

ESTUDIO CINÉTICO DE UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO MIEL DE ABEJAS COMO SUSTRATO

José Angel Gómez⁽²⁾, Hader Iván Castaño y Mario Arias⁽¹⁾.

*Departamento de procesos químicos, Ingeniería Química,
Facultad de Minas
Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín.*

buscando las mejores condiciones del proceso para la obtención de una bebida alcohólica.

RESUMEN.

El artículo describe un estudio cinético de una fermentación alcohólica utilizando miel de abejas como sustrato; para este efecto se realizaron nueve fermentaciones en proceso discontinuo con un volumen, de 10 L, siguiendo el comportamiento de las concentraciones de sustrato, biomasa y producto en el tiempo. Se evaluó la conveniencia de factores como la agitación y la adición de nutrientes, además, se observó el efecto de las concentraciones iniciales de sustrato e inóculo y el tipo de miel

INTRODUCCIÓN.

Con la elaboración del presente trabajo se pretende contribuir al fortalecimiento del área de la biotecnología, como uno de los campos de acción de la Ingeniería Química. Dados los antecedentes en biotecnología de los procesos fermentativos en la producción de bebidas alcohólicas en nuestro país, se propuso adelantar un estudio cinético fermentativo para la producción de una bebida alcohólica, con miras a analizar los mecanismos intrínsecos que gobiernan tales procesos; además, de realizar el respectivo modelamiento y simulación del proceso.

(1) Profesor Universidad Nacional de Colombia. A quien se puede enviar correspondencia. Decanatura de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia Sede - Medellín. A.A. 3840. Fax 260 44 89. Medellín Col. E-mail~: mearias@perseus.unalmed.edu.co

(2) Corporación Biotec - Universidad del Valle, E-mail: jocastri@mafalda.univalle.edu.co\fs24 .

Tanto la miel como sus productos fermentados han sido utilizados por el hombre desde la antigüedad. Se dispone de documentos escritos de comienzos del siglo XV en los que se reconoce que la miel de abejas, cuando se diluye con agua y se le adicionan ciertas sales, sufre fermentación alcohólica y posteriormente acética (2). La calidad de los productos de la fermentación de la miel, en el pasado, fue cuestionada pues en el proceso, a pesar del sabor dulce, se presentaban sabores desagradables debido al tiempo prolongado de fermentación (6). El control de los factores que influyen en la calidad del producto final ha sido el principal objetivo de los últimos estudios. Trabajos realizados por diferentes investigadores han permitido establecer que la levadura común *Saccharomyces cerevisiae* se comporta muy bien en la fermentación alcohólica de soluciones diluidas de miel de abeja (2). La miel es diluida con agua de manera que la concentración inicial de azúcares reductores sea adecuada para el desarrollo de los microorganismos. Como la miel generalmente contiene un 65% en peso de azúcares reductores o más, la dilución debe efectuarse hasta alcanzar 12 a 30% de estos carbohidratos. A partir de estas soluciones se ha logrado obtener bebidas alcohólicas con un contenido de 10 a 16% de etanol (6). Una concentración inicial de inóculo de 1% en volumen produce una fermentación inicial más rápida que una del 0,4%; sin embargo, la fermentación con un inóculo más pequeño generalmente ha coincidido con la de un inóculo más grande al cabo de diez o doce días. A baja temperatura del orden de 13° C, produce una fermentación más rápida que con el 1% (6).

Varios investigadores, entre ellos Arias y Quicazán (2), han coincidido en afirmar que es esencial la adición de una fuente nitrogenada a la miel diluida para estimular la fermentación. Se ha recomendado la adición de fosfato diamónico a un nivel de 250 mg/l; esta sal mejora la velocidad de fermentación de la miel, permaneciendo las características organolépticas originales de la miel (2). También se ha podido comprobar que las mieles con un contenido superior de minerales constituyen un mejor medio de fermentación, probablemente debido a la presencia de

microminerales indispensables para el desarrollo de la levadura. Por lo tanto, se recomienda, además de la sal nitrogenada, la adición de otras sales que aporten minerales esenciales (6).

Como el pH es un factor determinante en la velocidad de fermentación, se ha podido establecer que valores entre 3,7 y 4,6 son ideales para este proceso. La utilización de sistemas reguladores como el ácido cítrico- citrato de sodio pueden regular el pH en este intervalo (2).

