

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO DE VIABILIDAD PARA LA PRODUCCION DE PROTEINAS UNICELULARES A PARTIR DE DESECHOS CELULOSICOS

T E S I S

Que Para Obtener el Título de
INGENIERO QUIMICO
P r e s e n t a n

MA. DEL PILAR CAMPOS CASTILLO
MARIANO GUTIERREZ ROJAS

1 9 7 7



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

CLAS Tesis 1977
ADQ M- 68
FECHA _____
PROC _____
S _____



QUÍMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	NINFA GUERRERO DE CALLEJAS
VOCAL	RUBEN BERRA GARCIA - COSS
SECRETARIO	ALFONSO FRANYUTTI ALTAMIRANO
1er. SUPLENTE	JOSE FCO. GUERRA RECASENS
2º SUPLENTE	LUIS RAUL TOVAR GALVEZ

NOMBRE DE LOS SUSTENTANTES:

Ma. Del Pilar Campos Castillo

Mariano Gutiérrez Rojas

NOMBRE DEL ASESOR DEL TEMA

Rubén Berra García - Coss

A NUESTROS PADRES

A NUESTRA UNIVERSIDAD

I N D I C E

	PAG.
CAPITULO I	
- Objetivos	1
CAPITULO II.- GENERALIDADES	
- Características y definiciones fundamentales	4
- Procesos actuales	10
- Fundamentos bioquímicos del proceso	32
NO. 7 - Cinética de la hidrólisis	41
CAPITULO III	
- Selección del sustrato	49
NO. 20 x - Tamaño y localización de la planta	64
- Selección del microorganismo hidrolizador de celulosa	71
- Selección del microorganismo productor de proteínas	73
- Ingeniería del proceso	75
CAPITULO IV.- ESTIMACION DE COSTOS	
- Inversión fija requerida y Capital de trabajo	99
- Costos fijos y costos variables	109
- Rentabilidad	116
CAPITULO V.- CONCLUSIONES	119
CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA	122

CAPITULO I

OBJETIVOS

El objetivo fundamental de este trabajo es el de analizar las posibilidades de una nueva y diferente forma de producción de proteínas en México. Este estudio se fundamenta en la teoría y experimentación que hasta la fecha se han realizado en otros países más industrializados, por lo que se hace necesario buscar y adaptar la tecnología para el caso particular.

La producción de estas proteínas requiere de materias primas que necesariamente son desechos, ricos en celulosa y de precio muy bajo o casi nulo, que por otro lado, no tienen ningun aprovechamiento y que además constituyen serios problemas de contaminación. Por lo general estos desechos se encuentran en la agricultura, aunque también es posible encontrarlos en la industria o desperdicios de las ciudades mismas.

Algunos de estos desperdicios se han venido utilizando como forrajes para rumiantes; animales capaces de metabolizar facilmente la celulosa, pectinas y azucares contenidos en estos materiales; sin embargo además de estos constituyentes, los desechos mencionados presentan en su composición lignina, la cual no sólo no es digerible, inclusive para este tipo de animales, sino también afecta la digestión correcta de los otros materiales celulósicos. Para los animales monogástricos el problema es más serio,

ya que no metabolizan ningun tipo de fibras celulósicas, sino -- que requieren de la ingestión directa de proteínas. Debido a és to, este trabajo se orienta hacia la adaptación de esta nueva -- tecnología que consiste fundamentalmente en aprovechar la capa cidad de ciertos microorganismos para transformar carbohidratos -- en proteínas asimilables. Por consiguiente, la producción de -- proteínas unicelulares se encamina básicamente al consumo animal, siempre con la posibilidad latente de que en un futuro el hombre introduzca estas proteínas en su dieta diaria.

Aunque las proteínas convencionales de origen animal sean insus tituibles en cuanto a su valor nutricional, vale la pena conside rar la posibilidad de enriquecer los alimentos comunmente consu midos por el pueblo mexicano, tales como: sopas, tortillas, pan, embutidos y cereales entre otros, aumentando con ésto su conteni do de proteínas, naturalmente a bajo costo, para que resulten -- accesibles a los sectores de la población menos favorecidos. La adquisición de proteínas animales representa en la actualidad un serio problema que tal vez se deba a la desmedida especulación -- de que se hace objeto a los alimentos básicos, promovida por --- fuertes intereses, ésto aunado al bajo poder adquisitivo y a pro cesos inflacionarios, haciendo más crítica la situación, como con secuencia el pueblo se ve obligado a sustituir la ingestión de -- proteínas por carbohidratos, los cuales pueden estar a su alcan ce, pero su valor nutricional es casi nulo. El resultado es ob -

vio; desnutrición.

Para dar una idea más clara y completa de los objetivos de este trabajo, a continuación se enumeran:

- 1.- Analizar la posibilidad de producción de proteínas no convencionales, de bajo costo, para consumo animal.
- 2.- Proponer una proteína para animales monogástricos concretamente, incapaces de asimilar fibras celulósicas directamente y en última instancia, al alimentar ganado obtener más y mejores proteínas animales, para alimentar humanos.
- 3.- Evaluar los diferentes procesos existentes para la producción en volúmenes elevados y adaptar el más adecuado para nuestro país. Este proceso deberá ser económico, además de versátil para procesar más de una materia prima similar.
- 4.- Emplear materiales de desecho que hasta ahora no se les ha encontrado alguna utilidad y si representan serios problemas de contaminación.
- 5.- Considerar la posibilidad de que frente a una carestía de -- proteínas convencionales, este tipo de sustancias puede utilizarse para consumo humano, ya sea adicionandolos a los alimentos procesados ó por ingestión directa.

C A P I T U L O I I

GENERALIDADES

1.- Características y definiciones fundamentales.

Se mencionó que en los países industrializados se han venido haciendo estudios sobre las proteínas no convencionales las cuales se derivan de microorganismos tales como: hongos, levaduras y -- bacterias, que se pueden desarrollar en sustancias tales como: -- derivados del petróleo ó desechos ricos en celulosa urbanos o rurales.

Estas proteínas de origen microbiano, las definió, por primera vez. Carrol Wilson, del Instituto Tecnológico de Massachusets en 1966 como proteínas unicelulares (SINGLE CELL PROTEINS) evitando, con este nombre, traer a la mente "microbios nutritivos", que se rían rechazados de inmediato, por sus posibles consumidores.

Ya desde la época de la primera y segunda guerra mundial, los alemanes fermentaron aerobicamente en desechos de madera, una levadura de la especie *Torula*, con la finalidad de alimentar seres humanos. Sólo hasta 1973 esta idea tomó auge. En la actualidad existen grandes plantas instaladas en el mundo que ya producen proteínas unicelulares de variados sustratos. (1)

La calidad y el valor nutricional de estas proteínas son indiscutibles, y aunque no puedan competir con las proteínas convencionales de origen animal, si reúnen un gran número de característi

cas que las hacen atractivas para consumo animal, algunas de estas características se enuncian a continuación:

a) Composición.- Deberán contener un mínimo de un 50% de proteína cruda como factor determinante en su calidad. Además de otros componentes como: carbohidratos, grasas, cenizas, humedad, fósforo y potasio. (4)

b) Valor Nutricional.- Para describir esta característica, el cuadro No. 1 muestra los porcentajes de aminoácidos presentes en -- proteínas tanto convencionales como unicelulares. Este cuadro, -- presenta además índices nutricionales de diferentes alimentos, a -- manera de comparación.

Para comprender el cuadro No. 1, se definen los siguientes conceptos:

.Valor biológico (VB).- Es la proporción de nitrógeno absorbido que queda retenido en el organismo, para el sostenimiento, crecimiento ó para ambos.

.Digestibilidad (D).- Es la proporción de nitrógeno contenido en el alimento que puede quedar absorbido por el organismo que lo consume.

.Utilización Neta de las proteínas (UNP).- Es la proporción de nitrógeno consumido que se suministra y que queda retenido en el organismo, es decir es el producto del Valor biológico por la digestibilidad.

.Relación de eficiencia de las proteínas (REP).- Es el aumento -

PROTEINA	§ DE PROT. B.S.	Gramos de Aminoácidos / 100 g. de proteína presente											
		VB	D	UNP	REP	TREONI- NA	VALINA	LEUCINA	ISOLEU- CINA	LISINA	METIONI- NA	FENILALA- NINA	TRIPTO- FANO
Levadura en desecho celulósico	50	73	84.8	27	-	5.5	4.5	7.3	6.0	4.3	7.0	1.5	1.3
Hongos en Carbohi- dratos	48	-	-	-	2.3	4.0	5.6	5.1	3.1	5.1	1.1	12.1	1.0
Levaduras en n. pa- rafinas	60	-	80	-	-	4.9	5.9	7.4	5.1	7.4	1.8	4.3	1.4
Levaduras en --- etanol	45	73	-	-	1.7	5.3	6.2	8.0	7.0	7.9	1.4	5.0	1.3
Alga Espirulina	60	73	83	61	2.8	5.0	6.5	9.9	5.8	5.0	2.5	4.6	1.6
Huevos enteros	48	94	97	94	3.9	4.9	7.0	9.0	6.2	6.1	3.2	5.6	1.1
Leche entera	29	85	97	81	3.1	4.6	7.1	12.1	6.7	7.4	2.8	5.5	1.4
Carne de res	46	76	99	63	2.3	4.4	5.1	7.8	5.2	8.6	2.7	8.9	1.0
Harina de soya	50	75	-	-	2.2	3.9	5.3	8.0	6.0	6.8	1.7	5.3	1.4
Harina de pescado	60	81	94	66	3.4	5.1	6.1	9.6	5.6	9.5	3.9	4.9	0.9
Maíz entero	11	60	90	52.0	1.41	3.7	5.7	15.0	6.4	2.3	3.1	5.0	0.6

Cuadro No. 1.- Análisis nutricional comparativo entre proteínas unicelulares y proteínas convencionales (20,35,36,37 y 38)

VB = Valor Biológico
D = Digestibilidad
UNP = Utilización neta de las proteínas
REP = Relación de eficiencia de las proteínas

de peso corporal dividido entre el peso de proteínas consumidas.

c) Factibilidad de reproducción.- La velocidad de reproducción de las proteínas unicelulares, es la más alta conocida actualmente, de aquí que la preparación para su consumo sea también rápida. Humprey A.E. (1) estudió la velocidad de reproducción de algunas proteínas y estableció comparaciones, notandose una diferencia notable. Cuadro No. II.

d) Rápida experimentación genética.- Con estas proteínas, se pueden obtener nuevas cepas mutantes, con mejores características nutricionales, tales como: aminoácidos específicos, mayor cantidad de proteína asimilable, paredes celulares digeribles, menor toxicidad y mayor velocidad de reproducción.

e) Condiciones en las cuales se desarrollan.- Las condiciones para su desarrollo, van a estar sujetas al microorganismo productor y estarán limitadas por el proceso específico que se selecciona, pero nunca dependerán de las condiciones climatológicas, que son incontrolables, o bien de extensiones territoriales como ocurre con la agricultura o la ganadería. Con respecto a este último punto, algunos autores (2), (3), han calculado cifras que relacionan la masa de proteínas producidas por unidad de área, para el mismo período de producción. El cuadro No. III muestra algunas de estas cifras.

f) Sustratos en los cuales se desarrollan.- Las proteínas unicelulares pueden desarrollarse en los sustratos de origen más ver-

P R O T E I N A	TIEMPO PARA DUPLICAR SU MASA
PROTEINAS UNICELULARES	2 - 4 horas
HIERBAS Y PLANTAS	1 - 2 semanas
AVES DE CORRAL	2 - 4 semanas
GANADO PORCINO	4 - 6 semanas
GANADO OVINO	1 - 2 meses

Tabla 6
 CUADRO II.- Tiempo requerido por algunas proteínas -
 para duplicar su propio peso.

P R O T E I N A	<u>Kg de proteína base seca</u> Hectárea x año
PROTEINAS UNICELULARES	3 000 000
ESPIRULINA (Sosa Texcoco)	15 000
PROTEINA DE ALFALFA	2 700
PROTEINA DE SORGO	2 300
PROTEINA DE MAIZ	750
PROTEINA DE SOYA	480
PROTEINA DE TRIGO	450
PROTEINA DE ARROZ	225
PROTEINA DE CARNE DE RES	48

Tabla 7.
 CUADRO III.- Analisis comparativo entre los volúmenes de producción por unidad de área para el mismo período de tiempo para diferentes - proteínas.

sátil, que van desde derivados del petróleo, hasta los desechos problemáticos, sin utilización y sin valor comercial.

Todas estas características y ventajas, conducen a concluir que las proteínas unicelulares representan una magnífica fuente de alimentación animal, que no está sujeta a otros factores, a los que si están supeditadas las proteínas convencionales, tales como climas propicios, grandes extensiones de tierra e inclusive problemas de orden económico y político.

Sin embargo, si se requieren grandes y costosas instalaciones fabriles para su elaboración.)

2.- Procesos actuales

Los diferentes procesos que se han desarrollado difieren fundamentalmente uno de otro en el microorganismo y sustrato que utilizan.

Existe una amplia gama de sustratos utilizables en la fermentación de microorganismos. El Cuadro ^{Espejo} No. IV muestra estos posibles microorganismos y sustratos viables, estableciendo una comparación entre los derivados del petróleo y aquellos de origen rural o urbano, que contienen en su composición un alto porcentaje de carbohidratos.

a) Derivados del petróleo.- Silver y Wong (5), mencionan que estos sustratos están limitados sólo para aquellos microorganismos capaces de asimilar carbono a partir de hidrocarburos, o bien pa-

ra aquellos que han sido adaptados, esto es, han mutado capaci--
tandolos para aprovechar sustratos desfavorables y especiales, -
en este grupo de microorganismos se incluyen: hongos, levaduras-
y bacterias.

Por otro lado Mc. Lenan y Col. (6) encuentran dificultades, so--
bre todo en la recuperación de proteínas de los solventes en que
se desarrollan estos microorganismos. Generalmente estas fermen-
taciones son de tipo aeróbico, por lo que gran parte de los sol-
ventes utilizados como sustratos se pierden en la atmósfera du--
rante el proceso, asimismo la fracción residual no asimilada.

Los equipos requeridos son sumamente costosos, además su tecnolo-
gía es avanzada y de carácter riesgoso. Aunado a ésto se tiene-
el problema específico de que en México la industria petroquími-
ca no está lo suficientemente desarrollada como para cubrir la -
demanda nacional de productos básicos, por lo que resultaría - -
irrational destinar estos productos a un uso diferente al escen-
cialmente necesario para el país.

Por estas razones, los sustratos derivados del petróleo quedan -
fuera del alcance de este trabajo y se mencionan unicamente para
efectos comparativos.

b) Carbohidratos.- Generalmente el componente interesante de es-
ta fuente de sustratos es la celulosa, por lo que de aquí en ade-
lante y para fines prácticos se les llamará desechos celulósicos.
Las limitaciones que presentan éstos son casi nulas, sobre todo-

en lo que se refiere a la disponibilidad, ya que son regenerables anualmente en grandes cantidades. Otra ventaja de éstos sobre los derivados del petróleo, es que diferentes desechos presentan composiciones similares, y sólo es necesario realizar pequeñas adaptaciones a un proceso, para utilizar indistintamente cualquier desperdicio, programando su procesamiento según los períodos en que la naturaleza los produce.

En este trabajo se ha decidido por el uso de estas sustancias como sustratos primarios, para la elaboración de proteínas unicelulares.

En la primera etapa en que coinciden todos los investigadores es en la hidrólisis del material celulósico, también denominada sacarificación, precisamente porque consiste en convertir al polímero celulosa en su monómero glucosa, azúcar que sólo en esta forma puede metabolizarse.

Esta sacarificación puede realizarse por dos métodos:

- a) Proceso ácido
- b) Proceso enzimático

A continuación se enumeran algunas ventajas y desventajas de ambos procesos

- a) Proceso ácido

Ventajas:

- 1.- Cortos tiempos de hidrólisis
- 2.- No requiere de la celulosa de pretratamiento alcalino

Desventajas

- 1.- Condiciones de reacción drásticas (150°C y 6 Kg/cm^2)
 - 2.- Equipo especial a prueba de presión y anticorrosivo, por lo tanto costoso.
 - 3.- Producción de compuestos secundarios indeseables.
 - 4.- Reversión de los productos formados.
- b) Proceso enzimático.

Ventajas

- 1.- Condiciones de reacción moderadas (45°C y presión atmosférica)
- 2.- Selectividad de la reacción a los productos deseados
- 3.- Relativo corto tiempo de hidrólisis (4 hrs. proceso semi-batch)
- 4.- Generación de la celulosa en las cantidades requeridas. Auto suministro seguro.
- 5.- Posibilidad de recuperar tanto celulosa como fibra no reaccionada.
- 6.- Los azúcares obtenidos son puros y de calidad constante.

Desventajas

- 1.- Requiere de un pretratamiento alcalino para la celulosa.
- 2.- Cuidados extremos para evitar que la cepa originadora de celulosa no se altere en sus propiedades.
- 3.- Difícil de manejar la enzima, debido a los grandes volúmenes de sustrato involucrados en un proceso industrial.]

Aunque los procesos de hidrólisis ácida presentan desventajas --

dificiles de solventar, abren la posibilidad de inovadores procesos con un gran número de ventajas que pueden equilibrar dichas-desventajas y de superarse de ser desarrolladas más ampliamente-las técnicas actuales.

Para dar una idea más clara acerca de las ventajas y desventajas mencionadas para cada uno de los procesos, se da una descripción más detallada de éstos.

a) Procesos de hidrólisis ácida

Todos los procesos actuales de hidrólisis ácida para obtener azúcares fermentables se engloban en los procesos investigados y --utilizados en Alemania durante la 1a. y 2a. Guerra Mundial y luego aprovechados por el Depto. de Comercio de E.U.A. para fines --comerciales.

Luego procesos alemanes incluyen 2 modalidades: El proceso Ber--gius (ácido fuerte) y el proceso Schöeller (ácido débil), aunque ambos al evaluarse mostraron altos costos; tanto de mano de obra, como de equipo y de materia prima; el proceso Schöeller, mostró--altas productividades, por esta razón en Madison, Wisconsin, han estudiado más profundamente este proceso, haciendole algunas mo--dificaciones. Es factible utilizar un proceso intermitente o --uno continuo:

El proceso intermitente, utiliza digestores o percoladores semi--continuos, los cuales son tanques a presión, donde se cargan a -

interválos los materiales a sacarificar, la fase líquida está -- constituida por una solución de H_2SO_4 al 0.5%, la cual se introduce continuamente al digestor, fluyendo através de todo el material empacado en el digestor. Para que se lleve a cabo la hidrólisis la carga se calienta a $150^\circ C$ y $p=67$ psia. El hidrolizado producido se drena y recircula del tanque, ya que contiene gran cantidad de agua y productos de descomposición. Para obtener una buena sacarificación, es necesario, agregar un exceso de ácido, ya que parte del inicialmente introducido reacciona con la lignina contenida en los materiales celulósicos, además de que el vapor condensado baja la concentración del ácido. El digestor se mantiene durante unos minutos a $150^\circ C$, tiempo durante el cual la celulosa se hidroliza, al final de este período, el hidrolizado sale del digestor por el fondo, al mismo tiempo que por el domo entra ácido diluido fresco, para llevar a cabo el proceso de percolación. Como el hidrolizado contiene todavía sobre un 0.5% de H_2SO_4 , se neutraliza con $CaCO_3$ formando $CaSO_4$ que precipita. Para remover el $CaSO_4$ y el exceso de $CaCO_3$, el hidrolizado se somete a una centrifugación, obteniéndose un producto con 6% de azúcar.

El proceso continuo requiere de los mismos pasos que el proceso intermitente, pero llevados continuamente: hidrólisis, neutralización y centrifugación; la diferencia radica en el digestor, el cual está constituido por una serie de reactores tubulares, pa--

sando el ácido y los materiales celulósicos a contracorriente. - El primer reactor tubular está diseñado para hidrolizar la hemi-celulosa de la carga, opera a bajas temperaturas y tiempos de residencia corta; de los reactores hidrolizan la celulosa a una máxima conversión a azúcares empleando largos tiempos de residencia. La fermentación de azúcares obtenidos, se podrá afectar según las formas de fermentación propuestas más adelante.

b) Procesos de hidrólisis enzimática

En los laboratorios de Natick de los E.U.A., han desarrollado un proceso de sacarificación enzimática basada en la utilización de enzimas celulasas derivadas de un mutante del hongo Trichoderma viride, aislado y desarrollado por irradiación. La producción de enzimas de Trichoderma viride se lleva a cabo en un medio con sales nutritivas y trazas de celulosa, seguidamente de este crecimiento viene una filtración, los sólidos se descartan y el filtrado son las enzimas celulasas que se utilizan en la sacarificación.

A este proceso básico de sacarificación se le han hecho algunas modificaciones, Ghose y Kostick (10) proponen el uso de un reactor de membranas, éste es un recipiente a presión, mantenido a una temperatura constante mediante un baño a 50°C y provisto de membranas diseñadas para retener sustancias de peso molecular determinado.

