



**Sistema de propagación de levadura para la elaboración de bebidas alcohólicas en la
cervecería libre de Colombia S.A**

Valentina Giraldo Grisales

Informe de práctica para optar al título de Ingeniera Bioquímica

Tutores

Dalma Elizabeth Marsiglia López, , Magíster (MSc) en Ingeniería química
Andrés Felipe Osorio Henker, Especialista (Esp) en Redes corporativas e integración de
tecnologías

Universidad de Antioquia
Facultad de Ingeniería
Ingeniería Bioquímica
El Carmen de Viboral, Antioquia, Colombia
2021

Cita	(Giraldo Grisales, 2021)
Referencia	Giraldo Grisales, V. (2021). <i>Sistema de propagación de levaduras para la elaboración de bebidas alcohólicas en la cervecería libre de Colombia</i> [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, El Carmen de Viboral, Colombia.
Estilo APA 7 (2020)	



Asesor de prácticas cervecería libre de Colombia: Andrés Felipe Osorio
 Asesora de prácticas Universidad de Antioquia: Dalma Elizabeth Marsiglia



Centro de Documentación Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes

Decano/Director: Jesús Francisco Vargas Bonilla.

Jefe departamento: Lina María González Rodríguez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Tabla de contenido

RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	10
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo general	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. MARCO TEÓRICO	13
3.1. La cerveza	13
3.1.1. Proceso de producción de la cerveza	13
3.1.2. Tipos de cerveza	13
3.1.3. Certificaciones en el proceso de producción de cerveza	14
3.2. Levaduras	14
3.2.1. Importancia	15
3.2.2. Tipos de levaduras	15
3.2.3. Presentaciones	15
3.3. Propagación	16
3.3.1. Sistemas de propagación	16
3.3.2. Conteos celulares	16
4. METODOLOGÍA	17
4.1. Recolección de la información	17
4.2. Planteamiento del procedimiento técnico y viabilidad de la propuesta	17
4.2.1. Inoculación a lote de 2 litros:	17
4.2.2. Conteo celular:	18
4.2.3. Inoculación al fermentador de 22 litros:	18
4.2.4. Verificación de propagación:	18
4.3. Formulación de medios e inoculación	19
4.4. Estandarización del proceso de propagación	20
4.5. Divulgación de resultados, estandarización del proceso y capacitación	20
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	21
5.1. Información de literatura.	21
5.2. Planteamiento del procedimiento técnico y viabilidad de la propuesta	21

5.3.	Adecuación de levadura y levadura usadas	21
5.4.	Crecimiento de la levadura	22
5.4.1.	Propagación a 2 litros	22
5.4.2.	Propagación a 22 litros	22
5.4.3.	Propagación a 300 litros	23
5.5.	Resultados conteo celular	23
5.6.	Estandarización del proceso de propagación	25
5.6.1.	Conteo celular de levadura líquida	26
5.7.	Análisis económico	26
6.	CONCLUSIONES	29
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
8.	ANEXOS	31

Lista de tablas

Tabla 1. <i>Parámetros establecidos para la certificación por el invima.</i>	14
Tabla 2. <i>Composición medios de cultivo</i>	21
Tabla 3. <i>Costos levadura importada vs levadura propagada</i>	27
Tabla 4. <i>Datos conteo celular, disolución 1:100</i>	31
Tabla 5. <i>Datos conteo celular, disolución 1:1000</i>	31
Tabla 6. <i>Datos conteo celular, disolución 1:100</i>	32
Tabla 7. <i>Datos conteo celular, disolución 1:1000</i>	32
Tabla 8. <i>Presupuesto inversión fija – Equipos</i>	33
Tabla 9. <i>Presupuesto inversión fija – material fungible</i>	34
Tabla 10. <i>Presupuesto inversión fija – materiales y reactivos</i>	34
Tabla 11. <i>Presupuesto inversión mensual</i>	35

Lista de gráficas

Gráfica 1. (a), (b). <i>Crecimiento celular de la levadura W 34-70 lager</i>	24
Gráfica 2. <i>Viabilidad levadura W 34-70 lager</i>	25
Gráfica 3. (a), (b). <i>Crecimiento celular de la levadura WY 1056 americana</i>	26
Gráfica 4. <i>Costos de inversión fija</i>	27
Gráfica 5. <i>Gastos mensuales</i>	28

Lista de figuras

Figura 1. (a), (b). <i>Proceso de propagación de levadura (escala a 2, 22 y 300 litros</i>	19
Figura 2. (a), (b). <i>Conteos celulares propagación a 2 litros</i>	22
Figura 3. (a), (b). <i>Conteos celulares propagación a 22 litros</i>	22
Figura 4. <i>Conteos celulares producción de cerveza</i>	23

RESUMEN

La industria cervecera está en búsqueda de conseguir nuevos sabores, olores y texturas que permitan satisfacer a sus clientes, sin embargo, es difícil para una naciente cervecería implementar distintos modelos de producción dados los altos costos en la importación de las levaduras necesarias para el proceso; por ende, se visibilizó la necesidad de plantear un sistema de propagación del microorganismo para minimizar los costos de preparación y hacer que el proceso de producción sea más rentable; para ello se implementó una metodología a escalas de 2, 22 y 300 litros, proceso que se estableció en tres fases; primero la desinfección de equipos, utensilios y espacios, la segunda la formulación e inoculación de los medios de cultivo y finalmente la verificación del crecimiento celular. La ejecución de la propuesta permitió obtener una masa celular de 3000 millones de células y una viabilidad del 70% al finalizar el proceso, las células propagadas presentaron buen tamaño, gran división celular y resultaron aptas para ser reutilizadas. En cuanto a los costos de producción asociados a la implementación del sistema de propagación, se definió que la inversión del montaje del laboratorio se podría recuperar en aproximadamente 6.5 años, la tasa de inversión fija más alta la ocupan la compra de equipos con el 90 %, en cuanto a los costos mensuales, el gasto más representativo es el personal operativo, cercano al 44%. Con los resultados obtenidos al finalizar el desarrollo del proyecto se concluyó que el sistema de propagación de levadura es económicamente viable y que además aporta características representativas en la cerveza.

Palabras clave: Propagación, levadura, conteo celular, cerveza.

ABSTRACT

The brewing industry is in search of new flavors, smells and textures to satisfy the majority of its customers; however, it is difficult for an emerging brewery to implement different production models given the high costs of importing the various yeasts needed for the process; Therefore, the need to propose a microorganism propagation system to minimize preparation costs and make the production process more economical and profitable became apparent; to this end, a propagation methodology was proposed and implemented at 2, 22 and 300 liter scales, which was established in three phases; the first consisted of the disinfection of equipment, utensils and spaces, the second the formulation and inoculation of the culture mediums, and finally the verification of cell growth. The execution of the proposal allowed obtaining a cell mass of approximately 3000 million cells and an approximate viability of 70% at the end of the process; the propagated cells presented good size, great cell division and were suitable for reuse. Regarding the production costs associated with the implementation of the propagation system, it was defined that the investment of the laboratory assembly could be recovered in approximately 6.5 years, the highest fixed investment rate is the purchase of equipment with 90% of the money invested, and, as for the monthly costs, the most representative expense is the operating personnel, close to 44%. With the results obtained at the end of the project, it was concluded that the yeast propagation system is economically viable and that it also provides representative characteristics in beer.

Keywords: Propagation, yeast, cell count, beer.