El origen botánico de la miel de abeja influye apreciablemente en la fermentación que ésta pueda sufrir. Ciertas mieles, especialmente las procedentes de *Trifolium* (nombre científico

Tanto la miel como sus productos fermentados han sido utilizados por el hombre desde la antigüedad. Se dispone de documentos escritos de comienzos del siglo XV en los que se reconoce que la miel de abejas, cuando se diluye con agua y se le adicionan ciertas sales, sufre fermentación alcohólica y posteriormente acética.

del Trébol) han mostrado mucha dificultad para fermentar y requieren por lo tanto la adición, además de minerales, de ciertas vitaminas (tiamina, piridoxina y biotina) (2).

La temperatura y la agitación en el proceso son factores que influyen apreciablemente en la velocidad de fermentación y en las características del producto final (2). En general, se recomienda la agitación pues ésta mantiene las células en suspensión y facilita el contacto con los azúcares reductores. Se ha concluido que empleando levaduras seleccionadas, adición de nutrientes, un pH adecuado y temperaturas de 24 a 27°C, en miel poco coloreada como la de trébol, se pueden

realizar fermentaciones sin agitación hasta alcanzar un 12 - 13% de etanol en volumen, al cabo de dos semanas. Con esto puede deducirse que la agitación (una determinada velocidad en rpm, 210 rpm) reduciría apreciablemente el tiempo manteniendo las demás condiciones constantes (6).

Teniendo en cuenta los factores anteriormente mencionados, algunos investigadores han efectuado ensayos a nivel de planta piloto. Arias y Quicazán (2) refieren estudios de Morse y Steinkraus a escala de laboratorio y piloto para la fermentación de miel de trébol en barriles de 40 gal. El proceso fue diseñado para dar un producto seco, claro, exento de olores y sabores desagradables y con una buena estabilidad en el envase. El proceso consistió en diluir la miel con agua hasta obtener un 21% de sólidos; la miel cristalizada se calentó a 60 °C para facilitar la dilución. Se adicionaron varios nutrientes entre los que se encontraban ácido cítrico, sulfato de amonio, fosfato potásico, cloruro de magnesio, peptona, sulfato ácido de sodio, tiamina, pantotenato de calcio, mesoinositol, piridoxina y biotina. El pH se ajustó con hidróxido de sodio o ácido clorhídrico hasta un valor de 3,7 - 4,0. Con una temperatura de 27 °C, se inoculó con *Saccharomyces cerevisiae* en crecimiento a un nivel de 0,5% en volumen. La miel se fermentó a 18 °C y posteriormente se dejó reposar para añejar en barril por cerca de seis meses. Luego se decantó y filtró, la acidez final se ajustó a 0,6% (% peso en volumen) con ácido cítrico o tartárico. El producto se pasteurizó a 63 °C por 5 min y se envasó en caliente. El vino obtenido contenía un 12% en volumen de etanol.

Ensayos similares al descrito anteriormente han permitido recomendar las condiciones

óptimas y han servido de base para diseñar plantas industriales para la producción de vino de miel a grande escala. Estudios realizados acerca de las características de vinos de miel disponibles en el comercio han mostrado que el nivel de azúcares reductores aún sin fermentar es de 2,5 g/l, el pH de 2,9 a 3,75, la acidez titulable de 0,022 - 0,708 g de ácido por 100 ml, el contenido de acetaldehído de 18,2 - 125,5 p.p.m y el contenido de etanol de sales 12,2 - 20,8% en volumen. Estas características, además del contenido de cenizas y

TABLA 1. Caracterización de la miel oscura.

Azúcares reductores totales	74,9%	en peso
Humedad	18,6%	en peso
Acidez expresada como pH	3,5	
Contenido de cenizas	0,15%	en peso
Contenido de sacarosa	0,0%	

TABLA 2. Caracterización de la miel clara.

Azúcares reductores totales	73,8%	en peso
Humedad	17%	en peso
Acidez expresada como pH	3,5	
Contenido de cenizas	0,08%	en peso
Contenido de sacarosa	0,4%	en peso

ciertos cationes indican la naturaleza de la fermentación y el tipo de sales adicionadas durante el proceso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para efectos de desarrollo del trabajo se dispuso del siguiente equipo:

Reactor cilíndrico (estándar) en acrílico con chaqueta de enfriamiento con un volumen útil de 10 litros. En el cual la altura era dos veces el diámetro y provisto de baffles a 90°.

