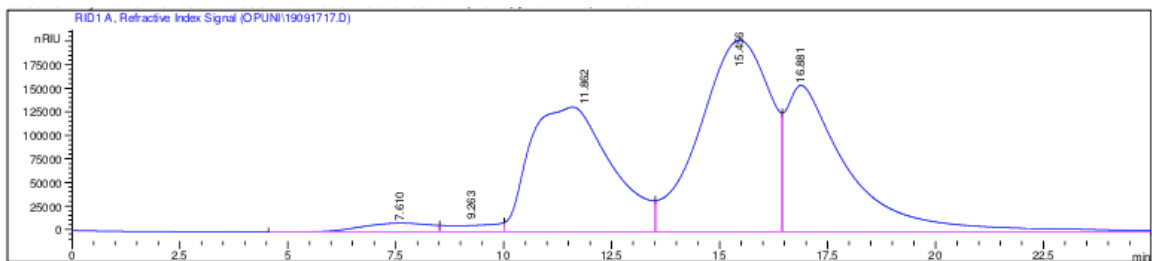
Cromatograma 43. Muestra 12 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



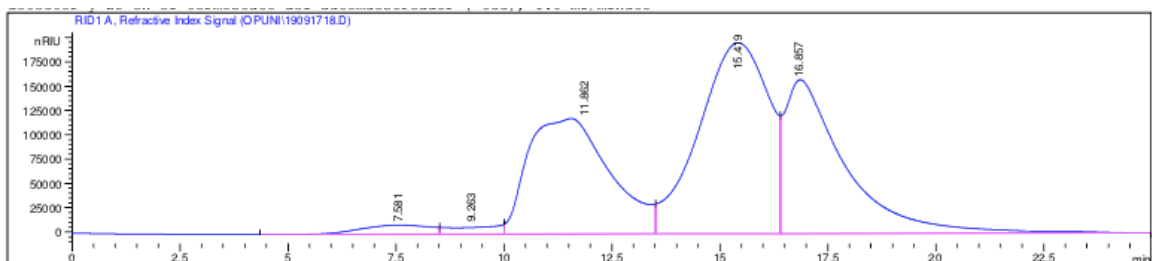
Cromatograma 44. Muestra 13 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



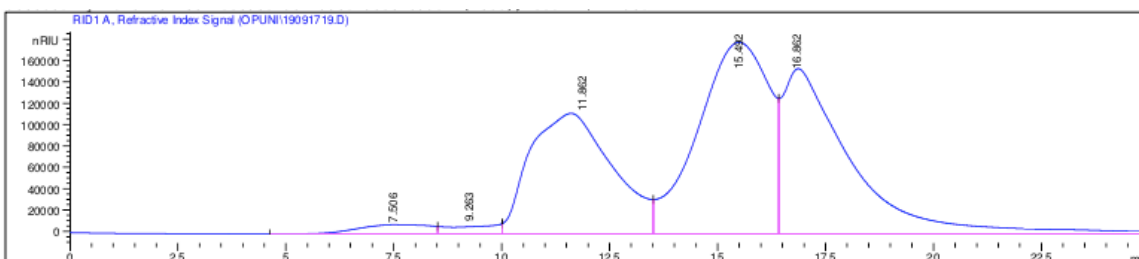
Cromatograma 45. Muestra 14 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



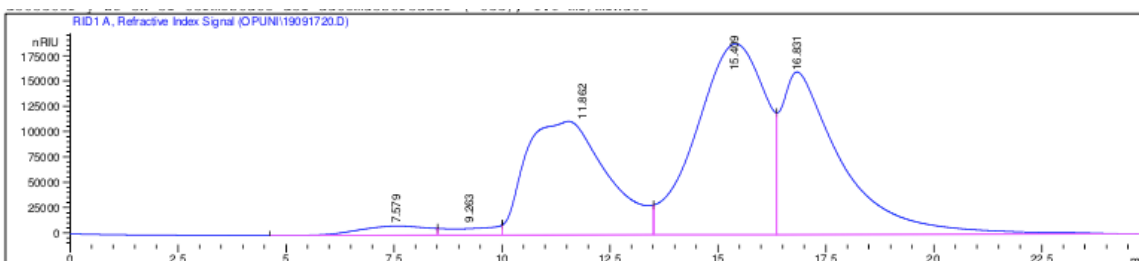
Cromatograma 46. Muestra 15 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