La celulosa de la Trichoderma viride, también se concentra en re

recipientes similares (estas membranas se designan como membranas de ultrafiltración, están fabricadas de polímeros sintéticos y diseñadas para concentrar, purificar y fraccionar moléculas activas incluyendo células, tan pequeñas como bacterias o virus). Una de las grandes ventajas de usar este tipo de reactores es la reutilización de la enzima retenida.

Otros investigadores (11), proponen en uso de recipientes agitados con temperaturas controladas de 50°C. La celulosa previamente molida y seca se alimenta al reactor por el fondo, mientras que el caldo enzimático se alimenta por la parte superior con bombas peristálticas, para mantener un volumen constante en el reactor. La celulosa se adsorbe fuertemente por la celulosa, la cual se va dirigiendo lentamente. Durante el curso de la sacarificación se adiciona celulosa para restaurar la concentración sobre un 10%, este experimento dura hasta 360 hrs. Cuando apenas han transcurrido 68 hrs. la concentración de glucosa es de 10%, se alimenta una solución de enzima, mientras que la glucosa se remueve del cultivo a la misma velocidad, tal que se mantenga un volumen constante en el reactor.

Para el caso de digestión de celulosa en columnas, la hidrólisis dura aproximadamente 73 horas.

Mediante la utilización de la celulasa de Trichoderma viride se pueden obtener concentraciones finales de glucosa entre 1.6 y 4.6 por ciento, con porcentajes de sacarificación que fluctúan entre-

33 y 77%; estos rendimientos se van superando conforme se van logrando mayores concentraciones de enzima.

Existe una planta a nivel planta piloto en los laboratorios de Natick operando a capacidades muy bajas (500 Kg/mes de glucosa), cuyo equipo básico consiste en:

- | | |
|---|---|
| 1) fermentadores | 4) modulos de instrumentación |
| 2) reactores para enzimas | 5) equipo de manipulación y preparación del sustrato |
| 3) tanques de almacenamiento y recipientes auxiliares | 6) equipo de recuperación y concentración de enzimas. |

Sin embargo con este mismo equipo, haciendo pequeñas modificaciones se puede cuadruplicar la capacidad de la planta.

Peitersen N. (12), en Dinamarca, después de tratar varias especies de microorganismos, comprobó la efectividad del hongo Trichoderma viride, desarrollado en Natick y propone un proceso en el cual este microorganismo, no solo actúa proporcionando la enzima celulasa, sino que también la desarrolla como proteína unicelular final; aunque esta experimentación no rebasa el nivel de laboratorio, si está orientada a la investigación de un proceso económico y viable. Utiliza, entre otras variantes, como materia prima la pajilla de la cebada, desecho de las fabricas de cerveza y malta, la cual contiene un 40% de celulosa. Como pretratamiento inicial, propone en vez de la molienda tradicional del material celulósico, rociar sosa concentrada al 40% sobre la paja y después prensarla a altas presiones. El objeto es degradar y -

disolver al máximo los otros constituyentes que generalmente --- acompañan a la celulosa en los desechos. Después de lavar con va por, se seca y muele ligeramente.

La preparación del inoculo de Trichoderma viride lleva de 4 a 6-días, aunque utiliza un sólo fermentador, la producción de celu-
lusa frente a una solución al 1% de pajilla, pH 4.0-4.5, dura de
6 a 12 días en la hidrólisis y reproducción del hongo. Los rendi-
mientos obtenidos no rebasan el 25% de proteína unicelular seca-
por carga de pajilla de cebada reaccionada. La calidad de la pro-
teína desde un punto de vista nutricional y toxicológico aún de-
ja mucho que desear, su contenido total de proteínas no excede -
del 30%.

Los bajos rendimientos, así como los largos periodos de reacción
le restan atractivos a este proceso.

Wilke C.R. Y Yang R.D. (13) proponen un proceso unicamente para-
la sacarificación de desechos de papel periodico con el mismo --
hongo de Natick, Trichoderma viride. Sus estudios unicamente de-
laboratorio, no van más allá, es decir, no proponen la genera---
ción de biomasa en los azucares que obtienen, sin embargo profun-
dizan mucho en el petratamiento del material, con el que conclu-
yen que una molienda sencilla del papel, una malla de 20 por - -
ejemplo, es suficiente y comprueban que la reproducción en el ta-
maño de la partícula no es crítica para su hidrólisis. Proponen-
primero desarrollar tumultuosamente el hongo en glucosa en un --

fermentador, para que en un segundo se metabolice una suspensión al 5% de papel molido y generar de esta forma, altas concentraciones de celulasa, la cual se adsorbe en el papel molido y en solución inicial la etapa de hidrólisis con una desorción de la enzima lentamente. Por razones de economía, utilizan reactores de concreto a 45°C, concentraciones no mayores de 5% de papel en agua, después de 40 horas de reacción los rendimientos que se logran llegan al 50% de glucosa sobre papel seco reaccionado.

En este proceso, los rendimientos y eficiencia logrados se deben a una recirculación continua de los fermentadores que producen los microorganismos y la celulasa, la recirculación utiliza centrifugas separadoras, donde la fracción recirculada, definida como la relación del concentrado celular de la centrífuga al flujo recibido de la etapa de desarrollo, donde la mayor eficiencia de celulasa producida es para la relación igual a 0.59. El caldo enzimático recibido en el reactor de hidrólisis puede llevar una fracción de células de Trichoderma viride de aproximadamente 0.03 por ciento, el cual no se justifica eliminar, puesto que este microorganismo no se desarrolla a las condiciones de hidrólisis.

Los azúcares obtenidos, a una concentración de 3.5% y hasta 7% (14), se filtran y esterilizan con cambiadores de calor, pueden pasar a evaporación o secado, según sea su aplicación final. Sobre este mismo proceso Brandt D. y col (14) han profundizado so-

bre la cinética de estas reacciones y problemas que involucran el llevar este proceso a escalas industriales.

Otros investigadores (15) (16) y (17) de la Universidad de Guelph, Canadá, han realizado trabajos intensivos, sobre una raíz tropical rica en carbohidratos, denominada cassava o yuca y han desarrollado un proceso económico y sencillo para la conversión de este tubérculo a proteínas unicelulares para la alimentación de animales monogástricos. Transforman en un sólo fermentador estos carbohidratos, aprovechando una especie mutante del hongo Aspergillus fumigatus, el cual no sólo hidroliza los almidones a monosacaridos, sino tambien se forza a su desarrollo como biomasa. En el proceso propuesto se enumeran una serie de ventajas que lo hacen interesante, sobre todo para países subdesarrollados como México.

Estas ventajas son:

- a) No se requieren medidas asepticas extremas, este hongo termotolerante trabaja a condiciones tan drásticas ($T=47^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=3.5$) que es casi imposible su contaminación con otros microorganismos
- b) No se requiere de compresores para aire esteril como en una fermentación normal. Diseñan un fermentador que incorpora aire de la atmósfera por inducción, con agitadores normales, tampoco se requieren sistemas de control complejo, tales como para p^{H} ó aire, ni dosificadores de ácido ó alcali ó antiespumante.
- c) No se requieren equipos complejos para disipar el calor de --

los fermentadores, dado que sus temperaturas de operación son altas $47^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y sólo se requerirá agua de enfriamiento, inclusive de 26 a 28°C para climas muy cálidos (normal de pozos o ríos)

d) No se requiere de la hidrólisis previa del material celulósico como en la mayoría de los procesos propuestos, para obtener primero glucosa, esta cepa es capaz de hidrolizar y reproducirse en este cultivo.

e) Toxicológicamente es inofensivo.

El proceso consiste en:

Ajustar una suspensión cassava-agua al 8% y calentar la mezcla a 70°C , los almidones presentes gelatinizan (requisito indispensable para facilitar el ataque microbiano). La suspensión se sujeta a 4% de sólidos con agua fría y se mantienen entre 46 y 47°C , el pH se abate con ácido sulfúrico hasta 3.5, se adicionan sin esterilizar, los nutrientes, fundamentalmente uréa como fuente de nitrógeno inorgánico, al fermentador.

Por separado, el inóculo se prepara y se carga al fermentador en una proporción de 7% V/V. El aire requerido, lo proporciona el mismo fermentador de diseño especial. Después de 20 horas el crecimiento se completa y los rendimientos reportados por kilogramo de cassava llegan a 53% de materia seca, con un promedio de 30% de proteínas; en fermentadores piloto de 3 000 l. de capacidad. Aunque los niveles de proteínas son bajos y la calidad nutricional de esta biomasa es aún dudosa para su consumo humano, si sa-

tisface todos los requerimientos de aminoácidos esenciales para cerdos.

Argumentan estos investigadores que no existen problemas toxicológicos de ningun orden aunque sólo hayan sido probados en animales.

Dunlap C.E. y Callihan C.D. (18) del Depto. de Ingeniería Química de la Universidad de Lousiana, proponen un proceso de producción de proteínas unicelulares apartir de diferentes desechos celulósicos, en su investigación, utilizan una pequeña planta piloto, donde prueban tres pilotos de fermentadores para diferentes corridas, cada uno de los fermentadores en cada prueba se considera el corazón del proceso.

Para poder llevar acabo la producción de proteínas unicelulares, se requiere que los desechos sólidos a procesar, esten secos, esta deshidratación puede efectuarse por cualquiera de los métodos tradicionales existentes.

Los pasos básicos propuestos por estos investigadores se describen a continuación:

Pretratamiento.- Esta operación se subdivide en 2 etapas.

a) Molienda.- Los desechos solidos se pasan por un cortador de cuchillas, logrando por este medio, romper la estructura física del desecho, permitiendo una más rápida y completa penetración del agua y elementos hidrolizantes.

b) Pretratamiento químico.- Aquí se propone un pretratamiento --

químico a base de NaOH, seguido por la aplicación de temperatura y presión para depolimerizar los elementos que acompañan a la celulosa y que actúan como ligadores de fibras y preservadores contra ataques microbianos. Al mismo tiempo este pretratamiento, logra que la celulosa se hinche y aumente sus volúmenes intersticiales, facilitando los pasos siguientes del proceso.

Neutralización.- Una vez alcalinizados los materiales celulósicos es necesaria una neutralización, usándose para este fin HCl, esta etapa se lleva a cabo automáticamente.

Lavado.- Tiene por finalidad remover la fracción soluble y los causticos residuales así como aclarar el material, sin embargo este paso puede eliminarse, en cuyo caso se usa un exceso de ácido para neutralizar los caústicos residuales y degradar componentes indeseables como lignina y hemicelulosa.

Mezclado con nutrientes.- Una vez tratados, neutralizados y lavados los desechos, pasan a un tanque donde serán mezclados con los nutrientes, los cuales fueron preparados con sales inorgánicas y extracto de levadura, en este mezclado también se adiciona el agua necesaria para la hidrólisis.

Esterilización.- La mezcla formada por desechos, nutrientes y agua, se somete a una esterilización con vapor.

Fermentación.- La hidrólisis de la celulosa a glucosa y fermentación de esta última se efectúan en el mismo fermentador, mediante la combinación de dos microorganismos: bacterias de la espe--

cie cellulomonas sp. y Alcaligenes fecalis ó bien; cellulomonas-sp. y una levadura denominada Yc-13, productora de glucosidasa, - las cellulomonas sp. son las encargadas de la depolimerización - de la celulosa, mientras que las Alcaligenes fecalis y Yc-13 depolimerizan las cadenas cortas y producen las proteínas unicelulares.

Todo el medio conteniendo sales minerales como nutrientes, factores de crecimiento, antiespumante y celulosa como sustrato, se mezclan en el fermentador, ajustandose el pH entre 6 y 7 con ácido ó álcali. El fermentador se somete a calentamiento y presión elevadas, para luego ser enfriado hasta la temperatura y pH óptimos para el crecimiento. Todo el cultivo se mantiene continuamente a las mismas condiciones de aereación y agitación; previa inoculación del microorganismo hidrolizador, desarrollado por separado.

Recirculación.- En una operación de producción industrial de proteínas unicelulares, es importante recircular tanto medio líquido como sea posible, para preservar las sales nutrientes y evitar una acumulamiento de grandes volúmenes de producto.

Separación de las células.- Todo el cultivo existente en el fermentador contiene fibras de celulosa no digeribles y biomasa, -- las fibras no digeridas de celulosa se pueden remover por medio de un tamizado o mediante una centrifugación a bajas velocidades o bien por la combinación de ambas operaciones, utilizando pre-

viamente floculantes que permitan una rápida y económica separación de las fibras y biomasa. La crema celular resultante se puede diluir y secar por spray o mediante un secador de tambores, obteniendo así las proteínas unicelulares regularmente puras. Si las proteínas unicelulares se utilizan para alimento de animales, no es necesaria una separación de las fibras. Las células pueden simplemente flocularse en presencia de fibras no digeridas y el resultado: fibra-biomasa floculada, puede removerse del sustrato por medio de una centrifugación continua, para posteriormente deshidratarse en un secador de tambores o en un horno-rotatorio.

Es interesante hacer notar que mientras en EUA se centran en los desechos agrícolas y urbanos, en Europa, la obtención de proteínas unicelulares a partir de derivados del petróleo ha sido acogida con mucho más interés; probablemente esto se deba a las diferencias geográficas existentes. La investigación de estos trabajos ha sido tanto o más intensa que en los EUA: Humphrey (1) menciona que la mayoría de las plantas existentes en la actualidad, se localizan en Europa y utilizan derivados del petróleo como sustrato.

El fundamento de estos procesos es proporcionar una fuente de carbón, a ciertos microorganismos capaces de transformarse en proteínas.

Uno de los problemas de tales procesos es que existen hidrocarburos

ros asimilables y no asimilables; los primeros, como por ejemplo homólogos de la serie de los alcanos normales, y los segundos -- son el producto de la oxidación (19) de los primeros, por ejemplo ácidos grasos, de aquí que el cuidado del sustrato durante la fermentación, necesariamente aeróbica, sean fundamentales los rendimientos finales. Shacklady C.A. (20) argumenta que la eficiencia de estas proteínas, exclusivas para consumo animal, especialmente bacterias desarrolladas en metano o metanol, es grande, ya que su contenido de proteínas es alto.

McLennan D.G. y col (6) reportan varias especies de bacterias, -- así como los medios de cultivo más apropiados para cada caso, -- asimismo las condiciones de operación óptimas en los fermentadores.

En el caso del desarrollo sobre metanol, es necesario adicionarlo, para evitar pérdidas, periódicamente, así como permitir un -- satisfactorio desarrollo del microorganismo, el cual se inhibe a ciertas concentraciones de etanol.

En la actualidad muchos investigadores se han preocupado por el desarrollo de nuevas tecnologías, encaminadas al aprovechamiento de desechos no agrícolas como periódicos o desperdicios plásticos.

Brow y Col (21) del Depto. de Bioquímica Médica de la Universidad de Manchester, han desarrollado exhaustivos trabajos a cerca del aprovechamiento de desechos plásticos para la elaboración de

proteínas unicelulares. Estos investigadores proponen dos procesos diferentes, cada uno de los cuales requiere de dos etapas -- fundamentales para llevarse a cabo, la primera etapa de ambos -- procesos consiste en la transformación de los desechos plásticos a productos biodegradables; mientras que la segunda tiene por finalidad la fermentación de los microorganismos productores de -- proteínas unicelulares.

Ya que los plásticos sólo pueden degradarse mediante oxidación ó pirólisis, los procesos se designan como: Procesos de Oxidación-fermentación y el de pirólisis-fermentación.

Proceso de Oxidación-fermentación.

Se probaron diferentes oxidantes, y se vió que el más apropiado era ácido nítrico, debido a que convierte plásticos o productos disponibles para ser disueltos en medios de cultivo líquidos para fermentación.

Se refluja ácido nítrico al 60% por 18 a 24 horas sobre los desechos plásticos, los cuales se convierten a una mezcla de ácidos dicarboxílicos con 6 a 12 carbonos por molécula, fácilmente biodegradables. Posterior a esta conversión es necesario neutralizar estos productos con KOH al 4% para poder llevar a cabo el -- cultivo. El medio y el fermentador son esterilizados y la cepa -- microbiana, previamente preparada, se inocula, para que fermente durante 48 horas.

Aunque este método dá buenos resultados, su costo total es muy -

elevado, por lo que los autores proponen las siguientes modificaciones:

- Aumentar la concentración de ácido, para reducir el tiempo requerido para la reacción en 3 ó 4 horas con una máxima conversión.
- Recuperar y reusar el ácido nítrico, una vez completada la reacción.
- Ya que hay una apreciable descomposición de ácido nítrico a óxidos de nitrógeno, se propone una colección de éstos, para usarlos como fuente de nitrógeno en la fermentación microbiana.
- Aumentar el porcentaje de productos de oxidación neutralizados de vuelta en el reactor de un 4 a un 25%, para reducir el tiempo de fermentación de 48 a 24 horas.
- Usar medios de cultivo baratos.
- Esterilizar el medio de cultivo y reactor antes de la fermentación, pueden usarse temperaturas de 30°C en vez de 40°C, sin percibirse contaminaciones microbianas importantes.

Todas las modificaciones descritas, obviamente reducen los costos, la biomasa resultante contiene 58% de proteína. Este método es bueno para tratar polietileno y poliestireno, pero no sirve para cloruro de vinilo.

Proceso de Pirólisis-fermentación.

Es un proceso al que pocos investigadores le conceden validez, sin embargo Douglas y Finioff en (21), lo proponen para transfor

mar plásticos en hidrocarburos biodegradables de bajo peso molecular.

El método es simple y consiste en enterrar muestras de plástico en arena contenida en tubos que se calientan al rojo vivo alrededor de 2.5 a 11 minutos. Es posible recuperar por extracción entre un 10 a un 70% en peso de los productos contenidos en la arena, la extracción se lleva a cabo con éter diétilico frío.

Los productos obtenidos son suaves grasas amarillas que soportan el crecimiento de los microorganismos aislados del suelo. Estas grasas (según un análisis cromatográfico) están compuestas por una mezcla de hidrocarburos.

Los trabajos para la fermentación no son muy avanzados, debido a que los productos de pirólisis tienen la desventaja de que son insolubles en medios de cultivo acuosos.

Para este proceso los productos de pirólisis se disuelven en hexano y luego se añaden a un medio de cultivo simple. Los microorganismos utilizados se aíslan del suelo. La incubación se lleva a cabo con agitación a 30°C durante siete días. Los productos obtenidos son levaduras en forma de crema blanca.

Al mismo tiempo estos investigadores realizaron experimentos de fermentación con Cándida pseudotropicalis, para este microorganismo se usaron productos de pirólisis emulsionados, llevándose a cabo la reacción en recipientes agitados a 30°C y manteniendo un pH de 4.3. La fermentación en estas condiciones dura 48 horas,

el producto final se extrae con n-hexano para luego secarse sobre sulfato de sodio anhidro. Por cromatografía de gases se ve que la digestión obtenida es de 93% en 48 horas.

3.- Fundamentos Bioquímicos del proceso.

3.1. Estructura química de la celulosa.

Los carbohidratos son aldehídos o cetonas de alcoholes polivalentes ó sustancias que al hidrolizarse dan estos compuestos, por lo que también se les denomina aldosas ó cetosas.

Los carbohidratos (24) se clasifican en tres grupos:

a) Monosacáridos.- Son azúcares simples que no se pueden hidrolizar y según el número de carbonos que contengan, se pueden tener: triosas, tetrasas, pentosas, etc., con 3,4,y5 átomos de carbono-respectivamente.

b) Oligosacáridos.- Son azúcares que por hidrólisis originan de 2 a 6 monosacáridos, este es el caso de la sacarosa, que por hidrólisis origina dos azúcares simples: fructosa y dextrosa.

c) Polisacáridos.- Que por hidrólisis originan un gran número de monosacáridos.

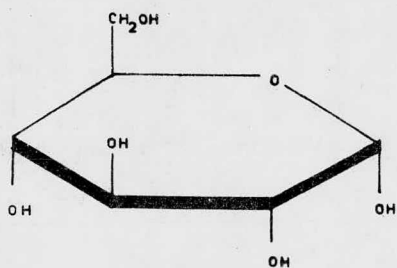
A este último grupo pertenece la celulosa, carbohidrato estructural más importante en la naturaleza, como constituyente de las plantas superiores.

La celulosa está compuesta exclusivamente por unidades de glucosa formando largas y ordenadas cadenas lineales. Estas unidades de

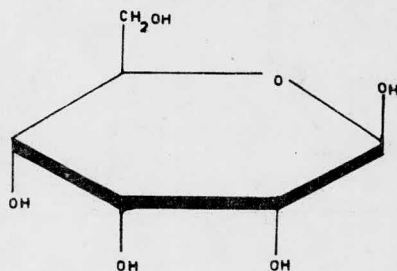
glucosa se encuentran unidades entre sí por ligaduras β 1.4 glucosídicas, esto significa que se encuentran unidades entre los carbonos 1 y 4 de cada molécula, mediante enlaces β es decir, la ligadura correspondiente a la posición del hidroxilo del carbono 1 en la molécula. Para comprender mejor esta estructura en la figura No. 1a. se muestran las dos formas ciclicas correspondientes a las dos formas cristalinas de glucosa, cuya única diferencia es la posición del radical hidroxilo en el carbono uno, de tal manera que la estructura resultante para la celulosa queda descrita en la figura 1b.