- Agitador Cole-Parmer 4370-00 de 1/25 hp, ver catálogo Cole-Parmer 1995 - 1996 Pag. 717

- Refractómetro Abbe

Para el desarrollo de la última fermentación se utilizó como sustrato miel de abejas clara, la caracterización de esta miel se presenta en la tabla 2. La concentración de sustrato se cuantificó como azúcar reductor total, determinado por el método de Lane y Eynon (5). La biomasa se determinó utilizando el método de peso seco recomendado por Pirt (12) y la concentración de etanol en el medio fermentativo se determinó utilizando el método refractométrico recomendado por la A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists) (16).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Con el fin de evaluar los efectos de los parámetros del proceso fermentativo propuesto (concentración de sustrato e inóculo (gramos de peso seco por litro), agitación y adición de nutrientes) se llevaron a cabo nueve fermentaciones con un volumen de sistema de 10 litros y en operación discontinua; las cuatro primeras se diseñaron para establecer la conveniencia de la agitación y la adición de nutrientes sobre la cinética fermentativa. Basados en los resultados cinéticos de esta etapa se pasó a evaluar el efecto de la concentración de inóculo

TABLA 3. Diseño experimental.

Etapa	Ensayo	Concentración de inóculo (g/L)	ART (g/L) (1)	Agitación (210 rpm)	Adición nutrientes	Tipo de miel
A	1	6,980	227,27	sí	no	a (2)
	2	7,980	215,05	sí	sí	a
	3	9,200	243,10	no	no	a
	4	9,460	215,05	no	sí	a
B	5	20,857	235,02	no	sí	a
	6	4,590	235,29	no	sí	a
C	7	22,190	344,83	no	sí	a
	8	19,952	113,00	no	sí	a
D	9	19,929	238	no	sí	b(3)

(1) ART: azúcares reductores totales.

(2) a: miel oscura.

(3) b: miel clara.

(4) los nutrientes agregados son los reportados en el siguiente párrafo

TABLA 4. Evaluación del comportamiento del proceso fermentativo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
YP/s	0,3929	0,3788	0,4094	0,3948	0,3980	0,3584	0,3710	0,4857	0,39
Yx/s	0,05	0,057	0,044	0,0912	0,0474	0,0216	0,0345	0,1055	0,0462
% S	8,9	6,6	8,3	9,2	6,1	10	36	16,1	9,3
%	76,89	74,13	80,12	77,27	72,09	61,15	72,59	95,04	76,33
p	1,252	1,585	1,534	2,338	2,665	1,425	2,906	9,206	4,211
A	sí	sí	no						
N	no	sí	no	sí	sí	sí	sí	sí	sí
T	a	a	a	a	a	a	a	a	b
Xo (g/L)	6,98	7,98	9,2	9,46	20,857	4,59	22,19	19,952	19,929
So (g/L)	227,27	215,05	243,10	215,05	235,29	235,29	344,83	113	238,1
Pf	11,13	10,35	12,62	10,33	10,84	10,18	10,84	5,9	11,16
Tiemp (horas)	65	48	59,5	33	30,5	52,5	28	5	20

%; porcentaje de rendimiento de etanol con respecto al valor teórico, P: productividad de etanol en g/lh, A: agitación, N: nutrientes, T: tipo de miel, Pf: concentración de etanol final en % v/v, a: miel oscura, b: miel clara, % S: porcentaje de sustrato no fermentado.

mediante dos fermentaciones. Los siguientes dos ensayos se realizaron con el fin de evaluar la concentración de sustrato sobre la cinética del proceso. Estas ocho primeras fermentaciones se realizaron utilizando como sustrato miel oscura. Por último, se efectuó una fermentación con miel clara como sustrato con las condiciones cinéticas más favorables establecidas en fermentaciones anteriores, con el objetivo de evaluar la influencia de la miel en el proceso de fermentación alcohólica en lo que respecta a la fuente floral. En la tabla 3 se muestra el diseño experimental (4).

