

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO

FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**OBTENCIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN SOLUCIÓN POR
FERMENTACIÓN DE LA MELAZA DEL INGENIO AZUCARERO DE
BERMEJO**

Por:

VICTOR ENRIQUE VILLA ALDANA

Proyecto de Grado (Modalidad: *Investigación Aplicada*) presentado a consideración de la “UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO”, como requisito para optar el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Química.

TARIJA – BOLIVIA

V°B°

M.Sc. Ing. Marcelo Segovia Cortez

DECANO

Facultad de Ciencias y Tecnología

M.Sc. Lc. Clovis Gustavo Succi Aguirre

VICEDECANO

Facultad de Ciencias y Tecnología

APROBADA POR:

TRIBUNAL:

M.Sc. Ing. David Blades Medrano

Ing. Mario Gallardo Muñoz

Ing. Paola Céspedes Gira

ADVERTENCIA

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas responsabilidad del autor

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi abuelo Enrique, que con sus hazañas en el fortín Boquerón y sus anécdotas que me fueron narradas, logró despertar en mí el palpitante gusto por la lectura de la historia nacional, desencadenando así el entusiasmo por el aprendizaje de la historia de la humanidad, la ciencia y la tecnología. Un antes y un después en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermano por el apoyo brindado, a mis tíos que me ayudaron en este tramo de mi vida, a mis amigos por su compañerismo y lealtad, y a las maestras y maestros, que me formaron y guiaron durante estos años

ÍNDICE

Página

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES	1
1.2. OBJETIVOS	2
1.2.1. Objetivo General	2
1.2.2. Objetivos Específicos.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN	3
1.3.1. Justificación tecnológica.....	3
1.3.2. Justificación Económica	3
1.4. DELIMITACIÓN DEL ESTUDIO	3

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. LA MELAZA	6
2.1.1. Definición	6
2.1.2. Composición de la melaza	6
2.1.3. Clasificación de la melaza	8
2.1.4. Usos de la melaza.....	8
2.2. EL ASPERGILLUS NIGER.	9
2.2.1. Descripción.	9
2.2.2. Clasificación taxonómica.....	10
2.2.3. Aspectos nutricionales del Aspergillus Niger.....	10
2.2.4. Ruta metabólica del Aspergillus Niger	12
2.2.5. Tolerancia a metales del Aspergillus Niger.	14
2.2.6. Cultivo del Aspergillus Niger.	15
2.2.7. Producción de ácido cítrico con Aspergillus Niger.	16

2.3. EL ÁCIDO CÍTRICO.....	18
2.3.1. Definición	18
2.3.2. Características generales	19
2.2.3. Reseña histórica	19
2.2.4. Método de obtención del ácido cítrico.....	20
2.2.4.1. Preparación del sustrato (melaza).....	21
2.2.4.2. Fermentación.....	21
2.2.4.3. Purificación del ácido cítrico.....	22
2.2.4.4. Celdas primarias de carbón activado.....	23
2.2.4.5. Cristalización.....	24
2.2.4.6. Secado	24
2.2.4.7. Clasificación.....	24
2.2.4.8. Empaque.....	24
2.2.5. Métodos de análisis de concentración del ácido cítrico en solución,	25
2.2.6. Principales usos.....	26
2.2.7. Costos de producción de ácido cítrico frente a otros ácidos del mercado.	27
2.4. LA FERMENTACIÓN.....	28
2.4.1. Definición	28
2.4.2. Curvas de crecimiento de un microorganismo.....	28
2.4.2.1. La fase de latencia	29
2.4.2.2. La fase exponencial o logarítmica.....	29
2.4.2.3. La fase estacionaria	30
2.4.2.4. La fase de muerte	30
2.4.3. Tipos de fermentación.....	30
2.4.3.1. Fermentación sumergida.	30
2.4.3.2. Fermentación de superficie.	31
2.4.3.3. Fermentación en estado sólido.	31
2.4.4. Obtención de ácido cítrico por fermentación.....	32
2.5.5. Pretratamiento de la melaza antes de la fermentación	34