Se dice que el 99% de las ligaduras son idénticas, sin embargo la cinética de la hidrólisis indica que la reacción se lleva a cabo a una alta velocidad en sus inicios y que posteriormente ésta decrece sensiblemente. Algunos investigadores interpretan ésto, diciendo que existen algunas ligaduras desconocidas difíciles de romperse y son las que imparten lentitud a la reacción, una vez que se han llevado a cabo las rupturas de las ligaduras débiles (25). Sin embargo no es posible asegurar esta proposición, en tanto que los rasgos generales de la celulosa están bien definidos, aunque sus características finas están aún en controver--sía.

La estructura física de la celulosa, no es más que el resultado directo de la estructura de las moléculas de glucosa., tales moléculas forman fibras lineales, tan largas, como miles de gluco-

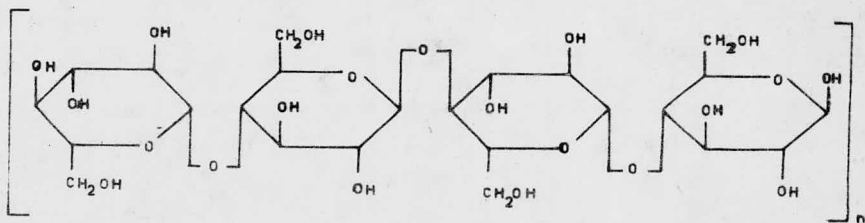


α -GLUCOSA



β -GLUCOSA

(a)



(b)

Figura N°1. a) Estructuras para α y β glucosa como monómeros de la celulosa.

b) Estructura resultante de celulosa.

sas estén unidas entre sí. Las fibras de celulosa tienden a alinearse una sobre otra, fuertemente unidas, debido a la existencia de enlaces laterales generados por los grupos hidroxilos presentes en las moléculas de glucosa, explicados como puentes de hidrógeno en moléculas adyacentes, a tales agrupaciones moleculares se les denomina fibrillas.

El peso de las moléculas de celulosa varía según su origen, encontrándose entre 100 000 y 600 000, ésto dependerá del grado de polimerización que posea, ésto es, según el número de moléculas de glucosa que se contengan.

3.2. Hidrólisis Enzimática.

Por hidrólisis se entiende; la ruptura específica de ciertas ligaduras predeterminadas de un compuesto dado, que puede ser un polímero, como el caso que ocupa este trabajo, para obtener por separado las unidades que lo conforman, todo ésto en un medio acuoso (hidro=agua, lisis=ruptura).

En la actualidad ha tomado gran auge la posibilidad de efectuar una hidrólisis de celulosa utilizando las enzimas producidas por el metabolismo de ciertos microorganismos tales como: hongos, bacterias y levaduras. Estas enzimas se dice que son proteínas sintetizadas por las células que son capaces de metabolizar una reacción, siempre y cuando ésta sea termodinámicamente posible, de tal manera que la velocidad de la misma sea compatible con --

los procesos bioquímicos esenciales para la vida celular. [Expe-
rimentalmente se ha visto que muchos microorganismos atacan a la
celulosa, sin embargo cuando se utiliza su enzima aislada, pocas
veces se logra el objetivo, lo que quiere decir que la ruptura -
de la celulosa se realiza con mayor facilidad si el microorganis-
mo productor se encuentra presente (22), sin embargo este tipo -
de reacciones no se conocen profundamente.]

Existe una marcada diferencia entre las enzimas producidas por -
diversas fuentes, inclusive un mismo tipo de células puede pro-
ducir distintas enzimas. Además, ya que su naturaleza proteica -
les confiere especificidad, una enzima cataliza una sola reac-
ción.

Las enzimas específicas capaces de hidrolizar celulosa se les de-
nomina enzimas celolíticas ó más propiamente celulosas.

[En la molécula de celulosa existe un alto grado de orden molecu-
lar, dando por resultado una fuerte estructura cristalina, origi-
nada por los mencionados puentes de hidrógeno. Esta asociación -
origina una completa impermeabilidad al paso de agentes externos
inclusive el agua, así mismo un ataque enzimático es prácticamen-
te inaccesible; el problema se agudiza con celulosa natural, sin
embargo preparando químicamente esta celulosa ó con derivados de
ésta, el trabajo se facilita, en muchos casos un simple calenta-
miento puede reducir esta cohesividad y permitir una fácil hidró-
lisis.]

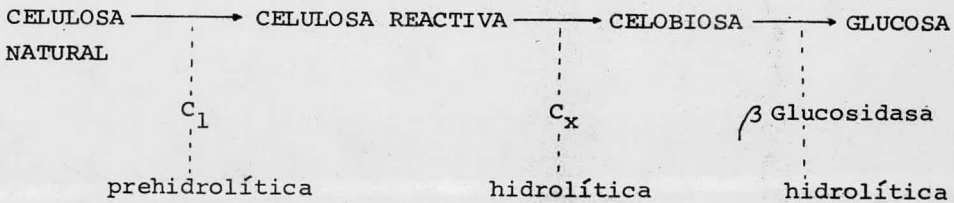
Esta resistencia de la celulosa natural a la enzimólisis, así como a un ataque localizado en ciertos puntos de la fibra debido a cuestiones morfológicas de la misma, conducen a que muy pocos microorganismos sean capaces de atacar este compuesto.

En 1950 Reese y colen (22) postulan un tipo de enzima celulasa, la cual se aprovecha para separar las cadenas lineales de un sustrato de celulosa cristalina, a esta enzima la denominan C_1 y su mecanismo de acción aunque no muy claro, se supone que decristaliniza ó hidrata las cadenas de celulosa, a manera de prehidrólisis. Esta enzima la producen muy pocos microorganismos.

Después de la acción de la enzima C_1 , las moléculas aisladas de celulosa quedan propensas al ataque de un segundo grupo de enzimas que Reese y col denominan C_x , las cuales en contraposición de las C_1 son muy comunes. Las enzimas C_x en realidad son un complejo compuesto por exo y endo β 1.4 glucanasas, las cuales son las encargadas de la ruptura de las ligaduras β 1.4 glucosídicas solamente que de una manera desordenada y liberando polímeros todavía, por lo que para que esta hidrólisis se lleva a cabo en forma total, se requiere un tercer tipo de enzimas: las β glucosidasas, muy parecidas a las del complejo C_x pero distinguibles por su especificidad para liberar molecular simples de glucosa.

En conclusión: Las C_1 son enzimas que hacen posible la hidrólisis, hasta moléculas de celulosa individuales, mediante una reducción de cristalinidad y el ordenamiento de las fibras, produ-

ciendo celulosa reactiva, la cual representa cadenas libres de interacción, de tal manera que las ligaduras glucosídicas que den accesibles a la acción de las enzimas C_x , que produzcan a su vez celobiosa como constituyente mayoritario, que no es más que un oligosacárido formado por dos moléculas de glucosa, luego esta celobiosa es atacada por enzimas β glucosidasas que producirán moléculas de glucosa aisladas. A lo que se propone en la literatura, un diagrama simple para una hidrólisis completa:



Aunque se propone un mecanismo por pasos, existe un marcado sinergismo cuando C_1 y C_x actúan juntas, que pueden decrecer notablemente cuando ambas enzimas actúan secuencialmente en uno u otro orden.

Existen pocos microorganismos capaces de producir los tres tipos de enzimas, la mayoría produce gran cantidad de C_x y β glucosidasas pero sólo trazas de C_1 .

Todas estas enzimas, como tales, requieren de condiciones de operación muy especiales para su aprovechamiento óptimo, es decir, temperatura moderada, pH, concentración y tiempo de residencia adecuado.

3.3. Producción de Proteínas Unicelulares

El principio fundamental en la obtención de proteínas unicelulares es la de provocar la reproducción óptima de ciertos microorganismos, entendiendo ésto como crecimiento celular, es decir, - el aumento ordenado de todos los componentes de las células vivas, trayendo consigo un aumento en el número de individuos.

Para que se lleve a cabo un crecimiento satisfactorio, es necesario cumplir con dos factores determinantes para el desarrollo de la vida: respiración y fijación de nitrógeno; el primero se satisface mediante una aereación del cultivo y el segundo adicionando nitrógeno, fundamentalmente de origen inorgánico, para que sea transformado a orgánico sintetizando sustancias que lo contienen: proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, purinas, vitaminas, etc.

El papel que desempeña el agua es fundamental para este proceso bioquímico: como agente disociador en la función enzimática celular, como fluido de suspensión para las células del microorganismo, como matriz para la distribución uniforme de los nutrientes y el oxígeno, además de que es un medio conveniente para la regulación de la temperatura.

También se requieren otros elementos como sales minerales como: fósforo, azufre, potasio, calcio, magnesio, sodio y cloro. Algunos otros del mismo origen, que aunque minoritarios, no por eso menos importantes, tales son: Manganeso, zinc, cobalto, etc. in-

dispensables para la función estructural de los microorganismos.

Todos estos compuestos se denominan nutrientes.

Los demás constituyentes básicos los proporcionan los carbohidratos, utilizados como fuente de energía: carbono, hidrógeno y oxígeno. Para que éstos puedan asimilarse es necesario que se encuentren en forma de azúcares sencillos, tal es el caso de este trabajo en que se desarrollan microorganismos en el seno de la glucosa, producto de la hidrólisis enzimática de la celulosa.

A la mezcla de todos estos compuestos se les denomina sustrato. Durante el período de crecimiento celular el volumen de células depende además de lo mencionado anteriormente, de: una agitación de todo el medio, pH y temperaturas óptimas, tiempo de residencia durante el cual se suceden cuatro etapas o fases muy claras que se muestran en la figura No. 2, distinguiéndose:

a) Fase latente.- es el tiempo que transcurre desde que se inocula el medio hasta que se pueden percibir las primeras señales de crecimiento. En esta etapa existe una intensa actividad metabólica de los microorganismos, tendiente a la preparación para la siguiente fase, es decir, es un período de adaptación a las nuevas condiciones de operación, en donde, mientras el aumento de población es casi nulo, el tamaño de los microorganismos es considerable. La duración de esta etapa varía en función del microorganismo, del estado fisiológico del mismo, cambios de concentración del metabolito y cambios en las condiciones. Sin embargo si los-

microorganismos han sido adaptados previamente, esta fase puede reducirse ó inclusive desaparecer.

b) Fase exponencial.- Una vez adaptado el inóculo, inicia su velocidad hasta alcanzar una velocidad máxima de crecimiento, que resulta constante para cada microorganismo. Esta velocidad presupone que cada una de las células se divida a intervalos de tiempo regulares y que el incremento de la masa celular por unidad de tiempo estará fijado por la velocidad de crecimiento y por la cantidad de células presentes en cada momento.

c) Fase estacionaria.- El crecimiento logarítmico ó exponencial trae como consecuencia un agotamiento, tanto de nutrientes como de carbohidratos del medio, así como la acumulación de productos no asimilables y desechos, de tal manera que durante esta etapa la cantidad de masa celular se mantiene constante.

d) Fase de muerte.- Durante este período disminuye considerablemente el número de células viables, es decir, aquellas que son capaces de dividirse para formar una ó más células hijas cuando se encuentran en un medio favorable.

En la actualidad los cambios bioquímicos que se producen a lo largo de estas fases siguen en estudio.

4.- Cinética de la Hidrólisis

La reacción de hidrólisis de la celulosa se ve caracterizada por una formación de productos a una muy alta velocidad, hasta lo---

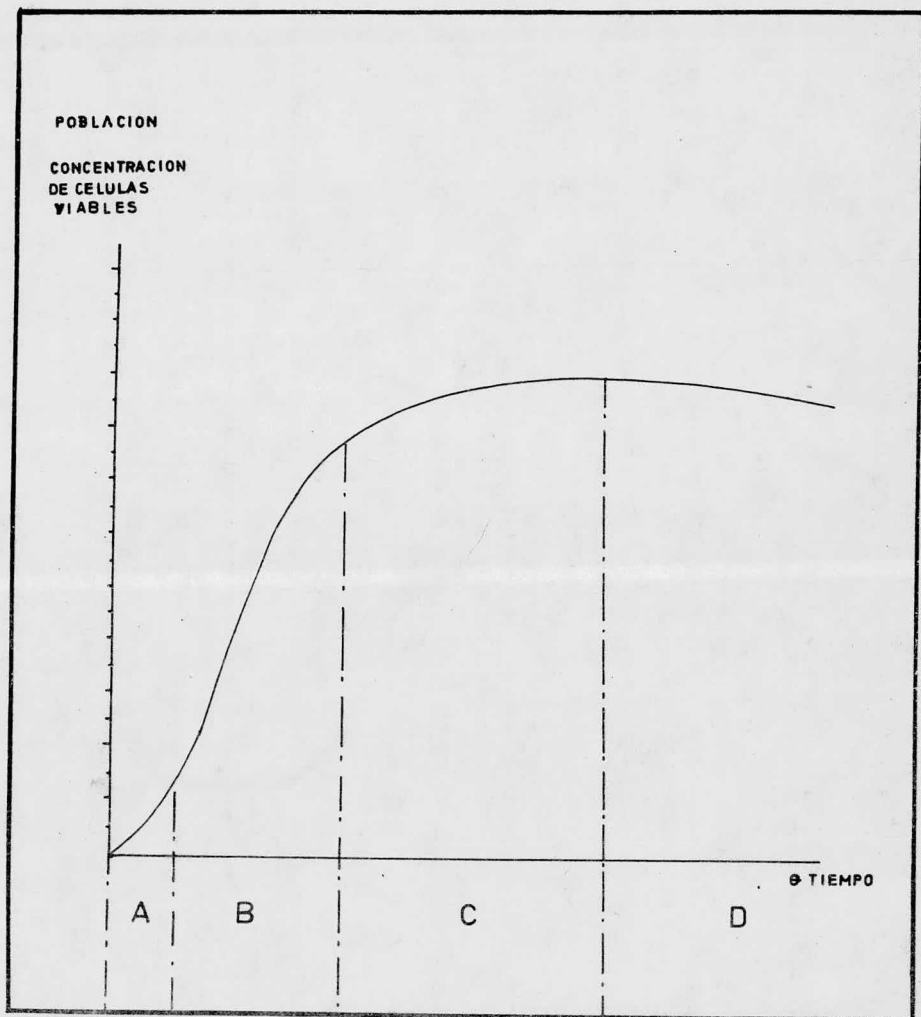


FIGURA NO. 2.- CURVA TIPICA PARA EL DESARROLLO DE POBLACION DE MICROORGANISMOS EN LA QUE SE DISTINGUEN CUATRO IMPORTANTES ETAPAS

- A. FASE LATENTE O DE ADAPTACION C. FASE ESTACIONARIA
 B. FASE EXPONENCIAL O DE DESARROLLO D. FASE DE MUERTE

grar un máximo, seguida de una baja velocidad después. La explicación de este fenómeno, no es todavía muy precisa, en tanto que depende directamente del peso molecular del carbohidrato a tratar, así como la longitud de la cadena del mismo. Parece ser que la respuesta es más bien física que química, en tanto que existe una mayor accesibilidad de ataque en alguna ligaduras entre -glucosas que en otras.

Algunos autores (22) argumentan que estas fluctuaciones en la velocidad de reacción, se deben a factores tales como: inhibición de la reacción por acumulación de los productos finales formados, disminución de la concentración del sustrato. Sin embargo sucede que si la concentración de sustrato reactivo inicial se incrementa de una manera inadecuada, la aceleración mostrada inicialmente va disminuyendo hasta estabilizarse en un punto en el que la velocidad ya no variará. Una gráfica típica de lo que sucede, se muestra en la figura No. 3 donde se ve el efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de reacción.

En esta figura sobresalen dos velocidades: velocidad máxima lo-grada (V_{max}) y una velocidad media, que no es más que $V_{max}/2$.

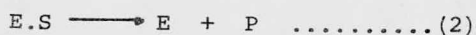
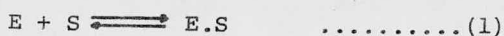
La cantidad de sustrato necesaria para desarrollar la mitad de la velocidad máxima, corresponde (24) numericamente a una cons--tante importantísima llamada de Michaelis-Menten (K_m) y representa la afinidad de una enzima por un sustrato, tal que para valo-res grandes de K_m se requerirá una mayor cantidad de sustrato pa

ra una reacción óptima, mientras que valores pequeños indican un mínimo de sustrato, en cuyo caso, se infiere una gran afinidad entre enzima y sustrato. La explicación de esta afinidad es la siguiente: a bajas concentraciones de sustrato, los sitios activos de la enzima no están saturados, por lo que la misma no trabajará a toda su capacidad, manteniendo constante la concentración enzimática, de tal manera que a medida que la cantidad de sustrato se incrementa, los sitios activos se van saturando, hasta lograr una velocidad máxima y la enzima trabaja a toda su capacidad, hasta su saturación total, punto en que a la velocidad de reacción máxima, le sigue un estancamiento, en que ya no habrá reacción enzimática y la velocidad se mantiene constante.

Como toda reacción catalítica, la velocidad de la misma dependerá directamente de la concentración de enzimas y esta dependencia será directa en los primeros estados de la reacción.

En 1913 Michaelis y Menten desarrollaron una teoría, válida en la actualidad (24), (22), basada en la idea de una disociación simple, en la que proponen la formación de un complejo enzima -- sustrato, que posteriormente se disocia en la enzima libre más el producto final de la reacción de enzimiólisis y que de esta disociación ó liberación depende la velocidad de la misma.

Estas reacciones se pueden anotar como:



Donde:

E = Enzima

S = Sustrato

P = Producto final

Si la reacción (1) se encuentra en equilibrio, de acuerdo a la ley de la acción de las masas, se deduce una relación con la constante de este equilibrio K

$$K = \frac{(E-E.S.) \times (S-E.S.)}{(E.S.)} \dots\dots(3)$$

Como generalmente la cantidad de sustrato es muy grande comparada con la concentración de enzima en la reacción, el término S-E.S se puede simplificar a S y la ecuación (3) quedará:

$$K = \frac{(E-E.S.) \times S}{(E.S.)} \dots\dots\dots(4)$$

rearrreglando la ecuación (4)

$$E.S. = \frac{E \times S}{K + S} \dots\dots\dots(5)$$

En tanto que la transformación del complejo E.S en E + P es el factor limitante en la velocidad de la reacción del proceso global y que además no afecta el equilibrio entre E + S y E.S de la reacción (1), la velocidad de la reacción v estará dada por:

$$v = k \times E.S. \dots\dots\dots(6)$$

Sustituyendo la ecuación (5) en la (6)

$$v = k \frac{E \times S}{K + S} = \frac{E \times S}{K + S} \dots\dots\dots(7)$$

Partiendo de la ecuación (7) se presentán dos casos:

a) Velocidad máxima.- Cuando la concentración de sustrato presente es considerablemente alta comparada con K, entonces la velocidad de la reacción será $v = k \times E$, en cuyo caso esta velocidad corresponde a la máxima y la ecuación (7) se convierte en:

$$v = \frac{V_{max} \times S}{K + S} \dots\dots\dots(8)$$

Donde vuelve a quedar establecido el efecto que causa la concentración del sustrato en que una reacción enzimática. Es decir para muy grandes valores de S la suma de $K + S$ se aproxima a S y v se aproxima a V_{max} . Mientras que, para pequeños valores de S la suma $K + S$ se aproxima a K y la velocidad v resulta proporcional a S.

b) Velocidad media.- Cuando el valor numérico de la concentración del sustrato se iguala a K como se definió antes, la velocidad v será 1/2 de V_{max} , en cuyo caso se tendrá a $K = K_m$ correspondiente a la constante de Michaelis-Menten y que es igual a la constante de equilibrio K de la disociación de E.S y E + S siempre y cuando pueda mantenerse este equilibrio.

