



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**“ ESTUDIO PARA EL APROVECHAMIENTO DE LA
MANZANA RIPIA EN LA PRODUCCION
DE DESTILADOS ”**

TESIS

Que presentan para obtener el titulo

**MA. ROGACIANA ROMAN BARRERA
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

**JOSE LUIS GUZMAN RODRIGUEZ
INGENIERO QUIMICO**

1977



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
ADQ. 1977
FECHA 11-10-77
PROC. 1009 202



JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	PROFR.	ENRIQUE GARCIA GALEANO
VOCAL	PROFR.	ALFREDO ECHEGARAY A.
SECRETARIO	PROFR. DR.	ALEJANDRO RAMIREZ G.
1er. SUPLENTE	PROFR.	JORGE SOTO SORIA
2o. SUPLENTE	PROFRA. M.C. MA.	DEL CARMEN DURAN DE B.

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA.

**LABORATORIOS DE MICRO-
BIOLOGIA INDUSTRIAL E INGENIERIA
QUIMICA.**

SUSTENTANTE.	JOSE LUIS GUZMAN RODRIGUEZ.
ASESOR.	DR. ALEJANDRO RAMIREZ GRYCOK.

CON CARIÑO

A MIS PADRES QUE CON SU EJEMPLO ME
HAN ENSEÑADO EL CAMINO A SEGUIR.

A MI ABUELITA POR SU APOYO QUE SIEM-
PRE ME HA DADO.

A MIS HERMANOS

Miky

Y

Saul

A MIS MAESTROS Y JURADO

PROFRA. MA. DEL CARMEN DURAN DE BAZUA

PROFR. ENRIQUE GARCIA GALEANO

PROFR. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN

PROFR. ALEJANDRO RAMIREZ GRUCUK

PROFR. JORGE SOTO SORIA

POR SU GRAN AYUDA

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

A TODOS AQUELLOS QUE CONTRIBUYERON EN ESTA TESIS

CON AMOR A MARY

POR SU AYUDA Y COMPRENSION

1.- INTRODUCCION .

En virtud de que ésta tesis trata sobre el estudio para el aprovechamiento de la manzana "ripia", fué necesario trasladarse a una de las regiones del estado de Puebla, específicamente Huejotzingo, ya que en dicho lugar se cultiva tal variedad. Esta población cuenta con aproximadamente 35,000 -- habitantes de los cuáles un 25% se dedican entre otras actividades, a la agricultura, ganadería y fruticultura; los frutos que más se cultivan son: manzanas, ciruelas, higos, peras duraznos etc., de los cuáles algunos son comercializados para el consumo directo, mientras que otros son poco aceptables por el público, debido probablemente a su reducido tamaño, sabor, color, textura etc., por lo cuál son destinados para la elaboración de frutas en almíbar, frutas secas, mermeladas, etc. En el caso particular de las manzanas son utilizadas principalmente para la elaboración de sidra, siendo un producto de la fermentación de su jugo.

La preparación de la sidra en este lugar se lleva a cabo a nivel de industria casera, siendo las condiciones en que se elabora muy rudimentarias, no existiendo control de calidad en la preparación de la misma. Consecuentemente se presentan problemas como el de un bajo rendimiento en -----

alcohol, principal producto de la fermentación alcohólica. Como ésta no es controlada se llevan a cabo fermentaciones secundarias en las que hay producción de ácido acético, --- siendo éste el responsable de conferirle un sabor desagradable al producto terminado.

Por otra parte el contenido de azúcares en el jugo de manzana es bajo, por tal razón los productores de sidra en dicha región se ven en la necesidad de adicionar directamente azúcar al jugo para aumentar el rendimiento alcohólico.

El principal objetivo del presente trabajo fué el de mejorar la calidad de dicho producto y mejor aún obtener otro que actualmente no se produce en México, el cual recibe el nombre de "calvados" en Francia y "apple Jack" en Estados Unidos. Para lograr dicho propósito se sugiere llevar a cabo una fermentación controlada e inducida utilizando técnicas sencillas de selección, propagación y acondicionamiento de diferentes cepas de levaduras, consideradas adecuadas para tal proceso, obteniéndose así un mejor rendimiento alcohólico en el producto terminado; asimismo evitar posibles contaminaciones por microorganismos extraños mediante la adición de antisépticos, en proporciones tales que no afecten el curso de la fermentación ni las cualidades organolépticas del producto.

En cuanto al nuevo producto, es obtenido a partir del jugo de manzana fermentado, el cuál mediante un proceso de destilación es transformado de sidra a aguardiente el que puede ser añejado para mejorar su calidad.

Así pués, consideramos que los factores antes mencionados en la preparación de estos productos redundará en mejores beneficios económicos para los habitantes de esta región que se dedican al cultivo de la manzana y su industrialización.

2.- GENERALIDADES

2.1 Fermentación Alcohólica.

2.1.1 Microorganismos que intervienen

2.1.2 Factores que la afectan (oxígeno, temperatura, anti-sépticos, alcohol, ácidos, taninos, anhídrido carbónico, fuente de carbono, fuente de nitrógeno).

2.1.3 Mecanismo químico de la fermentación.

2.1.4 Principales constituyentes al final de la fermentación alcohólica. Alcohol etílico, alcohol metílico-alcoholes superiores, acetaldehído, acidez volátil.

2.1.5 Destilación.

La fermentación es considerada como un proceso microbiológico por medio del cual se degrada la materia orgánica, de bido a la acción microbiana. Los microorganismos responsa-- bles de la fermentación poseen entre otras, la propiedad de-- generar determinados principios activos o sustancias denomi-- nadas enzimas, capaces de llevar a cabo por sí solas, es de-- cir sin la presencia de la levadura, la transformación del - azúcar hasta los productos finales de la fermentación alcohólica.

Los principios activos (enzimas), que accionan el meca-- nismo químico de la fermentación fueron previstos por Traube en el año 1859 (6.10).

Las actividades bioquímicas de la fermentación han de-- mostrado que muchas de las acciones enzimáticas hasta ahora-- conocidas, intervienen en el proceso que opera la simplifica-- ción del azúcar en alcohol y anhídrido carbónico, proceso -- que observa una sucesión de etapas con formación de numero-- sos productos intermedios.

La fermentación originalmente indicaba la conversión -- de jugo de uva a vino. Esto es ahora aplicado a una varie-- dad de procesos de desasimilación de compuestos orgánicos -- por microorganismos ya sea por células vivientes o por extractos preparados de ellas.

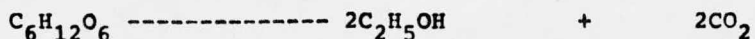
En cualquier proceso de desasimilación de compuestos -- orgánicos los compuestos de alta energía son convertidos en productos de menor energía con la subsecuente pérdida de calor (6.1)

Los procesos de desasimilación son entonces reacciones de óxido reducción que incluyen:

- 1) Adición de oxígeno (aeróbico)
- 2) Reducción por hidrógeno
- 3) Pérdida de un electrón

En los procesos usuales el hidrógeno del donador es --- transferido por una serie de enzimas y pigmentos respirato-- rios hasta una sustancia reducible, los compuestos reduci-- bles en el sustrato o los compuestos intermediarios pueden - actuar como aceptores. Los procesos aeróbicos involucran -- oxígeno atmosférico mientras que los otros dos tipos son de-- naturaleza anaeróbica. Una diferencia importante entre pro-- ceso aeróbico y proceso anaeróbico estriba en la liberación-- de diferentes cantidades de energía.

En 1810 Gay Lussac (6.1) reportó correctamente la reac-- ción total para la fermentación alcohólica la cual lleva su-- nombre y es la siguiente:



Esta reacción representa el proceso total de la fermentación alcohólica.

2.1.1 MICROORGANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA FERMENTACION ALCOHOLICA,

Los microorganismos responsables de la fermentación alcohólica son las levaduras a las que algunos investigadores definen como hongos verdaderos (6.5). Entre las levaduras industriales de mayor importancia está el género Saccharomyces llamado así porque crecen en medios que contienen azúcar.

La especie Saccharomyces cerevisae, se utiliza en muchas industrias alimenticias por ejemplo en fermentaciones superficiales o profundas para la producción de alcohol, de glicerina etc.

Las levaduras de la fermentación superficial se agrupan durante el crecimiento, acumulan dióxido de carbono y flotan en la superficie del líquido en fermentación. Las levaduras de fermentación profunda no forman grumos sino que se depositan en el fondo del líquido, después del período de crecimiento activo. La levadura del tipo Saccharomyces cerevisae va-

-riedad ellipsoideus, es una variedad altamente productora de alcohol, usada en la fabricación del alcohol, vinos y destilados.

La levadura usada en las destilerías es, en general, -- una cepa de Saccharomyces cerevisae variedad ellipsoideus, -- productora de grandes cantidades de alcohol y que puede ser adaptada al crecimiento en el medio a emplear. El medio de cultivo puede ser grano malteado, habitualmente maíz o centeno para el Whiskey, melaza para el ron y jugo o pulpa de --- frutas para el brandy, calvados y otras bebidas espirituosas.

La fuente de energía preferida por las levaduras son -- los monosacáridos, los cuales son transformados en ausencia -- de aire a etanol y CO_2 principalmente.

2.1.2 FACTORES QUE AFECTAN AL PROCESO DE LA FERMENTA--- CION.

* Como consecuencia de los cambios físicoquímicos que sufre el medio de cultivo en la fermentación, la levadura se vé expuesta a transformaciones que afectan en mayor ó menor -- grado su desenvolvimiento a medida que la cantidad del sustrato transformado aumenta (6.10).

Sus dificultades aumentan, en consecuencia, al término de la fermentación. Es entonces cuando la acción asociada de los agentes incidentes, es más intensa, porque la temperatura, el alcohol, los productos secundarios, etc. alcanzan sus grados máximos, a lo que se suma el empobrecimiento del medio en nitrógeno y su sobresaturación por el anhídrido carbónico.

Los constituyentes naturales del medio de cultivo, los adicionados como correctores, el anhídrido sulfuroso en su caso, y los sucesivos cambios fisicoquímicos que tienen lugar durante el proceso, exigen a la levadura una superación fisiológica permanente, hasta lograr la reducción total del sustrato en un medio natural en donde existen otros microorganismos que entrarían en competencia en cuanto se presentara la oportunidad favorable.

El oxígeno es, dentro de los factores que afectan los procesos fermentativos, uno de los más importantes, el cual es esencial para la vida y el desenvolvimiento de la levadura. El aire que lleva disuelto el medio de cultivo proporciona el oxígeno necesario a la levadura, el cual se puede proveer mediante aereaciones y agitaciones.

Es precisamente en la primera etapa de la fermentación cuando le es más indispensable a la levadura, pues la mayor-

parte de sus energías las consume para reproducirse, actividad que se encuentra regulada en particular por el oxígeno - o en otras palabras, por su disponibilidad en el medio.

En un medio aerado, si la temperatura le es favorable, en pocas horas el reducido número de levaduras se habrá multiplicado en cantidades suficientes para dominar entre las - especies rivales, y transformar en breves días la casi totalidad de los azúcares.

En consecuencia, ejerciendo el oxígeno una influencia - susceptible de intensificar la multiplicación de la levadura, el problema se concreta a su conveniente regulación, y que - si se aerea al comienzo de la fermentación, se obtendrá mayor abundancia de levadura y por consiguiente mayor producción de alcohol al final de la fermentación.

Respecto a la influencia de las temperaturas, el calor - que se desarrolla en la masa durante la fermentación se debe a que ésta libera energía en forma de calor del medio de cultivo y por lo tanto, se eleva la temperatura. Según Dugast - (6.10), una molécula gramo de glucosa libera 33 calorías al transformarse en alcohol y anhídrido carbónico.

Todos los microorganismos se desenvuelven dentro de límites térmicos adecuados a su respectiva capacidad fisiológi

-ca. Por lo tanto, si la temperatura sobrepasa el límite --- que puede tolerar su metabolismo, éste se verá mas afectado-- cuanto mayor sea el exceso de calor en el sustrato.

En base a la influencia señalada, las temperaturas se -- consideran: mínimas, óptimas, críticas y máximas; en los lí mites siguientes:

Temperaturas mínimas son las más bajas desde las cuales las levaduras pasan de su vida latente a su vida activa.

Temperaturas óptimas son aquéllas en que la levadura -- puede cumplir plenamente sus funciones nutritivas, reproduc-- tivas y fermentativas.

Temperaturas críticas son las que afectan el metaboli-- mo normal de la levadura.

Temperatura máxima es aquélla arriba de la cual la leva-- dura no puede sobrevivir. Entre las temperaturas mínimas y-- máximas, las intermedias inciden considerablemente en la fun-- sión fisiológica de la célula, con consecuencias muy apre--- ciables en la normalidad del proceso fermentativo. En rela-- ción a los antisépticos éstos son usados cuando no se sigue-- un método de esterilización térmica.

El dióxido de azufre es universalmente utilizado como antiséptico y como antioxidante, sin embargo, el olor desagradable que despiden el azufre libre no lo hace muy deseable. Se ha intentado buscar substitutos a este antiséptico dentro de los cuales se han estudiado, el ácido salicílico, el ácido monocloroacético, el óxido de etileno y muchos otros antisépticos. Sin embargo debido a su gran toxicidad han sido descartados.

Uno de los antisépticos que se ha estado ensayando es el A_C. ascórbico, el cual ha dado algunos resultados positivos, sin embargo no se han determinado cuales son las cantidades más adecuadas.

El uso de fungicidas no es muy adecuado, ya que inhibe a la fermentación. La necesidad de proteger la elaboración y la conservación del vino de los microorganismos indeseables que tratan de vivir del material nutritivo del medio de fermentación, ha hecho que se utilice el anhídrido sulfuroso, único antiséptico autorizado en enología, ya que se le considera adecuado tanto por su eficiencia microbicida, como por su atenuada e inofensiva acción sobre las características organolépticas y bromatológicas del producto terminado.

La utilidad antiséptica del anhídrido sulfuroso, se ---

debe a su enérgica capacidad inhibidora de la flora microbiana concurrente a los medios de cultivo naturales y también a que esa acción es considerablemente más tolerada por la levadura y como consecuencia desempeña una provechosa función selectiva en beneficio de la fermentación alcohólica.

La acción antiséptica del anhídrido sulfuroso, en los -- distintos aspectos que interesan en las fermentaciones ha sido estudiado por numerosos investigadores (6.10).

El problema relativo al empleo racional del anhídrido -- sulfuroso desde el punto de vista de la dosis, no se ha podido considerar aún resuelto.

En general se aplica con criterio simplemente empírico -- desconociéndose la dosis precisa que correspondería adicionar para retener en el medio las cantidades en estado libre que -- interesan en cada caso ó las más convenientes para la finalidad que se persigue.

Las propiedades antisépticas del anhídrido sulfuroso, -- sólo son efectivas en su estado libre.

Las combinaciones pueden ser de carácter inestable o estable, las inestables afectan en particular a los azúcares, a la materia colorante a los taninos y a los aldehídos.

Con los azúcares forma ácido gluco o fructosulfuroso;-- con las materias colorantes, complejos indeterminados pero-- fácilmente comprobables por los cambios que sufre transito-- riamente el color; con los taninos y con los aldehídos, áci-- do aldehídico sulfuroso.

Las combinaciones estables, tienen lugar con el agua y el oxígeno originando ácido sulfúrico, el cual al combinarse con las bases alcalinas, forma sulfatos neutros solubles.

Además de las elevadas pérdidas del anhídrido sulfuroso a consecuencia de sus combinaciones, son también apreciables las pérdidas por dispersión. .

El anhídrido sulfuroso presta incuestionables benefi--- cios en la fermentación de jugos y se debe a que el proceso de sus combinaciones se lleva a cabo con relativa lentitud,-- permitiendo que parte de las dosis combinables permanezcan - libres el tiempo suficiente para que su acción antiséptica - sea provechosa.

De la cantidad de anhídrido sulfuroso que se adiciona - al medio de cultivo, una parte se combina inmediatamente, -- mientras que el resto libre sufre a su vez combinaciones par ciales progresivas.

Sobre el poder antiséptico del anhídrido sulfuroso influirán en particular: la composición química y la temperatura del medio, así como también el estado fisiológico de la levadura:

Respecto a la influencia de la composición química del medio, el constituyente que se combina en mayor cantidad -- con el anhídrido sulfuroso es el azúcar, las combinaciones son más intensas dentro de la primera hora posterior a su adición y prosiguen cada vez más atenuadas, hasta el octavo día.

La concentración del azúcar tiene gran influencia en las proporciones del anhídrido sulfuroso combinado. Debe dosificarse en base a la riqueza de azúcar del medio, teniendo en cuenta que la levadura, bajo la acción del anhídrido sulfuroso, se activará tan pronto como la cantidad libre pase a ser insuficiente para mantenerla inactiva, lo cual, a iguales dosis ocurrirá más pronto cuando la riqueza en azúcar sea mayor.

La acción del anhídrido sulfuroso, dependerá también -- del grado de aclimatación de la levadura, pero las causas -- que en la práctica acentúan el progresivo descenso del anhídrido sulfuroso libre, se deben en particular a sus combina-

-ciones, oxidaciones y dispersiones.

Así ocurre que algunos medios de cultivo con dosis iniciales de anhídrido sulfuroso que podrían considerarse esterilizados, entran sorpresivamente en fermentación al cabo de un tiempo.

En tal caso, no es que la levadura logre por aclimatación superar la acción de la dosis libre inicial, sino que ésta dosis, en progresivo descenso, llega a ser insuficiente para mantenerla inactiva.

Como la levadura se desarrolla a partir de un límite mínimo de calor, lo hará más rápidamente en cuanto más se aproximen las temperaturas a sus límites óptimos. La acción retardatoria de las temperaturas bajas se acentúa considerablemente en presencia del anhídrido sulfuroso.

Esa influencia, además de importante, es de intensidad variable como consecuencia de las distintas tolerancias de las razas, así como de su grado de aclimatación, del número y del estado fisiológico de la levadura.

El grado de tolerancia de la levadura a la acción del anhídrido sulfuroso puede ser sensiblemente aumentado por aclimatación; también constituye un verdadero proceso de adaptación al anhídrido sulfuroso la continuidad de su

empleo.

En cuanto a la influencia del número de levaduras, es obvio que a igualdad de dosis, sus efectos resulten más atenuados, cuanto mayor sea la cantidad de células bajo su acción.

El estado fisiológico de la levadura desde el punto de vista de sus aptitudes, edad de la célula, grado de evolución o nutrición, ejerce notable influencia sobre el poder antiséptico del anhídrido sulfuroso.

La levadura en estado inactivo o medio nutritivo impropio así como la que está expuesta a temperaturas inconvenientes, desnutrida o envejecida, es considerablemente más sensible a la acción del anhídrido sulfuroso que cuando se encuentra en su plenitud fisiológica.

El anhídrido sulfuroso se puede utilizar de las siguientes formas:

- a) Como gas, disuelto en el medio de cultivo o agua.
- b) En forma de polisulfitos combinados con el calcio, sodio, y potasio.
- c) Líquido en estado puro.

