



Diseño de un bioproceso industrial a partir de la comparación de los efectos de dos especies de levaduras en la fermentación de vino de borojó (*Borojoa patinoi*).

Flores Morocho, David Alejandro

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Trujillo Toledo, Luis Enrique Ph.D.

Sangolquí, 11 de marzo del 2022



Flores David Perfil de Proyecto (2) ANTIPLAGIO.docx

Scanned on: 12:32 January 27, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	347
Words with Minor Changes	132
Paraphrased Words	271
Ommited Words	0



Escanea el código QR para
LUIS ENRIQUE
TRUJILLO
TOLEDO



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación, denominado "**Diseño de un bioproceso industrial a partir de la comparación de los efectos de dos especies de levaduras en la fermentación de vino de borojó (*Borojoa patinot*).**" fue realizado por el señor **Flores Morocho, David Alejandro** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 27 de enero del 2022



Dr. Trujillo Toledo, Luis Enrique

C. C.: 1755850276



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de autoría

Yo, **Flores Morocho, David Alejandro**, con C.C. 1723487813, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "**Diseño de un bioproceso industrial a partir de la comparación de los efectos de dos especies de levaduras en la fermentación de vino de borojó (*Borojoa patinoi*)**." es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 26 de enero del 2022

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir 'David Flores'.

Flores Morocho, David Alejandro

C.C.: 1723487813



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de publicación

Yo, **Flores Morocho, David Alejandro**, con C.C. 1723487813, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **"Diseño de un bioproceso industrial a partir de la comparación de los efectos de dos especies de levaduras en la fermentación de vino de borjón (*Borjonia patinoi*)."** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 26 de enero del 2022

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir "David Flores Morocho".

Flores Morocho, David Alejandro

C.C.: 1723487813

Dedicatoria

A mis padres por ser parte de mi crecimiento, por su apoyo incondicional y su preocupación constante por mi crecimiento individual y profesional.

A mis hermanos por el tiempo compartido, por su compañía y su eterna confianza.

A mis compañeros y compañeras de la Universidad, por ser parte de esta travesía que pronto termina y que seguirán acompañándome en las nuevas etapas que en mi vida deparan.

A mis compañeros de colegio, los grandes confidentes de mi vida y mi segunda familia.

Y a mí tutor y maestros que me ayudaron a finalizar la carrera, siempre me motivaron y me enseñaron a ser un gran profesional y sobre todo una mejor persona.

David Alejandro Flores Morocho

Agradecimiento

Agradezco a mi familia por apoyarme en este proceso, escucharme y siempre confiar en mí y mis capacidades. Estar presentes en los mejores y peores momentos de esta etapa y ser siempre mi soporte.

Agradezco a mis amigos y amigas por creer en mí, estar siempre cuando los necesité y siempre recordarme quien soy.

Agradezco especialmente al Dr. Luis E. Trujillo por apoyarme en esta época para realizar mi proyecto de titulación y estar siempre presto a colaborar con sus conocimientos y experiencia.

Índice de contenidos

Copyleaks	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas	12
Índice de figuras	14
Resumen.....	16
Abstract	17
Capítulo 1	18
Generalidades	18
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y ANTECEDENTES	18
JUSTIFICACIÓN	20
OBJETIVOS	23
<i>Objetivo general del proyecto</i>	23
<i>Objetivos específicos</i>	23
Capítulo 2	23
Marco referencial	23
BOROJÓ	23
<i>Composición química y nutricional</i>	24
<i>Fruto</i>	27
<i>Nutrientes y metabolitos.</i>	29
FERMENTACIÓN	29
<i>Etanol en los vinos</i>	31

VINO	31
Clasificación	34
Vino Blanco.....	35
Vino Tinto.....	36
LEVADURAS.....	37
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	37
<i>Levaduras No-Saccharomyces</i>	38
Torulaspora delbrueckii.	39
BIORREACTORES	39
SUPERPRO DESIGNER.....	40
Capítulo 3	41
Metodología	41
MATERIA PRIMA	41
ELABORACIÓN DEL VINO.....	42
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS.....	44
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES FÍSICO-QUÍMICOS	45
<i>Factores controlables</i>	45
Tiempo de fermentación.	45
Levadura.	46
<i>Tratamientos</i>	46
Repeticiones.....	46
Unidad experimental.	47
<i>Variables</i>	47
Variable de respuesta.	47
<i>Modelo estadístico</i>	47
<i>Error aleatorio y error experimental</i>	47
<i>Análisis</i>	47

	10
<i>Interpretación</i>	48
ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO	48
DISEÑO DE BIOPROCESO	48
<i>Base del Diseño</i>	49
<i>Evaluación económica de la implementación del proceso</i>	50
Capítulo 4	51
Resultados	51
VINO DE BOROJÓ	51
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	53
<i>Análisis de pH</i>	54
<i>Análisis grados Brix</i>	57
<i>Análisis de porcentaje de alcohol</i>	60
ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO	64
DISEÑO DEL BIOPROCESO	67
EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA IMPLEMENTACIÓN DEL BIOPROCESO.	69
<i>Análisis de producción de vino</i>	70
Costo Fijo Directo.....	70
Costo Fijo Indirecto.....	70
Inversión Total.....	71
Personal.....	74
EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL.....	76
ANÁLISIS DE LA RENTABILIDAD DEL BIOPROCESO.	78
Capítulo 5	79
Discusión.....	79
Capítulo 6	84
Conclusiones	84
Capítulo 7	86

Recomendaciones 86
Referencias 87

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía borojón (<i>Borojoa patinoi</i>)	24
Tabla 2. Caracterización química del borojón (<i>Borojoa patinoi</i>)	25
Tabla 3. Resumen de la composición bromatológica y fisicoquímica de la pulpa de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>).....	26
Tabla 4. Requisitos del vino de frutas.	34
Tabla 5. Clasificación de los vinos por su edad	34
Tabla 6. Proporción de los ingredientes para la elaboración de vino de borojón.....	43
Tabla 7. Diseño experimental 2x3 para la fermentación de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>).....	45
Tabla 8. Factor controlable de tiempo de fermentación.	45
Tabla 9. Factor controlable de tipo de levadura	46
Tabla 10. Tratamientos para el análisis físico-químico.....	46
Tabla 11. Parámetros de degustación del vino de borojón.	48
Tabla 12. Parámetros principales para el diseño de un bioproceso para la producción de vino de borojón.	49
Tabla 13. Cantidades utilizadas para la fermentación de la pulpa de borojón en un recipiente de 2L.....	52
Tabla 14. Mediciones de la variable de respuesta ph, por cada aplicación de levadura en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días	54
Tabla 15. Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (tiempo) y su interacción.....	54
Tabla 16. Resultados del test Tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de pH en la fermentación de la pulpa de borojón	55

Tabla 17. Mediciones de la variable de respuesta °Bx por aplicación de dos especies de levadura en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días	57
Tabla 18. Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (Tiempo) y su interacción.....	57
Tabla 19. Resultados del test tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de grados Brix en la fermentación del borjón	58
Tabla 20. Resultados del test Tukey para el factor A (Levadura) del análisis de grados Brix en la fermentación del borjón.	59
Tabla 21. Mediciones de la variable de respuesta % de alcohol por la aplicación de cada especie de levadura analizada en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días	61
Tabla 22. Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (Tiempo) y su interacción.....	61
Tabla 23. Resultados del test Tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de porcentaje de alcohol en la fermentación del borjón.....	62
Tabla 24. Resultados del test Tukey para el factor A (Levadura) del análisis de %alcohol en la fermentación del borjón	63
Tabla 25. Descripción de los parámetros organolépticos a evaluar en la de degustación del vino de borjón.	64
Tabla 26. Condiciones iniciales del bioproceso para la producción de vino de borjón.....	67
Tabla 27. Producción de vino de borjón (<i>Borojoa patinoi</i>) (SuperPro Designer).....	70
Tabla 28. Costos fijos en la implementación del bioproceso para la producción de vino de borjón.....	71
Tabla 29. Estimación del capital fijo de la implementación del bioproceso para la producción de vino de borjón	72

Tabla 30. Costo de materiales en la producción de vino de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>)	74
Tabla 31. Personal encargado para la producción de vino de borojón y resumen de salarios apercibidos	75
Tabla 32. Comparación de los costos de operación anuales para la producción de vino de borojón, utilizando una levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Torulasporea delbrueckii</i>	76
Tabla 33. Residuos generados en el proceso industrial de producción de vino de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>).....	77
Tabla 34. Análisis de rentabilidad del bioproceso industrial de producción de vino de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>).....	78

Índice de figuras

Figura 1. Fruta madura de borojón (<i>Borojoa patinoi</i>)	28
Figura 2. Diagrama del proceso general de elaboración a escala industrial de vino	33
Figura 3. Pulpa de borojón de 200 gramos de la empresa Natural Paradise	42
Figura 4. Diagrama del proceso de fermentación artesanal para la obtención del vino de borojón.....	44
Figura 5. Diagrama del bioproceso para la producción del vino de borojón que se diseñará en el software SuperPro Designer.	50
Figura 6. Frasco hermético de 2L para la fermentación de la pulpa de borojón.....	52
Figura 7. Botella de vino de borojón de 500 mL de la empresa Natural Paradise.....	53
Figura 8. Media de la variable de respuesta pH por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación	56
Figura 9. Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta pH por cada factor tiempo evaluado.	56

Figura 10. Media de la variable de respuesta °Bx por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación	59
Figura 11. Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta °Bx por cada factor de tiempo evaluado.	60
Figura 12. Media de la variable de respuesta %Alcohol por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación.....	62
Figura 13. Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta %Alcohol por cada factor de tiempo evaluado.	63
Figura 14. Promedio de resultados en el análisis organoléptico del vino de borjón obtenido de la fermentación con la especie <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	65
Figura 15. Promedio de resultados en el análisis organoléptico del vino de borjón obtenido de la fermentación con la especie <i>Torulaspota delbrueckii</i>	66
Figura 16. Preferencia de las personas encuestadas entre los dos vinos.....	66
Figura 17. Bioproceso para la producción industrial de vino de borjón (<i>Borjoa patinoi</i>)	68

Resumen

El mercado de vino en el Ecuador se ha desarrollado en los últimos años, a pesar de que su consumo sigue siendo inferior a otros países de la región. El borojó (*Borojoa patinoi*) es una fruta del noroccidente de Pichincha, que tiene un gran valor nutricional, siendo un energizante natural. El presente estudio tiene como finalidad la elaboración de vino a partir de la pulpa de borojó aplicando dos especies de levadura: *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii*. Se evaluó los parámetros físico-químicos, en los días 5, 10 y 20. A partir de estos resultados, utilizando el software SuperPro Designer, se diseñó un bioproceso para la producción de este vino aplicando las dos especies de levaduras y se realizó un análisis del impacto económico que tendría la implementación de este proceso. Al analizar el pH se vio un cambio significativo de 2.98 a 2.92 con respecto al tiempo, en el caso de los grados Brix y porcentaje de alcohol se observó tanto en el primero una disminución de 15.43 a 8.68°Bx y un aumento de 1.08 a 4.81% de alcohol con respecto a los días, siendo en estos dos parámetros también significativa la aplicación de la levadura donde *Saccharomyces cerevisiae* muestra un mayor grado de fermentación y también de contenido de alcohol con respecto a *Torulaspota delbrueckii*. El diseño del bioproceso consta de 4 etapas, siendo la principal la fermentación y teniendo un proceso upstream y varios downstream, terminando con la fase de envasado, el proceso no varía con respecto a las levaduras aplicadas. Se determinó el precio del vino de borojó en 21\$ siendo viable económicamente. La elaboración de vino con frutas no tradicionales es una oportunidad para un nicho de mercado no explorado en el país.

Palabras clave: Levaduras, *Saccharomyces*, SuperPro-Designer, Vino

Abstract

The wine market in Ecuador has developed in recent years, despite the fact that its consumption is still lower than that of other countries in the region. The borojío (Borojoa patinoi) is a fruit from the northwest of Pichincha, which has great nutritional value, being a natural energizer. The purpose of this study is to make wine from borojío pulp by applying two species of yeast: *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii*. The physical-chemical parameters were evaluated on days 5, 10 and 20. Based on these results, using the SuperPro Designer software, a bioprocess was designed for the production of this wine applying the two species of yeasts and an analysis was carried out. of the economic impact that the implementation of this process would have. When analyzing the pH, a significant change was seen from 2.98 to 2.92 with respect to days, in the case of Brix degrees and percentage of alcohol, a decrease from 15.43 to 8.68°Bx and an increase from 1.08 to 4.81% of alcohol with respect to days, being in these two parameters also significant the application of the yeast where *Saccharomyces cerevisiae* shows a higher degree of fermentation and also of alcohol content with respect to *Torulaspota delbrueckii*. The design of the bioprocess consists of 4 stages, the main one being fermentation and having an upstream and several downstream processes, ending with the packaging phase, the process does not vary with respect to the yeasts applied. The price of borojío wine was determined at \$21, being economically viable. The production of wine with non-traditional fruits is an opportunity for an unexplored market niche in the country.

Key words: Yeasts, *Saccharomyces*, SuperPro-Designer, Wine

Capítulo 1

Generalidades

Formulación del problema y antecedentes

La fermentación se caracteriza por ser de los procesos fundamentales en la biotecnología. También es uno de los más antiguos que se han descrito, pues ha estado presente a lo largo de la historia de la humanidad en diferentes culturas (Becerra, Haro, Salinas, & Velasco, 2013). En Ecuador hay una bebida obtenida por este proceso que ha acompañado a los pueblos indígenas desde la época preincaica hasta la actualidad: la chicha (Salazar, 2015). Pero la importancia actual de la fermentación no radica en su peso histórico sino en los diversos productos que se pueden conseguir a partir de este proceso, resaltando en la industria contemporánea la producción tanto de cerveza como de vino (Benito, Calderón, & Benito, 2019).

En el desarrollo de la historia de la humanidad, el vino, ha sido uno de sus principales protagonistas, esto lo podemos observar en el peso que tiene en varias culturas y lo fundamental que es en diversas celebraciones, llegando a ser el componente principal en las fiestas. A pesar de esto también su elaboración y su consumo ha ido evolucionando con el pasar de los años, por ejemplo, el vino en la antigüedad era producido de una manera rudimentaria por lo que para mejorar el sabor en varias civilizaciones le agregaban leche y miel (Acosta & Monge, 2014).

Al repasar la historia se observa que en varias culturas se ha dado al vino un carácter divino o milagroso, esto es gracias a la capacidad de fermentación espontánea que poseen varias frutas, ahora se sabe que las responsables de este proceso son las levaduras del medio ambiente que están adheridas a la cáscara del fruto que transforman el azúcar en alcohol (Acosta & Monge, 2014).

La fermentación tiene como principal característica, que como tal el proceso no llega a requerir oxígeno. Basta con un compuesto orgánico, que pueden ser tanto levaduras como

bacterias dependiendo del producto que deseemos obtener, siendo los carbohidratos los principales sustratos. En este proceso no llega a intervenir la cadena de transporte de electrones, por lo que el receptor final de los electrones es el NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido), que resulta como producto de la glicólisis. Las moléculas de ATP (Trifosfato de adenosina) generadas se consumen por los mismos microorganismos (Müller, 2001).

La fermentación puede darse en condiciones ambientales normales en frutas y vegetales, pero al momento de llevarla a la industria se aplican biorreactores y fermentadores para poder controlar las condiciones del proceso, con el fin de mejorar la calidad del producto, determinar sus cualidades y optimizar cada uno de los pasos (Renneberg, 2008). Una de las principales ramas de estudio de la fermentación se concentra en la obtención de vinos, pues se trata de una industria grande e importante a nivel mundial. La uva es el elemento más recurrente con el que se procede a la elaboración de vino, junto con una levadura que es comúnmente de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Pero en la actualidad se pretende encontrar otras alternativas, aprovechando las características que pueden aportar distintas variedades de frutas no tradicionales y diversos avances que se han realizado en varios campos, destacando el de la biotecnología, que se han desarrollado en los últimos años. Así se pretende alcanzar nuevas fronteras y dar un mayor valor a este producto (Benito, Calderón, & Benito, 2019).

En Ecuador, a partir de finales del 2018, se pudo observar un aumento en el mercado del vino tanto a nivel nacional como internacional, esto a partir de un crecimiento del consumo de este producto en el territorio como por convenios establecidos por el gobierno, destacando el acuerdo multipartes que se concretó ese año con la Unión Europea (Conselmo, 2020). A partir de la pandemia se ha buscado incrementar el mercado en territorio nacional como una opción ante la crisis, a pesar de que no existe un consumo o demanda del vino tan grande como en otros países, se ha buscado innovar en propuestas para atraer a las personas tanto a nivel de presentación, costo o variedad. Esto se observa en la formación de diversos

emprendimientos que destacan, sobre todo por los vino de frutas no tradicionales (Toranzos, 2020).

El problema de estudio es la producción de vino de borjón, al ser un producto no convencional se quiere buscar el interés del consumidor, pero el mercado es muy limitado a pesar de su reciente crecimiento. Se busca innovar en el mismo por lo que la utilización de levaduras no-*Saccharomyces* en el proceso de fermentación puede mejorar la calidad del vino. Con esto también se busca proponer un biodiseño para la producción industrial de este producto y realizar un análisis técnico-económico con la ayuda de un software bioinformático para la implementación del mismo.

