

**DISEÑO CONCEPTUAL DE UN PROCESO PARA ELABORACIÓN DE UN  
PRODUCTO FUNCIONAL A PARTIR DE *Ganoderma lucidum***

**JENNYFER PUERTA MARÍN  
PAULA ANDREA ZAPATA CARDONA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
UNIVERSIDAD EAFIT  
MEDELLÍN  
2006**

**DISEÑO CONCEPTUAL DE UN PROCESO PARA ELABORACIÓN DE UN  
PRODUCTO FUNCIONAL A PARTIR DE *Ganoderma lucidum***

**JENNYFER PUERTA MARÍN  
PAULA ANDREA ZAPATA CARDONA**

**Proyecto de grado para optar al título de  
Ingeniero de Procesos**

**ASESOR  
ALEX ARMANDO SÁEZ VEGA  
Químico MSc. en Biotecnología**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
UNIVERSIDAD EAFIT  
MEDELLÍN  
2006**

Nota de aceptación

---

---

---

Jurado

---

Jurado

---

Jurado

Ciudad y fecha

*A Dios por todas las oportunidades  
brindadas.*

*A nuestros familiares por el apoyo y la  
paciencia que nos brindaron, porque  
gracias a ellos se pudo hacer realidad  
este sueño.*

*A los profesores que nos orientaron  
durante este proceso.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores expresan sus agradecimientos a todas las personas que colaboraron en la realización de este proyecto:

Alex Armando Sáez V, candidato a doctorado. Profesor Universidad EAFIT.

Valeska Villegas E., Msc., Profesora Universidad EAFIT.

Personal de los laboratorios de Ingeniería de Procesos, Edgar Arbelaez, Jhon Estrada y especialmente Sigifredo Cárdenas encargado del laboratorio de Biotecnología.

Catalina Giraldo E., Ingeniera de Procesos. Profesora Universidad EAFIT.

Luz Deisy María Palacio., Ingeniera de Procesos. Profesora Universidad EAFIT.

Ana Sofía Hincapié C., Ingeniera de Procesos. Profesora Universidad EAFIT.

Kevin G. Molina, Msc. Ingeniero Químico, Profesor Universidad EAFIT.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE TABLAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE GRÁFICOS	III
LISTA DE ANEXOS	IV
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 Cultivo de <i>G. lucidum</i>	3
1.2 Componentes farmacológicos activos del <i>Ganoderma lucidum</i>	4
1.3 Edulcorantes	4
1.3.1 La estevia	4
1.3.2 El aspartame	5
1.3.3 La panela	5
1.4 Diseño conceptual	7
1.5 Procesos biológicos tipo batch	8
1.6 Escalamiento de bioprocesos	8
1.7 Criterios de escalamiento	8
2. DISEÑO METODOLÓGICO	10
2.1 Evaluación de la influencia de la presencia o ausencia de luz en el cultivo sumergido de <i>G. lucidum</i> .	10
2.1.1 Ubicación	10
2.1.2 Activación de la cepa	10
2.1.3 Preparación del inóculo	10

2.1.4 Medio de cultivo	11
2.1.5 Condiciones de cultivo	11
2.1.6 Toma de muestras	12
2.1.7 Medición de biomasa	12
2.1.8 Determinación de exopolisacáridos (EPS)	12
2.1.9 Determinación de polisacáridos totales	13
2.2 Definición de la composición del producto	13
2.2.1 Determinación del tipo de edulcorante	13
2.2.2 Definición del contenido de <i>G. lucidum</i> en el producto	13
2.2.3 Definición del contenido de proteína en el producto.	13
2.3 Análisis de prefactibilidad	14
2.3.1 Estudio de mercado	14
2.3.2 Estudio técnico	14
2.3.3 Estudio económico y financiero	14
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1 Procesos fermentativos	15
3.1.1 Producción de biomasa	16
3.1.2 Producción de exopolisacáridos	18
3.1.3 Evaluación de la producción de polisacáridos totales (PS)	20
3.2 Análisis estadístico	21
3.2.1 Producción de biomasa	21
3.2.1.1 Análisis de varianza para la producción de biomasa	22
3.2.1.2 Análisis de rangos múltiples para la producción de biomasa	22
3.2.2 Producción de exopolisacáridos	23
3.2.1.1 Análisis de varianza para la producción de exopolisacáridos	24
3.3 Formulación del producto	24
3.3.1 Definición del contenido de <i>G. lucidum</i>	24
3.3.2 Determinación de tipo y cantidad de edulcorante	25
3.3.3 Pruebas organolépticas	26
3.3 Contenido proteico del producto	28

3.4 Análisis de prefactibilidad	28
3.4.1 Estudio de mercado	28
3.4.1.1 Descripción del producto	28
3.4.1.2 Usos y aplicaciones del producto	28
3.4.1.3 Características del producto	29
3.4.1.4 Identificación del mercado	29
3.4.1.5 Políticas relacionadas con alimentos funcionales	31
3.4.1.6 Competencia	32
3.4.1.7 Formas de venta y distribución	32
3.4.1.8 Características de los consumidores actuales y potenciales	33
3.4.1.9 Análisis DOFA	33
3.4.1.10 Proyección de la demanda	35
3.4.1.11 Análisis de la oferta	35
3.4.1.12 Análisis de precios	35
3.4.1.13 Análisis del sistema de comercialización	35
3.4.2 Estudio técnico	36
3.4.2.1 Capacidad de producción	36
3.4.2.2 Diseño conceptual del proceso	36
3.4.2.2.1 Escalado del biorreactor	36
3.4.2.2.2 Requerimientos del proceso	42
3.4.2.2.3 Descripción del proceso	44
3.4.2.2.4 Diagrama general de entradas y salidas	45
3.4.2.2.5 Diagrama genérico de bloques	45
3.4.2.2.6 Diagrama de bloques del proceso	46
3.4.2.2.7 Selección de equipos	47
3.4.2.2.8 Balances de materia	48
3.4.2.2.9 Balances de energía	50
3.4.2.2.10 Diagrama de flujo de proceso (PFD)	59
3.4.2.2.11 Descripción de los equipos	60
3.4.2.2.12 Localización	64



3.4.2.2.13 Obras requeridas	67
3.4.2.2.14 Distribución de planta	67
3.4.3 Estructura organizacional	68
3.4.4 Estudio legal	69
3.4.4.1 Organización jurídica	69
3.4.4.2 Requisitos legales	69
3.4.5 Estudio financiero	70
3.4.5.1 Inversiones	70
3.4.5.2 Costos de operación	74
3.4.5.3 Capital de trabajo	76
3.4.5.4 Depreciación	77
3.4.5.5 Valor de salvamento	77
3.4.5.6 Ingresos	78
3.4.5.7 Tasa de oportunidad para el proyecto puro	78
3.4.5.8 Cálculo de la tasa de descuento ponderada ajustada por impuestos	78
3.4.5.9 Estimación del flujo de efectivo	80
3.4.5.10 Indicadores de rentabilidad	83
CONCLUSIONES	85
RECOMENDACIONES	86
ANEXOS	87
BIBLIOGRAFÍA	93

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutricional del azúcar refinada y la panela (Consumer, 2006).....	6
Tabla 2. Composición del medio del preinóculo.....	10
Tabla 3. Composición del medio de cultivo (Carvajal y Rendón, 2004). ....	11
Tabla 4. Datos de concentración de biomasa en presencia de luz. ....	16
Tabla 5. Datos de concentración de biomasa en ausencia de luz. ....	17
Tabla 6. Producción de exopolisacáridos en presencia de luz. ....	18
Tabla 7. Producción de exopolisacáridos en ausencia de luz.....	19
Tabla 8. Concentración final de polisacáridos. ....	20
Tabla 9. Análisis de varianza para concentración de biomasa ....	22
Tabla 10. Método de Tuckey (STATGRAPHICS PLUS 5.0). ....	23
Tabla 11. Análisis de varianza para exopolisacáridos ....	24
Tabla 12. Formulación con estevia ....	25
Tabla 13. Formulación con aspartame.....	25
Tabla 14. Formulación con Panela ....	26
Tabla 15. Resultados del panel organoléptico. ....	26
Tabla 16. Resultados del panel organoléptico (continuación).....	27
Tabla 17. Concentración de proteína.....	28
Tabla 18. Análisis del mercado de los productos funcionales (Dinero, 2005). ....	30
Tabla 19. Productos nutracéuticos sustitutos (Ganoexcel, 2006). ....	32
Tabla 20. Análisis DOFA.....	34
Tabla 21. Datos de operación y diseño del biorreactor a escala de laboratorio....	37
Tabla 22. Propiedades del medio de cultivo. ....	37
Tabla 23. Datos de diseño de los biorreactores de 4 y 40 escala piloto (Walas, 1990). ....	37
Tabla 24. Parámetros de operación de los biorreactores ....	41
Tabla 25. Especificaciones de los servicios industriales requeridos ....	43
Tabla 26. Balance de masa para el SK-101 ....	49

Tabla 27. Balance de masa para el R-101.....	49
Tabla 28. Balance de masa para el R-102.....	49
Tabla 29. Balance de masa para el H-101.....	50
Tabla 30. Balance de masa para el M-101 .....	50
Tabla 31. Balance de energía para el SK-101 .....	51
Tabla 32. Balance de energía para el C-101 .....	52
Tabla 33. Balance de energía para la P-101 .....	52
Tabla 34. Balance de energía para la P-102 .....	53
Tabla 35. Balance de energía para la P-103 .....	53
Tabla 36. Balance de energía para la P-104 .....	53
Tabla 37. Balance de energía para el E-101 .....	54
Tabla 38. Balance de energía para el E-102 .....	54
Tabla 39. Datos de consumo de oxígeno para <i>Ganoderma lucidum</i> . .....	55
Tabla 40. Balance de energía para el R-101 .....	56
Tabla 41. Balance de energía para el R-102 .....	56
Tabla 42. Balance de energía para el H-101 .....	56
Tabla 43. Balance de energía para el M-101.....	58
Tabla 44. Tabla preliminar de equipos para el proceso .....	60
Tabla 45. Tabla de resumen de cargas y corrientes para el proceso .....	62
Tabla 46. Costos de biorreactores en 1994.....	70
Tabla 47. Costos de bombas, compresores e intercambiadores en el 2001 .....	71
Tabla 48. Costo del mezclador y el vessel en el 2003.....	71
Tabla 49. Costo del homogenizador, bomba peristáltica y Shaker , 2006 .....	71
Tabla 50. Valores de CEPCI.....	71
Tabla 51. Costo total de los equipos incluyendo el costo de compra, instalación y mano de obra requerida para ello (Bare Module Cost).....	72
Tabla 52. Inversiones diferidas .....	72
Tabla 53. Costos de las obras requeridas. ....	73
Tabla 54. Inversiones adicionales.....	73
Tabla 55. Costos de materia prima .....	74

