



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Estudio para la Obtención de Alcohol Etilico a Partir  
del Jugo de Tuna y Anteproyecto para su Industrializa-  
ción en el Estado de San Luis Potosí

PRIMERA PARTE

Estudio para la Obtención de Alcohol Etilico  
a Partir del Jugo de Tuna

TESIS PROFESIONAL

MARIA GUADALUPE RAMIREZ PARDO

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

1 9 8 0

T  
QR15  
R3  
c.1





1080075045



**Estudio para la Obtención de Alcohol Etilico  
a Partir del Jugo de Tuna**

**TESIS PROFESIONAL**

Que para obtener el título de :

**QUIMICO FARMACOBIOLOGO**

**P r e s e n t a :**

**MARIA GUADALUPE RAMIREZ PARDO**



T  
92151  
R3



CON CARIÑO

A MIS PADRES:

SR. GABRIEL RAMIREZ FLORES.  
SRA. GUADALUPE PARDO DE RAMIREZ.

A MIS HERMANOS:

GABRIEL, JORGE, MA. EUGENIA, SILVIA,  
IRENE LETICIA, ROSA MARIA (q.e.p.d.),  
MA. DEL CARMEN Y ALEJANDRO.



AGRADEZCO A LA EMPRESA HERDEZ, S.A., LA OPORTUNIDAD QUE ME BRINDO PARA LA REALIZACION DE ESTA TESIS Y MUY ESPECIALMENTE AL SR. ING. GONZALO HERNANDEZ R. Y A LA SRA. Q.F.B. CELIA VALDIVIESO DE GARCIA POR SU ATINADA - DIRECCION.

CON AGRADECIMIENTO ESPECIAL PARA EL M.I.Q. J. GERARDO PALOS NAVARRO Y AL SR. ING. WENCESLAO FUENTES POR - SU VALIOSA AYUDA EN LA ELABORACION DE ESTA TESIS.



CON GRATITUD A TODAS LAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON VALIOSAMENTE EN LA REALIZACION DEL PRESENTE - TRABAJO.

# C O N T E N I D O

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

- 1.- BOTANICA
- 2.- ANTECEDENTES
- 3.- DISTRIBUCION
- 4.- ECOLOGIA
- 5.- VOLUMEN DE PRODUCCION.

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

- 1.- ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS
  - 1.1. Levaduras
  - 1.2. Cepas, Selección, Cultivos, Resiembras, Aislamientos.
  - 1.3. Uso Industrial de las Levaduras.
  - 1.4. Métodos de Esterilización.
- 2.- ASPECTOS BIOQUÍMICOS.
  - 2.1. Fermentación
  - 2.2. Reacciones Enzimáticas
  - 2.3. Productos Secundarios de la Fermentación Alcohólica
  - 2.4. Ajuste de Nutrientes.

## CAPITULO III

### MATERIAL Y METODOS

- 1.- EQUIPO UTILIZADO
- 2.- REACTIVOS UTILIZADOS
- 3.- PREPARACION DE MATERIA PRIMA
- 4.- ANALISIS CUALITATIVO DE JUGO DE TUNA.
  - 4.1. Pruebas Cualitativas para la Identificación de Aniones
  - 4.2. Pruebas Cualitativas para la Identificación de Cationes
- 5.- ANALISIS BROMATOLÓGICO
  - 5.1. Determinación de Acidez
  - 5.2. Determinación de PH.
  - 5.3. Porcentaje de Sólidos Disueltos
  - 5.4. Determinación de Proteínas
  - 5.5. Determinación de Reductores Directos
  - 5.6. Determinación de Reductores Totales
  - 5.7. Determinación de Grasa
  - 5.8. Determinación de Celulosa
  - 5.9. Determinación de Humedad
  - 5.10. Determinación de Cenizas.

## 6.- PRUEBAS DE OPTIMIZACION EN EL PROCESO FERMENTATIVO.

- 6.1. Determinación del PH óptimo para la Fermentación.
- 6.2. Influencia de Nutrientes en la Fermentación.
- 6.3. Comportamiento de la Fermentación Controlando el PH.
- 6.4. Fermentación Utilizando un Inóculo de Levadura obtenido del mismo jugo.
- 6.5. Comportamiento de la Fermentación Utilizando Cáscara y Pulpa de Tuna.

## 7.- DETERMINACIONES REALIZADAS DURANTE LA FERMENTACION PARA ENCONTRAR LAS CONDICIONES OPTIMAS.

- 7.1. Determinación de Acidez.
- 7.2. Determinación de PH.
- 7.3. Determinación de Reductores Directos.
- 7.4. Determinación de Temperatura.
- 7.5. Determinación de Grado Alcohólico.

## 8.- PRUEBA EXPERIMENTAL PARA OBTENCION DE ALCOHOL.

- 8.1. Fermentación.
- 8.2. Destilación.
- 8.3. Rectificación.

## 9.- DETERMINACIONES EN EL PRODUCTO TERMINADO.

- 9.1. Determinación del Contenido de Estéres.
- 9.2. Determinación del Contenido de Aceite de Fusel.
- 9.3. Determinación del Contenido de Aldehídos.
- 9.4. Determinación Cromatográfica.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### 1.- PREPARACION DE LA MATERIA PRIMA.

#### 2.- ANALISIS CUALITATIVO DEL JUGO DE TUNA.

#### 3.- ANALISIS BROMATOLOGICO.

#### 4.- PRUEBAS DE OPTIMIZACION EN EL PROCESO FERMENTATIVO.

- 4.1. Determinación del PH Optimo en la Fermentación.
- 4.2. Influencia de Nutrientes en la Fermentación.
- 4.3. Comportamiento de la Fermentación Controlando el PH.
- 4.4. Fermentación Utilizando un Inóculo de Levadura obtenido del mismo jugo.
- 4.5. Comportamiento de la Fermentación Utilizando Cáscara y Pulpa de Tuna.

6.- PRUEBA EXPERIMENTAL PARA OBTENCION DEL ALCOHOL.

6.1. Fermentación.

6.2. Rectificación.

7.- DETERMINACIONES EN EL PRODUCTO TERMINADO.

7.1. Determinación del Contenido de Estéres

7.2. Determinación del Contenido del Aceite Fusel.

7.3. Determinación del Contenido de Aldehidos.

7.4. Determinaciones Cromatográficas.

CAPITULO V

NORMAS DE CALIDAD

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA.

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

Las cactáceas típicas del paisaje árido mexicano son un recurso natural hasta el presente poco explotado, aún cuando el número de plantas es lo suficientemente grande. Por otra parte una de las metas más importantes de las naciones es el desarrollo industrial de sus recursos naturales y la transformación de sus productos de mayor atracción económica. Por esto la importancia de un estudio encaminado al aprovechamiento de estos importantes recursos.

#### 1.- Botánica.

Uno de los géneros más importantes de la familia de las cactáceas es la Opuntia, el cual comprende dos subgéneros: *Cilindropuntia* y *Platyopuntia*. De los cuales el de interés para el trabajo a desarrollar es el *Platyopuntia*, que por sus pencas aplanadas constituye los verdaderos nopales. De 258 especies que comprende este subgénero, 100 se encuentran representadas en México.<sup>(1)</sup> De estas 100 especies algunas son muy conocidas por el fruto que producen, de las cuales las más importantes son tres: *Opuntia ficus indica*, llamada comúnmente nopal de castilla cuyo color de fruto es blanco verdoso; *Opuntia megacantha*, llamada comúnmente nopal de tuna amarilla y *Opuntia Streptacantha*, el cual dá un fruto de color rojo y es llamada comúnmente Nopal Cardón.

De estas tres especies consideramos que la última es la más importante en cuanto a su industrialización, debido al volumen de producción y a su composición.

(1) Rojas Mendoza Paulino. Cultive Nopal Tunero (Aprovechemos las Zonas Áridas. Boletín Bim. Esc. de Agricultura y Ganadería I.T.E.S.M.)



Clasificación Taxonómica de la especie *O. Streptacantha*: (2)

Reino	Vegetal
Subreino	Fanerógamas
División	Angiospermas.
Clase	Dicotiledóneas.
Subclase	Dialipétalas.
Orden	Opuntiales.
Familia	Cactáceas.
Sub-familia	Opuntioideae.
Tribu	Opuntiae.
Género	Opuntia.
Subgénero	Platyopuntia.
Especie	Streptacantha.

2.- Antecedentes.

Los nahoas dieron origen al nombre de nopal llamándolo "nochtli" o "nopalli" y añadieron algún radical para precisar su fruto. Sin embargo, la palabra tuna es de origen haitiano que quiere decir agua, no dejando de ser curioso que la palabra nopal derive del náhuatl y el nombre de su fruto fuera introducido por los españoles, que éstos a su vez lo adquirieron del haitiano. (1)

El nopal es originario de América y en México fueron bien conocidos y empleados por nuestros antepasados; especialmente los nahoas lo tenían en un lugar preponderante en su economía, pues una gran cantidad de

(2) Escamilla Hurtado. Reyes Dorantes. Varela Gutiérrez. Proyecto para la Industrialización de la Tuna. Tesis Prof. U.N.A.M. 1977.

alimentos, medicinas y otros usos provengan de los nopales.

### 3.- Distribución.

En nuestro país las cactáceas se distribuyen en cuatro zonas: Zona de las Opuntias; Zona de los Cereus; Zona de las especies de tallos globosos y Zona de las cactáceas epífitas. (3).

La zona que nos interesa y que es la de las Opuntias está localizada en los estados de San Luis Potosí, Zacatecas y Aguascalientes, entre 800 y 2,000 metros de altura.

En el estado de San Luis Potosí, la región de la *O. streptacantha* se encuentra localizada al S.W. del estado.

### 4.- Ecología.

Los suelos semidesérticos presentan condiciones óptimas de cultivo del nopal siempre y cuando sean de textura arenosa y areno-arcillosa, de tipo calcáreo y PH alcalino. Se puede cultivar en suelos poco profundos que no sean viables para otros cultivos.

Respecto al clima, la temperatura media óptima oscila entre 18 y 26°C. soportando un máximo de 36°C. y un mínimo extremo de 6°C (4). La precipitación pluvial media anual aceptable para un máximo de desarrollo está entre 120 y 1,800 mm. anuales, aunque logra desarrollarse en condiciones de aridez. En cuanto a la latitud, ésta puede ir desde los 16° hasta los 20° norte.

Como se observa, las condiciones que el estado de San Luis Potosí

(3) Comisión Nacional de Fruticultura S.A.R.H. El Cultivo del Nopal. Programa Nacional de la Tuna y el Nopal. Marzo 1977.

(4) Lozano González Mario. Lo que se sabe y lo que no se sabe acerca del Nopal. I.I.Z.D.

presenta, son de las más favorables para el aprovechamiento de la tuna - cardona.

#### 5.- Vólumen de Producción.

La superficie cultivada de nopal para tuna en el país, es de aproximadamente 12,000 has. en producción.

El vólumen de producción estimado para 1976, fué de \$180'000,000.

El precio medio rural de la tuna cultivada fué de \$ 1.50 k., durante la cosecha de 1976.

La producción media por hectárea en plantaciones comerciales de nopal para tuna, fué aproximadamente de 10 toneladas. (3)

#### 6.- Condiciones Socioeconómicas.

La creciente demanda de bienes y servicios, la necesidad de ampliación de fuentes de trabajo y los problemas inherentes al crecimiento demográfico del país, hacen indispensable el máximo aprovechamiento, cuantitativo y cualitativo de los recursos con que cuenta la nación; esta optimización cobra especial significado en el campo, dado que independientemente de la función social de producción, se requiere con urgencia elevar el "status" socioeconómico de la clase campesina.

Existiendo ya estudios sobre esto, solo queremos contribuir un poco más a completar y que se lograra integrar todo el estudio, así como para tratar de explotar los recursos naturales mejorando las condiciones de vida de las zonas semidesérticas.

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

#### 1.- ASPECTOS MICROBIOLOGICOS.

##### 1.1. Levaduras.

Las levaduras pertenecen a las plantas inferiores sin clorofila, llamadas hongos, los cuales son microscópicos unicelulares pertenecientes a la subdivisión de las talofitas. Se reproducen asexualmente (gemación y división) y sexualmente (esporulación). Comprenden a los microorganismos de fermentación, que se diferencian grandemente entre sí en cuanto a su morfología, tamaño, formas de reproducción, requisitos de crecimiento y capacidad para fermentar o asimilar materias primas.

Las células individuales de levadura suelen ser esféricas, ovoideas o elipsoideas. Algunas presentan formas muy ensanchadas o alargadas. No poseen flagelo, por lo que las células individuales son inmóviles de por sí. Varían considerablemente en cuanto a dimensiones, según la especie, nutrición, edad y otros factores. Puede oscilar de 1 a 9 micras de anchura y de 2 a más de 20 micras de longitud, las esféricas tienen un diámetro de 4 a 6 micras. Las células de levadura son por lo general mucho más grandes que las células bacterianas (5).

Las levaduras son muy utilizadas en la industria, por lo que deben reunir las siguientes cualidades:

- Crecer rápido en sustratos orgánicos adecuados y poder cultivarse en gran cantidad con facilidad.

(5) Prescott. Microbiología Industrial. 4 - 32 pp.

- Mantener características fisiológicas bajo las condiciones anteriores con producción rápida de los enzimas necesarios para dar lugar a los cambios químicos deseados.

- Llevar a cabo estas transformaciones en condiciones de trabajo relativamente sencillas.

## 1.2. Cepas, Selección, Cultivos, Resiembras, Aislamiento.

Dentro de las especies puede existir gran número de razas y aún dentro de las razas puras puede haber variaciones según las condiciones del medio y nutrición. (5).

La capacidad de un organismo o célula individual para modificarse el mismo o sus descendientes, constituye la base de la teoría de la evolución. Se admite también que cambios ventajosos inducidos por un ambiente particular conducen a modificaciones hereditarias permanentes, las cuales pueden ser espontáneas o representar una adaptación al medio ambiente y no siempre es posible establecer una diferencia entre ambos casos.

Mutaciones importantes van asociadas a cambios bioquímicos bien diferenciados, a menudo la ganancia, pérdida o modificación de un enzima específico. Si uno de éstos, bajo condiciones dadas, encuentra circunstancias evolutivas favorables, puede adquirir rápidamente un carácter dominante y conducir así a una pérdida de las características de la cepa original. Por esta razón, es práctica común iniciar toda fermentación industrial a partir de un cultivo puro y alcanzar el pleno desarrollo a través del menor número posible de etapas.



La mutación espontánea constituye también una seria dificultad en las técnicas de cultivo continuo, puesto que un mutante de crecimiento rápido puede desplazar fácilmente la raza stock. (6)

El modo de reproducción asexual favorece la constancia de una especie dada, aunque puede haber un sinnúmero de factores que cambian la composición química de un microorganismo, el tipo y la cantidad de productos formados, la velocidad de crecimiento y reproducción.

Para obtener resultados análogos con las mismas razas, es necesario controlar la naturaleza y cantidad de sustancias nutritivas suministradas, temperatura de inoculación, relación de oxígeno, la presencia o ausencia de sustancias estimulantes o inhibitoras en el medio y otros factores. (5).

Los materiales con concentración alta de azúcar son buenos substratos para la proliferación de las levaduras. Así los frutos son una de las fuentes más comunes para el aislamiento de las levaduras.

Las levaduras se aíslan de las fuentes naturales mediante el empleo de medios de cultivo selectivos, esto es, medios que al ser inoculados con el material natural estimulan el desarrollo de las levaduras, pero reprimen la proliferación de otros microorganismos como bacterias y mohos.

Se han elaborado numerosos métodos que se utilizan para el aislamiento de cultivos de levadura puros. El examen microscópico del crecimiento en el medio selectivo revelará la presencia de levaduras.

### 1.3. Uso industrial de las levaduras.

La ciencia que trata de la posible utilización de microorganismos en

procesos industriales o en procesos en que sus actividades pueden tener significado industrial o técnico es la Microbiología Industrial.

Desde hace tiempo es sabido que numerosas clases de protozoos, como levaduras, mohos, otros hongos inferiores y varios tipos de bacterias influyen favorable o desfavorablemente en procesos económicos llevados a cabo en operaciones industriales.

En el campo de la microbiología industrial hay dos puntos de gran importancia y utilidad:

1.- Es necesario conocer las características biológicas y bioquímicas de los organismos que son causantes de la transformación de algunas sustancias en productos deseados, lo cual permite utilizarlos en procesos fermentativos productores de cantidades relativamente grandes de sustancias químicas útiles y de valor económico.

2.- Es necesario conocer el papel desempeñado por los microorganismos en los procesos en donde la acción buscada es la producción de cantidades menores de productos secundarios.

En las fermentaciones provocadas por microorganismos puede no ser conveniente si al entrar en acción micrororganismos de otro tipo se desvía la marcha de la reacción. Por lo que la microbiología industrial se encarga de descubrirlos y combatirlos. (5).

La levadura *Saccharomyces cerevisae* comprende el mayor número de cepas de levadura usadas en la industria. Casi todas las levaduras usadas en la fabricación de alcohol, cerveza, vino, whisky y pan, son variedades o cepas de esta especie.

Las células son por lo general ovaladas, más o menos globosas y -  
las hay alargadas. Se reproducen por gemación, la cual puede ser en -  
cualquier región de la célula. Las células madres de muchas cepas se -  
agrupan en racimos con sus descendientes, formando así las levaduras ra-  
mificadas.

Las levaduras usadas en la producción industrial de alcohol presen-  
tan la siguiente clasificación taxonómica: (2)

Reino	Vegetal.
Subreino	Talofitas.
División	Eumycetes.
Clase	Ascomycetes.
Familia	Saccharomycetaceae.
Género	Saccharomycetoideae.
Tribu	Saccharomycetaeae.
Especie	Saccharomyces cerevisiae.

Características de la *Saccharomyces cerevisiae*: (7).

Longitud: 7.2 micras.

Diámetro: 5.6 micras.

Peso: 13 x 10<sup>-9</sup> mg.

Células secas por mg. 26 x 10<sup>6</sup>

Area de superficie por mg. de célula húmeda: 30 cm<sup>2</sup>

Células húmedas por mg. 7.7 x 10<sup>6</sup>

Células por ml. de cultivo: 50 x 10<sup>6</sup>

(2) Escamilla Hurtado. Reyes Dorantes. Varela Gutiérrez. Proyecto pa-  
ra la industrialización de la tuna. Tesis Prof. U.N.A.M. 1977.

(7) Kirk Othmer. Enciclopedia de Tecnología Química. T. VII. p. 118. -  
T. X. P. 77. T XI. P. 13

Peso de las células por litro de cultivo: 6.500 mg.

Superficie de la célula por litro: 5.57 m.<sup>2</sup>

La Composición química de esta especie es la siguiente: (8).

Humedad: 68-83%

Nitrógeno: 7- 9% o 12-14% (proteínas 65-79%; bases púricas 10% -  
pirimidinas 4%; aminoácidos 15%.

#### 1.4. Métodos de Esterilización.

Para evitar el efecto competitivo de bacterias, mohos y levaduras - que influyen adversamente en las reacciones llevadas a cabo para ciertas condiciones, se utilizan varios métodos de esterilización, tanto de alimentos como de materiales.

Los aparatos y las instalaciones de la industria de la fermentación se deben esterilizar o por lo menos recibir una protección contra una participación destructora de los microbios. Las operaciones de que se disponen para estos fines son de naturaleza física (acción del calor, esterilización por vapor, etc.) y de tipo químico (acción de los conservadores).

La forma vegetativa de los microorganismos se destruye con facilidad a temperaturas elevadas (superiores a 62°C), temperatura a la que - las proteínas se desnaturalizan quedando inservibles para el proceso vital.

Para una perfecta esterilización hay que eliminar las esporas, en - los aparatos vacíos de vidrio, tubos de ensayo, cajas de petri, etc., con frecuencia se utiliza el horno de esterilización a temperaturas superiores de 160° por tiempo de 120 min. (9).

(8) Zúñiga Gallegos S. Recuperación de las levaduras de los mostos fermentados en una fábrica de alcohol. Tesis Prof. U.A.S.L.P. 1965.

(9) Haen Hugo. Bioquímica de las Fermentaciones. p. 102, 103.

## 2.- ASPECTOS BIOQUIMICOS.

### 2.1. Fermentación.

Es un proceso en el que se lleva a cabo cambios químicos en un substrato orgánico por acción de enzimas elaboradas por microorganismos.

El alcohol etílico es el resultado de fermentaciones de los glúcidos o carbohidratos. El caso más sencillo es el de ciertos glúcidos no hidrolizables (azúcares simples) fermentescibles (10). Sólo cuatro hexosas fermentan con la levadura: D-glucosa, D-fructosa, D-manosa y D-galactosa.

Gran cantidad de productos que contienen hidratos de carbono de precio muy reducido deben aprovecharse en la producción del alcohol etílico. La materia prima para procesos fermentativos puede clasificarse en tres tipos principales:

1.- Materias sacaroides: azúcar de caña, remolacha, melaza y jugos de frutas.

2.- Materias almidonaceas: cereales (maíz, malta, cebada, avena, centeno, trigo, arroz, sorgo, etc.), patatas, yuca, etc.

3.- Materias celulósicas: madera, residuos de pasta de papel.

La fermentación de materias sacaroides por lo general requieren poco o ningún tratamiento preliminar aparte de la dilución; pero las materias amiláceas o celulósicas deben ser hidrolizadas a azúcares fermentescibles antes que actúen sobre ellas las levaduras.

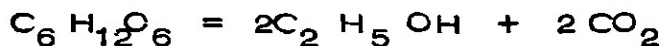
El éxito de los procesos fermentativos depende de una concentración de azúcar óptima, PH y temperatura óptimas, adición de sustancias nutritivas al mosto si se carece de un constituyente esencial, inhibición al

(10) Devore G. y Muñoz Mena. E. Química Orgánica. Pág. 613 y 614.



crecimiento bacteriano, empleo de levadura adecuada con tolerancia alcohólica alta y capaz de producir grandes cantidades de alcohol. (5)

El proceso fermentativo es una perioricidad de reacciones que en general se expresa por la reacción que estableció Gay Lussac:



En el esquema de la fermentación establecido por Neuberg, (esquema No. 1) la hexosa se separa en dos moléculas de triosa, probablemente una forma hidratada del metilglioxal. La triosa por pérdida de agua forma metilglioxal o una forma activa de este compuesto. El metilglioxal, un aldehído cetónico se convierte en ácido pirúvico por oxidación mientras reduce otro compuesto intermediario (glicerina). El ácido pirúvico se descompone en acetaldehído y dióxido de carbono por acción de la descarboxilasa de la levadura. El acetaldehído por hidrogenación pasa a alcohol etílico. (5)

Posteriormente Meyerhof-Embden, Parns, Cori y otros investigadores estudiaron la bioquímica del proceso. (esquema No. 2) (11) (12) (13).