1. INTRODUCCIÓN

A través de los años se han empleado algunos microorganismos para la elaboración de diferentes sustancias de consumo humano, uno de estos son las levaduras que permiten la fermentación de azúcares para obtener bebidas alcohólicas como la cerveza, el vino y la sidra (Mejía-Barajas et al., 2016). El crecimiento en el consumo de este tipo de bebidas ha generado un gran interés en los aficionados por crear sus propios sabores, dando entonces una nueva estrategia de mercadeo conocida como la fermentación artesanal. Sin embargo, implementar este tipo de propuestas requiere de gran inversión económica, no solo por el montaje de equipos y adecuación de lugares, sino también en la adquisición de las materias primas. Convencionalmente, las células de levaduras utilizadas como inóculo son importadas al país, lo que hace que el proceso de producción sea aún más costoso, pero existe una estrategia de propagación que permite replicar las células de manera controlada evitando la contaminación por parte de otros microorganismos y que ayudaría a disminuir los costos de producción asociados (Albarracín, 2020).

Las investigaciones en el reconocimiento de los mecanismos biológicos de reproducción de la levadura se vienen identificando desde finales del siglo XIX, especialmente en la industria panadera donde este microorganismo juega un papel sumamente importante; siendo la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el modelo más investigado y utilizado en los diferentes procesos biotecnológicos (Suárez-Machín et al., 2016). Con estos descubrimientos se ha dado paso a la implementación de metodologías científicas que permitan realizar una adecuada e inocua producción de la levadura. Aunque la historia de la cerveza se remonta 11.000 años A.C y se consideraba que esta se generaba de un proceso espontáneo, en la actualidad es bien sabido que la levadura es un ingrediente principal para dicho proceso y es sólo en los últimos años y gracias a los avances en la ingeniería genética y el reconocimiento de organismos se ha podido definir ciertos parámetros que permiten generar células de forma masiva que ayuden a la fermentación de los azúcares (Libkind et al., 2012).

Según los reportes realizados por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – Invima a 8 de abril del 2021 en Colombia están registradas 36 cerveceras certificadas (Invima, 2021), siendo Cervecería Libre de Colombia S.A. una de ellas. La cervecera fue creada oficialmente en noviembre de 2013, se ubica en el barrio Colombia en la ciudad de Medellín, además de la planta de producción, tiene disponible un bar donde se consume cerca del 70 % de sus productos, principalmente presenta 3 líneas de cervezas: Libre

Pasión, Libre IPA y Libre Avellana, y eventualmente se preparan algunas ediciones limitadas de cerveza. Actualmente, la cervecería cuenta con una producción aproximada de 600 litros de cerveza semanal, importa viales de células de levadura mensualmente, y está en la búsqueda de favorecer económicamente su proceso de producción artesanal de la cerveza mediante la propagación y mantenimiento del inóculo.

Teniendo en cuenta lo anterior, este proyecto de práctica empresarial tuvo como finalidad implementar un proceso de propagación de levadura que ayudara a disminuir los costos de producción eliminando la importación de levadura, de forma tal que la Cervecería Libre de Colombia S.A estimulara su economía y se beneficiara a los consumidores de este tipo de bebidas. Para ello, su ejecución se llevó a cabo en las instalaciones de la planta de producción de la Cervecería Libre, donde se ejecutó la propagación de las células de *Saccharomyces cerevisiae* iniciando con una levadura seca que permitiera la inoculación de un lote de 2 litros, luego alimentar un lote de 22 litros con el cual se pudiera fermentar hasta 300 litros y finalmente se dejó un protocolo estandarizado para realizarlo sobre cualquier tipo de levadura para futuras propagaciones.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Establecer el sistema de propagación de células de levaduras a una escala de 300 litros utilizada en la elaboración de bebidas alcohólicas en la Cervecería Libre de Colombia S.A.

2.2. Objetivos específicos

- Analizar las restricciones operacionales, económicas y tecnológicas que afecten la ejecución de la propagación de las células de levadura en la cervecería.
- Plantear un procedimiento técnico para la propagación de *Saccharomyces cerevisiae* desde 100 millones de células hasta 3000 millones de células que sirva como inóculo para alimentar un lote de 300 litros de cerveza.
- Proponer un montaje estandarizado para la propagación y mantenimiento de las células de levaduras que permitan su uso continuo en la producción de la cerveza.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. La cerveza

La cerveza es una bebida alcohólica, cuyos ingredientes principales son cereal, lúpulo, agua y levadura (Albarracín, 2020); es un proceso fermentativo en el que se convierten los azúcares provenientes del cereal en alcohol gracias a la intervención de un microorganismo (levadura); el cual además es el encargado de dar el sabor y olor característico a la bebida.

3.1.1. Proceso de producción de la cerveza

La elaboración de la cerveza, lleva consigo un minucioso proceso, que además aporta ciertas características importantes para lograr el objetivo final de la preparación; esta transformación de azúcares en alcohol, empieza con un etapa de malteado; en la que el cereal elegido para el proceso se deja germinar controladamente para activar las enzimas presentes, además esta materia pasa por una fase de tostado, la cual da características de color al producto final, seguidamente se realiza la etapa de molienda y maceración, donde se busca disminuir el tamaño de los granos y se mezcla con agua (ingrediente más abundante en el proceso), después se filtra para obtener la parte líquida (mosto), se hace un proceso de cocción para esterilizar el medio de cultivo y darle algunas características en el sabor de la cerveza, posteriormente se hace la fermentación que es la etapa más importante del proceso, en esta se agregan la levadura para que se dé el proceso de transformación, se agregan los nutrientes, la cantidad mínima de oxígeno y se dan las condiciones óptimas para que el microorganismo pueda cumplir sus funciones metabólicas; finalmente el líquido resultante de todo este proceso se deja en reposo a temperatura bajas para aclarar los sabores y olores del producto final (Verdú Gisbert, 2016).

3.1.2. Tipos de cerveza

El primer tipo de cerveza “Lager” es una bebida de fermentación baja es decir que las levaduras se encuentran en el fondo del reactor, este tipo de cervezas es de apariencia más clara y se conserva en frío; el otro tipo es la cerveza “Ale”, es de fermentación alta, es decir, la levadura realiza su proceso en la parte superior del reactor, presentan un color más oscuro y pueden conservarse a temperaturas más altas, tienen un tiempo de vida mayor (White et al., 2010).

3.1.3. Certificaciones en el proceso de producción de cerveza

Al igual que muchos productos de la industria alimenticia, la cerveza requiere una serie de certificaciones para poder ser distribuida de manera segura; el principal ente de control es el Invima (Instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos); este es el encargado de dictar algunos parámetros que se encuentran establecidos en el decreto 1506 del 2014 y la ley 9 de 1979, los cuales deben cumplirse para conseguir la certificación que indique que tanto el proceso como el producto son seguros para el consumo humano, dentro de los requisitos particulares que se deben cumplir es realizar un análisis bioquímico en el que un laboratorio certificado por el Invima (bioasiel), analice la cerveza para determinar la viabilidad de su producción. En la Tabla 1 se muestran los parámetros, métodos de análisis y especificaciones que se deben cumplir para recibir la certificación del Invima.

Tabla 1. Parámetros establecidos para la certificación por el invima.

Parámetro (unidad)	Método de análisis	Especificaciones del Invima
Coliformes fecales NMP/ml	NTC 4516 de 2009	<3
Coliformes totales NMP/ml	NTC 4516 de 2009	<3
Recuento de aerobios mesófilos totales UFC/ml	Invima CAP 2 NUM 2	100
Recuento de <i>clostridium</i> sulfito reductos UFC/ml	NTC4834 2000	<10
Recuento de mohos y levaduras UFC/ml	NTC 5698 de 2009	5000
Grado alcohólico %v/v	AOAC 935.21. Ed. 19:2012	2,5 – 12,0 Cerveza Artesanal IPA

También se deben realizar pruebas en el agua y el embotellado que se usan.

