

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS III

GUÍAS FERMENTACIÓN

II-2000

• OBJETIVOS

- Comprender el proceso de fermentación y todos los aspectos relacionados con él.
- Conocer de manera precisa el proceso de fermentación de melaza de caña de azúcar empleando *saccharomyces cerevisiae* como microorganismo, para así poder controlar las variables del proceso adecuadamente.
- Obtener etanol mediante el proceso de fermentación anteriormente nombrado.
- Calcular el rendimiento de la fermentación a partir del alcohol obtenido y de la cantidad de melaza empleada.
- Analizar qué factores afectan el proceso de fermentación en cuanto a su rendimiento y duración.

• MARCO TEÓRICO

La fermentación es un proceso que realizan muchos microorganismos, efectuando reacciones sobre algunos compuestos orgánicos y liberando energía. Hay muchos tipos diferentes de fermentación, pero en condiciones fermentativas solamente se efectúa una oxidación parcial de los átomos de carbono del compuesto orgánico y, por consiguiente, sólo una pequeña cantidad de la energía potencial disponible se libera.

Los conocimientos sobre la fermentación fueron atesorados desde la antigüedad por importantes civilizaciones como la egipcia y la asiria que la emplearon para la producción de bebidas alcohólicas; o como la azteca y la china que la utilizaron en la obtención de productos alimenticios tales como salsas fermentadas. Las técnicas de fermentación se modernizaron a partir de la aparición de técnicas de cultivos puros de células animales y vegetales, al igual de otro tipo de cultivos microbianos. Así, se industrializa la fermentación y da origen a grandes industrias tales como las alimenticias donde se destacan la panificadora y la de bebidas alcohólicas; la industria farmacéutica en el campo de las vacunas, medicamentos, etc., y la industria química que produce ácidos, aldehídos, etc.

La primera explicación bioquímica del proceso por el cual el azúcar en solución acuosa es descompuesto en alcohol y gas carbónico, en virtud de la acción de células vivas de levadura, la dio el químico francés Louis Pasteur, el cual vio que mientras descomponen el azúcar en ausencia de aire, las células de levadura viven y se propagan en el líquido en fermentación y llamó al proceso de la fermentación alcohólica 'vida sin oxígeno'.

La explicación de Pasteur fue modificada por Buchner, quien demostró que podía realizarse la fermentación en una solución acuosa de azúcar por el jugo obtenido prensando células muertas de levadura. Se observó, entonces, que el jugo filtrado de células de levadura que habían sido molidas con arena contenía una sustancia eficaz para descomponer los azúcares, y a esta sustancia activa o mezcla catalizadora se dio el nombre de fermento, enzima o zimasa.

De acuerdo con la interpretación bioquímica hecha por Pasteur, la fermentación se conoce como la desasimilación anaeróbica de compuestos orgánicos por la acción de microorganismos u otras células o de extractos celulares; además, es un conjunto de reacciones bioquímicas a través de las cuales una sustancia orgánica se transforma en otras por acción de ciertos microorganismos (bacilos, bacterias, células de

levadura), que en general van acompañadas de un desprendimiento gaseoso y de un efecto calorífico.

El proceso de fermentación no sólo incluye la desasimilación anaeróbica como la formación de alcohol, butanol-acetona, ácido láctico, etc., sino también la producción industrial de vinagre, ácido cítrico, enzimas, penicilina etc.. Todos estos productos son el resultado de procesos microbianos y se llaman productos de fermentación. Análogamente, el término fermentador no sólo hace referencia a los recipientes en los cuales se realiza la fermentación con exclusión de aire, sino también a los tanques en los cuales se producen oxidaciones microbianas aeróbicas y a los tanques de propagación de levaduras y otros microorganismos en presencia del aire.

La diferencia con la putrefacción radica en que mientras la putrefacción descompone la materia de origen animal y/o vegetal que contiene compuestos nitrogenados, la fermentación realiza descomposición únicamente de material vegetal que no contiene compuestos nitrogenados.

Se conocen centenares de especies de levaduras, bacterias y mohos que producen alcohol, pero sólo dos o tres especies de levadura se aplican industrialmente en la producción de alcohol; su rapidez en la fermentación, su tolerancia de concentraciones elevadas de azúcar y alcohol y su rendimiento elevado de alcohol, hacen que se usen más que las otras. Algunos microorganismos ofrecen más de una aplicación industrial. Las levaduras, por ejemplo, producen alcohol y glicerol partiendo de azúcares, hacen subir la masa en la fabricación del pan y son una fuente de proteínas, vitaminas y enzimas.