Tomando en consideración que desde los inicios de la reacción, la presencia de productos finales, implica desaparición de sustrato, para concentraciones muy bajas de sustratos, figura (3), la relación velocidad-sustratos es casi lineal y depende del tiempo; - -

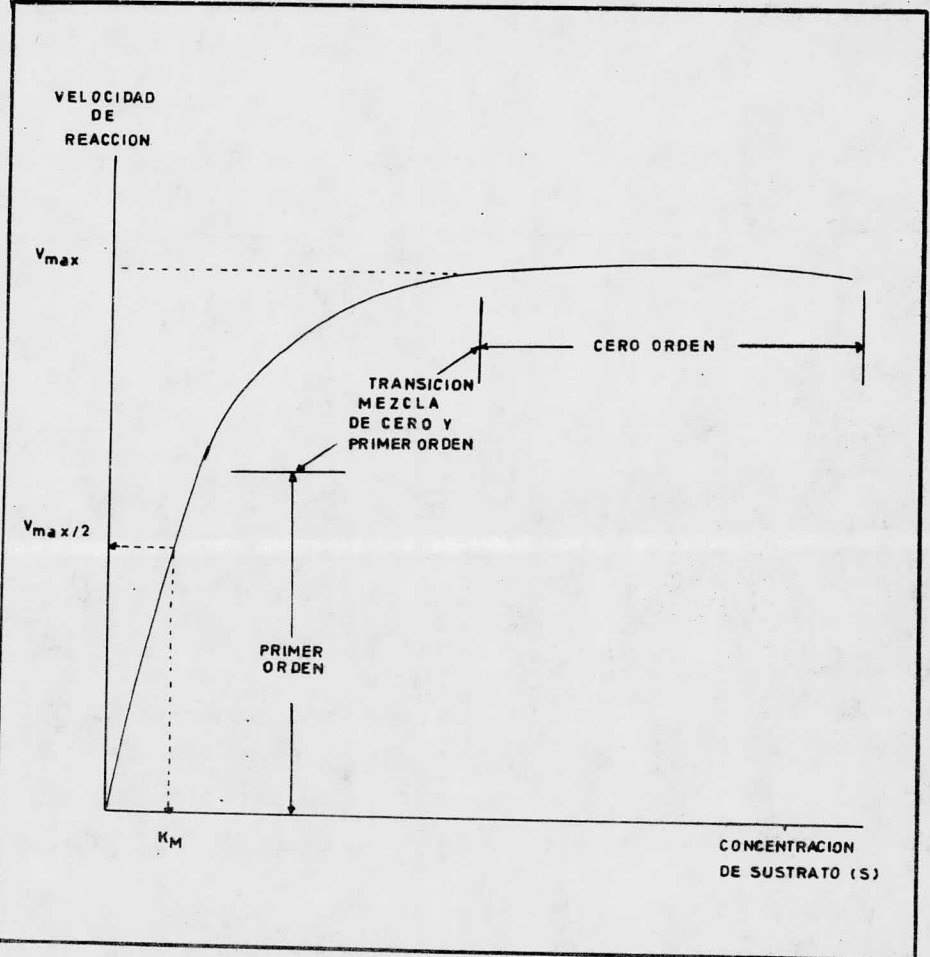


FIGURA NO. 3. RELACION ENTRE VELOCIDAD DE REACCION Y CONCENTRACION DE SUSTRATO-REACTIVO PARA LA HIDROLISIS ENZIMATICA DE CELULOSA, DONDE K_M ES LA CONSTANTE MICHAELIS- METEN

obedeciendo una reacción de primer orden, lo que significa que - la velocidad de hidrólisis es directamente proporcional a la concentración de sustrato para cualquier tiempo, por lo que esta velocidad puede expresarse como:

$$v = \frac{dP}{dT} = k_1 \times (S - P)$$

Donde:

k_1 = Constante de velocidad de reacción de primer orden.

$S - P$ = Concentración de sustrato remanente a cualquier tiempo

Para este tipo de reacciones, a intervalos de tiempo iguales se tienen fracciones de sustrato remanente iguales.

Conforme la reacción avanza y la relación linear disminuye, surge una etapa transitoria en la que se tiene orden cero y primero hasta lograr lo que aquí se denomina velocidad de reacción máxima. Después de ésta el orden definitivo se vuelve cero.

C A P I T U L O I I I

1.- SELECCION DEL SUSTRATO

No todos los desechos celulósicos que se producen en México resultan viables como sustratos, debido a que algunos presentan limitaciones en mayor o menor grado en cuanto a: disponibilidad, distribución geográfica, ciclos de producción, fracción de celulosa aprovechable, costos, biodegradabilidad, toxicidad y compromiso para otras posibles aplicaciones. Todos estos factores se han seleccionado de cuál o cuáles pueden ser los materiales celulósicos factible de aprovecharse como sustratos.

a) Disponibilidad del desecho celulósico.- Este factor depende no solamente del tonelaje producido, sino también de las condiciones en que se produce, para determinar la disponibilidad de estos desechos es necesario conocer como se colecta cada uno de los posibles sustratos, algunos tienen que cosecharse junto con el producto agrícola que lo produce, o bien como subproducto en el mismo campo de siembra, otros: en los centros de beneficio ó procesamiento, o bien; colectarse como desperdicios urbanos.

Los materiales más aprobados en cuanto a tonelaje producido, son los desechos agrícolas, los cuales normalmente son capaces de producir altos volúmenes de materia prima como la que en este trabajo se requiere, sus limitaciones se discutirán más adelante y como se verá, es posible superarlas sin muchos problemas.

Kg/100 Kg

PRODUCTO AGRICOLA	DESECHO APROVECHABLE	CONTENIDO DE DESECHO (%)	Ref
Caña de azúcar	bagazo	45.0	23
Maíz	olote	62.0	23
Papa	cáscara	7.0	infor. direc.
Arroz	vaina	8.0	23
Cebada	vaina	12.89	26
Piña	bagazo	13.0	23
Café	cascarilla	15.0	infor. direc.
Cacao	cascarilla	12.0	26
Coco	cáscara fibrosa	19.6	23
Agave	desecho desp. proc. tequila	75.0	23

CUADRO NO. V.- Contenido de desecho de algunos productos agrícolas.

Ver p 56

Los desperdicios urbanos, papel periódico por ejemplo, aunque no están sujetos a los ciclos de producción y los contenidos de celulosa resultan muy atractivos, quedan eliminados desde aquí debido a la fuerte contaminación con productos químicos y a su compromiso en la fabricación de papel periódico y cartón.

Para la evaluación de esta disponibilidad, es necesario partir de la producción anual de los principales productos agrícolas -- que originan estos desechos. De información de la Sría. de Agricultura y Ganadería, así como directa; la Gráfica No. 1 demuestra los volúmenes producidos los últimos tres años, de diez productos agrícolas factibles. Por otro lado con información publicada en la literatura (28). El cuadro No. V especifica cual es el desecho aprovechable, así como el contenido del mismo expresado como Kg de desecho/100 Kg de producto agrícola en base seca, del que se deriva la Gráfica No. 2, donde en Miles de Toneladas se aprecia la producción anual de los diferentes desechos agrícolas interesantes.

b) Contenido de Celulosa.- Todos estos desechos agrícolas contienen en su composición celulosa, acompañada de constituyentes no-celulósicos como: lignina y hemicelulosa, así un material será más fácil de fermentar; mientras menos sustancias no celulósicas contenga, así como más celulosa. Para los fines que aquí se persiguen, el cuadro No. VI muestra únicamente la celulosa contenida en cada desecho celulósico propuesto con esta información en-

MILES
DE
TONELADAS

35 000

30 000

25 000

20 000

15 000

10 000

5 000

600

500

400

300

200

100

CAÑA
AZUCAR

MAIZ
(grano)

PAPA

ARROZ
(grano)

CEBADA
(grano)

PIÑA

CAFE
(grano)

AGAVE
(tequilero)

CACAO
(grano)

COCO

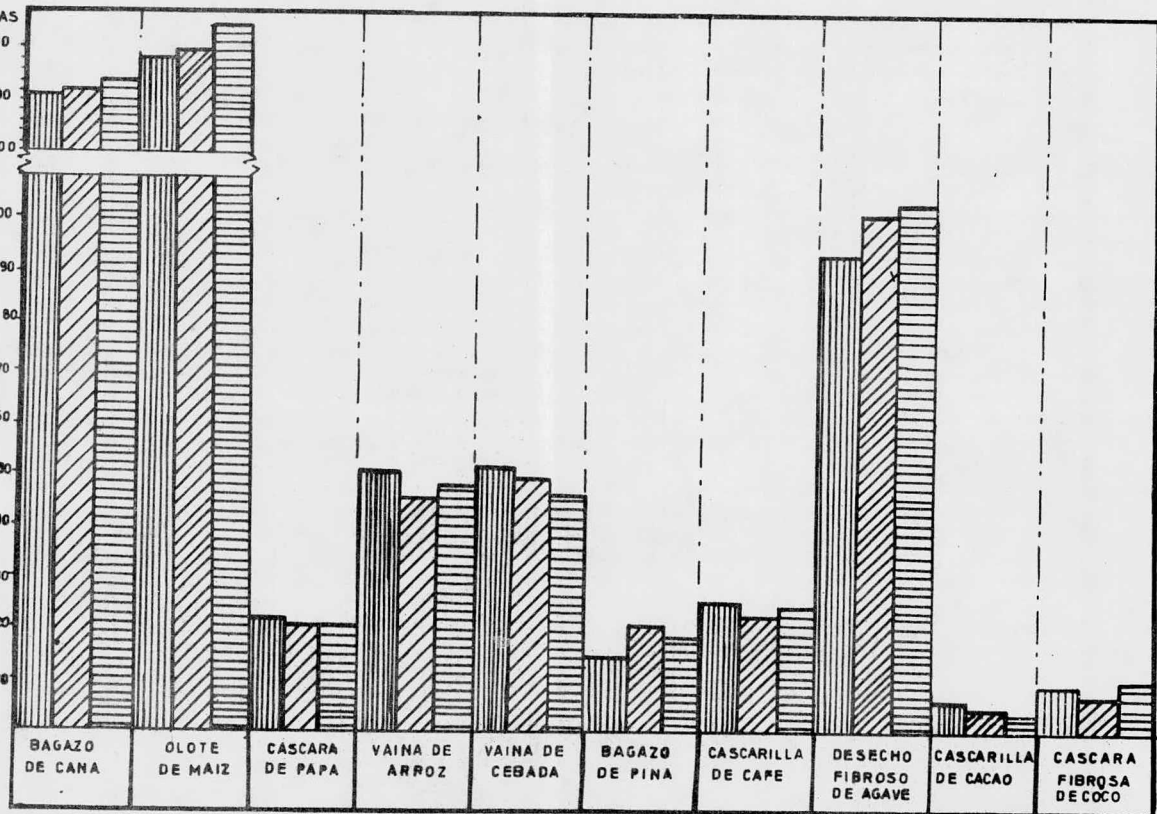
GRAFICA NO 1 PRODUCCION DE LOS PRINCIPALES PRODUCTOS AGRICOLAS (28)

73/74
74/75
75/76

MILES
DE
TONELADAS

15 000
12 500
10 000

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10



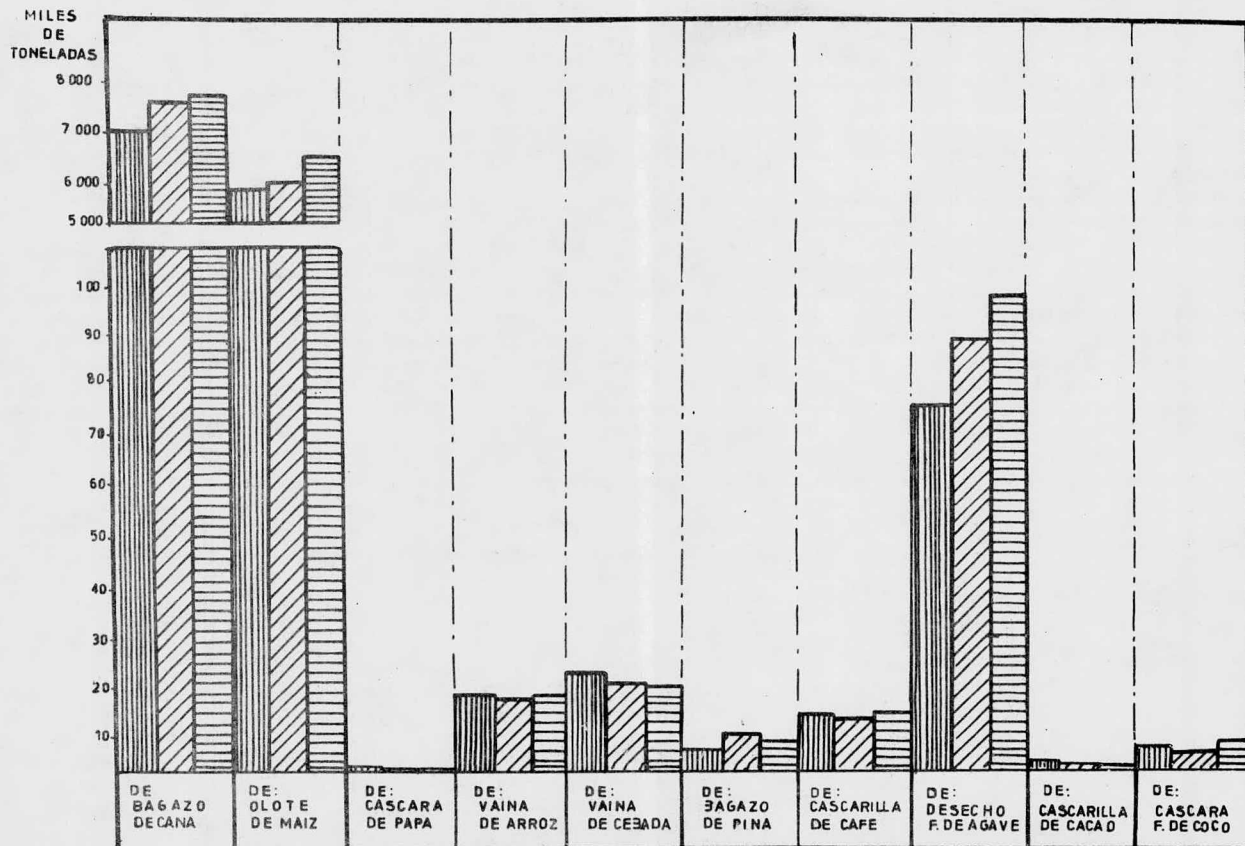
GRAFICA NO 2 TONELAJES PRODUCIDOS DE LOS DESECHOS PROPUESTOS

73/74
74/75
75/76

la Gráfica No. 3 se dan los volúmenes de celulosa disponible, en donde se pueden apreciar que el bagazo de caña, olote de maíz, - cascarilla de arroz y cebada y el desecho fibroso del agave tequilero; muestran las mejores perspectivas para su aprovechamiento.

c) Distribución Geográfica.- Este parámetro tiene gran importancia en la selección del sustrato en tanto que dá el punto clave para la localización más conveniente de la planta; aunque la información de producción por estados de estos materiales no es -- suficiente en tanto que algunos se obtiene como subproductos en los centros de procesamiento y no en el campo de producción agrícola, tal es el caso de la piña, la cual se lleva en un 70% en forma natural al lugar donde se procesa para jugos, sin embargo; el caso del café, bagazo de caña y agave tequilero es diferente, ya que casi siempre estas plantas se sitúan cerca a los sitios de cosecha.

A continuación en el cuadro No. VII se han recopilado datos de los principales estados productores de estos desechos agrícolas, así como una idea del porcentaje de producción sobre el total de la República; mediante esta distribución es posible visualizar, la factibilidad de utilizar más de un material, dependiendo de -- sí su fuente de abastecimiento está en una misma región o regiones cercanas sin afectarse considerablemente los costos de transporte y recolección, aunque esta información depende de cada ci-



GRAFICA NO 3 TONELAJES DE CELULOSA DISPONIBLES PARA CADA DESECHO PROPUESTO
(calculada)



D E S E C H O	% celulosa (base seca)	Ref.
Bagazo de caña	51.0	18
Olote de maíz	37.0	18
Cáscara de papa	6.0	información directa.
Vaina de arroz	34.0	18
Vaina de cebada	40.0	12
Bagazo de piña	31.0	información directa.
Cascarilla de café	32.0	23
Cascarilla de cacao	13.7	23
Cáscara fibrosa de coco	48.0	información directa.
Desecho de agave tequila	77.2	23

Cuadro No. VI.- Contenido de celulosa en los desechos propuestos.

PRODUCTO AGRICOLA	PORCENTAJE DE LA PRODUCCION NACIONAL EN LOS PRINCIPALES ESTADOS									
	Chiapas	Tabasco	Veracruz	Puebla	Hidalgo	Michoacán	Jalisco	Colima	Nayarit	Sinaloa
Caña de Azúcar	0.8	3.2	40	3.1	-	4.4	10.5	2.0	3.2	9.2
Mafz	7.3	0.5	10.7	5.3	1.9	5.5	25.3	0.6	1.6	1.1
Papa	-	-	6.5	10.1	4.6	1.5	0.5	-	1.8	25.0
Arroz	4.3	2.1	17.6	2.1	-	3.0	1.0	1.2	1.2	40.7
Cebada	-	-	33.0	-	37.6	-	-	-	-	-
Café	42.3	1.6	22.4	4.7	1.6	-	0.4	0.1	1.2	-
Cacao	25.1	75.6	-	-	-	-	-	-	-	-
Agave	-	-	-	-	-	-	97.8	-	2.0	-

Cuadro No. VII Distribución de la producción nacional en algunos de los estados de la República Mexicana como porciento del total (28).

(-) No se produce o el porcentaje es muy bajo

clo de producción y es útil únicamente como guía para poder localizar los centros de producción y operación de estas materias -- primas.

d) Ciclos de producción.- Ya que no sería posible utilizar un -- único desecho como sustrato, debido a que no se puede disponer -- del mismo en cualquier época del año, es necesario aquí, un cono -- cimiento de los ciclos de producción y saber en que mes o meses -- del año se cuenta con un determinado material, así en el cuadro -- No. VIII, se aprecia claramente como se puede cubrir la demanda -- de desechos celulósicos alternando el suministro con otros simi -- lares y cubrir todo el año de producción de proteínas unicelula -- res. Por otro lado con este sistema se evitaran grandes almace -- nes de materia prima que, además de costosos, resultan riesgosos -- en tanto que estos materiales tienden a descomponerse fácilmente -- por sus altos contenidos de humedad.

e) Costos.- El costo de los diferentes materiales viables a uti -- lizarse como sustrato es difícil definir, ya que en su mayoría -- son desperdicios problemáticos para el campo. Así el precio para -- cada caso variará con su localización, demanda en otras aplicacio -- nes, su propiedad de aprovecharse como combustible, costos de re -- colección y producción si es procesado, transportación, manipu -- leo y almacenaje.

En su lugar de origen, el precio de estos materiales es nulo, en -- tanto que se les considera basura, pero sería erróneo tomarlos --

PRODUCTO AGRICOLA	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
CAÑA DE AZUCAR	/	/	/					/	/	/	/	/
MAIZ		/	/	/	/				/	/	/	/
PAPA		/	/	/	/				/	/	/	/
ARROZ									/	/	/	/
CEBADA		/	/	/	/							
PINA	/	/							/	/	/	/
CAFE			/	/	/	/			/	/	/	
CACAO			/	/	/	/						
AGAVE	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
COCO	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

CUADRO NO. VIII.- CICLOS DE PRODUCCION PARA CADA UNO DE LOS PRODUCTOS AGRICOLAS SELECCIONADOS (información directa)

como precio cero, ya que en el momento de surgir la demanda para estos fines, empezaría a tomar un valor determinado hasta estabilizarse de acuerdo con los factores mencionados arriba.

Para fines prácticos el cálculo del precio del sustrato puesto en la planta se realizaría en términos de costos de transportación, para los materiales sin precio actual, una vez definidos los mismos y la localización de la planta. Un análisis profundo de estos precios se expone en el capítulo correspondiente a costos más adelante.

f) Biodegradabilidad.- En tanto que se entiende por buen sustrato aquel material fácilmente biodegradable, este factor es de su ma importancia, solamente que como en este trabajo se busca apro-
vechar desperdicios, difíciles de degradarse biológicamente, da-
das sus impurezas, implícitamente en el proceso que aquí se pre-
tende está un pretratamiento del material cuyo objetivo es preci-
samente incrementar la biodegradabilidad del mismo; por lo que -
este parámetro deja de ser limitante en la selección del sustra-
to.

g) Toxicidad.- Esta limitación de algunos sustratos, es decir la presencia de altas concentraciones de pesticidas y herbicidas --
que podrían en un momento dado limitar su utilización, queda tam-
bién fuera de todo cuidado, ya que el pretratamiento del mate-
rial elimina a cualquiera de estos contaminantes.

h) Otros Usos.- En nuestro país, se les ha encontrado a algunos-

materiales celulósicos, algunas otras aplicaciones, que resultan atractivas, dadas las demandas del país, tal es el caso del bagazo de caña y pajilla de cebada para papel y maderas prensadas, o el residuo fibroso de coco y agave tequilero en rellenos de sillones y bajo alfombras, mismos que han desaparecido ultimamente ya que los volúmenes comprometidos resultan insignificantes y prefiere canalizarse la totalidad como combustible para grandes hornos. Con lo que respecta a los otros materiales, actualmente están orientados hacia los forrajes, como relleno en la dieta animal. Del olote de maíz se tienen noticias de que se industrializa en la obtención de furfural aunque no se tienen cifras confiables de cuanto se está utilizando.