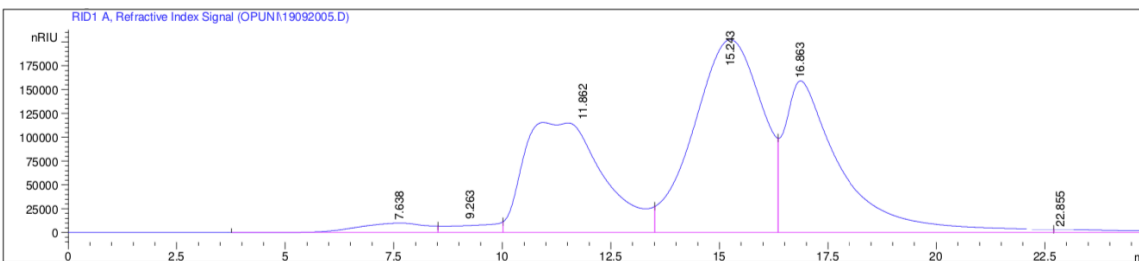
Cromatograma 47. Muestra 16 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



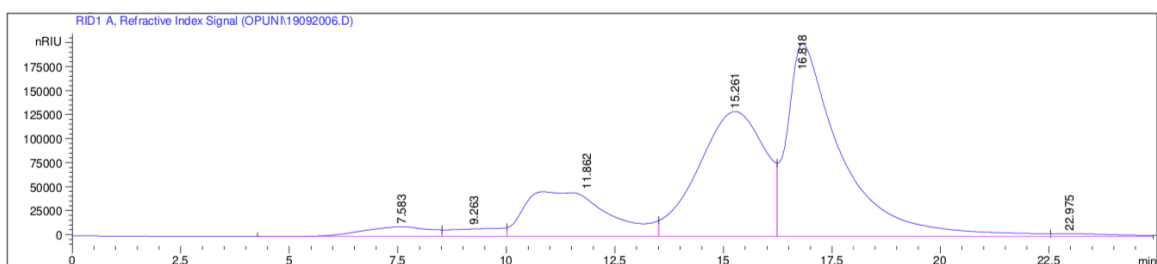
Cromatograma 48. Muestra 17 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



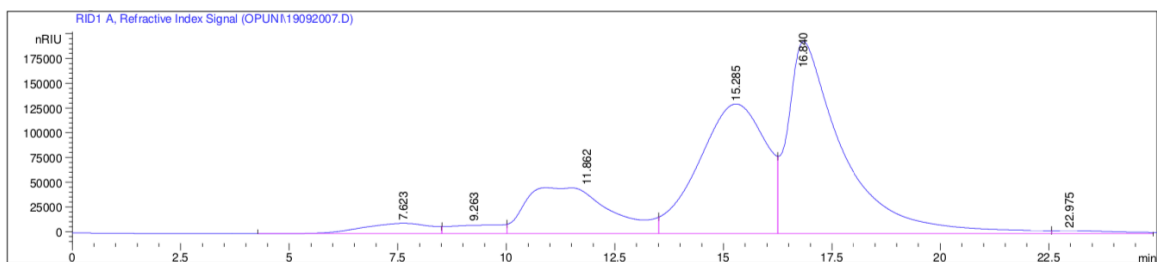
Cromatograma 49. Muestra 18 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



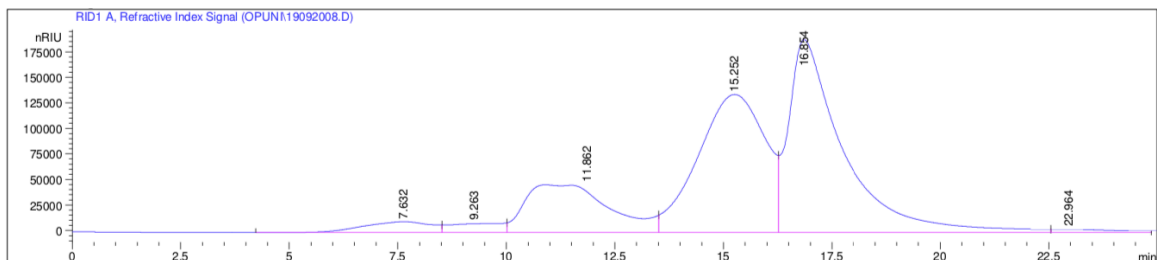
Cromatograma 50. Muestra 19 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