Clasificación de las reacciones de fermentación según el agente

Hay dos clases bien definidas que son:

– *Fermentación microbiana*

Promovidas o catalizadas por microorganismos. La reproducción de los microorganismos conlleva a que la reacción tenga un comportamiento autocatalítico siendo la concentración de los microorganismos variable. Dentro de este tipo de reacción hay 2 clases bien definidas:

- ◆ *Cultivos de tejidos o macroorganismos* (células vegetales y animales).
- ◆ *Reactores microbianos en sí* (cultivo de microorganismos).

– *Reacciones enzimáticas*

Catalizadas por enzimas, el agente catalítico no se reproduce y cuando se opera discontinuamente este permanece constante.

Clasificación de las reacciones de fermentación según el consumo de oxígeno

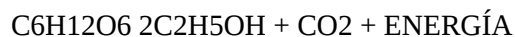
– *Aeróbicas*

Aquí los microorganismos necesitan de oxígeno para poder sobrevivir. Por ejemplo la reacción de transformación de la glucosa



– *Anaeróbicas*

Aquí los microorganismos no necesitan de oxígeno para su supervivencia. Por ejemplo la reacción de transformación de la glucosa por vía glucolítica



Materias primas

– **Solución o caldo nutritivo:** Suelen usarse diversas materias como solución nutritiva, lo importante es que contengan los elementos indispensables para conservar la vida de los microorganismos; ellos son los carbohidratos, nitrógeno y sales adecuadas propias para cada organismo. Estas materias primas se clasifican en:

- Materias amiláceas: tales como los cereales que contienen almidón, tubérculos y raíces.
- Materias celulósicas: tales como madera y sus residuos.
- Materias azucaradas: como los mostos y jugos de diferentes frutas, como la caña de azúcar, remolacha y subproductos de la industria azucarera como melazas y mieles.

En la práctica que se realizará en el laboratorio se empleará la melaza de caña como sustrato. Cuando la cristalización de las sustancias de la industria azucarera es ya imposible, se separan los cristales y el líquido oscuro que fluye con un contenido aproximadamente 50% de azúcar, se denomina melaza.

La composición de las melazas de caña de azúcar varía de un lugar a otro, de acuerdo a la conformación y elementos constituyentes del suelo de cultivo. Por ejemplo se tiene el análisis:

- Sacarosa: 40–45%
- Azúcares Reductores: 10–15%
- No azúcar: 10–12%
- Sustancias minerales: 7–10%
- Nitrógeno Total: 0.3%
- **El Microorganismo:** Tradicionalmente se han empleado las levaduras de las especies *saccharomyces cerevisiae* y *sacc. ovarum*; otros estudios proponen el uso de ciertas bacterias, las *zymomonas*.

Las levaduras son microorganismos pertenecientes al grupo de las criptógamas; se encuentran dentro de los hongos. Como tales, son incapaces de emplear la fotosíntesis para su alimentación; no poseen flagelo por lo que las células individuales son inmóviles entre sí. Son capaces de transformar los hidratos de carbono en alcohol con desprendimiento de anhídrido carbónico.

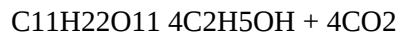
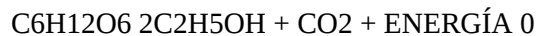
La levadura *Saccharomyces cerevisiae* permite una conversión aproximada del 85% al cabo de 32 horas y del 90% al cabo de 75 horas en la producción de etanol. Este microorganismo tiene un porcentaje en peso de carbono del 45%, de oxígeno del 30.6%, de hidrógeno del 6.8%, y de nitrógeno del 9%. A continuación se presenta los requerimientos de energía en función de gramos de sustrato adecuado para el crecimiento de ella.