3.2. Levaduras

Las levaduras son microorganismos unicelulares pertenecientes al reino de los hongos, tienen la capacidad de propagarse rápidamente gracias a sus mecanismos de reproducción asexual (gemación), son extremadamente resistentes a las condiciones ambientales; tienen un tamaño de entre 5 y 10 micrones por lo que es imperceptible al ojo humano sin ayuda de equipos ópticos como el microscopio, o una gran concentración de éstas (un millón de células) (Carrillo, 2007). En la actualidad se conocen cerca de 500 especies de levaduras las cuales a su vez poseen diversas variantes en sus cepas; con respecto a su material genético se logró determinar que este organismo eucariota posee cerca de 6000 genes, repartidos en 16 cromosomas lo que lo hace un organismo relativamente complejo para su manipulación (White et al., 2010).

3.2.1. Importancia

Los microorganismos como las levaduras juegan un papel ampliamente importante dada su capacidad de descomponer compuestos orgánicos en sustancias más simples como los hidratos de carbono, para su posterior conversión en elementos de consumo humano, en la industria alimenticia se utilizan para la elaboración de panes, cervezas, vinos y sidras; en la industria biotecnológica se usan para la obtención de proteínas de importancia clínica e incluso de importancia ambiental - biorremediación (Mejía-Barajas et al., 2016).

3.2.2. Tipos de levaduras

Las especies de levaduras que más se utilizan en la industria cervecera son; *Saccharomyces cerevisiae*, que da origen a una cerveza tipo Ale, *Saccharomyces carlsbergensis*, para la elaboración de cerveza tipo Lager y existe una levadura salvaje del género *Brettanomyces* que también presenta una fermentación tipo Ale, aunque esta última no es muy utilizada por presentar un sabor y olor fuerte y desagradable (White et al., 2010).

3.2.3. Presentaciones

Las levaduras cerveceras comercialmente se presentan de tres formas y su uso depende de las características finales que se desee obtener y la capacidad económica de las cervecerías; la primera es la levadura criogenizada, es uno de los métodos más adecuados para el almacenamiento por grandes periodos de tiempo del microorganismo, sin embargo, también es uno de los más costosos, la técnica consiste básicamente en introducir la levadura en nitrógeno líquido para mantener el metabolismo de la especie lo más lento posible; el segundo método y quizás el más utilizado en la industria cervecera es la levadura seca, lo cual se logra mediante técnicas como secado en lecho fluidizado, pulverización y liofilización, su finalidad es eliminar cerca del 70% del agua y hacer que la levadura se pueda conservar largos periodos de tiempo; finalmente se presenta el cultivo líquido de levadura, el cual se caracteriza por ser una levadura más pura, su tiempo de conservación es de unos pocos meses y consta de mantener el microorganismo suspendido en un medio que contiene los nutrientes y condiciones necesarios para mantenerse viable (Albarracín, 2020).

3.3. Propagación

La propagación es un proceso en que se pretende obtener una masa celular suficientemente alta para alimentar un lote determinado, a partir de una cantidad mínima de células; controlando parámetros como la cantidad de oxígeno y nutrientes que se deben suplementar para un óptimo crecimiento, además de poder determinar y reconocer las diferentes fases por las cuales debe atravesar un cultivo, es decir tener bastante identificada la cinética de crecimiento de las levaduras, sus tiempos de crecimiento y muerte celular (Sierra et al., 1997).

3.3.1. Sistemas de propagación

Generalmente y como en la mayoría de los procesos biotecnológicos existe la posibilidad de realizar los cultivos en lote, lote alimentado y continuó; siendo las dos primeras opciones las más adecuadas para la propagación de la levadura. El proceso en batch consiste en agregar todos los requerimientos nutricionales y la fuente de carbono, una sola vez en el proceso y dejar que las células crezcan por un determinado periodo de tiempo; el segundo proceso o de lote alimentado consiste en agregar medio de cultivo por lapsos de tiempo, esto con la finalidad de que levadura pueda tener todos los elementos necesarios para su óptimo crecimiento (Caicedo et al., 1998). En las cervecerías artesanales es más común tener sistemas por lotes, corriendo el riesgo de que alguno de los nutrientes se agote y el proceso se termine antes de lo previsto, esto debe analizarse mediante la experimentación.

3.3.2. Conteos celulares

Un conteo celular es una herramienta utilizada para monitorear la cantidad y salud de las células que se encuentran dentro de un cultivo, así como su proliferación y viabilidad (Johnston, 2011), y permite también realizar un monitoreo constante con el cual finalmente se pueden determinar las cinéticas de crecimiento de los microorganismos. Los conteos celulares se realizan con la ayuda de un instrumento conocido como la cámara de Neubauer mejorada, la cual se divide en 25 cuadrados de un área de 0.04 mm^2 , y estos a su vez se subdividen en 16 cuadrados pequeños de un área de 0.0025 mm^2 (Marienfeld, 2013) la técnica utilizada consiste en contar 5 de las 25 cuadrados más grandes, considerando los de las esquinas y el central y con ella realizar un promedio estadístico que permita determinar la cantidad de células presentes.

4. METODOLOGÍA

4.1. Recolección de la información

Se busco información científica en diferentes bases de datos que permitió desarrollar una propuesta metodológica, para implementar un proceso de propagación de levadura a diferentes escalas, primeramente, se realizó una propuesta técnica teniendo como base el libro guía “Yeast, the practical guide to beer fermentation” de los autores *Chis White with Jamil Zainasheff* y algunos artículos científicos recuperados de la base de datos de la Universidad de Antioquia y la participación activa de los miembros de la cervecería quienes tienen plenamente identificadas sus necesidades.

4.2. Planteamiento del procedimiento técnico y viabilidad de la propuesta

Después de realizar una metodología detallada de los estudios a diferentes escalas (2 y 22 litros), se presentaron los resultados a la empresa para determinar los elementos que pueden ser obtenidos o de lo contrario cambiar algunos parámetros de dicha metodología por componentes más sencillos y asequibles. Esta propuesta fue planteada conforme a las capacidades y espacios con los que se cuenta en la cervecería, y fue evaluada, revisada y aprobada por los miembros de la cervecería.

4.2.1. *Inoculación a lote de 2 litros:*

Primero se esterilizó el erlenmeyer donde se llevó a cabo el montaje de la propagación, se utilizaron tratamientos químicos y térmicos con tal finalidad. La preparación del medio de cultivo consistió en hervir los dos litros de agua y posteriormente agregar la cantidad de extracto de malta especificada en la formulación de medios; esta mezcla se debe dejar hervir por al menos 10 minutos, suplementar con nutrientes orgánicos (fuente de nitrógeno y algunos oligoelementos), enfriar el medio hasta una temperatura aproximada de 25°C y agregar las levaduras según lo especificado para cada presentación. Con respecto a los requerimientos de oxígeno, se debe garantizar un cabezal de aire en el Erlenmeyer, y agitación magnética para también proporcionar homogeneización al sistema. El tiempo de propagación fue de aproximadamente 48 horas, y se realizó conteo celular para verificar la cantidad de levadura.