En el primer caso puede utilizarse para evitar que los insectos proliferen y para evitar el desarrollo microbiano y bacteriano.

El gas de anhídrido sulfuroso se prepara quemando mechas de papel impregnado en azufre sublimado produciéndose la siguiente reacción:



Es decir, que un átomo de azufre reacciona con dos de oxígeno para producir una molécula de bióxido de azufre.

La combustión de estas mechas produce impurezas que go tean y que pueden dar origen a la formación del ácido sulfhídrico. Otra forma de obtener el anhídrido sulfuroso gaseoso, es amasando azufre puro, con lechada de almidón, --- obteniéndose una pasta que se fracciona en pastillas y que se pone a secar a la intemperie. Esta forma de azufre tiene la característica de combustionarse, sin producir residuos.

El uso de polisulfitos es una forma bastante generalizada de adición del anhídrido sulfuroso a los medios de cultivo fermentables e inclusive a las frutas cuando aún no -- han sido cortadas. El anhídrido sulfuroso libre en los polisulfitos es aproximadamente 50% del polisulfito, por lo -

que es necesario emplearlos al doble de las dosis fijadas -- para el anhídrido sulfuroso puro. En general los sulfitos -- son poco solubles, pero se disocian rápidamente por la acción de los ácidos del medio que se va a fermentar.

Una tercera forma de utilizar el anhídrido sulfuroso. es líquido. De esta forma se puede dosificar con mayor exactitud y además tiene la ventaja de que es muy puro. Ya que el anhídrido es un antiséptico que evita el desarrollo de microorganismos, es necesario adicionarlo antes de que se reproduzca algún tipo de agente diferente de la levadura. En los casos en que es necesario almacenar el medio fermentado por un cierto tiempo es necesario practicar el sulfitado con anticipación.

Cuando el anhídrido sulfuroso es administrado como líquido puro, es necesario adicionarlo lentamente, con el objeto -- de evitar pérdidas. Cuando la adición se hace en forma de -- polisulfito o sulfito, es necesario triturarlos perfectamente, con el objeto de facilitar la disociación del anhídrido sulfuroso. Cuando el medio de fermentación está desprovisto de material suspendido, es más fácil la distribución de los sulfitos.

Las cantidades de anhídrido sulfuroso que se utilizan son de carácter puramente empírico debido a las dificultades para

poder establecer la cantidad precisa que nos dé una proporción en estado libre necesaria para satisfacer la finalidad que se desea.

Estas dificultades están en función de los cambios que presenta el anhídrido sulfuroso, debido a la gran variedad en composición que tienen los medios fermentables y más aún aquellos constituyentes que tienen la facilidad de combinarse con el anhídrido sulfuroso, como lo son el azúcar, el agua, el oxígeno, la materia colorante, los taninos, las gomas, los mucílagos y las sustancias albuminóideas, etc., es decir que para determinar exactamente todo el anhídrido sulfuroso, habría que cuantear exactamente todos y cada uno de los componentes que pudieran reaccionar con el anhídrido sulfuroso, para determinar de una forma analítica la cantidad de anhídrido sulfuroso que permanece libre, y que es la única con poder antiséptico sobre los microorganismos que se pretenden eliminar.

Otros factores que deberían considerarse son: La temperatura, la cantidad de microorganismos que integran la flora del medio de cultivo fermentable y la tolerancia que tengan las levaduras al anhídrido sulfuroso, Ya que la composición de los medios de cultivo es tan variada y los factores que intervienen son tantos, que es muy difícil precisar la dosificación en escala industrial, lo cual no significa que no se le-

pueda emplear con bastante eficacia aún siendo las dosificaciones de carácter empírico. Algunos investigadores (6.10) - han propuesto dosis bastante aceptables que dan un poder anti séptico adecuado, sin que al final de la fermentación el ---- anhídrido sulfuroso libre sobrepase los límites establecidos por la ley.

En general las dosis utilizadas en las fermentaciones -- son como se indica a continuación:

10 g/ hectolitro cuando se desea inactivar microorganismos extraños.

15 g/ hectolitro cuando se desea clarificarlo.

En algunos casos cuando las dosis resultan excesivas se puede eliminar parte de ellas haciendo burbujear en el medio de fermentación aire o anhídrido carbónico.

Se consideran dosis elevadas cuando llegan a los 40-50 g/ hectolitro, las que si bien no son nocivas resultan completamente inútiles.

Para aumentar o disminuir las dosis del anhídrido sulfuroso se deben tener en cuenta los siguientes factores:

- a) Clase de fermentación que se desea llevar a cabo
- b) Estado de sanidad o de alteración sobre las mate
rias primas
- c) Cantidad de azúcares de los medios de cultivo.
- d) Temperatura ambiente.
- e) Condiciones del local
- f) Tipo de recipiente en donde se va a almacenar.
- g) Estado de madurez en los cultivos.

En resumen la dosificación del anhídrido sulfuroso es de carácter variable. La mayor dosis tolerada sin afectar las cualidades del medio de fermentación y las dosis legales permitidas son de 40 g/hectolitro. Las dosis menores son -- las más objetables porque en algunas ocasiones son tan peque
ñas, que resultan prácticamente inofensivas a la flora micro
orgánica presente en el medio de cultivo.

El alcohol es otro factor muy importante que ejerce un - poderoso poder antiséptico sobre la generalidad de la flora-
microbiana que se encuentra en la fermentación, inclusive, - sobre la propia levadura.

Esta propiedad desempeña un papel fundamental en la nor
malización del proceso fermentativo, por ser la levadura con- siderablemente más resistente a su acción, respecto a la ge-
neralidad de los microorganismos que integran la flora micro
biana de los medios fermentables, incluyendo las bacterias -

patógenas.

De acuerdo a lo antes expresado el alcohol desempeña un papel selectivo trascendental en beneficio de la fermentación.

Su acción selectiva se manifiesta en el orden de la tolerancia de las especies presentes en el medio de fermentación las que resultan inhibidas una vez que el alcohol alcanza los límites de sus respectivas tolerancias.

Aún las bacterias, a pesar de que en general poseen gran resistencia a la acción antiséptica del alcohol, tienen también su influencia de tal manera que mientras las temperaturas no perturben el trabajo de la levadura, no es de temer la propagación de las primeras en grado que pueda afectar la normalidad del proceso ni de repercutir en las cualidades químicas y organolépticas del producto obtenido.

El límite de la tolerancia de la levadura al alcohol depende de diversos factores, los cuales actúan asociados en la fermentación.

Son importantes la capacidad fisiológica y las aptitudes de la levadura, unas cepas son débilmente alcoholíferas y las otras lo son poderosamente.

Los factores que pueden acentuar la acción antiséptica del alcohol o bien disminuir la capacidad alcoholífera de la levadura, se refieren en primer término, a las temperaturas.

Los ácidos volátiles inciden, igualmente en la capacidad alcoholífera de la levadura. Los que integran la acidez volátil normal, o sea el ácido acético y el propiónico, no ejercen acción apreciable en sus concentraciones normales, no así el fórmico, butírico, valerianico, caprílico, etc. - producidos más propiamente por los microorganismos patógenos y también por la levadura en medios con determinadas temperaturas.

El anhídrido sulfuroso, en las dosis corrientes, aún - en las máximas empleadas en algunas fermentaciones, no tiene acción apreciable sobre la capacidad alcoholífera de la levadura activa.

Como se apreciará, son muy difícilmente precisables -- los límites máximos de alcohol que la levadura puede tolerar, dependiendo de las aptitudes fisiológicas de las cepas de que se trate y de las condiciones fisicoquímicas del medio.

La levadura prefiere los medios neutros o ligeramente alcalinos, pero tolera sin mayor dificultad la acción de los

ácidos orgánicos en las proporciones que contienen los medios de cultivo naturales.

Como ocurre en el alcohol, la influencia de los ácidos es considerablemente más enérgica sobre el resto de la flora microbiana del medio que se desee fermentar, que sobre la levadura.

En consecuencia estos ácidos también desempeñan una acción selectiva en beneficio de la levadura.

Esta influencia de los ácidos sobre la levadura, se manifiesta particularmente en su multiplicación. Las células se reproducen con más lentitud a medida que la acidez del medio es más acentuada. En el caso de los ácidos volátiles existe una acción inconveniente ya que es capaz de retardar la actividad de la levadura y en algunos casos hasta de inhibirla a partir de dosis relativamente bajas si en la serie participan los ácidos fórmico, butírico, valerianico, caprílico, etc.

La acción inhibidora o tóxica de los ácidos volátiles referidos, se acentúa en la medida en que se asocien el alcohol, las altas temperaturas y el anhídrido sulfuroso.

En concreto, la influencia de los ácidos es particular--

-mente importante en los siguientes aspectos:

a) No afectan en las cantidades normales al medio fermentable, ni al desenvolvimiento de la levadura en forma apreciable; aunque ejercen una acción retardadora sobre la multiplicación de la célula fermentativa.

b) Dificultan el desenvolvimiento de la flora microbiana inconveniente, en razón directa con la acidez que desarrollan.

c) En dosis mayores a las concentraciones normales, la acción de los ácidos volátiles es netamente inhibidora de la levadura; en particular el fórmico, el butírico, el valerianico y el caprílico.

d) Desempeñan una función selectiva sobre la flora microbiana que concurre al medio de cultivo fermentable, en beneficio de la levadura alcohólica.

Las sustancias tánicas en general, y el ácido tánico en particular poseen la propiedad de fijarse y combinarse con las sustancias albuminoideas, provocando coagulaciones susceptibles de afectar también a las proteínas de la propia levadura, así como a su conjunto enzimático.

Si la acción de los taninos se manifiesta sobre la levadura, pueden provocar los fenómenos siguientes:

a) Inhibir su función reproductora.

b) Coagular el protoplasma celular o formar complejos que afectan la propiedad osmótica de la membrana celular y su permeabilidad.

c) Coagular el soporte proteico del conjunto enzimático anulando su capacidad fermentiscible.

La acción del anhídrido carbónico es beneficiosa en ---- cuanto contribuye a dificultar las actividades de los microorganismos aerobios inconvenientes, y en particular las que desarrollan los mohos.

Aunque no se atribuye al gas carbónico acción apreciable sobre las funciones de la levadura coadyuva en la fermentación manteniendo en agitación la masa, con lo que facilita la mejor distribución de las levaduras y de sus principios diastásicos.

La levadura de vinos (Saccharomyces cerevisiae var. --- ellipsoideus) crece generalmente sobre un medio que la provee de una fuente utilizable de energía y carbono, fuente de nitrógeno y contenido de sales inorgánicas. A pesar de que -

los monosacáridos son los sustratos normales y posiblemente --
te los sustratos preferidos por las levaduras, ellas pueden-
crecer sobre una variedad de fuentes de carbono. El ácido -
acético, por ejemplo, puede ser utilizado por las levaduras-
durante los primeros estados de la fermentación, por lo cual
desaparecerán apreciables cantidades de ácido acético. Las-
levaduras de los vinos también oxidan al alcohol etílico pe-
ro sólo ciertas especies crecen sobre éste.

Aunque la mayoría de las levaduras no tienen requeri---
mientos absolutos de aminoácidos, en los medios de cultivo -
fermentable son importantes como fuentes de nitrógeno, ya --
que estimulan la velocidad de crecimiento de la levadura.

La mayoría de los medios fermentables naturales con
tienen cantidades adecuadas de nitrógeno para que pueda lle--
varse a cabo la fermentación.

En general no se requiere de la adición de nitrógeno ; -
sin embargo, cuando existe deficiencia se adicionan sales de-
amonio como el fosfato de amonio.

En la siguiente gráfica se puede observar el consumo de
nitrógeno con respecto al porciento de azúcar.

Se ha notado que cuando la temperatura aumenta el consu-
mo de nitrógeno aumenta.

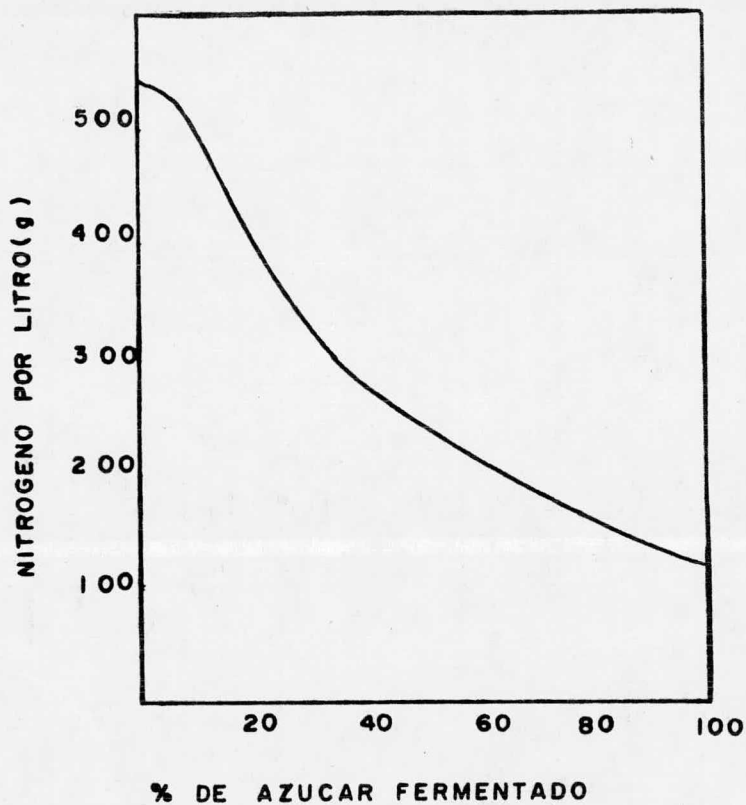


FIG. 1 Nitrogeno consumido con respecto al azucar fermentado

El curso normal de la fermentación alcohólica requiere de potasio, zinc, cobalto, yodo, fierro, calcio, cobre, magnesio, fósforo y azufre.

2.1.3 MECANISMO QUIMICO DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA

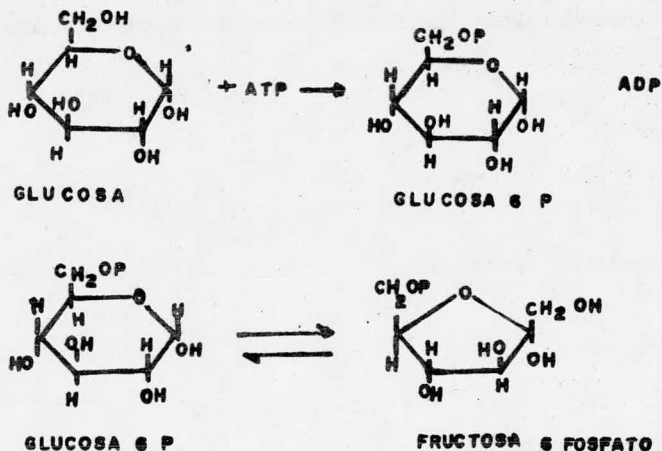
El mecanismo químico de la fermentación se rige por una serie de reacciones fosforilantes, descarboxilantes, desfosforilantes, de oxidación-reducción que dan lugar a la formación de un número equivalente de compuestos intermediarios - entre los azúcares y el alcohol etílico.

La fermentación alcohólica se lleva a cabo de acuerdo a los siguientes pasos:

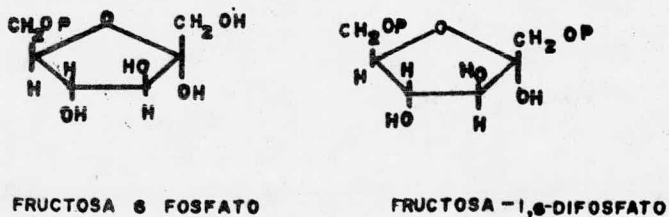
- a) Fosforilación de la molécula de glucosa con su consiguiente activación.
- b) La primera rotura molecular de la hexosa, con producción posterior de ácido pirúvico.
- c) Segunda rotura con transformación del ácido pirúvico en acetaldehído y anhídrido carbónico.
- d) Interacciones entre el acetaldehído y el hidrógeno - con formación de alcohol etílico.

La glucosa es fosforilada en posición 6 por la enzima -- hexocinasa en presencia de Mg. produciéndose así glucosa 6 -- fosfato y ADP

Esta a su vez sufre una isomerización pasando a fructosa 6 fosfato siendo catalizada por la fosfohexosa isomerasa.



Posteriormente un segundo grupo fosfato es introducido en la posición 1 de la fructuosa por la acción de la fosfofructocinasa.

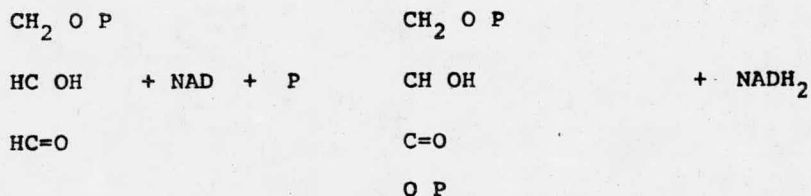


Así pues, la molécula de hexosa es desdoblada por la enzima fructuosa difosfato aldolasa en dos moléculas de tres -

carbonos, los triosa fosfatos, gliceraldehído 3- --
fosfato y dihidroxiacetona fostato.

La dihidroxiacetona fosfato proviene de los tres prime--
ros carbonos de la molécula de hexosa mientras que el gliceral--
dehído 3-fosfato proviene de los tres últimos átomos de carbo--
no de la hexosa.

A pesar de que las cantidades relativas de los compues--
tos antes mencionados se inclinan en un 95% en favor de la --
hidroxiacetona 3-fosfato el compuesto que sigue la ruta de la
glucólisis es el gliceraldehído 3-fosfato el cual por una ---
oxidación dá lugar a la formación de 1,3 ácido fosfoglicérico
siendo la siguiente reacción la que ilustra lo anterior.



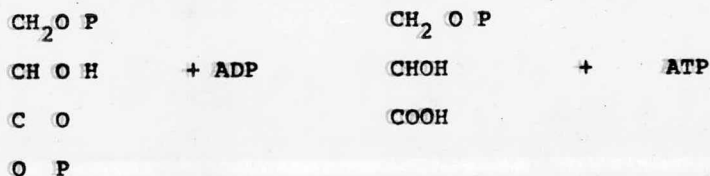
Gliceraldehído
3-Fosfato

Ac. 1,3-Difosfoglicérico

Esta reacción representa la primera y única oxidación --
en la secuencia de glucólisis para la producción de ácido ---

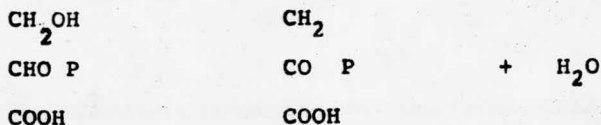
pirúvico.

La siguiente reacción es la transferencia de un grupo - de alta energía localizada en la posición del carbono 1 al - ADP, en el ácido 1,3 difosfoglicérico lo cual es realizado - gracias a la acción de la fosfoglicerato cinasa obteniéndose como producto el 3- fosfoglicerato. La energía formada duran - te el proceso de deshidrogenación es utilizada para la sínte - sis de ATP, a continuación se ilustran las reacciones:



Acido 1,3 Difosfoglicérico Acido 3-fosfoglicérico.