Condiciones de crecimiento.	Energía de mantenimiento
	g de célula / (g de sustrato * hora).
Anaeróbico	0.036
Aeróbico	0.022

Características de la fermentación

- **Velocidad de fermentación:** Se determina midiendo la cantidad de azúcar fermentada en la unidad de tiempo por un peso dado de levadura; esta debe ser alta para evitar riesgos de contaminación.
- **Resistencia al alcohol:** Una levadura de alta resistencia al alcohol presenta grandes ventajas técnicas y biológicas, el uso de esa levadura permite obtener mostos con gran riqueza alcohólica, lo que mejora la potencia de la instalación, consiguiendo una destilación económica, puesto que habrá menos consumo de combustible. A una buena levadura industrial no debe perjudicarla en su actividad fermentativa una concentración de 8–9% de alcohol en volumen.
- **Rendimiento:** Es la relación entre el alcohol producido y el azúcar puesto a disposición de la levadura, teóricamente por 100 Kg de melaza se obtienen 33 litros de alcohol.

A partir de las reacciones:



se calcula el alcohol teórico, producido si toda la glucosa y sacarosa presente en el mosto se transforman en etanol. El rendimiento se puede expresar como:

$$R = (\text{alcohol real} / \text{alcohol teórico}) \cdot 1000$$

- **Resistencia:** Además de la resistencia al alcohol, la levadura debe poseer resistencia a la acidez, ya que este parámetro se aumenta en ocasiones para combatir infecciones, igualmente debe resistir los cambios de temperatura.
- **Medio de dilución:** El medio de dilución es generalmente agua, aunque se utilizan otros solventes que no reaccionen químicamente con el medio.

Variables de la fermentación alcohólica y sus efectos sobre el proceso

Con el fin de obtener altos rendimientos en la fermentación alcohólica es necesario considerar ciertos parámetros y realizar un estudio sobre los efectos que en mayor o menor grado alteren la buena marcha del proceso.

1. **Clase de microorganismo:** Los microorganismos más apropiados para la producción de etanol a partir de azúcares son, como ya se dijo, las levaduras del género *saccharomyces* y *kluveromyces* y las bacterias *zymomonas mobilis*.
2. **Concentración del sustrato:** El carbono es suministrado por los azúcares contenidos en la materia prima, siendo la concentración de azúcar un valor que se debe considerar ya que afecta la velocidad de la fermentación, el comportamiento y el desarrollo de las células de la levadura.

Suele ser satisfactoria una concentración de azúcar del 10 al 18%, el valor más corriente es del 12%. Cuando se trabaja con concentraciones de azúcar muy altas, del orden de 22%, se observa una deficiencia respiratoria en la levadura y un descenso de la velocidad de fermentación; por el contrario, al trabajar con concentraciones muy bajas, el proceso resulta antieconómico ya que requiere un mayor volumen para la fermentación. Por esto se utiliza como sustrato la melaza, que tiene de 10 – 15% de azúcar.

3. **Concentración de Etanol:** La levadura es afectada en alto grado por la concentración de alcohol, una concentración alcohólica del 3% ya influye sobre el crecimiento; una concentración de un 5% influye tanto sobre el crecimiento como en la fermentación. Cuando la concentración es del 10%, el crecimiento sufre la paralización total.

4. **Temperatura:** La selección de esta variable es influenciada tanto por factores fisiológicos como por problemas físicos (pérdidas debidas a la evaporación de etanol al trabajar con temperatura elevada).

Se debe tener en cuenta que para cada levadura existe una temperatura óptima de desarrollo, en la cual se muestra activa. Además, se tiene una zona independiente de la temperatura óptima en la cual la levadura aún presenta actividad; a medida que se aleja de la temperatura óptima su actividad disminuye notablemente. Por debajo de la temperatura señalada como mínima y por encima de la máxima, las levaduras continúan viviendo en estado latente, sin embargo, al exponer cualquier levadura a una temperatura de 55 °C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. En el caso de la *saccharomyces cerevisiae* se tiene un desarrollo óptimo entre 28–35 °C, recomendable 30 °C.

5. **pH:** Este es un factor importante en la fermentación, debido a su importancia en el control de la contaminación bacteriana como también al efecto en el crecimiento de las levaduras, en la velocidad de fermentación y en la formación de alcohol. Durante la fermentación la levadura toma el nitrógeno de los aminoácidos orgánicos, perdiendo su carácter anfótero y pasando a ácidos, lo cual origina una disminución del pH del medio. Cuanto más bajo el pH del medio, tanto menor el peligro de infección, pero si se trabaja con pH muy bajos la fermentación es muy lenta, ya que la levadura no se desarrolla de la forma conveniente. Según estudios se halló que el pH más favorable para el crecimiento de la *saccharomyces cerevisiae* se encuentra entre 4.4 – 5.0, con un pH de 4.5 para su crecimiento óptimo.