A continuación se describe la composición del medio de cultivo utilizado en las fermentaciones donde se adicionaron nutrientes, tomando como base 10 litros de volumen del sistema fermentativo, esta fue: 4,1043 g de fosfato ácido de sodio, 10,552 g de sulfato de amonio, 1,998 g de cloruro de magnesio, 0,4995 g de sulfato ácido de sodio, 25,29 g de ácido cítrico, 24,705 g de citrato sódico, 0,243 g NaCl. Con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de nutrientes sobre la cinética de la fermentación de la miel de

abejas, se tomó como base para la composición del medio de cultivo la recomendada por Morse y Steinkrauss citados por Arias y Quicazán (2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados experimentales de concentración de sustrato, producto y biomasa para la mejor fermentación en cada etapa del diseño experimental, se muestran en los gráficos 1 a 4.

Los parámetros de las diferentes fermentaciones se presentan en la tabla 4.

De la primera etapa del diseño experimental se concluye que la adición de nutrientes en sistema no agitado a la escala ensayada es la más conveniente para este proceso fermentativo debido a que se mejora la productividad con una buena concentración final de etanol.

Algo importante que se observó de la cinética fermentativa, fueron los altos porcentajes de azúcares no fermentados (este fenómeno se experimentó al no ver cambios representativos de consumo de sustrato en el tiempo de desarrollo de la fermentación)

Al evaluar la influencia de la concentración inicial de biomasa o inóculo se nota que un aumento en la concentración de ésta favorece el proceso notándose un aumento de la productividad, disminución del tiempo de fermentación y mejora de los parámetros cinéticos.

En cuanto al aumento en la concentración de sustrato para la séptima fermentación, se observa en la tabla 4 que dio lugar a un mayor valor de productividad que la quinta debido a su menor tiempo de fermentación (2.5 horas menos). Al evaluar una disminución en la concentración inicial de sustrato se observó cómo la octava fermentación presentó una mejor productividad fundamentada en el alto valor de rendimiento (95% del valor teórico), explicado con base en la baja concentración de sustrato inicial que garantiza la no presencia de inhibición por sustrato y producto. Además, el tiempo de fermentación fue muy bajo (5 horas) para efectos de producción de una bebida alcohólica, el proceso fermentativo octavo no se tomó como el más adecuado; no obstante presentar la mayor productividad global de las fermentaciones antes analizadas ya que no se debe perder de vista que nuestro objetivo era obtener una bebida alcohólica de aceptación general, y debido a que presentó una concentración tan baja de etanol, no cumpliría con las exigencias del consumidor. De lo anterior se concluye que las condiciones de operación de la quinta fermentación son las más adecuadas con miras a satisfacer los objetivos planteados.

Ya en la etapa final, se evaluó el efecto de la miel clara sobre el desarrollo cinético fermentativo en contraposición con la quinta fermentación. Se observó cómo la cinética del proceso de fermentación con miel clara se vio favorecida

disminuyendo el tiempo de fermentación en 10,5 horas, resultado éste que incide en duplicar la productividad con respecto a la quinta fermentación. Los rendimientos de etanol y biomasa son muy similares.

De los valores de concentración final de etanol, se notó que están dentro del intervalo de 10,33 - 12,62 % v/v. Un comportamiento diferente al anterior se observó en la octava fermentación, como se explicó anteriormente. Estos valores de concentración de etanol están dentro del intervalo normal obtenido en una

fábrica de bebidas alcohólicas.

Algo importante que se observó de la cinética fermentativa, fueron los altos porcentajes de azúcares no fermentados (este fenómeno se experimentó al no ver cambios representativos de consumo de sustrato en el tiempo de desarrollo de la fermentación), debido tal vez a la pérdida de capacidad metabólica de la levadura al estar presente en un medio con una alta concentración de etanol que afecta el metabolismo del sustrato, ya que se descarta la hipótesis de que estos azúcares sean no fermentables, pues en la caracterización del sustrato no se detectó la presencia de tales azúcares. De la Tabla 4 se observa cómo el valor del porcentaje de azúcares no fermentados es muy similar para todas las fermentaciones, excepto para las séptima y octava. La justificación de tal efecto para la séptima fermentación radica en la alta concentración de sustrato, que dada la cinética de la fermentación alcohólica, es imposible que se metabolice totalmente, debido a que el proceso termina al alcanzarse una concentración de etanol que inhibe totalmente el metabolismo, aun en presencia de sustrato disponible en el medio. El comportamiento de la séptima fermentación puede ser utilizado bajo la perspectiva de elaboración de una bebida alcohólica dulce.