Como siguiente paso el 3-fosfoglicerato sufre un cambio - a 2-fosfoglicerofosfato por acción de una enzima llamada fosfo - gliceromutasa. El siguiente paso es la sustracción de una mo - lécula de agua del ácido 2-fosfoglicérico para producir ácido fosfoenol pirúvico por la acción de la enzima enolasa (que re - quiere de un metal divalente como el Mg^{2+} o Mn^{2+}).

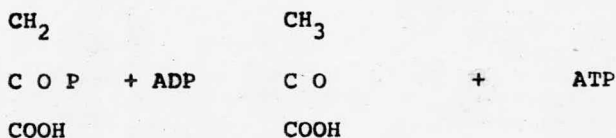


Ac. 2- Fosfoglicérico

Ac. Fosfoenol
pirúvico.

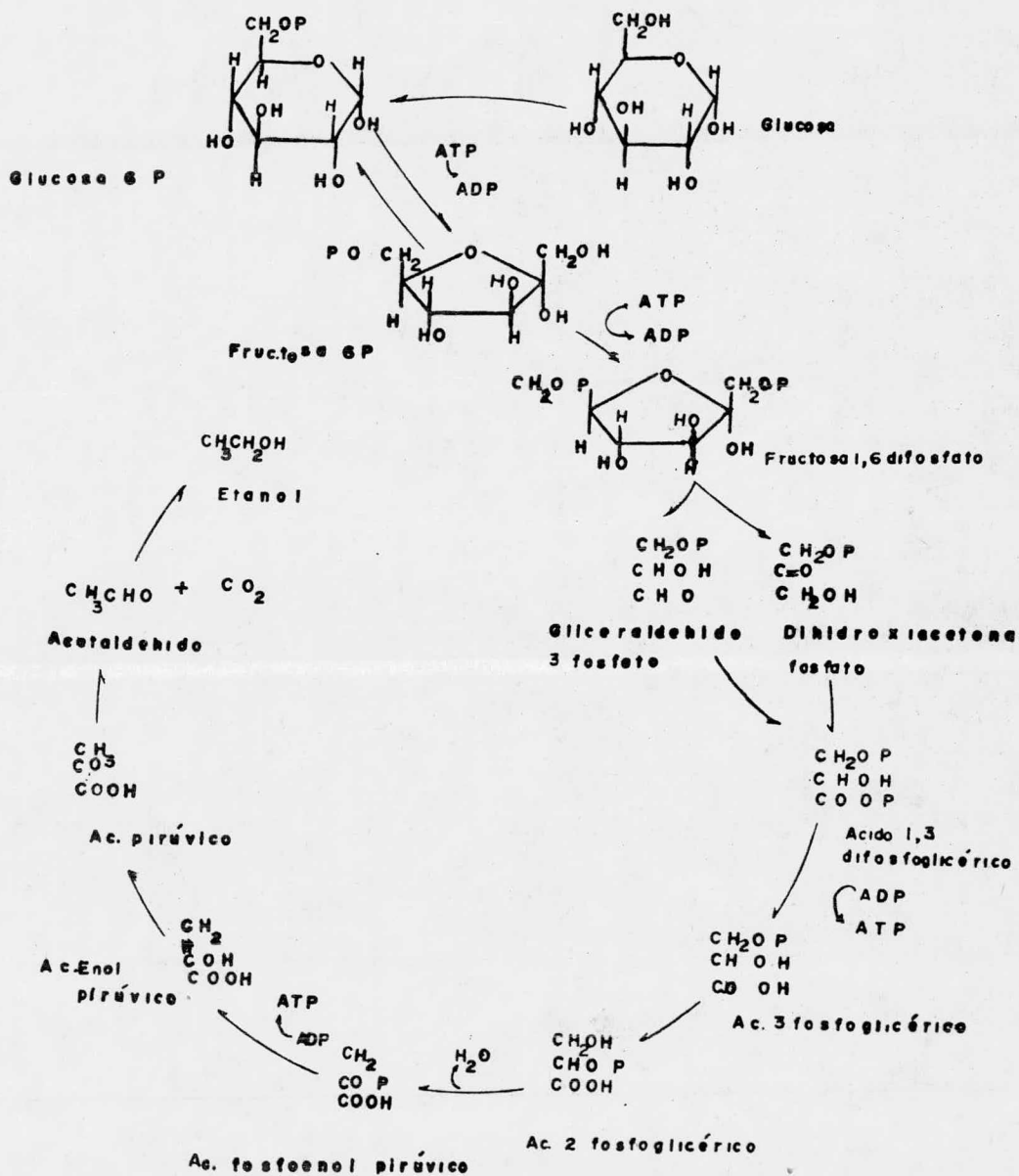
Este último compuesto contiene una ligadura de fosfato de alta energía y por acción de una enzima piruvato cinasa transforma el ADP en ATP formándose así el ácido pirúvico.

La siguiente reacción ilustra lo anterior:

Ac. Fosfoenol
pirúvico

Ac. pirúvico.

El ácido pirúvico se descarboxila para formar acetaldehído y anhídrido carbónico, siendo el primero hidrogenado -- para producir etanol.



FERMENTACION ALCOHOLICA

2.1.4 PRINCIPALES CONSTITUYENTES AL FINAL DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA.

El alcohol etílico es el principal producto de la fermentación alcohólica. Para obtener resultados óptimos de este producto, es necesario considerar todos los factores que afectan tanto a la levadura como al sustrato.

Otro constituyente es el alcohol metílico el cual se cree es el producto de la hidrólisis de pectinas y no de la fermentación.

La presencia de alcoholes superiores dentro de las fermentaciones, va paralela con la formación de alcohol etílico. Se ha notado que cuando se adiciona fosfato de amonio a los medios de cultivo naturales, la cantidad de alcoholes superiores disminuye notablemente. La proporción en que se encuentran varía de 0.14 a 0.90 por ciento.

El acetaldehído es un subproducto normal en la fermentación alcohólica. En medios de cultivo que están recientemente fermentados se encuentran en cantidades de hasta 75 mg/l, su importancia radica en que fija al anhídrido sulfuroso adicionado sobre el añejamiento, ya sea por la actividad de películas residuales de levadura o por la misma oxidación de alcohol etílico. El débil olor de un medio reciente

-mente fermentado con bajas concentraciones de anhídrido -- sulfuroso es debido aparentemente a la temporal acumulación de acetaldehído. Probablemente existen otros aldehídos, -- sin embargo no han sido estudiados aún.

El término de acidez volátil se refiere a la volatilidad con que los ácidos débiles se evaporan. Además del ácido acético y láctico, los cuales son subproductos normales de la fermentación alcohólica, existen en las fermentaciones -- ácido fórmico, butírico y trazas de otros ácidos débiles.

El ácido láctico es un subproducto normal de la fermentación alcohólica y generalmente se le considera como indeseable dentro de estas fermentaciones. La acidez volátil -- incluye a los ácidos débiles como el ácido acético, pero no toma en cuenta a los ácidos láctico succínico, carbónico y sulfuroso. •La determinación de la acidez volátil es un -- índice de calidad en los procedimientos estándares de la -- producción de vinos y licores y ha llegado a ser parte de -- un requisito legal en la producción de vinos y destilados. Las cantidades de ácido acético producidas durante la fermentación alcohólica son usualmente pequeñas (0.03 g/100 ml).

La acción bacteriana antes y después de la fermentación puede producir altas cantidades de ácido acético por la oxidación de alcohol y ocasionalmente por el ataque bacteriano -- sobre el ácido cítrico, azúcares, tartratos, glicerol, etc.

El ácido acético es un subproducto normal de la fermentación alcohólica y durante el curso de ésta, una apreciable cantidad puede ser utilizada por la levadura. Generalmente es producido durante los estados indeseables de la fermentación. Otro de los ácidos que se encuentra presente en las fermentaciones es el ácido fórmico, el cual generalmente se encuentra a bajas concentraciones y cuando el valor del p^H alcanza un valor alto, se piensa que el ácido fórmico le confiere al producto de la fermentación un sabor desagradable.

2.1.5. DESTILACION.

Se llama destilación a la separación de los componentes de una mezcla líquida por vaporización parcial de la misma. La concentración de componentes volátiles es mayor en el vapor obtenido que en la mezcla inicial, mientras que en el residuo disminuye la concentración de los componentes más volátiles y aumenta la concentración de los menos volátiles.

El remoto origen de la destilación parece estar en el tratamiento de bebidas alcohólicas en Francia y se ha ido extendiendo a muchas industrias siendo un factor esencial para el funcionamiento de algunas.

En un principio la destilación se desarrolló casi como un arte que fué acumulando una serie de conocimientos empíricos, posteriormente y por aplicación de la fisicoquímica, se convirtió en una materia científica y al adquirir gran importancia industrial se empezó a estudiar como operación básica de la ingeniería química.

En el caso de la fabricación de licores, estos se obtienen por la destilación de líquidos fermentados de jugos de frutas o semillas fermentadas. El objeto de destilar éstos es aumentar la concentración de alcohol en los vapores obtenidos y en el destilado.

Al destilar los mostos se obtiene en el destilado una mayor concentración de alcohol así como compuestos volátiles formados durante la fermentación y también pequeñas cantidades de agua. Este conjunto de componentes recibe el nombre de flema y el equipo utilizado para realizar esta operación se le llama desflemador; cuando ha finalizado la destilación, a la porción que tiene menos concentración alcohólica y que queda como residuo recibe el nombre de vinazas.

La destilación se lleva a cabo generalmente en tres tipos de equipos que son:

- a) Alambiques de destilación.
- b) Torres de platos
- c) Torres empacadas

Los primeros equipos utilizados para la destilación fueron los alambiques, estos aparatos son usados generalmente en la fabricación de cierto tipo de aguardientes siendo construidos generalmente de cobre, su forma puede variar, sin embargo la mayoría tiene forma de olla, la cual va estrechando se en la parte superior hasta alcanzar un pequeño diámetro - por el cual salen los vapores del líquido que se destila a - continuación hay un tramo de tubería en espiral que se en- encuentra sumergido en un medio de enfriamiento el que general mente es agua, al conjunto de serpentín y medio de enfria-miento se le conoce como condensador.

Los dos últimos equipos funcionan de acuerdo a la necesidad del producto que se desea obtener o a los volúmenes de líquido que se necesitan manejar. De acuerdo a esto, podrán funcionar a régimen continuo o discontinuo, teniendo el primero de ellos las siguientes características:

El líquido que se desea destilar se alimenta en forma constante en alguna porción intermedia de la torre, mientras que en la parte superior con la ayuda de un condensador los vapores ascendentes son condensados, recirculándose una parte

de ellos y extrayéndose otra en forma constante como destilado el cual tiene una mayor concentración en el componente más volátil que el alimentado a la torre.

En la parte inferior se extrae también en forma constante, un líquido con baja concentración en el componente más volátil.

Cuando se tratan pequeñas cantidades de líquido, la destilación se realiza generalmente en forma discontinua, lo cual puede realizarse como una destilación por lotes, esta se puede efectuar en forma simple, utilizando una sola etapa de equilibrio o varias.

Destilación por lotes simple es una operación en que la alimentación y el producto son cargados y drenados en forma de porciones en donde casi siempre se envuelven dos fases de la materia que tienden hacia el equilibrio, si éste es activado, el análisis de la separación es similar al análisis de las correspondientes separaciones continuas en el estado estacionario. La composición de los productos está relacionada por medio de una expresión del equilibrio y las cantidades de productos están relacionadas con las masas totales por medio de balances de materia, como sigue:

$$x_F F = x_{P_1} P_1 + x_{P_2} P_2 \quad \text{--- (1)}$$

$$F = P_1 + P_2 \quad \text{--- (2)}$$

F. Representa las moles de alimentación.

P_1 P_2 Indica las moles de cada uno de los productos obtenidos después de que la separación es terminada.

Considerando el caso de un proceso de vaporización en -- equilibrio en el que el líquido es inicialmente cargado a una torre de destilación, y es adicionado calor continuamente; el vapor en equilibrio con la mezcla líquida se genera y se re-- mueve del recipiente constantemente, siendo el producto líqui-- do en el rehervidor, extraído al final de la operación la que es comunmente llamada destilación de Rayleigh o destilación -- por lotes.

Dos balances de masa diferenciales se pueden realizar si se considera que una cantidad diferencial de vapor es extraí-- da, se puede escribir el siguiente balance de masa:

$$dV = dL \quad \text{--- (3)}$$

$$Y dV = - d(xL) = - L dx - x dL \quad \text{--- (4)}$$

En donde L representa las moles del líquido que permanecen en la torre de destilación ; (y) y (x) representan las fracciones molares del componente más volátil en el vapor y en el líquido respectivamente. La ecuación (3) es un balance de masa para todas las especies mientras que la ecuación (4) es un balance de masa para el componente más volátil. La ecuación (3) puede ser sustituida en la ecuación (4) para dar:

$$L dx = (y - x) dL \quad \text{-----} \quad (5)$$

La cual puede ser integrada entre los límites de L_0 y x_0 , que representan la carga de líquido inicial y la fracción molar. Mientras que (L_1) y (x_1) representan líquido remanente y fracción molar a cualquier tiempo posterior. Integrando queda:

$$\int_{L_0}^{L_1} \frac{dL}{L} = \int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{y - x} \quad \text{-----} \quad (6)$$

$$\ln\left(\frac{L_1}{L_0}\right) = \int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{y - x} \quad \text{-----} \quad (7)$$

Siendo ésta la ecuación de Rayleigh, que relaciona la composición del líquido residual y la cantidad del líquido.

En algunos casos puede ser posible establecer a K ó α como constantes durante el curso de la operación. Para K constante se tiene:

$$\ln \left(\frac{L_1}{L_0} \right) = \frac{1}{K-1} \int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{x} = \frac{1}{K-1} \ln \left(\frac{x_1}{x_0} \right) \dots (8)$$

Si α puede ser supuesta como constante y si existen sólo dos componentes en el líquido, se puede sustituir la ecuación (9) en la ecuación (7) y obtener.

$$y = \frac{x}{1 + (\alpha - 1)x} \dots \dots \dots (9)$$

$$\begin{aligned} \ln \left(\frac{L_1}{L_0} \right) &= \int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{\left[\frac{\alpha}{1/x + \alpha - 1} \right] - x} \\ &= \frac{1}{\alpha - 1} \ln \left[\frac{x(1 - x_0)}{x_0(1 - x)} \right] + \ln \left(\frac{1 - x_0}{1 - x} \right) \end{aligned} \quad (10)$$

En donde:

- α Volatilidad relativa.
- L_0 Carga inicial de líquido
- L_1 Líquido remanente
- x_1 Fracción molar del residuo
- x_0 Fracción molar del líquido inicial

Se puede concluir en la destilación de Rayleigh, que el cambio de la composición del líquido causará un cambio de temperatura si la presión permanece constante. Ya que T cambia, K y α cambian en general durante la destilación.

Cabe mencionar que la ecuación (7) se aplica a cualquier separación en la que una fase es alimentada en forma de lote y está bien mezclada y la otra fase es formada y eliminada continuamente.

En la destilación por lotes con multietapas, esta puede realizarse sobre la base de la destilación por lotes simple, refiriéndonos a la columna demostrada en la figura (2) el líquido que se desea destilar se alimenta en forma de lotes en el rehervidor de la columna mientras que en la parte superior con la ayuda de un condensador los vapores ascendentes son condensados, recirculándose una parte de ellos y extrayéndose otra como destilado el cual tiene una mayor concentración en el componente más volátil que el alimentado a la torre, empobreciéndose el líquido en el rehervidor del componente más volátil y subiéndolo hacia la parte superior del producto, hasta el receptor de destilado. La operación es la misma como la demostrada para la destilación simple de Rayleigh, excepto por la presencia de platos sobre el rehervidor y por la manipulación de reflujo.

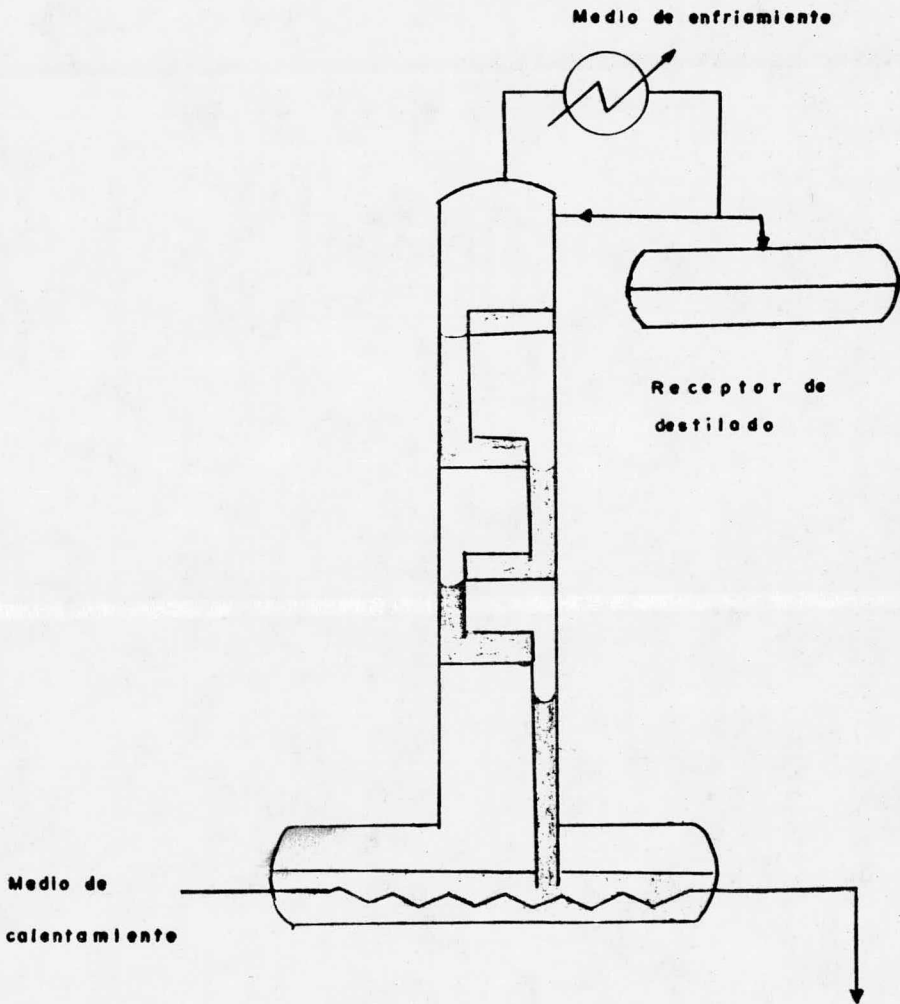


FIG. 2

Destilación por lotes con multietapas

Las destilaciones por lotes requieren considerablemente más labor que las que son continuas. Es necesario también - cortar, drenar y limpiar la columna entre carga y carga, y - esto tiene como resultado una sustancial pérdida en el tiempo de operación. Consecuentemente la destilación discontinua o por lotes en multietapas es más a menudo empleada cuando - un producto va a ser manufacturado a ciertos intervalos de - tiempo y cuando un número de diferentes mezclas puede ser -- manejado a diferentes tiempos por la misma columna. Las des- tilaciones por lotes son más comunmente utilizadas en peque- ñas plantas de multiproductos.