El programa SuperPro Designer nos permite realizar la simulación de diversos procesos industriales, pertenece a la empresa Intelligent, Inc., y es el software que se recomienda usar para diseñarlos. Nos permite cumplir las diversas necesidades que se requieran en cada diseño dando una gran herramienta a los ingenieros, sobre todo en los campos como la Biotecnología, Farmacéutica, Química, Alimentos y tratamiento de desechos y aguas residuales por poner un ejemplo (Julián Ricardo et al., 2018). La diversa gama de operaciones unitarias que posee el programa es otra de sus características que sobresalen, ya que nos da la información de cada una de ellas y como aplicarlas para diseñar nuestros procesos (Julián Ricardo et al., 2018). Otro de los atributos que posee este software es la evaluación tanto económica y ambiental de nuestros diseños, otorgando una visión amplia del impacto que tiene su implementación.

Justificación

La industria del vino ha aumentado exponencialmente en los últimos años gracias a los más recientes avances científicos, sobre todo en el campo de la microbiología. Sin embargo, se ha obstinado tanto en la producción de vino a partir de uva que, si bien es cierto que abastece las demandas del mercado (Singh, Scooch, & Attri, 2011), apenas está descubriendo otras alternativas que muestran ventajas significativas. Tal es el caso de los vinos elaborados a partir de otras frutas como materia prima y los que utilizan levaduras no-

Saccharomyces (Benito, Calderón, & Benito, 2019). Una de las razones que ponen a la uva en desventaja es que esta fruta no se cosecha durante todo el año y a los productores no les queda más remedio que esperar el periodo de la vendimia, mientras los frutos de otras plantas aparecen de manera regular. Otro factor a tomar en cuenta son las diversas clases de levaduras distintas a la *S. cerevisiae*, que se han aplicado buscando proporcionar otras experiencias al consumidor en lo que se refiere a color, olor y sabor del vino (Singh, Scooch, & Attri, 2011). En la producción de vino moderna, ha existido un salto inmenso con respecto a avances gracias a campos como la agroquímica, el impulso de la mecanización y la biotecnología, haciendo énfasis en esta sobre todo en lo que se refiere la elección de cepas o especies para mejorar la calidad del vino, optimizar la producción y el control de agentes patógenos tanto en los cultivos de frutas como en el proceso de fermentación (Acosta & Monge, 2014). Por tal motivo es importante explorar los beneficios que puede brindar la aplicación no solo de diversas cepas de levadura, sino también de otros agentes que se pueden sumar durante el proceso, como es el caso de las enzimas, cuya principal función es mejorar el rendimiento (Claus & Mojssov, 2018).

En el proceso de fermentación para la obtención de vino, las levaduras juegan un papel fundamental, ya que dependiendo de la especie o cepa que se aplique en el proceso se puede obtener diferentes beneficios, una de las mayores influencias es en las características organolépticas que se presentan en nuestro producto final gracias a los metabolitos producidos en el crecimiento microbiano (Gutiérrez, 2018). De las levaduras no-*Saccharomyces*, es *Torulaspota delbrueckii* la que se ha estudiado con mayor profundidad para la elaboración de vinos, debido al rendimiento superior en la fermentación que ofrece con relación a otras especies no-*Saccharomyces* destinadas a la industria del vino (Ramírez & Velázquez, 2018). Estas especies de levaduras son importantes sobre todo porque se encargan de iniciar el proceso de fermentación, de ahí la prioridad en tener ciertas consideraciones al escoger la adecuada. Esta especie a escoger debe proliferar sobre las diversas especies y flora indígena que exista en el mosto al momento de comenzar la

fermentación, por esto se agrega entre $2-3 \cdot 10^6$ levaduras por mililitro para que el crecimiento, a las primeras horas de iniciado el proceso, en la fase exponencial, sea mayor y así predomine (Gutiérrez, 2018). Esto es importante tener en cuenta, ya que *T. delbrueckii* ha mostrado un menor crecimiento en condiciones anaerobias si lo comparamos con una levadura *S. cerevisiae*, y a su vez tiene una menor capacidad tanto de fermentación, como de crecimiento, llegando a no competir con los cultivos silvestres (Ramírez & Velázquez, 2018). Este problema se evidencia ya en varios estudios relacionados, donde se muestra el poco control que llega a existir cuando se aplica esta especie, llegando a tener diferentes resultados. Una manera de contrarrestar este problema es utilizando en el proceso de fermentación, un mosto estéril, con esto se puede apoyar a que aumente el crecimiento microbiano de la levadura y ayudando a que mantenga el protagonismo en la fermentación (Ramírez & Velázquez, 2018).

La empresa Natural Paradise, se dedica a la elaboración de diferentes productos, como palmito, borjón, noni, arazá, entre otros. Ha desarrollado una enorme acogida en el mercado debido a la alta calidad de sus productos. Sin embargo, la empresa tiene una gran dificultad al momento de considerar nuevos mercados para continuar su crecimiento: el desconocimiento de la gente o los mitos en torno a ciertos alimentos dificultan que más personas se interesen por conocer su oferta. Al borjón, por ejemplo, se lo comercializa en forma de pulpa y jugo, pero suscita cierto recelo entre los consumidores porque se lo conoce como afrodisíaco, una cualidad que en realidad no posee. Lo que sí se puede decir del borjón es que se trata de una fruta que puede servir como energizante por su alta cantidad de nutrientes (Pardo-Yoza, 2018). Por eso la producción de vino de borjón puede servir como plataforma no solo para diversificar la demanda en el mercado nacional, sino también para informar a la población sobre las bondades de esta fruta y las múltiples presentaciones en que se la puede encontrar (García Zapateiro, Florez Mendoza, & Marrugo Ligardo, 2016).

El presente trabajo tiene como finalidad, apoyándose en el software SuperPro Designer, evaluar el impacto económico y ambiental de la implementación de un bioproceso industrial, diseñado desde la comparación del efecto en el proceso de fermentación de las

especies *Torulaspota delbrueckii* y *Saccharomyces cerevisiae* para la obtención de vino de borojó.

Objetivos

Objetivo general del proyecto

Diseñar un bioproceso industrial a partir de la comparación de los efectos de dos especies de levaduras en la fermentación de vino de borojó (*Borojoa patinoi*).

Objetivos específicos

- Comparar las características físico-químicas durante el proceso de fermentación utilizando una levadura no-*Saccharomyces* y una levadura vínica (*S. cerevisiae*) a intervalos de 5, 10, y 20 días.
- Diseñar un bioproceso para la producción industrial de vino de borojó con cada especie de levadura analizada, utilizando la versión libre del software SuperPro Designer.

Capítulo 2

Marco referencial

Borojó

El borojó (*Borojoa patinoi*) es una planta exótica propia del trópico que mide de 3 a 5 metros de altura. Aunque crece en diversas zonas de América Latina, en Ecuador se la encuentra principalmente en la costa del país. Su fruto es una uva carnosa de 7 a 12 cm de diámetro, de color que va del verde al marrón, que pesa entre 740 y 1,000 gramos (Ramón & Criollo, 2007). Se destaca tanto su elevado valor nutricional como que posee condiciones suficientes para la adaptación de cultivo, esto ha llevado a destacarlo en la industria de alimentos en los últimos años (Pardo, 2018).

Esta fruta posee varias aplicaciones en varios campos, pero destaca en la agroindustria como también en la nutrición por sus atributos organolépticos y su importancia en una dieta saludable. Al tener estos efectos, se le ha utilizado tanto en jugos, helados, vinos,

mermeladas, entre otros productos, al tener varias características que atraen al consumidor actual, un ejemplo de esto es como se lo recomienda para la regulación de la hipertensión, como diurético, en tratamientos debido a problemas en el pulmón, para la cicatrización de heridas y tratamiento para herpes (Ayala et al., 2017).

Tabla 1.

Taxonomía Borojó (Borojoa patinoi).

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Género	<i>Borojoa</i>
Especie	<i>Patinoi</i>

Nota: Adaptada de “Elaboración de productos a base de Borojó (*Borojoa patinoi*) y su aplicación en culinaria”, por Ayala Fernández, Cruz Garzón y González Moreno, 2015, *Universitaria Agustiniiana*.

El borojó se recolecta, para su consumo, en estado maduro, es decir, cuando el fruto adquiere una coloración café y está por desprenderse de la rama. La pulpa también tiene una coloración café, es ácida y de una textura densa que se caracteriza por tener alrededor de 30° Brix y un alto contenido proteico, alto en fructosa y glucosa, aunque también posee un alto nivel de fósforo al ser comparado con otras frutas, por lo que además tiene aplicaciones como cicatrizante y tónico del sistema visceral (Ramón & Criollo, 2007).

Composición química y nutricional

El borojó, llega a pesar 4 libras y es una fruta de alrededor de 7 a 12 cm de diámetro que se recolecta del suelo (Ramón & Criollo, 2007). La pulpa contiene características nutricionales muy importantes y a destacar como: su nivel de carbohidratos, aminoácidos,

vitaminas y minerales. Por eso al borojó se lo conoce como una fruta energética, ya que también posee minerales como el hierro, fósforo y calcio (Pardo, 2018).

Tabla 2.

Caracterización química del Borojó (Borojoa patinoi).

Calorías	93.0 %
Agua	64.7 g
Proteína	1.1 g
Carbohidratos	24.7 g
Fibras	8.3 g
Cenizas	1.2 g
Calcio	25.0 mg
Fósforo	160.0 mg
Hierro	1.5 mg
Tiamina	0.3 mg
Riboflavina	0.1 mg
Niacina	2.3 mg
Vitamina C	3.0 mg
pH	3
Sólidos solubles	29 a
	41%

Nota: Adaptada de “Elaboración de productos a base de Borojó (Borojoa patinoi) y su aplicación en culinaria”, por Ayala Fernández, Cruz Garzón y González Moreno, 2015, *Universitaria Agustiniiana*, p. 16.

Erróneamente se le ha adjudicado al borojó propiedades afrodisiacas, pero no se ha demostrado a ciencia cierta que mejore el rendimiento o el vigor sexual. Por otro lado, sí se

ha comprobado que posee un alto valor proteico y elevado contenido de fósforo, lo que lo convierte en un fruto energizante que puede brindar beneficios como:

- Ayuda en las afecciones bronquiales
- Equilibra el azúcar en la sangre
- Combate la desnutrición
- Controla la hipertensión arterial.

Además de contener gran cantidad de aminoácidos que hace recomendable su consumo (Ramón & Criollo, 2007).

El borojó se lo utiliza tanto en jugos, pulpas y mermeladas, por el bajo pH y su alto contenido nutricional. Una cualidad que destaca al mismo de otras frutas, sobre todo a nivel de producción, es por ser poco perecedera y tiene una alta disponibilidad a través de todo el año, aunque uno de los problemas es la consistencia que tiene, por esto se emplean varios métodos para su aplicación en la industria, sobre todo el despulpado. La pulpa de borojó es uno de los productos más solicitados en el mercado, sobre todo por su alto contenido energético, nutritivo, teniendo un contenido de sólidos solubles considerablemente altos, proteínas, aminoácidos y fósforo (Guerra Pablo, 2014).

Tabla 3.

Resumen de la composición bromatológica y fisicoquímica de la pulpa de borojó (Borojoa patinoi).

Componentes	Resultados
Humedad (%)	69.43
Sólidos solubles (°Brix)	32
Cenizas (%)	0.73
pH	2.93
Acidez (%)	2.60

Carbohidratos	
totales (%)	29.03
Extracto etéreo	
(%)	0.06
Proteína (%)	0.78
Fibra cruda (%)	3.50
Fósforo	
(mg.100 g⁻¹)	1.82
Hierro	
(mg.100 g⁻¹)	0.69
Calcio	
(mg.100 g⁻¹)	17.70
Valor energético	
(Calorías)	180.00

Nota: Adaptada de “Fermentos y tiempos de fermentación en la elaboración de vino de borojó (*Borojoa patinoi*). Quevedo – Los Ríos”, por Guerra Macías, 2014, *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, p. 11.

Fruto

El fruto de Borojó (*Borojoa patinoi*), proviene de un arbusto o árbol del sotobosque, el cual es endémico del Chocó (Salamanca G. et al., 2010). En promedio, su peso llega a ser de 740 g, de los cuales el 88% corresponde a la pulpa, mientras que el 12% es de semillas y cáscara (Pardo, 2018). Este fruto tiene altos valores nutricionales que lo ponen en consideración como una fuente de energía, por lo que su aplicación en diversos productos está relacionado a los beneficios a la salud que se ha demostrado en estudios previos. Principalmente se lo aplica para la obtención de vinos, aunque también ha crecido la elaboración de bebidas refrescantes, usándolo de materia prima (Salamanca G. et al., 2010).

La fruta tiene como particularidad que se la consume solo en estado maduro, que es cuando se cae del árbol y de la coloración verde cambia a un café oscuro completo, teniendo como características el olor perfumado y un sabor ácido (Ayala et al., 2017).

Figura 1.

Fruta madura de Borojó (Borojoa patinoi).



Para facilitar el consumo de esta fruta y su aplicación en la industria, se ha destacado la preparación de la pulpa, la cual se caracteriza por tener un elevado contenido tanto de fósforo como de carbohidratos, vitaminas, aminoácidos y otros macro y micro nutrientes, fundamentales en toda dieta balanceada (Salamanca G. et al., 2010) he importantes en varios procesos biológicos y en la prevención de diversas enfermedades. Por ejemplo, el fósforo tiene un papel relevante en los procesos metabólicos, donde el 80% de este nutriente en el organismo se convierte en fosfato de calcio, que ayuda en la formación tanto de huesos y dientes, como de calcio; este último, también se destaca como un nutriente importante, teniendo injerencia en el desarrollo de los huesos y a su vez se ha comprobado que ayuda a prevenir enfermedades que tienen estrecha relación con el sistema nervioso, la coagulación, la osteoporosis y las contracciones musculares (Pardo, 2018). En estudios previos se logró comparar la pulpa con 3 libras de carne, demostrando una equivalencia en el valor nutritivo, con lo que se puede emplear este fruto como una opción para la desnutrición (Ayala et al., 2017).

A partir de la fruta en estado maduro, se obtiene la pulpa, esta tiene una coloración café, es de una constitución densa y sabor ácido, es recomendarle mantenerla en refrigeración, donde se ha demostrado que sin ningún aditivo, puede mantenerse hasta por 6 meses (Ayala et al., 2017).

Nutrientes y metabolitos.

Uno de los principales nutrientes en el borjón y que lo destaca entre otras frutas, son los varios aminoácidos que contiene, entre ellos podemos destacar el ácido glutámico, el Triptófano, la Leucina, Arginina, Glicina, Lisina, Cerina, Tiroxina, Isoleucina, Cristina y la Fenilalanina (Ayala et al., 2017).

Se habla de la importancia de esta fruta a nivel nutricional pero también se destacan sus propiedades medicinales, esto gracias a que varios compuestos que prevalecen son antimicrobianos, a su vez también tiene varios metabolitos secundarios que aportan diversos beneficios, como por ejemplo los Triterpenos, que inhiben la reproducción celular. Otros metabolitos que destacan en el borjón son las Saponinas, esteroides, Flavonoides, Fenoles, Taninos y Antraquinonas (Ayala et al., 2017).

Fermentación

La fermentación se define como un proceso biológico a partir de la oxidación completa. Teniendo como característica principal que no necesita de oxígeno para llevarse a cabo. Para ello el fruto debe transformarse en un compuesto orgánico capaz de desencadenar el proceso. Los carbohidratos tienen como función ser el sustrato para que se dé la fermentación, pero en este aspecto, ciertas bacterias también provocan el mismo en distintos compuestos tales como ácidos orgánicos, aminoácidos, purinas y pirimidinas (Müller, 2001). La fermentación es el proceso bioquímico donde se da la transformación de un azúcar, que es un componente común tanto en frutas como cereales, en medio líquido, comúnmente agua, para obtener de este proceso, alcohol principalmente. El azúcar y el agua, son los componentes que permiten actuar a la levadura (comúnmente del género *Saccharomyces*),

la cual inicia el proceso de fermentación. Las frutas tienen como azúcar, la sacarosa, que produce alcohol etílico y dióxido de carbono como componente secundario (Guerra Pablo, 2014). Los azúcares que pueden ser disponibles para las levaduras, en el proceso de fermentación, son la glucosa, la fructosa, la maltosa, la sacarosa y la lactosa, que pueden extraerse de la caña de azúcar, las melazas, los jugos de las frutas, la remolacha y el suero de la leche (Becerra, Haro, Salinas, & Velasco, 2013).

La fermentación puede producirse de manera natural en frutas y vegetales si las condiciones ambientales son normales. Pero existen diversas dificultades al momento de aplicarlas en la industria, por lo cual estos sustratos, granos y leche con microorganismos específicos, provocan la fermentación, y se han desarrollado biorreactores o fermentadores para controlar las condiciones de los procesos. Con esto se busca mejorar la producción tanto de alimentos, medicamentos, bebidas con porcentajes de alcohol, derivados de la leche, glicerina, ácidos, alcoholes y cetonas. (Renneberg, 2008).