Tabla 56. Costos de Mano de Obra Directa.....	74
Tabla 57. Costos de Mano de Obra Indirecta .....	75
Tabla 58. Costos de Servicios .....	75
Tabla 59. Gastos de comercialización y distribución .....	76
Tabla 60. Capital de trabajo .....	77
Tabla 61. Depreciación anual para los activos.....	77
Tabla 62. Valor de salvamento de los activos al año 6. ....	78
Tabla 63. Flujo de efectivo para el proyecto con capital propio .....	80
Tabla 64. Componentes del pago de la deuda .....	81
Tabla 65. Flujo de efectivo para el proyecto con un 30% de capital financiado. ....	82
Tabla 66. Indicadores de rentabilidad para el proyecto puro .....	83
Tabla 67. Indicadores de rentabilidad para el inversionista .....	83
Tabla 68. Preparación de la curva de calibración para el método de Dubois. ....	88
Tabla 69. Curva de Calibración para el método de Biuret. ....	90

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biotransformaciones. ....	11
Figura 2. Sistema empleado para la biotransformación.....	15
Figura 3. Crecimiento de biomasa .....	15
Figura 4. Vista microscópica del micelio. ....	16
Figura 5. Dimensiones para un tanque agitado. ....	38
Figura 6. Relación entre el Re y el Np para tres tipos de impulsores. ....	39
Figura 7. Relación entre $P_g/P_o$ y Na (Bailey, 1977).....	40
Figura 8. Diagrama General de entradas y salidas.....	45
Figura 9. Diagrama genérico de bloques. ....	45
Figura 10. Diagrama de bloques de proceso .....	46
Figura 11. Impeler de cuchillas planas (Walas, 1990) .....	48
Figura 12. Número de potencia Vs Reynolds para varios tipos de impeler.....	57
Figura 13. Diagrama de flujo de proceso (PFD).....	59
Figura 14. Distribución de planta .....	67
Figura 15. Organigrama de la empresa. ....	68
Figura 16. Complejo proteína-Cu(II) Violeta-púrpura .....	90

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Concentración de biomasa vs tiempo.....	17
Gráfico 2. Producción de Exopolisacáridos. ....	19
Gráfico 3. Concentración de polisacáridos totales .....	21
Gráfico 4. Producción media de biomasa .....	23
Gráfico 5. Curva de calibración para el método de Dubois.....	89
Gráfico 6. Curva de calibración método de Biuret.....	91

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 .....	87
ANEXO 2 .....	90
ANEXO 3 .....	92

## RESUMEN

En este trabajo se evaluó la influencia de la presencia o ausencia de luz blanca en el cultivo sumergido de *Ganoderma lucidum* en un biorreactor de 2 l, empleando como criterio de evaluación la producción de polisacáridos y de biomasa. Las biotransformaciones se llevaron a cabo a un pH 6, 1.5 vvm de aireación, 100 rpm y como medio de cultivo se empleó el definido por Carvajal y Rendón (2004) como mas adecuado para la producción de EPS. Se encontró que la producción de polisacáridos y biomasa es mayor cuando se trabaja en ausencia de luz, obteniéndose en el día 8 una concentración de exopolisacáridos de 3,8788 g/l, 5,8711 g/l de polisáridos totales y 13,6538 g/l de biomasa.

Se llevó a cabo la formulación de un producto funcional, elaborado con gelatina proteica y *G. lucidum*. Se encontró que para garantizar unas características organolépticas apropiadas, el producto debe tener la siguiente composición: 44,15% de panela, 29,75% de extracto de pata de res (colágeno), 18,75% del producto de biotransformación, 7,36% de extracto de estevia y 0,011% de canela. La gelatina enriquecida tiene un 20% de proteínas y 0,07% de polisacáridos (8,4 mg/gelatina.).

Se realizó el diseño conceptual de un proceso para obtener a escala industrial el producto desarrollado, asumiendo una demanda anual de 70.416 cajas por 12 unidades, para esto fue necesario realizar el escalado del biorreactor de 2 l a 4 l y 40 l. Además, se hizo el estudio financiero para evaluar la rentabilidad del proyecto, al asumir una financiación con capital propio se obtiene que la relación beneficio costo es 1,11; la TIR 0,96 % y el VPN -319'612.601; cuando se financia un 30% de la inversión inicial, se obtiene que estos valores son de 1,26; 4,69 % y -96'557.178 respectivamente. De lo cual se puede inferir que bajo las condiciones establecidas el proyecto no es económicamente viable.

**Palabras claves:** *Ganoderma lucidum*, Gelatina enriquecida, producto funcional, condiciones lumínicas, escalado, diseño conceptual, análisis financiero.



## INTRODUCCIÓN

Dada la preocupación cada vez mayor de los consumidores por alimentarse con productos que les ayuden a cuidar su salud, se hace necesario que las empresas de alimentos desarrollen productos funcionales. Estos productos dominan las ventas de la industria de la nutrición en los Estados Unidos, Europa, Japón y Canadá. En 2002, el valor de la industria de los alimentos funcionales en los Estados Unidos fue de 20.200 millones de dólares ó 4% del valor total de la industria alimentaria. Se prevé una tasa de crecimiento promedio cercana al 13%, alcanzando un valor de mercado de 37.700 millones de dólares en 2007 (CAF, 2005).

El *G. lucidum* tiene un importante potencial para el desarrollo de alimentos funcionales, debido a que produce compuestos como ácidos Ganodéricos, Exopolisacáridos (EPS) e Intrapolisacáridos (IPS) que tienen reconocidas propiedades para la prevención de enfermedades, entre las cuales se encuentran: la hepatitis, artritis, nefritis, bronquitis, asma, arteriosclerosis, hipertensión, cáncer y úlcera gástrica. En algunas investigaciones se han reportado sus constituyentes antialérgicos, acción estimulante del sistema inmunológico, utilidad para el tratamiento de infecciones de HIV, acción antiherpética, antitumoral y cardiovascular, protección del hígado, efectos en el sistema nervioso y disminución en los niveles de azúcar en la sangre (Jong y Birmingham, 1992).

Con este proyecto se pretende desarrollar un producto funcional, aprovechando las propiedades medicinales del *G. lucidum* y el alto valor nutricional de la gelatina proteica; aplicando los resultados obtenidos en investigaciones realizadas en la Universidad EAFIT por estudiantes de Ingeniería de Procesos, en las cuales se evaluaron las condiciones óptimas de agitación, aireación, pH, temperatura y balance de nutrientes para el cultivo sumergido de *G. lucidum* en un biorreactor de 2 l. Como complemento al desarrollo del producto debe realizarse la evaluación económica de su producción a escala industrial, con el fin de conocer las posibilidades que puede tener este producto en el mercado y si es factible como alternativa de negocio.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Diseñar un proceso a escala industrial para la obtención de un producto funcional, empleando gelatina proteica y *Ganoderma lucidum* en cultivo sumergido.

### ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del factor luz sobre la producción de EPS mediante la realización de fermentaciones en cultivo sumergido de *G. lucidum* a condiciones de luz y oscuridad, empleando los parámetros de cultivo fijados en investigaciones anteriores realizadas en la Universidad EAFIT.
- Desarrollar la formulación de un producto funcional enriquecido con *G. lucidum* con base en la composición de productos similares así como en el análisis sensorial, con el fin de establecer los requerimientos de materias primas del producto.
- Realizar el escalamiento del cultivo sumergido de *G. lucidum*, empleando como criterio de escalamiento para el proceso de fermentación el coeficiente volumétrico de transferencia de masa  $K_La$ , definido en investigaciones realizadas en la Universidad EAFIT, esto con el fin de llevar a cabo el diseño conceptual del proceso.
- Evaluar la rentabilidad de la producción a nivel industrial del producto funcional enriquecido con *G. lucidum* para determinar la viabilidad del proyecto, empleando como referencia el desempeño que han tenido en el mercado otros productos funcionales de su tipo.

## 1. MARCO TEÓRICO

Los alimentos funcionales son aquellos que pueden proporcionar beneficios a la salud o efectos fisiológicos deseables además de la nutrición básica (IFIC, 2006) y constituyen un complemento saludable para llevar una dieta apropiada y un estilo de vida activo.

Mientras que los consumidores europeos apenas comienzan a acostumbrarse a este novedoso tipo de comida, los ciudadanos japoneses llevan décadas consumiendo estos productos y, por ende, interesándose por el cuidado de la salud (EUFIC, 2006).

El hongo *Ganoderma lucidum* se ha empleado en la dieta china y japonesa desde hace más de 2000 años y se le ha atribuido una gran actividad biológica por eso en la medicina tradicional asiática, el cuerpo fructífero de este hongo llamado Ling-Zhi en Chino y Reishi en japonés, ha sido usado para el tratamiento de una serie de enfermedades incluyendo hepatitis, artritis, nefritis, bronquitis, asma, arteriosclerosis, hipertensión, cáncer y úlcera gástrica. De acuerdo con investigaciones realizadas, el *G. lucidum* posee constituyentes antialérgicos de acción inmuno-reguladora y puede ser usado para el tratamiento de infecciones de VIH. Además tiene efectos antitumorales, favorece el flujo de sangre al cerebro y la oxigenación de las células, lo que ayuda a la producción de energía a nivel celular y puede mejorar la salud cardiovascular por lo cual es usado para aumentar la memoria y la capacidad intelectual. También protege el hígado y tiene efectos benéficos sobre el sistema nervioso (Berovic *et al*, 2003). Los polisacáridos producidos por este hongo han sido patentados en Japón para ser usados como inmunorreguladores en el tratamiento del cáncer, y se ha demostrado que al ser combinados con quimio y radioterapia tienen gran habilidad para reducir los efectos colaterales del tratamiento y aumentar la eficacia del mismo (Meschino, 1998).