6. **Concentración de nutrientes:** Como ya se dijo, la presencia de sustancias nutritivas adecuadas es una condición necesaria para el crecimiento y desarrollo de la levadura, siendo su concentración un factor primordial en la actividad vital de la levadura. Las principales sustancias nutritivas y las más influyentes son el nitrógeno, fósforo, azufre, vitaminas y trazas de algunos elementos.

7. **Aireación:** El aire es un factor decisivo en toda fermentación, ya que su presencia hace más vigoroso el crecimiento de la levadura. Hay tres puntos de vista de gran importancia que favorecen el rendimiento debido a una buena aireación:

El libre y constante abastecimiento de oxígeno de cada célula en el sustrato.

La eliminación rápida del CO₂ , porque en concentraciones relativamente pequeñas inhibe el crecimiento.

El mantener en suspensión las células de levadura, a fin de que en la tumultuosidad de la mezcla se renueve constantemente el contacto entre la membrana celular y el sustrato nutritivo.

Las cantidades de aire que se precisan para la producción de levadura, varía entre 275 y 530 pies³/lb de levadura con un contenido de 30% de materia seca. Al comenzar de la fermentación se debe procurar que la aireación no sea muy intensa, porque el contenido alcohólico del medio es escaso y pueden proliferar fácilmente los mohos que atacan a las levaduras del cultivo. Los efectos de la aireación son más críticos en la fermentación en continuo con respecto a la fermentación por cocheda, debido a la necesidad de mantener en crecimiento continuo la levadura, como también una velocidad de fermentación satisfactoria.

Ecuación general de fermentación

Una ecuación general para el proceso de fermentación se puede sintetizar como:

Microorganismo + sustrato más microorganismo + productos metabólicos

Estos productos metabólicos, también llamados metabolitos, son subproductos del crecimiento de los microorganismos y constituyen los materiales de la fermentación útiles al hombre.

Fases de una fermentación

– **Fase lag**

Fase de inactividad de duración variable ya que depende del número de células así como de las características metabólicas de las mismas. Grandes fases lag indican la presencia de sustancias tóxicas, muerte de células o inactividad de éstas.

– **Fase temporal de aceleración**

No ha sido definida matemáticamente pero en ellas las proporciones de las células hijas tienden a alcanzar el 50% de la población total.

– **Fase de crecimiento exponencial**

Allí crecen los microorganismos rápidamente y el crecimiento de la población depende del sustrato inicialmente colocado (melaza).

– **Fase estacionaria**

Aquí ya se ha alcanzado el máximo valor de producción, en esta fase algunas células se dividen y otras mueren donde las células vivas utilizan los compuestos provenientes de las muertas como nutriente, manteniendo la población constante durante la fase.

– **Fase de muerte**

Dado que la población celular presente no se mantiene por sí misma comienza a morir. Tiene un comportamiento exponencial. Muchos procesos en cochada se terminan antes de que inicie esta fase.

Utilidades y ventajas de la fermentación

- La síntesis microbial puede ser el único medio práctico de obtener compuestos complejos.
- Se puede realizar en un solo paso un cambio molecular el cual podría conseguirse por una larga síntesis química.
- Las materias primas usadas en los procesos fermentativos son más baratas.
- Las enzimas del microorganismo pueden evitar condiciones drásticas, algunas veces costosas requeridas en un producto químico.
- En la síntesis microbial se pueden evitar compuestos indeseados debido a que las enzimas son catalizadores muy específicos

Equipos de fermentación

Dependiendo de la forma física en que se encuentre el medio de cultivo se pueden encontrar varias clases que

son:

– ***Fermentador de tanque agitado***

El medio de cultivo es movido interiormente por medios mecánicos.

– ***Fermentador de ciclo***

El medio de cultivo es bombeado externamente.

– ***Fermentador air–lift***

Al medio de cultivo se le inyecta aire para ser agitado, el cual también sirve como fuente de oxígeno para el crecimiento de los microorganismos.