En principio la glucosa reacciona con una molécula de ATP en presencia de la enzima hexoquinasa y de un catión divalente  $Mg^{++}$  dando por resultado glucosa 6P., después ocurre un rearrreglo intramolecular por la enzima fosfohexosaisomerasa dando fructosa 6P., la que es refosforilada consumiendo una molécula más de ATP en presencia de  $Mg^{++}$  y formando un intermediario, la fructosa 1-6 difosfato. Este intermediario metabólico

(5) Prescott S.C. y Dunn C.G. Microbiología Industrial. Cap. IV. p. 112, 113. Cap. V. 146-154.

(11) Apuntes de Depto. de Bioquímica. Facultad de Medicina. U.N.A.M.

(12) Franco Lincoln J. Gpe. La Vinificación en una Bodega de B. Calif. - Tesis.

(13) Jonguitud Gzlez. Santoyo Pérez. Química y Metabolismo de Carbohidratos. Tesis Prof. U.A.S.L.P. 1979.



de 6 átomos de carbono y 2 átomos de fósforo, se convierte por medio de la enzima aldolasa, en 2 moléculas de 3 átomos de carbono fosforilado que se denominan: gliceraldehído 3 fosfato y la dihidroxiacetona fosfato, esta última se transforma por acción de la fosfotriosa-isomerasa a gliceraldehído 3 fosfato que se integra al proceso de la fermentación. A partir de aquí, comienza una fosforilación en presencia de fósforo inorgánico por acción de la enzima fosfogliceraldehído 3p deshidrogenasa, formándose el ácido 1-3 difosfoglicérico, en el cual la energía de enlace del fósforo en la posición 1 se transfiere a una molécula de ADP produciendo una de ATP en presencia de  $Mg^{++}$  y de la enzima fosfoglicericocinasa, dando lugar a la formación del 3 fosfoglicerato. Posteriormente, se efectúa un cambio del fósforo de la posición 3 a la posición 2 en presencia de la enzima fosfoglicericomutasa produciendo el 2 fosfoglicerato, el cual pierde una molécula de agua y en presencia de la enzima enolasa y de el catión divalente  $Mg^{++}$  forma un derivado enol, el ácido 2 fosfoenolpirúvico, el cual cede a la energía del enlace fosfórico de la posición 2 a una molécula de ADP formando una de ATP en presencia de la enzima piruvicocinasa y de  $Mg^{++}$  produciéndose ácido enolpirúvico que se convierte de inmediato en pirúvico. La fermentación prosigue con el paso del ácido pirúvico por acción de la enzima carboxilasa a aldehído acético y bióxido de carbono. El aldehído acético por una reducción da origen al producto final de la fermentación: Alcohol Etilico.

## 2.2. Reacciones Enzimáticas.

Como se ha visto, la fermentación alcohólica se efectúa en presen -

cia de catalizadores bioquímicos, llamados enzimas o diastasas, los cuales son elaborados por organismos vivos.

Los mohos, levaduras y bacterias pueden segregar o elaborar una gran variedad de enzimas, posiblemente en mayor extensión que cualquier otra clase de células simples, cada raza, especie o género tiene su propia provisión de enzimas o bien una capacidad peculiar para segregarlas. Cada enzima es altamente específico con respecto a las sustancias sobre las cuales actúa y a la reacción que cataliza. Las sustancias cuya transformación química es acelerada por influjo de una enzima, se llama sustrato.

El proceso diastásico de la fermentación alcohólica hace intervenir una serie de enzimas cuya mezcla conocida con el nombre de zimasa, es elaborada por la levadura *S. cerevisiae*, éstas son: hexoquinasa, fosfohexo-saisomerasa, fosfofructoquinasa, aldolasa, fosfotriosaisomerasa, fosfogliceraldehído 3 p deshidrogenasa, fosfoglicerocinasa, fosfoglicerocomutasa, enolasa, piruvicocinasa y carboxilasa.

Existen también otros sistemas que intervienen en el mecanismo de la fermentación alcohólica, este es el sistema coenzimático que comprende las sustancias que aumentan la acción de una enzima. Una coenzima es una molécula orgánica que participa en la reacción adhiriéndose a la enzima, con la cual hace que ésta sea activa (7).

Las coenzimas que intervienen en la fermentación alcohólica son de dos tipos:

(7) Kirk Othmer. Enciclopedia de Tecnología Química. T. VII. Pág. 916 T. VI Pág. 988. T. X. Pág. 85.

- Coenzimas de la piridina que comprende la coenzima I o coenzima II que químicamente es el nicotin-amido-adenin-dinucleótido o difosfopiridinnucleótido (NAD o DPN). Este es el grupo transportador de hidrógeno.

- Coenzimas del ácido adenílico que actúan aceptando o cediendo un radical fosfórico, éstas son adenosin difosfato (ADP) y adenosin trifosfato (ATP).

La manera de actuar tanto de las enzimas como de las coenzimas está representada en el Esquema No. 2.

### 2.3. Productos Secundarios de la Fermentación Alcohólica.

Ademas del etanol se forman durante la fermentación alcohólica - compuestos intermediarios y productos metabólicos de otra actividad de la levadura que no es la fermentación alcohólica. También se forman impurezas; esto es, compuestos producidos por organismos distintos de la levadura.

Todos estos compuestos son productos secundarios. Su proporción depende del tipo de levadura empleada, de la temperatura de fermentación, del PH, de la pureza del microorganismo (ausencia de infecciones por otros organismos), de la materia prima, de los nutrientes añadidos, de la presencia de oxígeno (fermentadores abiertos o cerrados), del tiempo empleado en la fermentación, de la concentración de carbohidratos, etc. (7).

(7) Kirk Othmer, Enciclopedia de Tecnología Química. T. VII. Pág. 916 T. VI. Pág. 938. T. X. Pág. 85.

La mayoría de los productos secundarios se forman a expensas del azúcar, mientras que el alcohol amílico y el isoamílico se forman de aminoácidos (isoleucina y leucina) que proceden del medio, pero en caso de falta de nitrógeno, pueden tener su origen en las proteínas de la levadura. El ácido succínico procede del ácido glutámico.

La leucina y la isoleucina no se convierten en los correspondientes alcoholes ni tampoco el ácido succínico se produce en ausencia del azúcar fermentable ni por la levadura viva ni por el jugo de levadura o zima\_ssa. (5)

La acetona, el metanol y el 2.3. butanodiol se derivan de los azúcares por acción de los contaminantes bacterianos. El aceite de fusel, que es una fracción industrialmente importante del destilado, está formado por varios compuestos que varían en cantidad y proporción según las materias primas (alcohol n-propílico; alcohol n-hexílico; ácidos grasos libres; ésteres; terpenos e hidratos de terpenos; furfural) (7).

Compuestos distintos de Etanol, formados en la fermentación de 100 gr. de azúcar (7).

<u>Compuestos</u>	<u>Peso Grs.</u>	<u>Compuestos de Vestigios:</u>
Acetaldehído	0.01-0.08	Furfural
Acético	0.05-0.50	Acetona
2,3 Butanodiol	0.06-0.10	Amóniaco
Glicerol	2.5 -3.6	Etilamina
Ac. Láctico	0.20-0.40	Aldehído propiónico.
Ac. Succínico	0.50-0.70	Acroleína
Aceite de fusel	0.35-0.70	Aldehído isobutírico.
Metanol	0.00-0.10	Alcohol terbutílico.
		Ac. fórmico.
		Ac. leutírico.
		Esteres.

Estos productos secundarios que influyen en el olor y sabor del etanol; pueden eliminarse por destilación fraccionada, por absorción con carbón activado, por oxidación (con permanganato de potasio u otras sustancias) o empleando una combinación de los tres métodos (7).

#### 2.4. Ajuste de Nutrientes.

Los microorganismos de fermentación son incapaces de fabricar su propio alimento por el proceso de fotosíntesis ya que carecen de clorofila. Esto se halla en marcado contraste con muchos organismos unicelulares que se multiplican fácilmente sobre nutrientes y son capaces de sintetizar los compuestos muy complejos que los constituyen. (6)

Las levaduras, como las bacterias y otras formas de vida, requieren ciertos materiales alimenticios y condiciones en el medio para un apropiado crecimiento y reproducción. En un ciclo fermentativo solamente se busca mantener una levadura vigorosa para la propia y ulteriores fermentaciones.

Algunos elementos básicamente son necesarios, como: C., H, O, N, P, K, S, Ca, Fe, Mg, vitaminas y otros compuestos orgánicos se requieren también para el desarrollo satisfactorio y el funcionamiento normal de muchos tipos de levadura. (5)

La levadura puede multiplicarse en medios muy sencillos, con tal de que contengan los diversos compuestos "bios" anteriormente señalados, que pueden ser suministrados por el substrato o por inoculación (6).

Como fuentes de carbono pueden ser útiles: acetatos, citratos,

(6) Webb F.C. Ingeniería Bioquímica. Pág. 241.

malatos, ácido láctico, succínico, alcohol a concentraciones bajas y otras determinadas sustancias. Al considerar los azúcares como fuente de carbono, hay que recordar la diferencia que puede existir entre la capacidad de una levadura para asimilar un azúcar o para fermentarla. En el caso de la *S. cerevisiae*, tiene la particularidad de fermentar y asimilar a la glucosa. (5)

En los inicios de la fermentación, es necesaria una gran cantidad de oxígeno para la reproducción de las células de la levadura en condiciones óptimas, aunque en sí, la producción de alcohol no requiere de este gas. El desprendimiento de bióxido de carbono, establece las condiciones anaerobias.

El contenido de nitrógeno en las levaduras varía entre 7 y 9% aunque puede oscilar entre 2 y 14% (8). Además este elemento se puede suministrar a la levadura dependiendo de la especie en forma amoníaco, sales amoníacas  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2 \text{PO}_4$ , aminoácidos, péptidos, peptonas, urea o nitritos. El amoníaco y las sales amoníacas parecen ser las fuentes más adecuadas de nitrógeno por su bajo precio, fácil disponibilidad y sencilla asimilación (5).

Los nutrientes inorgánicos se dividen en: macronutrientes, que la levadura necesita en concentración de 0.1-2.0 gr/100 gr. de peso seco de levadura y micronutrientes que se requieren en concentración de 0.5-10 mgr./100 gr. de peso seco de levadura.

(8) Zúñiga Gallegos S. Recuperación de las levaduras de los mostos fermentados en una fábrica de alcohol. Tesis Prof. U.A.S.L.P. - 1965.



Los Macronutrientes comprenden el K, Mg, P y S.

El papel desempeñado por el K en el metabolismo celular no ha sido especificado.

El Mg. es un cofactor para el funcionamiento de muchas enzimas (hexoquinasa, enolasa, fosfoglucomutasa, etc.)

El P. es esencial para la glucólisis fosforilativa y para mecanismos de transformación de energía y se halla en muchos compuestos esenciales (Ac. adenílico, trifosfato de adenosina, coenzimas I y II, etc.) o suele incorporarse como sal potásica o amónica.

El S. es necesario para la síntesis de ciertos aminoácidos (cisteína, cisteína y metionina).

Los Macronutrientes comprenden el Fe, Cu, Zn, cuyas necesidades es difícil determinar.

Entre las vitaminas indispensables figuran la biotina, Ac. pantoténico; tiamina, Ac. nicotínico y piridoxina, los cuales constituyen el factor de crecimiento. (7)

Todos estos aspectos son importantes para el desarrollo de un método adecuado para la obtención de alcohol a partir de jugo de tuna, por lo cual se señalan en el presente trabajo para su utilización en los capítulos siguientes.

### CAPITULO III

#### MATERIAL Y METODOS

En el presente Capitulo se especifican y se describen, tanto el equipo a utilizar a nivel laboratorio piloto e industrial, así como la descripción de los métodos a seguir en cada uno de los pasos de la parte experimental del trabajo.

##### 1.- EQUIPO UTILIZADO.

Agitador; Alargadera de Bidwel Sterling; alcoholímetro; aparato de destilación (matraz, embudo de seguridad, termómetro, refrigerante), balanza, baño maría, barricas de madera; bureta; cápsula de porcelana; condensador; crisol de gooch; crisol de porcelana; cubetas de plástico; cuchillos de acero inoxidable; desecador; embudo; embudo de separación; extractor Soxhlet; frascos de vidrio; matraz kjeldahl; matraz erlenmeyer, matraz de fondo plano; matraz volumétrico; matraz de digestión; matraz con tapón esmerilado; mechero bunsen; mufla; parrilla de calentamiento; perilla kjeldahl; pipetas volumétricas; potenciómetro Beckman -72; probetas; pulper; refractómetro C-32° Brix; refrigerante; refrigerador, termómetro graduado de 0-100°C; vasos de precipitado.

##### 2.- REACTIVOS UTILIZADOS.

Acido acético; agua amoniacal; ácido clorhídrico; alcohol; ácido nítrico; anaranjado de metilo; acetato de plomo; ácido sulfúrico; benceno; bisulfito de sodio; cloruro de sodio; éter; fenolftaleína en solución alcohólica

y en polvo; fosfato de amonio; granalla de zinc; hidróxido de sodio en len\_ tejas y en solución; levadura de panadería; reactivos utilizados en la deter\_ minación cualitativa de aniones y cationes; solución bufer de fosfatos, sul\_ fato ácido de potasio; sulfato de cobre; sulfato de amonio; sulfato de sodio; solución oxidante (dicromato de potasio; agua y ácido sulfúrico) solución de yodo; solución de almidón; tartrato de sodio y potasio; tetracloruro de car\_ bono; tiosulfato de sodio; yeso; yoduro de potasio.

### 3.- PREPARACION DE LA MATERIA PRIMA.

La tuna se lava y se seca, enseguida se procede a descascararla - manualmente con cuchillos de acero inoxidable, el fruto sin cáscara se - pulpea en un pulper provisto con malla de acero inoxidable de 33 mñesi - mas de pulgada, obteniendo así el jugo de pulpa de tuna sin semilla, el - cual se utiliza para las diferentes pruebas llevadas a cabo en el presente trabajo.

En todas las partes de la preparación se tomaron los pesos para - calcular los rendimientos.

### 4.- ANALISIS CUALITATIVO DEL JUGO DE TUNA.

A manera de investigación se realizó el análisis cualitativo del jugo de tuna para conocer los componentes inorgánicos que lo forman y a su - vez detectar la presencia de algun mineral importante que pudiera represen\_ tar un ahorro en los nutrientes adicionados o la presencia de posibles in\_ hibidores en el desarrollo del mecanismo fermentativo, utilizando como - métodos las siguientes marchas:

#### 4.1. Pruebas Cualitativas para la identificación de los Aniones:

##### Grupo IA

##### 4.1.1. Identificación de Sulfitos.

A la solución problema se le añaden 2 gotas de HCl conc., 5 gotas de acetato de bario y se filtra, al filtrado se le agregan 5 gotas de  $H_2O_2$  la formación de un precipitado indica la presencia de sulfitos.

##### 4.1.2. Identificación de Arsenitos.

A la solución problema se le agregan 2 gotas de HCl dil, 2 gotas de agua caliente, se pasa corriente de sulfhídrico y la formación de un precipitado amarillo confirma arsenitos.

##### 4.1.3. Identificación de Arseniatos.

A la solución problema se añaden 2 gotas de HCl conc, se calienta y se agregan cristales de KI, si la sln se hace café o se oscurece, indica la presencia de arseniatos.

##### 4.1.4. Identificación de Fosfatos.

A la sln problema se añaden 5 gotas de  $HNO_3$  conc. y unos cristales de ác. tartárico, se agita y se agrega molibdato de amonio, se calienta suavemente, la formación de un precipitado amarillo confirma la presencia de fosfato.

##### Grupo I B.

##### 4.1.5. Identificación de Oxalatos.

El precipitado obtenido se lava con agua y se agregan 10 gotas de  $H_2SO_4$  se calienta agitando y se agregan 2 gotas de  $KMnO_4$ , se calien

ta, la decoloración del  $\text{KMnO}_4$  indica presencia de oxalatos.

#### 4.1.6. Identificación de Fluoruros.

El precipitado se lava 2 veces con agua y se pasa a la superficie limpia de un vidrio de reloj, se calienta en baño María hasta que se seque y se añaden 2 gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. sobre el residuo seco, se continúa el calentamiento en baño María durante 15 minutos, se lava y la corrosión del vidrio confirma fluoruros.

### Grupo II

#### 4.1.7. Identificación de Sulfatos.

El precipitado se lava con HCL y un precipitado blanco o amarillo insoluble en HCL indica la presencia de sulfatos.

#### 4.1.8. Identificación de Cromatos.

El filtrado se divide en 2 partes, a una parte se le agrega acetato de sodio y se calienta, un precipitado amarillo indica presencia de cromato. A la otra porción se le agrega 1cc de éter y unas gotas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  una coloración azul que se recoge en la capa de éter indica presencia de cromato.

### Grupo III.

#### 4.1.9 Identificación de Sulfuros.

El precipitado se lava con agua caliente y se descartan los lavados, se coloca en un tubo de ensayo y se agregan 2 cc de HCl, se cubre la boca del tubo con un papel filtro que contenga una solución de acetato de plomo, el oscurecimiento de el papel indica iones sulfuro.

#### 4.1.10. Identificación de Ferrocianuro.

El precipitado se lava con agua caliente y se descartan los lavados, se coloca en una placa de porcelana y se agrega HCl hasta disolver, se agregan 1 o 2 gotas de nitrato férrico, un precipitado azul oscuro confirma la presencia del ión ferrocianuro.

#### 4.1.11. Identificación de Ferrócianuro.

El precipitado se lava con agua caliente y se descartan los lavados, se coloca en una placa de porcelana y se disuelve en HCl, se añaden 3 gotas de agua destilada y unos cristales de sulfato ferroso, la formación de un precipitado azul oscuro confirma la presencia de ferrócianuro.

### Grupo IV

#### 4.1.12. Identificación de Tiosulfato.

A 3 cc de la solución problema se le añaden 5 gotas de  $\text{AgNO}_3$ , se forma un precipitado que se calienta durante 2 minutos y si cambia de negro a gris durante el calentamiento, indica la presencia de tiosulfato.

#### 4.1.13. Identificación de Cloruro.

La solución problema se hace fuertemente ácida con  $\text{HNO}_3$ , se calienta a baño María durante 2 minutos, un precipitado blanco que se ennegrece con la luz indica el ión cloruro.

#### 4.1.14. Identificación de Yoduros y Bromuros.

El precipitado se pasa a un tubo de ensayo, se agrega un poco de agua y un exceso de ác. acético y después un poco de zinc en polvo, se agita y se calienta suavemente durante 5 minutos, se filtra y el precipita-

do se descarta (es plata metálica y zinc), al filtrado se agregan 20 gotas de tetracloruro de carbono y después gota a gota, agua de cloro, agitando continuamente, una coloración violeta en la capa de tetracloruro de carbono, indica la presencia del ión yodo, se agrega después un exceso de agua de cloro y una coloración amarilla o rojiza indica la presencia del ión bromo.

#### 4.1.15. Identificación de Tiocianato.

El precipitado se pone en una placa de porcelana con 2 gotas de HCl y una de  $\text{FeCl}_3$  una coloración pardo rojiza indica la presencia de tiocianato.

### Grupo V.

#### 4.1.16. Identificación de Nitritos.

A la solución problema se agregan unas gotas de ác. acético y 1 cc. de tiourea, se calienta a baño María durante 1 minuto, se agregan unas gotas de cloruro férrico y una coloración rojo sangre indica presencia de nitritos (una efervescencia debido a la presencia de nitrógeno indica también nitritos).

#### 4.1.17. Identificación de Acetatos.

A la solución problema se le agrega 1 cc de alcohol etílico, 1 cc de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. gota a gota y agitando después de cada adición, se calienta a baño María durante 2 minutos, se aspira con precaución y un olor a frutas indica la presencia de acetatos.

## 4.2. Pruebas Cualitativas para la Identificación de Cationes.

### Grupo I.

#### 4.2.1. Identificación de Mercurio.

Una coloración negra en el residuo se debe a la presencia de Hg.

#### 4.2.2. Identificación de Plata.

A la solución que pasa a través del filtro se le agrega  $\text{HNO}_3$  dil y la formación de un precipitado blanco confirma la presencia de Ag.

#### 4.2.3. Identificación de Plomo.

El líquido obtenido se separa en 2 tubos, a uno se le agregan 4 gotas de KI y al otro 4 gotas de  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  y un precipitado amarillo confirma la presencia de Pb.

### Grupo IIA.

#### 4.2.4. Identificación de Mercurio.

El precipitado se disuelve en 2 cc de agua regia, se lleva a sequedad se agrega agua y se calienta, se divide en 3 partes, a una se le agregan 2 gotas de KI y un precipitado rojo indica Hg., a otra porción se le agrega una lámina de Cu brillante y un depósito negro sobre la lámina que se abrillanta al frotarla indica Hg., a la última porción se le agregan 2 gotas de  $\text{SnCl}_2$  y un precipitado blanco se vuelve gris e indica Hg.

#### 4.2.5. Identificación de Bismuto.

El precipitado se lava con agua y se divide el papel en 3 porciones, a una se le agregan 2 gotas de cinconina y un precipitado rojo indica Bi.,



#### 4.2.6. Identificación de Plomo.

El filtrado se acidifica con  $\text{HC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  y se agregan 2 gotas de  $\text{KCrO}_4$  un precipitado amarillo indica Pb.

#### 4.2.7. Identificación de Cobre.

Una parte del filtrado se acidifica con ác. acético y se agregan 2 gotas de ferrocianuro de potasio, un precipitado rojo indica Cu.

#### 4.2.8. Identificación de Cadmio.

Está contenido en la otra porción del filtrado. Si el Cu y el Hg. - están presentes, se agrega KCN hasta decoloración de la solución azul, enseguida se calienta y se agrega  $\text{Na}_2\text{S}$  y un precipitado amarillo indica Cd.

### Grupo IIB.

#### 4.2.9. Identificación de Arsénico.

El precipitado se divide en 2 partes, a una se agrega  $\text{AgNO}_3$ , si - se forma un precipitado blanco se filtra, al filtrado se le vuelve a agregar  $\text{AgNO}_3$  y un precipitado café confirma As. La otra parte del precipitado se pasa a un tubo de ensayo con Zn y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dil, se tapa el tubo - con un papel filtro que contenga  $\text{AgNO}_3$  el ennegrecimiento del papel indica As.

#### 4.2.10. Identificación de Antimonio.

A una porción del filtrado evaporado se añade ác. oxálico y  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta que esté alcalina, se agregan unas gotas de  $\text{Na}_2\text{S}$  y un precipitado anaranjado indica Sb.