En la destilación discontinua la composición de todos - los puntos en la columna está continuamente cambiando. Con- siderando sobre cada plato un balance de materia tenemos:

Entradas - Salidas = Acumulación.

$$V_{P-1} y_{P-1} + L_{P+1} x_{P+1} - V_p y_p - L_p x_p = \frac{d}{dt} (Mx_p)$$

----- (11)

En donde:

L_p = líquido saliendo del plato P

L_{P+1} = líquido llegando al plato P procedente del pla- to p+1.

V_p = Vapor saliendo del plato p hacia el plato p+1

V_{p-1} = Vapor llegando al plato p procedente del plato p-1.

x_p ' x_{p+1} ' y_p ' y_{p-1} : Son las correspondientes composiciones del líquido y vapor.

En la ecuación (11) M es el líquido residual, es decir el número de moles del líquido presente sobre el plato P, por otra parte x_A en el lado derecho de la ecuación debe ser la composición promedio a través del plato.

Como una aproximación el líquido remanente en los platos es suficientemente pequeño como para que el término de la derivada del tiempo pueda ser despreciable comparándolo con cada uno de los términos del lado izquierdo de la ecuación. (11). Esto ocurre cuando el residuo sobre los platos es una pequeña fracción (5% o menos) de la carga de la columna.

En este caso es posible emplear las ecuaciones para la columna de estado estacionario continuo para relacionar las composiciones dentro de la columna discontinua a cualquier tiempo, y por lo tanto se puede utilizar el diagrama de McCabe Thiele para relacionar las composiciones de una mezcla binaria. Es posible operar una columna de destilación dis-

-continúa tanto a relación de reflujo constante, a través de la destilación, o puede ser posible que el reflujo varíe. - El análisis de McCabe Thiele para la columna manejada a relación de reflujo constante es ilustrada en la figura número - (3).

Como primer paso se debe obtener la relación de reflujo mínima la cual se obtiene de la siguiente forma:

$$\left(\frac{L}{V} \right)_{\min.} = \frac{y_d - y_b}{x_d - x_b} \quad \text{--- (12)}$$

x_b = Fracción molar del componente más volátil en el líquido residual del rehervidor.

x_d = Fracción molar del componente más volátil en el destilado.

y_b = Fracción molar del componente más volátil en el vapor.

y_d = Fracción molar del componente más volátil en el destilado.

L = Velocidad de flujo de líquido.

V = Velocidad del vapor

El reflujo externo se define como:

$$R = \frac{L}{D}$$

Relacionando ambos reflujo se tiene:

$$L/V = R/ R + 1 \quad ; \quad R = \frac{(L/V)}{1 - (L/V)} \quad \text{--- --- --- (13)}$$

Las líneas de operación a diferentes tiempos son una serie de líneas paralelas, siendo las pendientes las mismas -- constantes e iguales a L/V . La construcción para un diagrama de composición de los primeros destilados de x_{A, d_1} , es demostrado por las líneas continuas. Las líneas punteadas dan la construcción para un tiempo posterior cuando la composición superior es de x_{A, d_2} . En cada caso la línea de operación de pendiente conocida es dibujada desde el valor de $x_{A, d}$ que se está considerando.

La ecuación (7) es aplicable a una destilación discontinua o por lotes a relación de reflujo constante. Ya que $x_{A, d}$ es la composición de la corriente de producto constantemente extraído, y $x_{A, b}$ es la composición del material que queda en el rehervidor, la ecuación de Rayleigh toma la siguiente forma:

$$\ln \frac{b}{F} \quad \frac{dx}{x_d - x_b} \quad \text{--- --- --- (14)}$$

En donde F es la cantidad de carga inicial, b es la cantidad de líquido que queda en el rehervidor al final de la destilación x_F es la composición de la alimentación x_b es igual a la composición del producto final. Para esta ecuación generalmente se usa una integración gráfica; cuando la integral de la ecuación (14) ha sido evaluada, la composición del destilado puede ser obtenida de un balance de masa total. Un balance total de componentes da un promedio de composición de destilado.

$$x_{D_{avg}} = \frac{b x_b - F x_F}{D - F} \quad \text{-----} \quad (15)$$

Si el lado derecho de la ecuación de Rayleigh es llamado Q el tiempo en horas para la destilación se encuentra de la siguiente forma:

$$\theta = (R + 1) \frac{b}{v} \frac{e^Q - 1}{e^Q} \quad (16)$$

Una ecuación alternativa es:

$$\theta = \frac{R + 1}{v} (b - F) \quad \text{-----} \quad (17)$$

En donde:

- b Cantidad de residuo
- D Cantidad de destilado
- F Cantidad de carga inicial
- Q Integral del lado derecho en la ecuación de Rayleigh
- R Relación de reflujo interno
- V Cantidad de vapor generado en el rehervidor
- x_b Composición del residuo
- x_F Composición de la alimentación
- Tiempo necesario para la destilación.

En la figura Núm. 4 antes presentada se indica el análisis para el caso de una relación de reflujo variable que da una composición de destilado constante a través de la destilación.

Las líneas de operación giran alrededor de un punto que representa el destilado de composición constante. Para cada línea de operación, el número de etapas requeridas puede ser graficado para dar x_b como una función de L/D . El subíndice 2 en la figura se refiere a un tiempo posterior al del subíndice 1.

La capacidad de una columna de destilación está generalmente limitada por un máximo permisible de flujo de vapor. Si

éste permanece constante y la relación de reflujo se incrementa continuamente para mantener la composición del destilado constante entonces, la velocidad del flujo destilado decrece conforme pasa el tiempo.

La cantidad total de vapor que debe ser generada y por tanto el tiempo requerido para llegar a una composición de los fondos dada, puede ser obtenida de la construcción de la figura Núm. 4 .

Ya que a una L/V dada corresponde una $x_{A,b}$. Siguiendo la deducción original de Bogart (1937) y despreciando la retención en las etapas arriba del rehervidor se puede relacionar la cantidad de destilado producido a la cantidad de vapor generado como sigue:

$$\frac{d \cdot d'}{dV} = - \frac{db}{dV} = \frac{d'}{V} = 1 - \frac{L}{V} \quad \text{--- (18)}$$

Por balance de masa

$$b x_b = F x_F - (F - b) x_d \quad \text{--- (19)}$$

donde x_d es ahora una constante. La forma para la ecuación de una destilación por lotes es:

$$bdx_b = (x_d - x_b) db \text{ ----- (20)}$$

sustituyendo la ecuación (19) y (20) en (18) tenemos:

$$dv = \frac{F (x_F - x_d) dx_b}{(x_b - x_d)^2 [1 - (L/V)]} \text{ ----- (21)}$$

$$\delta V_{Tot} = F (x_F - x_d) \int_{x_F}^{x_b} \frac{dx_b}{(x_b - x_d)^2 [1 - (L/V)]} \text{ (22)}$$

en donde V_{Tot} es la cantidad total de vapor que debía ser producida o generada para dar un producto residual de composición x_b . La integral es evaluada relacionando x_b y L/V a través de la construcción de la figura(4).

En el caso de la destilación a reflujo constante, la velocidad del producto destilado no varía, y los requerimientos de tiempo ó los requerimientos totales de generación de vapor pueden ser calculados directamente de la cantidad acumulativa del destilado y conociendo la relación de reflujo. Los casos de reflujo constante y de destilado de composición constante representan dos de las formas de un número infinito de relaciones de reflujo, que pueden ser seguidas durante una desti-

lación por lotes.

En el caso de destilación a composición de destilado -- constante Bogart (6.15) desarrolló la siguiente ecuación -- para calcular el tiempo necesario para la destilación a refluj variable, suponiendo que la retención en los platos era -- despreciable.

$$\theta = \frac{F (x_D - x_F)}{V} \frac{dx}{(1 - L / V) (x_D - x)} \quad (23)$$

En donde:

- F Contenido inicial en la torre
- x_D Concentración del destilado en cualquier tiempo
- x_F Concentración inicial en la torre
- V Vapor generado en la torre de destilación
- x Composición en la torre de destilación a cualquier tiempo.

Las ventajas que ofrece cada una de las formas de destilación antes descritas son:

- a) En el caso de la destilación continua es posible obtener destilados de composición constante, sin embargo para --- justificar el costo del equipo es necesario procesar grandes

cantidades de producto.

b) Mientras que en la destilación discontinua el equipo necesario para llevar a cabo el proceso es menos costoso sin embargo la composición del destilado no es constante.

3.- MATERIALES Y METODOS

- 3.1 Fermentación
 - 3.1.1 Material biológico
 - 3.1.2 Material químico
 - 3.1.3 Material de laboratorio
 - 3.1.4 Aparatos y equipo
 - 3.1.5 Esterilización de medios y materiales
 - 3.1.6 Preparación de medios de cultivo
 - 3.1.7 Metodología empleada para el desarrollo de levaduras.
 - a) Conservación
 - b) Propagación
 - c) Aclimatación
 - d) Selección
 - 3.1.8 Preparación de jugo
 - 3.1.9 Método de fermentación
 - 3.1.10 Métodos químicos
 - a) Reactivo "G"
 - b) Ac. sulfúrico
 - c) Tiosulfato de sodio
 - d) inversión de azúcares
 - e) Determinación de Azúcares
 - f) Acidez fija
 - g) Acidez volátil

3.2 Destilación

3.2.1 Material biológico

3.2.2. Equipo

3.2.3 Método de destilación

3.2.4. Método para cuantificar alcohol por densidimetría

3.2.5. Método de análisis cromatográfico

3.1. MATERIALES Y METODOS UTILIZADOS EN EL PROCESO DE FERMENTACION.

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

A) Se utilizaron cepas de levaduras de los siguientes tipos: Saccharomyces cerevisae (ATCC-4110), utilizada en destilería de granos; Saccharomyces cerevisae (ATCC-4124), empleada en destilería de melazas; Saccharomyces ellipsoideus variedad champagne (LV-6). Todas obtenidas en el Laboratorio de Microbiología Industrial. (Facultad de Química, U.N.A.M.).

B) Manzana variedad "ripia" (Huejotzingo, Puebla)

C) Sidra obtenida en Huejotzingo, Pue.

3.1.2. MATERIAL QUÍMICO

Las sustancias químicas utilizadas fueron las siguientes:

Acido sulfúrico

Agar

Bactoagar

Bactodextrosa

Bisulfito de sodio

Carbonato de sodio

Carbonato de sodio anhídrido

Glucosa

Extracto de levadura

Fenolftaleína

Fosfato diácido de potasio

Yodato de potasio

Yoduro de potasio

Metabisulfito de sodio

Neopeptona

Sacarosa

Sulfato de cobre pentahidratado

Sulfato de sodio anhidro

Tiosulfato de sodio

3.1.3. LOS MATERIALES DE LABORATORIO UTILIZADOS FUERON:

Buretas, pipetas, matraces (Erlenmeyer, redondos de fondo plano, aforados, etc.) y vidriería en general (tubos de ensayo, vasos, etc.)

3.1.4. LOS APARATOS USADOS EN ESTE TRABAJO FUERON:

Alcoholímetros (con escala Gay Lussac)

Autoclave; Boekle (0 a 150°C) Fig. 5

Balanza analítica E. Mettler Fig. 7

Centrífuga Wifug Fig. 10

Cromatógrafo de gases Fig. 12

Equipo de destilación Quickfit

Estufa de secado con temperatura regulable Fig.6 (Robert-Shaw)

Fermentador de acero inoxidable (capacidad 12 litros) Fig.9

Microscopio Ernst-leitz GMBH Fig. 8

Potenci6metro Beckman Mod. 118789 Fig. 11

Columna de destilaci6n Fig. 13

3.1.5 ESTERILIZACION DE MEDIOS Y MATERIALES

a) Medios

Los medios de cultivo se esterilizaron en matraces Er--lenmeyer, cuidando que el medio cubriera cuando mucho las dos terceras partes del matraz, el cual se tap6 perfectamente con algod6n y se llev6 al autoclave (Fig.5) se calent6 hasta --- 120°C y presi6n de 0.96 Kg/cm^2 , alcanzadas estas condiciones, se mantuvieron durante 15 minutos; transcurrido este tiempo - el medio qued6 en condiciones est6riles. El equipo utilizado est6 descrito en el n6mero 3.1.4.

b) Materiales

Los materiales principales fueron , matraces, tubos y p \dot{i} petas etc. 6stos perfectamente lavados y secos se cubrieron - con papel, con el objeto de evitar cualquier contacto directo

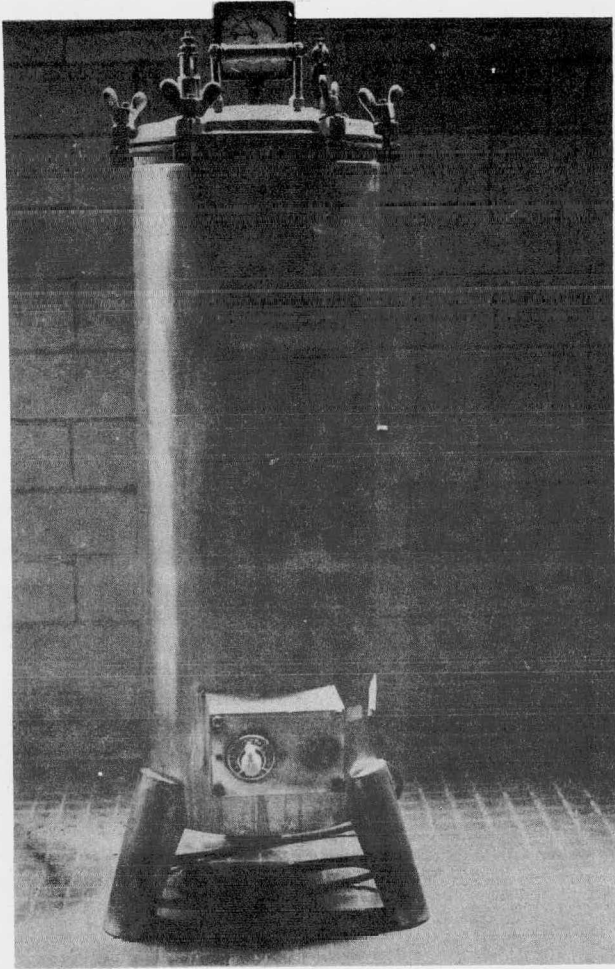


FIG. NUM. 5

A U T O C L A V E

con los microorganismos presentes en el medio ambiente. Después se metieron a la estufa (Fig.6) a una temperatura -- constante de 200 a 250°C durante un tiempo de 4 horas. (El equipo utilizado para esta operación es el descrito en el - número 3.1.4.

3.1.6. PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

Se pesaron con exactitud en balanza analítica (Fig.7), cada uno de los componentes del medio de cultivo, éstos se - vaciaron sobre un matraz Erlenmeyer de 300 ml adicionándoles 100 ml de agua destilada, se agitó vigorosamente hasta tener una mezcla perfectamente homogénea, si era necesario se ca-- lentaba directamente con el mechero. Una vez disuelto se ta-- pó con algodón y se esterilizó a temperatura de 120°C y pre-- sión de 0.96 Kg/cm² , durante 15 minutos.

El medio estéril se pasó a tubos de ensayo (previamente esterilizados, hasta completar aproximadamente las dos terce-- ras partes), después de lo cual se inclinaron sobre una vari-- lla de vidrio con el fin de aumentar el area de cultivo; de-- jándose enfriar hasta solidificación completa. Posteriormen-- se metieron a la estufa (Fig. 6), con temperatura constan-- te de 25°C durante 24 horas, con el objeto de registrar al-- gún posible crecimiento microbiano; transcurrido este tiempo el medio estuvo apto para ser utilizado para el crecimiento

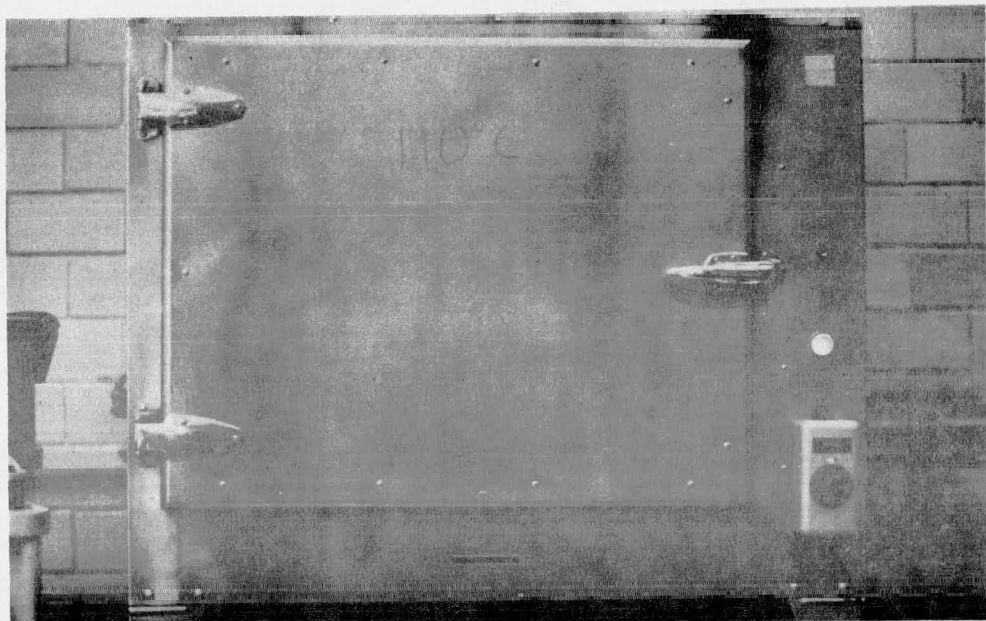


FIG. NUM. 6

ESTUFA DE SECADO

de microorganismos seleccionados.

3.1.7. METODOLOGIA EMPLEADA PARA EL DESARROLLO DE LEVADURAS.

A) Conservación

Las cepas de levaduras se conservaron en un medio de -- cultivo sólido con los nutrientes adecuados para su existencia, a bajas temperaturas o en un refrigerador haciéndose -- una resiembra cada tres meses, ya que el medio en que se encontraba perdía humedad y se empobrecía de los medios nutritivos que contenía.