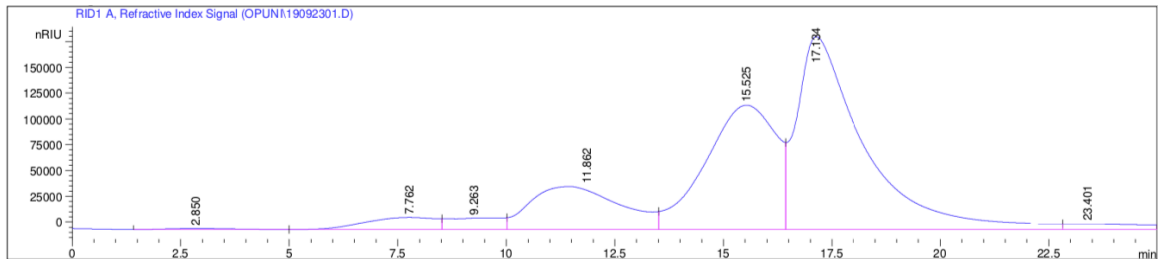
Cromatograma 51. Muestra 20 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



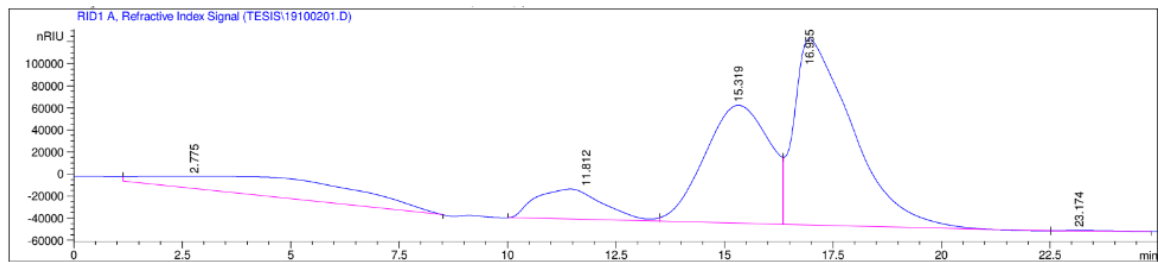
Cromatograma 52. Muestra 21 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



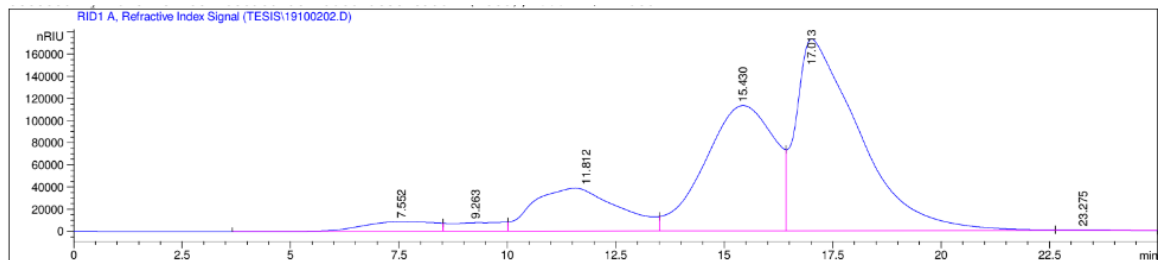
Cromatograma 53. Muestra 22 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