DISCUSION

Por análisis de datos de gráficas y cuadros, se ha optado en este trabajo, para fines prácticos, agrupar los focos de producción en tres zonas:

- Sureste de la República.- Que comprende: sur de Veracruz, Tabasco y Chiapas; aquí es posible procesar; bagazo de caña y piña cascarilla de café y cacao y cáscara fibrosa de coco. Según el cuadro No. VII se observa una dependencia absoluta del bagazo de caña sobre los demás desechos, lo que significa depender de una sólo materia prima, en un momento dado, resultando inconveniente para las necesidades de una planta procesadora de proteínas unicelulares.

- Región Central.- Comprendiendo los estados de: Puebla, Hidalgo y Norte de Veracruz, para esta zona es posible aprovechar: la -- vaina de arroz y cebada y cáscara de papa, sin embargo los volúmenes de celulosa derivados de estos productos son demasiado bajos, de tal manera que no satisfacen la demanda de una planta de proteínas unicelulares, aunado a ésto a que los ciclos de producción para estos desechos pueden presentar marcadas desviaciones, alterando el suministro normal de materia prima a la planta de proteínas unicelulares. Aparte de que en el caso de la papa, que aunque se produce en esta zona, es llevada casi en su totalidad a el D.F. en donde se produce propiamente el desecho, por otro lado la vaina de cebada, está comprometida casi en su totalidad (28) para la fabricación de papel.

- Región Occidental.- Abarcando: Norte de Michoacán, Jalisco, Coahuila, Nayarit y Sur de Sinaloa; zona donde se puede procesar el mayor número de desechos, ricos en celulosa; entre los que se encuentran; el desecho fibroso del agave tequilero, el olote de -- maíz, el bagazo de caña y la vaina de arroz entre los más viables, aunque esta región, es muy extensa, lo cual representa una desventaja para el transporte y suministro de materias primas, - puede ser contrarrestada esta limitante, considerando que los tonelajes de celulosa total producida están bien distribuidos entre todos los desechos. Por los ciclos de producción en el suministro de materias primas (Ver cuadro No. VIII), contando además

con que la producción de desechos de agave y coco es perenne. En orden de importancia, los desechos seleccionados como viables para esta zona son:

a) Residuo Fibroso de Agave Tequilero.- Aunque el Agave Azul Tequilero se produce en casi todo el estado de Jalisco, se procesa básicamente en el Municipio de Tequila Jal. para la producción de aguardiente, mismo lugar donde se cosecha el total del desecho fibroso por coleccionar.

De acuerdo con las estadísticas obtenidas de producción nacional se dispone de 85,000 toneladas de celulosa proveniente de este desecho anualmente.

b) Olote de Maíz.- El estado de Jalisco produce el mayor porcentaje de maíz en la República, alrededor del 25%, la producción del olote de maíz, básicamente se desarrolla en los mismos campos de siembra por lo que se colecta fácilmente, para esta región se dispone aproximadamente de 1,500 000 toneladas de celulosa proveniente de olote de maíz anualmente.

c) Bagazo de Caña.- En la mayoría de los casos, los centros de procesamiento: ingenios azucareros, se localizan en las cercanías de los campos de siembra, los que trabajan únicamente en los períodos de zafra, mismos en los que se obtiene como subproducto el bagazo de caña. De acuerdo con el cuadro No. VII, se dispone en esta zona de un 29% de la producción nacional total, es decir, alrededor de 2,000 000 Ton. anuales de celulosa, origi-

nada de bagazo de caña.

d) Vaina de Arroz.- Aunque sus volúmenes de producción no son -- muy elevados, es un desecho a considerar, en tanto que su ciclo de producción es compatible con los otros materiales, y con el - objeto de aminorar los riesgos de suministro de materias primas. La vaina de arroz se colecta en los centros de cosecha del mismo; facilitando la operación de transporte. En la región seleccionada, se puede obtener alrededor de 7 600 Toneladas de celulosa de vaina de arroz, en su mayoría generadas en el estado de Sinaloa. De los desechos seleccionados, en cuanto a su distribución geográfica, aparentemente el estado de Jalisco es el más atractivo, en tanto que se evitarán altos costos de transporte y materias primas.

En cuanto a la disponibilidad teóricamente se tienen aproximadamente 3.5 millones de toneladas de celulosa viables, es decir, - el suministro de materia prima es suficiente y en exceso.

2.- TAMAÑO Y LOCALIZACIÓN DE LA PLANTA.

La determinación del tamaño de la planta requiere de la revisión y análisis detallado de un conjunto de factores que influyen en mayor o menor grado en la decisión final, decisión que repercutirá directamente en el monto de las inversiones necesarias para instalar la planta, en los niveles de rentabilidad que habrán de obtenerse y en las perspectivas de crecimiento de la --

misma. Los factores que determinan esta selección en orden de importancia son:

a) Características del Mercado de Consumo.- Basicamente el pro-- ducto final de la operación de esta planta se orienta hacia la - alimentación de ganado, la cual es actualmente de: cereales, le- gumbres, harina de pescado, harina de soya y suero de leche, es- tas tres últimas como fuentes principales de proteínas. En el -- Cuadro No. IX se muestran los precios actuales por kilogramo de proteína base seca, comunmente usadas en la industria forrajera, incluyendose a las proteínas unicelulares desarrolladas en este trabajo.

Los centros de distribución y proceso de forrajes normalmente es- tán instaladas en los inmediaciones de los focos ganaderos más - importantes. Estas compañías balancean alimentos específicos pa- ra los diferentes tipos de ganado, en los que necesariamente se incluyen proteínas. Para la determinación del mercado potencial- actual, en el Cuadro No. X, se presentan los requerimientos anua- les de proteínas por animal, tomados del patrón estadounidense - (27); asimismo la población ganadera para 1970, base proyectada- con un crecimiento anual del 4% (28); estos datos proporcionan - cifras elevadas, de un orden de 3 millones de Toneladas de pro-- teínas para 1976; cifra que se reduce a 0.47 millones de Tonela- das, para el mismo año al restringirse el mercado de consumo a - los estados citados en el cuadro No. XI, eminentemente ganaderos

FUENTE DE - PROTEINAS	CONTENIDO DE PROTEINAS % (BASE SECA)	PRECIO UNITA- RIO \$/Kg (1977)	PRECIO POR - KG DE PROTEI NA BASE SECA	OBSERVACIONES
Sorgo variedad mi- lo	11.0	1.90	17.30	Producción inconstante
Harina de so- ya desgrasada	50.0	10.50	21.00	Importación T. actualmente
Gluten de -- maíz	40.0	8.00	20.00	Producción insuficiente
Harina de -- copra	21.0	4.00	19.00	Producción insuficiente Baja digestibili- dad.
Suero Lácteo	13.0	12.00	92.30	Producción insuficiente salado
Harina de -- pescado	60.0	9.50	15.80	Producción insuficiente importación
Harina de carne	40.0	6.50	16.30	Producción insuficiente Baja digestibili- dad
Levadura de resescho cer- vecería - - amarga	40.0	6.80	17.00	Producción insuficiente
Proteína uni- celular de de reseschos celuló- sicos	50.0	7.50	15.00	Proyecto

Cuadro No. IX.- Análisis comparativo entre los precios por ki-
logramo de proteínas puras, de las diferentes-
fuentes mas usuales en la industria forrajera.

Ganado	Requerimientos Kg Prot./Año Ani. (27)	1970 (29) Miles de Cabezas	Consumo de Proteinas (Miles de Ton) (28)		
			1972	1976	1980
Bovino	227.0	4308	1057	1446	1691
Porcino	166.0	3354	602	704	823
Aves	7.35	63455	520	608	711
Otros	109.5	1768	209	244	285
		TOTAL	2388	3002	3510

Cuadro No. X.- Mercado Potencial de Proteinas para consumo animal -
en miles de Ton., anuales, proyectado en base a una
taza de crecimiento anual del 4%.

ESTADOS	PROTEINAS (Miles de Ton) Potencial local para ganado (1976).			
	Bovino	porcino	Otros	Total/Edo
Jalisco	98.2	74.5	13.66	186.36
Michoacán	69.26	63.4	9.4	142.06
Guanajuato	40.0	30.13	5.92	76.05
Nayarit	22.12	11.7	2.71	36.53
Colima	20.3	13.6	2.29	36.19
			TOTAL	477.20
			LOCAL	

Cuadro No. XI.- Mercado Potencial local en Miles de --
Toneladas de proteínas para los dife--
rentes tipos de ganado. (28) año.

y proximos entre sí. Este mercado potencial local representa un 13.6% del total nacional, dando una idea de las favorables perspectivas a futuro de una planta productora de proteínas instalada en esta zona.

Con esta planta no se pretende cubrir la demanda local total de proteínas para el consumo de ganado, debido a que por el momento no se podría prescindir de las otras fuentes de proteínas convencionales, de tal manera que cubriendo unicamente de manera tentativa el 2% del mercado total local, la planta produciría aproximadamente 10 000 toneladas anuales de proteínas, es decir 20 000 toneladas de proteínas de origen unicelular, considerando un 50% de contenido promedio de proteínas en este producto.

b) Características del mercado de abastecimiento.- La importancia de este factor se debe a que los costos de la materia prima están basados primordialmente en los costos de recolección y transporte, sin embargo, una vez limitado el radio de actividad, éstos se reducen considerablemente. Aunque esta reducción en el área de actividad trae como consecuencia una menor disponibilidad en el costo de la materia prima, no significa un factor limitante, ya que en el zona seleccionada se producen varios materiales celulósicos en volúmenes elevados como lo muestran las gráficas No. 2 y 3.

De los balances de materia correspondientes, para satisfacer la producción de proteínas unicelulares fijado, se requieren alrede

dor de 64 800 toneladas anuales de celulosa, lo que significa en tre 150 y 170 mil toneladas anuales de desecho celulósico en la base seca; donde, si se considera un 25% de humedad promedio, se procesarían 210 a 220 mil toneladas anuales de desecho celulósico en la base comercial, representando un 2.2% del total del mercado de suministro en la zona seleccionada.

De lo anterior se desprende la posibilidad de procesar únicamente uno de los materiales celulósicos desechados en la zona, cuya producción sería suficiente para satisfacer la demanda de esta - planta, pero ante la problemática que encierra la dependencia de una sólo materia prima básica, se decide por utilizar cuatro desechos distribuidos de la siguiente manera, el último de los cuales se usaría opcionalmente:

DESECHO CELULOSICO	MILES DE TON. ANUALES	%
Agave Tequilero	46 000	24.6
Olote de maíz	86 000	45.98
Bagazo de caña	55 000	29.42
Vaina de arroz	Ocasional	-
TOTAL	187 000	

Por lo que respecta a la localización de la planta, el punto central de la zona de operación seleccionada es el Estado de Jalisco, estado en que se produce casi la totalidad de agave tequilero, planta que a su vez se procesa en su mayoría en el municipio

de Tequila, Jalisco; este centro de procesamiento se encuentra - situado a unos 40 Km de la capital del Estado; por lo que localizando la planta en un punto intermedio, no sólo la proveería de suficiente materia prima, sino también de mano de obra, personal administrativo y técnico, además de otras materias primas; además de que se aprovecharían las obras de infraestructura existentes. Por otro lado se dispone de suficiente bagazo de caña, que se obtendría de los ingenios azucareros de Tala y Tamazula, también en operación en las inmediaciones de esta área.

Con esta selección quedarían resueltos los problemas de transporte de grandes volúmenes de materia prima a su centro de procesamiento, abatiendo al mínimo los costos de transporte que, de forma indirecta, son los costos reales de las materias primas en este proceso.

3.- SELECCION DEL MICROORGANISMO HIDROLIZADOR DE CELULOSA.

Para la hidrólisis enzimática de la celulosa natural que aquí se pretende, existen tres posibles fuentes de suministro de la enzima celulasa, estas son:

- a) Enzimas comerciales purificadas.
- b) Enzimas libres de las células propias del microorganismo que las produce.
- c) Enzimas generadas, incluyendo al microorganismo de que provienen.

Las enzimas perteneciente al primer grupo presentan ciertas des-
ventajas, tales como: que no se producen en México y su importa-
ción es difícil y costosa, su eficiencia es aún dudosa y no son-
regenerables, es decir, su consumo dependería del abastecimiento
de proveedores y no directamente del microorganismo productor. -
En cuanto a las enzimas libres de células Reed G. (22) pág. 89,
reporta hidrólisis realizadas en forma muy prolongada, por lo -
que pone en evidencia la eficiencia de este tipo de celulasas. -
La explicación a estas retardadas hidrólisis es que el sustrato-
vehículo, carece de algunas enzimas de las mencionadas en el ca-
pítulo anterior, esenciales para el logro de una hidrólisis eco-
nomicamente atractiva. Por otro lado la utilización de estas - -
enzimas libres de células, lleva implícita una operación más el
proceso, que es la separación mecánica del sustrato rico en enzi-
mas.

En cuanto a la tercer posible fuente de suministro, algunos in--
vestigadores (7, 12, 13, y 17), la confirman ^{es} como la más viable
económicamente, demostrandolo mediante experimentación.

Algunas de las ventajas reportadas para este tipo de enzimas son:
cortos períodos de hidrólisis, digestión total de celulosa, has-
ta glucosa y la posibilidad de tener una fuente practicamente --
inagotable de enzimas, mediante una cuidadosa reproducción del -
microorganismo generador. Por lo que en este trabajo se seleccio
na una fuente de enzimas pertenecientes a éste último grupo de -

enzimas.

Dentro de los microorganismos más estudiados de este grupo se encuentra un mutante (No. QM-9414) del hongo Trichoderma viride, - aislado con radiaciones en los Laboratorios de la Armada de los E.U.A. en Natick, Mass., el cual hasta la fecha ha demostrado la mayor eficiencia degradando celulosa nativa. Esta versatilidad - en su actividad y basandose en las investigaciones realizadas, - se tiene este mutante como el más atractivo para los fines que - aquí se persiguen.

Esta mutante de Trichoderma viride opera optimamente entre 45 -- 50°C y a un pH de 4.8 (7). Durante la hidrólisis no es necesario eliminar las células del sustrato rico en enzimas, debido a que este hongo no se desarrolla bajo estas condiciones de operación.

4.- SELECCION DEL MICROORGANISMO PRODUCTOR DE PROTEINAS.

Algunos de los autores citados (12) han propuesto que el mismo - microorganismo que digiere celulosa, puede desarrollarse en el - mismo sustrato que se ha propiciado, rico en carbohidratos asimilables, generando la correspondiente biomasa rica en proteínas. - Sin embargo la toxicología de estos microorganismos no ha sido - estudiada muy a fondo, así como su valor nutricional, los porcentajes de proteínas reportados no exceden a un 35% para el hongo - Trichoderma viride y contenidos similares para el hongo Aspergillus fumigatus, generado también después de hidrolizar un desecho.

En vista de que uno de los objetivos a cubrir en este trabajo es el de diversificar y canalizar la producción de proteínas unicelulares, mediante el aprovechamiento de varios desechos como sustratos, es necesario seleccionar un microorganismo capaz de desarrollarse en diferentes medios, Meller F.H. propone una levadura denominada Cándida utilis, este microorganismo, también conocido como Tórula utilis, ha sido desarrollado para la producción de proteínas unicelulares para consumo animal y humano a partir de los más variados sustratos; tales como hidrolizados de madera, suero de leche, melazas de caña, licor sulfítico de papeleras, bagazos y papel periódico; dada su habilidad para asimilar estas diferentes fuentes de carbohidratos, particularmente pentosas, constituyente importante de los azúcares viables en su reproducción. Las levaduras de panificación que también pueden ser viables para ser usadas como forrajes, carecen de esta propiedad de asimilación de pentosas; el mismo problema lo presentan las levaduras de cervecería, problema que las elimina de cualquier posibilidad para ser utilizadas en este trabajo.

Por otro lado el contenido de proteínas en la levadura propuesta es aproximadamente de 50% en base seca, además de ser una de las fuentes más socorridas del complejo vitamínico B. Aunque es posible utilizar bacterias para la generación de proteínas unicelulares, para el caso particular del proceso que se desarrolla aquí, se selecciona la levadura Cándida utilis, debido a que se conocen

los contenidos de proteínas para alimentación animal y a su frecuente uso como fuente vitamínica para consumo humano, además - que desde el punto de vista toxicológico, proporciona una seguridad absoluta. Sus células son de mayor tamaño, que las de otros microorganismos, ventaja que se refleja en los costos de separación por centrifugación y manejo.

5.- INGENIERIA DEL PROCESO.

Descripción y Cálculo del Equipo.

La ingeniería del proceso, está basada en la adaptación y complementación de los procesos ya existentes; aunque también se han usado otros criterios, tales, como, la experiencia en el trabajo práctico, así como la información directa proporcionada por personas experimentadas.

En base al diagrama de flujo general Fig. No. 4 se describirán - cada una de las operaciones desarrolladas, el equipo requerido - para cada una y los resultados numéricos obtenidos de los balances de materia y energía necesarios para el cálculo del equipo, - asimismo los criterios utilizados para cada caso.

[MATERIAS PRIMAS.- De acuerdo a las condiciones naturales en las que se encuentran los desechos celulósicos elegidos como materia prima, los cuales presentan un gran contenido de humedad, se hace necesario su procesamiento inmediato.]

Estas materias primas se entregarán en la planta a granel en sacos de yute, con un contenido de entre 40 - 60 Kg/saco, transpor

tados en camiones de redilas de tal manera de que por cada camión se tengan entregas de 20 Toneladas.

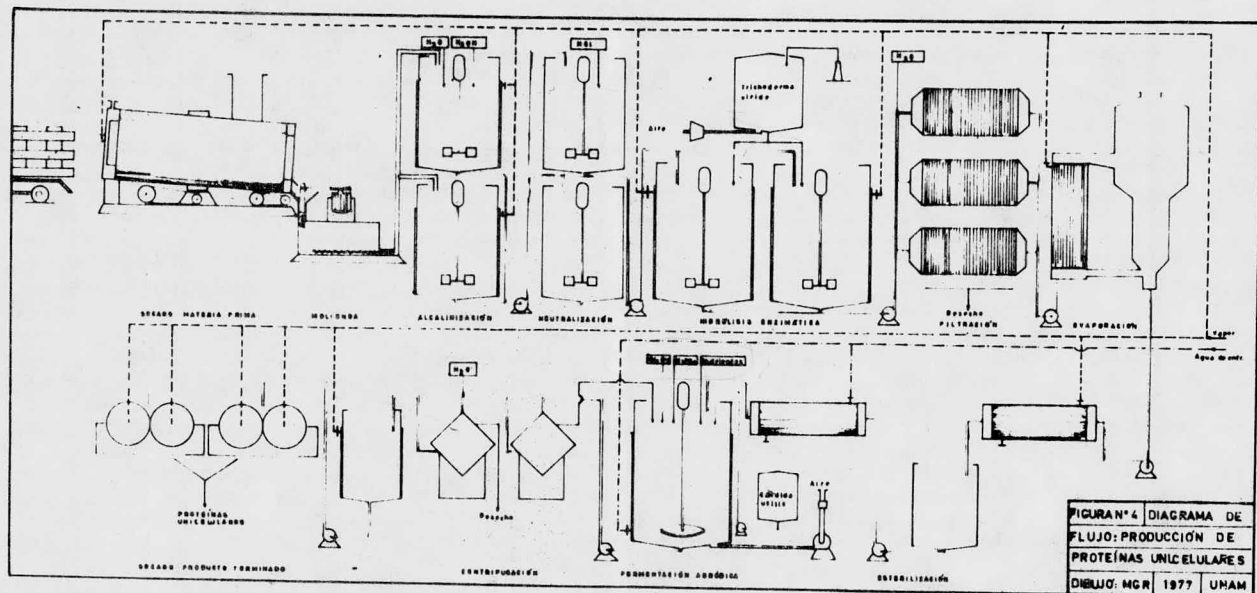
Ya que esta planta se ha diseñado para trabajar 300 días/año y 24 horas/día, se requieren para el volúmen de producción seleccionado: 64 800 Ton., de celulosa/ año en base seca distribuido entre los diferentes materiales celulósicos, en función de sus contenidos de celulosa y humedad de la siguiente forma:

MATERIAL CELULOSICO	CONTRIBUCION (%)	TON CELULOSA/AÑO	TON DESECHO/AÑO
Agave Tequilero	39	24 800	46 000
Bagazo de Caña	37	24 000	86 000
Olote de Maíz	24	16 000	55 000
TOTAL		64 800	187 000

Como se observa el volúmen de celulosa proviene de 187 000 Ton/año de material celulósico en la base comercial, los cuales distribuidos para cada día del año laboral representan 620 Ton/día, de tal manera que se requerirán 32 camiones diarios, con las especificaciones antes mencionadas.

En vista de que el material crítico en cuanto a su contenido de humedad (45%), así como el mayor volúmen a procesar es el bagazo de caña, se toma como base para los balances de materia de las siguientes operaciones.