La conservación de las levaduras se hizo en un medio de cultivo cuyo p^H se ajustó a 5.6 y contenía los siguientes componentes:

Agua destilada	100 ml
Bacto dextrosa	4.0 g
Bactoagar	1.8 "
Neopeptona	0.10"

B) Propagación

De las cepas conservadas en el laboratorio de Microbio-

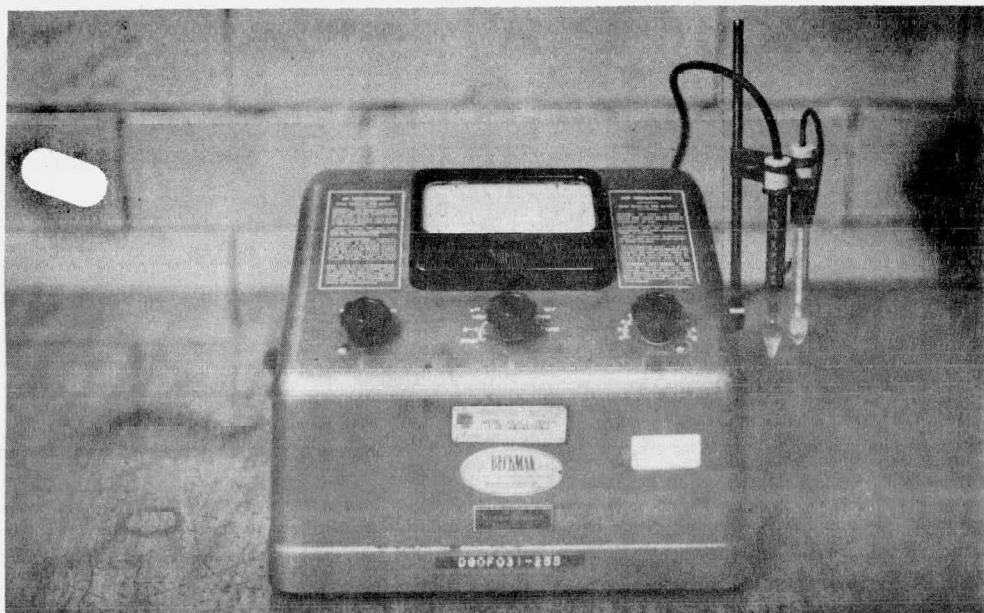


FIG. NUM. 11

P O T E N C I O M E T R O

logía Industrial (Facultad de Química, U.N.A.M.), Saccharomyces cerevisiae variedad ellipsoideus (LV- 6); S. cerevisiae ATCC-4110; se sembraron para iniciar un medio de propagación, procediéndose de la siguiente forma:

i) Propagación de la levadura de un medio sólido a otro medio sólido:

Se esterilizó perfectamente todo el material de vidrio - que se utilizó (tubos de cultivo, matraces Erlenmeyer, portasa con punta de platino, etc. preparándose los medios de cultivo para que estos fueran inoculados en perfectas condiciones de esterilidad.

Se tomó una asada de la cepa microbiana y se sembró en forma de estría en un tubo de ensayo o caja de Petri con medio sólido donde se deseaba propagar la especie. Después se dejó en una estufa con temperatura de aproximadamente 28°C para su desarrollo.

ii) Propagación de la levadura de medio sólido a medio líquido:

En condiciones de esterilidad completa, se tomó una asada de levadura que se encontraba en medio sólido, llevándose al medio líquido en el cual se deseaba propagar dicha levadura, se agitó con el asa vigorosamente con el objeto de disper

sar las levaduras, incubándose durante 24 horas a temperatura constante de 28°C con agitación continua en una mesa rotatoria.

iii) Propagación de la levadura de medio líquido a medio líquido:

En condiciones estériles se tomó un volumen de levadura en solución y se llevó a un medio líquido donde se deseaba propagar. La operación debía efectuarse con la mayor brevedad posible para evitar cualquier contaminación del medio ambiente. La cantidad de inóculo adicionado fué de acuerdo al volumen que se deseaba propagar.

Después de 24 horas de crecimiento se comprobó que los cultivos o cepas de levaduras obtenidas se encontraban perfectamente puras, lo cual fué posible hacer tomando una muestra de la levadura obtenida, diluyéndola y examinándola al microscopio (Fig. 8). La levadura debía tener formas de acuerdo a los patrones que la identifican.

C) Aclimatación

El medio utilizado para aclimatar las levaduras contenía

Sacarosa

10 g.

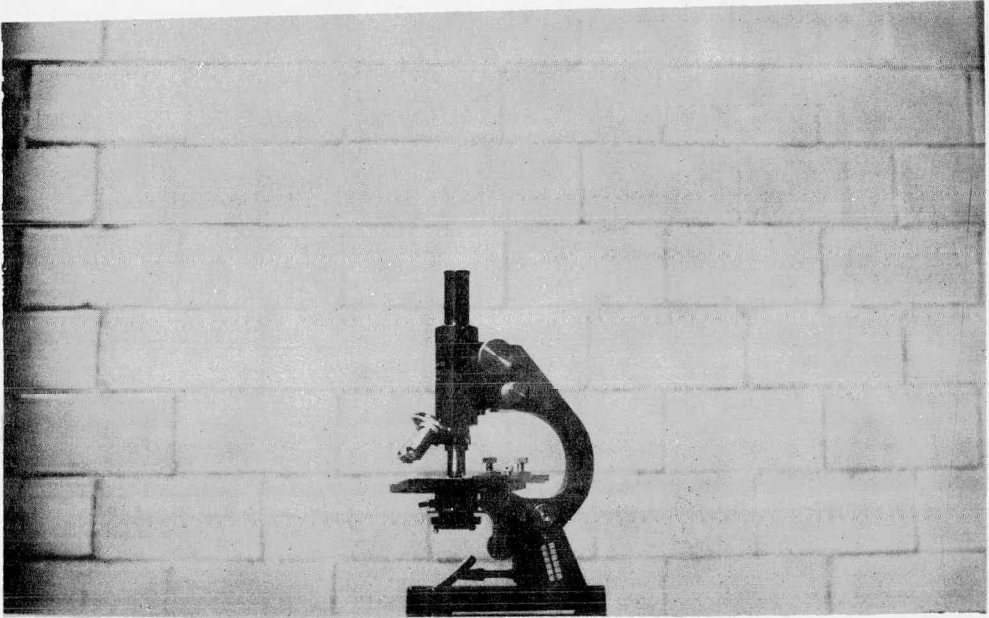


FIG. NUM. 8

M I C R O S C O P I O

Agar	2 g.
Agua destilada	100 "
Extracto de levadura	1 "
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	0.2 "
Sulfato de amonio (NH_4) ₂ SO ₄	0.5 "

La aclimatación se llevó a cabo de acuerdo a lo siguiente:

i) Se sembró la levadura de su medio de cultivo de conservación (3.1.7.A) al medio de aclimatación con los componentes semejantes a los del jugo de manzana, además conteniendo bisulfito de sodio, en una concentración equivalente a 8 g/ Hl.

ii) La levadura adaptada en medio sólido con bisulfito de sodio, se propagó en medio líquido el cual contenía los mismos componentes que el anterior (excepto agar).

iii) La levadura adaptada al medio líquido anterior, se sembró en jugo de manzana esterilizado, que contenía concentraciones equivalentes de bisulfito de sodio. Todos los pasos anteriores se llevaron a cabo en condiciones estériles.

D) Selección

La selección de la levadura se hizo de acuerdo al rendimiento óptimo de alcohol; y el método seguido para dicha operación fue el siguiente:

Se aclimataron las cepas de levaduras a un medio de cultivo sólido que contenía componentes necesarios para su desarrollo (3.1.7.C) , después la levadura se acondicionó a medio líquido de la misma composición, inoculándose posteriormente en jugo de manzana; se siguió el curso de la fermentación con cada una de las levaduras cuantificando la cantidad de azúcar consumida, y al término de ésta se cuantificó el alcohol.

3.1.8. PREPARACION DEL JUGO

La manzana se clasificó para eliminar aquellas que se encontraban en mal estado, después se lavaron con el objeto de eliminar microorganismos e impurezas contenidas en la cáscara , posteriormente se cortaron en trozos pequeños para que fueran prensados, y se recolectó el jugo en un recipiente para filtrarse o decantarse , eliminando así las impurezas o partículas de mayor tamaño.

De antemano la manzana clasificada se pesó en una ba--

lanza con el objeto de conocer la cantidad de jugo obtenido por kilogramo de manzana prensada , tabla Núm. 1 capítulo 4.

3.1.9. METODO DE FERMENTACION

La fermentación se llevó a cabo mediante los siguientes pasos:

Se seleccionó un tiempo de cortado de la manzana la --- cual se lavó posteriormente, separándose y seleccionándose - los frutos que no se encontraban dañados, éstos fueron cortados y prensados, obteniéndose de esta forma el jugo que fue utilizado para la fermentación, el jugo obtenido fue tratado con desinfectantes, como bisulfitos, sulfitos o anhídrido -- sulfuroso, posteriormente se desinfectó y se esterilizó el - equipo que se utilizó directamente en la fermentación, Fig.9

Paralelamente a los pasos mencionados anteriormente fue necesario preparar el inóculo que se utilizó para la fermentación selectiva del jugo de manzana, lo cual se hizo de la siguiente forma:

- a) Selección de la levadura
- b) Adaptación en medio sólido con bisulfito de sodio
- c) Adaptación en medio líquido con bisulfito de sodio
- d) Crecimiento de levadura en volumen pequeño

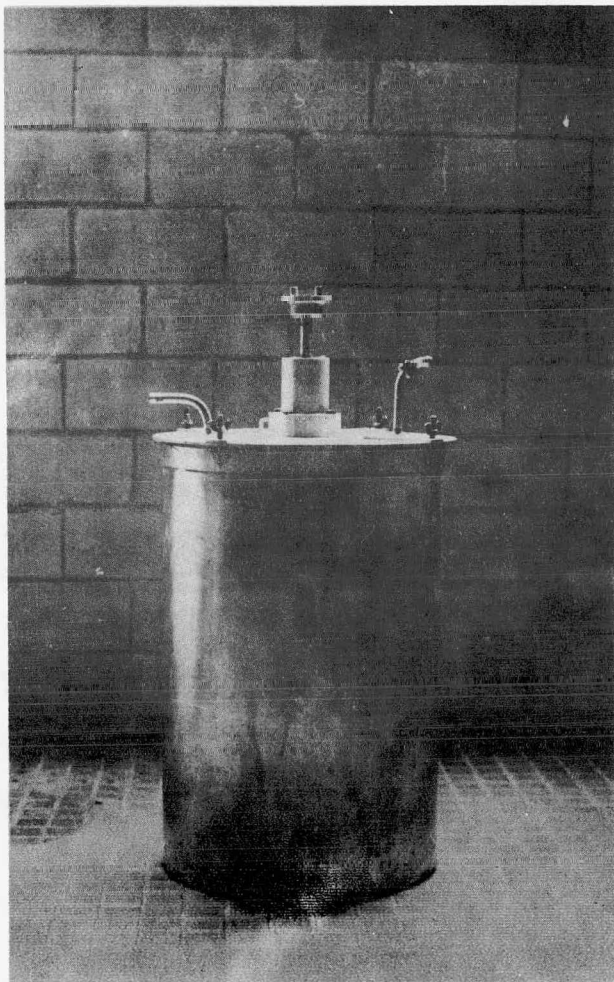


FIG. NUM. 9

FERMENTADOR DE ACERO INOXIDABLE

e) Crecimiento de levadura en volúmenes mayores de jugo.

Cuando fue propagada la levadura en las proporciones - adecuadas para la fermentación, se procedió a la inoculación del jugo que se deseaba fermentar. Después de que la fermentación terminó se procedió a una clarificación del medio de cultivo, lo cual pudo llevarse a cabo por adición de pectinas, filtración o centrifugación, siendo ésta última la que se utilizó en tal operación Fig. Núm. 10.



FIG. NUM. 10

C E N T R I F U G A

ESQUEMA QUE MUESTRA LA FERMENTACION
DE JUGO DE MANZANA

SELECCION DE TIEMPO
DE RECOLECCION DE MANZANA

SELECCION Y SEPARACION DE LA MANZANA

LIMPIEZA (LAVADO)

OBTENCION DEL JUGO
(PRENSADO)



ADICION DE DESINFECTANTES

DESINFECCION DEL EQUIPO

SELECCION DE LEVADURA

ADICION DE INOCULO

OBTENCION DEL JUGO FERMENTADO

ADICION DE PECTINAS

FILTRACION

ALMACENAMIENTO

3.1.10 METODOS QUIMICOS

a) Método para la preparación del reactivo "G"

El reactivo "G" para la determinación de azúcares se -- preparó de la siguiente forma: el carbonato de sodio y la -- sal de Rochelle se disolvieron en 300 ml de agua destilada - enseguida se añadió el sulfato de cobre previamente disuelto en aproximadamente 500 ml de agua destilada, la adición se - realizó con agitación continua de manera que no se despren-- diera anhídrido carbónico, para ello se utilizó un embudo -- que tenía el extremo largo, para que quedara bajo la superfi-- cie de la solución de carbonato-tartrato. El yoduro de pota-- sio y el sulfato de sodio se añadieron agitando hasta un vo-- lumen de aproximadamente 900 ml con agua destilada. La solu-- ción hasta que el p^H alcanzó un valor de 9.48. La determina-- ción del p^H se hizo en el potenciómetro a temperatura de --- 25°C (Fig. 11) , siendo el error salino despreciable. La -- muestra utilizada para probar el p^H se regresó a la solución principal. La solución resultante se calentó a ebullición, - después se mantuvo durante 10 minutos calentándola suavemente y se enfrió a 25°C . El yodato de potasio, pesado con exac-- titud, se añadió y disolvió completamente, el volumen se lle-- vó exactamente a un litro en un matraz volumétrico. El reac-- tivo recién preparado contenía material suspendido , por lo

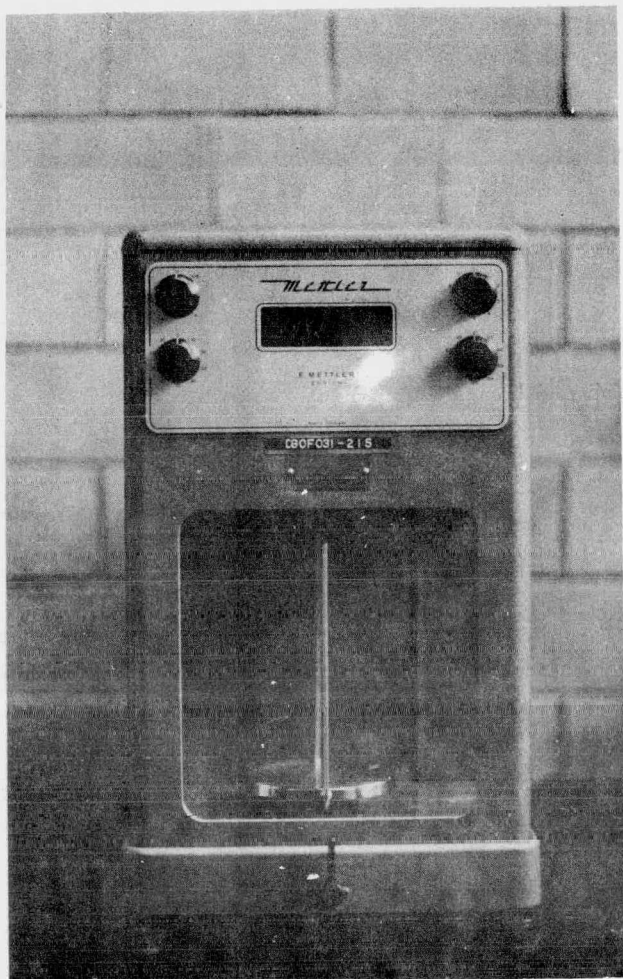


FIG. NUM. 7

BALANZA ANALITICA

que la solución se dejó reposar cuando menos una semana en un recipiente de vidrio.

La solución clara se filtró con asbesto, guardándose se para su uso.

b) Método para la preparación de la solución de ácido sulfúrico 7 N.

Se tomó un volumen de 203.65 ml de ácido sulfúrico con densidad de 1.84 g/l y pureza de 98% , éste se llevó a un matraz aforado de 1000 ml, que contenía agua destilada, el ácido se adicionó lentamente derramándolo por las paredes, posteriormente se adicionó agua de la misma manera hasta completar el aforo del matraz, mezclándose hasta completa dilu---ción (6.23).

c) Método de preparación de tiosulfato de sodio 0.05 N

Se pesó 1.24 g de cristales de tiosulfato de sodio químicamente puro, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, se disolvieron en agua destilada y hervida, y se llevó a un volumen, en un matraz aforado de 1 litro, con agua hervida. Si la solución debía conservarse durante más de unos días se agregaba 1.0 gramo de cianuro mercuríco, 0.01 gramo de yoduro mercuríco ó 1 ml de cloroformo (6.23).

El método de valoración de la solución de tiosulfato - se hizo de la siguiente manera:

Se pesaron con exactitud 0.3567 gramos de yodato de potasio puro y seco a una temperatura de 100 a 110°C aproximadamente, se disolvió en agua y el volumen se completó a 100 mililitros en un matraz aforado. De esta solución se midieron con una pipeta 25 ml con exactitud, se pusieron en un matraz Erlenmeyer adicionando un gramo de yoduro de potasio y después de disuelto se aciduló con 3 ml de solución de ácido sulfúrico diluido (1:10). El yodo puesto en libertad se valoró con solución de tiosulfato de sodio, cuando la solución - adquirió un color amarillo pálido se diluyó con 200 ml de agua, se agregaron 2 ml de solución de almidón y se continuó la valoración hasta que el color desapareció.

d) Método para la inversión de azúcares.

Se tomó 1 gramo de sacarosa y se disolvió en 50 ml de agua en un matraz, después de lo cual se agregaron 10 ml. - de ácido clorhídrico 1 N, se calentó a 70°C durante un tiempo de 30 minutos después de lo cual se dejó enfriar y se neutralizó cuidadosamente con hidróxido de sodio 1 N, hasta un p^H equivalente a 7, posteriormente se aforó a 100 ml. con agua destilada.

Los azúcares reductores directos están expresados como

glucosa total o como sacarosa, para lo cual es necesario -
multiplicar por un factor que se obtiene de la siguiente -
forma:

$$\frac{\text{PM sacarosa}}{\text{PM glucosa}} \times 100 = f$$

e) Método para determinar azúcares por la técnica de -
Underkofler (6.20).

La determinación cuantitativa de azúcares reductores es una de las valoraciones más frecuentemente requeridas en el campo de la bioquímica . Dichas determinaciones son especialmente importantes en el estudio de las fermentaciones para observar la rapidez de desasimilación de azúcares y la obtención de alcohol. Los agentes oxidantes más frecuentemente empleados para el análisis de azúcares reductores son las sales de ferricianuro, así como las sales de cobre.

Procedimiento analítico para la determinación de azúcares.

Se colocaron exactamente 5 ml de reactivo "G" en un tubo de ensayo de 25x 100 ml lo cual se hizo con una pipeta volumétrica. Se añadieron 5 ml de la solución problema y se mezclaron completamente. El tubo se cubrió con tapón de hule

provisto de un pedazo de tubo capilar. El tubo se sumergió por lo menos dos terceras partes de su longitud en baño de agua hirviente y se calentó por el tiempo estandar de calentamiento adecuado a los azúcares que se determinan, se enfrió el contenido del tubo aproximadamente a 30°C en un baño de agua fría, se añadieron 2 ml de solución de yoduro de potasio oxalato (reactivo I) y se mezclaron bien. A esta mezcla se le añadió cuidadosamente 1 ml de ácido sulfúrico 7 N , inclinando el tubo de tal forma que se evitara una rápida producción de anhídrido carbónico. El tubo debía inclinarse de manera que el líquido formara una superficie notable, enseguida se dejó que el ácido fluyera por las paredes del tubo y se mezcló girando lentamente el tubo inclinado, hasta que el primer desprendimiento violento de anhídrido se calmara, por último la solución se mezcló agitando. Después de la adición de ácido sulfúrico se dejó reposar el tiempo suficiente para que el óxido cuproso se disolviera y para que la solución -- quedara completamente clara.