#### 4.2.11. Identificación de Estaño.

A otra porción del filtrado evaporado se añade un volumen igual de agua y 3 clavos de Fe. y se evapora hasta la mitad de su volumen. Se filtra y al filtrado se añaden 2 gotas de  $\text{HgCl}_2$  un precipitado blanco o gris confirma la presencia de Sn.

#### Grupo III A.

#### 4.2.12. Identificación de Aluminio.

El precipitado se lava con agua y se pasa a un vaso con HCl dil., se calienta, se agregan 4 gotas de aluminón y luego amoníaco dil, hasta que la soln es básica, se calienta 2 minutos y la formación de un precipitado rojo o rosa indica Al.

#### 4.2.13. Identificación de Cromo.

El precipitado se pasa al vidrio de reloj, se agregan 3 gotas de HCl y 4 gotas de KOH. Se agregan 2 gotas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y un color azul que desaparece indica Cr.

#### 4.2.14. Identificación de Zinc.

Al filtrado se le agregan 10 gotas de  $\text{Na}_2\text{S}$  y se calienta, un precipitado blanco indica Zn. Se le agrega HCl y si el precipitado se disuelve, inmediatamente confirma Zn.

#### Grupo III B.

#### 4.2.15. Identificación de Manganeso.

A una parte del precipitado diluido con agua destilada se le agrega un poco de  $\text{NaBiO}_3$  sólido, una coloración violeta indica Mn.

#### 4.2.16. Identificación de Hierro.

Otra porción del precipitado diluido se divide en 2 partes, a una se

agregan 2 gotas de  $\text{NH}_4\text{CNS}$  y una coloración rojo sangre indica Fe. A la otra porción se le agregan unas gotas de  $\text{K FeCN}$ . un precipitado azul intenso confirma Fe.

#### 4.2.17. Identificación de Cobalto.

A otra parte del precipitado diluído se agrega fluoruro de sodio y se divide en 2 porciones, a una se añaden 2 gotas de alfa nitroso beta - naftol y un precipitado pardo rojizo que no se disuelve en  $\text{HCl}$  indica Co.

#### 4.2.18. Identificación de Níquel.

A la última parte del precipitado diluído, se le agrega fluoruro de sodio y luego  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta que esté alcalina, luego 4 gotas de dimetil glioxima, un precipitado rojo indica Ni.

### Grupo IV.

#### 4.2.19. Identificación de Bario.

El precipitado que se baja con  $\text{H C}_2\text{H}_3\text{O}_2$  se diluye y se agrega en caliente  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  y un precipitado amarillo indica Ba.

#### 4.2.20. Identificación de Estroncio.

Si al lavar el precipitado con agua caliente y éste queda blanco, indica la presencia de Sr.

#### 4.2.21. Identificación de Calcio.

Si al agregar al filtrado  $(\text{NH}_2)_2 \text{C}_2\text{O}_4$  y calentar se forma un precipitado blanco, indica Ca.

#### 4.2.22. Identificación de Magnesio.

A la mitad del filtrado se añade un volúmen igual de  $\text{KOH}$  y una

gota de magnesón, un precipitado azul confirma la presencia de Mg.

Grupo V.

#### 4.2.23. Identificación de Sodio.

A una porción del filtrado se le agregan unas gotas de acetato de uranilo y un precipitado amarillo indica Na. A otra porción se le introduce un alambre limpio de platino, y se lleva a la llama, una coloración anaranjada indica la presencia de Na.

#### 4.2.24. Identificación de Potasio.

A una porción del filtrado se agrega cobaltinitrito de sodio sólido y un precipitado amarillo indica la presencia de K.

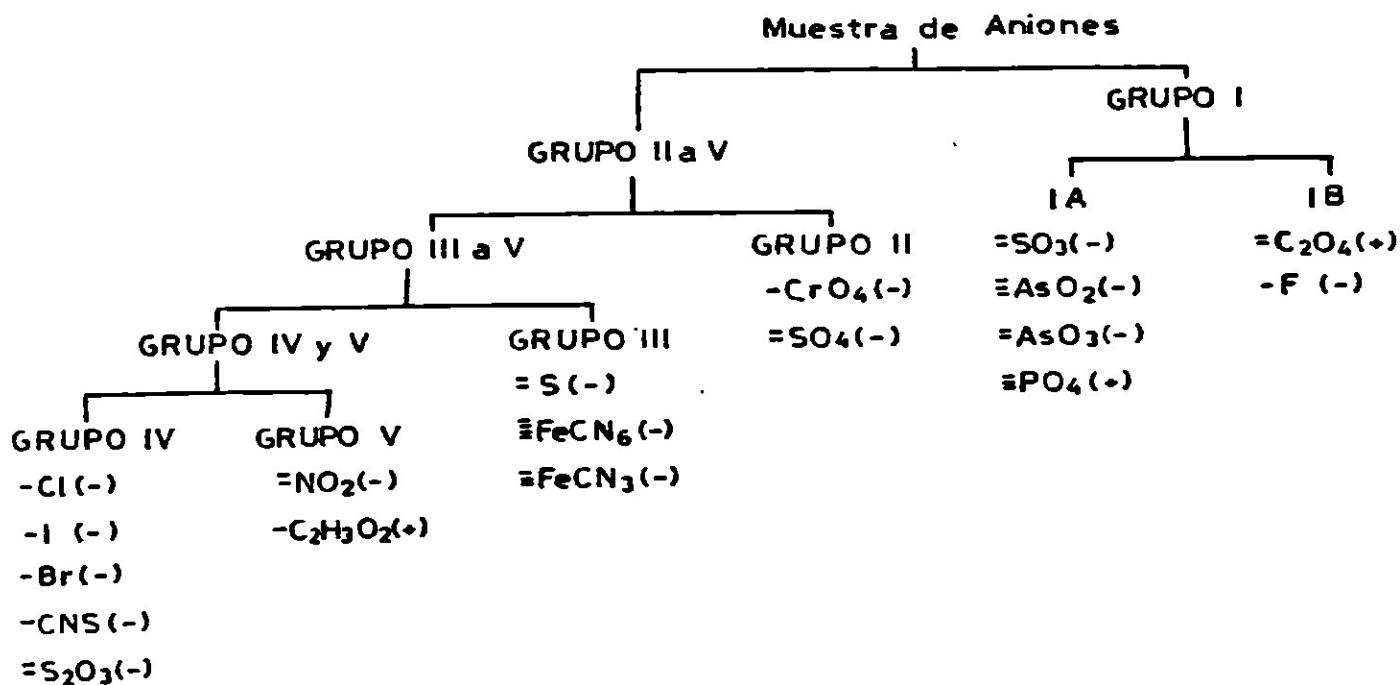


TABLA No.1.- Identificación de Aniones.

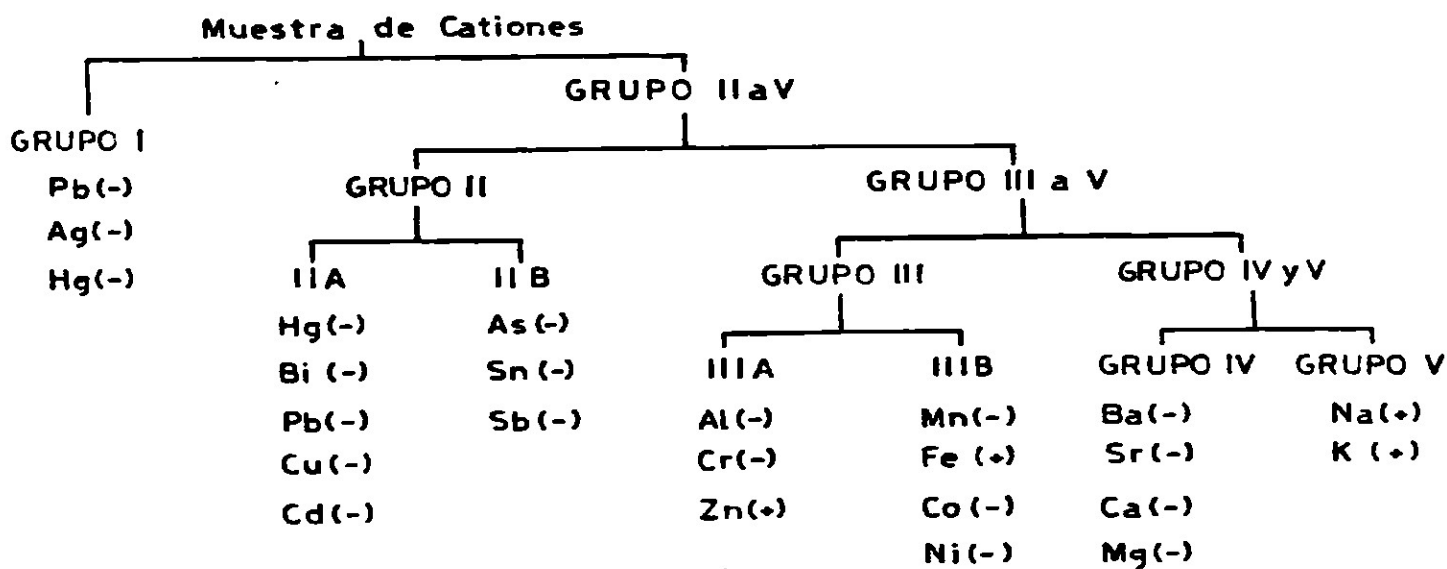
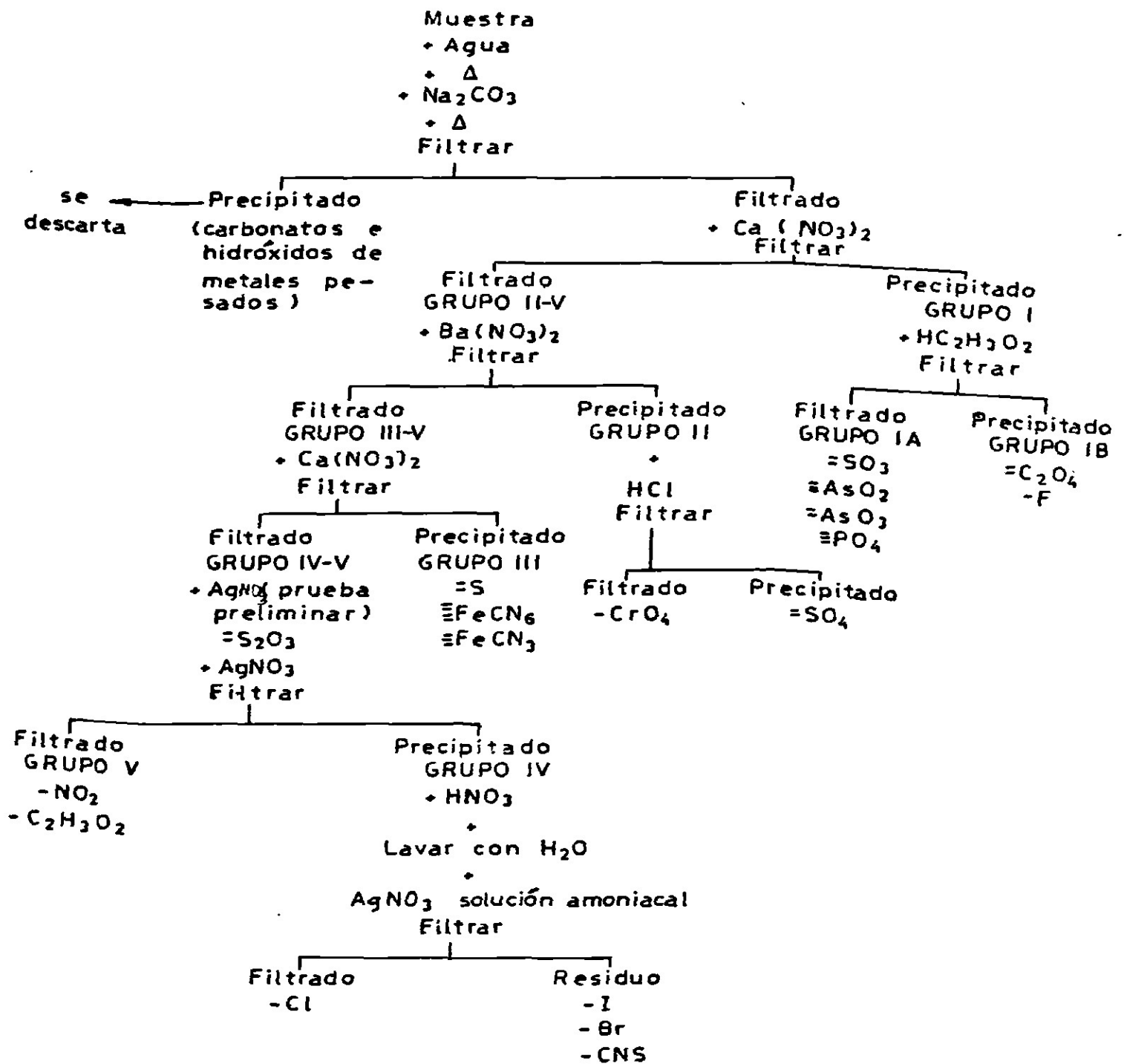
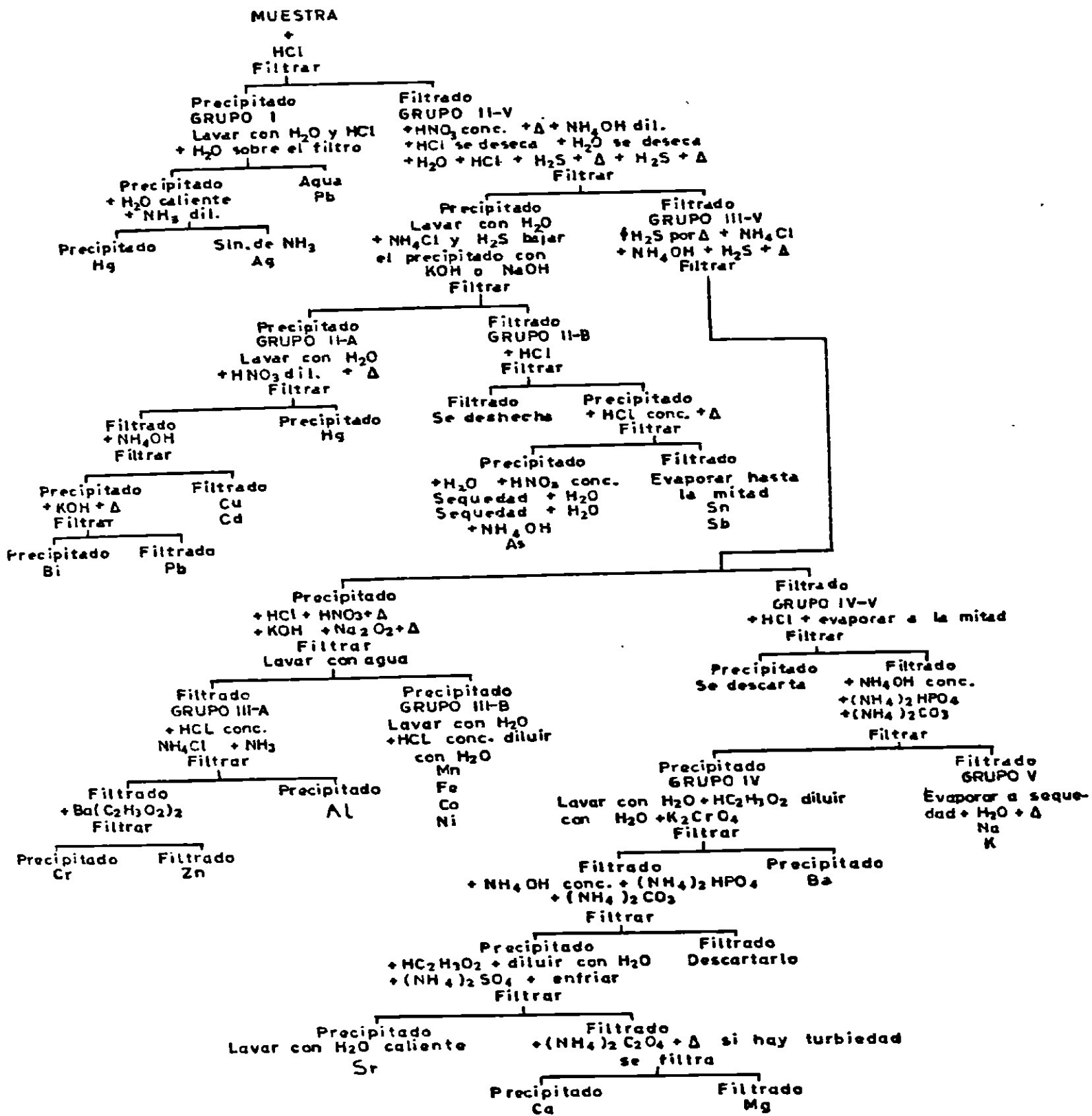


TABLA No.2.- Identificación de Cationes.



IDENTIFICACION DE ANIONES



## IDENTIFICACION DE CATIONES

## 5.- ANALISIS BROMATOLOGICOS.

### 5.1. Determinación de Acidez.

Se pesan 6.4 grs. de jugo de tuna, se agrega agua destilada, usando fenolftaleína como indicador, se titula con solución 0.1 N de NaOH.

### 5.2. Determinación de PH.

Se ajusta el potenciómetro utilizando una solución buffer de fosfatos (PH 4.0-.1 ), tomando en cuenta la corrección que indique la solución a la temperatura que se haga la determinación. Se colocan las soluciones por ensayar en vasos de precipitados, haciéndose las lecturas correspondientes, enjuagando el electrodo y ajustando el potenciómetro en cada lectura (14).

### 5.3. Porcentaje de sólidos Disueltos.

Para medir los sólidos solubles se utilizó un refractómetro (0-32 Brix), el cual consta de prismas en los que se pone la muestra dando directamente la lectura correspondiente al contenido de sólidos disueltos en la muestra.

### 5.4. Determinación Proteínas.

En un matraz Kjeldahl de 500 cc. se hacen llegar cuidadosamente hasta el fondo 3 gr. de muestra, se agregan 5 gr. de sulfato ácido de potasio, 0.5 gr. de sulfato de cobre y 25 cc. de ácido sulfúrico, se agita y se calienta a llama directa suave hasta que la formación tumultosa de espuma ha cesado (30 a 45 min.)

Se introduce un embudo de cola larga por la boca del matraz y se continúa el calentamiento con la llama intensa y ebullición franca, en es -

(14) Valdivieso Sandoval C. Estudio Sobre encurtido de nopal basado en la transformación de metabolitos por microorganismos encargados de la fermentación láctica. Tesis Prof. U.A.S.L.P. 1977.



te momento el desprendimiento de vapores picantes de anhídrico sulfuroso se hace más intenso, se sigue calentando hasta que el líquido presente un color verde azulado y se calienta media hora más. Toda esta operación se efectúa en la campana de gases.

Se traslada el líquido resultante a un matraz de fondo plano de 1,000 cc. que contenga 50 cc. de agua, se enjuaga repetidas veces el matraz Kjeldahl con pequeñas cantidades de agua destilada que se reciben en el matraz de fondo plano, se neutraliza la solución con la cantidad necesaria de NaOH en lentejas, se debe de tener cuidado al neutralizar para evitar pérdidas de amoníaco, se deberá estar enfriando constantemente, esto se hace introduciendo el matraz en un baño de hielo. Se añade granalla de zinc y se tapa el matraz con el tapón que lleva la perilla Kjeldahl y está unida al refrigerante que debe ir continuado con una alargadora recta, que se introduce en el matraz receptor que debe contener de 25 a 40 cc. de ácido clorhídrico 0.1. N.

Se calienta el matraz de 1000 cc. rápidamente para provocar una destilación rápida pero evitando los sobresaltos. En 30 minutos se reciben de 100 a 150 cc. de destilado, suficiente para dar por terminado el trabajo. Se valora el exceso de ácido en el matraz receptor, con NaOH 0.1. N. en presencia de naranja de metilo (15).

#### 5.5. Determinación de Reductores Directos (Método de Felhing).

Se pesan 60 gr. de muestra, los cuales se ajustan a un pH de 5.0 con NaOH, se defecta el líquido con solución saturada de acetato de plo -

(15) Análisis Químico Bromatológicos. Escuela de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P. Pág. 28-31.

mo (evitando el exceso), se agita, se afora a 250 cc. con agua destilada y se filtra, del filtrado se elimina el exceso de plomo precipitándolo con pequeñas cantidades de carbonato de sodio anhidro (evitando el exceso), se agita y se filtra. Con el filtrado se hace la titulación sobre 10 cc. de licor de Fehling y 40 cc. de agua destilada, hasta obtener una coloración rojo ladrillo de óxido de cobre (16).

#### 5.6. Determinación de Reductores Totales.

Del líquido azucarado obtenido en la determinación de reductores directos, se miden 100 cc. en un matraz volumétrico, a los cuales se les agregan 6 gotas de ácido clorhídrico puro y se hierve durante 30 minutos. Una vez frío se restablecen los 100 cc con agua destilada, se agita y se mide el poder reductor sobre 10 cc de licor de Fehling y 40 cc de agua destilada, hasta obtener una coloración rojo ladrillo (16).

#### 5.7. Determinación de Grasa.

Se pesan 25 gr. de jugo de tuna, los cuales se vierten sobre un platillo con cantidad suficiente de yeso, haciéndose una pasta firme que se deseca en la mufla a 100 °C, hasta que quede de color blanco, después se pulveriza la masa y se pasa a un aparato de agotamiento, se introduce éter en el matraz colocando éste sobre una cápsula que contenga agua, calentándose suavemente.

El agotamiento debe durar hasta que el disolvente no arrastre más grasa. Se recupera el solvente por el mismo sistema y finalmente se evapora el contenido de matraz a baño María, se deseca a 100°C en la estufa y se pesa. (16)

(16) Salazar Hidalgo. Substancias Alimenticias. Guía Práctica de Análisis. Págs. 153 y 154.

#### 5.8. Determinación de Celulosa.

Se pesan 0.3 gr. de la muestra (sin desengrasar), los cuales se ponen en el matraz de digestión, se añaden 15 cc. de ácido acético comercial al 80% y 1.5 cc de ácido nítrico, mezclándose bien con un movimiento rotatorio, se pone el contenido del matraz a hervir durante 20 o 25 minutos sobre una llama pequeña. Mientras se halla todavía caliente, se filtra sobre el crisol de gooch, previamente humedecido con ácido acético.

Se lava por agitación en forma usual con los líquidos siguientes que se agregan primero al matraz para ayudar a la eliminación de la fibra, 7 a 10 ml. de la mezcla para la digestión (caliente), agua caliente, unas gotas de alcohol para humedecer el amianto, 5 a 10 ml. de éter, 1 a 2 ml. de la mezcla para digestión (caliente) y agua para conseguir la eliminación completa del olor a ácido. Al añadir el éter téngase cuidado de enjuagar los costados del crisol. Se deseca gradualmente y se calienta finalmente a 105-108°C, se enfría y se pesa. El secado puede acelerarse mediante un lavado final con etanol seguido de otro con éter.