En la fermentación aparte de la producción de etanol y dióxido de carbono, se obtienen otros componentes, aunque en cantidades considerablemente inferiores a estos dos, como alcoholes diferentes al etanol, ésteres, aldehídos, compuestos de azufre, ácidos orgánicos, etc. Estos compuestos le dan características organolépticas al producto que obtenemos de la fermentación, sobre todo tienen un efecto importante en el aroma (Guerra Pablo, 2014).

La respiración aeróbica es el mecanismo mediante el cual los seres vivos captan oxígeno para realizar sus procesos metabólicos, siendo propia de eucariontes y ciertas bacterias. Es una reacción donde los organismos extraen energía de moléculas orgánicas, como la glucosa, a través de la oxidación del carbono. Este proceso también puede darse con ligeras variantes, como que el agente oxidante es distinto del oxígeno (Müller, 2001).

La respiración anaeróbica, al contrario, es un proceso netamente biológico que tiene como característica la oxido-reducción de diversos compuestos, entre ellos los monosacáridos, donde el aceptor final de los electrones deber ser, en este caso, una molécula inorgánica que no sea el oxígeno. Esta molécula también puede ser orgánica y que atraviese

la cadena transportadora de electrones, este proceso lo podemos comparar con la respiración aeróbica de la mitocondria. A pesar de tener varias similitudes, hay que tener cuidado con no confundir, este proceso, con la fermentación, ya que aunque ambos son procesos anaeróbicos, en la fermentación no se hace participe ningún proceso similar a la cadena transportadora de electrones y la molécula, que funciona como aceptor final de electrones, debe ser siempre orgánica, como ejempló podemos tener el piruvato (Renneberg, 2008).

Etanol en los vinos

El etanol es el producto que se obtiene al momento en que se fermentan los hidratos de carbono. También se obtiene, aunque en menor proporción, al ser descompuesto el ácido málico por efecto de la levadura *Schizosaccharomyces spp.* Su importancia radica al ser el componente con mayor abundancia en los vinos junto con el agua, aparte de sus características fisiológicas y la injerencia que su composición química y sus factores fisicoquímicos ejercen, en el caso del vino, a los otros componentes que lo acompañan y la acción que tiene sobre los microorganismos (Guerra Pablo, 2014).

Vino

El vino es una bebida alcohólica, producto de la fermentación completa o parcial del mosto o zumo de uva. Tiene una larga trayectoria. Ha estado en la mesa de muchas culturas y ha participado de toda clase de tradiciones en distintas partes del mundo. Gracias a que posee la cualidad de desinhibir al bebedor, se lo ha considerado símbolo de alegría, haciéndose presente en festejos de civilizaciones tan esplendorosas como la Grecia Clásica, el Imperio Romano y, en general, casi todos los pueblos de Europa que vinieron a continuación (García Zapateiro, Florez Mendoza, & Marrugo Ligardo, 2016).

Para dimensionar su importancia, cabe referir que fue la bebida escogida por Jesús y la iglesia católica para simbolizar la sangre de Cristo que se toma durante la eucaristía. De hecho, el vino es uno de los productos más antiguos creados por el hombre que se consume hasta nuestros días (Becerrra, Haro, Salinas, & Velasco, 2013).

Pero a pesar de su importancia, el vino ha tenido dificultades en adaptarse a los tiempos, sobre todo con cara a innovar en el mercado. Uno de ellos, quizás el más grande, es que por enfocarse tanto en la uva no se ha tomado en cuenta, hasta hace pocos años, la posibilidad de experimentar con otras frutas (Guerra Macías, 2014). El procedimiento, después de todo, es el mismo y reproduce las condiciones con que se produce el vino de uva. Se parte de la siguiente regla empírica para determinar la graduación alcohólica: 20 g de azúcar producen el 1% en volumen de alcohol. Al comienzo, toda fruta contiene en su composición cierta cantidad de azúcares, como la sacarosa, glucosa y fructuosa, que varían según el grado de maduración, la variedad y el clima. Aunque en el proceso también tienen gran importancia otros factores como el pH y la acidez (Guerra Macías, 2014).

La industria vinícola, de cara a las últimas décadas, ha desarrollado diversos avances dirigidos a mejorar la calidad del producto como también controlar las características finales que va a tener. A destacar algunas innovaciones se puede resaltar los tratamientos con enzimas, la aplicación de levaduras específicas, el control de los iniciadores microbianos y la inmovilización de microorganismos. Se han planteado estas tecnologías, con el fin, de innovar y a su vez aumentar la calidad del vino, en lo que podemos notar un cambio en sus características organolépticas y una estabilidad tanto microbiológica como fisicoquímica (Singh et al., 2011).

Para analizar la acidez de la fruta, se utiliza el refractómetro, que nos indica el porcentaje de azúcares (°Brix). A su vez es importante medir la acidez por titulación en donde una muestra del jugo de la fruta que deseamos analizar, usando hidróxido de sodio, se busca neutralizar el contenido de ácidos que posee. Es importante analizar este parámetro ya que los ácidos contenidos en una fruta, influye para la maduración del vino y en su calidad. Los ácidos que comúnmente más intervienen son el ácido cítrico, tartárico y málico (Guerra Pablo, 2014).

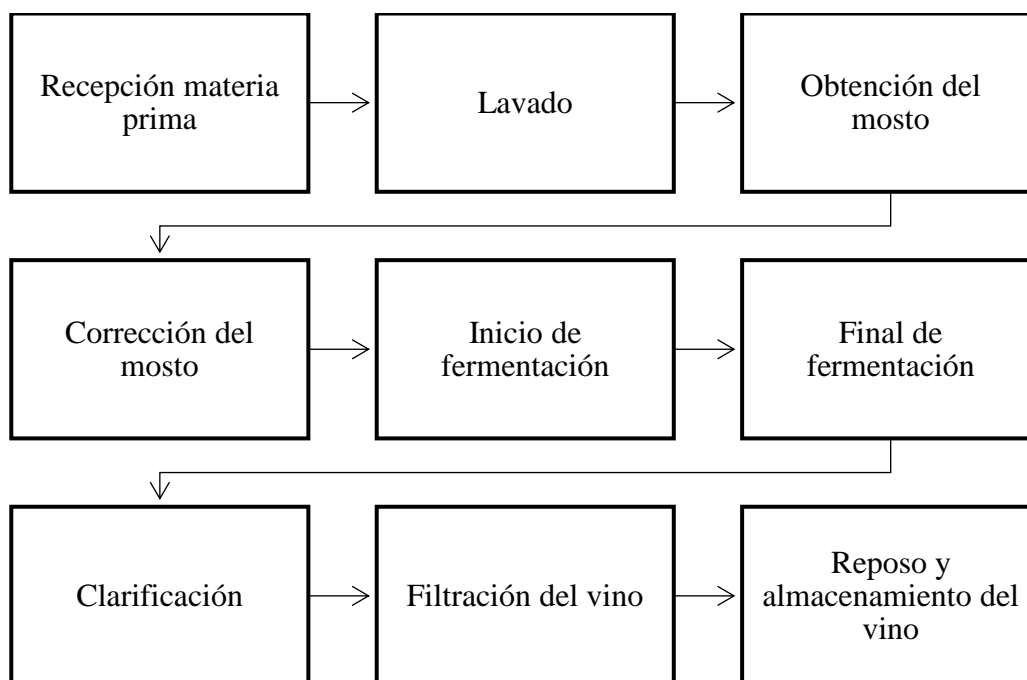
En la producción de vinos es importante controlar la cantidad de sólidos solubles y ácidos, sobre todo en el mosto que se va a utilizar, ya que estos factores darán las

características finales del vino, y es más sencillo controlarlos en esta etapa que en pleno proceso de fermentación. La sacarosa, se utiliza comúnmente en estos procesos, como enriquecedor. De esta y las condiciones de fermentación, dependerá el rendimiento al momento de la conversión en alcohol. Al momento de controlar la acidez en el mosto, buscamos: promover la actividad de las levaduras alcohógenas que trabajan a pH 3-3.5 y el control del crecimiento de microorganismos patógenos. También cabe destacar la importancia del control de la acidez, sobre todo con respecto al funcionamiento de las levaduras implicadas en el proceso, al tener un mayor rango de proliferación, cuando el mosto posee valores cerca de 0.55% (Guerra Pablo, 2014).

A continuación, se puede observar en el diagrama la producción de vino a nivel industrial:

Figura 2.

Diagrama del proceso general de elaboración a escala industrial de vino.



Nota. Adaptada de “Caracterización fisicoquímica y microbiológica de un vino de Borojé (*Borojoa patinoi* Cuatrec)”, por García Zapateiro, Florez Mendoza, Marrugo Ligardo, 2016, *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 82, p. 511.

Tabla 4.*Requisitos del vino de frutas.*

REQUISITOS	UNIDAD	MINIMO	MAXIMO	METODO DE ENSAYO
Grado alcohólico a 20°C	°GL	5	18	INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/l	-	2,0	INEN 341
Acidez total, como ácido málico	g/l	4,0	16	INEN 341
Metanol	*	trazas	0,02	INEN 347
Cenizas	g/l	1,4		INEN 348
Alcalinidad de las cenizas	meg/l	1,4		INEN 1 547
Cloruros, como cloruro de sodio	g/l	—	2,0	INEN 353
Glicerina	**	1,0	10	INEN 355
Anhidrido sulfuroso total	g/l	—	0,32	INEN 356
Anhidrido sulfuroso libre	g/l	—	0,04	INEN 357
* cm ³ por 100 cm ³ de alcohol anhidro.				
** g por 100 g de alcohol anhidro.				

Nota: Adaptada de “Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos”, por INEN 374, 1987, p. 2.

Clasificación

La elaboración del vino y sus diferentes etapas, hacen que este producto tenga diferentes clasificaciones dependiendo de varios factores como el contenido de azúcar, edad, cantidad de cepas de levadura, color, grado alcohólico, etc.

El vino que se evalúa por su edad se lo clasifica en:

Tabla 5.*Clasificación de los vinos por su edad.*

Clasificación	Tiempo
Sin crianza	Vinos del año
Crianza	Tinto: 24 Meses (6 en barrica)

Reserva	Blancos y rosados: 24 Meses (6 en barrica)
	Tinto: 48 Meses (12 en barrica)
Gran reserva	Blancos y rosados: 36 Meses (6 en barrica)
	Tinto: 60 Meses (24 en barrica)

Nota: Adaptada de “Clasificación de los vinos: Edad, color, azúcar residual y alcohol”, por Viveros Barber, 2021, *Viti Vini Cultura*.

Hay que tomar en cuenta que no hay relación con respecto a la cantidad de años y la calidad del vino, ya que posee un punto óptimo y después del mismo, el producto empieza a decaer. La edad del vino se lo mide a través de la añada o año de cosecha, este cambia ya que es influenciado por diversos factores, destacando el clima en el que se realiza el proceso.

La mayor clasificación en la que podemos englobar a los vinos es en la de vino tinto y vino blanco, ambos similares en varios puntos, pero con elementos diferentes tanto en su elaboración como en las características organolépticas que poseen, las cuales son un atributo esencial a la hora de ofrecer al consumidor una experiencia placentera.

Vino Blanco. El vino blanco es elaborado, en relación a la uva, a partir de su jugo, pero sin incluir tanto piel y tallo, otro factor que influenciará a la calidad de este vino es la variedad de la fruta y su estado de madurez. Uno de los aspectos que hay que controlar es el crecimiento de microorganismos no deseados y la inactivación de las enzimas oxidativas por lo que hay varios métodos, uno de ellos es el tratamiento del mosto con SO₂ aunque también se puede conseguir el mismo resultado al calentar brevemente el mosto a 85 °C (Singh et al., 2011).

Para obtener un 12% de alcohol en el vino blanco que vamos a elaborar, debemos controlar que los sólidos solubles totales (SST) en el jugo, se ajusten a 22,5°B (Singh et al., 2011). Al ser la fruta demasiado ácida, una opción para contrarrestar este inconveniente es agregar tanto azúcar como agua, lo que se conoce como corrección de mosto que también ayuda para controlar el pH y otros parámetros físico-químicos. Aunque son técnicas muy

rudimentarias otra innovación en el mundo de los vinos son nuevas tecnologías para estas correcciones, en las que podemos destacar la ósmosis inversa, la crioextracción y la concentración de entropía que se utiliza para elevar la concentración que se tiene del azúcar sin llegar a necesitar la adición del mismo en su forma comercial (Singh et al., 2011). Lo que caracteriza al vino blanco es la temperatura en la que se fermenta, que se determina entre los 18 a 24°C, a temperaturas menores se elevan los elementos aromáticos que se obtienen, como por ejemplo los acetatos de alcoholes superiores y esterres de ácidos grasos, mientras que la fermentación que se realiza a temperaturas mayores a los 25 °C provocan una pérdida del aroma y la calidad en nuestro producto (Singh et al., 2011).

Vino Tinto. El vino tinto a diferencia del vino blanco se lo obtiene al fermentar el mosto que se obtiene de la uva roja o negra, sin retirar los las pepas de la fruta y los hollejos, estos últimos al permanecer más tiempo colaboran en que el vino posea un color intenso, un aumento de compuestos fenólicos y a su vez se elevan los índices sensoriales (Singh et al., 2011). A diferencia del vino blanco, el vino tinto tiene su fermentación a una temperatura mayor a la de éste, entre 24 a 27 °C. En este tipo de vino juegan un papel importante, tanto las antocianinas como las procianidinas, las primeras son pigmentos que promueven la fermentación, en tanto las segundas llegan a inhibir el proceso (Singh et al., 2011).

Si en el mosto se encuentra material particulado o se observa turbidez residual, esta afecta directamente a la cinética de la fermentación y condiciona la obtención de subproductos, para tener un mayor control del procedimiento una opción es agregar bentonita de arcilla montmorillonita al mosto que se va a fermentar, esto con el fin de que en pasos posteriores sea más sencilla la clarificación de nuestro fermento (Singh et al., 2011). Otra diferencia que se puede enfatizar al compararlo con el vino blanco, aparte del factor temperatura, es el factor oxígeno en el proceso y el llevar tanto la maduración o envejecimiento del producto final a una barrica (Singh et al., 2011).

Levaduras

Las levaduras son organismos eucariotas, considerados como hongos unicelulares, siendo responsables de la descomposición de la materia orgánica presente en el ambiente, siendo su principal fuente de alimento el azúcar. Debido a su pequeño tamaño es difícil su observación a simple vista a pesar de ser un microorganismo que abunda en nuestro entorno, llegando a estar en el suelo, en las plantas y sus diversas partes, y se ha llegado a encontrar en el organismo de animales (Rojkés, 2015).

Estos microorganismos han estado inmersos en varias tradiciones de la humanidad, destacando la obtención de vino, cerveza y la preparación del pan, que gracias a Luis Pasteur se conoció su carácter fermentador, demostrando que las levaduras producen la fermentación, dada una condición anaerobia, convirtiendo el azúcar del medio en etanol y CO₂ (Rojkés, 2015). Estos microorganismos provocan la conversión del jugo de uva o mosto en vino, produce las burbujas en la fermentación de la cerveza y esponjan el pan al hornear, sin embargo, en la actualidad también se destaca su importancia en la producción de hormonas y estudios prevén su aporte a la supervivencia de las plantas en suelos con alto contenido de salitre (Guzmán, 2021).

Diversos campos de estudio como la biotecnología y la ingeniería genética han aportado al descubrimiento de varias aplicaciones, donde las levaduras adquieren un rol protagónico en la mejora de calidad de vida de las personas, quizás la que más relevancia ha tenido en nuestra época es la producción de insulina a través de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, aunque se puede destacar principalmente la producción de hormonas de crecimiento, anticuerpos dirigidos a la elaboración de vacunas he incluso la reproducción de un virus, previamente modificado, para tratar la hepatitis B con otras especies de levadura (Guzmán, 2021).

Saccharomyces cerevisiae

La especie *Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura heterótrofa, reconocida por su papel en la fermentación alcohólica y utilizada como fuente de proteína, es el

microorganismo que más impacto ha tenido en la historia de la humanidad por el peso en sus tradiciones (Suárez et al., 2016). Se encuentra en plantas, en el suelo y se ha encontrado en el tracto gastrointestinal y genital de las personas, aunque también destaca por ser una fuente tanto de proteína como de vitaminas en la alimentación de animales. Este ejemplo se puede palpar al momento de analizar la formulación del balanceado de aves y cerdos, pero en estos casos se aplica la levadura íntegra en estado inactivo o también sus derivados (Suárez et al., 2016).

Para que toda levadura encuentre su mejor rendimiento en la industria, hay que saber las condiciones óptimas que necesita, en el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, en diversos estudios se ha especificado que las condiciones idóneas para su crecimiento se dan en un medio abundante en azúcar, el cual debe tener una facilidad para ser fermentado por la levadura. Mientras que es importante que se mantenga tanto el pH más o menos en 5 y la temperatura entre 25 a 28 grados centígrados (Hernández, 2005).