El exceso de yodo se valoró finalmente con tiosulfato -- de sodio 0.05 N usando el indicador de almidón cerca del punto final.

La normalidad del tiosulfato se comprobaba frecuentemente contra una solución de yodato de potasio aproximadamente - 0.05 N , se corrió un blanco exactamente de la misma manera -

usando como muestra problema 5 ml de agua. La diferencia que correspondía al volumen de tiosulfato 0.05 N consumido por el óxido cuproso se convirtió en mg de azúcar en 5 ml de solución por lecturas en la curva estándar. El volumen usado de tiosulfato es dentro de los límites razonables una función lineal de la concentración del azúcar. Fue conveniente probar los reactivos periódicamente frente a una muestra de azúcar pura cuidando que su valor permaneciera constante lo cual sucedía para un período de meses. Esta estabilidad depende grandemente del ajuste exacto del p^H del reactivo "G" para azúcares.

Cuando se realiza gran número de análisis de rutina, -- puede prepararse otro tanto de muestras en tubos separados, calentados y enfriados al mismo tiempo y luego titularlas.

f) Determinación de la acidez fija (6.1)

Preparación de la muestra:

Se evaporaron a sequedad en baño maría de 25 a 50 ml de la muestra contenida en una cápsula de porcelana, después se llevó a la estufa durante 30 minutos a una temperatura de -- 100 a 105°C , Fig. Núm. 6.

Procedimiento:

El residuo anterior se disolvió y se transfirió a una -- cápsula de porcelana que contenía aproximadamente unos 250 ml de agua recientemente hervida, fría y neutralizada con fenolf taleína, para la disolución y transferenciase emplearon va-- rias porciones de alcohol neutro de más o menos el mismo gra-- do alcohólico que la muestra, utilizando un total no mayor - de 25 a 50 ml, se valoró con solución de hidróxido de sodio - 0.1 N.

Cálculos y resultados

Se expresó el resultado en mg de ácido acético por 100 ml de alcohol anhidro por medio de la expresión siguiente:

$$A.F. = \frac{V \times N \times 60 \times 10}{M} \times \frac{100}{G.A.R.}$$

En donde:

- A.F. Acidez fija, expresada en miligramos de ácido acé-- tico, por 100 ml referidos a alcohol anhidro.
- V Mililitros de solución de hidróxido de sodio
- N Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

M Mililitros de muestra que se utilizó

60 Miliequivalente del ácido acético expresado en mg .

g) Determinación de acidez total (6.1)

Procedimiento:

En una cápsula de porcelana se neutralizaron aproximadamente 250 ml de agua recientemente hervida y fría, utilizando 2 ml de solución indicadora de fenolftaleína y solución 0.1 N de hidróxido de sodio, se agregaron 25 ml de muestra (de -- grado alcohólico real conocido) y se valoró con solución 0.1 normal de hidróxido de sodio.

Cálculos y resultados:

Se expresó el resultado en miligramos de ácido acético - por cien mililitros de muestra y se refirieron a alcohol anhidro, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$A.T. = \frac{V \times N \times 60 \times 10}{M} \times \frac{100}{G.A. F.}$$

En donde:

- A.T. Acidez total expresada en miligramos de ácido acético por 100 ml de muestra, referidos a alcohol anhidro.
- V · Mililitros de hidróxido de sodio gastados en la titulación de la muestra.
- N Normalidad de la solución de hidróxido de sodio usada en la titulación.
- M Mililitros de muestra empleados en la determinación.
- 60 Miliequivalente del ácido acético expresado en miligramos.
- G.A.R. Grado alcohólico real de la muestra a 15°C en la escala Gay-Lussac.

H) Método de determinación de acidez volátil (6.2) .

La acidez volátil es un índice del grado de alteración que puede tener una bebida alcohólica debida a la acción de los siguientes ácidos: ácido fórmico, butírico, propiónico, etc.

Debido al daño que producen estos ácidos, se han establecido las cantidades mínimas permiscibles. La presencia de la acidez volátil puede ser debida también a la oxidación del alcohol y en algunos casos las bacterias atacan al ácido cítrico, a los azúcares, glicerol, etc. La técnica utilizada para determinar la acidez volátil fue la siguiente:

Utilizando un destilador tipo Hartvet, se vertieron de 500 a 600 mililitros de agua destilada en el matraz de ebullición, se calentó el agua a ebullición durante dos o tres minutos y se detuvo el calentamiento. Se colocó un matraz Erlenmeyer debajo de la salida del condensador, se marcó previamente con pluma azul el nivel de los 100 ml sobre el frasco, se introdujeron 10 ml de muestra problema con una pipeta dentro del tubo interior y se inició el calentamiento hasta una ebullición vigorosa, y cuando se alcanzó ésta se cerró la válvula que se encontraba sobre un tubo flexible en el matraz de ebullición.

Se continuó la ebullición hasta que se recogieron 100 mililitros de destilado, después de lo cual se abrió la válvula que se encontraba sobre el tubo de hule.

Al destilado obtenido en el frasco Erlenmeyer se le adicionaron de 3 a 4 gotas de fenolftaleína y se valoró hasta un color rosa con sosa 0.1 N.

Los gramos de acidez volátil por 100 ml se obtuvieron multiplicando la sosa utilizada por 0.06.

3.2. DESTILACION

3.2.1. El material biológico utilizado para la opera---

ción de destilación fue: la sidra obtenida en Huejotzingo y el jugo de manzana fermentado en el Laboratorio.

3.2.2. El equipo utilizado para llevar a cabo el proceso de destilación fue una caldera marca Superior Mod.T-4, -- también se dispuso de una torre de destilación, marca Bernard Esteve Mold. D, Fig. Núm. 13.

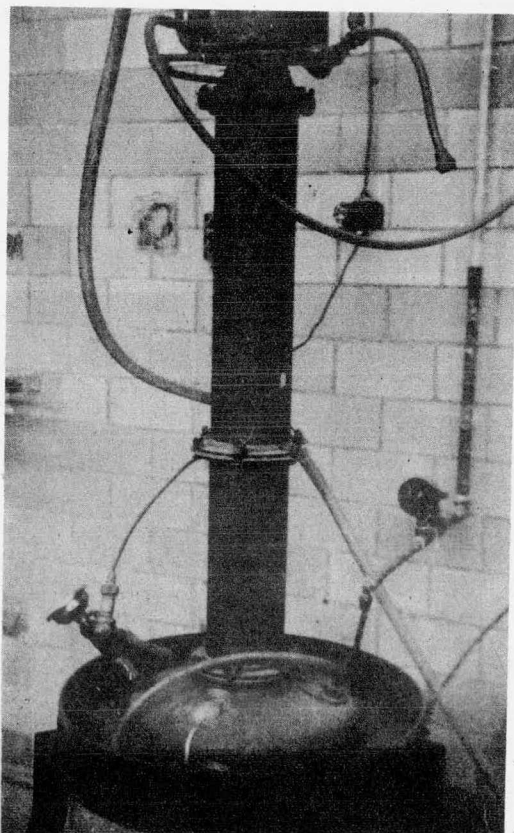


FIG . NUM. 13

TORRE DE DESTILACION

3.2.3. METODO DE DESTILACION

La destilación de las muestras se llevó a cabo de la siguiente forma:

A) Se puso a régimen constante el condensador superior-- de la torre de destilación, con un gasto de agua constante.

B) Se cerró la válvula de descarga de la torre.

C) Se cargó la torre con un volumen conocido de jugo---- fermentado que se deseaba destilar.

D) Se inició el calentamiento del jugo fermentado a una presión de 0.53 Kg/cm^2 y cuando alcanzó una temperatura de 80°C se inició la destilación del etanol, terminándose ésta a-- una temperatura de aproximadamente 85°C . Durante la destilación se registraron los siguientes datos:

- a) Volumen cargado a la torre
- b) Volumen destilado
- c) Temperatura de entrada del agua de enfriamiento
- d) Temperatura de salida del agua de enfriamiento
- e) Gasto volumétrico
- f) Presión del vapor de calentamiento
- g) Tiempo de destilación

h) Gasto de vapor

i) Concentración del destilado y residuos.

LOS COMPONENTES DE LA TORRE DE DESTILACION SE MUESTRAN EN LA SIGUIENTE FIGURA.

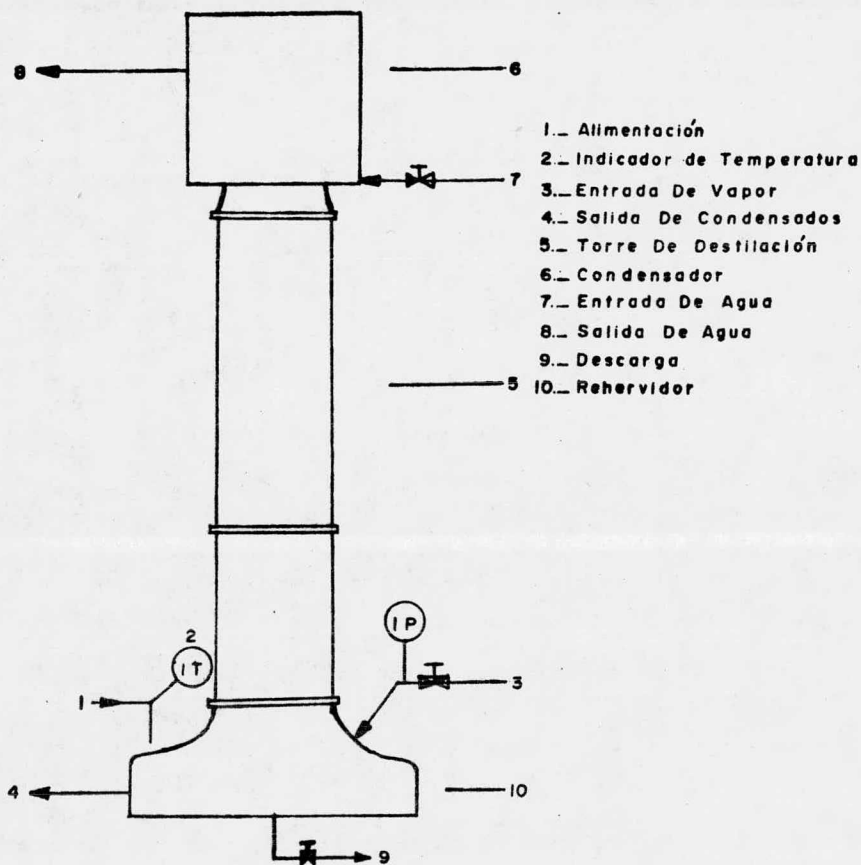


Fig. (14)

DIAGRAMA DE LA TORRE DE DESTILACION

LAS DIMENSIONES DEL EQUIPO ANTES INDICADO SE DAN A CON
CONTINUACION:

a) Rehervidor

diámetro = 38 cm
altura = 20 cm
capacidad = 22 litros
material cobre de espesor 0.238 cm

b) Serpentin de calentamiento

diámetro = 0.76 cm
longitud = 10 m
superficie de calentamiento = 2841 cm^2

c) Columna

diámetro 12 cm
altura 80 cm
Núm. de platos 27

d) Condensador

diámetro 20 cm
altura 40 cm
superficie de enfriamiento = 2300 cm^2 .

Debido a que la torre de destilación no contaba con la instrumentación suficiente como para cuantificar la cantidad de líquido que retornaba a la torre procedente del vapor condensado, se llevaron a cabo una serie de experimentos sencillos:

Se alimentó un lote de jugo de manzana fermentado que se deseaba destilar, lo cual se hacía por la entrada de dicha torre (Núm. 1 de la Fig. 14). Posteriormente se puso a régimen constante el agua de enfriamiento del condensador superior de la torre. Después se inició el calentamiento del jugo fermentado en el rehervidor, utilizando vapor generado por una caldera marca Superior. El vapor entraba en la parte superior del rehervidor siendo regulada su presión por una válvula, la presión podía ser verificada a su vez con un manómetro colocado después de ésta. La presión empleada fué de 0.53 Kg/cm^2 , después de iniciado el calentamiento la mezcla líquida alcanzó su punto de ebullición durante un tiempo de 9 minutos, iniciándose la destilación y la recolección del producto, lo cual ocurría a una temperatura entre 65 y 90°C .

Los cortes del destilado en sus tres fracciones (cabezas corazón y colas) se hacían basados en los cambios de temperatura, de tal manera que la primera porción de destilado correspondía a la fracción de cabezas, haciéndose el corte hasta que

se alcanzaba la temperatura de ebullición para la mezcla de etanol-agua (79°C). A partir de este punto se empezó a recolectar en otro recipiente la fracción de destilado correspondiente al corazón, siendo ésta la porción más importante de la destilación. El corte de la porción correspondiente al corazón se realizó cuando había un cambio considerable de la temperatura (85°C), el cual era determinado por medio de un termómetro con termopar colocado en la entrada de la alimentación de la torre. Una vez que se terminó de destilar la porción antes mencionada se procedió a cambiar el recipiente donde se recibía el destilado, e iniciándose la recolección de la última porción o corte denominado colas, considerándose las condiciones de cambio de temperaturas como en el caso anterior.

Por otro lado, durante el curso de la destilación se de terminó:

La cantidad de agua de enfriamiento en el condensador y de salida, lo cual permitió encontrar la cantidad de calor re movido por condensación de vapores procedentes del rehervidor

También se midió en la misma forma la cantidad de vapor de calentamiento necesario para llevar a cabo el calentamiento y la vaporización de la mezcla líquida, utilizando un con densador, el cual se colocó en la salida de la línea de vapor

de calentamiento para ayudar a medir la cantidad total de líquido condensado, lo que se hizo con una probeta de 250 ml -- considerando el tiempo necesario para que ésta se llenara. Con estas cantidades fué posible calcular la cantidad de calor necesario para llevar a cabo la operación de destilación.

3.2.4 Método para cuantificar el alcohol en el destilado por densidimetría.

Se tomaron 50 ml de la muestra medidos a 20°C los cuales se transferían a un matraz de destilación, el cual debía estar conectado a un refrigerante, cuya extremidad inferior debía terminar en un tubo con la punta cortada a bisel y descargando en un matraz aforado de 200 ml en el que se puso un poco de agua para que el destilado barboteara y evitara de esta forma pérdida de alcohol por falta de condensación. Se -- suspendió la destilación cuando se alcanzó la temperatura de 90°C después de lo cual el destilado se aforó hasta 200 mililitros con agua destilada y se llevó el contenido a una probeta de 250 ml donde se le determinó el grado alcohólico con un alcoholímetro. Para el cálculo de la concentración debe estar la muestra a una temperatura de 15°C y en caso contrario debe hacerse una corrección utilizando unas tablas especiales para tal efecto . La concentración del destilado se obtuvo de la siguiente forma:

$$C_1 = \frac{200 \times C_2}{V_1}$$

En donde:

C_1 = Concentración del destilado

C_2 = Concentración medida en el alcoholímetro

V_1 = Volumen del destilado

200 Este número corresponde al aforo del matraz

3.2.5. METODO DE ANALISIS CROMATOGRAFICO DE GASES DEL - PRODUCTO DESTILADO.

De acuerdo a la representación de la Fig. Núm. 12 del -- cromatógrafo de gases se llevaron a cabo los siguientes pasos:

Se suministró el gas abriendo la válvula principal del - cilindro. Se ajustó una válvula de diafragma para que la presión en el segundo manómetro del cilindro fuera de 0.91 Kg/cm² se abrió lentamente la válvula de aguja hasta que el medidor de flujo marcó 25 ml/min , purgándose el gas durante 5 minutos, se ajustó la corriente hasta el valor deseado (entre -- 100 y 200 ma), se encendió el registrador y la inyección de calor, ajustándolo a la temperatura adecuada, cuidando de que

fuera la mínima posible, esto se hizo con el objeto de obtener la separación óptima de los componentes, se esperó hasta que la línea de registro se encontrara estabilizada después de lo cual se inyectaron tres microlitros de la muestra con una aguja hipodérmica, después de un tiempo se obtuvieron en el papel registrador los picos característicos para cada componente analizado. La columna cromatográfica se mantuvo a 50°C (isotérmica) y el detector e inyector a una temperatura de - 110°C.

4.- EXPERIMENTACION Y RESULTADOS.

Con el objeto de llevar a cabo una mejor fermentación - en la que no hubiera formación de productos indeseables, pero sí, una buena producción de alcohol, se realizaron diferentes experimentos que consistieron en lo siguiente:

1o.- Se seleccionó una de tres diferentes razas de microorganismos 3.1.1.A, llamados comunmente levaduras; esto fue - con el objeto de observar cuál era la mejor de acuerdo a la - mayor cantidad de alcohol producida por cada una de ellas. - Para llevar a cabo ésta determinación se prosiguió de la si-- guiente forma: una vez aclimatadas las cepas microbianas a - un medio de cultivo sólido y después a un medio líquido ----- (3.1.7.C), se procedió a inocular tres porciones de jugo de - manzana para iniciar el curso de la fermentación, después de - cierto tiempo se cuantificó la cantidad de azúcar consumida - y alcohol producido. De acuerdo al análisis de los resulta-- dos que se presentan en la tabla número 2 se decidió utilizar la levadura Saccharomyces ellipsoideus Var. champagne, ya que fué la mejor productora de alcohol en dicho proceso.

2o.- Debido a que el jugo de manzana constituía un me-- dio de desarrollo no sólo para éste tipo de microorganismos - sino que también para otros, los cuales podrían ser perjudi--

ciales a la fermentación, se recurrió al uso de un antiséptico que no modificara notablemente las cualidades del producto; el más apropiado para tal proceso fue el bisulfito de sodio. Consecuentemente hubo necesidad de acondicionar la cepa microbiana a dicho antiséptico, llevándose a cabo el método descrito en el número 3.1.7.C. Los resultados para dicho experimento se muestran en la tabla número 3.

3o.- Se adicionaron diferentes cantidades de inóculo (5,10,15 y 20%) de levadura al jugo de manzana, con el objeto de ver la cantidad más conveniente para dicha fermentación, observándose que al utilizar un 5% de levadura había escasa producción de alcohol y al elevar las proporciones de ésta a 10% y 15% el alcohol aumentaba notablemente, el hecho de utilizar cantidades elevadas de levadura requiere mayor costo de propagación de ésta por lo que al analizar los resultados de la tabla número 4, se acordó emplear uno de los porcentajes intermedios, los cuales producían cantidades muy semejantes de alcohol, así pues, se eligió un 10%, ya que desde el punto de vista económico resulta más adecuado para una escala mayor.