#### 5.9. Determinación de Humedad.

Se pesan 25 gr. de jugo de tuna, se le agregan 75 cc. de benceno. Se conecta el matraz con la alargadera y ésta con el refrigerante. Se coloca el matraz sobre un baño de agua hirviente o con llama corta de mechero para provocar la ebullición lenta del benceno durante 2 o 3 horas, hasta que el agua separada en el tallo graduado de la alargadera no varía apreciablemente en volumen. Se suspende la operación cuando en media hora no varía más dicho volumen. (2)

(2) Escamilla Hurtado. Reyes Dorantes. Varela Gutiérrez. Proyecto para la Industrialización de la Tuna. Tesis Prof. UNAM. 1977 Pág. 31.

#### 5.10. Determinación de Cenizas.

Se pesan 5 gr. de muestra homogénea en un crisol de porcelana previamente tarado. Se evapora a sequedad a baño María, se carboniza con un mechero, posteriormente se incinera en la mufla a 550°C. Se enfría en un desecador y se pesa. Se vuelve a meter en la mufla hasta obtener un peso constante. (2)

## 6.- PRUEBAS DE OPTIMIZACION EN EL PROCESO FERMENTATIVO .

### 6.1. Determinación de PH óptimo para la Fermentación.

Se determinó el PH natural del jugo de tuna en un potenciómetro Beckman, se tomaron 2 porciones de jugo de 5 litros cada una, a una de éstas se ajustó el PH deseado y a la otra además de ajustar el PH deseado se agregó 0.1 gr. % de levadura de panadería. Se observó la fermentación en las 2 porciones de jugo haciendo determinaciones de PH, acidez, temperatura, reductores directos, temperatura y grado alcohólico para determinar el inicio, término y eficacia de la fermentación.

Esta prueba se efectuó variando el PH a 4.0; 4.4; 4.8 y 5.1.

### 6.2. Influencia de Nutrientes en la fermentación.

Se tomaron dos porciones de 5 litros de jugo de tuna cada una, ajustándolas al PH óptimo y agregándoles  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a una de estas porciones se agregó además 0.1 gr % de levadura de panadería, se observó la fermentación en las dos porciones haciendo determinaciones de Ph, acidez, temperatura, reductores directos y grado alcohólico.

### 6.3. Comportamiento de la Fermentación Controlando el PH.

Se tomaron dos porciones de jugo de 5 litros cada una, ajustando al Ph óptimo y agregándoles  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a una porción se le agregó además 0.1 gr. % levadura de panadería, una vez iniciada la fermentación se controló el Ph manteniéndolo entre 4 y 4.5 además de esto se determinó acidez, temperatura, reductores directos y grado alcohólico.

El Ph se controló utilizando agua amoniacal,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Y NaOH

según las condiciones en que se encontrara el Ph.

6.4. Fermentación Utilizando un Inóculo de Levadura Obtenido del mismo Jugo.

Se tomó una porción de jugo de tuna de 5 litros, ajustando al Ph óptimo se inoculó levadura a partir de la fermentación natural del jugo de tuna. Se observó la fermentación haciendo determinaciones de Ph, acidez, reductores directos y grado alcohólico.

Para la obtención de la levadura se puso a fermentar jugo de tuna en un frasco de vidrio estéril, a temperatura ambiente y dejando que el jugo fermentara en forma natural.

El agar Sabouraud que es específico para la levadura se preparó y se esterilizó colocándolo después en las cajas de Petri y dejándolo solidificar una vez solidificado el medio, se hizo la inoculación por estría, tomando una azada con el aza de platino estéril del jugo de tuna fermentado. Se incuban las cajas en la estufa de cultivo a 37°C, observando el crecimiento a las 24 horas.

Se resiembró en agar nutritivo que es un medio de enriquecimiento, tomando una azada de los diferentes tipos de colonias que se desarrollaron en el agar Sabouraud. Incubar 24 horas a 37°C. Se observa el crecimiento y se preparan frotis de las colonias desarrolladas. Se coloca cada tipo en un portaobjetos extendiéndolo con ayuda de solución buffer, fijando la preparación al calor y haciendo un tinción por el método de Gram. Otros frotis se preparan sin teñirlos y se observan en microscopio.

Una vez que ha sido seleccionada la levadura deseada, se procede a su aislamiento resemebrándola en Potato Dextrose Agar (agar papa), que es un medio específico de crecimiento de la especie *S. cerevisiae*. Se hace la inoculación por dilución en placa, tomando una azada de las colonias de las placas de agar nutritivo. Se incuban las cajas 24 hrs. a 37°C. Se observa el crecimiento y se preparan nuevamente frotis observándolos al microscopio para comparar estas preparaciones con grabados de *S. cerevisiae* y comprobar que se está aislando un cultivo de *S. cerevisiae* para utilizarlo como inóculo en las pruebas deseadas.

#### 6.5. Comportamiento de la Fermentación, Utilizando Cáscara y Pulpa de Tuna.

Se tomaron dos porciones de jugo de pulpa y cáscara de tuna de 5 litros cada una, ajustando al PH óptimo y agregándoles  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  como nutriente, a una de las porciones se agregó además, 0.1 gr. % de levadura de panadería. Se observó la fermentación en las dos porciones haciendo determinaciones de PH, acidez, temperatura, reductores directos y grado alcohólico.

Esta prueba se repitió de la misma manera pero sin utilizar  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  como nutriente, o sea que se puso a fermentar el jugo de pulpa y cáscara de tuna, únicamente ajustando al PH óptimo y a otra porción se agregó además levadura de panadería.

## 7.- DETERMINACIONES REALIZADAS DURANTE LA FERMENTACION PARA ENCONTRAR LAS CONDICIONES OPTIMAS.

### 7.1. Determinación de Acidez.

El método es el mismo que se utilizó en el análisis bromatológico de la materia prima.

### 7.2. Determinación de PH.

El método es el mismo que se utilizó en el análisis bromatológico de la materia prima.

### 7.3. Determinación de Reductores Directos.

El método es el mismo que se utilizó en el análisis bromatológico de materia prima.

### 7.4. Determinación de Temperatura.

Se introduce un termómetro graduado en el frasco de fermentación, obteniendo directamente la lectura de la temperatura de fermentación.

### 7.5. Determinación del Grado Alcohólico.

En un matraz volumétrico se miden 100 cc de jugo de tuna fermentado, se pasan a una cápsula de porcelana en donde se alcaliniza con una solución de NaOH al 25% en presencia de fenolftaleína en polvo. Esta solución se pasa a un matríz de destilación, enjuagando la cápsula con agua destilada y agregando estos lavados al mismo matríz. El matríz que estará provisto de embudo de seguridad y termómetro, se conecta a un refrigerante y se efectúa la destilación hasta obtener de 75 a 100 ml. de destilado, los cuales se aforan a 100 cc. con agua destilada. Se pasa la mezcla uniforme a un tubo en donde se introduce el alcoholímetro, mar -



cando éste densidad de temperatura. Las lecturas obtenidas se lleva a una tabla de donde obtendremos el grado alcohólico del jugo de tuna fermentado.

## 8. PRUEBA EXPERIMENTAL PARA OBTENCION DE ALCOHOL.

### 8.1. Fermentación.

Tomando en cuenta las condiciones óptimas para la fermentación obtenidas en las pruebas anteriores, se fermentaron 28 litros de jugo de tuna en barricas de madera. En el transcurso de la fermentación se determinó PH, acidez, temperatura, reductores directos y grado alcohólico para determinar el inicio y término de la fermentación, así como una posible desviación de ésta.

### 8.2. Destilación.

Una vez terminada la fermentación se procedió a destilar el jugo en una planta piloto de destilación (Figura No. 1), tomando en cuenta el tiempo inicial de destilación, así como el grado alcohólico de cada litro de destilado, suspendiendo la destilación cuando el grado alcohólico es menor de 5.

Esta prueba se realizó varias veces hasta obtener una cantidad considerable de alcohol destilado.

El grado alcohólico de cada litro de destilado se determinó tomando una muestra uniforme de 100 ml. los cuales se pasan a un tubo en donde se introduce el alcoholímetro, marcando éste densidad y temperatura. Las lecturas obtenidas se llevan a una tabla en donde obtendremos el grado alcohólico del destilado.

La temperatura se determinó también en cada litro de destilado introduciendo el termómetro para leer directamente la temperatura de destilación.

### 8.3. Rectificación.

En la prueba experimental para la obtención de alcohol etílico se obtuvo un volumen total de 40 lts. de destilado, el cual se juntó y se determinó el grado alcohólico y temperatura de la mezcla.

Se procedió a la rectificación en dos porciones de 20 lts. cada una, tomando en cuenta el tiempo inicial y final, así como el grado alcohólico de cada litro de alcohol rectificado. Se separó el primero y el último litro, o sea el alcohol llamado de "cabezas" y de "cola", juntándose el alcohol del centro.

Se rectificó la segunda porción de 20 lts. de alcohol junto con el primer litro de la rectificación anterior, o sea, el de cabeza, tomando también en cuenta el tiempo de la destilación y el grado alcohólico, separando la porción central de las de los extremos.

Se juntaron las dos porciones centrales de alcohol rectificado, obteniéndose un volumen total de 11. litros al cual se determinó temperatura y grado alcohólico.

La determinación del grado alcohólico se hizo de la misma manera que durante la destilación.

Para darle el bouquet y el aroma al alcohol de tuna se diluyó con agua hasta obtener un grado alcohólico de 58 añejándolo después en barricas de madera y obtener así un brandy de la mejor calidad.

## 9.- DETERMINACIONES EN EL PRODUCTO TERMINADO.

### 9.1. Determinación del Contenido de Esteres.

Se transfieren 25 ml. de destilado en un matr az de 250 ml., se neutraliza la acidez libre y se añade un exceso de NaOH. 0.1.N. El matr az se conecta en un condensador de agua para reflujo. Se calienta una hora en baño María y se deja enfriar. Se titula el exceso de alcali (2).

### 9.2. Determinación del contenido de Aceite de Fusel (Mezcla de alcoholes Superiores).

Después de titular el exceso de alcali en la determinación de esterres, se transfiere la solución a un embudo de separación y se extrae cuatro veces con  $CCl_4$ , usando porciones de 20, 15, 10 y 5 ml. Se lavan las extracciones combinadas de  $CCl_4$ , con tres porciones de 25 ml. de NaCl saturada y con dos porciones de 25 ml. de solución saturada de sulfato de sodio. La mezcla se agita durante 1 minuto. Se transfiere la capa de  $CCl_4$ , a un matr az conteniendo 25 ml. de solución oxidante (se prepara disolviendo 20 gr. de dicromato de potasio en 90 ml. de agua y se adicionan 10 ml. de ácido sulfúrico); se hierve a reflujo durante una hora. Pasado este tiempo se deja enfriar, se añaden 50 ml. de agua través del refrigerante y se destila hasta que quedaron 25 ml. en el matr az de destilación; se añadieron 25 ml. más de agua y se volvió a destilar hasta que quedaron de 15 a 25 ml. en el matr az de destilación (hasta que la solución no presente color). El destilado se titula con NaOH 0.1N utilizando fenolftaleína como indicador (2)

(2) Escamilla Hurtado. Reyes Dorantes. Varela Gutiérrez. Proyecto para la Industrialización de la Tuna. Tesis Prof. UNAM. 1977. 40 a 42.

### 9.3. Determinación del Contenido de Aldehídos.

En un matraz con tapón esmerilado se miden 100 ml. de agua destilada recientemente hervida y fría. Se añaden 10 ml. del destilado y enseguida 25 ml. de una solución de bisulfito de sodio 0.05N. Se tapa el matraz y se deja en reposo durante 30 minutos agitando de vez en cuando. Pasado este tiempo se añade solución valorada de yodo 0.05N, se agregan 3 ml. de solución saturada de yoduro de potasio, se agregan 10 gotas de solución de almidón al 1%. Se agrega solución de tiosulfato de sodio 0.05N hasta decoloración completa. Se efectúan las mismas determinaciones con una prueba en blanco, conteniendo las mismas cantidades de yodo y bisulfito de sodio que la muestra. (2)

### 9.4. Determinación Cromatográfica.

Para comprobar la calidad del alcohol obtenido, se efectuó un cromatograma de éste en un cromatógrafo de gases. Esta determinación fue efectuada en la Facultad de Química, División de Estudios Superiores de la U.N.A.M.

La determinación fue realizada tomando en cuenta las siguientes condiciones: la columna utilizada está formada por Carbowax 1,540 15%, que constituye la fase líquida y por Cromosob W AW DMCS 100/120, que son algas diatomáceas lavadas con ácido agua, desactivadas con dimetilclorocicloro y pasadas por un tamiz 100/120. El tubo de acero inoxidable de la columna mide 5 m. x 3 mm. Al hacer la determinación la columna tuvo una temperatura inicial programada de 80 °C en un tiempo de 12 minutos.

La temperatura final fué 150°C con una ruta o período de 15°C por minuto. En el inyector la temperatura fué de 200°C lo mismo que en el detector. El gas transportador utilizado fué nitrógeno en una proporción de 33 ml/min. El detector es de ionización a la flama y contiene un flujo de hidrógeno de 300 ml. por minuto y otro de aire de 300 ml./min. que se mezclan con la muestra que sale de la columna y ésta se ioniza dando una señal eléctrica que es detectada formando un pico.

El volumen utilizado de muestra fué de 5 microlitros con una velocidad de 0.25 cm./min.

Se corrió un cromatograma comparativo en una muestra de un brandy de producción nacional bajo las mismas condiciones que en el caso del alcohol de tuna.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

En este Capítulo se darán los resultados tanto de las pruebas analíticas efectuadas, como de los procesos de fermentación y de la prueba experimental en la obtención de alcohol de tuna.

#### 1.- Preparación de la Materia Prima.

La composición porcentual de la tuna, fué la siguiente:

Cáscara	=	58.80 %
Pulpa	=	36.71 %
Semilla	=	<u>4.49 %</u>
		100.00 %

El peso promedio calculado para la tuna cardona es de 75.00 gr/tuna.

#### 2.- Análisis Cualitativo del Jugo de Tuna.

Los resultados obtenidos en las marchas analíticas para aniones y cationes se ilustran en las tablas Nos. 1 y 2, pudiendo observar que en el jugo de tuna se encuentran presentes: oxalatos, acetatos, fosfatos, zinc, sodio, potasio, calcio y fierro.

#### 3.- Análisis Bromatológicos.

Es necesario hacer notar que las proporciones de los distintos componentes en la pulpa de tuna cardona varían de acuerdo con el grado de madurez, edad del nopal, condiciones climatológicas, época del año, etc. Por lo cual en algunas determinaciones realizadas, los resultados se van a dar como promedio obtenido de las diferentes muestras de tuna con que

se trabajó.

Los resultados obtenidos en el análisis bromatológico del jugo de pulpa de tuna cardona, están representados en la tabla No. 3.

#### 4.- Pruebas de Optimización en el Proceso Fermentativo.

Los resultados obtenidos para las pruebas de optimización de la fermentación, fueron los siguientes:

##### 4.1. Determinación del PH óptimo para la fermentación.

En la prueba para PH = 4.0 se observó que la fermentación en el caso de ser natural, tiene una duración de 91 hrs. con un grado máximo de alcohol de 5.3 (Tabla No. 4, Gráfica No. 1) y con este mismo PH, pero añadiendo al jugo de tuna levadura de panadería, la duración de la fermentación es de 45 hrs. con un grado máximo de alcohol de 6.8 (Tabla No. 5, Gráfica No. 1).

En la prueba para PH = 4.4 se observó que la fermentación en el caso de ser natural, tiene una duración de 116 hrs. con un grado máximo de alcohol de 5.1 (Tabla No. 6, Gráfica No. 2) y con este mismo PH pero añadiendo levadura de panadería, la duración de la fermentación es de 43 hrs. con un grado máximo de alcohol de 5.1. (Tabla No. 7, Gráfica No. 2).

En la prueba para PH = 4.8 se observó que la ferme acción en el caso de ser natural, tiene una duración de 102 hrs., con un grado máxi - mo de alcohol de 5.6 (tabla No. 8) (Gráfica No. 3) y con este mismo PH pero añadiendo levadura de panadería, la duración de la fermentación es

de 43 hrs. con un grado máximo de alcohol de 7.0 (Tabla No. 9, Gráfica No. 3).

En la prueba para  $\text{PH}=5.1$ , se observó que la fermentación en el caso de ser natural tiene una duración de 104 hrs. con un grado máximo de alcohol de 5.2. (Tabla No. 10) (Gráfica No. 4) y con este mismo Ph pero añadiendo al jugo de tuna levadura de panadería, la duración de la fermentación es de 46 hrs. con un grado máximo de alcohol de 6.8 (Tabla No.11) (Gráfica No.4).

#### 4.2. Influencia de Nutrientes en la Fermentación.

En el jugo de tuna fermentado, añadiendo nutriente y ajustando al Ph óptimo, el tiempo de duración de la fermentación es de 142 hrs., con un grado máximo de alcohol de 3.9 (Tabla No. 12) (Gráfica No. 5).

En el jugo de tuna fermentado añadiendo nutriente, ajustando al Ph óptimo y además agregando levadura de panadería, el tiempo de duración de la fermentación es de 61 hrs., con un grado máximo de alcohol de 4.7 (Tabla No. 13,)(Gráfica No. 5).

#### 4.3. Comportamiento de la Fermentación Controlando el Ph.

En el jugo de tuna fermentado con  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y controlando el Ph con agua amoniacal y sulfato amónico, el tiempo de duración es de 104-hrs., con un grado máximo de alcohol de 1.9 (Tabla No. 14) (Gráfica No. 6).

En el jugo de tuna fermentado con  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  añadiendo levadura de panadería y controlando el Ph con agua amoniacal y sulfato amónico - el tiempo de duración de la fermentación es de 34 hrs. con un grado má



ximo de alcohol de 3.8 (Tabla No. 15) (Gráfica No. 6).

En el jugo fermentado con  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y controlando el Ph con el hidróxido de sodio, se observó la fermentación durante 56 hrs. sin detectar la formación de alcohol étilico (Tabla No. 16).

En estas determinaciones se observó disminución en el contenido de reductores pero sin aumento considerable de alcohol.

4.4. Fermentación utilizando un inóculo de levadura obtenido del mismo jugo.

Aquí se observó que la duración de la fermentación es de 105 hrs. - con un grado máximo de alcohol de 4.4 (Tabla No. 17) (Gráfica No. 7).

4.5. Comportamiento de la Fermentación utilizando cáscara y pulpa - de tuna.

En el jugo de pulpa y cáscara de tuna fermentado con nutriente y ajustando a un Ph óptimo, el tiempo de duración de la fermentación es de 66 hrs., con un grado máximo de alcohol de 2.1 (Tabla No. 18) (Gráfica No. 8).

En el jugo fermentado con nutriente, ajustando a Ph óptimo y agregando levadura de panadería, la duración de la fermentación es de 22 hrs., detectándose un grado máximo de alcohol de 4.1 (Tabla No. 19) (Gráfica No. 8).

En el jugo de pulpa y cáscara fermentado a un Ph óptimo la fermentación duró 74 hrs. con un grado máximo de alcohol de 2.7 (Tabla No. 20), (Gráfica No. 9).

En el jugo fermentado a Ph óptimo y añadiendo levadura de panadería el tiempo de duración de la fermentación es de 30 hrs. con un máximo de

alcohol de 4.1 (Tabla No. 21) (Gráfica No. 9).

Aquí también se observó disminución en el contenido de reductores sin formación considerable de alcohol.

EFICIENCIA DE LA FERMENTACION EN LAS PRUEBAS DE OPTIMIZACION A PARTIR DEL BALANCE DE CARBONOS.

<u>D E T E R M I N A C I O N</u>	<u>P O R C I E N T O</u>		
	<u>Reductores Iniciales.</u>	<u>Alcohol Formado</u>	<u>Eficiencia.</u>
Fermentación natural PH = 4.0	12.70	5.3	81.66
Fermentación con levadura PH = 4.0	13.88	6.8	95.90
Fermentación natural PH = 4.4	13.02	5.1	76.69
Fermentación con levadura PH = 4.4	13.02	5.1	76.69
Fermentación natural PH = 4.8	12.70	5.6	86.28
Fermentación con levadura PH = 4.8	13.88	7.0	98.73
Fermentación natural PH = 5.1	13.88	5.2	73.34
Fermentación con levadura PH = 5.1	13.88	6.8	95.90
Fermentación natural (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	13.18	3.9	59.94
Fermentación con levadura y con (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> -HPO <sub>4</sub>	13.18	4.7	69.83
Fermentación natural controlando el PH - con agua amoniacal y sulfato amónico	13.88	1.9	26.79
Fermentación con levadura controlando el PH con agua amoniacal y sulfato amónico	14.36	0.0	0.00
Fermentación con levadura obtenida del jugo de tuna.	13.26	4.4	64.99
Fermentación natural de pulpa y cáscara de tuna con (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9.51	2.1	43.29
Fermentación con levadura de pulpa y cáscara de tuna con (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9.51	4.1	84.53
Fermentación natural de pulpa y cáscara de tuna	9.51	2.7	55.67
Fermentación de pulpa y cáscara de tuna con levadura de panadería	9.51	4.1	84.53

5.- DETERMINACIONES REALIZADAS DURANTE LA FERMENTACION PARA ENCONTRAR LAS CONDICIONES OPTIMAS.

Estas pruebas fueron realizadas en cada una de las variables para encontrar las condiciones óptimas de la fermentación, por lo cual los resultados de las mismas están comprendidos dentro de las tablas de la No. 4 a la No. 21.

## 6.- PRUEBA EXPERIMENTAL PARA OBTENCIÓN DE ALCOHOL.

### 6.1. Fermentación.

Esta prueba se realizó doce veces, obteniéndose los siguientes resultados:

#### 6.1.1. Primera Fermentación.

Se destilaron 25 lts. de jugo fermentado el cual contenía inicialmente 12.6 gr. % de reductores directos obteniéndose un grado alcohólico de 6.

Al efectuar el balance de carbonos, se obtuvo la eficiencia de la fermentación resultándonos en este caso 93.16 %.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 22.

#### 6.1.2. Segunda Fermentación.

Se destilaron 12.5 lts. de jugo fermentado el cual contenía inicialmente 12.36 gr. % de reductores directos, obteniéndose un grado alcohólico de 5.7. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 83.20%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 23.

#### 6.1.3. Tercera Fermentación.

Se destilaron 10 lts. de jugo fermentado el cuál contenía inicialmente 12.78 gr. % de reductores directos obteniéndose un grado alcohólico de 4.7. Al efectuar el balance de carbonos resultó una eficiencia de 71.97%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 24.