4.2.2. *Conteo celular:*

Este paso se realizó con la finalidad de conocer la cantidad celular que se logró obtener del primer plan de propagación. Primeramente se hizo una adecuación de la muestra, la cual debe ser diluida, comenzando con una dilución sugerida de 1:100 (v/v), se realizó una tinción con azul de metileno, se verificó la concentración de células obtenidas y si es necesario se procede a realizar nuevas diluciones, posteriormente se utilizó una cámara de Neubauer, previamente limpia, donde se insertó una inyección de 10 microlitros de la muestra por debajo del cubreobjetos, se observó la muestra en el microscopio a un objetivo de 40X, y las células que fueron contadas son las que se encuentren en el límite superior y borde izquierdo en forma de zigzag. Los cálculos del conteo celular se realizaron con la ayuda del programa MicroBrew Ar, especializado en procesos de producción de cerveza y específicamente en cálculos de cantidad de levadura.

4.2.3. *Inoculación al fermentador de 22 litros:*

Se esterilizó el biorreactor con la ayuda de detergentes, alcohol y agua caliente, se procedió a cargar el fermentador con 20 L de medio de cultivo estéril, preparado previamente, se añadieron los 2 L como inóculo de la fermentación anterior y se dejó crecer por 48 horas, la aireación del sistema se da con la ayuda de una bomba de pecera, esta va conectada a un filtro para esterilizar el aire que entra en contacto con el microorganismo, dicho elemento funciona constantemente por el tiempo de propagación indicado a un flujo de 4 GPH. Se debió realizar nuevamente un conteo celular para definir si se logró el objetivo de la propagación.

4.2.4. *Verificación de propagación:*

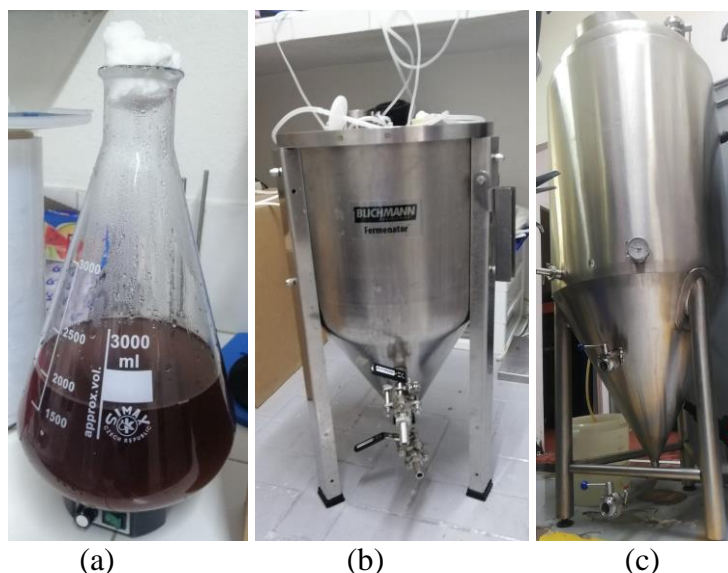
Se verificó que en cada una de las etapas de la experimentación se llegue al rango de valores celulares específicos; es decir en cada una de las etapas el conteo celular debe dar alrededor de $1 \cdot 10^9$ células/ mililitro y tener una viabilidad celular mayor al 70%; si no se logran obtener dichos valores es necesario evaluar los diferentes parámetros explícitos en el proceso y realizar algunas pruebas que permitan mejorar las condiciones de operación.

4.3. Formulación de medios e inoculación

Para la propagación a 2 litros se utilizaron 192 gramos de extracto de malta, se inocularon 11.5 gramos de levadura, previamente adecuada según la presentación y se agregaron 1.5 gramos de nutrientes al medio. El medio fue esterilizado por medio de calor y luego enfriado a una temperatura adecuada para la levadura aproximadamente 25 °C.

En cuanto a la propagación de 22 litros, se necesitaron 2109 gramos de extracto de malta y 9 gramos de nutrientes, a las mismas consideraciones que el cultivo de 2 litros. En la Figura 1 se muestran las escalas y los diferentes materiales en los cuales se realizó la propagación; en la escala más pequeña el proceso se realizó en un Erlenmeyer de vidrio sobre un sistema de agitación; el proceso a 22 litros se realizó en un fermentador de acero inoxidable con capacidad de llenado de 25 litros con aireación por tubería interna conectada a una bomba; y finalmente el proceso de producción de cerveza se realizó en un fermentador de 600 litros de capacidad diseñado en acero inoxidable, con termocupla, chaqueta y sistema de inyección de aire.

Figura 1. (a), (b). *Proceso de propagación de levadura (escala a 2 litros, 22 litros y 300 litros respectivamente)*



4.4. Estandarización del proceso de propagación

Al alcanzarse la masa celular deseada con el sistema de propagación propuesto, se comenzó a trabajar con otras presentaciones de levadura para que finalmente quede establecido un protocolo de propagación que puede ser usado para cualquier tipo de levadura, realizando únicamente los cálculos correspondientes para determinar la cantidad de levadura necesaria para el proceso. En cuanto al análisis económico, la investigación se enfocó en la valía de los equipos que serán necesarios para realizar el proceso de propagación, sin embargo, estos fueron propuestos para futuras inversiones del establecimiento.

4.5. Divulgación de resultados, estandarización del proceso y capacitación

Se presentaron los resultados obtenidos con el modelo de experimentación propuesto, se entregó a la empresa el documento final de estandarización del proceso de propagación y el análisis económico que se realizó para que puedan implementarlo en futuras inversiones. Además, se hizo la respectiva capacitación al personal.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1. Información de literatura.

Según los reportes literarios, es posible implementar un cultivo de levadura, desde una escala de laboratorio, es decir cultivos en cajas de Petri conocidos en la industria cervecera como slants, sin embargo en estas etapas es de suma importancia tener un mayor control de la inocuidad del entorno, del medio y como tal del cultivo, necesitando entonces equipos especializados como autoclaves, incubadores, entre otros elementos que hacen que los costos del proceso sean mayores; por ende se procede a redactar y justificar una metodología a una escala de mayor tamaño.

5.2. Planteamiento del procedimiento técnico y viabilidad de la propuesta

Dados los requerimientos de la empresa, se decidió comenzar la fermentación a una escala de 2 litros, para la formulación de los medios se utiliza el programa yeast pitch rate, el cual será un aliado estratégico para conocer las etapas que son necesarias para la propagación. En la Tabla 2. *Composición medios de cultivo*, se presentan las composiciones y cantidades de los medios de cultivo en cada una de las escalas propuestas.

Tabla 2. *Composición medios de cultivo*

Volumen (litros)	Extracto de malta (gramos)	Nutrientes (gramos)	Levadura
2	191,7	1	11,5 gramos
22	2108,9	6	2 litros
300	65000	80	22 litros

5.3. Adecuación de levadura y levadura usadas

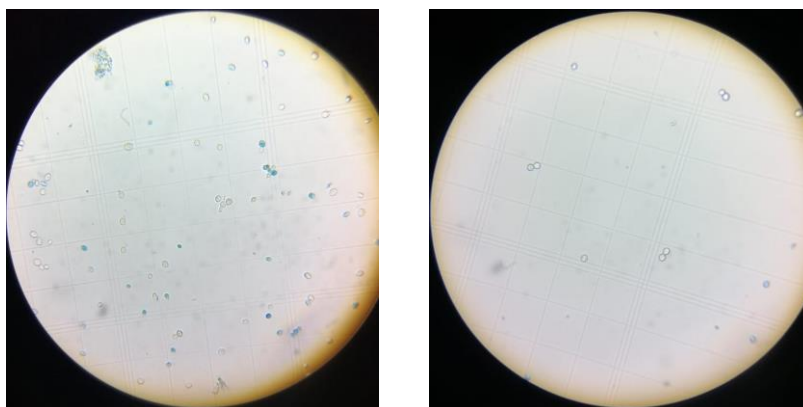
Levadura seca: Se hidrató en un volumen 10 veces mayor a su peso y se dejó por 30 minutos. La levadura usada para esta propagación es fabricada por la empresa Fermentis y su nombre comercial es W 34/70, esta es una levadura tipo lager que permite obtener cervezas de un estilo floral y con aromas frutales.