Levaduras No-Saccharomyces

En cada fruto podemos encontrar microorganismos nativos, con respecto a la fermentación lo que más se destacan son las levaduras que promueven este proceso de manera espontánea, por poner un ejemplo, la especie *Candida* junto a *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* y *Pichia* se encuentran relacionados al proceso inicial de fermentación, pero a partir de que el porcentaje de alcohol pasa el 3 o 4% el proceso se rige por la especie *Saccharomyces cerevisiae* (Singh et al., 2011). Esta levadura es la más importante en el proceso de fermentación alcohólica, sin embargo, se ha estudiado el efecto de otras especies de levadura en el proceso, y se ha notado que su aplicación trae modificaciones tanto al aroma como al sabor, a su vez algunas mantienen interacciones con la levadura *Saccharomyces* (Gutiérrez, 2018). Entre las levaduras más estudiadas podemos destacar *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspota* y *Zygosaccharomyces*, que son especies que tienen una creciente importancia en el sector industrial (Singh et al., 2011). Estas levaduras no-*Saccharomyces* como ya se mencionó, se relacionan al proceso inicial

de fermentación, pero al ser sensibles a altos grados de alcohol y tener un bajo poder fermentativo, su crecimiento se ve condicionado con el pasar del proceso y de las condiciones en las que se da (Gutiérrez, 2018).

Torulaspota delbrueckii. Es una la levadura del grupo de las No-*Saccharomyces* que se utiliza en mayor medida en la producción de vino. A comparación del resto de levaduras del mismo, es la que posee mejor rendimiento en el proceso de la fermentación (Ramírez & Velázquez, 2018). Se ha reportado la optimización de varios factores, a comparación de cuando se aplica *Saccharomyces cerevisiae*, en el producto final, lo que provoca teóricamente una mejora en la calidad del vino. Los principales cambios que existen son una disminución del ácido acético y de concentración de etanol, un aumento de glicerol y de liberación de manoproteínas y polisacáridos, promueve la fermentación maloláctica, aumenta la concentración de compuestos aromáticos interesantes como ésteres afrutados, lactonas, tioles y terpenos; y se observa una notable disminución de la concentración de compuestos aromáticos no deseados, como por ejemplo, los alcoholes superiores (Ramírez & Velázquez, 2018).

Biorreactores

En las últimas décadas hemos estado asistiendo a una revolución en lo que concierne al desarrollo tecnológico, sobre todo por parte de la biotecnología, que ha permitido grandes avances en áreas como farmacología, química, alimentos, etc. El elemento fundamental por el que destaca es el estudio y uso de microorganismos en la producción. Esto ha concebido que la biotecnología sea en un eje primordial en el futuro de la industria, pues brinda la posibilidad de controlar las condiciones en que se obtienen productos específicos y de mejorar el rendimiento de los procedimientos (Singh, Scooch, & Attri, 2011).

Cabe también destacar la notoria mejoría en las técnicas con la implementación de varias herramientas innovadoras. Un biorreactor o fermentador es uno de los principales equipos en la actualidad para llevar a cabo diversos procesos industriales. Se trata de un

dispositivo capaz de proporcionar un medio controlado en el que se permite el crecimiento y formación eficaz de células para la obtención de un producto. Algunas de las opciones que brinda, que se pueden regular de acuerdo a las especificaciones, son los controles de temperatura, pH, sustrato, sales, oxígeno, entre otros (Cárdenas Lucero, 2004).

Existe un gran surtido de biorreactores. Se los puede clasificar en continuos y en lotes. Los últimos tienen ventajas como la facilidad para trabajar en ellos con cantidades variables de sustrato y el bajo costo de operación que implica (Singh, Scooch, & Attri, 2011). También hay biorreactores que poseen agitación mecánica, que consiste en un tubo cilíndrico ubicado al fondo o en la parte superior que revuelve el contenido del interior. Su principal función es la homogeneización, es decir, la distribución de las concentraciones de diferentes sustancias hasta volverlas uniformes y el equilibrio de la temperatura. Son ampliamente usados debido a la facilidad del manejo, confiabilidad y duración (Cárdenas Lucero, 2004).

Hay una variedad de biorreactores que se destacan por su tamaño, forma, diseño y el material que los constituye, esto se ha mencionado previamente y se debe destacar la importancia en la industria para llevar a cabo la producción de vinos, afectando directamente al producto final. Estos recipientes se pueden englobar principalmente en dos, cubas y tanques, siendo su principal diferencia que los primeros tienen abierta la parte superior, mientras los segundos se encuentran sellados (Singh et al., 2011). Es importante el diseño del biorreactor ya que depende de las condiciones en las que se va a realizar el proceso, en la mayoría de casos es simple, aunque a medida que el tamaño aumenta se vuelve complejo. También es importante destacar que se aplica comúnmente una fermentación por lotes (Singh et al., 2011).

SuperPro Designer

En la actualidad, los programas de computación se han vuelto una herramienta imprescindible para el desarrollo de la industria. Los programas de simulación, una de sus derivaciones, constituyen un seguro para predecir proyectos en ciernes, permitiendo el análisis de múltiples soluciones de una forma segura y económica que proyecta el desarrollo

y el efecto de los procesos que se planteen (Barreto Torrella, 2017). En las simulaciones se usan recursos computacionales para el desarrollo de modelos matemáticos, esto se realiza con la finalidad de crear un modelo que represente un proceso en estudio. Así se puede llegar a predecir y comprender su comportamiento en el momento de la operación real, aplicándolo a todas las etapas, desde el diseño, hasta la ejecución y optimización del procedimiento (Benítez-Cortez, 2018).

SuperPro Designer es un programa de simulación que se aplica de manera profesional para modelar, diseñar y optimizar procesos que se encuentran relacionados con industrias como la farmacéutica, biotecnológica, alimentos, tratamiento de aguas, etc. La característica principal de este programa es contener herramientas para realizar y estimar balance de masas y costos, donde se puede diseñar una planta que sea operada de forma continua o por lotes. Además puede realizar cálculos de diseños específicos para procesos biológicos, lo que la vuelve indispensable antes de poner en marcha un proyecto (Benítez-Cortez, 2018).

Capítulo 3

Metodología

Materia prima

Para la elaboración del vino se utilizará la pulpa de borojó "La Nena" de la empresa Natural Paradise, la cual obtiene el fruto de la finca "El Cabuyal", ubicada en el cantón Puerto Quito. Se mantendrá en refrigeración hasta el momento previo de la preparación de la mezcla para la fermentación.

Figura 3.

Pulpa de Borojó de 200 gramos de la empresa Natural Paradise.

**Elaboración del vino**

Para elaborar el vino se van a utilizar dos levaduras, una de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* y otra distinta, en este caso *Torulasporea delbrueckii*. Primero se calentará la mitad del agua entre 60-80°C, se colocará la pulpa de borojó y la mitad de cantidad de azúcar, se lo agitará alrededor de 10 minutos. En el envase designado para la fermentación, se colocará tanto la otra mitad del agua como del azúcar, y poco a poco se va a verter la mezcla calentada. Se va a dejar reposar y a las 24 horas se va a agregar la levadura correspondiente a cada procedimiento.

La proporción de los ingredientes se detalla a continuación:

Tabla 6.

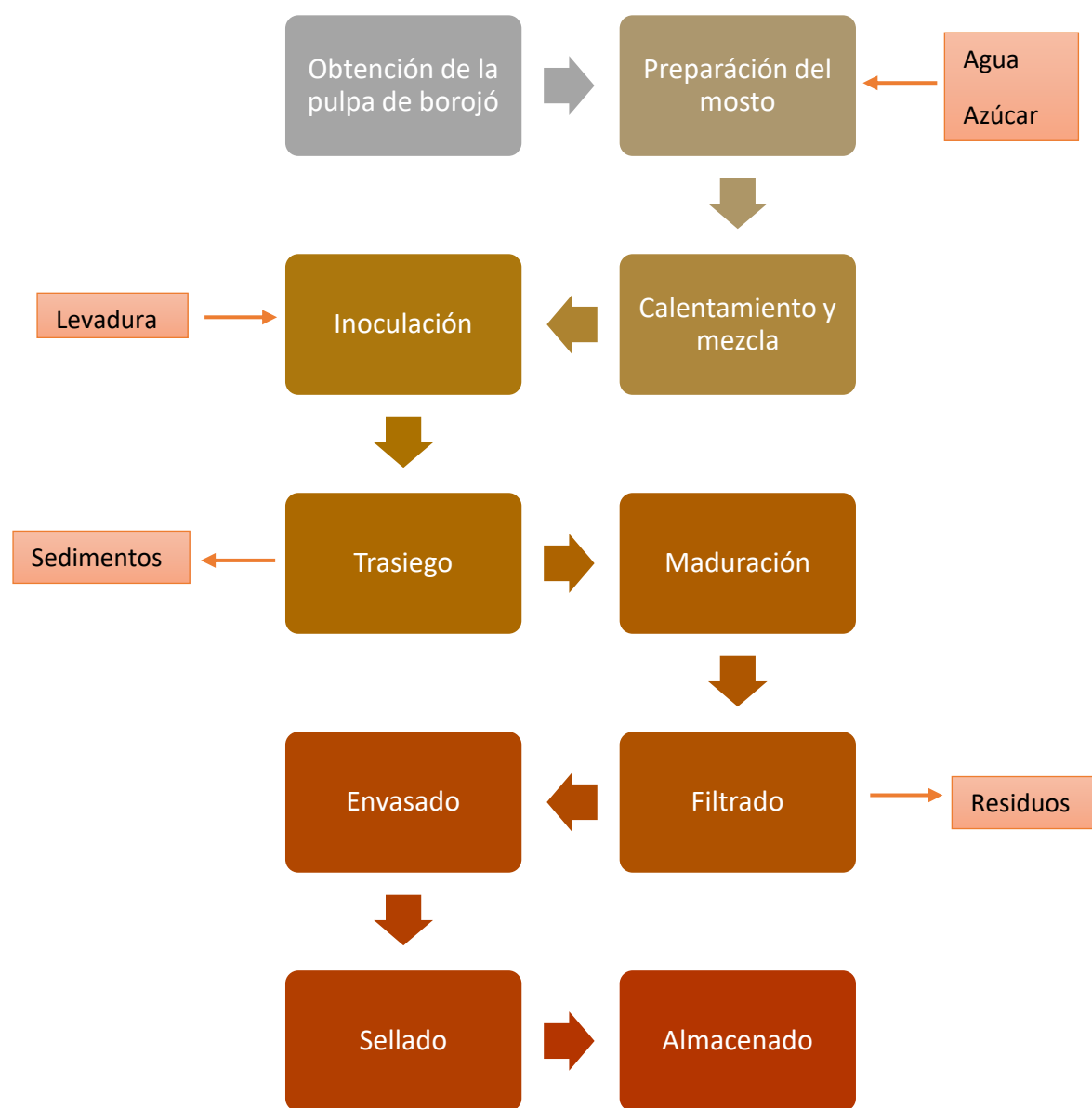
Proporción de los ingredientes para la elaboración de vino de Borojón.

	Pulpa de Borojón	Azúcar	Agua	Levadura
Proporción	9.53%	16.25%	73.96%	0.26%

Nota: Adaptada de "Fermentos y tiempos de fermentación en la elaboración de vino de borojón (*Borojoa patinoi*). Quevedo – Los Ríos", por Guerra Macías, 2014, *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, p. 36.

Figura 4.

Diagrama del proceso de fermentación artesanal para la obtención del vino de Borojó.



Nota: Adaptada de “Fermentos y tiempos de fermentación en la elaboración de vino de borojó (*Borojoa patinoi*). Quevedo – Los Ríos”, por Guerra Macías, 2014, *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, p. 37.

Análisis físico-químicos

Se evaluará el vino de Borojó en los intervalos de 5, 10 y 20 días y en cada uno se procederá a tomar una muestra para filtrarla y analizar los siguientes parámetros:

- Grados Brix
- pH
- % Alcohol

Análisis estadístico de los factores físico-químicos

Se realizará un diseño factorial mixto 2x3, tomando en cuenta los parámetros físico-químicos que se van a analizar en el proceso de fermentación con los siguientes factores:

- Levadura: *Saccharomyces*, No-*Saccharomyces*.
- Tiempo de fermentación (d): 5, 10, 20.

El diseño se organizará en el orden estándar, como se muestra en la Tabla 7:

Tabla 7.

Diseño experimental 2x3 para la fermentación de Borojó (Borojoa patinoi)

Tiempo de Fermentación (d)	Levadura	
	<i>Saccharomyces</i>	No- <i>Saccharomyces</i>
5	A	B
10	C	D
20	E	F

Factores controlables

Tiempo de fermentación. Tiempo de fermentación en días.

Tabla 8.

Factor controlable de tiempo de fermentación.

Código	Descripción
E1	5 días
E2	10 días

E3	20 día
-----------	--------

Levadura. Selección de levadura *Saccharomyces* o no-*Saccharomyces*.

Tabla 9.

Factor controlable de tipo de levadura

Código	Descripción
C1	<i>Saccharomyces</i>
C2	No- <i>Saccharomyces</i>

Tratamientos

Se llevarán a cabo 6 tratamientos (2x3) por variable de respuesta, debido a la combinación de los factores y niveles de tipo de levadura y tiempo de fermentación.

Tabla 10.

Tratamientos para el análisis físico-químico.

Tratamiento	Código	Tiempo de fermentación	Levadura
T1	<i>E1C1</i>	5	<i>Saccharomyces</i>
T2	<i>E2C1</i>	10	<i>Saccharomyces</i>
T3	<i>E3C1</i>	20	<i>Saccharomyces</i>
T4	<i>E1C2</i>	5	No- <i>Saccharomyces</i>
T5	<i>E2C2</i>	10	No- <i>Saccharomyces</i>
T6	<i>E3C2</i>	20	No- <i>Saccharomyces</i>

Repeticiones. Para este ensayo se realizarán tres mediciones por cada tratamiento.

Unidad experimental. Las unidades experimentales serán los frascos de 2L donde se está realizando la fermentación y se evaluará las características planteadas en el diseño experimental

Variables

Variable de respuesta. Las variables de respuesta para el ensayo físico-químico serán Grados Brix, pH y porcentaje de alcohol.

Modelo estadístico

Para un modelo a x b tratamientos que se replican n veces, el diseño está dado por:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} :$$

$$i = 1, 2, \dots, a; j = 1, 2, \dots, b; k = 1, 2, \dots, n$$

Donde μ es la media general, α_i es el efecto debido al i -ésimo nivel del factor A , β_j es el efecto del j -ésimo nivel del factor B , $(\alpha\beta)_{ij}$ representa al efecto de interacción en la combinación ij y ε_{ijk} que es el error aleatorio, el cual suponemos, posee una distribución normal con media cero y una varianza constante $\sigma^2(N(0, \sigma^2))$ y son independientes entre sí.

Para las variables descritas, la evaluación se realizará durante los periodos determinados. El análisis estadístico consistirá en efectuar un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de significancia según el método de Tukey.

Error aleatorio y error experimental

Se considerará error aleatorio a la variabilidad producida por: temperatura, pH y contaminación. El error experimental se considerará debido a la manipulación de las unidades experimentales durante el proceso.

Análisis

El análisis de los resultados se llevará a cabo en el programa estadístico InfoStat.

Interpretación

Se deben interpretar los resultados con el fin de observar como los factores evolucionan en el tiempo de fermentación y si existe alguna diferencia significativa entre aplicaciones por cada especie de levadura que intervino en el proceso de fermentación. En el caso de observar que los tratamientos no cumplan con el supuesto de normalidad y varianza se deberá aplicar estadística no paramétrica.

Análisis organoléptico

Para la evaluación organoléptica, se va a realizar una degustación a 30 personas, donde se les va a consultar su percepción del vino obtenido con cada levadura, tomando en cuenta tanto el sabor, color y olor, teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

Tabla 11.

Parámetros de degustación del vino de Borojó.

Color	Sabor	Olor
Café	Borojó	Borojó
	Alcohol	Alcohol

Se evaluará cada característica de acuerdo a los siguientes valores propuestos: 1 = Poco, 2 = Leve, 3 = Moderado, 4 = Fuerte.

A partir de los resultados de la encuesta obtenida se aplicará procesamiento estadístico elemental, calculando la desviación estándar, frecuencias de respuesta y porcentajes de las mismas. En la representación gráfica se empleará figura de barras para ejemplificar la opción que prefieren los consumidores.

Diseño de bioproceso

Con la ayuda del software informático SuperPro Designer se diseñará un bioproceso para la elaboración a escala industrial de vino de borojó. También se evaluará el costo del proceso mediante el mismo programa, analizando los costos de producción considerando la mano de obra, materia prima y los costos generales de fabricación.

Base del Diseño

Para la elaboración del diseño se tomará en consideración diversos parámetros que se los especifica en la siguiente tabla:

Tabla 12.

Parámetros principales para el diseño de un bioproceso para la producción de vino de Borojó.