### 1.1 Cultivo de *G. lucidum*.

El *G. lucidum* es muy escaso en la naturaleza, la cantidad disponible en el medio natural no es suficiente para realizar la explotación comercial. Su cultivo en sustratos sólidos, líquido estacionario, o como se ha hecho recientemente, en cultivo sumergido ha sido esencial para poder satisfacer la creciente demanda en el mercado internacional, la investigación sistemática de sus efectos farmacológicos comenzó solo hace 23 años (Berovic *et al*, 2003). En 1995 la producción de *G. lucidum* alcanzada en Japón fue estimada en 500 toneladas. El

cultivo de este hongo también ha prosperado en China, Taiwan, Corea, Tailandia y Vietnam (Mizuno, 2006).

## **1.2 Componentes farmacológicos activos en el *Ganoderma lucidum*.**

Dependiendo de los lugares de producción y condiciones del cultivo existen diferencias cualitativas y cuantitativas en los principales componentes y aminoácidos libres del *G. lucidum*. Entre los compuestos activos del hongo están:

- Beta-D-glucanos: Estos poseen propiedades de regulación del sistema inmune y son anticancerígenos.
- Componentes triterpenos: Conocidos como ácidos ganodéricos, sirven para controlar la presión, reducen la agregación plaquetaria y pueden disminuir el colesterol LDL.
- Otros constituyentes activos son esteroides, coumarin y manitol. (Meschino, 1998).

## **1.3 Edulcorante**

### **1.3.1 La estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*)**

Este es un endulzante natural alternativo a los endulzantes artificiales y a la sacarosa, el tradicional azúcar de mesa. Es obtenido a partir de un arbusto originario de Paraguay y Brasil. Ha sido usado desde la época precolombina, como endulzante, por los indios Guaranís, aunque los conquistadores españoles tuvieron conocimiento de la estevia durante el siglo XVI, no atrajo la atención de los europeos hasta finales del siglo XIX gracias al Dr. Bertoni. En países como Japón, hoy en día, supone el 41 % de los endulzantes consumidos. Las hojas de la planta son 30 veces más dulces que la sacarosa y existen extractos obtenidos a partir de estevia que llegan a ser unas 200 veces más dulces que éste (Alimentación sana, 2006).

La estevia no aporta calorías y posee efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la presión arterial ya que tiene efecto vasodilatador, diurético y cardiotónico, mejora la tolerancia a la glucosa y por esta razón es recomendado para los pacientes diabéticos. Contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. No se reportan efectos secundarios de ninguna clase, como efectos mutagénicos u otros efectos que dañen la salud. Varios estudios anotan su actividad antibiótica, especialmente contra las bacterias *Escherichia Coli*, *Stafilococcus aureus*, y *Corynebacterium diphtheriae*, así como también contra el hongo *Cándida albicans*, productor frecuente de vaginitis en la mujer (Alimentación sana, 2006).

El sabor dulce de la planta se debe a un glucósido llamado esteviósido, compuesto de glucosa y rebaudiosido. Se puede utilizar en una gran variedad de alimentos como en cereal, galletas y refrescos (Alimentación sana, 2006). En los EEUU, la FDA (Food and Drug Administration), aprobó la estevia en septiembre de 1995, aunque solo podría venderse en tiendas naturistas, así no interfiere con los intereses de las industrias productoras de los otros edulcorantes no naturales (Alimentación sana, 2006).

### **1.3.2 El aspartame (L- $\alpha$ -aspartil-L-fenilalanina metil ester)**

Desde su aprobación hace 20 años, el endulzante de alta intensidad conocido como aspartame es consumido en más de 6.000 productos por miles de personas alrededor del mundo. La ventaja principal de este edulcorante es que permite disfrutar el dulce sabor del azúcar sin todas las calorías que éste contiene. La introducción del aspartame cambió la calidad de vida de las personas diabéticas y ayudó enormemente a los programas de control de peso para las personas obesas (Butchko *et al.*, 2002).

El aspartame es único entre los edulcorantes bajos en calorías debido a que es metabolizado completamente en el organismo y es convertido en aminoácidos que son absorbidos en su totalidad (Butchko *et al.*, 2002).

Diversos estudios toxicológicos y farmacológicos han demostrado que tanto el aspartame como sus constituyentes son seguros y como resultado de estos estudios las agencias reguladoras de aproximadamente 100 países, han aprobado su uso en el dieta diaria (Butchko *et al.*, 2002).

### **1.3.3 La panela**

La panela se define como el producto sólido obtenido por evaporación del agua de los jugos de la caña de azúcar, como no es sometido a ningún refinado, centrifugado, depuración o cualquier otro tipo de procesado, conserva todas las vitaminas y minerales presentes en la caña. Es muy consumido en Filipinas, Asia del Sur y sobretodo América Latina. En estos lugares se utiliza para endulzar zumos, té, infusiones, refrescos, mermeladas e incluso galletas (Panelera la molienda, 2006). Tiene un gran valor nutricional y es recomendada en la dieta infantil ya que ayuda a evitar la formación de gases y previene la constipación por su acción levemente laxante. Además el alto contenido de sales minerales de la panela representa un beneficio para el desarrollo armónico del cuerpo. Con este alimento se le ayuda a los niños a alcanzar los niveles nutricionales apropiados (Consumer, 2006).

La panela contiene fósforo, hierro, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc y vitaminas A, B, C, D y E. El calcio contribuye a la formación de una mejor dentadura y unos huesos más fuertes, así como la prevención de caries y ayuda a

evitar enfermedades como la osteoporosis que se presenta en la edad adulta. El hierro contenido en la panela previene la anemia. El fósforo, es un pilar importante de huesos y dientes y participa en el metabolismo de las grasas. El magnesio es un fortificante del sistema nervioso. El potasio es indispensable en el mantenimiento del equilibrio del líquido intracelular, afecta el ritmo del corazón y participa en la regulación de la excitabilidad nerviosa y muscular (Consumer, 2006).

A continuación se presenta un cuadro comparativo que permite ver con claridad la diferencia entre la panela y el azúcar refinado.

Tabla 1. Valor nutricional del azúcar refinada y la panela (Consumer, 2006)

<b>Compuesto</b>	<b>Azúcar Refinado</b>	<b>Panela</b>
Sacarosa (g)	99,6	72 a 78
Fructosa (g)		7 a 1,5
Glucosa (g)		7 a 1,5
Calcio (mg)	0,5 a 1	10 a 13
Magnesio (mg)	0,5 a 5	40 a 100
Fósforo (mg)	---	70 a 90
Sodio (mg)	---	20 a 90
Hierro (mg)	0,6 a 0,9	19 a 30
Manganeso (mg)	0,5 a 1	10 a 13
Zinc (mg)	---	0,2 a 0,5
Flúor (mg)	---	0,2 a 0,4
Cobre (mg)	--	5,3 a 6,0
Provitamina A (mg)	---	2,0
Vitamina A (mg)	---	3,8
Vitamina B1 (mg)	--	0,01
Vitamina B2 (mg)	---	0,06
Vitamina B5 (mg)	---	0,01
Vitamina B6 (mg)	---	0,01
Vitamina C (mg)	---	7
Vitamina D2 (mg)	---	6,5
Vitamina E (mg)	---	111,3
Vitamina PP (mg)	---	700
Proteínas (mg)	--	280
Agua (g)	0,01 g	1,5 a 7,0
Energía (cal)	384	312

## 1.4 Diseño conceptual

El producto del Diseño conceptual, como su nombre lo indica, es un concepto y se refiere a la combinación de principios físicos, químicos y biológicos, que satisfacen la función o propósito, las características, atributos, restricciones y deseos; después de analizar y escoger la mejor entre las mejores alternativas. Las decisiones que se toman en la etapa del Diseño Conceptual son cruciales para el éxito o fracaso del Proceso como tal y son las de mayor impacto desde el punto de vista económico (Escobar, 2005).

Para la realización del diseño conceptual de un proceso nuevo, se debe primero definir si el proceso va a ser en batch o continuo, para después identificar y definir las corrientes de entrada y salida. Con esta información se realizan los balances de masa y energía para culminar con la elaboración del diagrama de flujo del proceso (PFD) (Turton *et al.*, 2003).

En una forma más concreta, se establece que el Diseño Conceptual para el Ingeniero de Procesos, se ocupa entonces de producir todos y cada uno de los siguientes resultados:

1. El que proviene de un proceso de abstracción, en el cual se establece claramente la función o propósito que se debe aplicar a las entradas (Materia, Energía) para convertirlas en Productos (Materia, Energía). Esto es asimilable al Diagrama General de Entradas y Salidas (Overall Diagram), Diagrama de Bloques de proceso (BFD) y el Diagrama Genérico de Bloques. Cabe anotar que la inclusión de los conceptos de secuencia, la confiabilidad y las consideraciones generales de seguridad, deben estar presentes en esta etapa.
2. Una matriz morfológica (Funciones, operaciones Unitarias vs. Portadores de función, alternativas).
3. La estimación de los Costos (Capital y Manufactura), del tipo Orden de magnitud /Estudio.
4. La definición de una función objetivo que permita sustentar la escogencia de la mejor alternativa.
5. La producción de una estructura funcional, asimilable al Process Flow Diagram, PFD (Escobar, 2005), que incluye:
  - Flowsheet, o secuencia de las operaciones (Incluye los lazos básicos de Control).
  - Tabla Resumen de los Equipos (Código de los equipos, Variables dependientes del Diseño).
  - Tabla de Corrientes (Exige el balance de masa y energía).
  - Descripción del Proceso (Turton *et al.*, 2003).