SECADO DEL MATERIAL CELULOSICO.- Esta operación se considera imprescindible, ya que mediante ella se preserva a las materias primas de descomposiciones provocadas por exeso de humedad, ya -



sea que se usen de inmediato o se almacenen.

Debido a los grandes volúmenes manejados en esta operación, es -
necesaria la selección de un secador que funcione bajo estas con-
diciones satisfactoriamente; tal es el caso de un secador de tam-
bor con tubos de vapor, rotatorio, consistiendo basicamente en -
un banco de tubos sujetos mediante dos espejos en los extremos -
de un tambor que contiene a todo el conjunto; todo el secador -
presenta una inclinación apropiada para que el material a secar-
se deslice libremente.

Por los tubos del secador pasa vapor a una presión de 7 Kg/cm^2 ,
por la parte externa a los tubos se introduce el material celuló-
sico húmedo, que logra evaporar el agua contenida a expensas del
contacto directo con los tubos de vapor calientes. El requeri- -
miento de vapor circulando por los tubos es de 11.66 Ton/hr. Me-
diante el vapor de calentamiento se podrán evaporar 10.34 Ton.,
de agua/hr., mismas que se liberarán a través de un tiro natural
(chimenea 15 m. de alto) para evitar arrastres y que provienen -
de 25.8 Ton/hr de material celulósico húmedo (45%), con esta eva-
poración se logra una humedad final del producto de 10%, humedad
máxima permisible para molerlo en la siguiente operación. De - -
acuerdo al balance de material para el secador se obtiene - - -
15.76 Ton/hr., de material celulósico seco.

Para el cálculo termodinámico del secador, se efectuó un balance
de calor. Considerando una temperatura de entrada de los sólidos



de 20°C (temperatura ambiente) y una temperatura de salida estimada de 80°C, evaluada esta última para mantener el producto sin quemarlo y siendo la misma a la que sale el agua evaporada del sólido. A estas condiciones se calculó un calor total intercambiado de 7,454,544 kcal/hr. Para este tipo de equipo a las condiciones de operación propuestas, la literatura recomienda un coeficiente total de transferencia de calor de 100 kcal/°C hr m² - (30) pág. 20-27, con el cual se calcula una área de transferencia de calor de 663.71 m², distribuída en 90 tubos de 20.06 m de longitud y un diámetro de 0.114 m y contenidos en una coraza de 2.43 m de diámetro y una longitud de 21 m incluyendo los espejos que sostienen al banco de tubos (30) pág. 20-28 tabla 20-12.

Todo el sistema gira a una velocidad de 3 rpm utilizando un motor de 20 HP, presentando una inclinación de 2.5° de tal manera que se logra un tiempo de residencia de los materiales celulósicos de 12 min. (30) pág. 20, 25, 27.

El secador en su totalidad está constituido de acero al carbón, ocupado en un 18% por concepto de tubos, en un 20% por producto y el resto vapor, por desalojar mediante el tiro mencionado.

MOLIENDA DEL MATERIAL SECO.- Una vez seco el producto puede almacenarse o bien pasar a un molino desintegrador del tipo Reitz Modelo RI-4 de construcción de acero al carbón, con un motor de 80 HP girando el rotor, de 24 pulgadas, a 2500 rpm (30) pag. 8-35.

El fin de esta molienda es fraccionar el producto para que los -

agentes alcalinizantes y el agua penetren con más facilidad.

El molino tiene una capacidad nominal de 20 Ton/hr aunque sólo opera 15.8 Ton/hr de material seco (humedad 10%) a una temperatura de 80°C, mismo que se desintegra desde un tamaño de partícula de 2-10 cm. de largo hasta una malla de 5 a 10.

Ya molida la materia prima, es posible almacenarla en una tolva de acero al carbón que alimentará alternadamente a los tanques alcalinizadores de la siguiente operación.

ALCALINIZACION. - Tiene por objeto degradar el material celulósico, para permitir el ataque enzimático posterior.

Una vez molido el producto se lleva por un transportador mecánico de gusano (sinfín) hasta un ciclón, el cual va a alimentar 15.8 Ton/hr de producto molido y seco alternadamente a dos tanques alcalinizadores, ya que cada carga por tanque emplea una hora entre la alcalinización propiamente dicha y la descarga al siguiente equipo; en esta hora de operación uno de los tanques, el otro está recibiendo la carga de 15.8 Ton. del ciclón.

Cada unidad alcalinizadora trabaja de igual manera, está compuesta por un tanque cilíndrico de acero inoxidable para evitar reacciones indeseables con el álcali y corrosión, es atmosférico, con tapa y fondo toriesféricos, agitados y con una capacidad nominal de 40 000 litros, seleccionado en base al volúmen de operación.

Para calcular el volúmen de operación se tomaron en considera-

ción los siguientes factores: para la alcalinización se usa sosa comercial del 50% diluida a una concentración de 0.1 Ton de -- NaOH/Ton producto seco, para que de esta manera se logre un pH entre 9 y 11. De acuerdo con el balance de material, en cada tanque se calcula una masa de 1.5 Ton/hr de NaOH, logrando una concentración dentro del tanque de 0.2 Ton de producto seco/Ton de NaOH + agua, de tal manera que se requerirán 18 Ton/hr de agua para la dilución.

Sumando los volumens de material seco, sosa y agua de dilución se obtiene un volúmen de operación de 35 000 litros aproximadamente.

Para que se lleve a cabo la alcalinización, es necesario mantener una temperatura de 100°C en la solución, la cual se logra mediante una chaqueta por la que circulan 3.25 Ton de vapor/hr a una presión de 2 Kg/cm², mediante el cual se suministra un calor de 2,100,000 Kcal/hr, con lo que se logra llevar el producto desde 25°C hasta la temperatura de operación.

Para mantener una concentración constante a lo largo de la operación de alcalinización se usa un agitador provisto de un motor de 3 HP.

Las dimensiones de cada tanque hidrolizador se calcularon a expensas del volúmen de operación y por información directa, de tal manera que se obtiene un diámetro del cilindro de 3.3 m por una altura de 4.88 m. Los volumenes que salen de cada hidroliza-

dor se pasan hasta el neutralizador, mediante bombas centrifugas de acero inoxidable, manejando cada bomba 18 000 litros de solución/hr; de tal manera que se utilizarán dos bombas para la operación.

NEUTRALIZACION.- La finalidad de esta operación es la de abatir el pH de la solución de 10 a 4.5-4.8; pH de operación de la hidrólisis enzimática.

Cada uno de los alcalinizadores descarga a un neutralizador de sus mismas dimensiones, ya que no se consideran pérdidas. Como la neutralización lleva el mismo tiempo que la alcalinización (1hora), se utilizan dos neutralizadores, con el fin de darle continuidad al proceso.

La neutralización se lleva a cabo con HCl comercial al 36%, requiriéndose de 1.8 a 2 Ton/hr. Cada tanque neutralizador debe desalojar su volumen de operación (35 000 litros) en una hora, para dar paso a la siguiente carga.

Para llevar el producto neutralizado hasta el tanque de hidrólisis, se requieren dos bombas (una para cada neutralizador), manejando los mismos gastos que las usadas en los neutralizadores.

HIDROLISIS DE LA CELULOSA.- Una vez pretratado y neutralizado el material, se procede a hidrolizar la celulosa contenida, para lo cual se ha seleccionado el método enzimático; este tratamiento es selectivo y se lleva a condiciones de pH y temperatura tales que, el microorganismos Trichoderma viride no se desarrolle, pe-

ro su enzima opere en el óptimo.

Para esta operación se recibe un flujo de 35 000 litros/hr de -- una suspensión conteniendo alrededor de 20% de sólidos insolubles, mismos que contienen un promedio de 55% de celulosa pura, el resto: hemicelulosa y lignina que han sido desintegradas y solubilizadas en el pretratamiento alcalino. La celulosa por su parte se encuentra hinchada y lista para la sacarificación o hidrólisis, Brandt D. y col (14).

Con la misma enzima que aquí se propone, se encuentra que con un tiempo de reacción de 4 horas, se logra una sacarificación bastante aceptable: 60% aproximadamente, mientras que incrementando este tiempo a 24 horas, apenas se alcanza un 10% más. Todo esto se logra si se opera en tanques agitados a una temperatura de -- 50°C y un pH de 4.8, utilizando concentraciones de enzima de 0.5 a 1.0 g/litro de sustrato; sin embargo con objeto de asegurar estos rendimientos, se propone una concentración del caldo enzimático de 1.5 g/litro, concordante con Spanò y Madeiros (7).

Con estas bases y según el balance de materia, se hacen necesarios, previos a la hidrólisis dos tanques receptores, con capacidad nominal de 80 000 litros y volumen de operación de 70 000 -- litros, cada uno de acero al carbón y atmosféricos, estos tanques tienen el objeto de darle mayor continuidad al proceso, es decir que las operaciones previas a la hidrólisis, no se vean afectadas por los períodos prolongados de hidrólisis.

Los tanques receptores alimentarán a su vez a dos reactores, donde se lleva a cabo la hidrólisis propiamente dicha.

Cada tanque hidrolizador tiene una capacidad nominal de 80 000 - litros y un volúmen de operación de 70 000 litros, construídos - en acero al carbón y habiendo calculado un diámetro de 4.2 me- - tros y una altura de 5.9 metros, para una forma cilíndrica, con- - tapa y fondo toriesféricos, abiertos a la atmósfera, provistos - de chaqueta de vapor para mantener la temperatura a 50°C, duran- - te 4 hrs. y manteniendo la agitación a 330 rpm, mediante un agi- - tador de 5 HP. Mediante un balance de calor se calculó un calor - intercambiado de 2 975 000 kcal/hr, proporcionado por 4 605 Kg - de vapor/hr a 2 Kg de presión manométrica en la chaqueta.

Concluídas las 4 horas de reacción requeridas, la conversión se- - rá de 11 Kg de celulosa/100 litros de sustrato que se transforma - rán en 6.6 Kg de glucosa/100 litros de fluido, es decir, la ope- - ración del reactor de hidrólisis será de 2.3 Ton de glucosa/hr - aproximadamente.

PREPARACION DEL CALDO ENZIMATICO.- Para suministrar al reactor - de hidrólisis la cantidad requerida de enzimas, deben propiciarse - poblaciones relativamente altas que se generen en la planta - misma, mediante cultivos sucesivos que se inician en el laborato- - rio y concluyen en fermentadores aeróbicos de 500 litros.

En el laboratorio de microbiología la cepa original del hongo -- productor de celulosa se conserva en refrigeración y se evita --

cualquier posible contaminación que pudiera degenerar su metabolismo característico, observando que siempre su pureza, morfología y viabilidad permanezcan inalterables. Normalmente se preserva la cepa en tubos de ensaye de donde se extraé una colonia que pasará del estado vegetativo original al estado activo de reproducción que aquí se requiere, esta primera estapa se realiza en matraces de un litro perfectamente aereados con agitación en un medio de cultivo, con los siguientes constituyentes (12):

Fosfato dipotásico.....	2.0 g
Sulfato de amonio.....	1.4 g
Urea	0.3 g
Sulfato de magnesio	0.3 g
Cloruro de calcio	0.3 g
Extracto de levadura (USP)	0.5 g
Solución de elementos traza	1.0 ml
Agua destilada para un litro de solución.	

De donde un litro de elementos traza contiene 1.5 g de sulfato de manganeso, 5.0 g de sulfato férrico, 1.67 g de cloruro de zinc y 2.0 g de cloruro cobalto. Como fuente de carbono se adiciona el material celulósico en una concentración de 2%. Bajo condiciones aeróbicas, a un pH de 4.0 y 27°C (12, 13), el hongo Trichoderma viride unicamente se reproduce.

Al cabo de 24 horas cada preparación, en matraces, se inocula en fermentadores de 5 litros, también aeróbicos y con la misma pro-

porción de nutrientes, sólo que con cantidades globales superiores. Al cabo de un tiempo similar, cada fermentador pequeño se inocula en otro de 50 litros con el mismo criterio anterior sólo que la concentración del material celulósico se duplica, (en este caso 4%) una vez lograda la población deseada se inocula un fermentador de 500 litros, aeróbico, donde ya no es necesario -- agregar extracto de levadura y la concentración del desecho celulósico se vuelve a duplicar (8%).

Este caldo enzimático al cambiar sus condiciones de operación -- en el reactor de hidrólisis: pH 4.8, 50°C, condiciones anaeróbicas, ausencia de nutrientes y sólo presencia de material celulósico, cesará su desarrollo para permitir que las enzimas celulosas producidas, actúen directamente sobre el sustrato.

Wilke y Yang (13) mencionan la posibilidad de recuperar de 50 a 55% de la enzima inicial, mediante una recirculación y adsorción en el mismo material celulósico.

La productividad de la enzima, en términos de sacarificación ó transformación de celulosa en glucosa, se reporta que fluctúa en tre un 50 y un 80% (13) pág. 14, dependiendo de la calidad del pretratamiento a que se ha sometido el material celulósico, de aquí que se opte que por un 60% para los cálculos del equipo requerido.

Estabilidad de la enzima.- Las condiciones óptimas de operación de la enzima se establece que son: 45-50°C, pH de 4.5-4.8 a tem-

peraturas inferiores sólo se disminuirá su productividad, lo mismo que a superiores hasta 75°C, temperatura a la que se desnatura liza y desestabiliza totalmente (10,11), a un pH fuera de este rango, su productividad disminuye notablemente, pero se desconoce si su desestabilización sea irreversible.

FILTRACION.- Una vez concluida la sacarificación de celulosa e hidrólisis enzimática de la misma, es necesario separar la fracción fibrosa no reaccionada. Ya que los volúmenes manejados en esta operación son tan grandes, se seleccionan filtros-prensa de marcos y placas como los dispositivos más adecuados para estas separaciones además de que son utilizados comúnmente en la industria alimentaria. Se requiere de tres unidades completas, formadas cada una por 25 placas de 1.2 m x 1.2 m x 7.62 cm, calculándose en estas dimensiones una área de filtrado de 108 m² totales. Cada filtro maneja alrededor de 11,700 litros/hr de solución con 80% de agua, 10% de sólidos solubles y 10% de sólidos insolubles, deteniendo 7 Ton/hr de fibra que no reaccionó con un contenido de humedad del 50%, considerándole una densidad de 1.8 Kg/l., se calcula un volumen total de 3.8 m³. Esta fibra puede recircularse previo lavado con 3.5 Ton/hr de agua, para sostener los rendimientos, obteniéndose al final de la operación un flujo constante de entre 30 000 y 31 000 l/hr de filtrado claro.

Cada filtro trabaja únicamente una hora, llevándose media hora -

para el lavado.

Los filtros prensa son de cabezal fijo y de cierre hidráulico y su construcción de acero al carbón.

EVAPORACION. Los volúmenes manejados antes de esta operación -- son muy grandes, debido a que la hidrólisis debe desarrollarse a una dilución muy alta. Una manera práctica de reducir estos volúmenes, es someter el jarabe a una evaporación al vacío, que se incluye aquí y no antes de la filtración. dada la abrasividad de la fibra que no reacciona.

La evaporación puede llevarse a cabo, desde una concentración de jarabe, rico en glucosa de 11% de sólidos solubles (unicos presentes en este paso) hasta 20%, concentración máxima permisible, según Meller (9), para la fermentación posterior, en la que se producirán las proteínas unicelulares, utilizando la levadura Cándida utilis.

Para esta evaporación se ha seleccionado un evaporador de tubos largos verticales con calandria adyacente, en construcción de acero inoxidable y que recibe el filtrado mediante una bomba que maneja un volumen total, saliendo de los filtros de 31 000 l/hr aproximadamente.

En este paso se han de evaporar entre 13 y 14 000 Kg de agua/hora, liberando de esta menra 17,000 Kg de licor/hr. con una concentración de 20% para lo cual se requieren desalojar 9,103,200-Kcal/hr, calentandose el producto desde unos 40°C aproximadamen-

te, hasta 55°C, mediante el uso de 13,792 Kg/hr vapor a 169°C por el lado de la coraza resultando para esto una área de transferencia de calor de 44 m², distribuída en 66 tubos de 0.076 m (3 in) de diámetro y 3.05 m (10 pies) de largo, se llegó a este cálculo empleando un coeficiente de total de transferencia de calor, U - de 1900 Kcal/hr m² °C, propuesta para este tipo de evaporadores-manejando sustancias similares (30) pág. 11-32.

Se consideró un vacío de 500 mmHg y un APE máximo de 3°C (Dato - para soluciones de glucosa a estas concentraciones).

Oviamente podrían obtenerse mejores resultados para esta operación, utilizando un evaporador de múltiple efecto, pero para los fines que aquí se persiguen es suficiente con los datos que se proporcionan.

ESTERILIZACION.- El jarabe que sale del evaporador se somete a una esterilización para que pueda usarse sin riesgos de contaminación con microorganismos indeseables.

Esta esterilización consiste en llevar el producto a una temperatura elevada, para posteriormente enfriarlo a la temperatura de operación del siguiente equipo, misma que corresponde a la temperatura óptima de desarrollo de los microorganismos productores de proteínas unicelulares.

Tanto el calentamiento, como el enfriamiento se llevan a cabo en intercambiadores de calor, con tubos de acero inoxidable, entre el calentador y el enfriador se encuentra un tanque de acero - -

inoxidable, cuya finalidad es procurar una operación continua -- de ambos equipos.

Calentador.- El evaporador recibe la carga integra del evaporador de 17 000 l/hr de jarabe (20% de solidos) a 55°C, pasando -- por los tubos del intercambiador y calentandose hasta 90°C mediante el uso de 2,184 Kg/hr de vapor pasando por la coraza y a una presión de 2 Kg/cm². Bajo estas condiciones y evaluando el Cp para la solución igual a 0.85 Kcal/°C Kg y la densidad de -- 1.03 Kg/l (30) pág. 3-125 se encuentra un calor total transferido de 505,750 Kcal/hr.

El área requerida para este intercambiador de calor se calcula, tomando una U de diseño recomendada de 1952 Kcal/hr m²°C y resultó ser de 5.78 m², distribuída en 10 tubos, dispuestos en un paso y teniendo un diámetro de 0.05 m (2 pulg) y 3 m (10 pies) de largo, arreglados en un pitch triangular y definiendose un diámetro de la coraza de 0.33 m (12 pulg).

Tanque de balance entre el calentador y el enfriador.- El tanque de balance es también de acero inoxidable, cerrado, atmosférico y aislado con una cubierta de asbesto de 1.5 pulg de espesor, -- con el fin de mantener su contenido a una temperatura de 90°C. -- Es un tanque cilindrico con tapa y fondo toriesféricos, con un volumen nominal de 20 000 l, dimensionado de la siguiente forma: Diámetro de 2.8 m y largo 3.2 m.

Enfriador.- El enfriador recibe 17 000 l/hr de solución a 90°C -

pasando por el lado de los tubos y enfriándose hasta 30°C, mediante 17 340 Kg/hr de agua de enfriamiento, entrando a 20°C y calentándose hasta 70°C, disipándose un calor de 867 000 Kcal/hr. El coeficiente total de transferencia de calor considerado para este equipo es de 1 500 Kcal/hr m²°C (31) correspondiéndole una área de transferencia de calor 10.77 m distribuída en 18 tubos de 0.05 m (2 pulg) de diámetro y 3 m (10 pies) de largo, dentro de una coraza de 0.38 m (14 pulg) de diámetro, también el enfriador es de un paso y los tubos se encuentran arreglados en un pitch triangular.

FERMENTACION.- Una vez evaporada y esterilizada la solución rica en glucosa, se procede a utilizarla como fuente de carbono para su conversión bioquímica en proteínas unicelulares.

La fermentación llevada a cabo es aeróbica en la que se desarrolla una alta población de células; levaduras del género Candida utilis. En este caso, esta propagación, por ser la parte más importante en el proceso, se describirá con más detalles, aunque la veracidad de la información que aquí se dá, está sujeta a las pruebas experimentales recomendables en este caso.

a) Conservación y Mantenimiento de la Cepa.- Antes de entrar en este punto, es de gran importancia mencionar las fuentes de obtención de los microorganismos; estos se distribuyen gratuitamente, para efectos de investigación, pero para fines comerciales: Rhodes y col. (32) pág. 45-46, citan doce instituciones que se -

dedican a mantener y distribuir estos materiales.