#### 6.1.4. Cuarta Fermentación.

Se destilaron 19.5 lts. de jugo fermentado el cual contenfa inicialmente 11.57 gr. % de reductores directos obteniéndose un grado alcohólico de

5.5. Al efectuar el balance de carbonos resultó una eficiencia de 93.0%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 25.

#### 6.1.5. Quinta Fermentación.

Se destilaron 19.5 lts. de jugo fermentado el cual contenfa inicialmente 11.83 gr. % de reductores directos, obteniéndose un grado alcohólico de

5.4. Al efectuar el balance de carbonos resultó una eficiencia de 89.40%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 26.

#### 6.1.6. Sexta Fermentación.

Se destilaron 27 lts. de jugo fermentado el cual contenfa inicialmente 11.64 gr.% de reductores directos obteniéndose un grado alcohólico de -

5.4. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 90.90%

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 27.

#### 6.1.7. Séptima Fermentación.

Se destilaron 25 lts. de jugo fermentado, el cual contenfa inicialmente 13.26 gr.% de reductores directos, obteniéndose un grado alcohólico de

5.6. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 87.71%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado, están representados en la tabla No. 28.

#### 6.1.8. Octava Fermentación.

Se destilaron 22 lts. de jugo fermentado, el cual contenfa inicialmente 13.26 gr.% de reductores directos obteniéndose un grado alcóhólico de 5.6. Al efectuar el balance de carbonos resultó una eficiencia de 82.71 %.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcóhólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 29.

#### 6.1.9. Novena Fermentación.

Se destilaron 22 lts. de jugo fermentado, el cual contenfa inicialmente 13.3 gr. % de reductores directos, obteniéndose un grado alcóhólico de 6. Al efectuar el balance de carbonos resultó una eficiencia de 88.36%

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcóhólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 30.

#### 6.1.10. Décima Fermentación.

Se destilaron 25 lts. de jugo fermentado el cual contenfa inicialmente 14.07 gr.% de reductores directos, obteniéndose un grado alcóhólico de - 6.4. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 89.01%

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcóhólico y temperatura de cada litro de destilado, están representados en la tabla No. 31.

#### 6.1.11. Décima primera Fermentación.

Se destilaron 25 lts. de jugo fermentado el cual contenfa inicialmente 14.07 gr.% de reductores directos, obteniéndose un grado alcóhólico de - 6.4. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 89.01%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcóhólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 32

#### 6.1.12. Décima Segunda Fermentación.

Se destilaron 15.5 lts. de jugo fermentado el cual contenía inicialmente 13.18 gr.% de reductores directos, obteniéndose un grado alcohólico de 5.0. Al efectuar el balance de carbonos, resultó una eficiencia de 74.29%.

Los resultados de tiempo de destilación, grado alcohólico y temperatura de cada litro de destilado están representados en la tabla No. 33.

#### 6.2. Rectificación.

El grado alcohólico de la mezcla obtenida de las destilaciones, fué de 40° G.L. a una temperatura de 25°C.

El tiempo inicial y final de la rectificación, así como el grado alcohólico de cada litro de alcohol obtenido en la primera parte de la rectificación, están representados en la tabla No. 34.

El tiempo inicial y final de la rectificación así como el grado alcohólico y temperatura de cada litro de alcohol obtenido en la segunda parte de la rectificación están representados en la tabla No. 35.

El grado alcohólico final de la mezcla de las porciones centrales de alcohol rectificado es de 84°G.L. a una temperatura de 14°C.

### 7.- DETERMINACIONES EN EL PRODUCTO TERMINADO.

#### 7.1. Determinación del Contenido de Esteres.

El contenido de esterés reportado como acetato de etilo, es de 364.5 mgr./lto.

#### 7.2. Determinación del Contenido de Aceite de Fusel.

El contenido de alcoholes superiores representado como alcohol amílico, es de 1,847 mgr./lto.

**7.3. Determinación del Contenido de Aldehidos.**

El contenido de aldehidos en el producto terminado representado - como acetaldehído es de 118 mgr./lto.

**7.4. Determinaciones Cromatográficas.**

El cromatograma obtenido del alcohol de tuna está representado en el esquema No. 3.

El cromatograma comparativo del Brandy de producción nacional - está representado en el esquema No. 4.

TABLA No. 3

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA TUNA CARDONA

ANALISIS	%
Proteínas	0.59
Reductores Totales	12.87
Grasa	0.40
Celulosa	0.20
Humedad	85.74
Cenizas	<u>0.20</u> 100.00
Acidez (Ac. Cítrico)	0.76 (1)
PH	4.85 (2)
Sólidos disueltos	13.40 °Brix (3)
Reductores directos	12.87 gr. % (4)
Reductores indirectos	no detectables.

- (1) Rango comprendido entre 0.04-0.15
- (2) Rango comprendido entre 4.4 -5.8
- (3) Rango comprendido entre 12 - 15
- (4) Rango comprendido entre 11.5 - 15.6



TABLA No. 4

PH = 4.0 FERMENTACION NATURAL

Tiempo Horas:	Temperatura. °C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	24.0	4.0	0.15	12.70	0.
13	26.8	3.7	0.35	6.93	0.
21	24.8	3.6	0.42	6.72	0.8
29	25.0	3.55	0.45	5.95	1.6
37	24.8	3.5	0.46	4.73	2.4
45	24.0	3.5	0.48	3.93	2.9
53	23.8	3.5	0.52	2.87	3.6
61	26.5	3.5	0.53	2.6	3.8
69	23.8	3.5	0.53	2.42	3.9
73	24.0	3.5	0.53	2.19	4.3
77	23.1	3.5	0.54	1.69	4.3
81	23.2	3.5	0.54	1.63	5.0
85	25.3	3.5	0.56	1.24	5.1
89	27.2	3.5	0.57	0.833	5.3
91	26.5	3.45	0.58	0.77	5.3

TABLA No. 5

PH = 4.0 FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA

Tiempo Horas.	Temperatura ° C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.0	0.05	13.88	0.
5	24.7	4.0	0.16	13.02	0.
9	23.4	4.0	0.20	12.62	0.3
13	24.0	3.92	0.22	12.55	0.5
17	23.8	3.9	0.24	12.55	1.5
21	23.6	3.85	0.27	11.90	2.0
25	24.2	3.75	0.29	11.57	2.6
29	26.2	3.6	0.29	9.05	3.4
33	26.2	3.55	0.32	6.41	4.5
35	26.2	3.5	0.37	4.20	4.9
37	25.8	3.45	0.42	3.78	5.5
39	24.2	3.45	0.43	3.01	6.1
41	25.0	3.4	0.45	1.89	6.5
43	25.4	3.4	0.45	1.19	6.5
45	26.0	3.4	0.45	0.10	6.8
47	28.2	3.4	0.45	---	6.8

TABLA No. 6

PH = 4.4. FERMENTACION NATURAL

Tiempo Horas:	Tempera- tura °C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	23.0	4.4	0.13	13.02	0.
14	25.8	4.2	0.37	12.2	0.
34	22.8	3.6	0.37	12.04	0.3
42	26.4	3.5	0.49	10.41	0.5
50	23.4	3.9	0.54	9.46	0.5
58	22.8	3.7	0.6	8.94	1.1
66	23.0	3.6	0.65	8.13	1.5
74	23.0	3.6	0.69	7.60	1.8
82	25.0	3.6	0.71	5.72	2.8
90	27.0	3.65	0.75	4.38	3.5
98	25.2	3.6	0.79	3.72	3.8
106	26.2	3.6	0.80	1.47	4.5
110	27.0	3.7	0.81	0.70	4.8
114	27.0	3.75	0.82	0.36	5.0
116	25.0	3.7	0.84	0.32	5.1

TABLA No. 7

PH = 4.4 FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA

Tiempo Horas	Temperatura °C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	23.0	4.40	0.13	13.02	0.00
5	21.8	4.40	0.16	10.96	0.00
9	23.0	4.25	0.25	9.92	0.20
13	25.2	4.10	0.34	9.46	0.40
17	25.5	4.01	0.36	9.46	0.90
25	25.2	3.90	0.43	7.98	1.90
29	24.5	3.80	0.45	7.06	2.70
33	23.2	3.75	0.46	5.55	3.40
37	26.1	3.70	0.48	4.08	4.10
41	27.7	3.50	0.50	2.04	4.50
43	26.5	3.50	0.50	0.99	5.10
45	24.2	3.50	0.51	0.41	5.10

TABLA No. 8

PH = 4.8 FERMENTACION NATURAL

Tiempo Horas.	Tempera- tura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol. %
0	28.0	4.8	0.07	12.70	0.0
22	28.0	4.2	0.20	12.70	0.0
30	24.0	4.0	0.27	10.40	0.0
38	23.0	4.0	0.31	9.90	0.1
46	27.0	3.8	0.43	8.80	0.1
54	26.8	3.7	0.48	6.93	0.5
62	26.0	3.7	0.61	6.93	1.5
70	27.0	3.6	0.73	6.93	2.7
78	27.1	3.55	0.79	4.90	3.9
86	26.0	3.50	0.89	3.66	4.6
90	23.5	3.50	0.96	2.02	5.3
94	24.4	3.45	0.96	1.22	5.3
98	24.2	3.45	0.96	0.03	5.4
102	24.4	3.45	0.98	0.00	5.6
104	24.5	3.45	0.98	0.00	5.6

TABLA No. 9

PH = 4.8 FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA

Tiempo Horas.	Temperatura °C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.05	13.88	0.0
5	24.8	4.6	0.12	13.88	0.0
9	23.2	4.6	0.16	13.49	0.3
13	24.0	4.2	0.23	13.02	0.5
17	24.0	4.1	0.30	13.02	1.1
21	23.3	3.9	0.31	9.25	1.9
25	25.3	3.8	0.37	8.86	2.5
29	24.8	3.8	0.39	7.57	3.0
33	27.2	3.8	0.39	4.96	4.5
35	26.7	3.8	0.42	3.47	5.0
37	26.2	3.8	0.42	2.77	5.5
39	25.5	3.8	0.44	1.94	6.1
41	25.0	3.7	0.44	1.15	6.4
43	24.8	3.7	0.44	0.44	7.0
45	24.8	3.7	0.46	0.11	7.0

TABLA No. 10

PH = 5.1 FERMENTACION NATURAL

Tiempo Horas	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol. %
0	24.5	5.1	0.05	13.88	0.0
18	22.8	4.1	0.28	11.44	0.0
26	24.2	3.75	0.41	10.96	0.0
34	25.2	3.70	0.44	10.82	0.0
42	23.8	3.70	0.46	10.41	0.0
50	27.3	3.65	0.63	10.41	0.1
58	25.4	3.60	0.68	10.41	0.5
66	20.8	3.60	0.70	10.41	1.1
74	26.2	3.60	0.74	9.46	1.5
82	25.8	3.55	0.75	7.86	2.5
86	22.2	3.55	0.76	6.41	3.0
90	20.2	3.55	0.76	5.80	3.5
94	23.4	3.55	0.80	3.90	4.1
98	28.4	3.55	0.81	1.70	4.7
102	27.2	3.50	0.83	0.32	5.0
104	25.4	3.50	0.83	0.26	5.2

TABLA No. 11

PH = 5.1. FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA

Tiempo Hras.	Tempera- tura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.3	5.1	0.09	13.88	0.0
10	25.2	4.4	0.16	12.62	0.0
18	26.2	3.8	0.35	9.73	1.4
22	25.0	3.7	0.38	7.86	2.4
24	26.0	3.7	0.43	6.83	2.7
26	27.0	3.6	0.47	6.05	3.2
28	27.5	3.6	0.47	4.57	3.6
30	26.0	3.6	0.49	3.41	4.2
32	24.0	3.5	0.53	2.81	4.7
34	25.1	3.5	0.55	1.94	5.1
36	25.1	3.5	0.56	1.38	5.5
38	25.6	3.5	0.56	0.34	6.0
40	25.2	3.5	0.56	0.20	6.2
42	23.5	3.5	0.56	0.05	6.6
44	23.0	3.4	0.57	0.00	6.6
46	25.0	3.4	0.59	0.00	6.8



TABLA No. 12

FERMENTACION NATURAL CON  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$

Tiempo Horas	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.20	13.18	0.0
18	23.0	3.7	0.58	9.46	0.0
26	23.0	3.7	0.69	9.46	0.0
38	22.0	3.65	0.70	8.53	0.0
54	22.5	3.65	0.81	8.30	0.0
66	21.0	3.60	0.84	7.83	0.4
74	22.5	3.60	0.86	7.60	0.8
82	18.0	0.60	0.88	6.76	1.0
90	23.0	3.60	0.92	5.36	1.2
98	22.0	3.60	0.96	4.84	1.7
106	23.0	0.60	1.03	2.89	2.5
114	25.2	3.60	1.03	2.54	3.2
122	23.0	3.50	1.05	0.93	3.6
130	23.2	3.50	1.06	0.32	3.6
138	24.3	3.40	1.07	0.05	3.7
142	24.0	3.40	1.07	1.01	3.9

TABLA No. 13

FERMENTACIÓN CON LEVADURA DE PANADERIA Y CON -  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

Tiempo Horas.	Tempera- tura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	23.0	4.8	0.20	13.18	0.0
5	22.8	4.0	0.40	11.50	0.0
13	22.5	3.8	0.44	10.73	0.0
17	22.0	3.7	0.58	9.01	0.3
21	24.0	3.7	0.62	8.36	0.7
25	23.2	3.7	0.62	7.60	1.0
29	23.0	3.7	0.63	7.38	1.3
33	23.5	3.7	0.66	6.65	1.4
37	23.0	3.6	0.70	5.85	1.6
41	23.2	3.6	0.75	4.07	2.5
45	22.0	3.6	0.77	2.85	3.0
49	24.0	3.4	0.80	1.44	3.8
53	23.5	3.4	0.80	0.48	4.5
57	23.0	3.4	0.81	0.18	4.6
61	20.0	3.35	0.82	0.12	4.7
65	21.2	3.3	0.87	00.06	4.7

TABLA No. 14

FERMENTACION NATURAL CONTROLANDO EL PH ENTRE 4.0 Y -  
4.5. CON AGUA AMONIACAL Y SULFATO AMONICO.

Tiempo Horas.	Tempera- tura ° C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.12	13.88	0.0
12	25.2	4.1	0.32	11.38	0.0
20	22.0	4.1	0.34	10.41	0.0
28	28.0	4.05	0.54	9.78	0.0
36	25.3	4.10	0.56	9.05	0.0
44	22.2	4.20	0.53	8.68	0.0
52	29.0	4.20	0.78	7.86	0.0
60	27.0	4.40	0.63	6.72	0.0
68	22.5	4.30	0.80	6.29	0.5
72	25.0	4.30	0.84	5.43	0.6
76	28.0	4.20	0.86	5.16	0.8
80	28.0	4.30	0.84	5.14	0.8
84	26.0	4.25	0.90	4.10	1.0
88	24.0	4.15	0.88	4.00	1.1
92	23.0	4.10	0.92	3.80	1.1
96	25.5	4.20	0.96	2.97	1.7
100	27.0	4.20	1.50	2.57	1.7
104	27.0	4.10	1.60	1.15	1.9

TABLA No. 15

FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA CONTROLANDO EL PH ENTRE 4.0 Y 4.5 CON AGUA AMONIACAL Y SULFATO AMONICO.

Tiempo Horas.	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	16.5	4.8	0.12	13.88	0.0
4	29.0	4.2	0.24	11.90	0.0
6	28.0	4.1	0.29	11.57	0.0
10	25.6	4.0	0.35	10.52	0.0
14	24.5	4.0	0.35	10.01	0.4
18	23.0	4.2	0.27	8.40	1.0
22	24.5	4.1	0.50	6.16	1.5
26	28.0	4.0	0.54	3.61	2.1
30	27.5	4.2	0.55	2.02	3.0
34	25.5	4.15	0.53	0.25	3.8
38	23.0	4.30	0.53	0.08	3.8

TABLA No. 16

FERMENTACION NATURAL CONTROLANDO EL PH ENTRE 4.0 Y 4.5 CON HIDROXIDO DE SODIO.

Tiempo Horas.	Temperatura ° C.	P.H.	% Acidez	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	24.0	4.8	0.15	14.36	0.0
3	23.5	4.0	0.50	12.36	0.0
8	23.0	4.0	0.62	10.60	0.0
16	26.0	4.25	0.67		0.0
24	23.0	4.40	0.72		0.0
32	28.0	4.30	0.75		0.0
40	27.0	4.35	0.69		0.0
48	22.3	4.40	0.71		0.0
56	23.2	4.45	0.69	6.93	0.0

TABLA No. 17

FERMENTACION CON LEVADORA OBTENIDA DEL JUGO DE TUNA

Tiempo Horas.	Temperatura °C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	23.0	4.80	0.07	13.26	0.0
5	22.0	4.20	0.20	12.78	0.0
11	23.2	4.00	0.25	12.40	0.0
17	22.4	4.00	0.35	12.25	0.0
23	20.5	4.00	0.36	12.11	0.0
27	22.0	4.00	0.38	12.04	0.0
31	20.3	3.80	0.40	12.04	0.0
35	21.0	3.80	0.42	12.04	0.1
39	20.0	3.80	0.42	12.04	0.1
39	20.0	3.80	0.42	12.04	0.1
43	22.2	3.80	0.45	12.04	0.2
47	23.1	3.70	0.50	12.04	0.2
51	22.4	3.70	0.54	11.26	0.3
55	22.0	3.65	0.55	11.08	0.4
59	21.2	3.60	0.55	10.85	0.4
63	22.6	3.60	0.55	10.45	0.6
67	21.0	3.60	0.62	9.56	0.9
71	21.0	3.60	0.64	8.68	1.2
75	25.0	3.60	0.65	7.11	1.3
83	23.2	3.60	0.66	6.21	2.0
91	22.5	3.60	0.78	3.36	2.5
99	23.0	3.60	0.80	0.45	3.9
107	23.0	3.60	0.80	0.45	3.9
115	22.2	3.60	0.81	0.16	4.4
119	22.0	3.55	0.83	0.08	4.4

TABLA No. 18

FERMENTACION NATURAL DE PULPA Y CASCARA DE TUNA CON  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Tiempo Horas	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.06	9.5	0.0
14	25.2	4.9	0.40	7.15	0.0
30	24.5	4.4	0.55	6.74	0.0
38	25.0	4.2	0.62	5.77	0.0
46	25.2	4.2	0.80	3.70	0.7
50	25.2	4.0	0.96	2.60	1.0
54	25.5	4.1	1.05	2.20	1.1
58	25.0	4.0	1.05	1.50	1.2
62	26.2	4.0	1.05	0.60	2.0
66	25.3	3.9	1.10	0.30	2.1
70	25.5	3.9	1.10	—	2.1

TABLA No. 19

FERMENTACION CON LEVADURA DE PANADERIA DE PULPA Y CASCARA DE TUNA CON  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Tiempo Horas	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.06	9.5	0.0
6	25.2	4.7	0.42	7.71	0.0
10	26.0	4.9	0.43	6.27	0.4
14	27.2	4.75	0.45	2.15	1.3
18	26.1	4.40	0.46	1.35	3.5
22	26.0	4.40	0.48	0.20	4.1
26	25.5	4.25	0.49	—	4.1

TABLA No. 20

FERMENTACION NATURAL DE PULPA Y CASCARA DE TUNA.

Tiempo Horas.	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	5.0	4.8	0.06	9.51	0.0
14	25.2	4.9	0.30	8.04	0.0
22	25.3	5.0	0.27	7.60	0.0
30	25.5	4.5	0.48	7.20	0.0
38	25.0	4.35	0.58	6.30	0.0
46	24.5	4.00	0.82	4.40	0.9
50	25.5	3.80	0.91	3.80	1.1
54	25.5	4.00	0.93	3.20	1.2
58	25.0	4.00	0.94	2.80	1.5
62	25.3	4.00	0.94	2.80	1.7
66	26.2	4.00	0.96	1.30	2.0
70	25.8	3.95	1.08	---	2.6
74	27.5	3.95	1.18	---	2.7

TABLA No. 21

FERMENTACION DE PULPA Y CASCARA DE TUNA CON LEVADURA DE PANADERIA.