5.4. Crecimiento de la levadura

5.4.1. Propagación a 2 litros

El proceso de propagación comienza con una densidad celular de aproximadamente 10 billones de células por cada gramo inoculada; como se observa en la Figura 2, las células en esta primera fase tienen un tamaño pequeño y no se logra identificar división celular, aproximadamente a las 48 horas de propagación se pueden observar las primeras divisiones celulares.

Figura 2. (a), (b). *Conteos celulares propagación a 2 litros (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)*



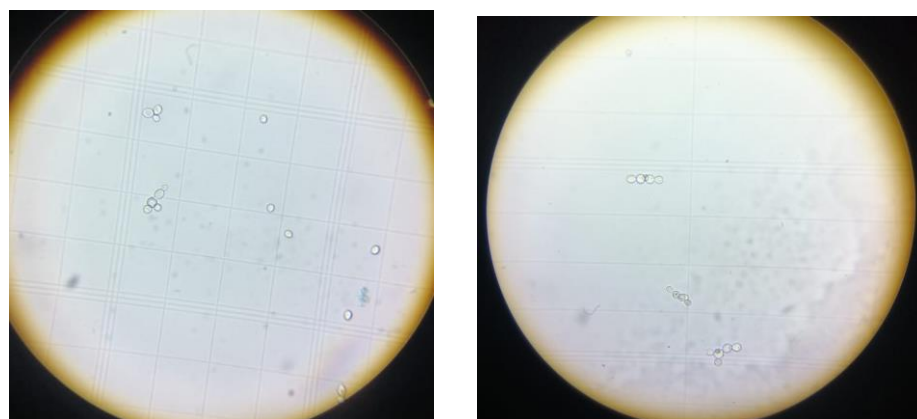
(a)

(b)

5.4.2. Propagación a 22 litros

Para proceder a inocular a este tamaño es necesario que el conteo celular sea mayor a 1×10^9 células por mililitro, como se observa en la Figura 3, las células en esta etapa se logran ver un poco más grandes y con buena reproducción celular.

Figura 3. (a), (b). *Conteos celulares propagación a 22 litros (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)*



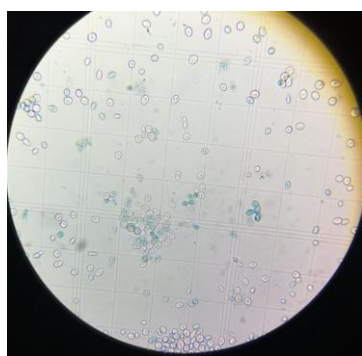
(a)

(b)

5.4.3. Propagación a 300 litros

Al igual que en la etapa anterior el criterio de inoculación es tener una densidad celular mayor a 1×10^9 células por mililitro, en esta etapa se puede verificar que tan verídica fue la propagación mediante diferentes parámetros, a nivel microbiológico, son células de mayor tamaño, con una excelente división celular, como se logra observar en la Figura 4; se obtiene gran cantidad de barro celular que permite identificar mayor cantidad de células en el conteo celular; además en esta etapa se da la elaboración de la cerveza, la cual gracias a las propiedades físicas-químicas; como el olor, sabor e incluso color, permiten determinar si se dio un buen proceso de fermentación.

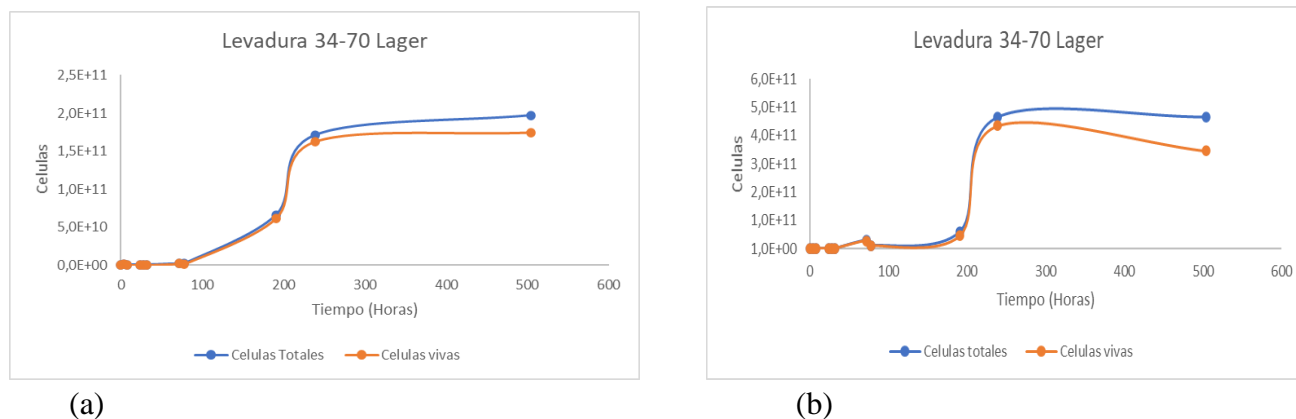
Figura 4. *Conteos celulares producción de cerveza*



5.5. Resultados conteo celular

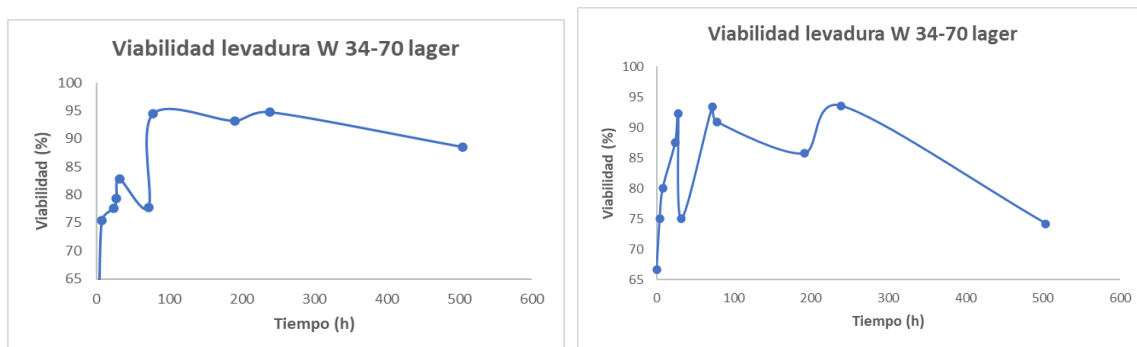
La levadura usada para la propagación es de la marca comercial Fermentis y se encuentra en el mercado como levadura W 34-70 lager la cual genera aromas afrutados y florales a la cerveza y un sabor fresco. En la Gráfica 1. (a), (b). *Crecimiento celular de la levadura W 34-70 lager (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)*, se presenta el crecimiento de la levadura en el eje Y versus el tiempo de propagación en el eje X, la línea azul representa el conteo celular total, es decir la cantidad de células que fueron visibles en la cámara de Neubauer y la línea roja hace referencia a las células que están vivas y viables.