La importancia de conservar adecuadamente una cepa, se refleja en los rendimientos de los productos deseados y en las características de los mismos, por lo que el degenerar la constitución genética de la cepa, es el equivalente a degenerar los productos deseados; de aquí la vital importancia de mantenerla en condiciones que preserven su viabilidad, situación que conduce a la necesidad de un laboratorio de microbiología permanentemente a la expectativa de renovar las cepas correspondientes, una vez que se consideren obsoletas.

b) Propagaciones sucesivas.- Toda propagación de microorganismos se inicia con una célula o con una pocas, los aspectos detallados de la operación se describen en la literatura (31) Cáp. VI - Estas propagaciones se desarrollan en un principio en medios de cultivo y nutrientes químicamente puros y se propagan sucesivamente, de matraces a fermentadores de laboratorio de 3 y 6 litros, para condicionar poco a poco al microorganismo a asimilar el sustrato final con que ha de encontrarse, asimismo con las condiciones de operación y nutrientes. Otro punto importante en este paso es acumular cada vez una población mayor, para pasar a volúmenes de fermentación industriales.

c) Inóculo Industrial.- Durante el arranque de la planta toda población de levaduras tendrá que proveerse de las propagaciones sucesivas realizadas en el laboratorio, por lo que debido a la

pequeña escala del equipo con que se cuenta, los tiempos tomados para estas propagaciones serán muy prolongados. Una vez en operación normal, los volúmenes de inóculo, normalmente un 10% del total a fermentar, provendrán siempre de la fermentación inmediata anterior o bien del producto lavado y listo para secarse, no obstante, con el objeto de no restarle continuidad al proceso, en el tanque de inóculo se respetará el 10% del volumen total del fermentador.

Estos ciclos de reutilización de levadura como inóculo para nuevas fermentaciones, se podrán realizar el número de veces que el laboratorio de microbiología determine pertinente, en términos de levaduras viables a reproducirse. En industrias similares, el número de ciclos varía entre 10 y 15 dependiendo de la resistencia de la cepa, el cuidado con que se maneje y sus condiciones de operación específicas.

d) Volumen de fermentación.- Para efectos del cálculo del equipo, este volumen se calcula en función de la concentración de azúcares alimentados, el rendimiento esperado y de la población factible de levaduras en un litro de fermentador generado en una hora.

Así, se reciben 17,000 l/hr de solución al 20% de glucosa al fermentador, de tal manera que se tienen 3,400 Kg/hr de glucosa, la cual se convierte bioquímicamente en sólo un 50% de levaduras en base seca, es decir 1,700 Kg/hr (el 50 % restante se toma como -

energía, la requerida para esta conversión), Meller F.H. (9) pág. 99, menciona que para esta levadura se puede tener como máximo - 30.8 g. de levadura seca por litro de fermentador cada hora, para alimentaciones no diluidas como en este caso (20% de glucosa). Así, se calcula que $1,700/0.0308 = 55,194$ litros de fermentador. Previendo expansiones en el volúmen, debido a formaciones de gas CO_2 , como espuma, se toma como un márgen de seguridad el 80%, de tal manera que el volúmen nominal del fermentador será de un total de 100,000 litros, tratandose de un tanque cilindrico de acero inoxidable, cerrado y atomosférico, con una chaqueta por donde circula agua de enfriamiento. Tiene un diámetro de 4.64 m y - 6.0 m de altura y está provisto de un agitador con propelas especiales (32) Cáp. 2, cuya función es dividir finamente el aire que se introduce por el fondo. El tanque además tiene cuatro placas de flectoras perpendiculares a la pared del fermentador para obtener una mayor turbulencia; está instrumentado de una forma - más o menos sencilla: registros de temperatura y pH, parámetros vitales de cuyo control dependen los rendimientos de esta operación.

e) Nutrientes.- Estos se dosifican en función de la cantidad de carbono a convertir y a la composición media reportada en la literatura de la levadura Cándida utilis. Estos nutrientes se deben suministrar preferentemente en solución acuosa en las siguientes cantidades, calculadas estequiometricamente.

Amoniaco	175 Kg/hr
Acido Fosfórico	60 Kg/hr
Sulfato de potasio	150 Kg/hr

Además de la adición de un bactericida a un régimen de 2 a 2.5 - gramos por hora y algún aceite vegetal (de soya por ejemplo) como controlador de la espuma natural que se forma. Algunos autores citan como indispensable la adición de alguna sal de fierro- y de manganeso en concentraciones muy bajas.

f) Aereación.- La unidad fermentadora debe proveerse de algún -- dispositivo: tubos y placas perforados, para distribuir unifor-- mente el aire indispensable para la propagación de levaduras, es te aire, vehículo de oxígeno, debe suministrarse (9) pág. 101 a - una relación de un volúmen de aire por volúmen de fermentador ca da minuto y entregarse como mínimo a 1.5 Kg/cm^2 para poder ven-- cer la caída de presión presente. Debido a que este aire se pon-- drá en contacto íntimo con el sustrato, es necesario utilizar -- filtros de aire en la succión del soplador, mismo que manejará - $6,000 \text{ m}^3/\text{hr}$ a 25°C , seleccionando, para estos efectos, un soplador de lóbulos.

g) Condiciones de operación.- La operación se realiza a 30°C y a un pH de 4.0 a 4.5, ajustado durante la misma con ácido fosfórico o con amoniaco. Esta reacción es exotérmica y es necesario -- (9) pag. 110, desalojar 3.93×10^6 Kcal/Ton de levadura produci-- da, para lo que se requieren $260 \text{ m}^3/\text{hr}$ de agua de enfriamiento a

25°C.

h) Producción de levaduras.- De acuerdo a los rendimientos estimados, la producción de levadura será de 1.7 Ton/hr en base seca y para una población óptima de 100 g de levadura seca/litro con un tiempo de residencia de 3 hrs. y desalojandose un gasto del fermentador de 17 000 litros/hr.

CENTRIFUGACION.- Una vez terminada la propagación aeróbica y lograda la concentración óptima (10% de levaduras), se procede a la cosecha o separación de las células ricas en proteínas; esta operación se llevaría a cabo en una máquina separadora centrífuga de tazón y platos con descarga continua de lodos. Esta máquina aprovecha la ligera diferencia de densidades existente entre la fase ligera: solución acuosa de nutrientes y carbohidratos -- que no reaccionaron, y la fase pesada: células de levaduras ricas en proteínas; con lo que es factible recircular la fase ligera al fermentador en forma continua; a su vez, la fase pesada se pondrá en contacto con una cantidad de agua igual a la fracción ligera separada, para pasar a otra máquina centrífuga separadora de las mismas características y dejar finalmente la fracción pesada libre de impurezas. Dunlap y col. (18), recomiendan el uso de un floculante para facilitar esta operación. Ambas máquinas -- deberá operar en un rango de 15 a 20,000 litros por hora en la alimentación y para las máquinas Alfa Laval con un promedio de 50% de separación, es decir, el mismo flujo se producirá tanto --

de la fase ligera, como de la fase pesada. De esta forma entregará entre 8 y 9 000 litros/hr de una suspensión viscosa (fase pesada) de aspecto cremoso que contiene entre 25 y 30% de sólidos totales. (18).

TANQUE DE SUSPENSION.- Aquí se calienta la suspensión viscosa de células con vapor directo hasta 90°C, con el objeto de facilitar el secado de la siguiente operación y así como inactivar las enzimas propias de las levaduras.

SECADOR FINAL.- Una vez cosechadas las células de levadura ricas en proteínas es necesario ahora secarlas para que finalmente salgan al mercado de consumo, para esta operación es recomendable un secador de tambores, equipo usual en el secado de materias para la industria alimentaria, el producto obtenido en forma de hojuelas, podría molerse posteriormente hasta un polvo fino si así se requiriera. El secador consiste de dos cilindros horizontales rotatorios, calentados interiormente con vapor, la suspensión se distribuye por fuera de los cilindros y en la parte superior, de tal manera que al caer sobre los cilindros calientes se adhiera a estos y rote con ellos, después de dar aproximadamente 3/4 de vuelta se desprenda mediante dos cuchillas situadas por encima y a los lados de cada tambor.

El secador recibe un promedio de 8 500 litros/hr de suspensión - aproximadamente 9 Ton/hr, que a una concentración promedio de - 27.5 % de sólidos producen, después del secado 2.55 Ton de leva-

dura base comercial cada hora, es decir con una humedad de 5% -- (2.4 Ton/hr base seca) Produciéndose una evaporación de 6.45 Ton de agua/hr, a expensas de un suministro de 6.25 Ton/hr de vapor a 4.5 Kg/cm² de presión. De tal manera que se intercambia una -- cantidad de calor de 4.09×10^6 Kcal/hr, evaluando según Foust y Wenzel (31) pág. 339 para una U de 800 Kcal/hr m² °C una área de secado de 89 m², estimando una temperatura de entrada del producto de 90°C. Para esta área requerida se decide por el uso de dos unidades de secado con una área para cada cilindro de 22.5 m² - distribuída en un diámetro de 1.8 m y 4 m de longitud. Cada uno de los cilindros gira a 3 r p m para lo que se requiere un motor de 30 HP (31). Construcción de acero al carbón.

EMPAQUE.- Para esta operación se requiere de una tolva de almacenaje con capacidad para recibir 2.5 Ton/hr de producto seco, mismo que se envasará en sacos de papel de 25 Kg/saco, llenándose - en una hora un número de 100 sacos listos para salir al almacende la planta, o bien directamente al mercado de consumo.

C A P I T U L O I V

ESTIMACION DE COSTOS

1.- Inversión fija requerida y Capital de trabajo.

Para hacer materialmente posible el proyecto que aquí se plantea, es necesario hacer una estimación de los recursos con que se debe contar para llevarlo a cabo; estos recursos se agrupan en dos conceptos: los que se requieren para la adquisición e instalación de la planta y los necesarios para que la planta opere. A los primeros se les conoce como inversión fija y sólo se efectúan una vez, cuando es instalada la planta y a los segundos se les denomina capital de trabajo y son los que se necesitan para que la planta opere.

Estimación de la Inversión Fija

Los renglones que se consideran en este trabajo para la estimación de la inversión fija son: Costo del equipo y tubería, instalación del equipo, instrumentación, costo del terreno, obra civil y transportes.

Estos costos se evalúan según los patrones que se encuentran en la literatura (33) y actualizados a la fecha, además de la información directa proporcionada por fabricantes de equipo. Para este fin el cuadro No. XII, muestra una descripción detallada del equipo requerido, el número de unidades, el costo por unidad y -

No.	DESCRIPCION DEL EQUIPO	COSTO UNITARIO (miles de \$)	COSTO TOTAL (miles de \$)
4	Camión de redilas con capacidad de 20 Ton.	225.00	900.00
1	<p>Secador rotatorio de calefacción indirecta, mediante tubos de vapor (a 7 Kg/cm²). Construcción de acero al carbón. Chimenea de 15m de altura.</p> <p>No. de tubos: 90 Diámetro de los tubos: 0.114m -- (4.5") Longitud de los tubos: 20.06m (60') Diámetro del secador: 2.43m (8') Longitud del secador: 21m Area de transferencia: 664m² Cap. de evaporación: 10.3 Ton/hr Cap. del motor: 30 HP</p>	3 000.00	3 000.00
1	<p>Molino desintegrador del tipo - Reitz.</p> <p>Construcción en acero al carbón- Cap. del motor: 80 HP y 2 500 rpm Diámetro del rotor: 0.609m (24") Cap. 15 Ton/hr Con elevador neumático a 10m y - ciclón separador</p>	1 000.00	1 000.00
4	<p>Tanques agitados y enchaquetados Vol. nominal: 40 000 litros Diámetro: 3.5m Altura: 4.88m Chaqueta de vapor a 2 Kg/cm² Agitador: 3 HP Condiciones de operación: pH: 9-11 T: 100°C Construcción en acero inoxidable, 1/4" espesor.</p>	150.00	600.00
12	<p>Bombas centrifugas Motor: 3 HP Gasto a manejar: 15 - 20 000 litros hr.</p>	30.00	360.00

No.	DESCRIPCION DEL EQUIPO	COSTO UNITARIO (miles de \$)	COSTO TOTAL (miles de \$)
	Evaporación: 13-14 000 Kg agua/hr No. de Tubos: 66 Diámetro de los tubos: 0.076m (3") Longitud de los tubos: 3.05m (10') Area de transferencia: 44m ²	1 350.00	1 350.00
1	Cambiador de calor con tubos de acero inoxidable, 1 paso. Tubos: producto a T: 55-90°C Coraza: Vapor a P = 2 Kg/cm ² 119°C Masa de producto: 17 Ton/hr Masa de vapor: 783.13 Kg/hr No. de tubos: 10 Diámetro de tubos: 0.05m (2") Longitud de tubos: 3.05m (10') Area de transferencia: 5.78m ² Diámetro de la calandria: 0.25m	70.00	70.00
1	Tanque de balance de acero inoxidable aislado con asbesto de 0.038m de espesor, tapa y fondo toriesféricos Vol. Nominal: 20 000 litros Diámetro: 2.8m Longitud: 3.2m Temp. de operación: 90°C	50.00	50.00
1	Cambiador de calor con tubos de acero inoxidable, 1 paso Tubos: producto a T: 90-30°C Coraza: agua de enf. a T: 20-70°C Masa de producto: 17 Ton/hr Masa de agua enf.: 17 340 Kg/hr No. de tubos: 18 Diámetro de tubos: 0.05m (2") Longitud de tubos: 3.05m (10') Area de transferencia: 10.77 m ²	70.00	70.00
1	Tanque fermentador con sistema de aereación integrado, atmosférico, con tapa y fondo toriesféricos, con 4 placas deflectoras, enchaquetado, instrumentado, con dosificadores de NaOH y H ₃ PO ₄ y		

No.	DESCRIPCION DEL EQUIPO	COSTO UNITARIO (miles de \$)	COSTO TOTAL (miles de \$)
	nutrientes. Vol. nominal: 100 000 litros Diámetro: 4.64m Altura: 6m Agitador con 2 propelas Agitador: 5 HP Rotor: 350 rpm Chaqueta: agua a 25°C Masa de agua en chaqueta: 260m ³ /hr Temp. de op: 30°C pH de op.: 4-4.5	475.00	475.00
1	Soplador de lóbulos con filtros de aire Vol. manejado: 6 000 m ³ /Hr:2Kg/cm ² , 25°C	600.00	600.00
1	Tanque para la preparación del inóculo de acero inoxidable, aerado, con dosificadores de nutrientes. (instrumentado). Vol. nominal: 10 000 litros	100.00	100.00
2	Máquinas centrífugas de placas con descarga continua de lodos descarga: 15- 20 000 litros/hr	600.00	1 200.00
2	Secador de tambores, construcción en acero al carbón, circulando vapor por dentro. Vapor: 4.5 Kg/cm ² Masa de producto inicial: 9 Ton/Hr Masa de producto final: 2.55 Ton/Hr Agua evaporada: 6.45 Ton/Hr Diámetro de c/cilindro: 1.8m Longitud de c/cilindro: 4.0m Area de transferencia: 45m ² Revoluciones/cilindro: 3rpm Motor: 30HP	1 000.00	2 000.00
1	Caldera Capacidad: 40 Tonvapor/hr Presión máxima: 7 Kg/cm ² CV; 3 000	3 000.00	3 000.00

No.	DESCRIPCION DEL EQUIPO	COSTO UNITARIO (miles de \$)	COSTO TOTAL (miles de \$)
1	Torre de enfriamiento	350.00	350.00
1	Subestación eléctrica	3000.00	<u>3,000.00</u>
	COSTO TOTAL DEL EQUIPO		19,610.00
	IMPREVISTOS (16 %)		<u>3,000.00</u>
	TOTAL		22,610.00

CUADRO No. XII ESTIMACION DEL COSTO TOTAL DEL EQUIPO.

el costo total, según el proceso desarrollado en el capítulo anterior. Aunque este cálculo incluye tubería adicional, no incluye la instalación e instrumentación adecuada del equipo. Estos últimos se calcularon según Aries y Newton (33) pág. 76, - 97, como un porcentaje de la inversión en equipo de la siguiente manera:

Costo Total del Equipo	\$ 22,610,000.00
Instalación del Equipo (20% costo del equipo)	\$ 4,522,000.00
Instrumentación (10% costo del equipo)	\$ 2,261,000.00
TOTAL	29,393,000.00

De acuerdo al proceso, se hizo una estimación del área requerida para la instalación de la planta, encontrándose aproximadamente 20,000 m²; área distribuida en: edificio para la planta, laboratorios, oficinas administrativas, almacenes, estacionamiento, zona para transitar y jardines. En la zona seleccionada previamente para ubicar la planta, por información directa, se sabe que el m² de terreno tiene un costo aproximado de \$ 20.00, de tal manera que la inversión requerida por conceptos de terreno es de: \$ 400 000.00.

La obra civil en este trabajo se estima entre un 30 y un 32% del costo total del equipo, más instalación, más instrumentación.

(Información directa) Resultando ser: \$ 29,393,000.00 (0.31) = \$ 9 111 830.00

El costo del transporte requerido, tanto para el suministro de materia prima, como para la distribución del producto terminado se ha incluido en el cuadro No. XII resultando ser de: \$ 900 000.

Con todos los parámetros considerados se encuentra que la Inversión fija necesaria para la instalación de la planta es de:

\$ 39,404 830.00 Cabe mencionar que este costo se encuentra actualizado para fines del año 1976.

Estimación del Capital de Trabajo

Aunque para llegar a un cálculo preciso del Capital de Trabajo, es necesario considerar el caso particular de la industria de -- que se trate, aquí por falta de información adecuada, se ha he-- cho una estimación aproximada, pero que sin embargo es válida pa-- ra los fines que aquí se persiguen.

Los renglones más importantes que se consideran para la estima-- ción del Capital de Trabajo, están sujetos a varios factores que aún no se han establecido tales como: el precio de venta unita-- rio del producto y los volúmenes de ventas anuales. Aunque pare-- ce un tanto aventurado dar ahora un precio de venta, éste se dá-- en base a que en la actualidad cada punto de proteína tiene un -- valor de \$ 0.18, para forraje y que el producto obtenido después del proceso tiene 50% de proteínas de aquí que su valor no podrá ser mayor de \$ 9.00 el kilogramo, de tal manera que se ha hecho el cálculo del Capital de Trabajo considerando tres precios de -

venta diferentes \$ 5.00, 7.50 y 9.00 por kilogramo.

Por lo que respecta al volúmen de ventas se considera que si la planta opera al 100% se producen 18 360 Ton/año de proteína unicelular, mismas que se considera se venderán en su totalidad, de esta manera, se llega a un Capital de Trabajo máximo, que sólo podrá variar, en tanto que se establezcan diferentes precios de venta.

Con estas consideraciones, el cuadro No. XIII se ha elaborado to mando en cuenta cada uno de los factores que intervienen en la estimación del Capital de Trabajo, asimismo se incluyen los tres diferentes valores para los tres precios de venta preestableci-- dos.

Con estos dos parámetros tan importantes: Inversión Fija y Capital de Trabajo se determina el monto total que se requiere para instalar y operar la planta, resultando variable, en función de el precio de venta que se fije.

	CONCEPTO	PRECIO DE VENTA		
		\$ 5.00	\$ 7.50	\$ 9.00
1	Inventario de materia prima. (Consumo diario X costo X No. de días)+	421 600.00	421 600.00	421 600.00
2	Inventario de producto terminado. (Valor X No. de días)	9 300 000.00	13 950 000.00	16 740 000.00
3	Cuentas por cobrar. (Venta diaria X No. de días de crédito)++	9 000 000.00	13 500 000.00	16 200 000.00
4	Efectivo (Desembolso diario X No. de días)	10 489 950.00	10 489 950.00	10 489 950.00
5	Cuentas por pagar (-) (Compra de materia prima + Empaque X No. de días de -- crédito)	9 577 800.00	9 577 800.00	9 577 800.00
	TOTAL	38 789 350.00	47 939 350.00	53 429 350.00

CUADRO No. XIII - Estimación del Capital de Trabajo a diferentes precios de venta.

(+).- No deberá almacenarse más de 4 días debido a su alto contenido de humedad.

(++).- 30 días

2.- Costos fijos y Costos variables

Para determinar si es factible el proceso que aquí se propone, - es necesario, también tener un conocimiento de los ingresos por concepto de ventas al precio de venta fijado, y un presupuesto - de egresos, debidos a las materias primas y demás servicios re-- queridos para la operación de la planta. Con estos dos factores es posible determinar los costos unitarios de producción, así co mo las utilidades que se obtendrán por la operación de la plan-- ta (34).

Los presupuestos de ingresos se calcularán multiplicando el volu men de ventas, considerado igual a la producción, por el precio de venta.

Los presupuestos de egresos comprenden dos tipos de costos:

Los costos variables de producción, ya que están en función de - la cantidad producida y los costos fijos que no dependen de la - producción. A continuación se analizan detalladamente cada uno de ellos.

a) Costos variables de operación.- Se acostumbra calcular estas cifras como unitarias, en esta caso por Tonelada de protefina uni celular seca. Abarcando los siguientes puntos básicos:

MATERIAS PRIMAS fundamentales

\$/Ton

Desecho celulósico

- Costo del material en su		
lugar de origen (recolección)	100.00	(18)
- Costos de transportación		
(en partes iguales)	<u>70.00</u>	
TOTAL	\$ 170.00/Ton	

MATERIAS PRIMAS secundarias.- Aquí se ha hecho una relación de -- las materias primas requeridas a la producción total de la planta del 100%, ésto es 61.2 Ton/día, incluyendo al material celulósico, para llegar al cálculo del costo total por concepto de materia prima.