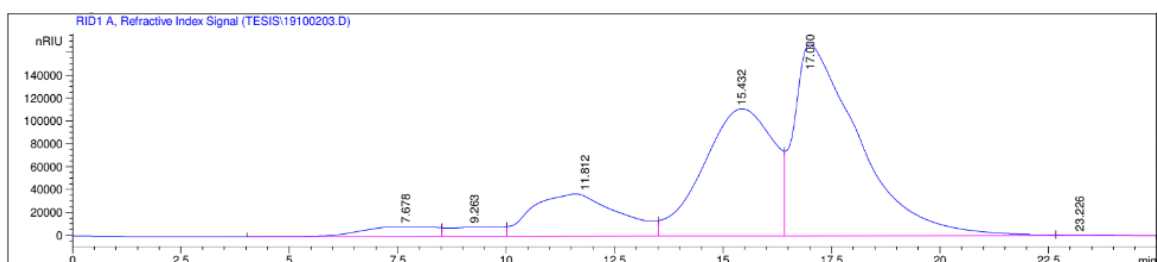
Cromatograma 54. Muestra 23 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



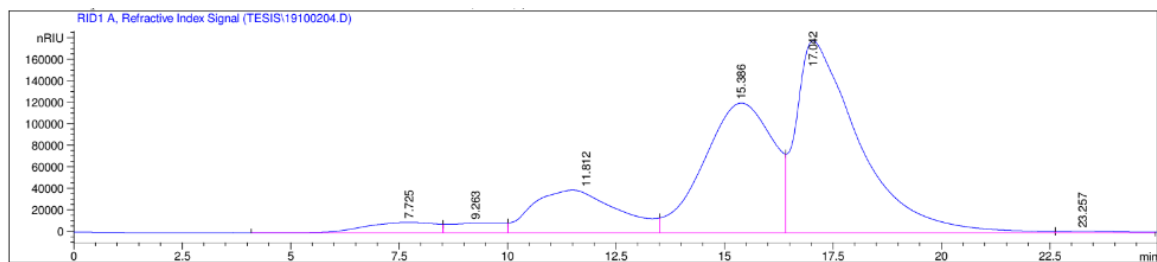
Cromatograma 55. Muestra 24 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



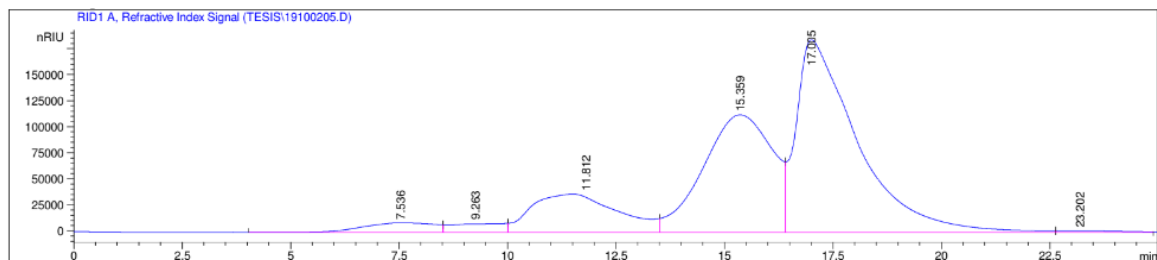
Cromatograma 56. Muestra 25 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



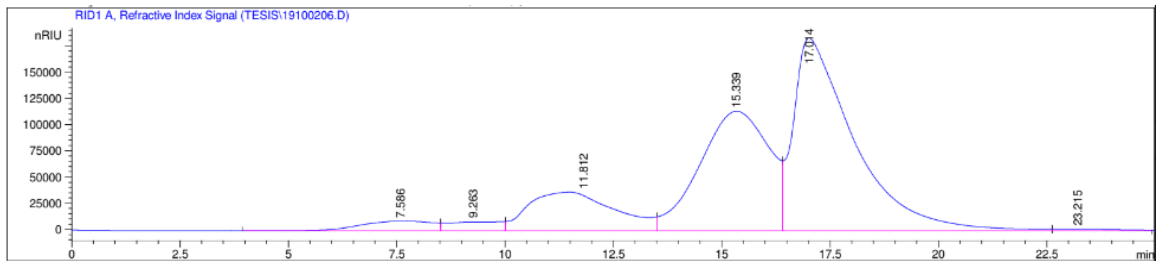
Cromatograma 57. Muestra 26 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