2.5.5.1. Dilución.....	34
2.5.5.2. Esterilización.....	34
2.5. ELABORACIÓN GENERAL DEL PROCESO DE OBTENCIÓN.....	35
2.5.1. Análisis de resultados	40

CAPÍTULO III

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL	43
3.1. INTRODUCCIÓN.....	43
3.2. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS DE LABORATORIO.....	43
3.3. DISEÑO FACTORIAL	44
3.3.1. Construcción del diseño factorial 2^k	44
3.4. CONSTRUCCIÓN DEL BIORREACTOR.....	49
3.4.1. Biorreactores.....	50
3.4.2. Aireadores	51
3.4.3. Filtro de aire.....	52
3.4.4. Enfriadores.....	52
3.4.5. Baño María.....	53
3.4.6. Interruptores.....	54
3.5. Cultivo del <i>Aspergillus Niger</i>	55
3.5.1. Almacenamiento del <i>Aspergillus Niger</i>	56
3.5.2. Extracción de un volumen de trabajo desde un vial con <i>Aspergillus Niger</i>	56
3.5.3. Preparación del medio de cultivo.....	56
3.5.4. Sembrado del <i>Aspergillus Niger</i>	57
3.5.5. Método de inoculación utilizado en el cultivo.....	58
3.5.6. Repique del <i>Aspergillus Niger</i>	59
3.6. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO POR FERMENTACIÓN SUMERGIDA DE LA MELAZA CON CEPAS DE ASPERGILLUS NIGER.....	60
3.6.1. Recepción de la materia prima: Melaza de Caña.....	60
3.6.2. Caracterización de la melaza	61

3.6.3. Dilución de la melaza.....	63
3.6.4. Pasteurización de la melaza diluida	64
3.6.5. Ajuste de pH en la disolución	66
3.6.6. Proceso de fermentación	67
3.6.7. Decantado del fermentado	73
3.6.8. Filtración de la disolución fermentada.....	74
3.6.9. Inactivación del <i>Aspergillus Niger</i>	74
3.6.10. Almacenamiento del ácido cítrico en solución	75

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	78
4.2. ENSAYOS DE OBTENCIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO POR FERMENTACIÓN DE LA MELAZA DE IABSA.	81
4.2.1. Registro de las curvas de fermentación	81
4.2.2. pH en la disolución fermentada	86
4.3.3. Titulación del fermentado	90
4.4.4. Cálculo del rendimiento del proceso tecnológico.....	92
4.4.5. Comparación de rendimiento con la obtención de alcohol etílico usando la melaza. ..	94
4.3. RESULTADOS DEL DISEÑO FACTORIAL	96
4.3.1. Análisis de varianza Univariante	97
4.3.2. Determinación del modelo matemático	98

CAPÍTULO V

BALANCE DE MATERIA Y ANÁLISIS DE COSTOS

5. BALANCE DE MATERIA Y ANÁLISIS DE COSTOS.....	104
5.1. Balance de materia.....	104
5.1.1. Balance de materia en la disolución de la materia prima.....	105
5.1.2. Balance en la acidificación del mosto.....	105

5.1.3. Balance de materia en la fermentación de la melaza	106
5.1.4. Balance de materia después del decantado del fermentado	108
5.1.5 Resumen del balance de materia.....	109
5.2. ANÁLISIS DE COSTOS	110
5.2.1. Costo del estudio.....	110
5.2.2. Costo de producción	112

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	116
6.1. CONCLUSIONES	116
6.2. RECOMENDACIONES	116
BIBLIOGRAFÍA.....	119