Gráfica 1. (a), (b). Crecimiento celular de la levadura W 34-70 lager (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)



En la gráfica anterior se puede observar que la levadura presenta una especie de crecimiento diauxico y aunque este no se da por la existencia de varias fuentes de carbono, si lo hace por la renovación de medio de cultivo presentándose como si fuera un cultivo que funciona como un sistema semibacht en el que cada cierto periodo de tiempo se agrega mayor contenido de extracto de malta y nutrientes para mejorar las condiciones del microorganismo. Es importante resaltar de la gráfica que al final del proceso de propagación se logró alcanzar el objetivo propuesto de obtener una masa celular de 3000 millones de células, demostrando con ello que el sistema implementado fue exitoso, cabe resaltar que aproximadamente a las 600 horas de propagación se comienza a observar la fase de muerte celular, llegando entonces a la conclusión de que el microorganismo a finalizado su ciclo.

En la Gráfica 2 se presentan la relación entre la viabilidad y el tiempo de propagación, en esta se logra observar que la viabilidad crece en las primeras horas del proceso en cada una de las escalas pero a medida que se agota el medio de cultivo esta disminuye, demostrando con esto que es necesario cambiar de escala o en su efecto agregar mayor cantidad de fuente de carbono; es importante que al momento de renovar el medio de cultivo la viabilidad este por encima del 70% para que esta pueda recuperarse fácilmente; los tiempos destinados para cambiar la escala fueron a las 32 horas, a las 78 horas y los 21 días el cual corresponde al tiempo límite de elaboración de cerveza; la viabilidad más bajita reportada se da a la hora cero de propagación debido a que la levadura se encuentra en un estado de latencia y apenas comienza a adaptarse al medio de propagación, la viabilidad más alta reportada se aproximadamente a los 10 días pues en este tiempo la levadura es mucho más activa para poder realizar la transformación de los azúcares en alcohol.

Gráfica 2. Viabilidad levadura W 34-70 lager (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)

5.6. Estandarización del proceso de propagación

Después de que se logro realizar la propagación de la levadura en presentación seca con buenos resultados, se procede a experimentar con otras presentaciones de la levadura, incluyendo el uso de la levadura seca recuperada.

Levadura liquida: Básicamente su acondicionamiento es dejarla fuera de refrigeración por aproximadamente 2 horas. El tipo de levadura usada es fabricada por la casa comercial Wyeast, se encuentra como levadura liquida Wyeast WY 1056 – americana, permite elaborar cervezas secas y con sabores cítricos

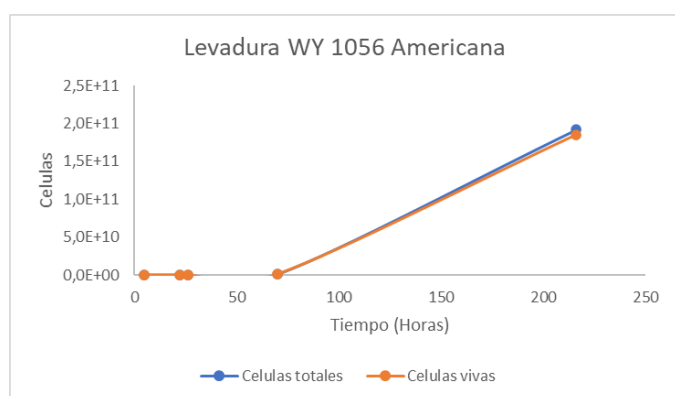
Levadura recuperada: Transcurrido el tiempo de fermentación y producción de la cerveza; es necesario sacar la levadura del biorreactor y disponerlo en un recipiente que este debidamente esterilizado, se lleva a refrigeración y se debe utilizar lo antes posible; en este proceso se recupera aproximadamente 1 litros de levadura, y por la gran cantidad de biomasa se opta por comenzar una propagación a una escala mayor, es decir de 22 litros.

Además de las levaduras ya mencionadas la propagación se pudo realizar con diferentes marcas comerciales y presentaciones entre las cuales se tiene; verdant ipa que es una cepa obtenida propiamente de una cervecería artesanal (Falmouth, Reino unido), la cual se presenta como una cepa capaz de dar sabores cítricos a la cerveza; la bohemian lager que presenta la característica de dar sabores afrutados y frescos a la producción.

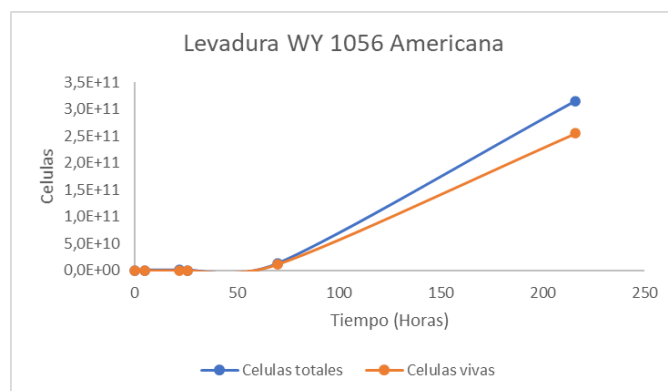
5.6.1. *Conteo celular de levadura líquida*

La levadura WY 1056 Americana es una levadura que se encuentra en presentación líquida, en la Gráfica 3, se relacionan el número de células y el tiempo de propagación, donde las líneas azules son las células totales que se pudieron observar en el microscopio y las líneas naranja son las células vivas que se lograron determinar en la cámara de Neubauer; en esta gráfica se logra observar que el microorganismo presenta un crecimiento lineal, dada la gran cantidad de biomasa inicial; al igual que el cultivo de levadura seca se logran alcanzar los objetivos propuestos de obtener 3000 millones de células al finalizar el proceso de propagación, cabe resaltar que no se logra determinar la fase de muerte del microorganismo, por lo cual se puede concluir que la cinética podría continuar por un periodo de tiempo más amplio.

Gráfica 3. (a), (b). *Crecimiento celular de la levadura WY 1056 americana (Disoluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente)*



(a)



(b)

5.7. Análisis económico

El análisis económico se establece para determinar los costos que conlleva el montaje de un laboratorio especializado para la propagación de la levadura comparado con los costos que se asumen hasta el momento por la compra del microorganismo; también es importante destacar que con la implementación de esta zona en la planta se pueden realizar otro tipo de estudios microbiológicos, como los requeridos para la certificación del Invima. En la Tabla 3. *Costos levadura importada vs levadura propagada* se hace un comparativo entre los costos de producción de inocular el fermentador de 300 litros con levadura importada y los costos de una propagación de levadura.