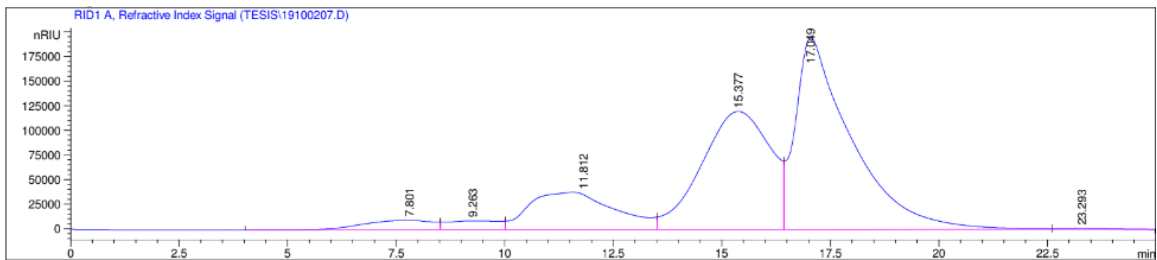
Cromatograma 58. Muestra 27 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



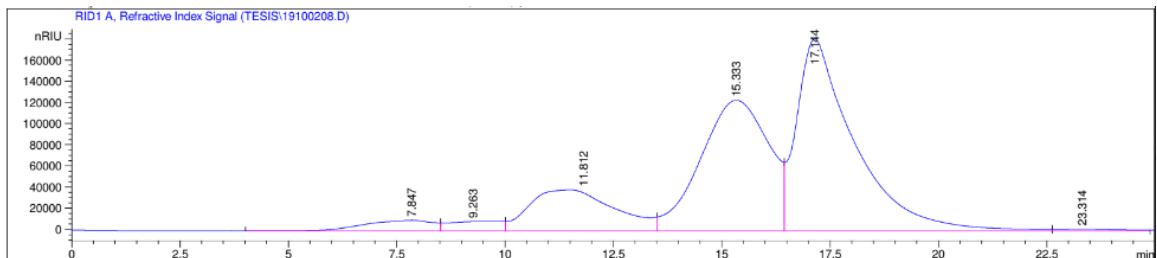
Cromatograma 59. Muestra 28 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



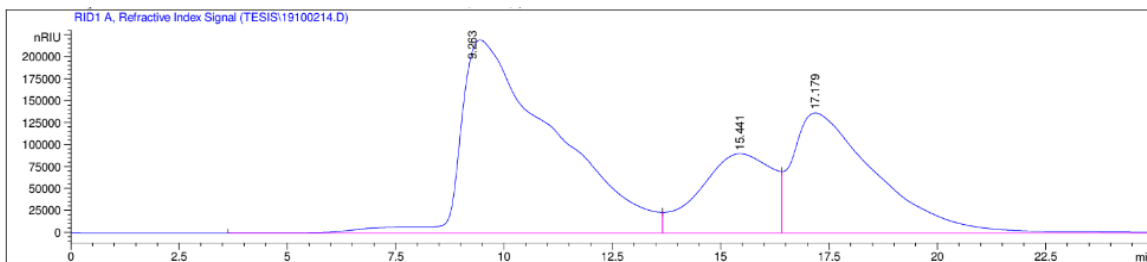
Cromatograma 60. Muestra 29 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



Cromatograma 61. Muestra 30 tomada para la determinación de la concentración de azúcares fermentables en el proceso de fermentación alcohólica