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla II-1 Composición de la melaza de caña de azúcar.....	7
Tabla II-2 Taxonomía de <i>Aspergillus Niger</i>	10
Tabla II-3 Índice de tolerancia del <i>Aspergillus Niger</i> a metales.	14
Tabla II-4 Características del ácido cítrico.....	19
Tabla II-5 Concentración máxima de nutrientes y metales traza.....	33
Tabla II-6 Matriz de selección para las tecnologías analizadas.	35
Tabla II-7 Valoración de la escala para la matriz de selección.	36
Tabla II-8 Puntajes de la matriz de selección.	36
Tabla II-9 Parámetros y valores óptimos.....	38
Tabla II-10 Parámetros usados en cada fase.	40
Tabla III-1 Descripción del material utilizado.	43
Tabla III-2 Justificación de parámetros no tomados como variables independientes.....	45
Tabla III-3 Factores y dominio experimental.....	48
Tabla III-4 Matriz de experimentos.	49
Tabla III-5 Parámetros de la melaza del ingenio azucarero de Bermejo.....	61
Tabla III-6 Concentración de la melaza.....	64
Tabla III-7 Parámetros utilizados en la prueba preliminar	69
Tabla III-8 Resultado de pH vs tiempo en pruebas preliminares.....	69
Tabla III-9 Variables independientes y dependientes en la fermentación.	71
Tabla IV-1 Análisis fisicoquímicos de la melaza de caña de IABSA.	78
Tabla IV-2 Datos de grados Brix del proceso de fermentación.	81
Tabla IV-3 Datos de pH del proceso de fermentación.	86
Tabla IV-4 Resultados de la medición de pH en el fermentado.....	90
Tabla IV-5 Concentración final de azúcares reductores en el fermentado	90
Tabla IV-6 Volumen de la solución titulante usada.	91
Tabla IV-7 Calculo del ácido cítrico total obtenido en cada experimento (10 Litros).....	92
Tabla IV-8 Rendimientos Obtenidos.	93
Tabla IV-9 Valores óptimos para obtener el mayor rendimiento.....	93
Tabla IV-10 Datos de densidad de la melaza y el alcohol etílico.....	94
Tabla IV-11 Melaza empleada en litros y cantidad de alcohol etílico obtenido en gramos...94	
Tabla IV-12 Comparación de rendimientos	95
Tabla IV-13 Resultados de la medición de concentración de ácido cítrico en el medio.	96

Tabla IV-14 Matriz de experimentos con los datos experimentales.	96
Tabla IV-15 Factores Inter-sujetos.	97
Tabla IV-16 Pruebas inter-sujeto	98
Tabla IV-17 Resumen del modelo matemático.	99
Tabla IV-18 ANOVA^a.	99
Tabla IV-19 Coeficientes del modelo matemático.	99
Tabla IV-20 Concentración observada y calculada por SPSS.	101
Tabla V-1 Resultados de corrientes en el balance de materia.	110
Tabla V-2 Detalle de costos de materia prima y reactivos.	110
Tabla V-3 Detalle del costo total de materiales.	111
Tabla V-4 Detalles de costos de material de apoyo.	112
Tabla V-5 Detalle de costos totales de estudio.	112
Tabla V-6 Detalle de costos de materia prima y reactivos.	113
Tabla V-7 Detalle de costos de energía de los equipos utilizados.	113
Tabla V-8 Detalle de costo de consumo de agua.	113
Tabla V-9 Detalle de costos de consumo de gas natural.	114