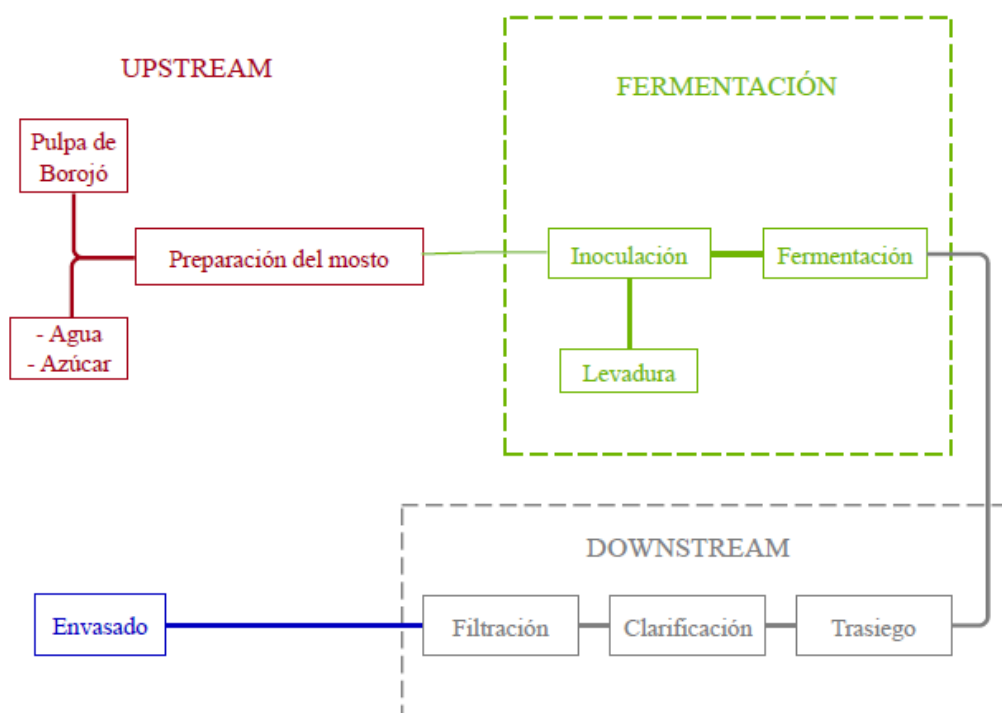
Parámetro	Suposición
Temperatura de calentamiento de la mezcla	40 °C
Tiempo de calentamiento de la mezcla	10 min
Temperatura de inoculación de la levadura	30 °C
Tiempo de inoculación de la levadura	2 días
Proceso de fermentación	20 días
Volumen nominal del biorreactor	15000 L
Volumen máximo de trabajo del biorreactor	90%
Material del biorreactor	Acero inoxidable
pH del proceso de fermentación	3.2
Temperatura del proceso de fermentación	25 °C

Tiempo del proceso de maduración	10 días
Temperatura del proceso de maduración	4 °C

Figura 5.

Diagrama del bioproceso para la producción del vino de Borojó que se diseñará en el software SuperPro Designer.

Bioproceso para la producción de vino de Borojó



Nota: Esquema para el diseño de un bioproceso de producción de vino de Borojó (Visio, 2020).

Evaluación económica de la implementación del proceso

El diseño de bioproceso que se propondrá, tendrá su base en los resultados obtenidos a partir de la fermentación de la pulpa de borojó para la obtención del vino y de los parámetros

establecidos en la Tabla 1. Gracias al software SuperPro Designer diseñaremos el proceso y podremos evaluar no solo el costo que este llegará a tener sino también su viabilidad. Otra de las herramientas que nos permite controlar el programa es los costos fijos y variables de nuestro diseño.

Capítulo 4

Resultados

Para el diseño del bioproceso se realizó la obtención del vino de borjón aplicando una levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii* en el proceso de fermentación, posteriormente se evaluó las características físico-químicas y microbiológicas, así como un análisis organoléptico de los productos obtenidos por cada levadura. Se utilizó el programa SuperPro Designer para el bioproceso, el cual nos permite a su vez analizar el impacto económico y ambiental del mismo.

Vino de Borjón

Para la preparación de vino de borjón se utilizó la pulpa de esta fruta de la empresa Natural Paradise, la cual es una presentación de 200 mg. Se utilizó azúcar comercial, y en el caso de la levadura se utilizó tanto la CBC-1 de la empresa lallemand que es la especie *Saccharomyces cerevisiae* y un cultivo de *Torulaspota delbrueckii*. Se aplicó las proporciones mostradas en la Tabla 3, colocando la mitad de la cantidad tanto de azúcar como de agua en el frasco designado para la fermentación, mientras que el resto de agua, azúcar y la pulpa se la colocó en una olla, donde se la calentó a 40 °C por 10 minutos mientras se mezclaban los ingredientes. Se transvasa la mezcla en el recipiente anterior, y se espera una hora. En promedio se obtiene un valor de pH inicial de 3,2 y 17% de °Brix, después se agrega la levadura respectiva para cada experimento.

En la siguiente tabla se especifica las cantidades que se usó por cada frasco.

Tabla 13.

Cantidades utilizadas para la fermentación de la pulpa de borojó en un recipiente de 2L.

	Pulpa de Borojó	Azúcar	Agua	Levadura
Peso (g)	128.85	219.71	1000	3.52

En la Figura se observa el frasco donde se produjo la fermentación de la mezcla realizada, este proceso duro alrededor de 20 días, al ser este frasco hermético y con la producción de CO₂ se realizó cada mañana la apertura del frasco para liberar el gas.

Figura 6.

Frasco hermético de 2L para la fermentación de la pulpa de borojó.



Pasados los 20 días, se continuó con el trasiego del contenido del frasco, esto con la finalidad desechar la pulpa. El vino se lo colocó en botellas ámbar tapadas con corcho y se las mantuvo en refrigeración por 7 días. Se realizó una última filtración del contenido de las

botellas, y se lo colocó en el recipiente que se observa en la Figura. Esta botella de vino ya se encuentra lista para su consumo.

Figura 7.

Botella de vino de borojó de 500 mL de la empresa Natural Paradise.



Análisis Físico-químico

Se realizaron 3 repeticiones por cada levadura aplicada en el proceso de fermentación y se hizo el seguimiento por 20 días, donde se tomó mediciones en el día 5, 10 y 20. Se analizó tanto el pH, °Brix y % de Alcohol como variable de respuesta.

Para el diseño experimental se evaluó el factor A, representado por la especie de levadura aplicada en cada proceso de fermentación mientras que el factor B es los días evaluados, y a su vez se evaluó la interacción entre estos factores.

Análisis de pH

Por medio de un potenciómetro se realizó el seguimiento de la variable de respuesta pH y se tomó una muestra de 100 mL para cada medición. En la siguiente tabla se especifica los valores obtenidos.

Tabla 14.

Mediciones de la variable de respuesta pH, por cada aplicación de levadura en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días.

Tratamientos	Tiempo (d)	Levaduras	Repeticiones		
			1	2	3
T1	5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.98	2.99	2.98
T2	10		2.96	2.97	2.96
T3	20		2.92	2.93	2.93
T4	5	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	2.98	2.97	2.98
T5	10		2.96	2.96	2.96
T6	20		2.91	2.93	2.92

Tabla 15.

Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (Tiempo) y su interacción.

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Total	0.01	17			
Factor A	1.40E-04	1	1.40E-04	3.59	0.082
Factor B	0.01	2	0.01	256.41	<0.0001

AxB	1.10E-05	2	5.60E-06	0.14	0.867
Error	4.70E-04	12	3.90E-05		

Nota: Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Al realizar el análisis de varianzas por cada tratamiento observamos que el único factor que tienes una diferencia significativa ($p > 0.05$) es el factor B (Tiempo), por lo cual se realiza un test Tukey de significancia para evaluar los promedios en cada uno de los tiempos establecidos.

Tabla 16.

Resultados del test Tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de pH en la fermentación de la pulpa de borjón.

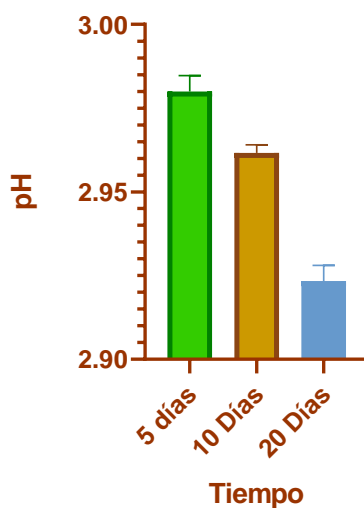
Tiempo	Medias	n	E.E.	
5	2.98	6	0.003	A
10	2.96	6	0.003	B
20	2.92	6	0.003	C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

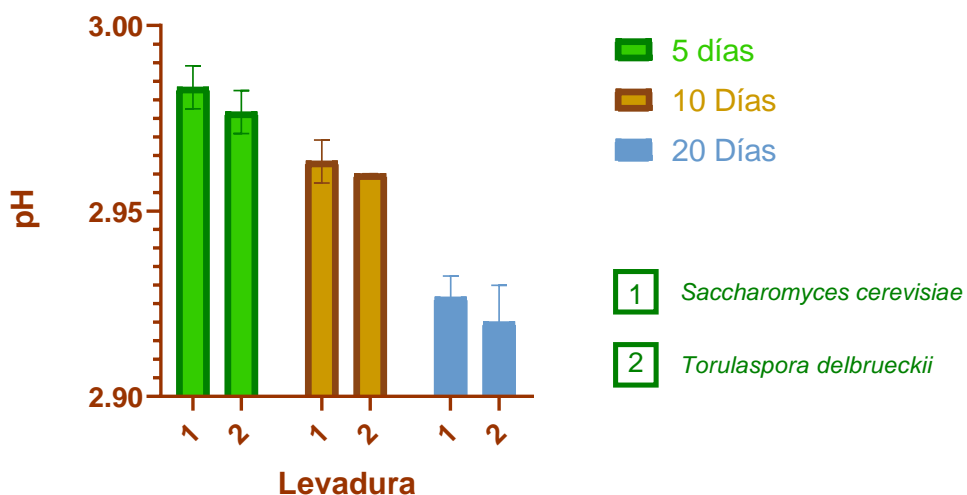
Como se observa en la Figura 8 los valores de media de la variable de respuesta pH, por cada tiempo evaluado, van disminuyendo con el paso de los días, llegando a estar al día 5 en un valor de 2.98, su valor máximo, y terminando el proceso de fermentación en un pH de 2.92 como su valor mínimo. Apoyados en la prueba de significancia Tukey como se establece en la Tabla 16, podemos verificar con las letras que se generan en el test, que las medias de pH de cada día son significativamente diferentes entre ellas.

Figura 8.

Media de la variable de respuesta pH por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación.

**Figura 9.**

Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta pH por cada factor tiempo evaluado.



Como se ve en la Figura 9 existe una leve variación del valor de pH en relación con la aplicación de cada levadura, aunque a nivel estadístico se demuestra que no tiene diferencia significativa la elección de cualquier especie para el proceso de fermentación.

Análisis grados Brix

Con la ayuda de un refractómetro, se evaluó los °Bx de los días 5, 10 y 20 que duró el proceso de fermentación. Se recogió de cada muestra 5 ml, los cuales se filtraron antes de la evaluación. Previo a la medición, se calibró el refractómetro con agua destilada y se agregaron 5 gotas por cada medición.

Tabla 17.

Mediciones de la variable de respuesta °Bx por aplicación de dos especies de levadura en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días.

Tratamientos	Tiempo (d)	Levaduras	Repeticiones		
			1	2	3
T1	5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14.6	14.6	14.9
T2	10		12.5	12.3	12.1
T3	20		8.2	8.0	8.4
T4	5	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	16.1	16.2	16.2
T5	10		13.0	12.8	13.0
T6	20		9.2	9.3	9.0

Tabla 18.

Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (Tiempo) y su interacción.

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Total	143.46	17			
Factor A	4.70	1	4.70E+00	156.67	<0.0001
Factor B	137.93	2	68.97	2,299.00	<0.0001
AxB	0.53	2	0.26	8.67	0.005
Error	0.60	12	0.05		

Nota: Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Al realizar el análisis de varianzas por cada tratamiento y la interacción entre estos, observamos que presentan una diferencia significativa ($p > 0,05$) el factor B (Tiempo) y el factor A (Levadura), por lo cual se realiza un test Tukey de significancia para evaluar los promedios de la variable de respuesta con respecto a estos factores.

Tabla 19.

Resultados del test Tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de grados Brix en la fermentación del borojó.

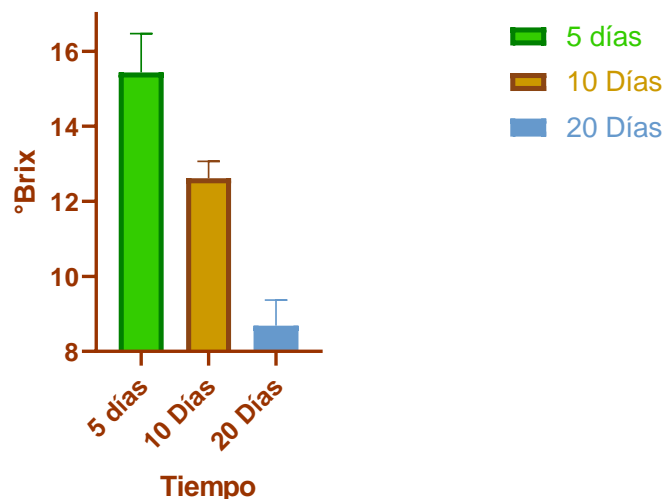
Tiempo	Medias	n	E.E.	
5	15.43	6	0.06	A
10	12.62	6	0.06	B
20	8.68	6	0.06	C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Como se observa en la Figura 10 los valores de media de la variable de respuesta grados Brix, por cada tiempo evaluado, van disminuyendo con el paso de los días, llegando a estar al día 5 en un valor de 15.43°Bx, su valor máximo, y terminando el proceso de fermentación en 8.68°Bx como su valor mínimo. Apoyados en la prueba de significancia Tukey como se establece en la Tabla 19, podemos verificar con las letras que se generan en el test, que las medias de °Bx de cada día son significativamente diferentes entre ellas.

Figura 10.

Media de la variable de respuesta °Bx por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación.



Se realizó el análisis de Tukey para el factor A (Levadura) como se observa en la Tabla 20. En esta se ve la media de la variable respuesta grados Brix en relación a la levadura, por lo que se ve que en el caso de la aplicación de la levadura *Saccharomyces* existe una menor cantidad de °Bx en comparación a la otra especie.

Tabla 20.

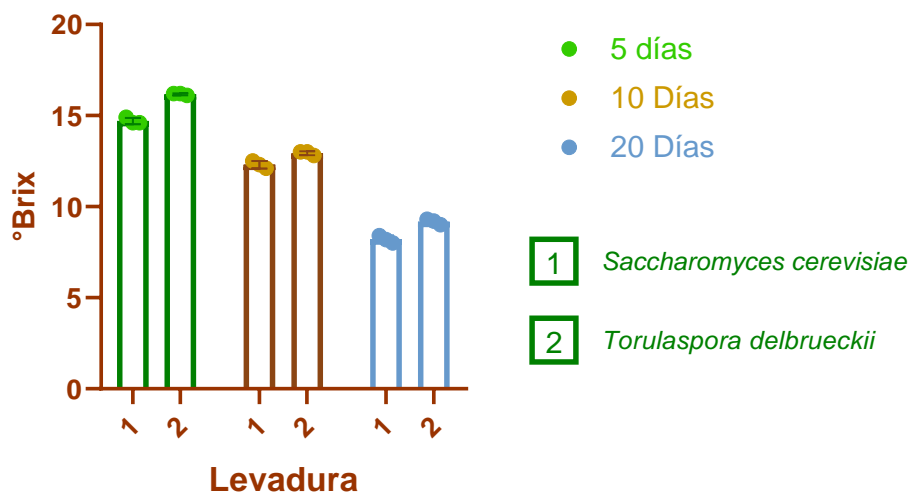
Resultados del test Tukey para el factor A (Levadura) del análisis de grados Brix en la fermentación del borjón.

Levadura	Medias	n	E.E.	
No- <i>Saccharomyces</i>	12.76	9	0.05	A
<i>Saccharomyces</i>	11.73	9	0.05	B

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 11.

Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta °Bx por cada factor de tiempo evaluado.



Análisis de porcentaje de alcohol

A partir de los grados Brix, se puede obtener la Gravedad (Densidad) inicial de mosto y con esto se puede calcular junto con las mediciones de cada día, los grados de alcohol que se generan a través de la siguiente fórmula:

$$(G_o - G_f) * 105 * 1,25 = \%APV$$

Donde:

- G_o : Gravedad (Densidad) inicial del mosto.
- G_f : Gravedad (Densidad) final.
- $\%APV$: Porcentaje de alcohol por volumen.

Tabla 21.

Mediciones de la variable de respuesta % de Alcohol por la aplicación de cada especie de levadura analizada en el proceso de fermentación en los 5, 10 y 20 días.

Tratamientos	Tiempo (d)	Levaduras	Repeticiones		
			1	2	3
T1	5	Saccharomyces cerevisiae	1.47	1.59	1.48
T2	10		2.59	2.81	3.05
T3	20		4.99	5.21	5.12
T4	5	Torulaspora delbrueckii	0.68	0.56	0.68
T5	10		2.48	2.47	2.48
T6	20		4.57	4.33	4.67

Tabla 22.

Resultado de los análisis de varianza del factor A (Levadura), factor B (Tiempo) y su interacción.