Tiempo Horas	Temperatura ° C.	P.H.	Acidez %	Carbohid. Grs. %	Alcohol %
0	25.0	4.8	0.06	9.51	0.0
6	26.2	4.9	0.21	7.70	0.1
10	25.5	4.9	0.35	6.90	0.2
14	25.0	4.75	0.40	6.35	1.2
18	26.5	4.75	0.43	4.40	1.9
22	25.5	4.50	0.41	2.57	3.1
26	26.2	4.50	0.41	1.82	3.7
30	25.5	4.50	0.40	0.85	4.1
34	24.8	4.50	0.43	0.35	3.8



TABLA No. 22

DESTILACION DE LA PRIMERA FERMENTACION

No. de Litros.	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
1o.	1.75	21	64
2o.	1.25	23	46
3o.	1.00	18	26
4o.	2.83	18.5	10.5
5o.	2.91	18.0	2.5

TABLA No. 23

DESTILACION DE LA SEGUNDA FERMENTACION

No. de Litros.	Tiempo de - Destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
1o.	1.41	18	42
2o.	2.83	15	6
3o.	2.00	21	2.2

TABLA No. 24

DESTILACION DE LA TERCERA FERMENTACION

No. de Litros.	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura ° C	Grado Alcohólico %
1o.	1.00	17	44
2o.	1.41	19	13
3o.	1.08	23	3.6

TABLA No. 25

DESTILACION DE LA CUARTA FERMENTACION

No. de Litros.	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
1o.	1.00	22	52
2o.	1.50	20	36
3o.	1.16	21	20.8
4o.	1.33	16	6.4
5o.	1.75	19	1.8

TABLA No. 26

DESTILACION DE LA QUINTA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
1o.	1.66	17	56
2o.	1.50	20	40
3o.	2.08	24	14
4o.	2.50	23	3.2

TABLA No. 27

DESTILACION DE LA SEXTA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
1o.	1.5	17	48
2o.	1.0	20	42
3o.	1,91	16	28
4o.	3.58	18	2

TABLA No. 28

DESTILACION DE LA SEPTIMA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
1o.	1.66	16	50
2o.	1.25	16	34
3o.	1.75	18	19.6
4o.	2.00	18	7.6
5o.	2.00	18	2.5

TABLA No. 29

DESTILACION DE LA OCTAVA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
1o.	2.25	24	64.
2o.	1.25	24	42.
3o.	1.66	24	14.8
4o.	1.16	24	5.2
5o.	1.33	23	1.8

TABLA No. 30

DESTILACION DE LA NOVENA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Teperatura ° C	Grado Alcohólico %
1o.	1.00	21	64
2o.	1.08	23	48
3o.	1.00	24	24
4o.	1.25	24	10.8
5o.	1.41	23	2.8

TABLA No. 31

DESTILACION DE LA DECIMA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
1o.	1.33	19	86
2o.	1.00	17	78
3o.	1.25	18	48
4o.	1.66	16	12
5o.	2.00	15	2.8

TABLA No. 32

DESTILACION DE LA DECIMA PRIMERA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
1o.	2.83	20	60
2o.	1.16	21	50
3o.	1.25	21	26
4o.	0.91	20	10
5o.	1.00	20	4

TABLA No. 33

DESTILACION DE LA DECIMA SEGUNDA FERMENTACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
1o.	1.00	19	52
2o.	1.08	19	5.6
3o.	1.00	15	1.6

TABLA No. 34

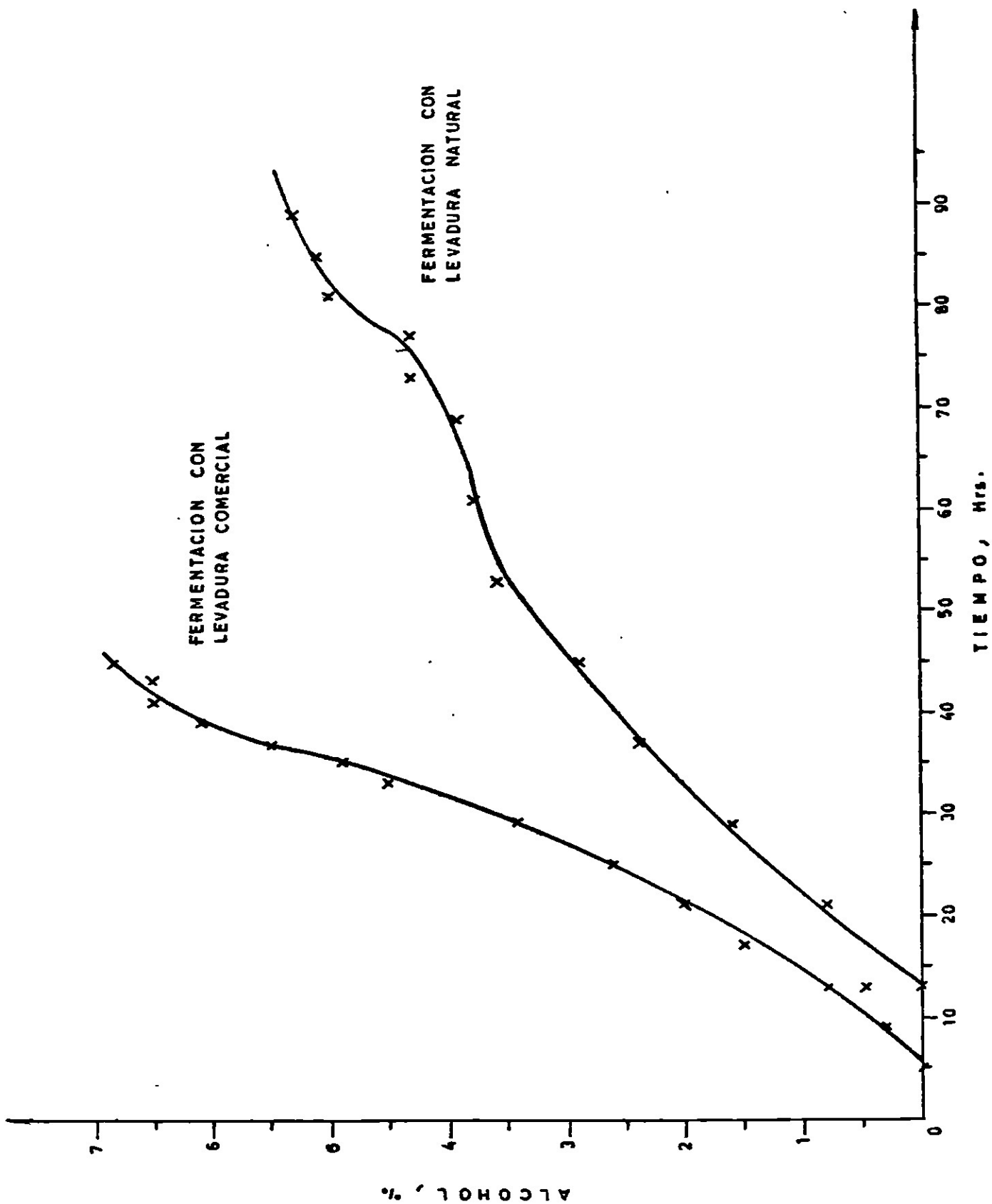
PRIMERA PARTE DE LA RECTIFICACION

No. de Litros	Tiempo de - destilación Hs.	Temperatura °C.	Grado Alcohólico %
* 10.	1.33	19.5	87
20.	0.41	20.0	87
30.	0.41	21.0	87
40.	0.41	21.0	87
50.	0.33	21.5	84
60.	0.41	22.5	82
** 70.	0.50	21.5	80
* Alcohol de Cabeza			
** Alcohol de Cola.			

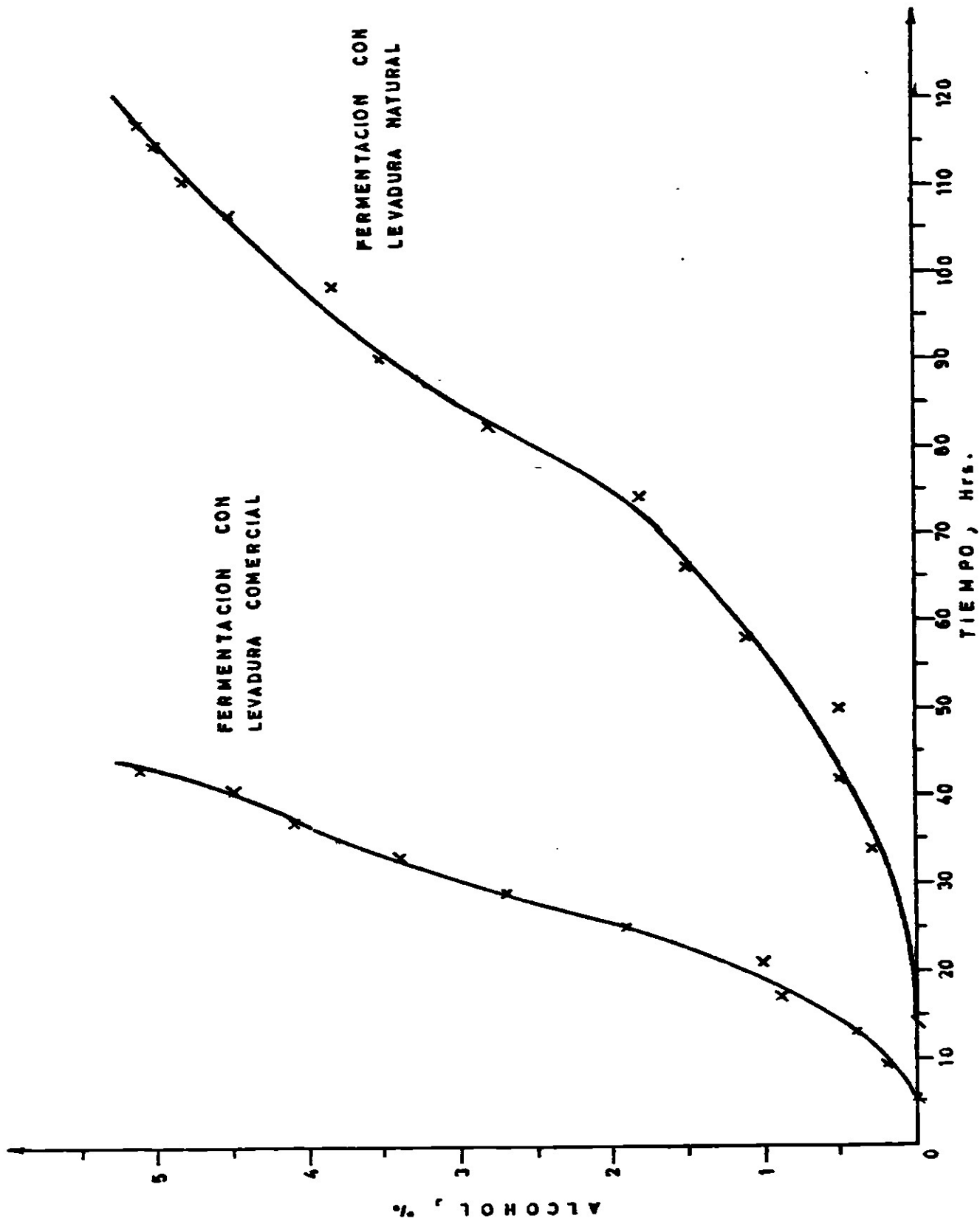
TABLA No. 35

SEGUNDA PARTE DE LA RECTIFICACION

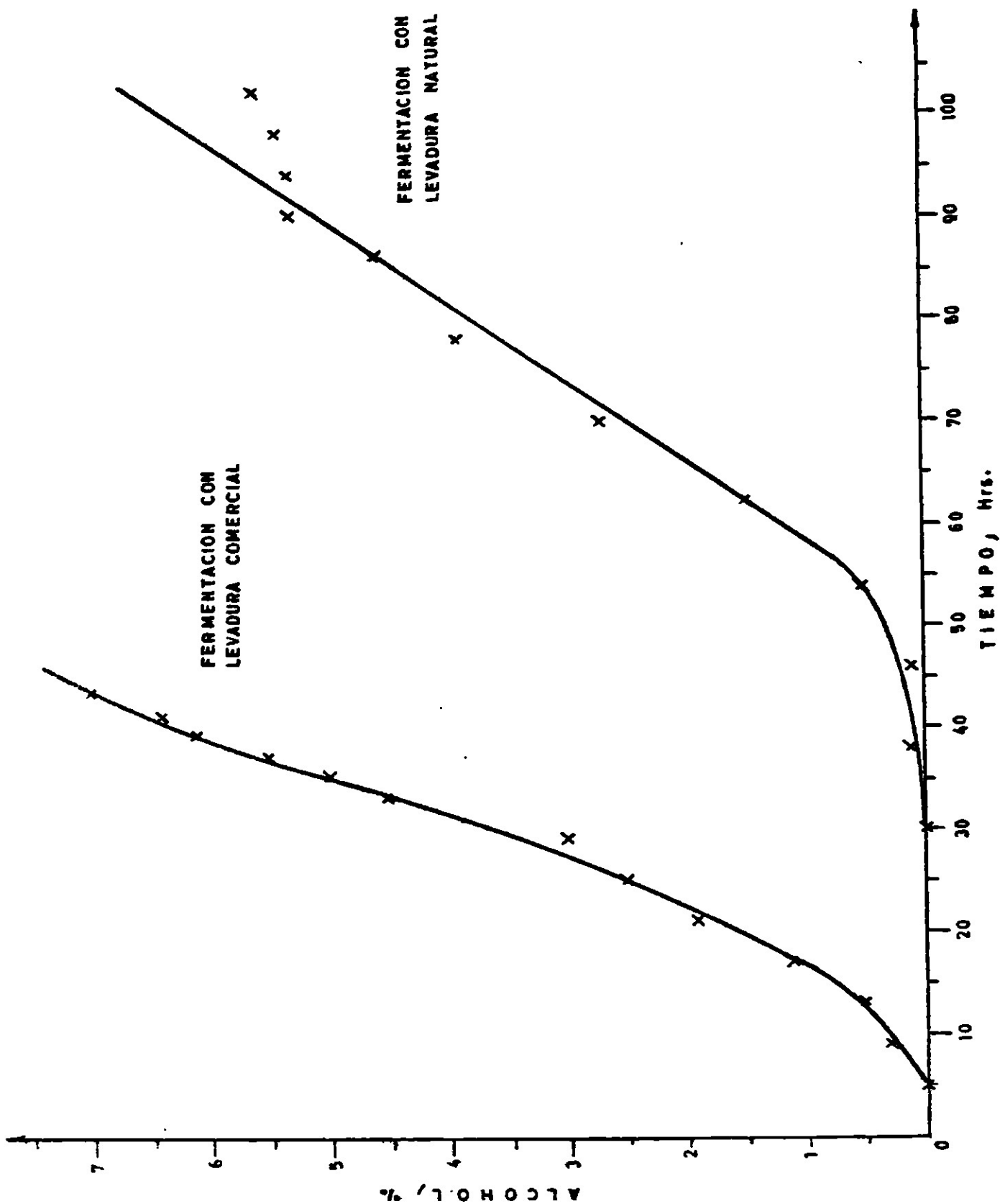
No. de Litros	Tiempo de - Destilación Hs.	Temperatura °C	Grado Alcohólico %
* 10.	1.58	21.5	88
20.	0.33	22.0	88
30.	0.50	22.5	88
40.	0.50	23.0	88
50.	0.50	22.0	86
60.	0.41	22.0	85
70.	0.66	21.0	83
** 80.	0.66	20.5	79
* Alcohol de Cabeza			
** Alcohol de Cola.			



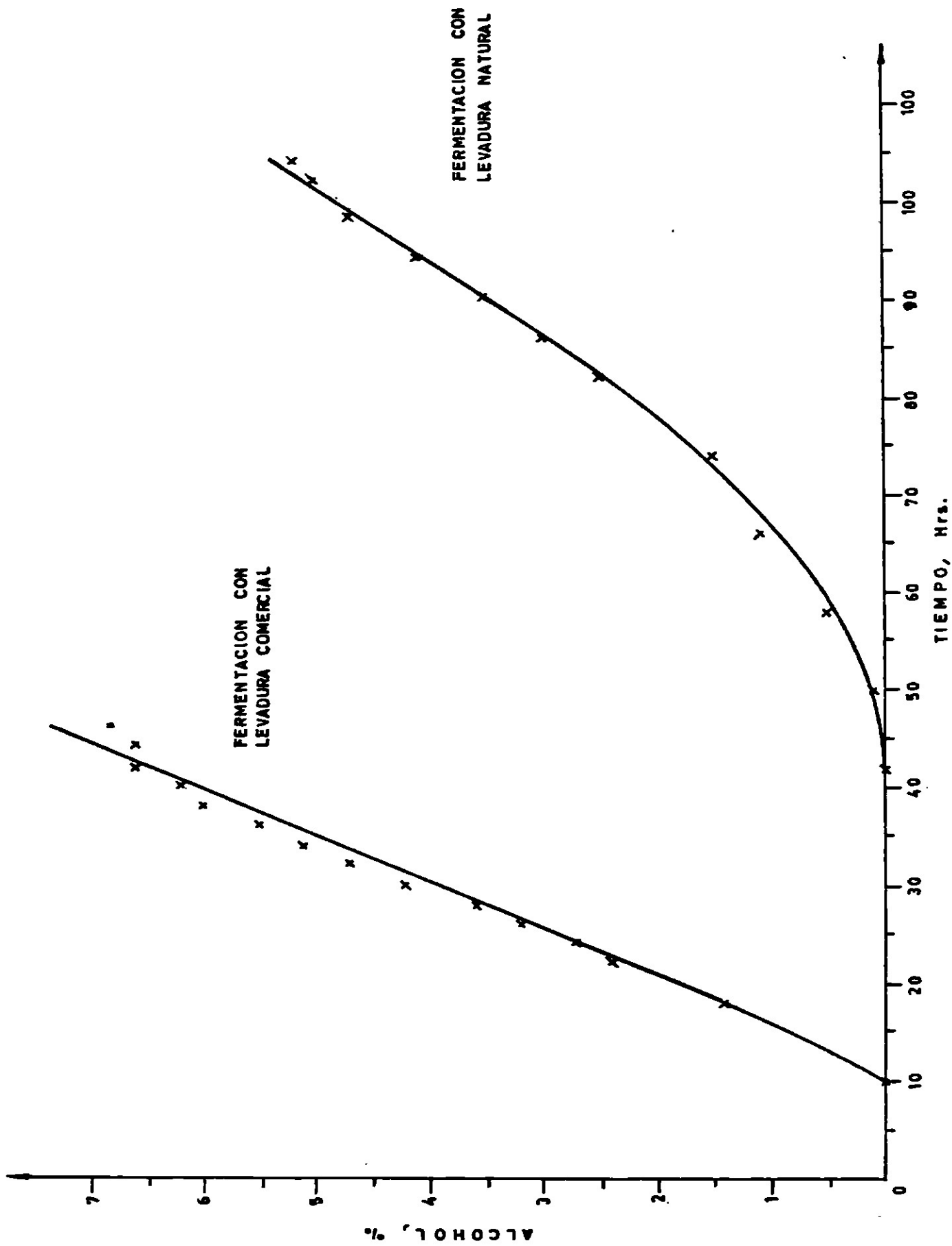
GRAFICA No.1. CON PH INICIAL DE 4.0



GRAFICA No 2. CON PH INICIAL DE 4.4

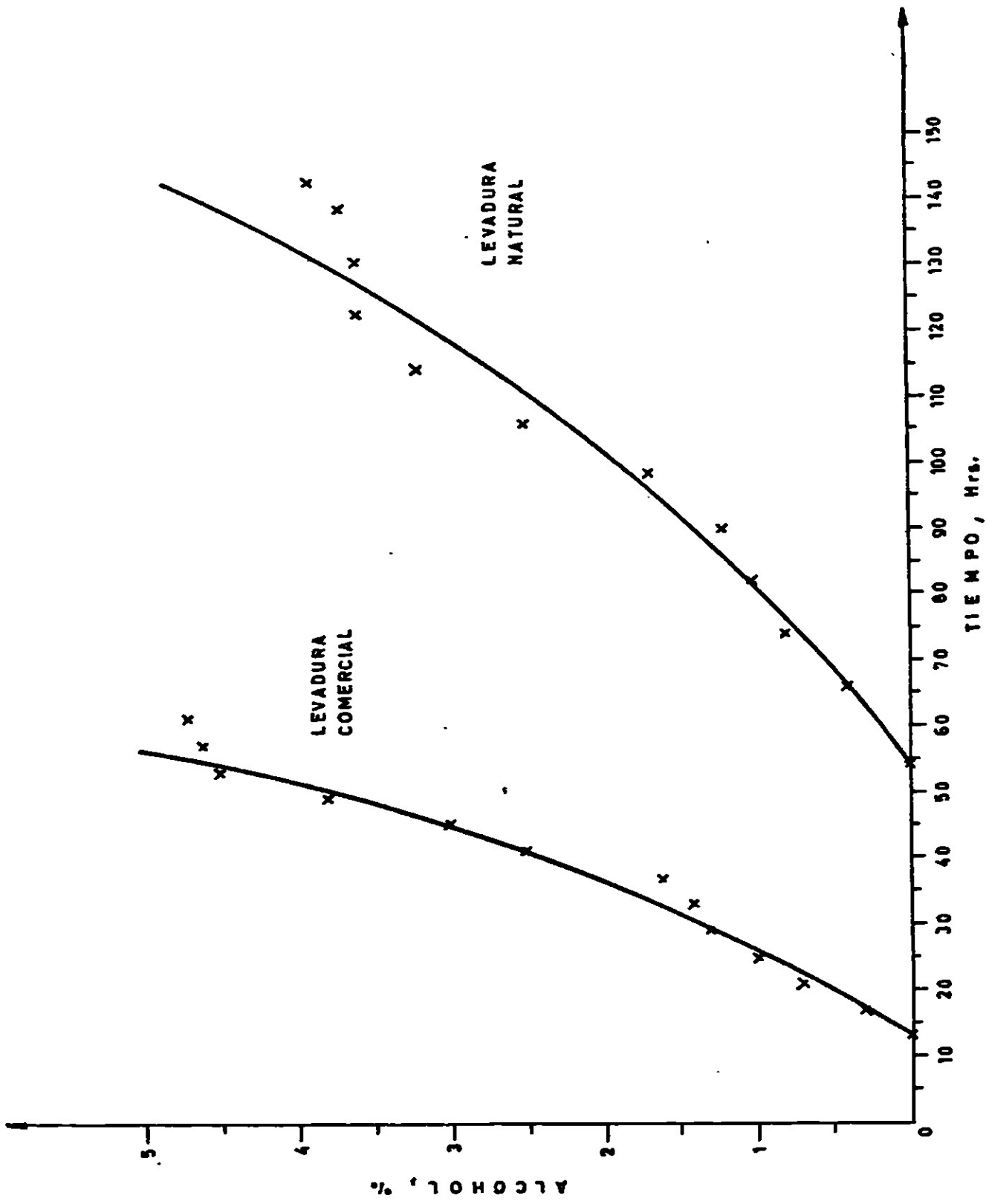


GRAFICA No.3.- CON PH INICIAL DE 4.6 .