4o.- Una vez establecida la cantidad de bisulfito de sodio y la cantidad de levadura, se analizó el efecto que-

podía tener el hecho de adicionar el antiséptico y la levadura en las formas siguientes:

La adición del bisulfito de sodio e inmediatamente después el inóculo de levadura, siendo una forma alternativa la adición del bisulfito de sodio y 24 horas después se agregó el inóculo de levadura. Se observó que cuando la levadura se adicionaba después del tiempo señalado, había un buen desarrollo de la fermentación y la obtención de un mayor contenido de alcohol (tabla No. 4), por lo que se decidió utilizar el segundo método.

RESULTADOS
EN LA
FERMENTACION

TABLA NUM. 1

R E N D I M I E N T O D E J U G O

Muestra Núm	Peso de la muestra (g)	Volúmen de jugo (ml.)
1	250	110
2	250	90
3	250	90

TABLA NUM. 2

SELECCION DE LOS DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA

Levadura	Clave	Volúmen de Levadura (ml)	Volúmen de Jugo de -- Manzana -- Fermentado (ml)	Volúmen -- de alcohol destilado. (ml)	Grado ---- Alcohólico °GL.
<u>S.ellipsoi-</u> <u>deus</u> varie- <u>dad</u> champag ne.	LV6	4.5 ml	90	5.0	13
<u>S.cerevisae</u> utilizada - en destile- ría de mel <u>a</u> zas.	4123	4.5	90	4.5	10
<u>S.cerevisae</u> utilizada - en destile- ría de gra- nos.	4110	4.5	90	3.8	9

TABLA NUM. 3

FERMENTACION DE JUGO DE MANZANA INOCULADA CON 10%
 DE *S.ellipsoideus* variedad Champagne (LV-6) UTILI
 ZANDO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BISULFITO DE -
 SODIO

Concentración de bisulfito- de sodio.	T I E M P O					
	12.H		24 H.		48 H.	
	Glucosa ($\frac{mg}{ml}$)	Alcohol °GL	Glucosa ($\frac{mg}{ml}$)	Alcohol °GL	Glucosa ($\frac{mg}{ml}$)	Alcohol °GL
2	156	0	140	2	105	3.0
4	150	0	130	3.1	100	3.5
6	154	0	115	3.5	102	4.0
8	150	0	110	4.0	90	7.5

TABLA NUM. 4

DETERMINACION DE GLUCOSA Y ALCOHOL EN LA FERMENTACION DE JUGO DE MANZANA ADICIONANDO DIFERENTES CANTIDADES DE LEVADURA Y UNA CONCENTRACION DE BISULFITO DE SODIO EQUIVALENTE A 8 g/Hl

Tiempo de fermentación (H)	Cantidad de levadura (%)	Glucosa (mg/ml)			Grado alcohólico		
		t=0	(H)	t=24	t=0	(H)	t=24
24	5	154		148	0		0
	10	148		142	3.5		4.0
	15	148		148	3.9		5.0
	20	142		146	4.1		6.0
48	5	118		80	3.2		7.4
	10	106		56	4.5		9.0
	15	102		40	4.9		12.0
	20	100		36	5.1		12.0
72	5	98		60	5.0		9.5
	10	48		30	10.0		12.0
	15	48		18	10.0		14.0
	20	44		14	15.0		14.5
96	5	92		54	6.0		10.2
	10	38		24	12.0		13.4
	15	40		2	14.0		14.0
	20	40		0	14.0		14.5
120	5	76		0	7.7		10.2
	10	24		0	13.0		13.0
	15	10		0	13.4		14.0
	20	0		0	14.1		14.5

TABLA NUM. 5

FERMENTACION FINAL DE JUGO DE MANZANA A ESCALA MAYOR

VOLUMEN DE JUGO 8 LITROS

CANTIDAD DE LEVADURA 10%
(INOCULO)

BISULFITO DE SODIO 8 g/Hl

Tiempo de fermentación (H)	Glucosa (mg/ml)	Alcohol (°G.L.)
0	149	0
24	140	4.0
48	80	8.5
72	50	10.0
96	44	13.0
120	10	14.0
144	0	14.1

TABLA NUM. 6

CONSUMO DE AZUCARES DEL JUGO DE MANZANA DURANTE LA FERMENTACION ALCOHOLICA.

Tiempo de fermentación (H.)	Azúcares reductores totales	Alcohol. °G. L.
24	148	4.1
48	130	8.0
72	63	9.0
96	56	10.0
120	38	14.0
144	34	14.9

TABLA NUM. 7

VALORES OBTENIDOS PARA LA CONSTRUCCION DE LA CURVA ESTANDAR DE GLUCOSA.

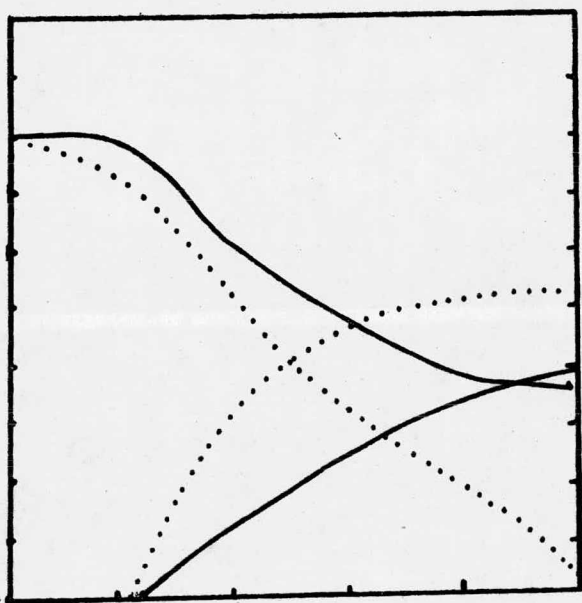
Glucosa (mg)	Tiosulfato de sodio (ml)
1	8.3
2	7.8
3	7.0
4	6.5
5	6.0
6	5.5
7	4.6
8	4.0
9	3.8
10	2.8

TABLA NUM. 8

VALORES OBTENIDOS PARA LA CONSTRUCCION DE LA CURVA ESTANDAR DE SACAROSA.

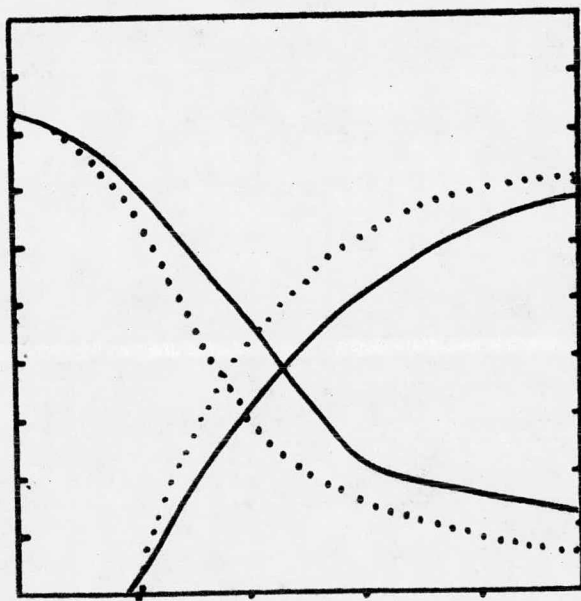
Sacarosa (mg)	Tiosulfato de sodio (ml)
1	7.8
2	7.6
3	6.7
4	5.0
5	4.8
6	4.5
7	3.8
8	2.7
9	2.6
10	1.0

GRAFICAS QUE MUESTRAN EL CONSUMO
DE GLUCOSA Y LA PRODUCCION DE --
ALCOHOL PARA LOS VALORES REPORTADOS
EN LA TABLA NUM. 4



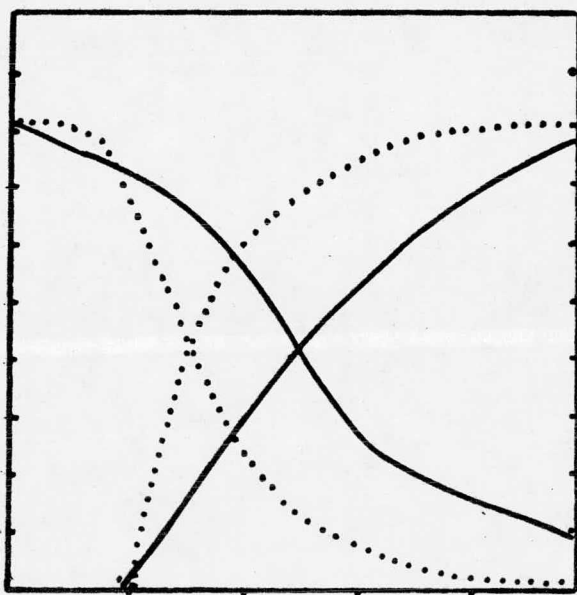
..... t= 24 horas ; 5% de inculo

———— t= 0 horas ; 5% de inculo



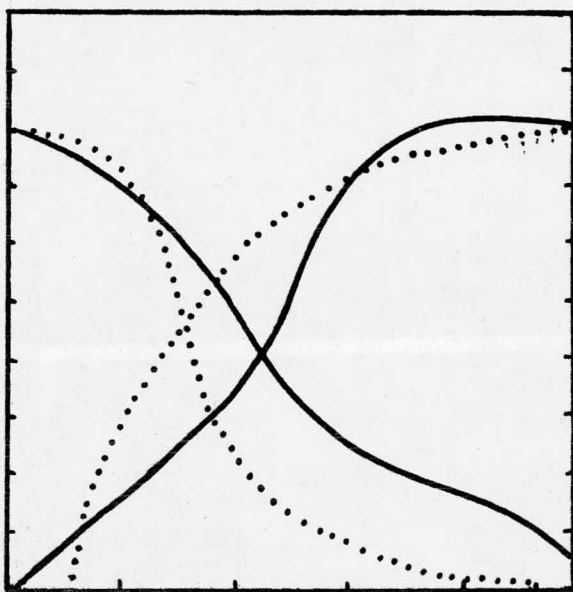
..... $t = 24$ horas ; 10% de inoculo

———— $t = 0$ horas ; 10% de inoculo



..... t= 24 horas ; 15 % de inóculo

———— t= 0 horas ; 15 % de inóculo



....., $t = 24$ horas ; 20 % inoculo

—————, $t = 0$ horas ; 20 % inoculo

RESULTADOS
DE LA
DESTILACION

Para la obtención del destilado de manzana o calvados se destilaron muestras de jugo de manzana fermentado en el Laboratorio de Microbiología y en Huejotzingo, éstos junto con las muestras procedentes de Francia, se analizaron utilizando el método de cromatografía de gases descrito en el Capítulo Núm. 3, los resultados para dichos análisis se muestran en la tabla Núm. 9; en donde aparecen los porcentajes relativos de sus diferentes componentes. Los cuales se -- obtuvieron de las gráficas correspondientes a los cromatogramas Figs (20-33). los porcentajes relativos se determinaron calculando el área para los componentes en cada -- cromatograma, sumando el área de todos los compuestos para cada una de las destilaciones y dividiendo el área de cada componente entre el área total y multiplicando el cociente por 100.

En los cromatogramas se identificaron compuestos volátiles correspondientes a las cabezas (acetaldehído y acetato de etilo), el alcohol correspondió al corte denominado corazón mientras que la fracción denominada colas correspondía a los aceites de Fusel (isobutanol y alcohol isoamílico).

Los resultados observados en la tabla (9) fueron los siguientes: Los compuestos volátiles se encontraron en ma-

por proporción en los destilados de Huejotzingo que los obtenidos en el Laboratorio de Microbiología y los de origen francés. El contenido de alcohol fué un tanto mayor en el destilado obtenido en el Laboratorio que en el destilado originario de Francia y bastante superior al producto que se obtiene en Huejotzingo. Los aceites Fusel se encontraron en mayor proporción en los destilados obtenidos en el Laboratorio que en los de Francia y Huejotzingo. Todo lo anterior indica que el tiempo en que se realiza el corte en la destilación de una fracción a otra es determinante ya que si se hace rápidamente se pueden obtener cantidades considerables de compuestos volátiles en el corte de la fracción llamada corazón y si el corte de la tercera fracción denominada colas no se hace a tiempo se pueden arrastrar compuestos pesados llamados aceites Fusel, si las cantidades de compuestos volátiles son elevadas la calidad del producto será afectada.

La destilación se realizó con tres diferentes condiciones de calentamiento siendo: 0.33, 0.53 y 0.67 Kg/cm², observándose durante este proceso que el valor intermedio permitía diferenciar los cortes de cada fracción. Las condiciones de operación como gasto de vapor, gasto de agua de enfriamiento, temperatura de entrada y salida de ésta se encuentran reportados en la tabla Núm. 10.

A continuación se presentan los resultados de los análisis cromatográficos efectuados a las diferentes muestras:

Los componentes identificados fueron:

- a) Acetaldehído
- b) Acetato de etilo
- c) Etanol
- d) n-propanol
- e) Isobutanol
- f) Isoamílico

Condiciones de operación:

Volúmen de la muestra: 3 ml

Columna: 20% carbowax 20 M T P H chromosorb W MCS
80/100 5 pgd x 1/8 pgd acero inoxidable.

Temperatura: detector e inyector 110°C; columna: ---
50°C isotérmico

Flujo: N₂ 25 ml/ min.

TABLA NUM. 9

TABLA QUE MUESTRA EL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA DIFERENTES MUESTRAS DE DESTILADOS.

Análisis del destilado #	Origen del destilado	Contenido de acetaldehído	Acetato de etilo (%)	Etanol (%)	n-propanol (%)	Isobutanol (%)	Isoamílico (%)
1	Francia	0	8.9	76	5.2	1	8.7
2	Francia (Casero)	3.2	15.5	74.2	2.2	0.5	4.1
3	Francia (Lancelot)	0.4	21.8	62	0.2	1.0	14.4
4	Laboratorio Fac. Química	1.9	9.1	65.8	0	1.5	21.7
5	Laboratorio Fac. Química	3.1	30.7	52.2	0	0	13.8
6	Laboratorio Fac. Química	1.2	2.1	95.6	0	0	1.0
7	Huejotzingo (Puebla)	28.3	36.5	14.1	1.7	2.3	16.8
8	Huejotzingo (Puebla)	11.4	44.7	20.2	1.0	2.1	20.2
9	Huejotzingo (Puebla)	11.1	19.2	63	0.7	0.6	5.2
10	Huejotzingo (Puebla)	9.0	22.5	56.6	0.3	2.0	11.2
11	Huejotzingo (Puebla)	16.0	10.8	65.1	0.1	0.9	6.8
12	Huejotzingo (Puebla)	6.2	12.5	72.4	0.2	2.7	5.6
13	Huejotzingo (Puebla)	0.7	25.1	66.4	0.1	0.7	6.7
14	Huejotzingo (Puebla)	0.4	76.1	18.8	0.3	0.6	3.5

TABLA NUM. 9-A

VALORES DE ACIDEZ PARA LOS DIFERENTES DESTILADOS (mg/1)

Destilado Núm.	Acidez Volátil (como Ac. acético)	Acidez total (Ac. Tartárico)
1	0.33	0.515
2	0.34	0.54
3	0.43	0.64
4	0.48	0.57
5	0.47	0.51
6	0.31	0.63
7	1.7	0.68
8	1.58	0.70
9	1.49	0.58
10	1.61	0.53
11	1.59	0.57
12	1.43	0.60
13	1.48	0.63
14	1.46	0.61

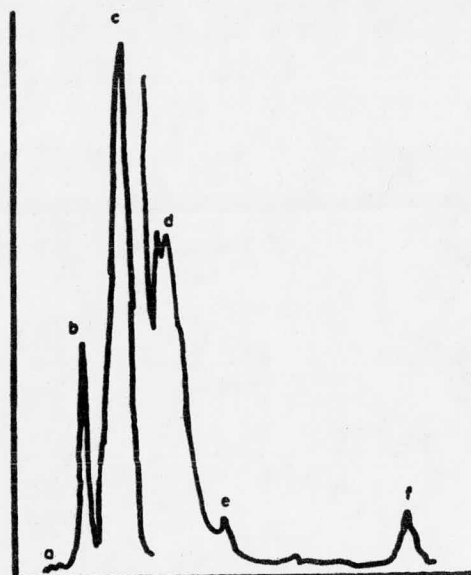


FIG. 13

Destilado francés que se produce
a nivel industrial

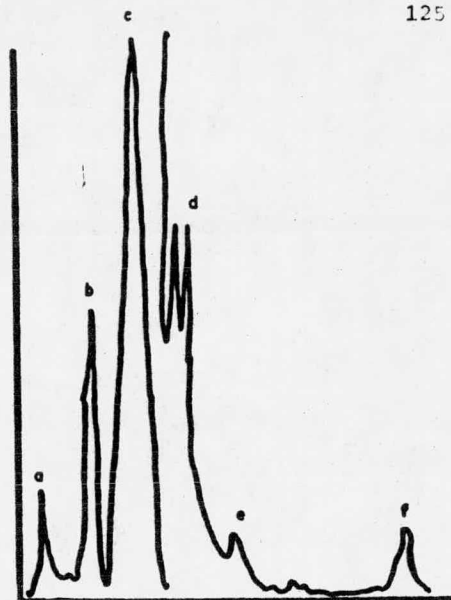


FIG. 14

Componentes del destilado francés
producido a nivel casero

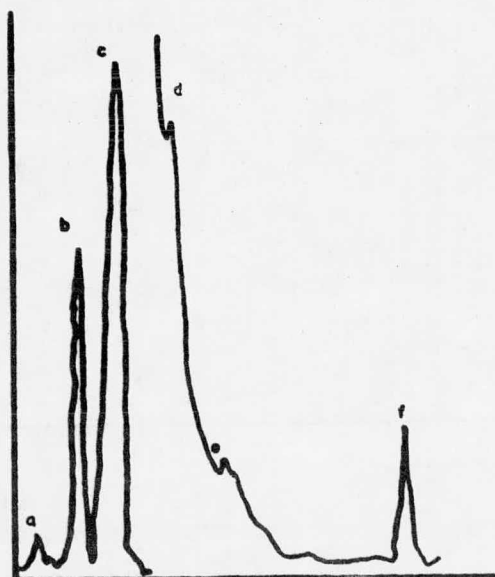


FIG. 15

destilado francés producido a nivel industrial
(Lancet)

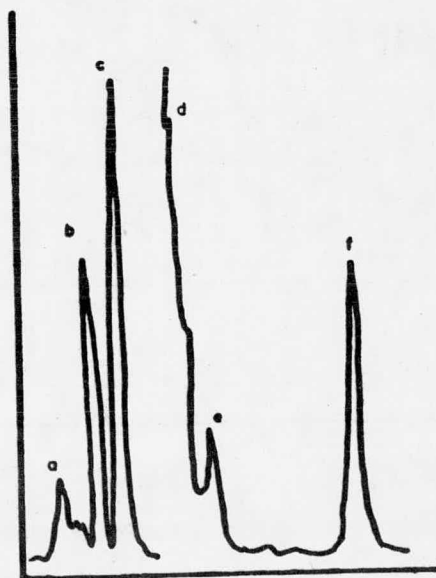


FIG. 16

Destilado que se obtuvo en el laboratorio
de Ingeniería Química (fracción cabezas)