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Total	44.27	17			
Factor A	1.60	1	1.60E+00	80.00	<0.0001
Factor B	42.24	2	21.12	1,056.00	<0.0001
AxB	0.21	2	0.11	5.50	0.020
Error	0.21	12	0.02		

Nota: Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

Al realizar el análisis de varianzas por cada tratamiento y la interacción entre estos, observamos que presentan una diferencia significativa ($p > 0,05$) el factor B (Tiempo) y el factor A (Levadura), por lo cual se realiza un test Tukey de significancia para evaluar los promedios de la variable de respuesta con respecto a estos factores.

Tabla 23.

Resultados del test Tukey para el factor B (Tiempo) del análisis de porcentaje de alcohol en la fermentación del borjón.

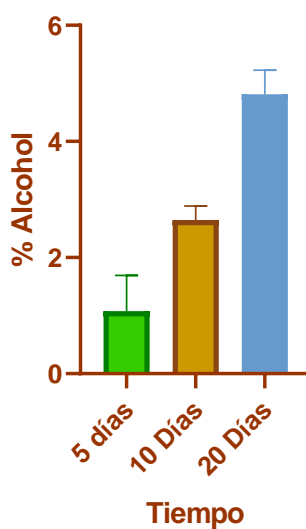
Tiempo	Medias	n	E.E.	
5	1.08	6	0.05	C
10	2.64	6	0.05	B
20	4.81	6	0.05	A

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Como se observa en la Figura 12 los valores de media de la variable de respuesta porcentaje de alcohol, por cada tiempo evaluado, van aumentando con el paso de los días, llegando a estar al día 5 en un valor de 1.08%, su valor mínimo, y terminando el proceso de fermentación en 4.81% como su valor máximo. Apoyados en la prueba de significancia Tukey como se establece en la Tabla 23, podemos verificar con las letras que se generan en el test, que las medias de %Alcohol de cada día son significativamente diferentes entre ellas.

Figura 12.

Media de la variable de respuesta %Alcohol por cada factor de tiempo en el proceso de fermentación.



Se realizó el análisis de Tukey para el factor A (Levadura) como se observa en la Tabla 24. En esta se ve la media de la variable respuesta, porcentaje de alcohol, en relación a la levadura, por lo que se ve que en el caso de la aplicación de la levadura *Saccharomyces* existe una mayor cantidad de %Alcohol en comparación a la otra especie.

Tabla 24.

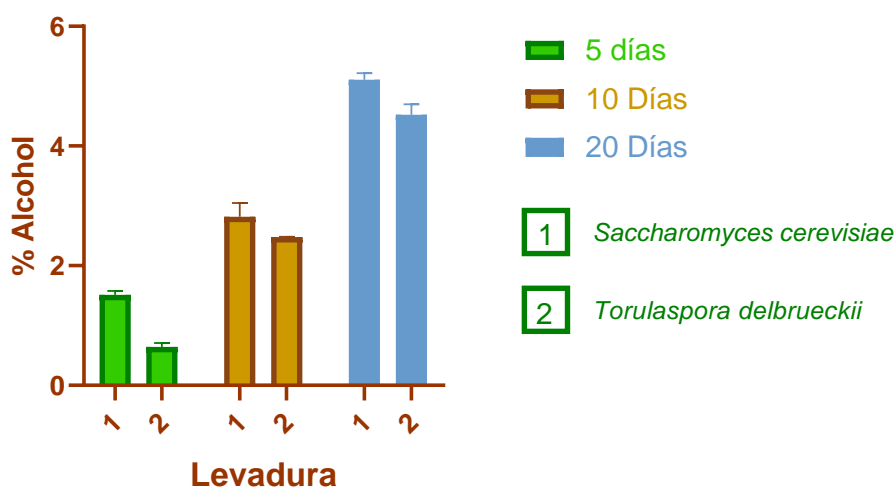
Resultados del test Tukey para el factor A (Levadura) del análisis de %Alcohol en la fermentación del borojó.

Levadura	Medias	n	E.E.	
No- <i>Saccharomyces</i>	2.55	9	0.04	B
<i>Saccharomyces</i>	3.14	9	0.04	A

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 13.

Comparación de la aplicación de cada levadura en el proceso de fermentación en relación a la variable de respuesta %Alcohol por cada factor de tiempo evaluado.



Análisis organoléptico

Se realizó una encuesta a 30 personas para conocer su percepción del producto tomando como parámetros el color, sabor y aroma como se muestra en la tabla 11. Para cada degustación se tenía un vaso de agua que se proporcionaba a cada participante para tomar después de cada degustación, así al final se consultó cuál de los 2 productos prefería. Los parámetros se observan en la siguiente tabla:

Tabla 25.

Descripción de los parámetros organolépticos a evaluar en la de degustación del vino de Borojó.

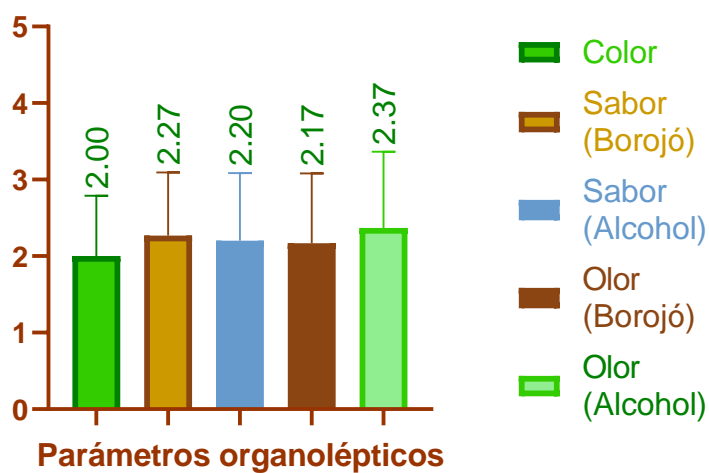
PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	VALORACIÓN	ESPECIFICACIÓN
COLOR		1	Transparente
		2	Leve coloración café
		3	Color café fuerte
		4	Color café intenso
SABOR	Borojó	1	Leve sabor a borojó
		2	Sabor a borojó
		3	Sabor a borojó fuerte
		4	Sabor a borojó intenso
	Alcohol	1	Leve sabor a alcohol
		2	Sabor a alcohol
		3	Sabor a alcohol fuerte
		4	Sabor a alcohol intenso
OLOR	Borojó	1	Leve olor a borojó
		2	Olor a borojó
		3	Olor a borojó fuerte

Alcohol	4	Olor a borojó intenso
	1	Leve olor a alcohol
	2	Olor a alcohol
	3	Olor a alcohol fuerte
	4	Olor a alcohol intenso

Se realizó esta encuesta con los vinos obtenidos a partir de la fermentación con las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulasporea delbrueckii*.

Figura 14.

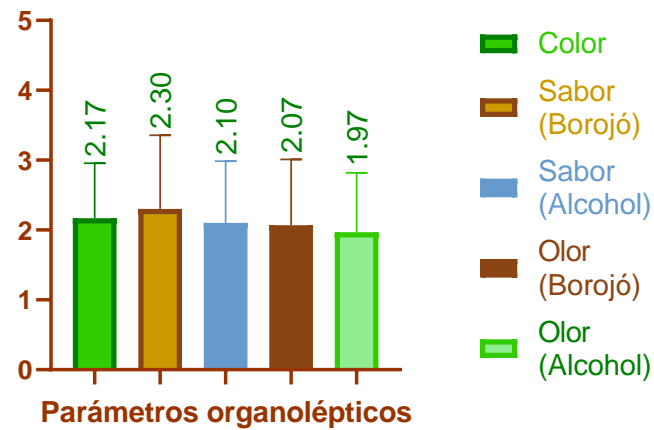
Promedio de resultados en el análisis organoléptico del vino de borojó obtenido de la fermentación con la especie *Saccharomyces cerevisiae*.



Como se observa en la Figura 14, el valor más intenso ha sido el olor a alcohol del vino, mientras que el más leve es el color, llegando a tener una leve coloración café.

Figura 15.

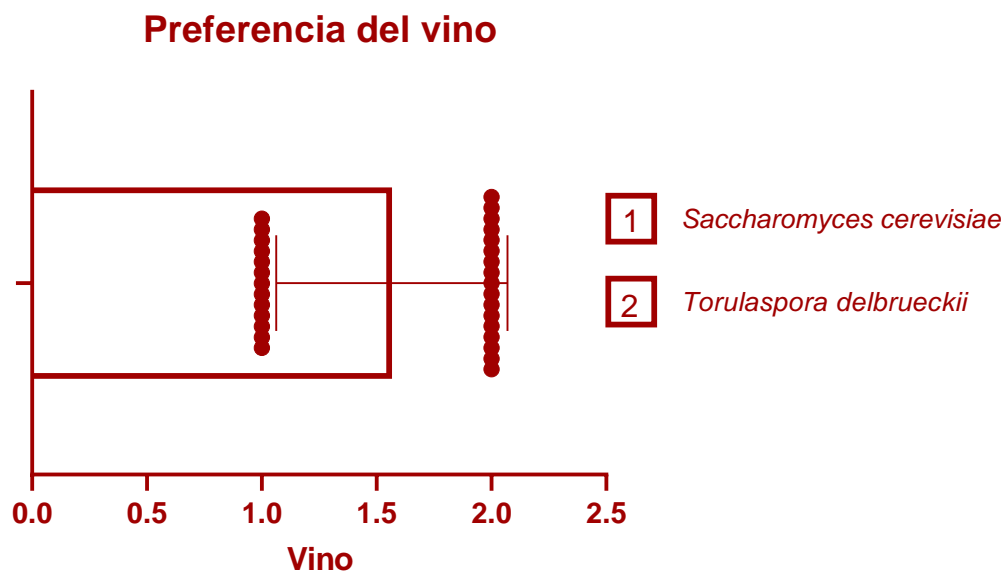
Promedio de resultados en el análisis organoléptico del vino de borjón obtenido de la fermentación con la especie *Torulaspóra delbrueckii*.



En la Figura 15 en cambio se observa que, aunque hay un aumento en la coloración y sabor a borjón leves, existe una disminución en la percepción del olor tanto en el caso del borjón como del alcohol. Es significativo que el valor más alto en este análisis del vino obtenido de la fermentación con una levadura *Torulaspóra delbrueckii* sea el sabor a borjón.

Figura 16.

Preferencia de las personas encuestadas entre los dos vinos.



Como se observa en la Figura 16, entre el vino obtenido aplicando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso de fermentación y el obtenido con la especie *Torulaspota delbrueckii* existe una leve preferencia por el segundo.

Diseño del bioproceso

A partir de los resultados obtenidos de la preparación de vino de borjón y el análisis físico-químico de su proceso, se definió algunas condiciones y cantidades iniciales antes del diseño del bioproceso. La elaboración del vino permitió, como se ve en la Figura 5, preparar un diagrama con el cual se desarrollaron los pasos y materiales necesarios para establecer una producción industrial.

Tabla 26.

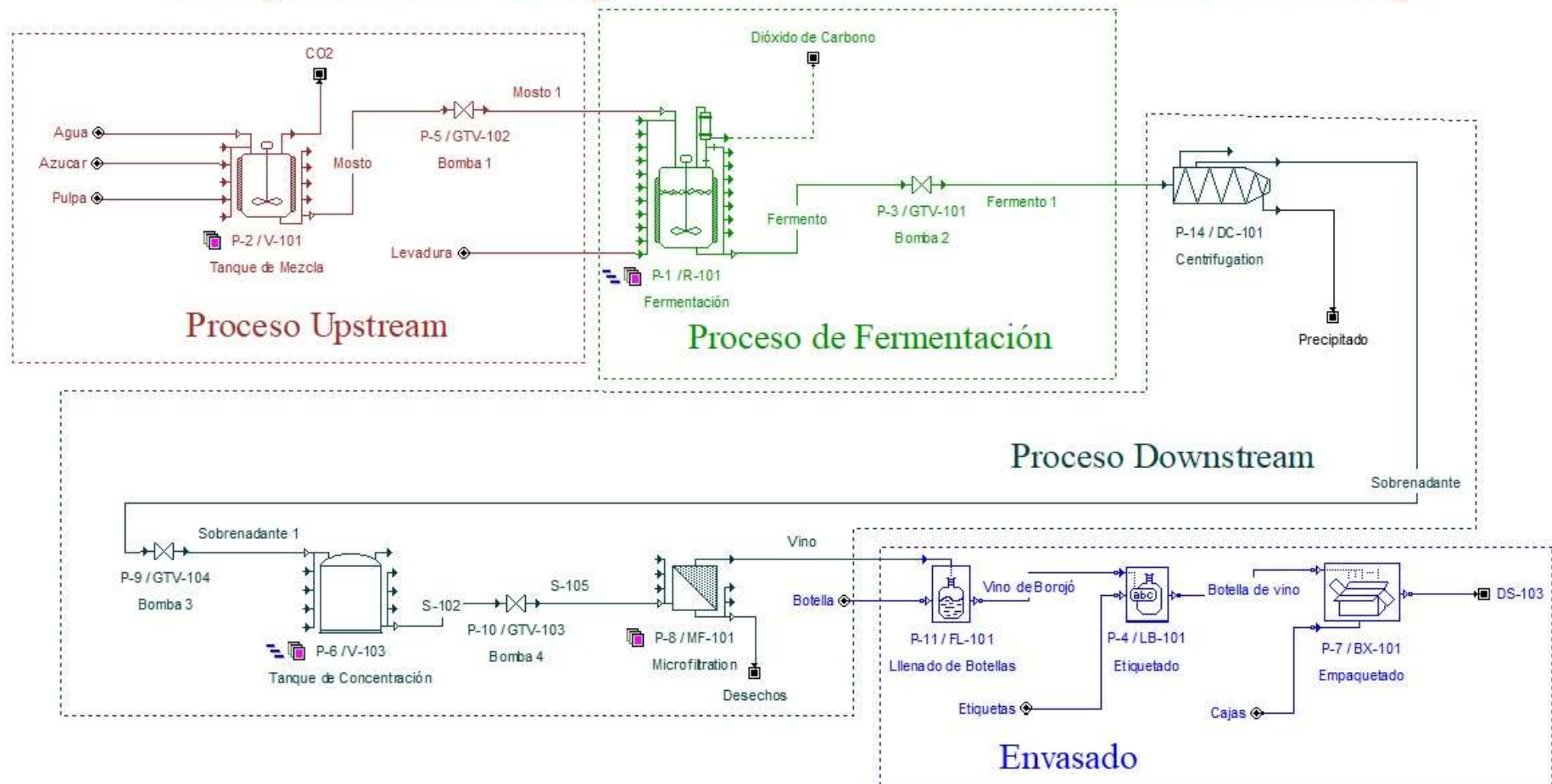
Condiciones iniciales del bioproceso para la producción de vino de borjón.

Parámetro	Condiciones en el bioproceso
<i>Azúcar</i>	3954.84 Kg
<i>Agua</i>	18000 L
<i>Pulpa de borjón</i>	2319.36 Kg
<i>Levadura</i>	63.27 Kg
<i>Tiempo de inoculación</i>	2 días
<i>Tiempo de fermentación</i>	20 días

Figura 17.

Bioproceso para la producción industrial de vino de Borojó (*Borojoa patinoi*).

Bioproceso de producción de vino de borojó



Como se observa en la Figura 17, el bioproceso cuenta principalmente con 3 secciones. La parte Upstream es donde se prepara el mosto, aquí se lo calienta y se mezcla junto con el agua y azúcar, esto es para prevenir el crecimiento de otros microorganismos que afecten nuestro vino. La sección fundamental en nuestro diseño es el proceso de fermentación, aquí vamos a agregar la levadura y en un periodo de 2 días se va a dar el inóculo de la misma en el mosto previamente preparado. La fermentación se da en condiciones normales y va a durar alrededor de 20 días. En el proceso downstream buscamos desechar toda la materia orgánica y solo obtener el vino, por lo que es necesario varios pasos para que este tenga las condiciones adecuadas para su distribución. Como proceso final tenemos una parte de envasado, donde vamos a colocar nuestro vino en botellas de 500 mL, vamos a etiquetarlos y empaquetarlos.

El programa SuperPro Designer nos permite varias herramientas para el diseño ya que no está condicionado a estos procesos, sino tiene varios elementos que nos permiten no solo escoger las condiciones en las que se da nuestro proceso, sino cual es el equipo adecuado para lo que deseamos conseguir.

Evaluación económica de la implementación del bioproceso.

SuperPro Designer es un programa que nos brinda diversas herramientas para nuestros procesos, sin embargo, otro de sus grandes beneficios es la evaluación económica que se puede realizar a nuestro diseño. Esto nos permite evaluar la rentabilidad de nuestra propuesta y a su vez encontrar soluciones.

Varios de los parámetros están pre-establecidos y se tiene el costo internacional de varios recursos, sin embargo, podemos cambiar los datos que consideremos necesarios, a continuación, vamos a desglosar los datos que el programa nos brinda.

Análisis de producción de vino

Tabla 27.

Producción de vino de borojó (Borojoa patinoi) (SuperPro Designer).