– ***Fermentador de lecho fijo***

Aquí el medio se inmoviliza evitando que los microorganismos se difundan facilitando su recuperación. Es un método económico porque los biocatalizadores son caros. Otras ventajas son:

- Mayor concentración celular, lo que permite una mayor actividad.
- No hay necesidad de remover las células o recircularlas lo que hace la extracción del producto más eficiente.
- Las tasas de flujo pueden ser optimizadas para lograr mejores cinéticas.
- El riesgo de contaminación se reduce debido a la alta densidad celular y la dilución es más rápida.
- Aumento de la estabilidad de las células debido a la inmovilización lo que permite su uso continuo o reutilización en operaciones batch.

Entre los métodos de inmovilización están:

- ***Adsorción:*** Se hace en cubos de madera, antracita, piezas de PVC, etc.. Es el método más utilizado y entre otras características que deben tener se encuentran: no toxicidad sobre las células que afecten negativamente su metabolismo, alta capacidad de retención de células para conseguir altas concentraciones celulares dentro del reactor, que sea inerte bioquímicamente para que no sufra ataque del microorganismo inmovilizado y del medio, resistente a la tensión y las presiones ejercidas por los gases generados, que permita la difusividad de los reactantes y productos formados para minimizar la influencia de la transferencia de masa.
- ***Entrecruzamiento:*** Agentes floculantes como el glutaraldehído y tolueno diisocianato.
- ***Entrampamiento:*** Los organismos se colocan en matrices poliméricas como son la poliacrilamida, alginato de calcio, agar, colágeno, poliestireno, etc.
- ***Microencapsulación:*** las microcápsulas son partículas esféricas donde el líquido o la suspensión es unida por partículas semipermeables. En este caso las células están separadas de la solución por una membrana.
- ***Enlace covalente:*** se une la célula al soporte con un enlace covalente utilizando un agente bi o polifuncional como el glutaraldehído o el isotiocianato.

ESCALAS DE GRAVEDAD ESPECÍFICA

Existen varias escalas en las cuales la gravedad específica de algunas sustancias se expresa en grados y que constituyen relaciones matemáticas arbitrarias. Una de estas escalas es la escala Brix.

ESCALA BRIX: Es una escala arbitraria y expresa el porcentaje en peso de azúcar en una solución. Un grado brix corresponde a 1% en peso de azúcar.

$$(^{\circ}\text{Bx}) \text{ Grados Brix} = 400/G - 400$$

Donde G es la densidad relativa o gravedad específica

• DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO



Figura 1. Cubas de fermentación ubicadas en el Laboratorio de Ingeniería Química

El fermentador es una cuba con tapa, en acero inoxidable, la cual está recubierta por una chaqueta en acero inoxidable, por la cual circula vapor de agua cuando es necesario calentar la solución que contiene la cuba, si por el contrario, es necesario enfriar, tiene una llave que permite el paso de agua fría. Además, la cuba está provista de un desagüe, para cuando se desee lavar o desocuparla. Para evitar fugas, dicho desagüe es sellado con un tapón de caucho.

Figura 2. Esquema de una de las bubas de fermentación ubicadas en el Laboratorio de Ingeniería Química

• **MATERIAL**

- ◆ 30 kg de melaza de caña de azúcar.
- ◆ 50 g de levadura liofilizada.
- ◆ 2.5 g de sulfato de calcio o de amonio.
- ◆ Ácido sulfúrico o ácido fosfórico lo más puro posible, para evitar utilizar cantidades exageradas y evitar que se diluya más la solución de melaza.
- ◆ Hidróxido de sodio
- ◆ Termómetro.
- ◆ Sacarímetro.
- ◆ Potenciómetro.
- ◆ Reloj.
- ◆ Baldes.
- ◆ Agitadores.

Servicios auxiliares:

- Agua de proceso.
- Vapor.
- Aire.

• **PROCEDIMIENTO**

Preparación

- ◆ Limpiar perfectamente el recipiente donde se lleva a cabo la fermentación con detergente. Realizar una esterilización con vapor o agua caliente. Limpiar y esterilizar todos los implementos necesarios para el proceso de fermentación, como son: el balde donde se realizará el inóculo, el agitador utilizado para homogenizar la solución a preparar, las tuberías a utilizar, etc.
- ◆ Una vez lavada la cuba, colocarle el tapón en la salida del fondo, con el fin de evitar el paso de la solución de melaza a la sección de tubería entre ésta y la válvula de salida o desagüe.