Contrario a lo que afirma Prost, citado por Arias y Quicazán (2), la agitación presentó un efecto adverso, al menos para el grado de agitación que se utilizó (210 r.p.m.), sobre el desarrollo del proceso fermentativo de miel de abeja. El efecto adverso de la agitación puede deberse a que en lugar de mejorar el contacto entre la biomasa y el sustrato, el grado de agitación perturbe el normal funcionamiento de los procesos de transporte a través de la membrana celular. También es posible que el esfuerzo de corte producido por el movimiento del impulsor a la escala trabajada afecte la viabilidad

Con el fin de evaluar los efectos de los parámetros del proceso fermentativo propuesto (concentración de sustrato e inóculo (gramos de peso seco por litro), agitación y adición de nutrientes) se llevaron a cabo nueve fermentaciones con un volumen de sistema de 10 litros y en operación discontinua

celular debido a posibles daños causados a la membrana celular.

En lo pertinente a la conveniencia de la adición de nutrientes al medio fermentativo se observó cómo tal adición mejoró ostensiblemente el proceso fermentativo. Lo anterior está de acuerdo con lo anotado por Morse y Steinkrauss citados por Arias y Quicazán (2).

El aumento en la concentración inicial de levadura mejoró la respuesta del sistema biótico con respecto a la cinética del proceso, estando de acuerdo con lo citado por (12). Esto es explicado por el hecho de que al haber más células (biocatalizador), cuando las condiciones del

proceso sean tales que favorezcan la formación del producto, el metabolismo de síntesis de producto se ve favorecido en rapidez. Existe un valor de concentración inicial de biomasa superior al cual existen restricciones al transporte celular debido al empaquetamiento de las levaduras a altas concentraciones de biomasa, como se anotó en Arias y Quicazán (2). El fenómeno anterior se ve traducido en el efecto inhibitorio sobre la cinética del proceso.

Para los procesos fermentativos utilizando como sustrato miel de abejas oscura y, además, concentraciones de sustrato inhibitorias (todas excepto la octava), un aumento en la concentración inicial de biomasa corresponde a un incremento en la productividad; las fermentaciones tercera y sexta se alejaron un poco de este comportamiento. Pese a que las concentraciones finales de etanol fueron muy similares utilizando distintas concentraciones de levadura, el efecto se manifiesta en la disminución de la cinética fermentativa.

En lo observado en el análisis del efecto de la concentración inicial de sustrato sobre la cinética del proceso y teniendo en cuenta lo anotado por la bibliografía, donde a concentraciones de sustrato superiores a 100 g/L se presenta efecto inhibitorio se vio cómo este efecto no presentó el comportamiento esperado como era elevarse progresivamente al aumentar la concentración de sustrato. Lo anterior se observó en el desarrollo de las fermentaciones quinta y séptima, donde la cinética del proceso sólo difiere en 2,5 horas, a pesar de presentar una diferencia de concentración inicial de sustrato de 111,54 g/L. Haciendo el paralelo de las fermentaciones quinta y séptima con la octava fermentación, cuya característica era la baja concentración inicial de sustrato (113 g/L, similar a la concentración mínima inhibitoria), se observó una ostensible mejoría en el desarrollo cinético del proceso, ya que se pasó de una duración de 30 h en promedio, a una de 5 h. Lo anotado anteriormente, pone de manifiesto el efecto inhibitorio por sustrato en procesos fermentativos donde la concentración inicial de sustrato fue mayor a la utilizada en la fermentación octava.

Contrario a lo expresado por Crane Eva, citada por Arias y Quicazán (2), en lo que respecta a la mejor calidad de la miel oscura como sustrato en la fermentación de mieles, aumentando la velocidad fermentativa del proceso, los resultados obtenidos al comparar el seguimiento del proceso fermentativo quinto con el noveno, cuya diferencia en las condiciones de proceso es el tipo de miel utilizada (oscura y clara, respectivamente), muestra cómo el proceso se ve favorecido al utilizar como sustrato miel clara. Esto puede explicarse por el hecho de que la composición de minerales en la miel oscura utilizada pueda encontrarse en algún valor superior al mínimo en el cual se presenta un efecto retardante sobre la cinética del proceso.