Producto	Producción
Vino	19431.502 kg/Lote
Botella de Vino	26590.39 Unidades/Lote

Como se puede observar en la Tabla 27, se puede obtener 19431.502 Kg de vino por lote de fermentación bajo las condiciones planteadas en la Tabla 26, y se supuso para la venta que se entregaría este producto en botellas de 750 mL, por lo que la producción de nuestro bioproceso, por lote, puede generar hasta 26590 botellas de vino de Borojó. SuperPro Designer también nos da otros datos a considerar, como el costo de producción de 13.46\$ por botella de vino. Al observar los datos de la elaboración de vino con cada especie de levadura previamente estudiada, podemos definir que no existe variación en el proceso de fermentación para la producción de vino de borojó, su mayor diferencia es el costo que posee cada levadura en su presentación comercial.

Para estudiar la implementación del bioproceso que se diseñó, se definió y se clasificó entre los costos fijos que tenemos, los que son tanto directos e indirectos. Y gracias al software también podemos obtener la inversión total del proceso.

Costo Fijo Directo. Los costos fijo directos tienen varios parámetros que podemos analizar, entre estos están los equipos que seleccionamos para el proceso que se va a desarrollar, la mano de obra para su manejo, el coste de construcción y el mantenimiento que podría requerir.

Costo Fijo Indirecto. Para el coste fijo indirecto que tendrá la implementación de este proceso, debemos considerar la planificación del mismo, los impuestos, la mano de obra para su construcción, el costo en relación a procesos legales para obtener los permisos necesarios

de funcionamiento, entre otros. Para esto, podemos estipular un 2% en relación al costo de los equipos que designamos para nuestro proceso, mientras que con relación a la mano de obra para llevar a cabo la construcción del bioproceso, lo estipulamos en un 4%. También se debe considerar un gasto en caso de imprevistos o cualquier clase de desastre natural, por lo que aquí podemos estimarlo en un 10%. En lo que se refiere a la supervisión, soporte y la parte de ingeniería que se llevará a cabo para el mantenimiento de este proceso, lo podemos asumir como el 30% de costo de los equipos que se piensan adquirir (Carvajal & Rodríguez, 2017).

Inversión Total. En este caso para obtener la inversión total se debe sumar lo que son tanto los costos fijos directos y los costos fijos indirectos.

Tabla 28.

Costos Fijos en la implementación del bioproceso para la producción de vino de borjón.

Sección	Operación	Especificaciones	Cantidad	Precio unitario (\$)	Precio total (\$)
Proceso Upstream	Tanque de mezcla	- Acero inoxidable - 13129.75 L de capacidad	2	354,000	708,000
	Válvula de compuerta	1.66 cm de diámetro de válvula	1	1,000	1,000
Fermentación	Fermentador	- Acero inoxidable - 14796.17 L de capacidad	4	998,000	5,988,000
	Válvula de compuerta	1.66 cm de diámetro de válvula	1	1,000	1,000

	Centrífuga decantadora	5654,99 L/h de rendimiento	1	351,000	351,000
Proceso	Válvula de compuerta	1.66 cm de diámetro de válvula	1	1,000	1,000
Downstream	Tanque de fondo plano	- Acero inoxidable - 11542.53 L de capacidad	4	42,000	252,000
	Válvula de compuerta	1.66 cm de diámetro de válvula	1	1,000	1,000
	Microfiltro	83.06 m ² de membrana de área	3	184,000	552,000
Otros procesos					1,963,000
Total					9,816,000

Como ya se mencionó el programa brinda un análisis exhaustivo del proceso de producción, con lo cual nos ayuda detallando todos los tipos de costos que se explicó previamente, los cuales se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 29.

Estimación del capital fijo de la implementación del bioproceso para la producción de vino de borjón.

Costo directo total de la planta (TPDC)

Especificación	Precios en 2021 (\$)
Costo de compra de los equipos	9,816,000
Instalación	3,569,000
Tubería del proceso	3,436,000

<i>Instrumentación</i>	3,927,000
<i>Aislamiento</i>	294,000
<i>Electricidad</i>	982,000
<i>Construcción</i>	4,417,000
<i>Mejoras</i>	1,472,000
<i>Instalaciones auxiliares</i>	3,927,000
Total	31,840,000
Costo indirecto total de la planta (TPIC)	
<i>Ingeniería</i>	7,960,000
<i>Construcción</i>	11,144,000
Total	19,104,000
Costo total de la planta (TPC = TPDC+TPIC)	
TPC	50,944,000
Tarifa del contratista y contingencia (CFC)	
<i>Honorario de contratista</i>	2,547,000
<i>Contingencia</i>	5,094,000
Total	7,642,000
Costo Directo de Capital Fijo (DFC = TPC+CFC)	
DFC	58,585,000

Otro de los parámetros que nos desglosa el programa es el coste laboral, este parámetro lo podemos definir en nuestro diseño, específicamente en cada proceso que realizamos. Aquí especificamos el tiempo que tomara al operador cada etapa a realizar en los equipos, en varios casos el tiempo es mínimo ya que son procesos automáticos donde solo debe existir alguien que controle.

El programa nos desglosa que, en el bioproceso, el costo unitario de personal será 69.00\$/h también nos define que el trabajo lo tendrá que realizar alrededor de 50 horas, ya

que muchos procesos como la fermentación son solo de monitoreo. En total el costo anual que nos supondrá el manejo del proceso, por personal, es de 3,418\$.

Tabla 30.

Costo de materiales en la producción de vino de Borojó (Borojoa patinoi).

Material a granel	Costo por unidad (\$)	Cantidad anual	Costo anual (\$)
Levadura	0.37	2,467,530 g	912,986
Agua	0.001	1,408,797 kg	1,014.33
Azúcar	1.00	154,239 kg	154,239
Pulpa de Borojó	3.50	90,455 kg	316,593
Material discreto	Costo por unidad (\$/Unidad)	Cantidad anual (Unidad)	Costo anual (\$)
Botellas de Vino	1.000	1,037,025	1,037,025
Etiquetas	0.02	1,037,025	20,741
Cajas	0.005	1,037,025	5,185
Total			2,447,783

Como se puede observar en la Tabla 30 el programa también nos muestra lo que va a ser el costo de la materia prima que utilizamos en el bioproceso. Se obtiene tanto la cantidad que se va a necesitar por año y con esto podemos obtener el costo anual por material y al final sacar el cálculo del costo por materia prima por año para la producción de vino de borojó.

Personal. También es conocida como mano de obra y se hace referencia al personal no solo para operar la producción sino también para lo que concierne a su cuidado, mantenimiento y a los que dirigen la producción de la planta diseñada.

Tabla 31.

Personal encargado para la producción de vino de borjón y resumen de salarios apercibidos.

CARGO	PERFIL	N° PERSONAS	SUELDO NETO (\$)	SUELDO TOTAL (\$)
<i>JEFE DE PRODUCCIÓN</i>	Ingeniero en Biotecnología, Ing. Químico o afines	1	1200	1200
<i>OPERARIO</i>	Ingeniero en Biotecnología, Ing. Químico o afines	1	700	700
<i>SUPERVISOR DE CALIDAD</i>	Ingeniero en Biotecnología, Ing. Químico o afines	1	700	700
<i>ÁREA DE ASEO</i>	-	1	425	425
<i>DEPARTAMENTO ECONÓMICO</i>	Licenciado en economía	2	800	1,600
<i>MANTENIMIENTO</i>	Ing. Industrial o afines	2	800	1,600
	Total			6,225

Es importante el definir el personal necesario para llevar acabo la producción, ya que nos permite proyectar y designar las responsabilidades que consideramos necesarias abarcar. Los salarios van acorde al nivel de responsabilidades y con respecto a la situación del país.

Con todo lo expuesto antes, podemos comparar cuanto sería el coste de producción del vino, con respecto a la especie de levadura seleccionada para el proceso, ya que como se observó de manera práctica, el proceso de fermentación no tiene variación alguna, y por lo que al diseñar el bioproceso no se tuvo necesidad alguna de modificar el procedimiento de elaboración del vino. Mas lo único que varía es con respecto al costo de la levadura, para

este caso usamos como referencia las versiones comerciales de las levaduras seleccionadas para la elaboración del vino.

Tabla 32.

*Comparación de los costos de operación anuales para la producción de vino de borjón, utilizando una levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii*.*

<i>Item</i>	Costo anual (\$) (<i>Torulaspota</i> <i>delbrueckii</i>)	Costo anual (\$) (<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>)
<i>Materia Prima</i>	2,078,000	2,448,000
<i>Personal de operación</i>	3,000	3,000
<i>Instalación</i>	11,038,000	11,038,000
<i>Consumibles</i>	17,000	17,000
<i>Tratamiento/Disposición</i> <i>de Residuos</i>	478,000	478,000
<i>Utilidades</i>	17,000	17,000
TOTAL	13,631,000	14,001,000

En la Tabla 32 se observa como el aspecto económico más costoso para la producción de vino de borjón, es la instalación del equipo, llegando a ser más del 80% del costo del proyecto. Y al comparar el proceso utilizando la especie *Saccharomyces cerevisiae* con *Torulaspota delbrueckii*, se muestra un aumento del gasto al utilizar la primera.

Evaluación de impacto ambiental

Con el programa SuperPro Designer también se puede observar los desechos que genera nuestro proceso. Al no tener compuestos químicos no es necesario un tratamiento exhaustivo de los mismos, pero sin embargo al utilizar levadura, tenemos que procurar que todos nuestros desechos sean esterilizados.

Tabla 33.

Residuos generados en el proceso industrial de producción de vino de Borojó (Borojoa patinoi).

<i>Residuo</i>	<i>kg/Unidad</i>	<i>kg/Lote</i>	<i>kg/Año</i>
Residuos líquidos			
<i>Alcohol etílico</i>	0.003	69.205	2,699
<i>Agua</i>	0.020	531.769	20,739
Total	0.023	600.974	23,438
Residuos orgánicos			
<i>Agua</i>	0.242	6,432.893	250,883
Total	0.242	6,432.893	250,883
Residuos sólidos			
<i>Pulpa de Borojó</i>	0.060	1,577.165	61,508
<i>Azúcar</i>	0.005	140.911	5,496
<i>Alcohol etílico</i>	0.001	23.301	909
<i>Agua</i>	0.007	179.047	6,983
<i>Levadura</i>	0.002	63.270	2,468
Total	0.075	1,983.694	77,364
Emisiones			
<i>Dióxido de carbono</i>	0.083	2,213.517	86,327
<i>Nitrógeno</i>	0.002	48.233	1,881
<i>Oxígeno</i>	0.001	14.643	571
Total	0.086	2,276.394	88,779

Como se observa la mayoría de desechos son orgánicos, lo cual facilita su manejo sin embargo al usar levaduras es importante su esterilización previa. En el caso de emisiones

igual no existiría inconveniente ya que el gas que en mayor cantidad se desprende del proceso es el dióxido de carbono, igual sin ser en cantidades que se puedan considerar de riesgo o que provoquen un impacto importante en el medio ambiente.

Análisis de la rentabilidad del bioproceso.

Al final el programa nos desglosa un resumen de la rentabilidad que tiene el proceso que diseñamos, este apartado es importante para establecer los costos de nuestro producto. También buscar los recortes o la manera de que nuestro proyecto sea viable, para esto hay varios parámetros a analizar y tomar en cuenta. Entre estos parámetros encontramos la ganancia bruta al año, el beneficio neto y el flujo efectivo, sin embargo, de los más importantes es el ROI. El retorno de inversión (ROI) es la relación entre los beneficios generados y la inversión realizada, este factor mide la efectividad que puede tener la empresa para llegar a generar beneficios con el capital que se va a invertir.

Tabla 34.

Análisis de rentabilidad del bioproceso industrial de producción de vino de Borojó (Borojoa patinoi).

Especificación	
<i>Capital Fijo Directo</i>	58,585,000 \$
<i>Capital de trabajo</i>	272,000 \$
<i>Costo de inicio</i>	2,929,000 \$
<i>Up-Front R&D</i>	0 \$
<i>Regalías por adelantado</i>	0 \$
<i>Inversión Total</i>	61,786,000 \$
<i>Inversión en Este Proyecto</i>	61,786,000 \$
Tasas de ingresos/ahorros	
<i>Ingresos principales</i>	1,037,025 Unidades/año
Precio de ingresos/ahorros	

<i>Ingresos principales</i>	21.00 \$/Unidades
Ingresos/Ahorros	
<i>Ingresos principales</i>	21,777,532 \$/año
<i>Ingresos Totales</i>	21,777,532 \$/año
<i>Ahorros totales</i>	0 \$/año
Costo operativo anual (COA)	
<i>COA real</i>	14,001,000 \$/año
<i>COA neto</i>	14,001,000 \$/año
Costo de producción unitario/Ingresos	
<i>Costo Unitario de Producción</i>	13.50 \$/Unidad
<i>Costo Unitario Neto de Producción</i>	13.50 \$/Unidad
<i>Unidad Producción Ingresos</i>	21.00 \$/Unidad
<i>Utilidad Bruta</i>	7,777,000 \$/año
<i>Impuestos</i>	3,111,000 \$/año
<i>Utilidad Neta</i>	10,232,000 \$/año
<i>Margen Bruto</i>	35.71 %
<i>Retorno de la inversión</i>	16.56 %
<i>Tiempo de recuperación</i>	6.04 años

Capítulo 5

Discusión

Para la preparación del vino de borjój se utilizaron frascos de 2 mL de vidrio, a pesar de que el material predilecto para este proceso es el acero inoxidable, este material es menos costoso y posee gran cantidad de las principales propiedades del acero, siendo una de sus desventajas que no posee su capacidad conductora del calor (Singh et al., 2011). Es importante que el frasco que utilicemos para la fermentación, no se encuentre lleno por completo, sino que tenga cierto espacio libre, ya que el oxígeno inicial que se encuentre

disponible en el proceso, ayuda al inicio de la fermentación para que las levaduras, realicen metabolismo oxidativo, y proliferen activamente (Regodón, 1997). Se utilizó como mosto, el cual es comúnmente el jugo obtenido por algún método físico como el estrujado o prensado (Lema, 2010), la pulpa de borjón para este proceso. Se debe controlar las condiciones iniciales, ya que es más sencillo realizar algún cambio o control, previo a la fermentación. Uno de los principales parámetros a tomar en cuenta es las condiciones ambientales, ya que la fermentación se realiza a temperaturas entre 15 a 25°C, condiciones menores a estas retardan el proceso fermentativo o llegan a inhibirlo (Regodón, 1997), en el caso de nuestro proceso, se lo realizó en un espacio donde la luz no le daba de manera directa, la temperatura era en promedio de 20°C y tenía 67% de humedad.

Antes de poner la mezcla en el frasco para la fermentación, se calentó por 10 min la pulpa de borjón, junto al agua y al azúcar, esto con la finalidad de evitar el crecimiento de otros microorganismos que puedan perjudicar la fermentación (Guerra, 2014). La mezcla se la vertió en el recipiente, que debe ser cerrado herméticamente, ya que al tener un ambiente aeróbico, las levaduras no consumen el azúcar por fermentación, en cambio utilizan la vía oxidativa (Lema, 2010). Al pasar aproximadamente 2 horas, la temperatura se encontró entre 25 a 30°C, se tomó una muestra de 100 mL para analizar otros parámetros posteriormente y se procedió a colocar la levadura, ya que estas a pesar de que su crecimiento se da entre temperaturas de 5 a 37°C, su nivel óptimo se da en el rango de 25 a 30°C (Velásquez, 2018). Con la muestra que se separó se esperó que llegara a una temperatura de 20°C para medir lo que va a ser el pH inicial y los grados Brix. Se midió un pH de 3.2 en la misma, cuando se encuentra entre el rango de 2.9 a 4.2, la fermentación se realiza sin ningún inconveniente (Velásquez, 2018) sin embargo a valores entre 2.8 a 3.2 se evita el crecimiento de bacterias en nuestro proceso de fermentación (Lema, 2010). En el caso de los grados Brix, miden la sacarosa que está disuelta en una solución, esto favorece a poder determinar los grados de alcohol probables que obtendremos de la fermentación (Lema, 2010). En las muestras se midió un promedio de 17.27°Bx, esto nos da una concentración de azúcar aproximada de

164.9 g/L y 9,80 % de alcohol probable que obtendremos de la fermentación, los valores recomendables se encuentran entre 20 a 22°Bx para obtener entre 12 a 14% de alcohol (Coronel, 2008) aunque también hay que tener en cuenta que el mosto al tener una cantidad menor de 170 g/L de concentración de azúcar, su velocidad de fermentación es normal y en general dura menos el proceso (Regodón, 1997).