## **1.5 Procesos biotecnológicos tipo batch**

En un proceso biotecnológico discontinuo, todos los nutrientes requeridos durante una corrida, excepto el oxígeno, son adicionados al medio antes de que la fermentación empiece y el caldo que contiene los productos es retirado sólo al final de cada corrida (Asenjo, 1995).

Los procedimientos para cualquier cultivo discontinuo son básicamente los mismos, aunque se observan algunas pequeñas diferencias dependiendo del tipo de microorganismo y metabolito deseado. La mayoría de los equipos consisten en el biorreactor principal y el biorreactor semilla, siendo ambos biorreactores sumergidos (tanques agitados). Estos tienen instrumentos auxiliares para la preparación del medio, esterilización con vapor, enfriamiento, compresión del aire, filtración del aire, agitación, antiespumante, entre otros. El biorreactor semilla es utilizado para cultivar la masa celular necesaria inicialmente para el biorreactor principal, y el metabolito deseado es obtenido del biorreactor principal (Asenjo, 1995).

Una corrida de una operación en lote se encuentra entre varias decenas de horas hasta varias semanas. La operación secuencial del cultivo discontinuo está gobernada por los procedimientos del biorreactor principal, y el tiempo total del proceso para una corrida del cultivo discontinuo es la suma de los tiempos requeridos para la esterilización del medio en el biorreactor principal, la transferencia del inóculo, la fase lag de crecimiento, la reacción microbiana principal, la cosecha, limpieza y esterilización (Asenjo, 1995).

## **1.6 Escalamiento de bioprocesos**

El propósito del escalamiento es seleccionar las condiciones de diseño y procedimientos de operación para asegurar que el efecto de las diferentes variables sobre el proceso sean las mismas en unidades de diferente tamaño. El objetivo es, por lo tanto, obtener rendimientos similares con una distribución (calidad) del producto similar (Asenjo, 1995).

No existen modelos generales para el escalado de fermentaciones que puedan tener en cuenta la enorme diversidad de la biología del organismo relevante. Por lo tanto, el escalado depende de resultados experimentales de estudios de plantas piloto y de laboratorio (Asenjo, 1995).

## **1.7 Criterios de escalamiento**

En la práctica se utilizan varios criterios para efectuar el cambio de escala, todos ellos basados en resultados empíricos, y de esta forma, existen relaciones que resumen los criterios empleados para cambio de escala en tanques agitados por medios mecánicos y las relaciones entre variables de operación y diseño



(Quintero,1990). Dado que usualmente en las fermentaciones aerobias desarrolladas a gran escala, el mayor problema es el suministro de oxígeno suficiente desde la fase gaseosa, la mayoría de las veces la magnitud que se mantiene constante en escalado es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno que es transferido de las burbujas de gas a los microorganismos (Asenjo, 1995). Para implementar esta estrategia de escalamiento, es necesario encontrar una correlación entre el coeficiente de transferencia de masa y variables de operación, propiedades del fluido y variables geométricas. Seleccionar una correlación particular para el  $K_La$  significa asumir que la correlación aplicará para cualquier condición del proceso desarrollado y se debe tener en cuenta que el transporte de masa debe ser gobernado por el mismo mecanismo en todas las escalas (Hubbard *et al.*, 1994). La aproximación básica es la siguiente: como se desea el mismo  $K_La$  para los dos fermentadores, las interacciones entre las variables deben definir el  $K_La$  manteniéndolo constante (Dorán, 1999).

Muchos factores influyen en la demanda de oxígeno, los más importantes son el microorganismo, la fase de crecimiento del cultivo y la fuente de carbón del medio. El tamaño de las burbujas de aire, es un parámetro crítico que afecta la transferencia de oxígeno, entre los procesos físicos que determinan este parámetro está la coalescencia, que hace que en un medio líquido una gran fracción de las colisiones de las burbujas resulten en formación de burbujas más grandes, esto es indeseable ya que reduce el área de transferencia de oxígeno y el tiempo de permanencia del gas en el medio líquido. Las sales suprimen la coalescencia, por lo tanto los medios de cultivo son generalmente no coalescentes, esto es una ventaja para la transferencia de oxígeno (Dorán, 1999).

## 2. DISEÑO METODOLÓGICO

### 2.1 Evaluación de la influencia de la presencia o ausencia de luz en el cultivo sumergido de *G. lucidum*.

#### 2.1.1 Ubicación

Los análisis y pruebas correspondientes a este trabajo, se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad EAFIT en la ciudad de Medellín.

#### 2.1.2 Activación de la cepa

La activación de la cepa de *G. lucidum* se llevó a cabo de la siguiente manera: Se inoculó un vial en una caja de Petri con Agar Papa Dextrosa (Agar PDA), con el fin de activar la cepa, se incubó por 8 días a 30 °C, en la Incubadora digital WTC Binder. Posteriormente, se almacenó a 4 °C para luego replicarla y obtener las cepas de trabajo.

#### 2.1.3 Preparación del inóculo

La preparación del inóculo se realizó según el procedimiento sugerido por Fang y Zhong (2001), llevándolo a cabo en erlenmeyers de 250 ml con 50 ml de medio a pH inicial de 5.5, los cuales fueron esterilizados en un autoclave horizontal, a 120°C por 15 min., e inoculados con discos de 5 mm aproximadamente de *G. lucidum*, provenientes de la cepa de trabajo. Los frascos se llevaron a un Agitador orbital, a 100 rpm y 30 °C por cinco días.

A continuación se muestra los componentes del medio de cultivo empleado en esta etapa y la concentración en la que debe estar cada uno de sus componentes:

Tabla 2. Composición del medio de preinóculo (Carvajal y Rendón, 2004).

Compuesto	Composición (g/L)
Glucosa	35
Peptona	5
Extracto de levadura	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5
Vitamina B <sub>1</sub>	0,05

#### 2.1.4 Medio de cultivo.

Se prepararon dos litros del medio de cultivo según Carvajal y Rendón (2004), los cuales fueron esterilizados a 120°C por 15 min., e inoculados con el preinóculo ya mencionado. En la siguiente tabla se muestran los componentes de éste medio de cultivo y su respectiva composición.

Tabla 3. Composición del medio de cultivo (Carvajal y Rendón, 2004).

Compuesto	Composición (g/l)
Glucosa	60
Peptona	5
Extracto de levadura	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5
Vitamina B <sub>1</sub>	0,05

Las fermentaciones se llevaron a cabo en el biorreactor BIOENGINEERING CH 8636 durante 8 días, tomando dos muestras diarias y realizando una réplica para cada una de las condiciones de luz analizadas.

A continuación se muestran los montajes empleados para llevar a cabo las biotransformaciones:

Figura 1. Biotransformaciones.



a) Montaje con luz



b) Montaje sin luz

#### 2.1.5 Condiciones del cultivo

Los procesos de biotransformación se realizaron a una temperatura de 30 °C, velocidad de agitación de 100 rpm, empleando un agitador tipo Rushton de 6 aspas, pH 6, velocidad de aireación de 1.5 vvm. La densidad de inóculo empleada

para el proceso fue de 2 g/l de peso húmedo (Londoño, 2004), obtenida por previa centrifugación a 4500 rpm por 20 min., en una Centrifuga Refrigerada Tubular, luego de lo cual se descartó el sobrenadante para proceder a pesar la biomasa en una balanza analítica, hasta alcanzar el peso requerido. Este procedimiento se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar.

#### **2.1.6 Toma de muestras**

Las muestras se tomaron cada 24 horas por duplicado (Carvajal y Rendon, 2004), tomando la primera inmediatamente después de la inoculación (tiempo cero). Antes de tomar cada muestra se realizó una purga al sistema.

#### **2.1.7 Medición de biomasa**

Esta medición se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Toma de la muestra (13 ml).
- Filtración al vacío mediante el uso de bomba de vacío para filtración BÜCHI, empleando un papel filtro Schleicher & Schuell Microscience # 595, previamente secado y pesado.
- La biomasa húmeda fue secada a 55 °C, por 24 horas en la Estufa Heraeus Instrument.

#### **2.1.8 Determinación de exopolisacáridos (EPS)**

Para la determinación y cuantificación de EPS se empleó el método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956) implementado en el laboratorio de biotecnología de la universidad EAFIT. Este es un micrométodo colorimétrico que ha sido desarrollado para determinar cantidades de azúcares y sustancias relacionadas como son, oligosacáridos y polisacáridos que presentan un color naranja-amarillo cuando han reaccionado con fenol y ácido sulfúrico concentrado, para posteriormente ser leídos en la región del espectro visible. Es importante tener en cuenta que las concentraciones arrojadas por éste método están dadas en equivalentes de glucosa en g/l (Ver Anexo 1).

Para llevar a cabo la prueba, se tomó 0.5 ml del filtrado colectado por muestra y se precipitaron los EPS crudos con adición de 2 ml de etanol absoluto, luego se separaron por centrifugación a 4500 rpm por 20 min. Los componentes insolubles fueron resuspendidos con 2 ml de NaOH 1M a 60 °C, en el baño serológico Memmert por 1 hora, según lo reportado por Tang y Zhong (2002b).

### **2.1.9 Determinación de polisacáridos totales.**

Para determinar los polisacáridos totales se tomó una muestra el día 8 de cada fermentación, y con el sonicador BRANSON digital sonifier, se realizó un rompimiento celular a una amplitud del 60% por 2 min., empleando un horn de media pulgada, con el fin de liberar los polisacáridos que se encuentran al interior de la célula. Luego se filtró la muestra con un papel filtro Schleicher & Schuell Microscience # 595 y se tomaron 0.5 ml de filtrado para realizar el método de Dubois.

## **2.2 Definición de la composición del producto**

A continuación se muestra el procedimiento seguido para determinar el tipo y cantidad de edulcorante, así como la cantidad de *G. lucidum*, que deben ser empleados en la preparación de la gelatina enriquecida.