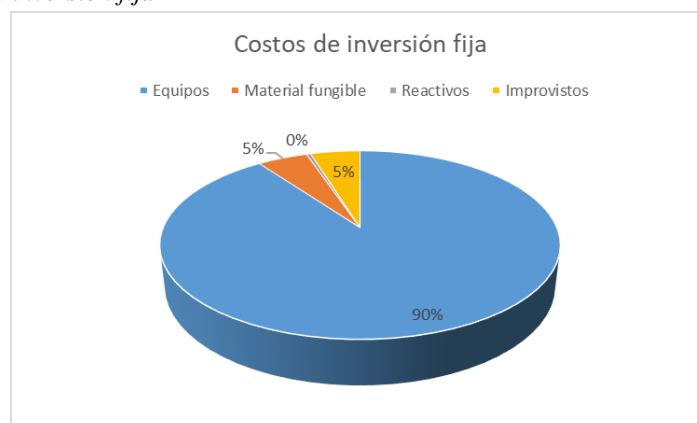
En esta tabla se puede determinar que los costos de operación por batch son menores si se utiliza una levadura importada; sin embargo el costo de servicios y personal se analiza como valor único mensual, mientras que el costo de la levadura y del medio de cultivo varían en cada uno de los batch, es en este aspecto donde se logra ver reflejado las ganancias de la propagación con un valor de \$237.500 en cada uno de los lotes es decir una ganancia neta mensual de \$950.000, que al año suman \$11.400.000 demostrando entonces que la inversión por el montaje del laboratorio se podrá recuperar aproximadamente a los 6,5 años de operación

Tabla 3. Costos levadura importada vs levadura propagada

Costos por batch de 300 Litros		
PRECIOS/TIPO INOCULACIÓN	Levadura importada	Levadura propagada
Valor levadura	\$ 280.000	\$ 16.000
Valor medio de cultivo	\$ 394.500	\$ 421.000
Requerimientos energéticos	\$ 832.890	\$ 832.890
Servicios Técnicos y operador	\$ 1.500.000	\$ 3.000.000
Muestras de cerveza	\$ 335.104	\$ -
Total	\$ 3.342.494	\$ 4.269.890

Además del comparativo realizado entre los dos sistemas de inoculación es conveniente considerar la inversión que se deberá tener para el montaje de un laboratorio que permita un mejor modelo propagación, incluyendo la escala a nivel de cajas petri, la Gráfica 4 permite determinar cuáles son los elementos que mayor inversión requieren

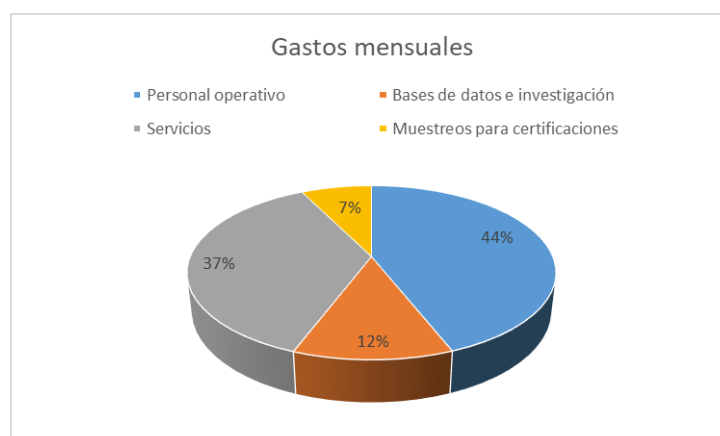
Gráfica 4. Costos de inversión fija



Esta gráfica pretende mostrar los porcentajes de inversión fija que se deben considerar; es decir cuáles de los elementos tienen mayor relevancia en el proceso de montaje del laboratorio. Como se presenta los equipos tienen 90% de los costos, seguido del material fungible y los imprevistos con un 4,8% y finalizando con los reactivos que tiene un porcentaje del 0,4. En el anexo número 3 se especifican cada uno de estos gastos.

En la Gráfica 5 se presentan los porcentajes de los costos mensuales que se deben considerar para la implementación del laboratorio, siendo el valor de mayor relevancia el del personal con el 44%, seguido de servicios (Luz, agua e internet) con el 37%, posteriormente el uso de bases de datos e investigación con el 12% y finalizando con los muestreos mensuales para certificaciones que alcanzan el 7% de los costos. En el anexo 4 se encuentran especificados cada uno de estos gastos.

Gráfica 5. *Gastos mensuales*



6. CONCLUSIONES

El proceso de propagación de cerveza resulta ser muy viable y asequible, al finalizar las etapas se logra obtener un producto con características similares, incluso mejores que las propuestas por el distribuidor de la levadura, estas están reflejadas en las percepciones visuales, de sabor y olor que presenta cada una de las indicaciones de la levadura, es decir se logran identificar sabores y olores más puros e identificables y tiene una apariencia más limpia y transparente.

En cuanto a la cantidad de células obtenidas, se logra alcanzar los 3000 millones de células que se requieren para un buen proceso de fermentación y aunque no siempre se comience con una buena viabilidad celular, es importante resaltar que este microorganismo tienen una excelente capacidad de recuperación y crecimiento, haciendo entonces que este no sea un factor limitante para el proceso de propagación; también es importante mencionar que aunque se trató de controlar al máximo las condiciones de temperatura para la estabilidad del microorganismo, este parámetro no fue muy estricto y sin embargo se lograron buenos resultados al final del proceso, al igual sucedió con la cantidad de oxígeno que debía entrar al sistema, en la escala de 2 litros solo fue implementado con la cabeza de aire disponible en el Erlenmeyer y el de 22 litros con una bomba, dispuesta con un filtro.

El análisis económico permite determinar que la mayor inversión se debe realizar en torno a los equipos que es cerca del 90% de los costos fijos, sin embargo, dicha inversión deberá ser distribuida aproximadamente a los 10 años de depreciación de los equipos; por otro lado, en cuanto a los gastos mensuales el rubro de mayor costo es el del personal encargado del laboratorio que es aproximadamente el 44% de los gastos. En cuanto a la comparación entre la implementación de un laboratorio para la propagación de la levadura y la importación de esta, se podría decir que la inversión que se debe realizar para el montaje del laboratorio es de aproximadamente \$ 75.000.000 pesos los cuales se logran recuperar aproximadamente a los 6.5 años de operación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarracin, katty G. (2020). *Estudio de parametros para la propagación de las cepas de levadura cervecera. Saccharomyces cerevisie Y Saccharomyces calsborgensis Para la fabricación de cerveza artesanal.*
- Caicedo, L., Sierra, J., & Hoyos, H. (1998). Estudio comparativo de cuatro sistemas de propagación de levadura cervecera por lote alimentado. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1(1), 51–56
- Carrillo, L. A. C. (2007). Manual de microbiología de alimentos. In *Alimentación en España.*
- Invima. (2021). *Establecimientos Certificados En Buenas Prácticas De Manufactura - Bpm.* 19, 1–5.
- Johnston, G. (2011). Innovando la ciencia del conteo celular. *Pharmaceutical Technology*, 9(Innovando la ciencia del conteo celular). https://www.pharmatechespanol.com.mx/articulo/394.innovando_la_ciencia_del_conteo_celular
- Libkind Frati, D., & Collins, S. E. (2012). El origen de la cerveza: Levaduras de cerveza. Orígenes y domesticación. Web
- Mejía-Barajas, J. A., Montoya-Pérez, R., Cortés-Rojo, C., & Saavedra-Molina, A. (2016). Levaduras Termotolerantes: Aplicaciones Industriales, Estrés Oxidativo y Respuesta Antioxidante. *Informacion Tecnologica*, 27(4), 3–16. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000400002>
- Marienfild. (2013). *Rejillas de recuento.* 58–62. http://www.marienfild-superior.com/index.php/technical-information-402.html?file=tl_files/Infomaterial/Zeichnungen/descripcion-reticulos.pdf
- Sierra, J., Caicedo, L., & Hoyos, H. (1997). Desarrollo y Verificación de un Modelo Matemático para el Crecimiento de Levadura Cervecera. In *Ciencia e Ingeniería Neogranadina* (Vol. 5, Issue 0). <https://doi.org/10.18359/rcin.1531>
- Suárez-Machín, 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.
- White, C., & Zainasheff, J. (2010). *Yeast: the practical guide to beer fermentation.* Brewers Publications.