Se puso un parámetro de observación de alrededor de 20 días para el proceso de fermentación, donde se evaluó el pH, grados Brix y el porcentaje de alcohol. Teniendo en cuenta, que el ciclo de las levaduras es semejante a la hora de observar la curva de crecimiento con el de los microorganismos en general, se ve 4 fases detalladas, la fase de latencia, inicial, exponencial, y el declive (Regodón, 1997), con respecto a esto se realizó las mediciones en los frascos de fermentación, en los días 5, 10 y 20. Al analizar los resultados que se obtuvieron alrededor de este proceso, se demuestra que en el caso de del pH, fue disminuyendo hasta llegar a un valor promedio de 2.92. Se utilizaron las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspora delbrueckii* en la fermentación del vino de borjón y, tanto los grados Brix como el porcentaje de alcohol, tuvo una variación significativa con el transcurso de los días, pero en relación a estas especies, *Saccharomyces c.* tuvo una mayor disminución de grados Brix y a su vez un mayor porcentaje de alcohol, llegando a 5.11% de alcohol promedio a comparación de la otra levadura que obtuvo un 4.52% de promedio. Una de las razones es que las especies no-*Saccharomyces* tienen un poder fermentativo menor y a su vez tienen una menor resistencia a elevadas concentraciones de alcohol (Benito et al., 2019), por eso participan únicamente en la parte inicial del proceso de fermentación, mientras que *Saccharomyces cerevisiae* es directamente la principal responsable de la fermentación (Lema, 2010).

Acabado el proceso de fermentación, se realizó el trasiego de las muestras, para eliminar la materia orgánica, se colocó en frascos ámbar y se mantuvo en refrigeración por 7 días, esto con la finalidad de sedimentar y ayudar a bajar la turbidez del producto final (Mora, 2017), por último se procedió a una filtración antes de colocar el producto en el envase final,

para eliminar los sólidos solubles o restos de levadura que se hubieran mantenido. Se realizó una encuesta para conocer la percepción del producto entre 30 personas, analizando los factores organolépticos como olor, sabor y color, al final se pidió que se señalara el producto que preferían entre el obtenido con la especie *Saccharomyces cerevisiae* o la levadura *Torulaspota delbrueckii*. En ambas encuestas, la percepción de todos los factores estuvo entre 2 a 2,5 pero se observa que la mayor diferencia existía en relación al olor a alcohol, que era mayor con los vinos obtenidos con *S. cerevisiae*, mientras que, con los obtenidos con la otra especie, era menor este factor, pero a su vez la gente sintió más intenso el sabor a borjón. Al final existió una mayoría que prefería el vino obtenido por la levadura *Torulaspota delbrueckii* esto se debe a que a pesar de su menor capacidad fermentativa, mejora la calidad del vino, sobre todo en las sensaciones de olor y sabor (Ramírez & Velázquez, 2018).

Para el diseño del bioproceso se basó en el procedimiento industrial de producción de vino, y también en el proceso de fermentación que se efectuó previamente. Para esto, se determinó una fase de mezcla para lo que es la preparación del mosto, en este punto se agrega la pulpa, el agua y el azúcar mientras se los calienta, también se pueden agregar otros aditivos en esta fase para ayudar tanto al proceso de fermentación, como para dar una mayor calidad al producto final (Claus & Mojsov, 2018). Al momento de pasar la mezcla al biorreactor, se aplicó a su vez la levadura, y se mantuvo dos días a temperaturas de 30°C para promover su proliferación (Velásquez, 2018), después se fue disminuyendo hasta llegar a 25°C para mantener el proceso en un promedio de 20 días. Para el recipiente de fermentación se puede utilizar cualquiera que no sea poroso o no tenga ninguna especie de toxicidad, ya que esto afecta al proceso. El material predilecto que se utiliza en estos procedimientos con microorganismos, es el acero inoxidable, igual hay que tener en cuenta que la mayoría de diseños de fermentadores son simples, sin embargo las modificaciones llegan a partir del aumento de volumen del proceso (Singh et al., 2011). Acabado el proceso de fermentación se pasa a un proceso de decantación para eliminar la mayoría de materia orgánica que se utilizó, para después llegar a un proceso de clarificación, que en este caso

se mantuvo en un tanque de almacenamiento a 4°C. Es importante esta etapa para poder eliminar las partículas suspendidas que se mantengan, y controlar la turbidez del vino, para lo cual se llegan también a emplear agentes clarificantes tales como bentonita, gelatina, o hasta clara de huevo, así el producto final tendrá un color llamativo y claro (Coronel, 2008). Después se pasa por un micro filtro de 0,45µm para eliminar cualquiera sólido soluble que se mantenga o resto de levadura (Singh et al., 2011). Las botellas escogidas para el envasado fueron de 750 mL, se coloca la etiqueta del producto y se lo empaqueta.

El programa SuperPro Designer nos desglosa informes de tanto los materiales que se han ocupado para el proceso diseñado, como para la parte económica de su implementación y los desechos producidos, en todos estos casos podemos interpretarlos para optimizar nuestra producción. Al ser la fermentación un proceso largo se utilizó para ser viable económicamente, más de un biorreactor y tanque de mezcla, y a su vez también manejarlos de manera escalonada, para que la producción sea constante. Esto es una opción al ser más barato utilizar más de un reactor, que aumenta el volumen, ya que esto puede condicionar el diseño del proceso (Singh et al., 2011). También podemos observar los costos que tendría nuestro proceso, siendo los principales el Capital Fijo Directo (CFD), Costos de Arranque e Inversión Total (Ferreira et al., 2021). Estos parámetros como el Costo Unitario de Producción que en este caso es 13.50 \$/Unidad nos permiten guiarnos para designar el costo que vamos a dar a nuestro producto final para ver una rentabilidad a nuestro proyecto. Se designa como Unidad de producción de ingresos, al valor del vino, el cual lo situamos en 21.00 \$/Unidad y el programa nos desglosa parámetros para corroborar la viabilidad de este precio con respecto al proyecto. Como se observa en la Tabla 34, el programa nos desglosa el Margen Bruto, el Retorno de la inversión (ROI) y el tiempo de recuperación entre otros parámetros para nuestro proceso. El Margen Bruto es un índice que permite determinar la rentabilidad en el caso de ventas frente al costo de estas, y también la capacidad que se pueda tener en el proyecto para acaparar los gastos operativos mientras aún se generen utilidades (Anaya, 2021). En el caso del proceso diseñado este valor se encuentra al 35.71%, hay que revisar

costos y el precio de la unidad siempre y cuando nos dé negativo, significa que el costo de ventas está siendo mayor a las ventas totales (Anaya, 2021). En el ROI se obtiene un valor de 16.56%, el cual es un valor que nos indica el rendimiento que obtenemos de la inversión de nuestro proyecto (Olivier, 2021), hay que tener en cuenta que este valor no sea negativo ya que significa la pérdida de capital, o cercano a cero, que muestra una inversión deficiente. Por último, tenemos tres valores a analizar, en este caso el tiempo de recuperación se calcula en 6.04 años, sin embargo, dos parámetros que nos ayudan a definir la viabilidad económica son la Tasa Interna de Rendimiento (TIR) y el Valor Presente Neto (VPN), que son 10,23% y 13,338,668 \$ al 7% respectivamente. El VPN es el valor que se tiene presente en los flujos correspondientes a efectivos netos con respecto a una propuesta, menos el flujo de salida inicial de la misma, si el valor de este es mayor o igual a 0, el proyecto es aceptado (Van Horne & Wachowicz, 2010). Otro dato a destacar en el análisis económico, con respecto a los costos, es que la parte de implementación del proceso es el que mayor gasto presenta, lo cual significa que es un proceso que genera productos de un alto valor a una pequeña escala (Ferreira et al., 2021).

Capítulo 6

Conclusiones

Es importante determinar las condiciones iniciales del proceso de fermentación, esto determinara la calidad del proceso y varias características del producto final, siendo los grados Brix y la elección de la levadura como principales factores. Con respecto al pH, en ambos casos el procedimiento se mantiene de forma que las levaduras puedan actuar sin ningún inconveniente, sin embargo en los grados Brix y porcentaje de alcohol, si se nota una diferencia con respecto a la levadura que apliquemos al proceso. En este caso cabe destacar que es importante el tener claro que tipo de vino deseamos obtener, ya que los grados de alcohol no son sinónimo de calidad, y dependiendo el mercado que deseemos abarcar hay varios que priorizan otros aspectos en el vino como el olor y el sabor, al porcentaje de alcohol

que este pueda tener. El vino es una bebida de degustación, depende bastante de la percepción del consumidor. Utilizar levaduras no-*Saccharomyces* trae una oportunidad en un mercado que va creciendo, para un producto que puede tener una gran aceptación al mejorar varias características organolépticas, sin embargo, es un reto su aplicación a nivel industrial al ser una especie que no permite tener un control del producto final. La especie *Torulaspora delbrueckii* permite mejorar el sabor del vino, y comparado con *Saccharomyces cerevisiae* tiene un menor poder fermentativo, pero llega a soportar condiciones altas de porcentaje de alcohol, lo cual ayuda que su efecto, a comparación de otras levaduras no-*Saccharomyces*, sea mayor. El utilizar frutas no tradicionales, como en este caso el borjón (*Borojoa patinoi*) permite darle un valor adicional al vino, que lo puede destacar en un mercado que no existe una variedad significativa debido a la poca costumbre de consumo de este producto.

El programa SuperPro Designer nos permite diseñar diversos procesos para simular su desarrollo, teniendo como valor el desglosar los componentes y productos que intervienen en el mismo y el impacto económico y ambiental que su implementación conlleva. Tiene ventaja con otros programas por su diversidad de operaciones que permite desarrollar, sin embargo, hay que recalcar que es un programa profesional por lo cual es fundamental tener una idea clara del proceso. En este caso se basó por medio de la experimentación previa y la base teórica el desarrollo de un proceso para la producción industrial de vino de borjón. Se debe mantener las condiciones favorables para cada proceso, así como verificar cada equipo que se implementará, su aplicación y los procesos que puede llevar a cabo. En este caso el diseño es el mismo al aplicar las dos levaduras evaluadas previamente, ya que sus condiciones para obtener el vino no varían en gran medida. Al momento de realizar la evaluación del diseño, el programa nos permite visualizar la cantidad de producto que se obtiene, así como un resumen económico del proceso, con el cual podemos determinar la viabilidad de nuestro proyecto, teniendo especial énfasis en los índices ROI, TIR Y VPN. También se puede observar los desechos que se generan, facilitando la posibilidad de analizar el impacto ambiental de nuestro proceso. El bioproceso diseñado es viable para su

implementación, tasando el producto obtenido en 21\$ y el tiempo de recuperación de la inversión estipulada en 6.04 años.

Capítulo 7

Recomendaciones

Para la aplicación de la levadura es necesario en futuros estudios aplicar su versión comercial, esto se debe a que las levaduras que se encuentran en las frutas o de manera silvestre, no tiene una producción similar, y los resultados finales siempre varían.

En el caso de la especie *Torulaspota delbrueckii* se debería realizar un estudio individual para su aplicación, ya que las especies no-*Saccharomyces* son presentes, en su mayoría, solo en la parte inicial del proceso de fermentación y tienen dificultades de imponerse a otros microorganismos propios del mosto utilizado.

Otro factor que en futuros estudios se debe analizar es la acidez total, ya que esta es importante en lo que concierne a la producción de etanol y el consumo del ácido málico por parte de la levadura, y afecta de manera directa el pH.

Referencias

- Acosta, E., & Monge, E. (2014). El vino, poesía para el alma. *Kalpana*, 11, 34–41.
- Anaya, H. O. (2021). Indicadores financieros. *Análisis Financiero Aplicado, Bajo NIIF 16 Edición*, 191–202. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1dp0wtc.10>
- Ayala, B., Andrés, C. G. F., & Julián, G. M. D. (2017). *Elaboración De Productos a Base Borojó (Borojoa Patinoi) Y Su Aplicación En Culinaria*. 80.
- Benito, Á., Calderón, F., & Benito, S. (2019). The influence of non-saccharomyces species on wine fermentation quality parameters. *Fermentation*, 5(3), 1–18. <https://doi.org/10.3390/fermentation5030054>
- Carvajal, T., & Rodríguez, N. (2017). *Evaluación de la factibilidad técnico-económica de una planta de producción de interferón alfa bovino recombinante -rBoIFN-a-*.
- Claus, H., & Mojsov, K. (2018). Enzymes for wine fermentation: Current and perspective applications. *Fermentation*, 4(3), 1–19. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030052>
- Conselmo, P. H. (2020, November 20). *Crece el consumo de vino en Ecuador y Bolivia, con estrategias diferentes | ENOLIFE | La vida del vino*. <https://enolife.com.ar/es/crece-el-consumo-de-vino-en-ecuador-y-bolivia-con-estrategias-diferentes/>
- Coronel, M. (2008). *Los vinos de frutas*.
- Ferreira, R. G., Azzoni, A. R., Santana, M. H. A., & Petrides, D. (2021). Techno-economic analysis of a hyaluronic acid production process utilizing streptococcal fermentation. *Processes*, 9(2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pr9020241>
- Guerra, P. (2014). *Fermentos y tiempos de fermentación en la elaboración de vino de borojó (Borojoa patinoi)*. *Quevedo – Los Rios*.
- Gutiérrez, J. (2018). El papel de la selección de levaduras en la elaboración del vino. *Primera*, 10, 169–198. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6573032>

- Guzmán, F. (2021, February 11). *Las levaduras, microorganismos con grandes beneficios* - *Gaceta UNAM*. <https://www.gaceta.unam.mx/las-levaduras-microorganismos-con-grandes-beneficios/>
- Hernández, M. J. (2005). *Torulaspora delbrueckii*: Aplicaciones tecnológicas y aislamiento de genes de respuesta a estrés. In *Ocean Modelling* (Vol. 22, Issue 3). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ocemod.2013.04.010><http://dx.doi.org/10.1016/j.ocemod.2011.06.003><http://dx.doi.org/10.1016/j.ocemod.2008.12.004><http://dx.doi.org/10.1016/j.ocemod.2014.08.008><http://dx.doi.org/10.1016/j.jcp.2009.08.006><http://dx.doi.org/10.1016/j.jcp.2009.08.006>
- Julián Ricardo, M., Baltá Garcia, J., Pérez Sánchez, E., & Pérez Sánchez, A. (2018). Simulación del proceso de producción de cerveza a escala piloto. *Afinidad: Revista de Química Teórica y Aplicada*, 75(581), 39–44.
- Lema, H. E. (2010). Evaluación de la producción de vino de borojó bajo el efecto de tres niveles de pulpa y a diferentes grados de dulzor en Santo Domingo, 2008. *Universidad Nacional De Loja*.
- Mora, A. A. M. (2017). *Propuesta de diseño para la fabricación y presentación del vino de borojó en la ciudad de Guayaquil*. [https://repositorio.itb.edu.ec/bitstream/123456789/1063/1/PROYECTO DE GRADO DE YAGUAL SALAZAR.pdf](https://repositorio.itb.edu.ec/bitstream/123456789/1063/1/PROYECTO%20DE%20GRADO%20DE%20YAGUAL%20SALAZAR.pdf)
- Müller, V. (2001). Bacterial Fermentation. *Planetary and Space Science*, 18(8). [https://doi.org/10.1016/0032-0633\(70\)90207-2](https://doi.org/10.1016/0032-0633(70)90207-2)
- Olivier, E. (2021). *ROI o Retorno de la Inversión: Que Es, Formula y Ejemplos Resueltos*. <https://www.genwords.com/blog/que-es-roi>
- Pardo, L. O. R. (2018). *Cuantificación de hierro, calcio y fósforo en procesos térmicos aplicados al borojó (Borojoa patinoi Cuatrec)*. 275–281. <https://doi.org/10.4067/S0718->

34292018005000802

- Ramírez, M., & Velázquez, R. (2018). The yeast *Torulaspora delbrueckii*: An interesting but difficult-to-use tool for winemaking. *Fermentation*, 4(4). <https://doi.org/10.3390/fermentation4040094>
- Ramón, L. S. Q., & Criollo, G. S. T. (2007). *Estudio de prefactibilidad técnico-económico de una planta para elaborar una bebida a base de noni (Morinda citrifolia) y borjón (Borojoa patinoi)*.
- Regodón, J. A. (1997). Obtención y caracterización de cepas autóctonas de levaduras para la elaboración estandarizada de vinos de calidad. *Universidad de Extremadura*, 7.
- Rojkés, S. (2015). *Extensión FIQ . UNL – Mundo microscópico I: la levadura*. <https://www.fiq.unl.edu.ar/culturacientifica/extension-fiq/mundo-microscopico-i-la-levadura/>
- Salamanca G., G., Osorio T., M. P., & Montoya, L. M. (2010). Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de Borojo (Borojoa patinoi Cuatrec). *Revista Chilena de Nutricion*, 37(1), 87–96. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182010000100009>
- Singh, R. S., Sook, B. S., & Attri, D. (2011). Bioreactor technology in wine production. *Handbook of Enology: Principles, Practices and Recent Innovations, December*, 802–860.
- Suárez, C., Garrido-Carralero, N. A., & Guevara-Rodríguez, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *Revista de Investigación*, 50(1), 20–28.
- Toranzos, M. (2020, September 27). *Los vinos nacionales apuestan por lo local*. <https://www.expreso.ec/actualidad/economia/vinos-nacionales-apuestan-local-90784.html>

Van Horne, J., & Wachowicz, J. (2010). *Administración Financiera* (G. D. Chávez (ed.); Decimoterc).

Velásquez, I. S. (2018). Efecto de tres cepas de levadura y dos tipos de mosto sobre las características físicas y químicas del vino obtenido a partir de mortiño (*Vaccinium floribundum* kunth.). *Universidad de Las Fuerzas Armadas - ESPE*, 68.