### **2.2.1 Determinación del tipo de edulcorante.**

Se evaluaron tres edulcorantes: Aspartame, estevia y panela. Después de la elaboración del producto se escogió la mejor alternativa, con base en los resultados de las pruebas organolépticas realizadas al producto. Estas pruebas consistieron en tomar 30 personas de tres rangos diferentes de edades para que probaran los tres productos, y le dieran una calificación numérica de 1 a 10 al sabor y la textura.

### **2.2.2 Definición del contenido de *Ganoderma lucidum* en el producto.**

Para determinar el contenido de *G. lucidum* requerido en la gelatina enriquecida, se realizó una consulta sobre la dosificación y contenido de *G. lucidum*, empleados para otros productos ya existentes en el mercado.

### **2.2.3 Definición del contenido de proteína del producto.**

Una vez preparada la gelatina enriquecida, se realizó el análisis del contenido de proteína, para esto se diluyeron 10 g. de la gelatina enriquecida en 1 litro de agua, dicha solución fue filtrada con papel Schleicher & Schuell Microscience # 595 y al filtrado resultante fue analizado, por medio del método de Biuret (Switzer y Garrity, 1999).

## **2.3 Análisis de prefactibilidad.**

### **2.3.1 Estudio de mercado**

Se realizó un análisis de la demanda, la oferta, la competencia, los canales de distribución, los métodos de publicidad que se emplearán, así como los volúmenes de producción requeridos.

### **2.3.2 Estudio Técnico**

Con base en los criterios de escalamiento reportados por Hincapié, *et al.* (2005), y en los resultados obtenidos en el laboratorio, se realizó el diseño conceptual, que consiste principalmente en la elaboración del diagrama de flujo y los balances de materia y energía del proceso de producción de la gelatina enriquecida con *Ganoderma lucidum*. Con la información obtenida a partir del diseño conceptual se determinó la tecnología y la inversión inicial requerida, y se realizó una estimación de los costos de operación. También se determinó la localización óptima de la planta y la mano de obra requerida tanto directa como indirecta.

### **2.3.3 Estudio económico y financiero**

Se hizo la estimación de los costos de terreno, maquinaria y equipos, gastos de montaje e ingeniería, licencias, capital de trabajo, costos de operación, costos administrativos, impuestos, gastos de comercialización e ingresos. Y se realizó un estudio de las alternativas de financiación del proyecto. También se determinaron varios indicadores de rentabilidad como la relación beneficio/costo (B/C), el valor presente neto (VPN) y la tasa Interna de retorno (TIR).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Procesos fermentativos

A continuación se muestra el sistema empleado para llevar a cabo la biotransformación.

Figura 2. Sistema empleado para la biotransformación



En la siguiente figura se muestra el crecimiento de biomasa, después de 8 días de biotransformación, cuando se trabaja bajo condiciones de luz.

Figura 3. Crecimiento de biomasa



### 3.1.1 Producción de biomasa

La siguiente es una imagen vista al microscopio del *G. lucidum*, en la cual puede verse claramente la formación de micelio septado durante su crecimiento, algo característico de los hongos basidiomicetos.

Figura 4. Vista microscópica del micelio.



A continuación se muestran los resultados experimentales obtenidos para el crecimiento de biomasa bajo diferentes condiciones de luminosidad.

- **En presencia de luz**

Tabla 4. Datos de concentración de biomasa en presencia de luz.

<b>DIA</b>	<b>Fermentación 1 (g/l)</b>	<b>Fermentación 2 (g/l)</b>	<b>Promedio (g/l)</b>	<b>Desviación</b>
0	1,6769	1,9538	1,8154	0,1958
1	4,7154	2,6077	3,6615	1,4904
2	6,3462	7,5769	6,9615	0,8703
3	5,9846	5,0769	5,5308	0,6418
4	4,7308	6,5000	5,6154	1,2510
5	7,7769	6,5154	7,1462	0,8920
6	9,1462	9,7846	9,4654	0,4515
7	10,5077	10,2077	10,3577	0,2121
8	11,1462	10,3692	10,7577	0,5494



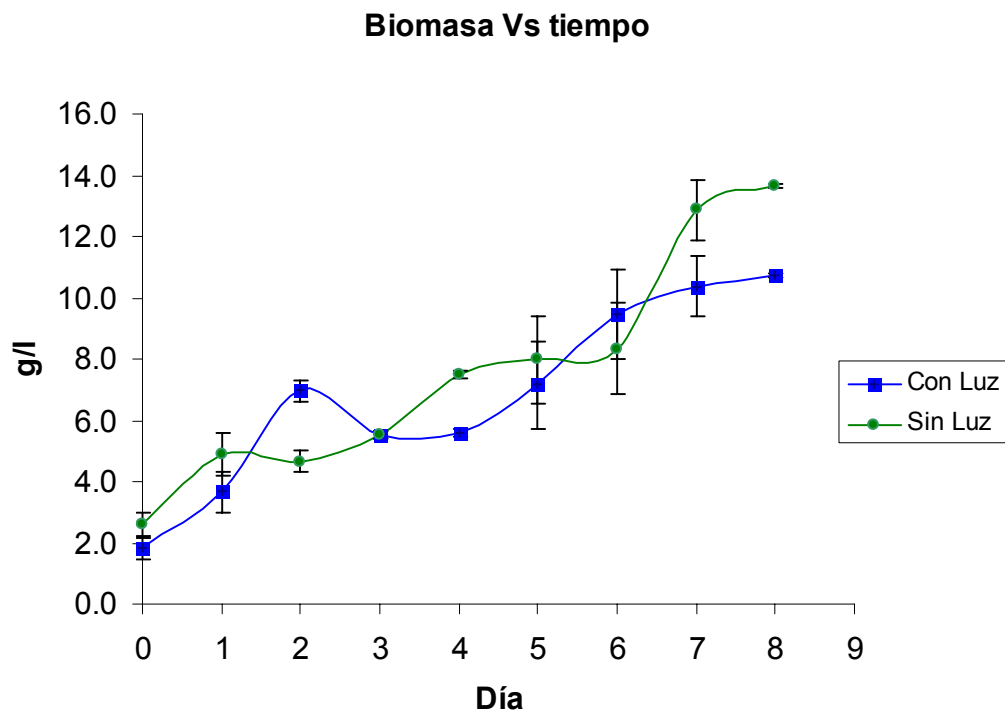
- **En ausencia de luz**

Tabla 5. Datos de concentración de biomasa en ausencia de luz.

DIA	Fermentación 3 (g/l)	Fermentación 4 (g/l)	Promedio (g/l)	Desviación
0	2,3538	2,8769	2,6154	0,3699
1	4,4077	5,3615	4,8846	0,6745
2	4,9077	4,4231	4,6654	0,3427
3	5,6077	5,4538	5,5308	0,1088
4	7,4000	7,5769	7,4885	0,1251
5	8,9846	6,9846	7,9846	1,4142
6	9,3846	7,3077	8,3462	1,4686
7	13,5615	12,1615	12,8615	0,9899
8	13,7000	13,6077	13,6538	0,0653

A continuación se muestra una gráfica donde se puede ver la influencia de las condiciones de luz evaluadas, sobre el crecimiento de biomasa respecto al tiempo.

Gráfico 1. Concentración de biomasa vs tiempo.



La producción de biomasa al final de la biotransformación (día 8), fue de 13,65 g/l en ausencia de luz y 10,76 g/l en presencia de luz, al comparar estos datos con 3,94 g/l, valor reportado por Hincapié, *et al.* (2005), a las mismas condiciones de cultivo para el día 7 de la biotransformación, se puede ver que en este estudio la concentración es mayor.

En una investigación realizada por Fang y Zhong (2002), se obtuvieron unas concentraciones máximas de 17,3 g/l a pH 6,5 y 15,5 g/l a pH 5,5 de biomasa en el día 8, empleando erlenmeyers, con un volumen de medio de 50 ml, lo cual es más coherente con los resultados del presente estudio en el cual el pH fue de 6.

Tang y Zhong (2002a), obtuvieron una concentración de biomasa de 10,08 g/l en el día 10 de la fermentación, la cual fue realizada en un sistema Fed-Batch con un sistema de agitación Rushton, 2 l de volumen de trabajo y controlando la concentración de oxígeno disuelto entre el 20 y el 30% durante la fermentación, variando la agitación y la aireación. De esto se puede inferir que los valores de concentración de biomasa obtenidos están dentro de los rangos que generalmente se han obtenido para el *Ganoderma lucidum*.

### 3.1.2 Producción de Exopolisacáridos

Los resultados obtenidos para la producción de polisacáridos bajo las diferentes condiciones de luz evaluadas en la biotransformaciones son mostrados a continuación:

- **En presencia de luz**

Tabla 6. Producción de exopolisacáridos en presencia de luz.

DIA	Fermentación 1 (g/l) *	Fermentación 2 (g/l) *	Promedio (g/l)	Desviación
0	0	0	0	0
1	0,8714	0,9322	0,9018	0,2555
2	0,8643	1,4210	1,1426	0,3221
3	0,9429	1,2409	1,0919	0,3783
4	0,9643	1,2666	1,1155	0,2038
5	2,0214	2,0641	2,0427	0,2316
6	1,6000	2,3470	1,9735	0,5110
7	1,8500	2,7586	2,3043	0,5914
8	3,2929	3,1187	3,2058	0,1705

\* Las concentraciones están expresadas en equivalentes de glucosa.