MATERIA PRIMA	Ton/Ton prod. seco	\$/Ton	\$
Desecho celulósico	10.11	170.00	1 718.70
NaOH (50%)	0.58	1 400.00	812.00
HCl (36%)	0.78	1 520.00	1 118.60
NH ₄ OH	0.07	1 900.00	133.00
H ₃ PO ₄	0.023	11 500.00	264.50
K ₂ SO ₄	0.06	15 600.00	936.00
Bactericida	0.00078	130 000.00	101.40

COSTO TOTAL DE MATERIAS PRIMAS \$5 151.20/Ton
p.seco

MANO DE OBRA DIRECTA.- Incluye unicamente obreros, que son los -- responsables directos de la operación, comprendiendo dentro de -- este grupo a operadores y ayudantes. Se ha efectuado un anali-- sis para cada equipo, segun el proceso, determinandose 50 opera--

dores y 56 ayudantes. Considerando un salario para operadores - de \$ 130.00/día y para ayudantes de \$ 100.00/día, se determina - un costo total de mano de obra directa de \$/197.0/Ton de protei-
na unicelular seca.

COSTO TOTAL DE MANO DE OBRA DIRECTA \$197.00/Ton
p.seco

SERVICIOS AUXILIARES.- Abarca los costos de agua, energía elec-
trica, vapor determinados también por toneladas de producto seco
y de acuerdo a los requerimientos del proceso propuesto.

SERVICIO	Unidades/Ton Prod. seco	\$/Unidad	\$
Agua			
(Incluye la de servicio)	35.6 m ³ /Ton. p.s.	0.56/m ³	20.00
Vapor	16.37 Ton/Ton p.s.	15.00/TON	245.00
Energía	90 Kw-/Ton p.s.	0.60/kw-hr	54.00

COSTO TOTAL DE SERVICIOS AUXILIARES..... \$319.00/Ton
p.seco

EMPAQUE.- Incluye los gastos referidos por concepto de envasar - el producto seco, en sacos de papel sin bolsa de polietileno in-
terna. Se requieren 40 bolsas/Ton de producto seco a razón de - \$4.00/bolsa de tal manera que los costos de empaque serán de:

COSTO TOTAL DE EMPAQUE \$160.00/Ton

PAGO DE REGALIAS.- Comprendiendo a los gastos referidos por con-
cepto de pago de patente y conocimientos técnicos y científicos-
de las personas poseedoras de la tecnología. En este caso se in

cluyen en forma de pagos anuales en un 3% del volúmen total producido, de tal manera que el costo unitario debido a este renglón será de:

COSTO TOTAL POR REGALIAS \$ 225.00/Ton
p.seco

Sumando todos los insumos que integran los costos variables de producción se obtiene un total de \$ 6 052.75/Ton
p.seco

b) Costos Fijos.- Estos costos están en función de la Inversión Fija y del Capital de Trabajo, y como éste último varía en función del precio de venta (Cuadro No. XIII), se ha hecho una estimación de estos costos como una consecuencia del precio de venta y tomando los porcentajes para cada uno de los renglones involucrados, recomendados en la literatura (34).

(Cuadro No. XIV). En este cuadro se muestran tres diferentes valores de los costos fijos totales, suponiendo un volúmen de ventas igual a la producción total: 18 360 Ton/año de tal manera que se obtienen los costos fijos máximos para el proceso.

Para obtener las utilidades de la planta, o bien determinar si se está operando con pérdidas, hay que determinar un punto de equilibrio en donde los ingresos son igual a los egresos y como consecuencia no hay utilidades. Gráfica No. 5.

La Gráfica No. 5 se construyó evaluando diferentes volúmenes de producción para un precio de venta fijo, de tal manera que se obtienen tres curvas, correspondiendo cada una a cada precio de ven

ta propuesto.

Haciendo un análisis matemático de esta situación se tiene:

$$I = P V \dots\dots\dots (1)$$

Donde:

I = Ingresos (\$)

P = Precio de Venta (\$/Ton)

V = Volúmen de Ventas (Ton/año)

$$E = C_f + C_v V \dots\dots\dots (2)$$

Donde:

E = Egresos (\$/año)

C_f = Costos fijos totales (\$/año)

C_v = Costos variables totales (\$/Ton)

V = Volúmen de Ventas (Ton/Año)

Igualando la ecuación (1) y (2) se tiene:

$$PV = C_f + C_v V \dots\dots\dots (3)$$

Misma ecuación que se grafica para obtener el punto de equilibrio fijando un precio de venta y variando los volúmenes de producción de la planta.

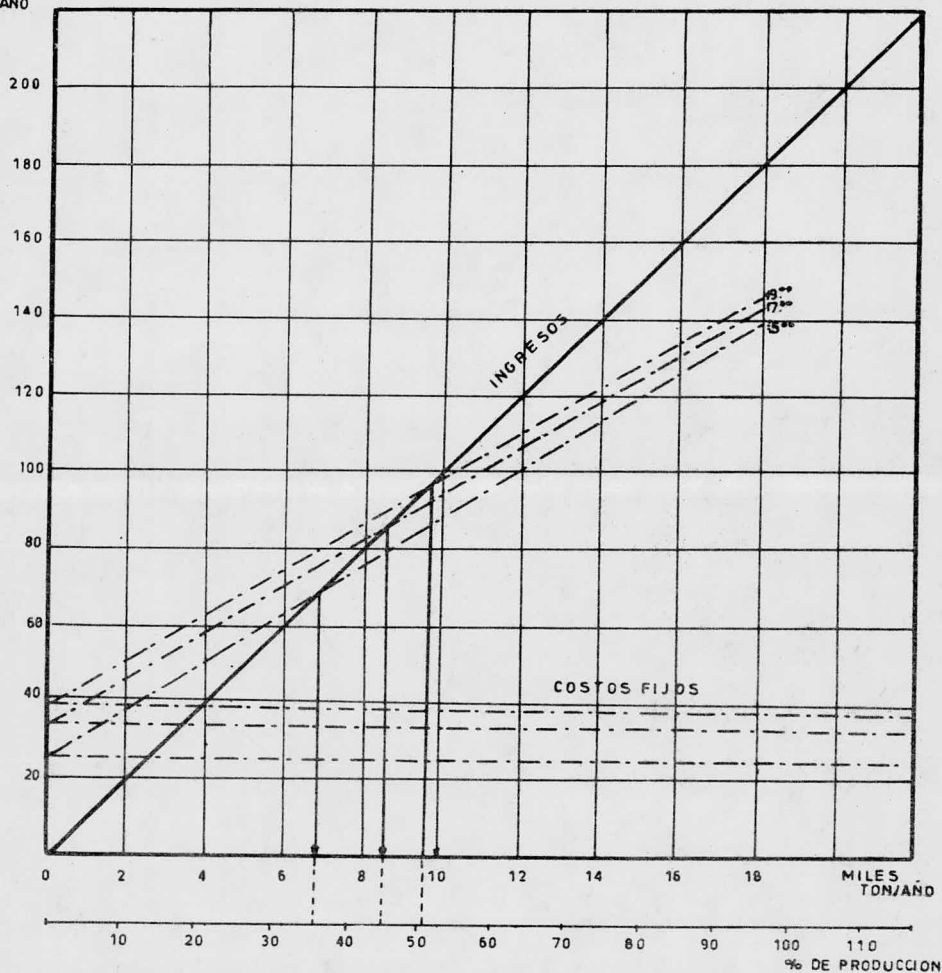
Como una conclusión del análisis de costos, se puede determinar - el precio de venta más factible para el producto seco y empacado- elegido en este trabajo de \$ 7.50/kg, ya que fijarlo.

% Empleado	Concepto	\$ 5.00	\$ 7.50	\$ 9.00
10 (IC)	Dep. Equipo	1 956,000.00	1 965,000.00	1,956.000.00
20 (IC)	Amort.Trns.	180,000.00	180,000.00	180,000.00
3 (IC)	Amort.Edif.	234,000.00	234,000.00	234,000.00
1.3 (IF)	Imp/prop.	514,925.00	514,925.00	514,925.00
0.1 (IF)	Seg./Planta	342,949.00	342,949.00	342,949.00
40 (MO)	Prestaciones	1 446,768.00	1 446,768.00	1 446,768.00
5 (IV)	Gastos admon.	4 590,000.00	6 885,000.00	8 250,000.00
8 (IV)	G.Díst.Venta	7 344,000.00	11 016,000.00	13 200.000.00
10 (GI)	G.Financ.	5 377,865.00	6 307,865.00	6 856.865.00
3 (IV)	Mantenimiento	2 754,000.00	4 131,000.00	4 950.000.00
COSTOS FIJOS TOTALES		24 741,162.00	33 014,761.00	37 932.162.00

CUADRO No. XIV.- Costos Fijos Totales en función de los pre---
cios de venta propuestos.

(IC) = Inversión Correspondiente
 (IF) = Inversión Fija
 (MO) = Mano de Obra
 (IV) = Ingresos por ventas
 (GI) = Gastos insolutos

MILES
/AÑO



GRAFICA NO.3.- DETERMINACION DEL PUNTO DE EQUILIBRIO
PARA DIFERENTES PRECIOS DE VENTA

%	Prod.	\$ 5.00	\$ 7.50	\$ 9.00
Prod.	Ton/año	24 741,162	33 014,761	37 932,162.00
25	4590	52 523,284	60 796,883	65 714 284.5
40	7344	69 192,558	77 466,157	82 383 558.0
60	11016	91 418,255	99 691,855	104 609,256.
75	13770	108 087,529	116 361,128	121 278,529
90	16524	124 756,803	133 030,402	137 947,803
100	18360	135 869,652	144 143,251	149 060,652
125	22950	163 651,774	171 925 373	176 842,774
140	25904	181 531,598	189 805,197	194,722,598

CUADRO No. XV.- Costos totales anuales en función de diferentes precios de venta y el porcentaje de producción.

Considerando Costos Variables Unitarios =
\$6 052.75/Ton
p.seco

en \$ 5.00, la planta operaría muy por abajo de su capacidad, y el de \$ 9.00/kg, resultaría poco atractivo para los consumidores. Aunque para el precio de venta de \$ 7.50/kg, también se opera por debajo de la capacidad nominal de la planta, se ofrecen buenas posibilidades para obtener una atractiva rentabilidad del proceso.

3.- Rentabilidad

Una vez fijado el precio de venta del producto de \$ 7.50/Kg, se pueden determinar de la Gráfica No. 5 las utilidades brutas, resultando ser para un volumen de producción del 100% aproximadamente igual a:

\$ 43 085 000.00/año. De acuerdo a los impuestos vigentes en país para 1976 de 42% se estiman utilidades netas de:

\$ 24 989 000.00/año. Con estas utilidades se puede llegar a un cálculo aproximado de la rentabilidad del proyecto, concepto necesario para que la realización del proyecto resulte atractivo, esta rentabilidad se calcula en función de la proporción entre las utilidades netas previstas y el monto de los recursos (Capital de Trabajo + Inversión Fija) para llevar a cabo el proyecto, de tal manera que se tiene una rentabilidad estimada de:

$$\frac{\$ 24\ 989\ 000.00}{\$ 87\ 144\ 180.00} = 28.5 \%$$

Aunque este método de estimación de rentabilidad no es muy exacto, se usa frecuentemente en proyectos de este tipo, además de que para los fines que aquí se persiguen se considera adecuado.

DISCUSION

La estimación de costos que aquí se presenta puede resultar un tanto aventurada, en tanto a las cifras tan elevadas que se presentan, sin embargo no se pretende demostrar la rentabilidad del proyecto, que puede aceptarse o rechazarse en función de otras ventajas del producto aquí propuesto (Capítulo II). Definitivamente aunque la rentabilidad de 28.5% podría resultar atractiva, está supeditada a una inversión extremadamente alta de \$ 87 344 180.00, inversión no fácilmente obtenida de la iniciativa privada, pero-

si del estado, ya que reportaría resultados positivos para el -- país, como la sustitución de importaciones de productos proteínicos competitivos de alto costo e insuficientes para las demandas actuales (Ver Cuadro No. IX).

C A P I T U L O V

X CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se consi-
dera como viable industrializar desechos agrícolas para su con--
versión a proteínas que nutran ganado en principio y seres huma-
nos a futuro.

Aunque el proceso de fabricación de proteínas unicelulares pro--
puesto, presenta atractivas posibilidades económicas en cuanto a
su rentabilidad estimada de 28.5%; también muestra algunas res--
tricciones tales como: la carencia de trabajo experimental, in--
dispensable en este tipo de proyectos para llegar a datos rea---
les, tanto técnicos como económicos, ya que los resultados están
basados únicamente en la experimentación reportada en la litera-
tura. Otra restricción se debe a la falta de un análisis de mer-
cado concienzudo, que conduzca al conocimiento de la aceptación-
o rechazo del producto final al precio de venta seleccionado de
\$7.50.

No obstante a estas restricciones, se sienta un precedente de --
viabilidad desde el punto de vista de Ingeniería Económica e In-
geniería Química, que puede ser aprovechado por la iniciativa --
privada o por el sector público, con una necesaria afinación y -
ampliación del proceso aquí propuesto.

Cabe mencionar la importancia de la selección de tres diferentes

desechos rurales como materia prima, ya que repercute en la localización y tamaño de la planta que se pretende, es decir, los tres desechos: bagazo de caña, olote de maíz y desecho fibroso de agave tequilero, se pueden obtener fácilmente en la región propuesta en cantidades sobradas y suficientes, al mismo tiempo que su similitud en cuanto a estructura física, composición y comportamiento frente a diferentes agentes; permite aprovechar el mismo equipo de proceso, además de que cada uno de los desechos puede usarse simultáneamente con los otros dos, o bien alternadamente, según sus periodos de producción.

La selección de algunas de las operaciones unitarias y consideraciones de los procesos ya existentes, han conducido a la adaptación del proceso elaborado, aunque también se han utilizado cri-terios de orden práctico y de información directa adecuada.

El financiamiento requerido calculado en el Capítulo de Costos - de \$84 234 250.00, actualizado para fines de 1976, puede obtenerse de diferentes fuentes, que pueden provenir de: La iniciativa-privada, del Estado o de cooperativas que puedan beneficiarse -- con el producto.

Aunque en México no existe ninguna planta que procese desperdi-cios rurales, para la obtención de proteínas unicelulares; la po-sibilidad que en este trabajo se plantea, debiera aprovecharse, - si no en la actualidad, si en un futuro, dada la cerestía cada - vez más aguda de fuentes de proteínas baratas y de buena calidad,

como las que se podrían desarrollar a partir de este proyecto.

C A P I T U L O V I

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Humprey A.E. Current Developments in fermentation. Chem. --- Eng. Vol. 81, No. 26, pág. 98-112. (1974).
- 2.- Flannery R.J. Non agrucultural sources of foods. Paper of -- the 35th annual meeting of the IFT. (1975).
- 3.- Stahman M.A. The potential for protein production from green plants. Economic Botany vol. 22, No. 1, pág. 73-79
- 4.- Mac Laren D.D. Single Cell Protein; new processes open wi--- der food uses. Food Product Development. Vol. 9, No. 6, pág. 26-32 (1975).
- 5.- Silver R.S. y Wong J.K. Microorganisms from hydrocarbons. Pa--- tente de los E.U.A. No. 3,721,604. (1973).
- 6.- McLennan D.G., Ousby J.C., Owen y Steer. Microbiological pro--- duction of protein. Patente de Inglaterra No. 1,370,892. (1974).
- 7.- Spano L.A., Madeiros J. y Mandels M. Enzymatic hydrolysis of cellulosic wastes to glucose. Reporte del US Army Natick La--- boratories. Massachusetts, 7 de enero de 1975.
- 8.- Vananuvat P. y Kinsella J.E. Production of yeast protein --- from crude lactose. Journal of food Science. Vol. 40, No.2,- pág. 336. (1975).
- 9.- Meller F.H. Conversion of organic solid wastes into yeast,-- an economic evaluation. Reporte de la Ionics, INC. Water ---

Town Mass. pág. 34, 48-53 y 64. (1969).

- 10.- Ghose T.K. y Kostick J.A. A model for continuous enzymatic -- saccharification of cellulose with simultaneous removal of - glucose syrup. Biotech. and Bioeng. Vol. 12, Pág. 921-946. (1970).
- 11.- Mandels M., Kostick J.A. y Parizer R. The use of adsorbed ce llulase in the continuous conversion of cellulose to glucose. Journal of polymer science. No. 36, pág. 445-459. (1971).
- 12.- Peitersen Nicolai. Production of cellulase and protein from- barley straw by Trichoderma viride. Biotech. and Bioeng. Vol. 17, pág. 361-374. (1975).
- 13.- Wilke C.R. y Yang R.D. Process development studies of enzy-- matic hydrolysis. pH
- 14.- Brandt D., Hontz L. y Mandels M. Engineering aspects of the- enzymatic conversion os waste cellulose to glucose. AICHE sym posium series. Vol. 69, No. 133, pág. 127.133, (1973).
- 15.- Gregory K.F. Conversion of carbohydrates to protein by high- temperature fungi. Food technology. Vol.30, No. 3 , pág. 30, 31 y 35. (1975).
- 16.- Gregory K.F., Reade A.E., Santos-Nuñez J. y Col. High tempe- rature fungi for the conversion of carbohydrate to protein. Manuscrito para el Journal fo Food Science. Ontario, Canada. (1975).

- 17.- Reade A.E. y Gregory K.F. High temperature production of -- protein enriched feed from Cassava. by fungi. Applied micro biology. Vol. 30, No. 6, pág. 897-904. (1975).
- 18.- Dunalp C.E. y Callihan C.D. Single-Cell protein from waste-cellulose. Reporte final para la NASA, Universidad de Louisiana, Baton Rouge, Louisiana E.U. (1973).
- 19.- Prokop A. y Volfová O. SCP Process Hydrocarbons, Praga --- Chec. Process Biochemistry. Vol. 7, No. 6, pág. 31. (1972).
- 20.- Shacklady C.A. SCP from hydrocarbons as animal feed ingre--- dients. Process Biochemistry. Vol. 9, No.7, pág. 9-11. (1974).
- 21.- Brown B.S., Jones J.C. y Hulse J.M. Two process for the con--- version of waste plastics to microbial protein. Process Bio chemistry. Vol. 10, No. 7, pág. 3-7 (1975).
- 22.- Reed Gerald. Enzymes in food processing. Academic Press, - N.Y. 1a. Ed., pág. 9,17,42-45, 88-89 (1966)
- 23.- Kirk R.E. y Othmer D.F. Enciclopedia de Tecnología Química- Ed. Unión tipográfica Hispanoamericana, Méx. (1961). Vol. 3, 4, 6, 12.
- 24.- Conn E.E. y Stmf P.K. Bioquímica fundamental, Ed. Limusa, - 2a. Edición, México, pág. 39, 63, 377-382. (1973).
- 25.- Ward Kyle. Cellulose. En Symposium of foods; Carbohydrates and their roles, Schultz H.W. Ed. The AVI Publishing Compa--- ny. E.U.A. pág. 55-69. (1969).

- 26.- Cox H.E. y Pearson D. The chemical analysis of foods. Chemical Publishing Co. Inc. E.U.A. (1962).
- 27.- The world food problem. Vol. II, Report of the panel on the world food supply, Wash. D.C. may. 1967.
- 28.- Olizar M. Guía de los mercados en México. 8a. Ed., México, -pág. 49-53, 58.59. (1976).
- 29.- Fernandez R. Perfil de México 1980. Agricultura y Ganadería Vol. II, Ed. Siglo XXI, México (1971).
- 30.- Perry John H. Chemical Engineers Handbook. 4a. Edición, Ed. Mc. Graw Hill, Chemical Engineering series. E.U.A. (1963).
- 31.- Foust A.S., Wenzel L.A. Principles of unit operations. John Wiley and Sons. Inc, N.Y. U.S.A. (1960).
- 32.- Rhodes A. Fletcher D.L. Principios de Microbiología Industrial. Acribia, España (1969).
- 33.- Aries R.S. y Newton R.D. Chemical Engineering cost estimation. Ed. Mc Graw Hill Book Company Inc. N.Y. E.U.A. (1955).
- 34.- Soto R., Espejel Z. y Martínez F. La formulación y evaluación técnico-económica de proyectos industriales, México (1975).
- 35.- Zárate R. y Pérez L. Desarrollo de cultivos intensos de un hongo Ustilago zeae con fines alimenticios. Tesis profesional. pág. 62. U.N.A.M. (1976).
- 36.- Nutritional data handbook. The H.J. Heinz Co. 3a. Ed. pág. 54-55. E.U.A. (1959).

- 37.- Contenido de aminoácidos de los alimentos y datos biológicos de las proteínas. FAO. Italia. (1970)
- 38.- Bressani R. The use of yeast in human foods. Reporte presentado en la International Conference on SCP. MIT. EUA (1967).