Arranque

- ◆ Diluir 30 kg de melaza, (concentración aproximada del 50% peso a peso de azúcares) aproximadamente, en agua, dentro de la cuba. La dilución debe realizarse en cochadas, para obtener una solución homogénea, hasta que los grados Brix de ésta entre 15 y 18. Los grados Brix se miden con el sacarímetro
- ◆ Elevar la temperatura de la solución a 30°C, empleando para ello vapor de agua que fluirá por la chaqueta del reactor, o en su defecto, una resistencia térmica.

- ◆ Acidular la solución de melaza con ácido sulfúrico, agregando poco a poco, hasta obtener un pH aproximado de 4.5.
- ◆ Preparar el cultivo de microorganismos, en un balde esterilizado, a partir de 5 litros de solución de melaza ya preparada, agregando a ella, aproximadamente, 50 g de levadura liofilizada y aproximadamente 2.5 g de sulfato de calcio o amonio.
- ◆ Suministrar aire al cultivo hasta que se empiece a producir CO₂, manteniendo la temperatura a 30°C con ayuda de un baño de agua calentado por vapor o con una resistencia térmica.
- ◆ Agregar el cultivo al reactor manteniendo en todo momento la temperatura aproximada a los 30°C con ayuda de la chaqueta de vapor.
- ◆ Agitar durante 15 minutos la mezcla en el reactor para homogenizar.

Toma de datos

- ◆ Tomar la temperatura de la mezcla cada media hora constatando que su valor no pase de 32°C en cuyo caso se regulará cerrando la llave de entrada de vapor y abriendo la llave del agua de alimentación para que ésta circule por la chaqueta. En caso de que el valor de la temperatura baje de 27°C realizar el proceso contrario, suministrar vapor.
- ◆ Medir cada media hora el pH de la mezcla como parámetro de control, acidulando en caso de que el pH esté por encima de 4.5 y agregando soda cuando este valor esté por debajo de 4.2 (cuando el pH está por debajo de 4.2 se oxida el etanol formando ácido acético).

Terminación

- ◆ Cuando los grados Brix de la mezcla se mantengan en un valor constante durante cierto tiempo, se procede a neutralizar con hidróxido de sodio agregando poco a poco y midiendo el pH hasta conseguir un pH de 7.0 aproximadamente. Dicha neutralización se realiza con el fin de evitar la corrosión en las tuberías cuando se realice la destilación correspondiente.
- ◆ Se procede a abrir la válvula de desagüe de la cuba para llevar la mezcla ya fermentada al calderín del equipo de destilación diferencial, e iniciar la recuperación de etanol (El procedimiento de esta destilación se explicará en el siguiente preinforme).
- ◆ El destilado de esta primera rectificación, se lleva al equipo de destilación por lotes, para obtener etanol a una alta concentración. (El procedimiento de esta operación se explicará en el preinforme correspondiente)
- ◆ Limpiar la cuba donde se realizó la fermentación.

• TABLA DE DATOS

TIEMPO	TEMPERATURA	pH	GRADOS BRIX
--------	-------------	----	-------------

• MUESTRA DE CÁLCULOS

Rendimiento de la fermentación:

Según la teoría, por cada 100 kg de melaza, se debe obtener 33 litros de etanol al 100%, por lo tanto:

Rendimiento = Litros de etanol obtenido/((33/100)*(peso de melaza agregado))

• BIBLIOGRAFÍA

- BROCK, Thomas. MADIGAN, Michael. Microbiología. Sexta edición, Editorial Prentice Hall, México, 1993.

- CAÑÓN, Germán; ALDANA, Orlando. Estudio de la fermentación alcohólica por cochada empleando reactores de lecho fijo. Proyecto de grado para optar por el título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1988
- GODOY, Leonel; HERRERA, Paulino. Diseño de un fermentador modular piloto. Proyecto de grado para optar por el título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1985.
- GOODING, Néstor. Balance de materia. Quinta edición, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1997.
- PALACIO LLANES, Hernán. Fabricación de alcohol. Primera Edición, Salvat Editores, Barcelona, España, 1956.

9

AGUA

AGUA

VAPOR

Salida mosto al equipo de destilación sencilla

•