- **En ausencia de luz**

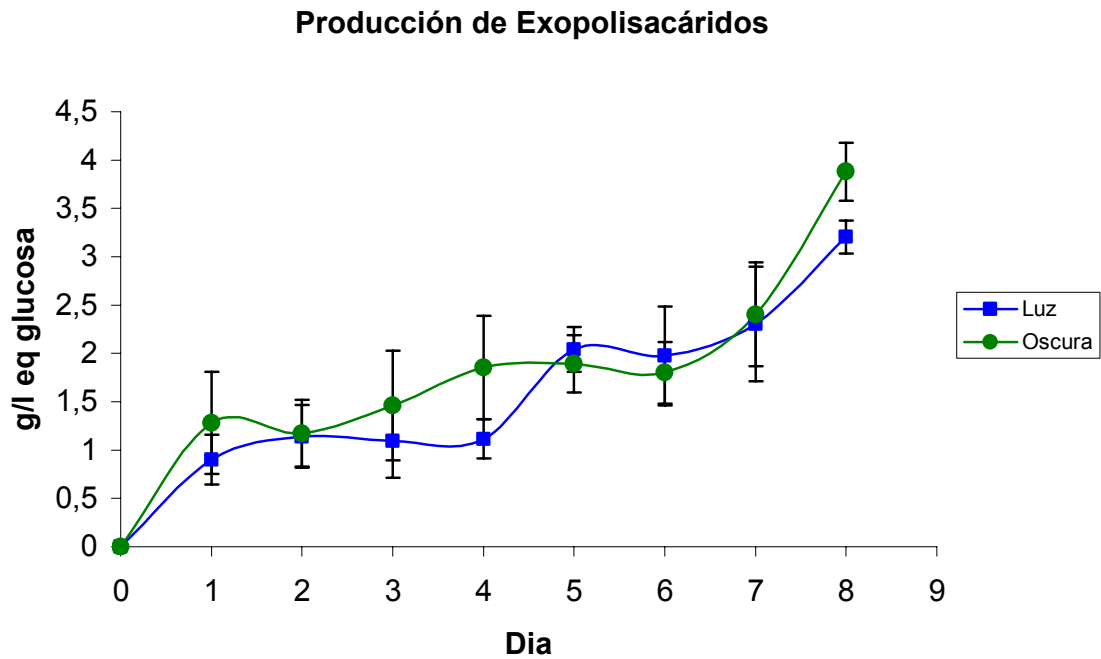
Tabla 7. Producción de exopolisacáridos en ausencia de luz.

DIA	Fermentación 3 (g/l) *	Fermentación 4 (g/l) *	Promedio (g/l)	Desviación
0	0	0	0	0
1	0,8357	1,7296	1,2827	0,5267
2	0,9286	1,4210	1,1748	0,3432
3	0,9857	1,9354	1,4606	0,5660
4	1,4143	2,2956	1,8549	0,5346
5	1,6429	2,1412	1,8920	0,2948
6	1,6143	1,9869	1,8006	0,3187
7	2,1000	2,7071	2,4036	0,5357
8	3,8929	3,8647	3,8788	0,2973

\* Las concentraciones están expresadas en equivalentes de glucosa.

En el siguiente gráfico, se hace una comparación de la producción de polisacáridos a las dos condiciones de luz evaluadas.

Gráfico 2. Producción de Exopolisacáridos.



La concentración máxima de EPS reportada por Hincapié, *et al.* (2005) es 5,3438 g/l, empleando las mismas condiciones de este estudio. Fang y Zhong (2002a), al trabajar en erlenmeyers a las mismas condiciones de medio de cultivo, encontraron que la máxima concentración de EPS alcanzada en el día 8, fue de 1,08 g/l. Tang y Zhong (2002a) obtuvieron una concentración máxima de exopolisacáridos de 0,47 g/l en el día 10 de la fermentación, a las condiciones ya descritas en el análisis de la biomasa. En un estudio realizado por Yang y Liao (1998), en el cual se evaluó el efecto de la aireación en la producción de polisacáridos (PS) en un fermentador de 2 l por 7 días, con una turbina tipo Rushton a 30 °C y 200 rpm, a 1 vvm y a 1,5 vvm, se encontró que a 1,5 vvm, la concentración máxima de PS era 1,85 mg/ml en el día 5.

La concentración máxima de polisacáridos obtenidos en este caso para el día 8, fue de: 3,88 g/l en ausencia de luz y 3.21 g/l en presencia de luz. Se puede ver que estos valores son menores que los encontrados por Hincapié, *et al.* (2005), pero significativamente mayores a los obtenidos en los demás estudios mencionados anteriormente.

### 3.1.3 Evaluación de la producción de polisacáridos totales (PS).

La producción de polisacáridos totales, fue evaluada por el método de Dubois, después de someter el producto de la biotransformación a un proceso de rompimiento celular, por medio del sonicador BRANSON digital sonifier, del laboratorio de biotecnología de la Universidad EAFIT. A continuación se muestran los resultados obtenidos:

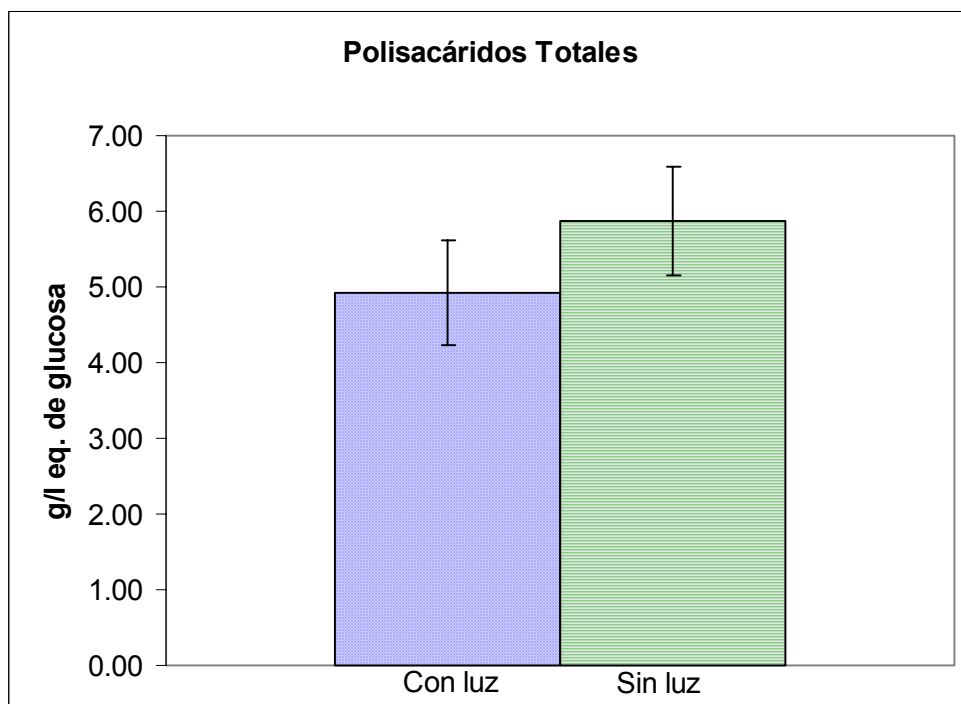
Tabla 8. Concentración final de polisacáridos.

<b>En presencia de luz</b>			
Fermentación 1 (g/l) *	Fermentación 2 (g/l) *	Promedio (g/l)	Desviación
4,4306	5,4081	4,9194	0,6912
<b>En ausencia de luz</b>			
Fermentación 3 (g/l) *	Fermentación 4 (g/l) *	Promedio (g/l)	Desviación
6,3856	5,3567	5,8711	0,7276

\* Las concentraciones están expresadas en equivalentes de glucosa.

La siguiente es una gráfica donde puede verse claramente las diferencias obtenidas para la producción de polisacáridos, bajo diferentes condiciones de luminosidad.

Gráfico 3. Concentración de polisacáridos totales



Tal como se esperaba, la concentración de polisacáridos totales es mayor que la de EPS y el resultado obtenido es satisfactorio porque los polisacáridos son el producto de mayor interés. La gráfica indica que la ausencia o presencia de luz, no afecta de manera significativa la producción total de polisacáridos.

### 3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El siguiente análisis estadístico se realizó con el fin de determinar si las condiciones de luz empleadas en las biotransformaciones, influyen significativamente en la producción de biomasa y exopolisacáridos.

#### 3.2.1 Producción de biomasa

Las siguientes son las condiciones empleadas para realizar el análisis estadístico, de los datos de concentración de biomasa obtenida en las biotransformaciones:

- Modelo estadístico empleado: Modelo con mediciones repetidas o de tendencia en el tiempo (Kuehl, 2001).
- Factor bajo estudio: Producción de biomasa en el tiempo del *G. lucidum*.
- Tratamientos: En presencia de luz blanca y en ausencia de luz.
- Nivel de confianza: 95%
- Nivel de significancia ( $\alpha$ ) : 0.05

### 3.2.1.1 Análisis de varianza para la producción de biomasa

En la tabla que se muestra a continuación se encuentran los resultados obtenidos con la ayuda del software STATGRAPHICS PLUS 5.0.

Tabla 9. Análisis de varianza para concentración de biomasa

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Efecto Día	344.345	8	43.0431	63.41	0.0000
Efecto Tratamiento	5.01626	1	5.1626	7.39	0.0141
Interacción: día-tratamiento	22.5126	8	2.8140	4.15	0.0058
Residual	12.2178	18	0.5787		
Total	384.0914	35			

Dado que el valor P de la interacción Día-tratamiento es menor que el nivel de significancia, el tratamiento tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la producción de biomasa en el tiempo.

### 3.2.1.2 Análisis de rangos múltiples para la producción de biomasa

Debido a que el tratamiento empleado influye significativamente en la producción de biomasa, es necesario realizar un análisis de rangos múltiples que permita determinar el tratamiento con el cual se obtiene mayor producción de biomasa, respecto al tiempo. En la siguiente tabla se muestra los resultados obtenidos para este análisis, empleando el método de Tuckey.

Tabla 10. Método de Tuckey (STATGRAPHICS PLUS 5.0).

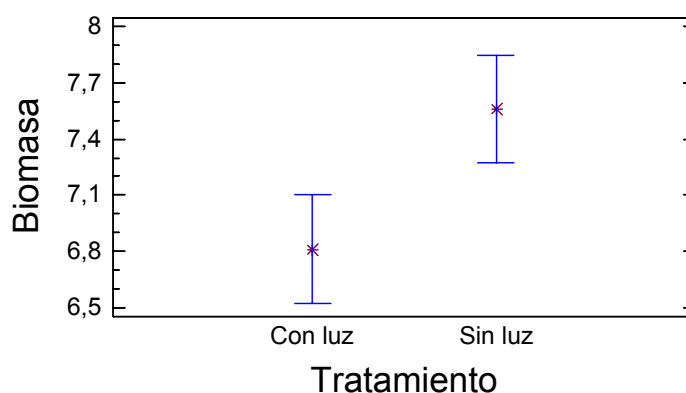
Tratamiento	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Con Luz	18	6,8123	0,1941	X
Sin Luz	18	7,5589	0,1941	X
Contraste	Diferencia		+/- Limites	
Con luz-Sin luz	-0,7465*		4,043 10 <sup>-7</sup>	
* Denota una diferencia estadísticamente significativa				

De acuerdo con los resultados la producción de biomasa es significativamente mayor cuando las fermentaciones son realizadas en ausencia de luz.