Cromatograma 62. Azúcares residuales en muestra con propósitos comerciales



XIII. GLOSARIO

1. **Actividad microbiológica:** Nombre que se le da a un conjunto de acciones realizadas por microorganismos con el fin de vivir en un medio.
2. **Lisis celular:** Rompimiento de las membranas celulares de células o bacterias y produce la salida de del material celular producido por lisinas.
3. **Grados brix:** Sólidos disueltos.
4. **Levadura:** Diversos hongos microscópicos unicelulares capaces de descomponer por medio de fermentación diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares para la producción de otras sustancias como alcohol y dióxido de carbono.
5. ***Saccharomyces Cerevisiae*:** Tipo de levadura unicelular utilizado industrialmente para la producción de pan, cerveza y vino.
6. **Glucólisis:** Ruta metabólica encargada de oxidar la glucosa con el fin de obtener energía para la célula.
7. **Hidrólisis:** Reacción química por medio de agua.
8. **Jugo:** El jugo que se obtiene de la mezcla homogénea de los cuatro frutos rojos.
9. **Esterilización:** Proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables.
10. **Cultivo por lotes:** Concentración de nutrientes, células y productos varían con el tiempo.
11. **Reactor CSTR:** Tipo de reactor estacionario con agitación constante y misma composición en todos los puntos de este.
12. **pH:** Partes de hidrógeno, medida de acidez.
13. **Densidad:** Relación entre la masa y el volumen de una sustancia.
14. **Azúcares reductores:** Se les denomina así a los carbohidratos que pueden ser oxidados con facilidad para producir ácidos carboxílicos.
15. **Azúcares residuales:** Son los azúcares que no pueden ser convertidos en alcohol.
16. **Bebida fermentada:** Bebida alcohólica a partir de la fermentación de frutos que no sean uva.
17. **CIVC:** Comité interprofesional de vino de champagne.
18. **MAGA:** Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.
19. **ICTA:** Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícolas.
20. **COGUANOR:** Comisión Guatemalteca de Normas. Es el Organismo Nacional de Normalización creada por el Decreto No. 1523 del Congreso de la República del 05 de mayo de 1962.
21. **Agua potable:** Es el agua que, por sus características organolépticas, físicas, químicas y bacteriológicas, no presenta un riesgo para la salud del consumidor y cumple con lo establecido en la norma NTG29001.

22. **Cinética:** Estudio de la velocidad de la reacción tratada.
23. **Velocidad de crecimiento celular:** Cambio de concentración de células con respecto al tiempo.
24. **Velocidad de división celular:** Velocidad con la que se reproducen los microorganismos.
25. **Efecto killer:** Toxina secretada por ciertas levaduras la cual es letal para otras cepas de levaduras más sensibles.
26. **Crecimiento críptico:** Fenómeno donde las células no tienen un aumento neto debido a que se encuentran en equilibrio la cantidad de células en crecimiento con las células en proceso de muerte.
27. **Tecnificación:** Técnicas de producción para la elaboración de la bebida fermentada de frutos rojos, que conocimientos, herramientas y equipo se poseen y como se utilizan para la elaboración del producto.

XIV. ABREVIATURAS

1. **%**: Porcentaje.
2. **(%m/v)**: Porcentaje masa / volumen.
3. **(Cel/mL)**: Concentración células / mililitros.
4. **(g/mL)**: Concentración de gramos / mililitros.
5. **g**: Gramo.
6. **L**: Litros.
7. **h**: Horas.
8. **cP**: Centipoise
9. **°C**: Grados Celsius
10. **HPLC**: Cromatografía líquida de alta resolución.
11. **GC-FID**: Cromatografía de gases con detector de ionización de llama.
12. **pH**: Potencial de hidrógeno.
13. **(rev/s)**: Revoluciones por segundo.
14. **ln CN**: Logaritmo natural de la concentración de microorganismos.
15. $\frac{d(\ln CN)}{dt}$: Comportamiento con respecto al tiempo del logaritmo natural de la concentración de los microorganismos.
16. $\frac{dS}{dt}$: Comportamiento del sustrato con respecto al tiempo.
17. $\frac{dX}{dt}$: Comportamiento de los microorganismos con respecto al tiempo.
18. $\frac{dP}{dt}$: Comportamiento del etanol con respecto al tiempo.
19. **K_s**: Constante de afinidad al sustrato.
20. **K_P**: Constante de afinidad al producto.
21. **$\mu_{m\acute{a}x}$** : Velocidad máxima de crecimiento celular.
22. **C_S**: Concentración del sustrato.
23. **C_x**: Concentración de los microorganismos.
24. **C_P**: Concentración del etanol.
25. **Y_{X/S}**: Rendimiento de la concentración de los microorganismos basado en la concentración del sustrato.
26. **Y_{P/S}**: Rendimiento de la concentración del producto basado en la concentración del sustrato.