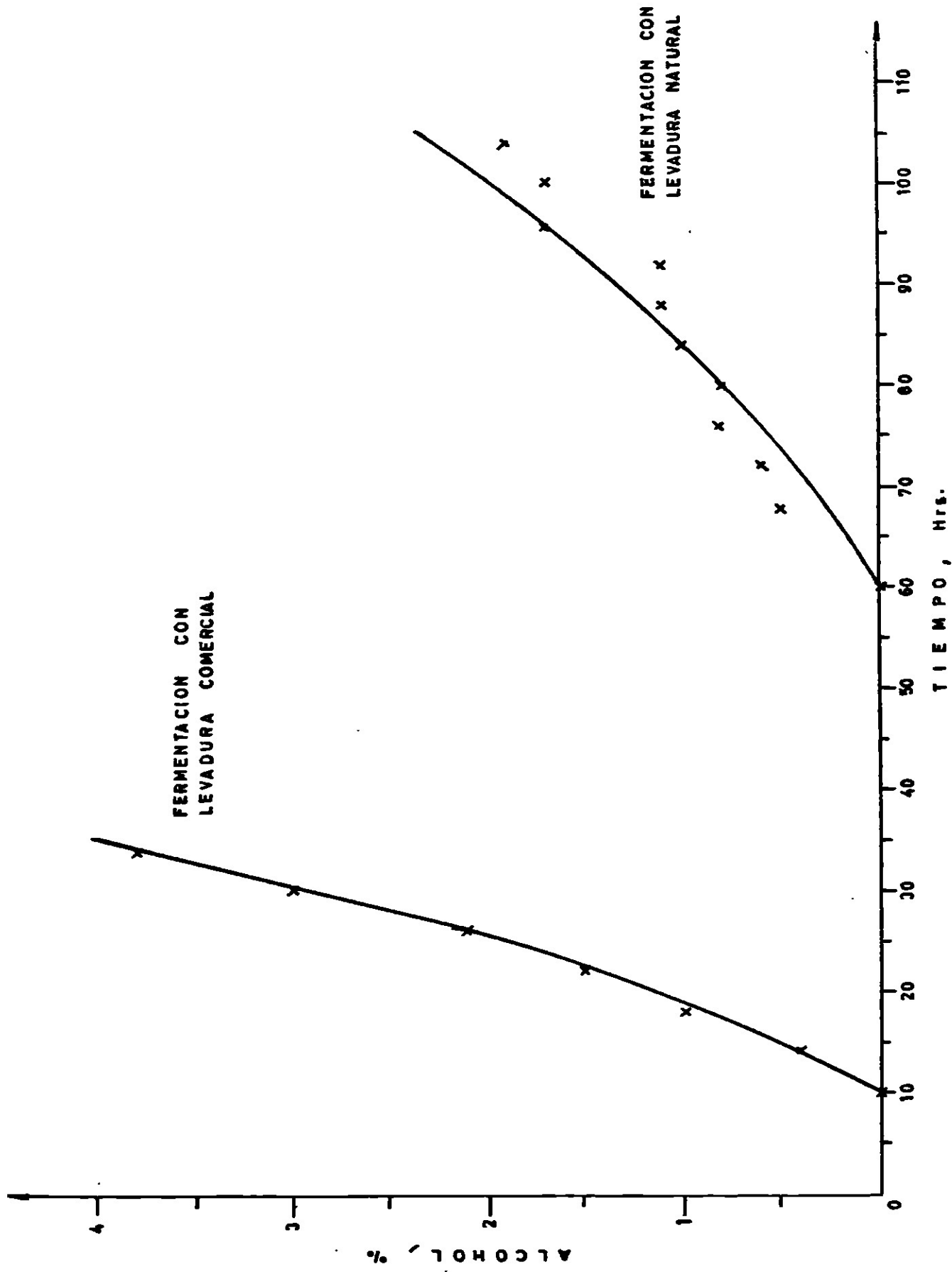


GRAFICA No.4.- CON PH INICIAL DE 5.1



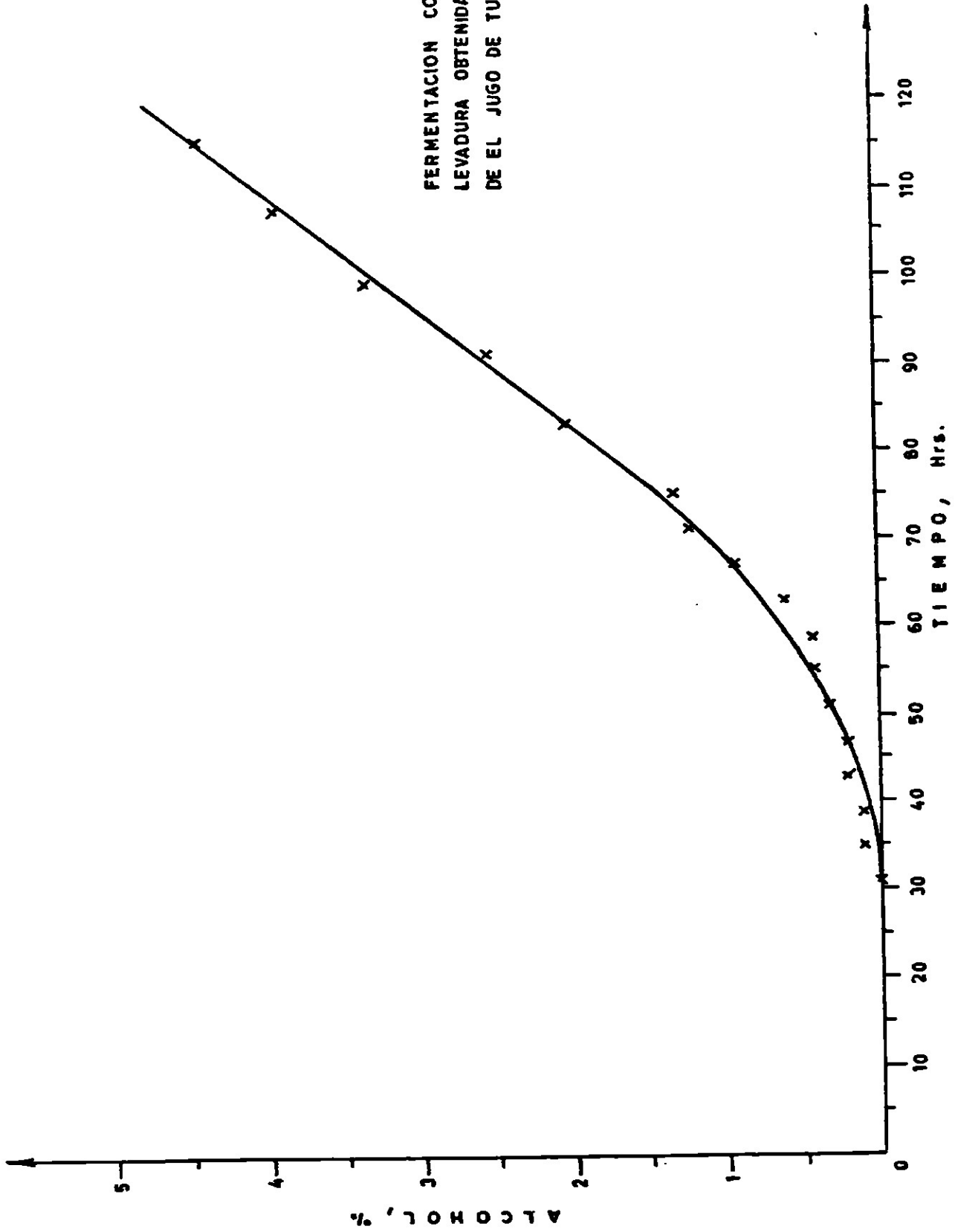


GRAFICA No. 5.- FERMENTACION CON  $(NH_4)_2HPO_4$ .

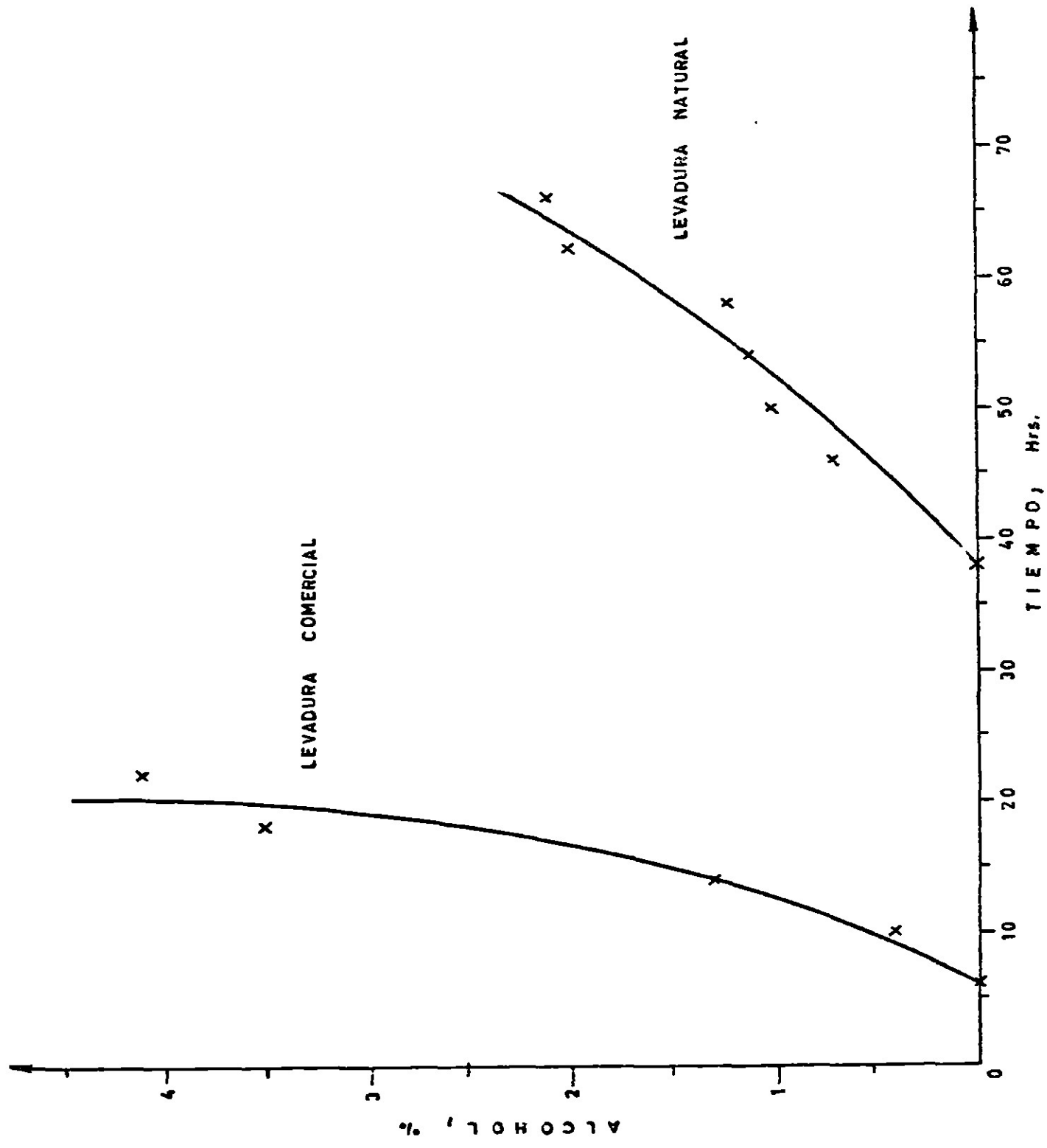


GRAFICA No. 6.- CONTROLANDO EL PH ENTRE 4.0 Y 4.5 CON AGUA AMONICAL Y SULFATO AMONICO.

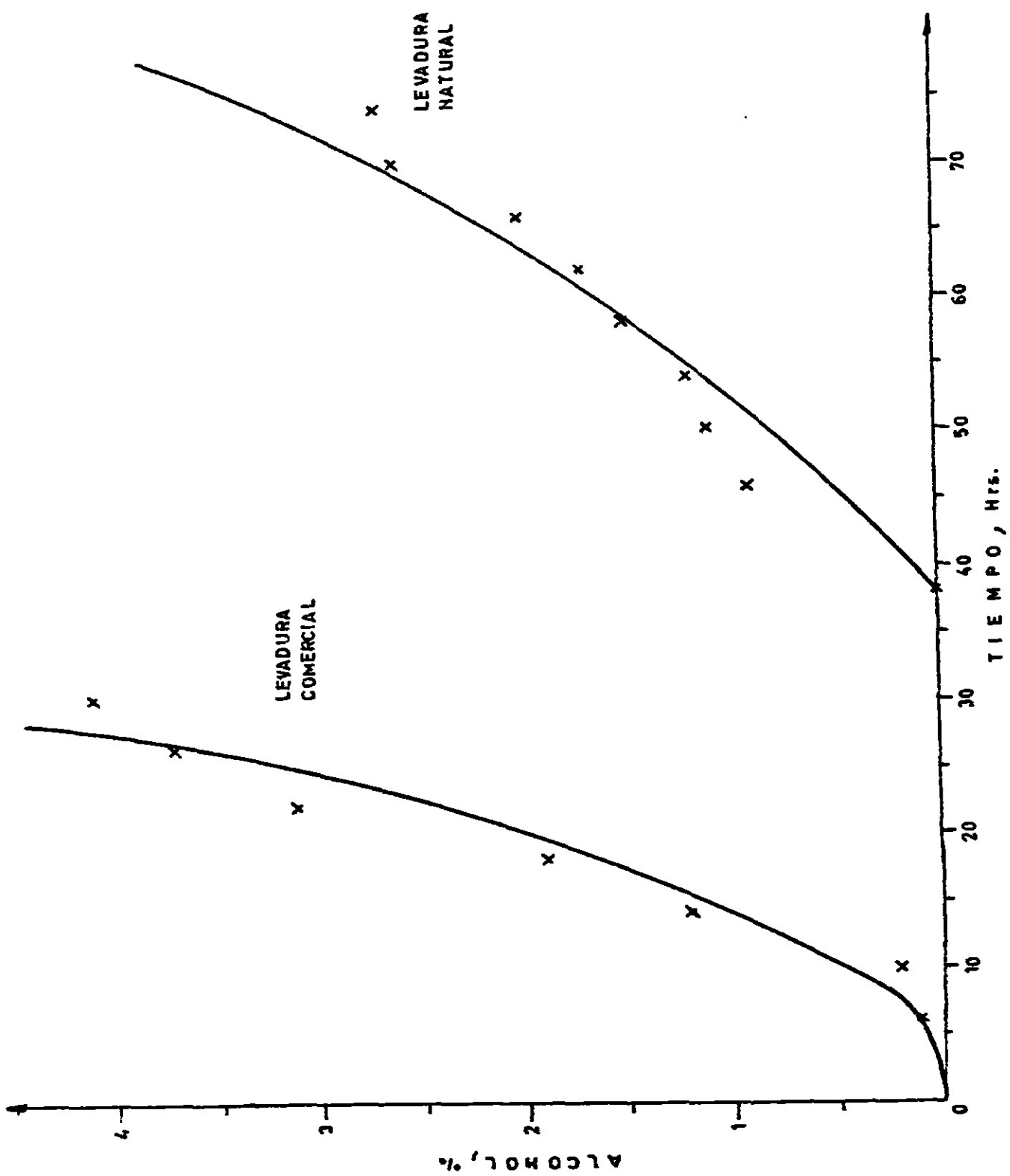
FERMENTACION CON  
LEVADURA OBTENIDA  
DE EL JUGO DE TUNA



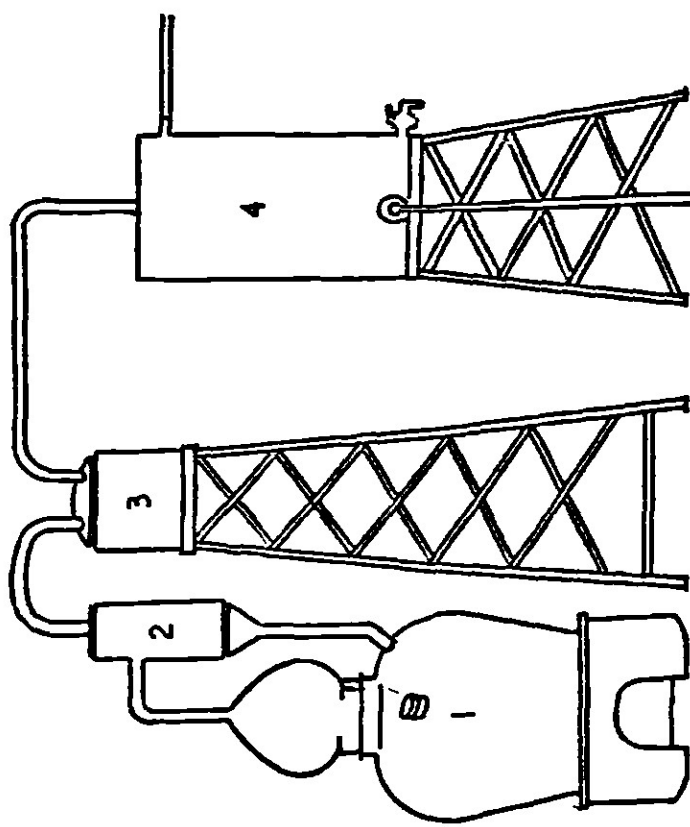
GRAFICA No. 7 .-



GRAFICA No. 8.- FERMENTACION CON LEVADURA DE PULPA Y CASCARA DE TUNA CON  $(NH_4)_2HPO_4$ .

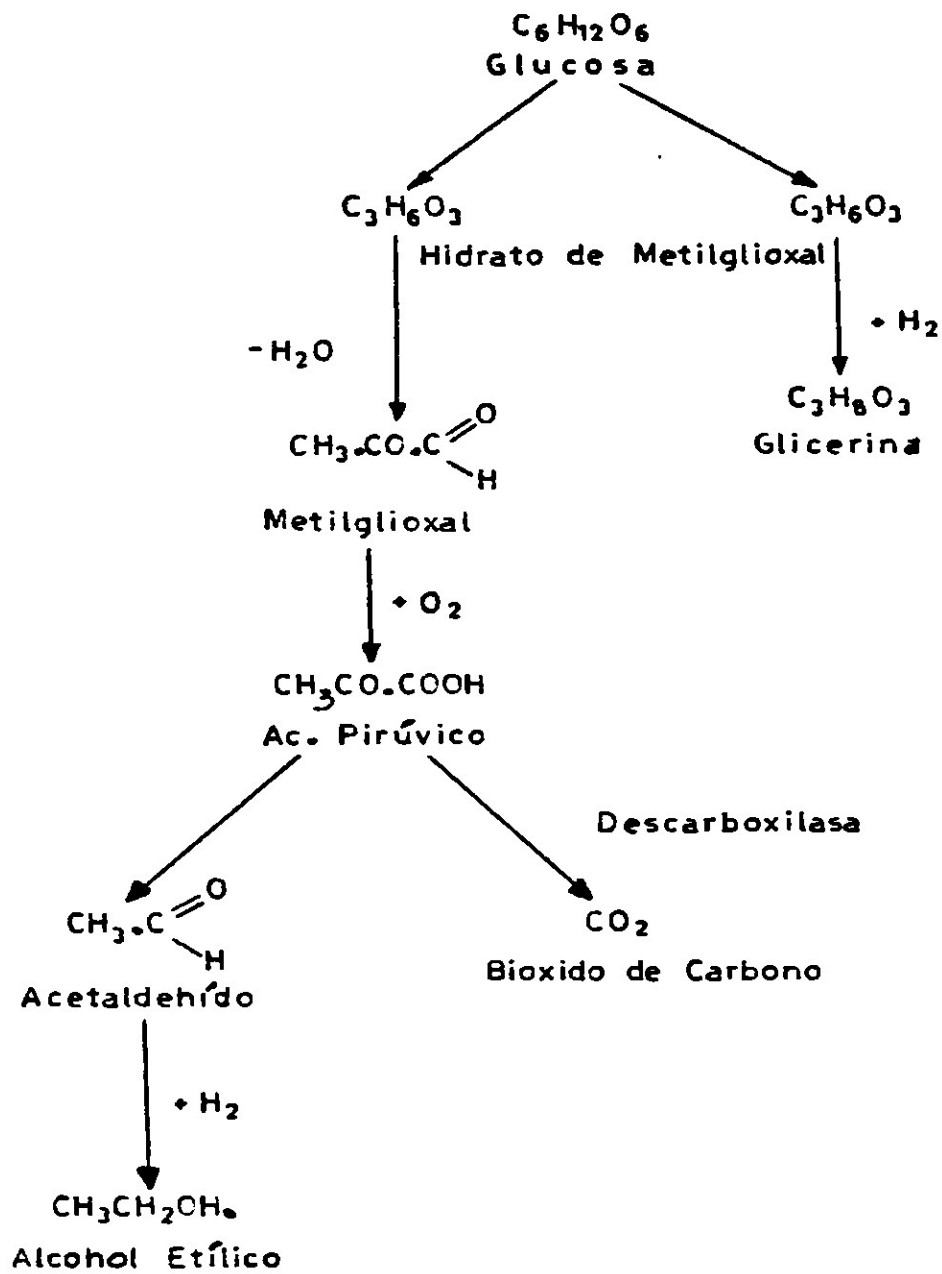


GRAFICA No.9 FERMENTACION DE PULPA Y CASCARA DE TUNA CON LEVADURA.

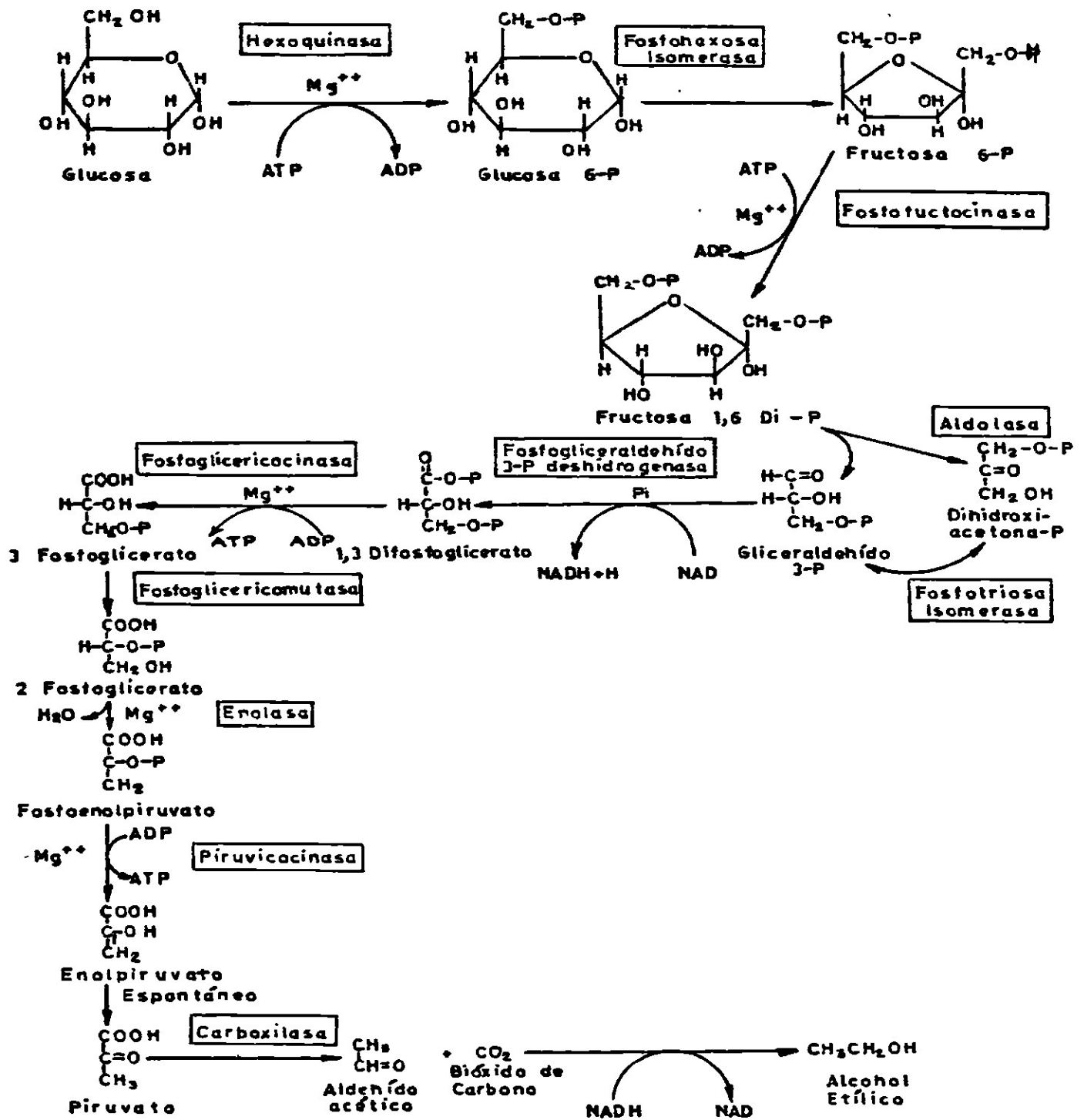


- 1.- DESTILADOR
- 2.- INTERCAMBIADOR  
( Condensador )
- 3.- RECTIFICADOR
- 4.- CONDENSADOR DE  
ALCOHOL

FIG. No.1.- PLANTA PILOTO DE DESTILACION



ESQUEMA No.1.- Fermentación según Neuberger.