Los rendimientos de etanol en las diferentes fermentaciones oscilan entre 69,15 y 80,12% del valor teórico (0,511) predicho por la ecuación de Gay Lussac para la formación de etanol a partir de glucosa. Se observó cómo el desarrollo de tales fermentaciones está acorde con los valores de rendimiento experimentales reportados en la literatura, donde éstos oscilan entre 80 y 90% del valor teórico (7), con el precedente, que la cepa utilizada en este trabajo no es la más especializada para la producción de etanol. La leve diferencia entre los valores encontrados con respecto a los citados en la bibliografía, puede ser debida a la formación de productos secundarios y a posibles pérdidas de etanol por evaporación. En la fermentación octava se obtuvo un rendimiento de etanol que casi concuerda con el valor teórico, explicado este hecho por la no presencia de efectos inhibitorios tanto de etanol como de sustrato y, por ende, haciendo tender a cero la energía de mantenimiento que utiliza la levadura en condiciones de stress, posibilitando que esta energía extra se utilice en la formación de producto.

CONCLUSIONES

La agitación presentó un efecto adverso sobre la cinética del proceso fermentativo, al menos para el grado de agitación utilizado (210 r.p.m), bajo las condiciones de operación, particularmente el volumen pequeño de medio fermentativo.

La adición de nutrientes mejoró el desarrollo cinético del proceso en forma ostensible, pues disminuyó el tiempo del proceso.

Un incremento en la concentración inicial de levadura se tradujo en un incremento de productividad del proceso y por ende en tiempos fermentativos más cortos.

Las cinéticas fermentativas presentaron inhibición por sustrato, excepto la octava fermentación, manifestándose este hecho en tiempos de fermentación largos.

Para el intervalo de concentraciones de sustrato inhibitorias, tal efecto no se incrementó sustancialmente al aumentar la concentración inicial de sustrato.

Las concentraciones finales de etanol en todas las fermentaciones se encontraron en el intervalo de concentración obtenido en las fábricas de bebidas alcohólicas.

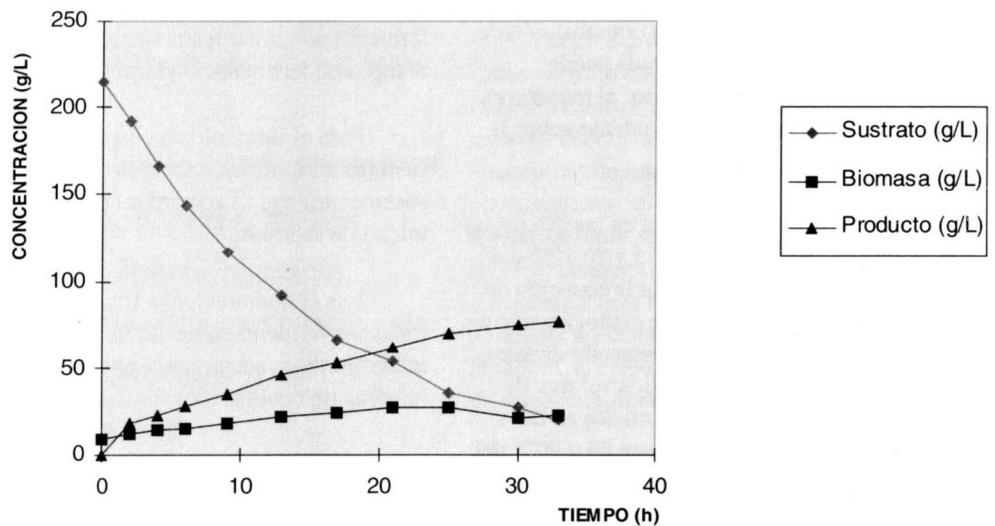
Las fermentaciones presentaron una concentración remanente de sustrato debido a la pérdida de viabilidad celular, relacionada con el efecto inhibitorio por etanol cuando éste alcanza altas concentraciones. Los rendimientos de sustrato para biomasa fueron bajos, típicos del proceso fermentativo de producción de alcohol. La miel clara presentó mejores características fermentativas que la miel oscura.

La novena fermentación presentó las mejores condiciones de operación para la obtención de la bebida alcohólica, se produjo una adecuada concentración final de etanol y una alta productividad de éste. Como característica organoléptica relacionada al color presentó un color oro agradable a la vista, debido a la naturaleza de la miel utilizada (miel clara).