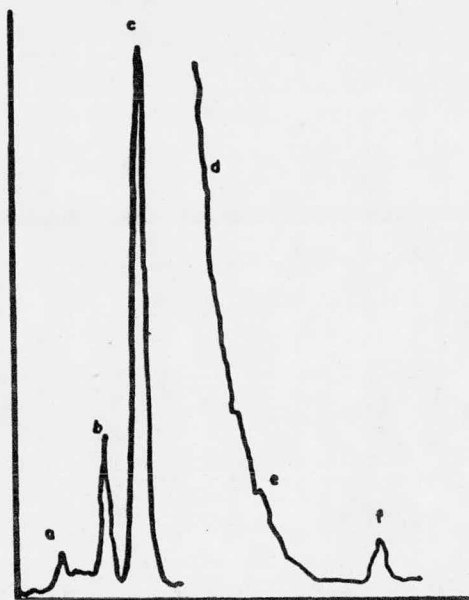


FIG. 17

Destilado obtenido en el laboratorio de
Ingeniería Química (fracción corazón)

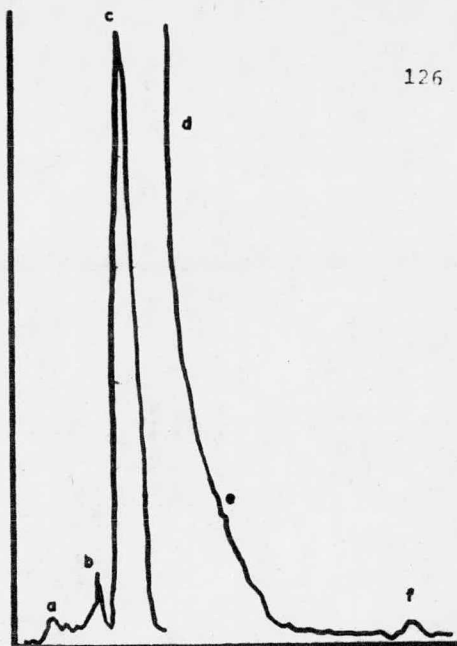


FIG. 18

Destilado que se obtuvo en el laboratorio de
Ingeniería Química (fracción colas)



FIG. 19

Destilado de sidra proveniente de
Huejotzingo, Puebla. (No.7 de la tabla 9)

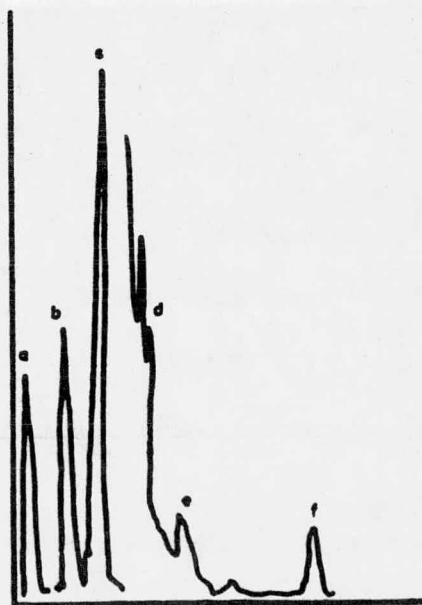


FIG. 20

Destilado de sidra
(Huejotzingo, Puebla) No.8 de la tabla 9

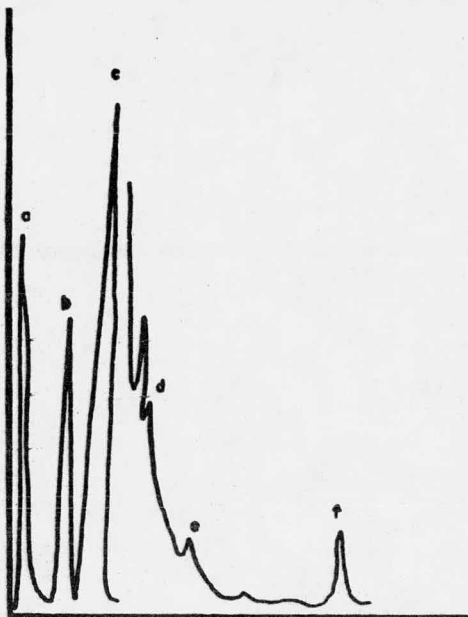


FIG. 21

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)
muestra No 9 de la tabla 9

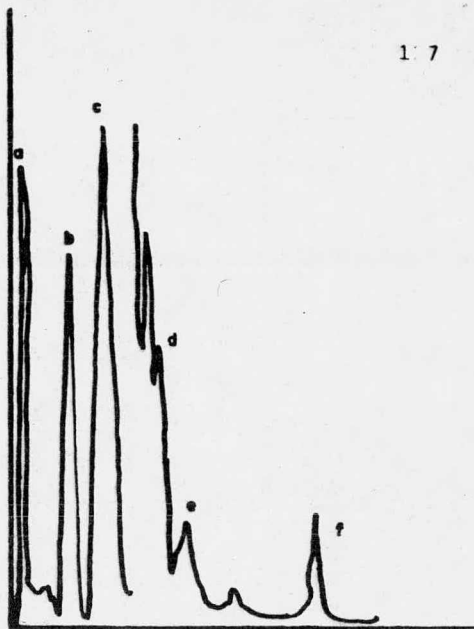


FIG. 22

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)
muestra No 10 de la tabla 9



FIG. 23

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)
muestra 11 de la tabla 9



FIG. 24

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)
muestra No 12 de la tabla 9

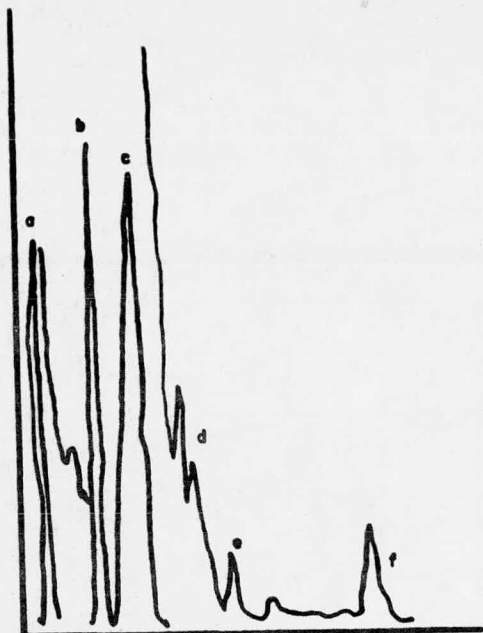


FIG. 25

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)

muestra No 13 de la tabla 9

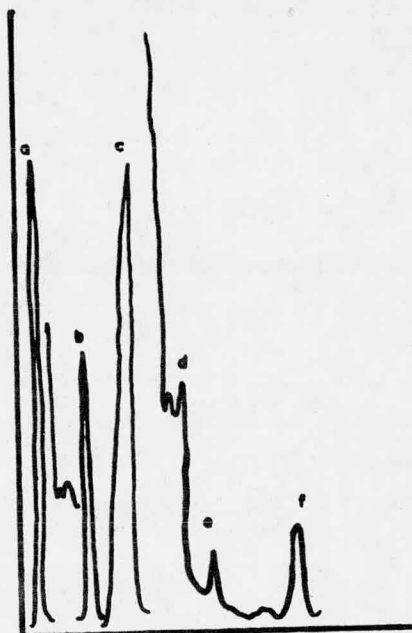


FIG. 26

Destilado de sidra (Huejotzingo, Pue.)

muestra No 14 de la tabla 9

TABLA NO. 10 QUE MUESTRA LAS CONDICIONES DE OPERACION PARA LA DESTILACION.

Destilado - Núm.	Origen del- Jugo de Man- zana Ferme- ntado.	Alimenta- ción (1).	Concentra- ción de -- etanol en- la alimen- tación. - (X) F	Volúmen destila- do. (1)	Concentra- ción de -- etanol en- el destila- do. X D	Residuos (B)	Concentra- ción de -- los resi- duos X B	Presión de va- por de calenta- miento. (Kg/cm ²)	Gasto de va- por - (g/seg)	Gasto vo- lumétrico del - agua de enfria- miento - (conden- sador). - l/seg	Temp. de entrada- del agua de en- fría- miento. (°C)	Temp. de salida - del agua de enfria- miento. (°C).
1	Huejotzingo	6	0.1	0.6	0.3	5.3	0.06	0.67	0.83	0.06	19	28
2	Huejotzingo	6	0.1	0.5	0.35	5.2	0.083	0.67	3.6	0.062	15	26
3	Huejotzingo	6	0.1	0.6	0.3	5.3	0.058	0.67	2.8	0.0625	18	28
4	Huejotzingo	6	0.1	0.4	0.37	5.4	0.08	0.67	2.4	0.0625	16	28
5	Huejotzingo	6	0.1	0.32	0.36	5.5	0.08	0.67	2.41	0.062	16	28
6	Huejotzingo	6	0.1	0.256	0.38	5.5	0.08	0.33	2.0	0.062	16	25
7	Huejotzingo	6	0.01	0.3	0.34	5.6	0.09	0.53	2.5	0.0625	16	25
8	Laboratorio de Microbio- logia	6	0.14	0.64	0.39	5.1	0.09	0.53	2.4	0.0624	17	28
9	Laboratorio de Microbio- logia	7	0.08	0.4	0.37	6.5	0.06	0.53	1.7	0.0624	16	28

BALANCE DE ENERGIA EN LA TORRE DE DESTILACION

a) En el condensador

Volúmen medido de agua (l)	Tiempo de medición (h)	Densidad (Kg/l)	Gasto másico W= Kg/H	Temperaturas °C Entrada : Salida.		Calor absorbido Q= Wcp t K cal/hora.
0.250	0.00111	1	225	16	25	2025

El gasto de agua W se obtuvo de la siguiente forma:

Se midió un volúmen de agua de 250 mililitros y se tomó el tiempo necesario para alcanzar este volúmen, el cual fué de 4 segundos. Además conociendo la densidad del --- agua se procedió al cálculo del gasto de agua.

TABLA QUE MUESTRA LA CANTIDAD DE CALOR QUE SE REQUIERE PARA LLEVAR A CABO LA
DESTILACION

b) calor intercambiado en el calorímetro

Vapor condensado. (l)	Tiempo en que se condensa. (h)	Densidad (kg/l)	Gasto de vapor -- V (Kg/h)	Calor latente de vaporización . K cal/Kg.	Calor - cedido Q=W
0.250	0.028	1	8.91	534	4757

c) La diferencia entre el calor cedido por el vapor de calentamiento y el calor removido por el agua de enfriamiento da el calor estrictamente necesario para calentar y evaporar la mezcla líquida que se desea separar, si se considera que no hay pérdidas de calor:

$$Q_p = Q_V - Q_R$$

- Q_p = Calor necesario para evaporar la mezcla
- Q_V = Calor cedido por el vapor de calentamiento
- Q_R = Calor removido en el condensador
- Q_p = (4757 - 2025) Kcal/hr = 2732 Kcal/hora

5.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

Haciendo un análisis comparativo entre la sidra que se obtiene en Huejotzingo y el producto obtenido en el Laboratorio, se observó que los resultados de este último fueron satisfactorios ya que se mejoró el rendimiento alcohólico.

Por otro lado las cantidades de ácido acético contenidas en la sidra son mayores, debido a que la fermentación llevada a cabo en Huejotzingo se realiza en forma natural - lo que favorece el desarrollo de microorganismos extraños - que dan lugar a la formación de otros subproductos tales como el acetaldehído, acetato de etilo, alcohol isoamílico -- etc., los cuales presentan efectos tóxicos si se encuentran en cantidades elevadas.

En el caso del acetaldehído es producido por levaduras del género *Brettanomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, las cuales oxidan el alcohol para producir acetaldehído. Con respecto al ácido acético, este es formado por bacterias del género *Acetobacter* y levaduras del género *Pichia* que se encuentran en los medios fermentables.

Con el objeto de atenuar la presencia de estos compuestos, principalmente la de acetaldehído y ácido acético, se sugiere considerar los siguientes aspectos.

Debido a que los microorganismos perjudiciales a la fermentación son de naturaleza aeróbica, es posible evitar su - desarrollo y por consiguiente la producción de compuestos in deseables, controlando la cantidad de oxígeno . Asimismo es recomendable el uso de antisépticos y conservativos.

Otra forma de mejorar la fermentación es utilizando téc nicas sencillas de selección, acondicionamiento y propaga--- ción de cepas de levaduras.

Con respecto a la destilación, los resultados obtenidos fueron de carácter cualitativo ya que el equipo utilizado -- para realizar tal operación carecía de los elementos necesarios para obtener las variables requeridas para efectuar un análisis de la columna y el cálculo del equipo a escala ma-- yor. Estas deficiencias eran principalmente la falta de un - rotámetro para medir el líquido que salía como destilado, -- así como la disposición del condensador , ya que éste no podía ser utilizado por su mismo diseño como condensador abierto.

Sin embargo, se obtuvieron destilados cuya composición comparada con las muestras de destilado francés presentaron - características , si no, iguales bastante similares . en los análisis cromatográficos se observó que los destilados obtenidos en el Laboratorio contenían mayor proporción de compues--

tos volátiles, que las muestras de tipo francés , lo que dió -
propiedades organolépticas algo diferentes, probablemente se -
debió al tiempo de corte entre la fracción de cabezas y la -
fracción de corazón , así como la falta de añejamiento del pro-
ducto destilado, proceso durante el cual se pierden compuestos
volátiles y se extraen otros de la madera de los barriles de -
añejamiento.

6.- BIBLIOGRAFIA

- 6.1 Amerine, M. 1960. The Thechnology of Wine Making, -- pp. 163-205; 534-563, The Avi Publishing, New York.
- 6.2 A.O.A.C. 1970. Methods of Analisis of the Association of Office Analitical Chemists, pp. 152-159; 194-202, Washington.
- 6.3 Cruess, W.V. 1947. The Principles and Practice of -- Wine Making, pp. 282-291; 397-435, The Avi Publishing Co. INC. New York.
- 6.4 Foust A.S. et al. 1969. Principios de Operaciones Uni-
tarias, pp. 109-115, Continental, Argentina Buenos
Aires.
- 6.5 Frazier W.C. 1972. Microbiología de los Alimentos -- pp. 36-40; 200-205, Acribia, Zaragoza España.
- 6.6 Haehn, H. 1956. Bioquímica de las Fermentaciones, -- pp.119-126, Aguilar , Zaragoza España.
- 6.7 Jorgensen, A.P. 1959. Microbiología de las Fermenta-
ciones , pp. 95-120, Acribia, Zaragoza España.

- 6.8 King, J.C. 1974. Separation Process pp. 106-108; 249-255 , Mc. Graw Hill Publishing Co. LTD, Nueva Delhi.
- 6.9 Krell, E. 1963. Hand Book of Laboratory Distillation, pp.34-86, Elsevier Publishing Co. , Amsterdam.
- 6.10 Magistochi, G. 1959. Tratado de Enología, pp. 101-271, Ateneo, Buenos Aires Argentina.
- 6.11 Ludwig, E. 1964 . Applied Process Design for Chemical and Petrochemical Plants, pp. 1-19, Gulf Publishing Co. Houston, Texas.
- 6.12 Mc. Cabe, W. and Smith, J. 1968. Operaciones Básicas - de Ingeniería Química, pp. 665-704, Reberté, Barcelona España.
- 6.13 Mandelstam, and Mc. Quillen . Biochemistry of Bacterial Growth, pp. 160-170,
- 6.14 Ocon, E. y Tojo, M. 1970. Problemas de Ingeniería Quí mica, pp. 280-293, Aguilar, Madrid España.
- 6.15 Perry, R. and Chilton, C. 1973. Chemical Engineers -- Handbook, pp. 18-26, C. 13, Mc. Graw-Hill, Japón.

- 6.16 Prescott, S.C. 1959. Industrial Microbiology, pp.180-192, Mc. Graw-Hill, New York.
- 6.17 Ribereau, G. J. 1962. Análisis de Vinos, pp. 42-61, - Aguilar, Madrid España.
- 6.18 Solomons, G. L. 1969. Materials and Methods in Fermentations, pp. 115-131, The White Friars Press LTD, -- London.
- 6.19 Treybal, R.E. 1970. Operaciones con Transferencia de Masa, pp. 328-356; 326-355. Hispano Americana, Buenos Aires.
- 6.20 Underkofler, L.A. and Guymon, L.P. 1943. Semicromethod for the Determination of Reducing Sugars in Fermentation Media J. Sci. 17; 251-256, Iowa State Coll -- E.U.A.
- 6.21 Underkofler, L.A. 1955. Industrial Fermentations I , pp. 97-114 , Chemical Publishing Inc. New York.
- 6.22 Vian, A. Ocon, J. 1976. Elementos de Ingeniería Química, pp. 652-656; 615-633, Aguilar España.
- 6.23 Vogel I. Arthur. 1960. Química Analítica Cuantitativa pp. 457-462, Kapelusz, Buenos Aires.

- 6.24 Willard, H. et al. 1965. Métodos Instrumentales de --
Análisis, pp. 703 - 710, Continental, Buenos Aires
Argentina.

I N D I C E

CAPITULO	PAG.
1	3
INTRODUCCION	
2	6
GENERALIDADES	
2.1	7
Fermentación alcohólica	
2.1.1	9
Microorganismos que intervienen	
2.1.2	10
Factores que la afectan	
2.1.3	32
Mecanismo químico de la fermentación	
2.1.4	38
Principales constituyentes	
2.1.5	40
Destilación	
3	60
MATERIALES Y METODOS	
3.1.	61
En la fermentación	
3.1.1	63
Material biológico	
3.1.2	63
Material químico	
3.1.3	64
Material de laboratorio	
3.1.4	64
Aparatos y equipo	
3.1.5	65
Esterilización de medios y materiales	
3.1.6	67
Preparación de medios de cultivo	
3.1.7	69
Metodología empleada para el desarrollo de le- vaduras	
3.1.8	75
Preparación de jugo	
3.1.9	76
Método de fermentación	
3.1.10	80
Métodos químicos	
3.2	90
En el proceso de la destilación	
3.2.1	90
Material biológico	
3.2.2	91
Equipo utilizado	
3.2.3	92
Método de destilación	
3.2.4	98
Método para cuantificar el alcohol en el des- tilado	
3.2.5	99
Método de análisis cromatográfico	
4	101
EXPERIMENTACION Y RESULTADOS	
Tabla 1	105
Rendimiento de jugo	
Tabla 2	106
Selección del tipo de levadura	
Tabla 3	107
Fermentación con diferentes cantida- des de bisulfito	
Tabla 4	108
Adición de inóculo y bisulfito en di- ferentes tiempos	
Tabla 5	109
Fermentación de jugo de manzana	
Tabla 6	110
Consumo de glucosa y producción de -- alcohol durante la fermentación	
Tabla 7	111
Curva estandar de glucosa	

CAPITULO	PAG
Tabla 8 Curva de sacarosa	112
Tabla 8-A Acidez	113
Curvas de consumo de glucosa y producción de alcohol	114
Resultados en la destilación	120
Tabla 9 Análisis cromatográfico	123
Tabla 10 Condiciones de operación en la columna	128
Balance de energía para la torre de destilación	129
5 DISCUSION Y CONCLUSIONES	130