A continuación se muestra la gráfica dada por el software STATGRAPHICS para la media de producción de biomasa, con su respectiva desviación, para las dos condiciones de biotransformación trabajadas.

Gráfico 4. Producción media de biomasa

Means and 95,0 Percent LSD Intervals



### 3.2.2 Producción de exopolisacáridos

Las siguientes fueron las condiciones empleadas para realizar el análisis estadístico de los resultados de producción de exopolisacáridos:

- Modelo estadístico: Modelo con mediciones repetidas o de tendencia en el tiempo (Kuehl, 2001).
- Factor bajo estudio: Producción de exopolisacáridos respecto al tiempo del *G. lucidum*.
- Tratamientos: En presencia de luz blanca y en ausencia de luz.

- Nivel de confianza: 95%
- Nivel de significancia ( $\alpha$ ) : 0.05

### 3.2.2.1 Análisis de varianza para la producción de exopolisacáridos.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos, utilizando STATGRAPHICS:

Tabla 11. Análisis de varianza para exopolisacáridos

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Efecto Día	18,588	7	2,6555	15,78	0
Efecto Tratamiento	0,4850	1	0,4850	2,88	0,1090
Interacción: día-tratamiento	0,8592	7	0,1227	0,73	0,6504
Residual	2,6930	16	0,1683		
Total	22,6261	31			

Dado que el valor P de la interacción día-tratamiento es mayor que el nivel de significancia, el tratamiento no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la producción de exopolisacáridos en el tiempo, por lo tanto la producción de exopolisacáridos del *G. lucidum* no es afectada significativamente por la presencia o ausencia de luz durante la fermentación.

### 3.3 Formulación del producto.

#### 3.3.1 Definición de contenido de *G. lucidum*.

En estudios anteriores se ha establecido que una píldora de 75 mg de *G. lucidum*, usada para el cuidado general de la salud, debe contener aproximadamente el 11.25% de polisacáridos (Meschino, 1998), lo que corresponde a una dosis de 8.44 mg de polisacáridos por cada píldora.

La concentración máxima de polisacáridos obtenida en este proyecto fue de aproximadamente 6 g/l, por lo tanto para que el producto cumpla con el contenido recomendado de polisacáridos, se requiere adicionar 1.4 ml del producto final de fermentación por cada gelatina de 12 gr.



### 3.3.2 Determinación de tipo y cantidad de edulcorante

Al realizar varios ensayos preliminares, se llegó a la conclusión de que la panela era indispensable para lograr la consistencia adecuada en el producto, por lo tanto, es necesario conservar al menos un 75% de la panela que generalmente se usa para la preparación de la gelatina de pata tradicional. A continuación se muestran las formulaciones realizadas variando el tipo de edulcorante:

- **Estevia**

Para la evaluación de éste edulcorante, se utilizó un producto comercializado bajo la marca Erba Dolce, el cual está compuesto principalmente de esteviósido y maltodextrinas, cuyo contenido calórico es despreciable y que, además, se caracteriza por ser dos veces más dulce que la sacarosa.

Tabla 12. Formulación con estevia

<b>Ingrediente</b>	<b>Composición (% Peso)</b>
Colágeno	29.7467
Panela	44.1466
Erba Dolce *	7.3568
<i>G. lucidum</i>	18.7476
Canela	0.0113

\* Calculado con base en el poder endulzante del producto.

- **Aspartame**

Para este ensayo se empleó un edulcorante comercial conocido como Konfyt, el cuál esta compuesto por una mezcla de aspartame, acesulfame K y maltodextrinas, su contenido calórico es de 4 cal/g y es dos veces más dulce que la sacarosa.

Tabla 13. Formulación con aspartame

<b>Ingrediente</b>	<b>Composición (% Peso)</b>
Colágeno	29.7467
Panela	44.1466
Konfyt*	7.3568
<i>G. lucidum</i>	18.7476
Canela	0.0113

\* Calculado con base en el poder endulzante del producto.

- **Panela**

Se evaluó la panela como edulcorante único para el producto, con el fin de tener un punto de referencia en la evaluación de los demás edulcorantes en cuanto a la textura y el sabor del producto.

Tabla 14. Formulación con Panela

<b>Ingrediente</b>	<b>Composición (% Peso)</b>
Colágeno	29.8855
Panela	58.9655
<i>G. lucidum</i>	11.1494
Canela	0.0115

### 3.3.3 Pruebas organolépticas

A continuación se presentan los resultados obtenidos para el ensayo organoléptico, realizado al azar, con personas de diferentes edades.

Tabla 15. Resultados del panel organoléptico.

<b>Personas de 6-15 años</b>	<b>Panela</b>		<b>Erba Dolce (Estevia)</b>		<b>Konfy (Aspartame)</b>	
	Sabor	Textura	Sabor	Textura	Sabor	Textura
1	7	6	10	10	5	4
2	6	5	8	9	6	5
3	8	7	8	9	7	5
4	5	8	7	6	5	5
5	9	8	8	9	6	7
6	10	7	10	10	7	7
7	7	6	10	10	7	6
8	6	6	10	10	5	6
9	8	5	9	10	6	5
10	6	7	8	9	5	5
Promedio	7,2	6,5	8,8	9,2	5,9	5,5

Tabla 16. Resultados del panel organoléptico (continuación).

Personas de 16-30 años	Panela		Erba Dolce (Estevia)		Konfyt (Aspartame)	
	Sabor	Textura	Sabor	Textura	Textura	Sabor
1	6	6	8	10	10	8
2	7	9	8	8	5	9
3	9	6	10	6	8	5
4	7	10	9	3	8	8
5	8	10	8	7	8	2
6	9	5	5	9	8	4
7	7	9	10	10	6	4
8	5	6	9	9	7	5
9	6	7	9	9	5	6
10	8	7	10	10	6	5
Promedio	7,2	7,5	8,6	8,1	7,1	5,6
Personas > de 31 años	Panela		Erba Dolce (Estevia)		Konfyt (Aspartame)	
	Sabor	Textura	Sabor	Textura	Textura	Sabor
1	5	7	9	10	5	7
2	6	8	10	10	6	6
3	7	5	10	9	5	5
4	7	7	8	8	7	7
5	6	9	9	9	8	7
6	8	9	9	9	7	5
7	7	8	7	8	6	6
8	5	6	9	9	5	7
9	8	6	10	10	7	5
10	7	7	10	10	6	5
Promedio	6,6	7,2	9,1	9,2	6,2	6
<b>TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>7,067</b>	<b>8,833</b>	<b>8,833</b>	<b>6,4</b>	<b>5,7</b>

### 3.3 Contenido proteico del producto.

La cuantificación de proteína total en el producto, se realizó con dos muestras de 0.5 ml, tomadas del filtrado de una solución, preparada al diluir 10 g. de gelatina enriquecida en un litro de agua. Tras el análisis de éstas muestras con el método de Biuret (Ver Anexo 2), se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 17. Concentración de proteína.

Concentración de la muestra (g/l)	Proteína total (g/l)			Desviación
	Muestra 1	Muestra 2	Promedio	
10	2,0866	2,0545	2,0706	0,0014

En los datos anteriores se puede ver que por cada 10 g de gelatina enriquecida, se tiene aproximadamente 2 g. de proteínas, por lo tanto, el producto contiene alrededor de 20% de proteínas.

Al comparar la gelatina enriquecida con otros alimentos reconocidos por su alto valor proteico, como por ejemplo el huevo, el cual contiene un 12,1% de proteínas (Latham 2002), se puede ver que esta ofrece un gran aporte nutricional en la dieta diaria.

### 3.4 Análisis de prefactibilidad.

#### 3.4.1 Estudio de mercado

##### 3.4.1.1 Descripción del producto

El producto elaborado a partir de gelatina proteica y el hongo *G. lucidum*, será distribuido en cajas de 12 unidades, de 144 g (12 g cada una) y se comercializará en forma de barras de color blanco y negro de consistencia gelatinosa.

##### 3.4.1.2 Usos y aplicaciones del producto.

Este producto puede ser utilizado como complemento alimenticio, por su alto contenido de proteínas y para la prevención de enfermedades por poseer algunos compuestos activos presentes en el hongo *G. lucidum*, como polisacáridos y ácidos ganodéricos, a los cuales se le atribuyen propiedades medicinales como: regulación del sistema inmune, propiedades antitumorales, disminución del porcentaje del colesterol y el excedente de grasa contenidos en la sangre, reducción de la agregación plaquetaria y control de la presión sanguínea (Meschino, 1998).

### **3.4.1.3 Características del producto.**

Es un producto natural de alto valor agregado, de bajo costo, comparado con otros productos de *G. lucidum* que existen a nivel internacional. Es de buen sabor y con un contenido en calorías menor que la gelatina de pata tradicional. Resulta atractivo para el consumo nacional, porque tiene un sabor similar a un producto tan tradicional de la gastronomía colombiana como lo es la gelatina de pata de res. A nivel internacional podría tener un impacto positivo en el consumidor porque se ha notado una buena acogida de este tipo de postres por parte de los extranjeros. Estados Unidos, por ejemplo, es denominado el mercado natural para los “productos étnicos”, “en Europa todo lo que tenga un aire latino o tropical es sinónimo de exótico y puede venderse como pan caliente”, indicó José Manuel Alvarellós, director comercial para América Latina de la empresa española EIA, S.A., especialista en temas de comercio internacional (Campos. D, 2004).