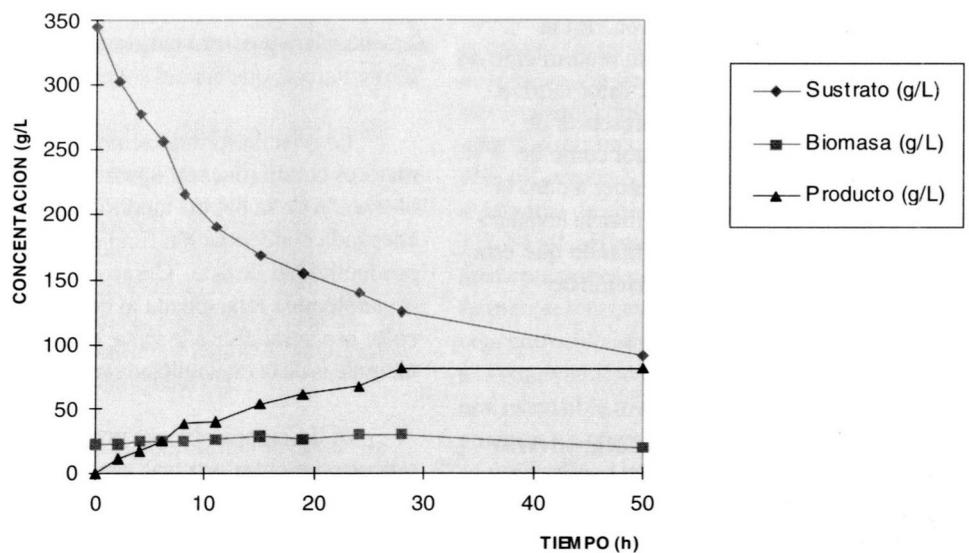
Si deseamos obtener una bebida que presente un color oro más acentuado, se debe utilizar como sustrato miel oscura; para tales efectos se seleccionarán las condiciones de operación de la quinta fermentación, pues son las más adecuadas.

Las dos conclusiones anteriores son recomendadas para bebidas secas; por el contrario, si deseamos una bebida alcohólica dulce sin necesidad de adicionar edulcorantes diferentes al sustrato mismo, se recomienda realizar el proceso con las condiciones de operación de la séptima fermentación.

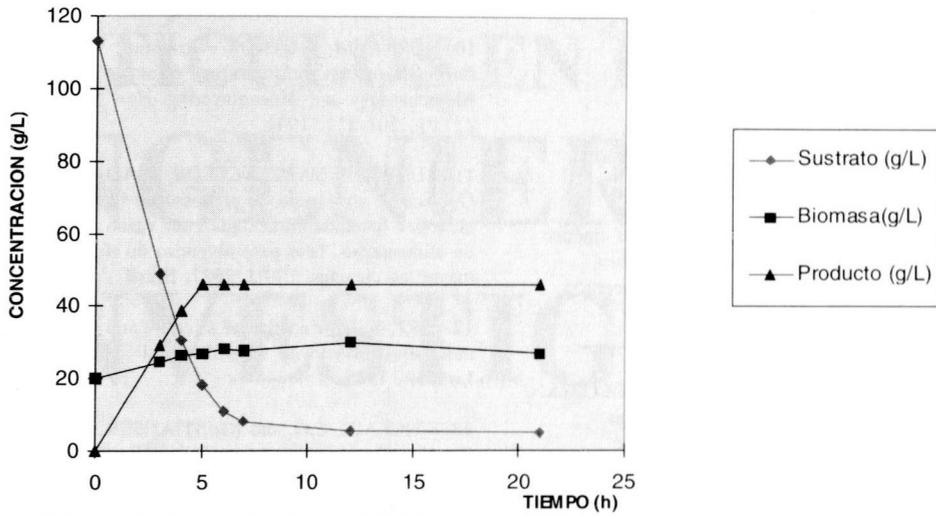
Al evaluar los parámetros de proceso y observando las mejores condiciones de operación, el desarrollo de este proceso puede ser de fácil implementación por los apicultores con miras a diversificar la utilización de la miel, pues no se requieren sistemas de agitación, sino la obtención de levaduras para panificación, la utilización de nutrientes disponibles en el mercado, además del corto tiempo de fermentación.