ESQUEMA No 2 .- Desdoblamiento Alcohólico del Azúcar.





FACULTAD DE QUIMICA  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES  
tel. 5 48-82-10

Ciudad Universitaria Mexico 20. D. F.

HERDEZ S.A.  
San Luis Potosí.  
Atn. Ingeniero Wenceslao Fuentes.  
Presente.

Los resultados obtenidos en las determinaciones practicadas a la muestra de ALCOHOL DE TUNA que enviaron a este laboratorio fueron los siguientes:

Acetaldehido	40 mg/l
Acetona	70 mg/l
Acetato de Etilo	360 mg/l
Acetal	60 mg/l
Propanol	400 mg/l
Isobutanol	1680 mg/l
Isoamílico	1470 mg/l
Metanol	Menor que la cantidad mínima detectable
Furfural	aprox. 20 mg/l
Etanol	aprox. 85% en peso

Adjunto el cromatograma obtenido. La cuantificación de metanol, furfural y etanol se hizo en experimentos independientes.

Muy Atentamente

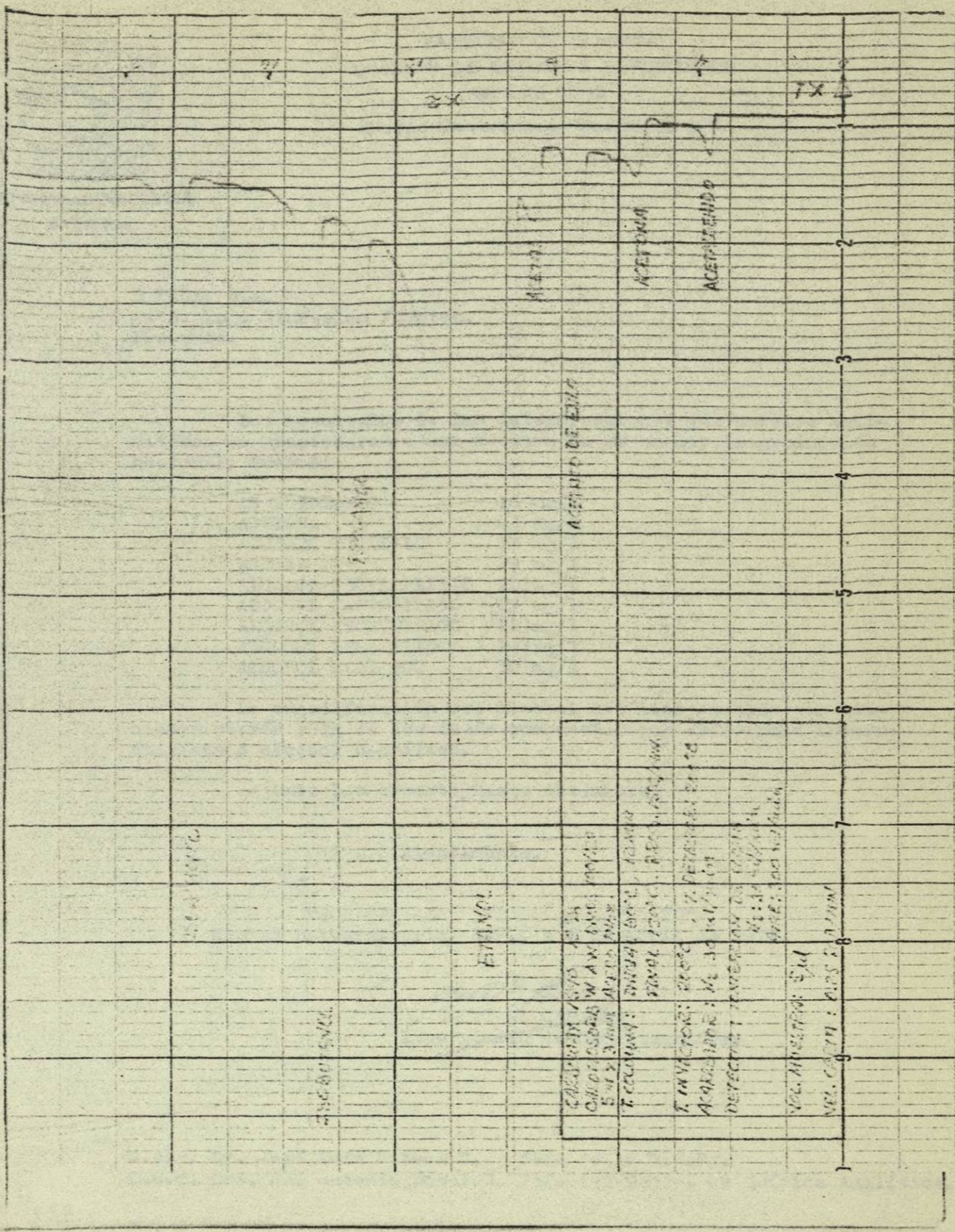
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Ciudad Universitaria D. F. 2 de febrero de 1979.

  
Químico Santiago Capella.  
Laboratorio de Cromatografía

c. c. p. Dr. José Luis Mateos G., Jefe de la D.E.S.  
c. c. p. Dra. Ma. Antonia Dosal, Jefe del Depto. de Química Analítica.

rm.





2500 mg

2500 mg

ETANOL

CALCULO DE LOS 2500 mg  
 OBTENIDOS WAW (mg) 1000  
 500 x 5000 mg 1000 mg  
 T. CANTIDAD: 2500 mg  
 2500 mg 1000 mg 1000 mg  
 T. INVENTARI: 2500 mg  
 ACQUISIION: 2500 mg  
 DEFECTOS Y TEMPERATURA: 2500 mg  
 2500 mg 1000 mg 1000 mg

NO. INVENTARI: 514

NO. CANT: 2500 mg

ACETATO DE ETILO

ACETONA

ACETALDEHIDO

2x

7x





UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA

FACULTAD DE QUIMICA  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES  
tel. 5 48-82-10  
Ciudad Universitaria Mexico 20, D.F.

HERDEZ, S.A.  
At'n. Ing. Wenceslao Fuentes.  
Presente.

Los resultados de las determinaciones que ustedes solicitaron se practicaron a una muestra de un brandy de producción nacional, fueron:

ACETALDEHIDO	16 mg/l
ACETONA	44 mg/l
ACETATO DE ETILO	77 mg/l
ACETAL	29 mg/l
ALCOHOL ISOPROPILICO	101mg/l
ALCOHOL N-PROPILO	27 mg/l
ALCOHOL ISOBUTILICO	113mg/l
ALCOHOL ISOBAMILICO	147mg/l
ALCOHOL METILICO	50 mg/l

La cuantificación del alcohol metílico se hizo por adiciones patrón y la de los demás compuestos por referencia interna utilizando alcohol n-amílico.

Adjunto los cromatogramas obtenidos.

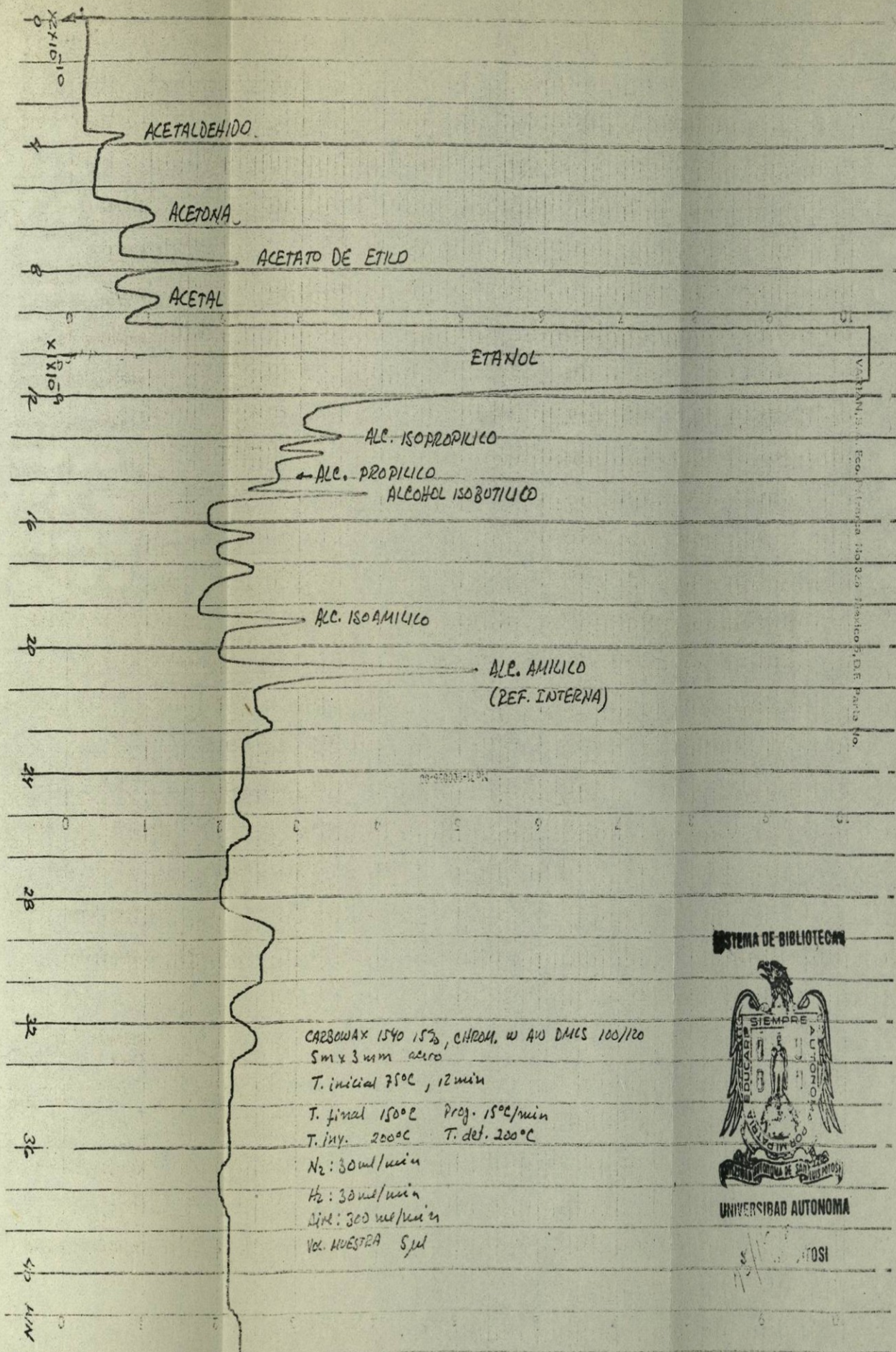
Atentamente,

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Ciudad Universitaria, D.F., a 6 de abril de 1979.

*Santiago Carulla*  
S. SANTIAGO CARULLA  
Laboratorio de Cromatografía.

C.c.p. Dr. José Luis Mateos G. Jefe de la D. I. Pg.  
C.c.p. Dra. Ma. Antonia Dosal G. Jefe del Depto. de Química Analítica.





CARBOWAX 1540 15%, CHROM. W AW DMLS 100/120  
 5m x 3mm acero  
 T. inicial 75°C, 12 min  
 T. final 180°C Prog. 15°C/min  
 T. iny. 200°C T. det. 200°C  
 N<sub>2</sub>: 30 ml/min  
 H<sub>2</sub>: 30 ml/min  
 Aire: 300 ml/min  
 Vol. MUESTRA 5 µl

SIEMPRE DE BIBLIOTECA

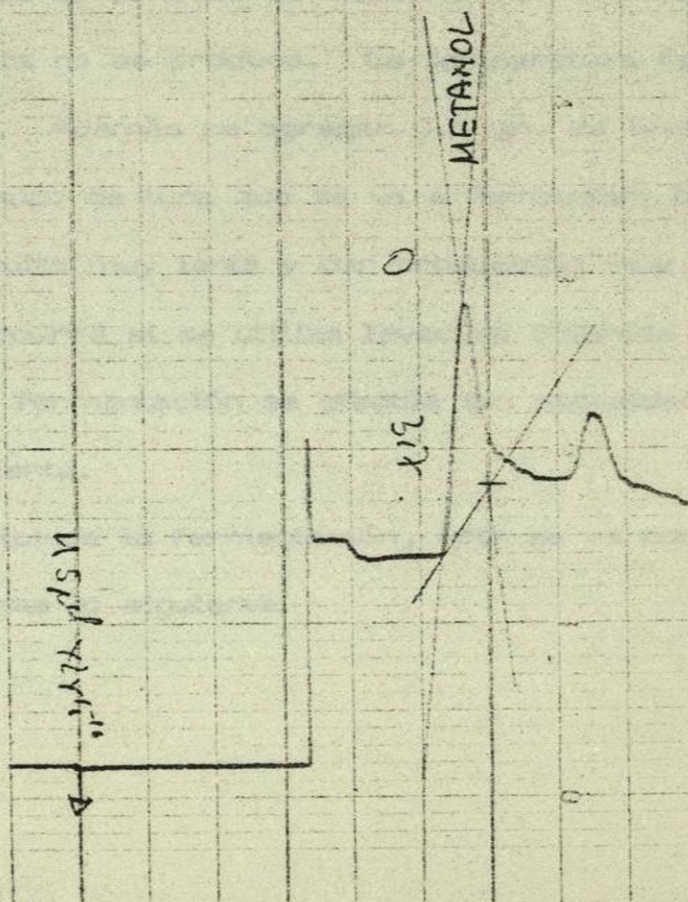


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

1051



PORAPAK Q  
1.8 m x 3 mm ACEPRO  
T. 80°C  
Ting 100°C  
T det. 100°C  
N<sub>2</sub> 30 ml/min



## CAPITULO V

### NORMAS DE CALIDAD

Para una mayor efectividad en la obtención de alcohol etílico, se debe de tomar en cuenta lo siguiente:

La fruta que se utilice no deberá tener una sobremadurez, ya que el contenido de reductores disminuye.

La tuna deberá despojarse de la cáscara y de la semilla para obtener solamente el jugo de la pulpa debido a que no resulta eficiente utilizar el jugo de la pulpa y de la cáscara juntos.

La fermentación se efectúa en barricas de madera con un contenido de reductores comprendido entre 11.5 y 15.6 gr. % (generalmente es el contenido natural de reductores en la tuna); el Ph inicial del jugo se ajusta a 4.8, pues si se trata de mantener el Ph constante durante la fermentación, ésta no se produce. La temperatura óptima de trabajo es entre 25 y 30°C. Además se agregan 0.1 gr. de levadura de panadería por 100 ml. de jugo de tuna que se va a fermentar; pues sin ésta, la fermentación resulta muy lenta y con producción muy baja de alcohol etílico, lo mismo ocurre si se utiliza levadura obtenida del jugo de tuna fermentado. La fermentación se efectúa sin necesidad de agregar ningún tipo de nutriente.

Una vez iniciada la fermentación, ésta se va controlando determinando cada 2 horas lo siguiente:

Acidez.

La cual tiende a incrementar conforme avanza la fermentación.

P.H.

Durante la fermentación éste va disminuyendo.

Temperatura.

Debe de mantenerse dentro del rango óptimo.

Grado Alcohólico y Reductor.

Lo cual nos indica el final de la fermentación por agotamiento total de azúcares fermentescibles. La detección del punto final de la fermentación es muy importante ya que si ésta no se controla, se puede desviar a otro tipo de fermentación indeseable.

Concluída la fermentación del mosto, se destila la muestra, esta destilación deberá hacerse con llama suave para controlarla por goteo hasta obtener un grado alcohólico de 5%, se suspende la destilación. El alcohol destilado se deberá someter a un proceso de rectificación para separar las primeras porciones llamadas de "cabeza", las del centro y las últimas fracciones llamadas "de cola".

Las fracciones de cabeza y de cola se reutilizan en una nueva fermentación. La porción que nos interesa es la del centro, la cual debe ser clara, excenta de color, libre de partículas y debe de tener un olor característico del alcohol etílico.

Tomando en cuenta estas consideraciones se obtendrá un producto de buena calidad.

## C A P I T U L O VI

### C O N C L U S I O N E S

De lo tratado en los capítulos anteriores, se concluye en base a dos aspectos fundamentales, los puramente técnicos y los socioeconómicos. - En cuanto a los primeros, de acuerdo con los resultados obtenidos en las diversas pruebas realizadas se puede determinar lo siguiente:

1.- Que se obtuvo un alcohol de buena calidad, presentando algunas ventajas en comparación con otros alcoholes obtenidos a partir de materias primas diferentes.

2.- En el caso de que nuestro producto sea la materia prima para la obtención de algún brandy, éste presenta la ventaja de no contener alcohol metílico que es perjudicial para la salud, como es el caso de algunos otros brandys.

Esto se puede comprobar al observar los cromatogramas corridos para alcohol de tuna y en un brandy de producción nacional.

3.- Respecto a las condiciones óptimas para el proceso fermentativo, las condiciones están especificadas en el capítulo correspondiente a Normas de Calidad.

4.- A manera de comentario, si se conservan en reposo barricas con cantidad suficiente de alcohol etílico para su añejamiento y sujeto a que expertos vinateros hagan la dosificación y muestreo necesarios, se puede lograr un producto que llegue al gusto del consumidor.



5.- Por otro lado, a manera de recomendación, sería interesante que para llegar a lo comercial, se realizaran estudios de mercado, costos, redes de comercialización, etc., para llegar a la financiación total de un nuevo producto.

En el aspecto socioeconómico, que es la parte de integración final en un estudio, se puede concluir en forma cualitativa lo siguiente:

1.- El aprovechamiento de grandes extensiones de terrenos en las zonas áridas, la mayor parte desaprovechados y sin beneficio real a sus poseedores (ejidatarios y pequeños propietarios) ya que siendo el cultivo del nopal tunero relativamente fácil y barato, daría trabajo y rápidos ingresos a ese sector de población marginado, que abriría tierras, sembraría, cultivaría y recolectaría las tunas.

2.- La ocupación en las plantas que se ubicarían cercanas a las zonas productoras de esa misma gente arraigada y que fácilmente se adaptaría al trabajo de las factorías.

3.- La ocupación de profesionistas en las ramas productoras y administrativas.

En general, una forma fácil de arraigar a la gente a su terreno, darles medios de vida para su subsistencia y lo más importante que ha venido siendo problema nacional, la creación de empleos y de paso un producto más en el mercado, que puede llegar a tener tanta o mayor demanda que los vinos que aprovechan otros productos como materia prima.

Consideramos este trabajo como una aportación a nuestro país que

debe ser estudiada, analizada y llevada a la práctica a escala industrial, cuya experiencia sea la base de empresas de importancia.

## B I B L I O G R A F I A

AMERINE BERG AND CRUESS. Technology of Wine Making. 3a. Ed. - The Avi Publishing Company, Inc. 1972.

COMISION NACIONAL DE FRUTICULTURA. El Cultivo del Nopal. Programa Nacional de la Tuna y el Nopal. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Marzo 1977.

DEVORE, G. MUÑOZ MENA E. Química Orgánica. 3a. Edición. Publicaciones Cultura, S.A., España 1975, 613, 614 pp.

ESCAMILLA H. ML.; REYES D.A.; VARELA G. V. E. Proyecto para la Industrialización de la Tuna. Tesis Profesional. Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México 1977.

FRANCO, L. JG. La Vinificación en una Bodega de Baja California. Tesis Profesional. Carrera de Químico Farmacobiólogo. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 1979.

HAEN HUGO. Bioquímica de las Fermentaciones. Editorial Aguilar. Madrid 1956. 101 - 115 pp.

JONGUITUD, G. MV; SANTOYO P.M.E. Química y Metabolismo de Carbohidratos. Tesis Profesional. Carrera de Químico Farmacobiólogo. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 1979.

KIRK, OTHMER. Enciclopedia de Tecnología Química. Ed. U.T.H.E.A. México 1961. Tomo VI, 988; Tomo VII, 18, 916; Tomo X, 77, 86; Tomo XI, 13.

LOZANO, G.M. Lo que se sabe y lo que no se sabe acerca del Nopal. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas.

MEDELLIN LEAL F. La Flora del Altiplano Potosino y su posible aprovechamiento Industrial. I.I.Z.D. 1971.

ORTIZ, R.G. Investigación de las Levaduras que fermentan las mieles de la Tuna. Tesis Profesional. Carrera de Químico Farmacobiólogo. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 1965.

PRESCOTT, S.C. DUNN, C.G. Microbiología Industria. 3a. Edición - Editorial Aguilar. Madrid. 1962. Cap. I, 4-32 pp; Cap. IV 112-113 pp. Cap. V, 146 - 154 pp.

REVENTOS, P. Destilación de Alcoholes. 2a. Ed. Editorial Sintet. España 1962.

ROJAS, M.P. Cultive Nopal Tunero(Aprovechemos las Zonas Aridas). - Boletín Bimestral, Esc. de Agricultura y Ganadería. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey.

RUIZ, M.C. Análisis Químico Bromatológicos, Escuela de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P., 1973. 23-31 pp.

SALAZAR HIDALGO. Substancias Alimenticias. Guía Práctica de Análisis. 2a. Edición. Editorial Dossat, S.A., 1947. 153 -154 pp.

SORIA, D. JJ; DIAZ, S.V.; GARCIA, L.R. Química y Metabolismo de Carbohidratos. Unidad de Autoaprendizaje. Facultad de Medicina. Departamento de Bioquímica, U.N.A.M.

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Obtención de un Aguardiente de la Tuna del Nopal. Volumen III, Número 4, Noviembre-Diciembre 1968.

VALDIVIESO S. C. Estudio Sobre Encurtido de Nopal, Basado en la Transformación de Metabolitos por microorganismos encargados de la Fermentación Láctica. Tesis Profesional. Carrera de Químico Farmacobiólogo, U.A.S.L.P., 1977.

WEBB, F.C. Ingeniería Bioquímica. Ed. Acribia, Zaragoza, Esp. 1966. P. 23, 204, 241.

ZUÑIGA, G.S. Recuperación de las Levaduras de los Mostos Fermentados en una Fábrica de Alcohol. Tesis Profesional. Carrera de Químico Industrial, U.A.S.L.P., 1965.



COPY MASTER  
AV. V. CARRANZA 116  
TEL. 2-64-57  
SAN LUIS POTOSÍ