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2-1 La melaza.	6
Figura 2-2 Morfología del genero Aspergillus.	9
Figura 2-3 El Aspergillus Niger.	10
Figura 2-4 Curva de crecimiento del Aspergillus Niger.	11
Figura 2-5 Biosíntesis del ácido cítrico.	13
Figura 2-6 Crecimiento del Aspergillus Niger.	16
Figura 2-7 Rendimiento de obtención de ácido cítrico en solución	17
Figura 2-8 El ácido cítrico.	18
Figura 2-9 Molécula de ácido cítrico.	19
Figura 2-10 Biorreactor	22
Figura 2-11 Esquema de un biorreactor	22
Figura 2-12 Formación de citrato de calcio.	23
Figura 2-13 Reconstitución del ácido cítrico.	23
Figura 2-14 Diagrama de bloques del proceso de obtención de ácido cítrico.	24
Figura 2-15 Concentración de ácido cítrico por titulación.	26
Figura 2-16 Costos de producción del ácido cítrico.	27
Figura 2-17 Costo de producción del ácido fosfórico.	27
Figura 2-18 Costo de producción del ácido succínico.	28
Figura 2-19 La curva de crecimiento de un microorganismo.	29
Figura 2-20 Tanque de fermentación sumergida.	30
Figura 2-21 Tanque de fermentación de superficie,	31
Figura 2-22 Tanque de fermentación en estado sólido,	32
Figura 2-23 Diagrama de flujo para la obtención de ácido cítrico en solución.	39
Figura 3-1 Vista frontal del equipó de fermentación,	50
Figura 3-2 Vista desde arriba del equipó de fermentación,	50
Figura 3-3 Biorreactor	51
Figura 3-4 Aireador	52
Figura 3-5 Aireadores dentro del filtro de aire.	52
Figura 3-6 Serpentes con refrigerante envolviendo los aireadores.	53
Figura 3-7 Bomba sumergida.	53
Figura 3-8 Biorreactores sumergidos en el baño maría.	54

Figura 3-9 Interruptores.....	55
Figura 3-10 Esquema del biorreactor.....	55
Figura 3-11 Cepa de <i>Aspergillus Niger</i> recibida de la UMSS.....	56
Figura 3-12 Calentamiento del caldo de cultivo.	57
Figura 3-13 Proceso de sembrado del <i>Aspergillus Niger</i>	57
Figura 3-14 Técnica de siembra masiva.....	58
Figura 3-15 <i>Aspergillus Niger</i> visto desde el microscopio.....	59
Figura 3-16 Repique del <i>Aspergillus Niger</i>	59
Figura 3-17 Ubicación geográfica de la procedencia de la materia prima.....	60
Figura 3-18 Refractómetro.....	62
Figura 3-19 Grados Brix de la melaza.....	62
Figura 3-20 Dilución de la melaza con agua.	64
Figura 3-21 Pasteurización de la melaza.....	65
Figura 3-22 Enfriamiento de la melaza en baño maria.	65
Figura 3-23 Ajuste de pH en la melaza.	66
Figura 3-24 pH de la melaza diluida sin acidificar.....	67
Figura 3-25 Biorreactor usado en la prueba preliminar de fermentación.....	68
Figura 3-26 Gráfica pH vs Tiempo en prueba preliminar	70
Figura 3-27 Vertido de la cepa de <i>Aspergillus Niger</i> en el biorreactor.....	71
Figura 3-28 Boquilla de toma de muestras.	72
Figura 3-29 Proceso de fermentado de la melaza.....	73
Figura 3-30 Biorreactor después de su vaciado.....	73
Figura 3-31 Filtrado del fermentado.	74
Figura 3-32 Calentamiento del fermentado.	75
Figura 3-33 Almacenamiento del ácido cítrico en solución.	75
Figura 4-1 Curva de fermentación Grados Brix vs Tiempo, experimento 1.	82
Figura 4-2 Curva de fermentación Grados Brix vs Tiempo, experimento 2	83
Figura 4-3 Curva de fermentación Grados Brix vs Tiempo, experimento 3	84
Figura 4-4 Curva de fermentación Grados Brix vs Tiempo, experimento 4	85
Figura 4-5 Curva de fermentación pH vs Tiempo, experimento 1.	87
Figura 4-6 Curva de fermentación pH vs Tiempo, experimento 2.	87
Figura 4-7 Curva de fermentación pH vs Tiempo, experimento 3.	88
Figura 4-8 Curva de fermentación pH vs Tiempo, experimento 4.	89
Figura 4-9 Modelo Lineal.	101

Figura 4-10 pH final observado, calculado y error.102
Figura 5-1 Diagrama de flujo para el proceso de obtención de ácido cítrico en solución. ..104
Figura 5-2 Resumen del balance de materia en la obtención de ácido cítrico en solución por fermentación de la melaza109