GRAFICA 1 FERMENTACION NUMERO CUATRO



GRAFICA 2 FERMENTACION NUMERO SIETE



GRAFICA 3 FERMENTACION NUMERO OCHO

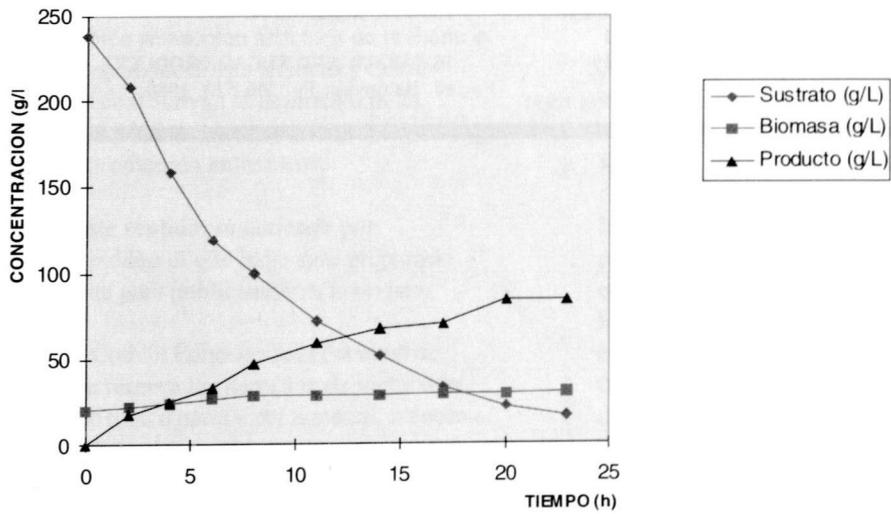


GRAFICO 4 FERMENTACION NUMERO NUEVE

BIBLIOGRAFÍA

1. AIBA, SUICHI, HUMPREY, ARTHUR AND MILLIS, NANCY. Biochemical Engineering 2ª ed. New York. Academic Pteqs 1973.
2. ARIAS, MARIO Y QUICAZAN MARTA. Manuscrito de antecedentes del Proyecto Hidromiel. Medellín 1992.
3. BAILEY, JAMES AND DAVID, OLLIS. Biochemical Engineering Fundamentals. 2 ed. New York. Mc Graw Hill. 1977.
4. CASTAÑO, H.I., J.A. GOMEZ. Estudio cinético y simulación de una fermentación alcohólica utilizando como sustrato miel. Tesis de pregrado Universidad Nacional de (Colombia - Sede Medellín. 1995.
5. CIFUENTES. ADRIANA Y, GARCIA GLORIA. Evaluación de la calidad de la miel de abejas procedente de la zona cafetera del suroeste Antioqueño. Tesis de grado Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 1987.
6. CRANE, EVA. Honey. A comprehensive survey. London, Heinemann. 1979.
7. JONES, R.P. Y OTROS. Alcohol fermentation by yeast- the effects of enviromental and other variables. Process Biochemistry. Pp 42-49. April/ may 1981.
8. LUONG J. H T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. Biotechnology and Bioengineering. New York Vol 27. Pp. 280-285.1985.
9. MAYER. ANNE FRANCOISE. Modelagem e simulacao de uma fermentacao alcoólica em batelada alimentada. Tese para obtencao do título de mestre en ciencias. IRFJ Brasil. 1986
10. NOVAK, M. Y OTROS. Alcoholic fermentation: on the inhibitory effect of ethanol. Biotechnology and Bioengineering. New York. Vol 23. Pp. 201-211. 1981.
11. NUNEZ DE VASCONCELOS, JOAO. Operacao e simulacao do processo de fermentacao alchólica batelada alimentada com vazao variavel de alimentacao. Tese para obtencao do título de mestre en ciencias. UFRJ. 1987. Brasil
12. PIRT, S. J. Principles of microbe and cell cultivation. Blackwell scientific publications. London. 1975.
13. SINCLAIR, C.G. and KRISTIANSEN, B. Fermentationkinetics and modeling. Edited by J.D.BU'LOCK. Open University Press and Taylor and Francis. London. 1987.
14. THIBAUT, JULES Y OTROS. Produccion of ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* under high - pressure conditions. Biotechnology and Bioengineering New York. Vol 30. PD. 74-80. July 1987.
15. TYAGI, R. D. Participation of oxygen in ethanol fermentation. Process Biochemistry. Pp. 136-141. August 1984.
16. SUGAR AND SUGAR PRODUCTS. AOAC. 13ª ed. Baltimore. Pp. 506-522. 1980.