8. ANEXOS

Anexo1. Datos propagación levadura Fermentis W 34/70 Lager (Seca)

Tabla 4. Datos conteo celular, disolución 1:100

1:100				
Volumen (Litros)	Tiempo (Horas)	Células Totales	Células vivas	Viabilidad (%)
2	0	$2,90 \cdot 10^8$	$2,25 \cdot 10^8$	61,24
	4	$1,05 \cdot 10^9$	$6,40 \cdot 10^8$	63,89
	8	$3,25 \cdot 10^8$	$2,45 \cdot 10^8$	75,38
	24	$2,90 \cdot 10^8$	$2,30 \cdot 10^8$	77,59
	28	$5,40 \cdot 10^8$	$3,45 \cdot 10^8$	79,31
	32	$3,20 \cdot 10^8$	$2,65 \cdot 10^8$	82,81
23	72	$1,80 \cdot 10^9$	$1,70 \cdot 10^9$	77,78
	78	$1,80 \cdot 10^9$	$1,40 \cdot 10^9$	94,44
300	191	$6,60 \cdot 10^{10}$	$6,15 \cdot 10^{10}$	93,18
	239	$1,71 \cdot 10^{11}$	$1,62 \cdot 10^{11}$	94,74
	504	$1,97 \cdot 10^{11}$	$1,74 \cdot 10^{11}$	88,55

Tabla 5. Datos conteo celular, disolución 1:1000

1:1000				
Volumen (Litros)	Tiempo (Horas)	Células Totales	Células vivas	Viabilidad (%)
2	0	$4,00 \cdot 10^8$	$3,50 \cdot 10^8$	66,67
	4	$4,00 \cdot 10^8$	$3,00 \cdot 10^8$	75
	8	$6,50 \cdot 10^8$	$6,00 \cdot 10^8$	80
	24	$7,50 \cdot 10^8$	$5,00 \cdot 10^8$	87,5
	28	$1,00 \cdot 10^9$	$8,00 \cdot 10^8$	92,3
	32	$4,00 \cdot 10^8$	$3,00 \cdot 10^8$	75
23	72	$3,00 \cdot 10^{10}$	$2,80 \cdot 10^{10}$	93,33
	78	$1,10 \cdot 10^{10}$	$1,00 \cdot 10^{10}$	90,91
300	191	$6,00 \cdot 10^{10}$	$4,50 \cdot 10^{10}$	85,71
	239	$4,65 \cdot 10^{11}$	$4,35 \cdot 10^{11}$	93,55
	504	$4,65 \cdot 10^{11}$	$3,45 \cdot 10^{11}$	74,19

Anexo2. Datos propagación levadura Wyeast WY 1056 – americana (Líquida)**Tabla 6.** *Datos conteo celular, disolución 1:100*

1:100				
Volumen (Litros)	Tiempo (Horas)	Células Totales	Células vivas	Viabilidad (%)
2	0			
	5	9,00*10 ⁷	8,50*10 ⁷	94,44
	22	6,86*10 ⁷	5,94*10 ⁷	86,36
	26	1,00*10 ⁸	8,50*10 ⁷	85
23	70	1,28*10 ⁹	1,17*10 ⁹	91,3
300	216	1,92*10 ¹¹	1,85*10 ¹¹	96,09

Tabla 7. *Datos conteo celular, disolución 1:1000*

1:1000				
Volumen (Litros)	Tiempo (Horas)	Células Totales	Células vivas	Viabilidad (%)
2	0	3,93*10 ⁸	3,57*10 ⁸	90,91
	5	4,00*10 ⁸	3,50*10 ⁸	87,5
	22	5,50*10 ⁸	4,00*10 ⁸	76,78
	26	3,00*10 ⁸	2,00*10 ⁸	66,47
23	70	1,30*10 ¹⁰	1,20*10 ¹⁰	92,31
300	216	3,15*10 ¹¹	2,55*10 ¹¹	80,95

Anexo3. Análisis económico de inversión fija**Tabla 8. Presupuesto inversión fija – Equipos**

PRESUPUESTO EQUIPOS		
RUBROS	UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA	
	Recurso en especie	
	Valor	
Estufa 105°C	\$	2.000.000
Balanza precisión 2000 gr	\$	600.000
Plancha de calentamiento	\$	800.000
pHmetro	\$	625.000
Agitador orbital con control de temperatura	\$	3.000.000
Nevera refrigeradora 4°C	\$	5.000.000
Centrifuga	\$	1.200.000
Autoclave	\$	2.000.000
Espectrofotómetro	\$	5.000.000
Cámara de flujo laminar	\$	7.000.000
Destilador de agua	\$	6.000.000
Difusor	\$	128.900
Filtro	\$	55.000
Cámara de Neubauber	\$	480.000
Bomba de pesera	\$	125.000
Microscopio óptico	\$	2.000.000
Estufa incubadora 35°C	\$	10.000.000
Balanza de peso seco	\$	520.000
Medidor de oxígeno disuelto	\$	1.400.000
Rotámetro	\$	145.000
Fermentador 22 L	\$	20.000.000
Total equipos	\$	68.078.900

Tabla 9. *Presupuesto inversión fija – material fungible*

PRESUPUESTO EQUIPOS	
RUBROS	UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
	Recurso en especie
	Valor
Papel aluminio	\$ 7.000,00
Beaker 500 mL	\$ 90.000,00
Agitador de vidrio	\$ 85.000,00
Agitador magnético	\$ 660.000,00
Pipeta paster	\$ 24.000,00
Erlenmeyer 500 mL	\$ 10.600,00
Falcon	\$ 448.000,00
Erlenmeyer de 2000 mL	\$ 30.000,00
Tubos de ensayo (Tampón)	\$ 202.000,00
Gradilla	\$ 27.000,00
Micropipeta (1000 µL)	\$ 760.000,00
Puntas para micropipeta (1000 µL)	\$ 33.500,00
Celdas de espectrofotómetro	\$ 52.000,00
Micropipeta (20 µL)	\$ 380.000,00
Puntas para micropipeta (20 µL)	\$ 25.000,00
Asa de siembra	\$ 17.500,00
Mechero	\$ 210.600,00
Vinipel	\$ 37.100,00
Caja petri	\$ 3.100,00
Erlenmeyer 100 mL	\$ 7.700,00
Erlenmeyer 250 mL	\$ 29.600,00
Algodón	\$ 13.900,00
Gasa	\$ 14.500,00
Eppendorf	\$ 40.000,00
Micropipeta (5 µL)	\$ 380.000,00
Caja puntas micropipeta (5 µL)	\$ 25.000,00
Cubreobjetos	\$ 33.000,00
Total	\$ 3.646.100,00

Tabla 10. *Presupuesto inversión fija – materiales y reactivos*

PRESUPUESTO MATERIALES Y REACTIVOS	
RUBROS	UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
	Recurso en especie
	Valor
Nutrientes	\$ 30.000
Agua destilada	\$ -
Alcohol etílico	\$ 75.000
Extracto de malta	\$ 100.000
Aceite de inmersión	\$ 25.000
Ácido peracético	\$ 28.000
Azul de metileno	\$ 50.000
Inoculo de levadura	\$ 16.000
Total materiales y reactivos	\$ 313.000

Anexo4. Análisis económico inversión mensual**Tabla 11.** *Presupuesto inversión mensual*

PRESUPUESTO MENSUAL	
Rubros	UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
	Recurso en especie
	Valor
Personal operativo	\$ 2.000.000
Bases de datos e investigación	\$ 536.700
Servicios	\$ 1.675.000
Muestras para certificaciones	\$ 335.104
Total	\$ 4.546.804