### **3.4.1.4 Identificación del mercado**

Los nutraceuticos incluyen una amplia gama de productos de consumo que utilizan compuestos naturales. Estos compuestos se encuentran en su estado natural o en productos alimentarios que suministran niveles mejorados de vitaminas, minerales, nutrientes u otras sustancias que, según se afirma, mantienen la salud. Se estima que el mercado para estos productos ascenderá a la suma de 9.600 millones de dólares en 2008, constituyéndose como uno de los mercados más promisorios para la región andina. En los Estados Unidos, las ventas de estos productos aumentan entre 5% y 10% al año (CAF, 2005).

El área de alimentos funcionales, un tipo específico de productos nutraceuticos, goza de una importante presencia en el mercado y de una rápida tasa de crecimiento. Los alimentos funcionales dominan las ventas de la industria de la nutrición en los Estados Unidos, Europa, Japón y Canadá. En 2002, el valor de la industria de los alimentos funcionales en los Estados Unidos fue de 20.200 millones de dólares ó 4% del valor total de la industria alimentaria. Se prevé una tasa de crecimiento promedio cercana al 13%, alcanzando un valor de mercado de 37.700 millones de dólares en 2007 (CAF, 2005).

En Colombia los alimentos funcionales ya han entrado en auge. ACNielsen realizó un estudio, en el cual se muestra el crecimiento del mercado de los productos funcionales. A continuación se presentan los resultados de crecimiento para diferentes categorías de alimentos funcionales, con respecto al mercado global de cada categoría (Dinero, 2005).

Tabla 18. Análisis del mercado de los productos funcionales (Dinero, 2005).

<b>Categoría</b>	<b>Crecimiento total categoría (%)</b>	<b>Crecimiento productos saludables (%)</b>	<b>Participación saludables frente al volumen total</b>	<b>Diferencia de precio frente al promedio del mercado</b>
Salsa de tomate	3,5	81	Menos del 3%	Superior entre el 10% y 20%
Dulces	1	23	Menos del 3%	Superiores en mas del 30%
Gomas de mascar	5	18	Entre el 3% y el 7%	Superiores en mas del 30%
Chocolate de mesa	5,5	16	Entre el 3% y el 7%	Superiores en más del 30%
Refrescos en polvo	29	16	Entre el 7% y el 15%	Superior entre el 10% y el 20%
Margarinas	2	13	Entre el 7% y el 15%	Superior entre el 20 y el 30%
Café soluble	4	12	Entre el 3% y el 7%	Superiores en más del 30%
Chocolatinas	4,5	10	Menos del 3%	Menos del 10% e incluso por debajo.
Leche larga vida	4,5	9	Mas del 25%	Menos del 10% e incluso por debajo.
Jugos y néctares	-0,7	6	Entre el 7% y el 15%	Superior entre el 10% y el 20%+
Cereales listos	5,5	3	Mas del 25%	Menos del 10% e incluso por debajo
Pan Empacado	4	2	Entre el 7% y el 15%	Menos del 10% e incluso por debajo

De acuerdo a los resultados del estudio de ACNielsen, es posible identificar que el mercado de algunos alimentos funcionales está creciendo a un ritmo mucho más alto que el del segmento respectivo. Esto ocurre en casos como salsa de tomate, dulces, gomas de mascar, chocolate de mesa, margarinas, café soluble, chocolatinas, leche larga vida, jugos y néctares. Con excepción de los dos últimos, los productos funcionales crecen a tasas de dos dígitos, mientras su respectiva categoría lo hace a tasas inferiores al 10%. El estudio de ACNielsen revela también como han ido ganando terreno los productos saludables en cuanto a ventas por volumen en cada categoría en Colombia. En leche larga vida y cereales listos, representan más de 25%. En aceites líquidos, mayonesas, margarinas y refrescos en polvo tienen entre el 7 y el 15% del mercado (Dinero, 2005).

### **3.4.1.5 Políticas relacionadas con alimentos funcionales**

Los alimentos funcionales tienen menos restricciones de reglamentación y requerimientos de capital que los productos farmacéuticos. En términos de tipos de requerimientos de tecnología, en el desarrollo de alimentos funcionales no existen plataformas de tecnología específicas. Como se derivan de ingredientes naturales, el desarrollo y fabricación de alimentos funcionales es característico del segmento en el cual se comercializan. Por ejemplo, los “yogurt funcionales” emplean tecnologías características de la industria láctea en la fabricación de cualquier otro yogurt (CAF, 2005).

Las condiciones de reglamentación difieren ampliamente entre los Estados Unidos, la Unión Europea y Japón. En la Unión Europea, muchos aspectos de la reglamentación de los productos nutracéuticos continúan siendo determinados por Estados Miembros individuales. En consecuencia, en la Unión Europea, el cumplimiento de la reglamentación puede ser muy complicado. El sistema de los Estados Unidos es más desarrollado, si bien continúa restringido por la ambigüedad sobre si los alimentos funcionales son complementos alimenticios o dietéticos “Alimentos para Uso Específico en Salud” (FOSHU, por sus siglas en inglés). Por su parte, el sistema de reglamentación japonés, es algo más avanzado, pues tiene como finalidad primaria permitir que ingredientes establecidos y aceptados sean utilizados en los alimentos, antes que estimular el desarrollo de nuevos ingredientes (CAF, 2005).

En los Estados Unidos, entró en vigencia en mayo de 1997 una nueva reglamentación sobre “alimentos nuevos”, la cual hace todavía más compleja la situación para quienes buscan introducir alimentos con ingredientes activos al mercado. Entre los alimentos nuevos se incluyen tipos de alimentos o ingredientes que todavía no se han utilizado para consumo humano. El mayor énfasis de la actualidad se hace en la evaluación de la seguridad de ingredientes derivados de organismos genéticamente modificados (OGM) antes que en la promoción de alimentos funcionales (CAF, 2005).

En Colombia, se trabaja en una reglamentación para que se puedan comercializar productos que están en el limbo, pues no son alimentos ni son medicamentos. Esto permitiría que mediante un sticker se explique que el producto no está avalado por el Invima pero que no causa daños a la salud. Otro aspecto muy importante es que el gobierno tiene el objetivo claro de volver competitivas las ventajas de Colombia en el tema de la biodiversidad sobre todo a puertas del TLC (Dinero, 2005).

Dado que la fuente de los alimentos funcionales son los ingredientes naturales, un fabricante no puede reclamar la protección inherente a la propiedad intelectual por un producto de la naturaleza, puede reclamar la propiedad intelectual por uso de un producto natural, por la combinación de productos naturales en una fórmula o

puede reclamar los derechos de autor sobre una marca identificada con uno o más productos naturales (CAF, 2005).

### 3.4.1.6 Competencia

Actualmente, en Colombia no se conocen empresas que se dediquen a fabricar productos con base en *G. lucidum*, por ende no hay competencia directa a nivel nacional. A nivel internacional si se han desarrollado diversos productos a partir del cuerpo fructífero de *G. lucidum* como lo son: te, café, chocolate, cápsulas, elixir, sopa, etc., los cuales son muy apetecidos por el mercado, pero tienen la desventaja de que son muy costosos. Se tiene precios de algunos productos nutracéuticos que podrían entrar a competir directamente con la gelatina enriquecida:

Tabla 19. Productos nutracéuticos sustitutos (Ganoexcel, 2006).

Suplemento nutracéutico	Precio (US)
Ganoderma 90 - ( 90 Caps/Bottle )	48.00
Ganoderma 30 - ( 30 Caps/Bottle )	17.00
Gano Excellium 90 - ( 90 Caps/Bottle )	48.00
Gano Excellium 30 - ( 30 Caps/Bottle )	17.00
Gano Garcinia - ( 120 Caps/Bottle )	52.00
Gano Sakanno 60 - ( 60 Caps/Bottle )	55.00
Gano Sakanno 30 - ( 30 Caps/Bottle )	29.00

Estos productos son elaborados por una empresa llamada Gano Excel, la cual trabaja solo con cultivo sólido y tiene operaciones y oficinas en 14 países y sede central en Malasia, con 10 años en el desarrollo de productos y que reportó \$130 millones de dólares en ventas en el 2003 (Ganoexcel, 2006).

Además de esta empresa, en China e Indonesia existen grandes empresas dedicadas a la producción y exportación de productos de *G. lucidum* como Fuijan Xianzhilou Biological & Technology Co., Taian Zhonxin *Ganoderma lucidum* Technology Co. Ltd , entre otras.

### 3.4.1.7 Formas de ventas y distribución.

Para realizar la incursión del producto en el mercado se empleará el modelo de ventas multinivel, el cual consiste en emplear a los clientes o consumidores como fuerza de venta y medio publicitario, a cambio de esto los clientes/vendedores reciben comisiones por las ventas generadas por ellos y por las personas que han incluido en el sistema. Este tipo de ventas es muy utilizado para la



comercialización de productos naturales, además, es un negocio creciente que produce ingresos adicionales para 54 millones de personas en el mundo. Se dice que a finales de 2012, cerca de 200 millones de personas, entre ellos los chinos, quienes representan un mercado atractivo para este producto, estarán en el negocio multinivel. A nivel local se ha reportado que Colombia es el cuarto país de América Latina con ventas multinivel con más de 583 millones de dólares en el período 2003-2004 y una fuerza de ventas de 650.000 personas (Lopera, 2005).

#### **3.4.1.8 Características de los consumidores actuales o potenciales**

La preocupación por la vida saludable es una tendencia mundial. Según The Food and Marketing Institute, cerca del 87% de los consumidores revelan estar preocupados por la nutrición. Los consumidores consideran que la mejor manera de controlar su estrés es llevar una vida saludable. De acuerdo con un estudio de Napoleón Franco, el 49% de los colombianos hace deporte y el 30% cuida su alimentación (Dinero, 2002).

El consumidor de hoy reconoce la importancia de cuidar su salud y su cuerpo. La nutrición, el deporte y llevar una vida sana constituyen hoy una de las tendencias más significativas en los mercados de consumo en el país. La salud, que en otras épocas solo era una variable importante en el mercado de las drogas, hoy es un atributo valioso que decide la compra en un amplio número de productos de consumo (Dinero, 2002).

Se podría pensar que la evolución de los productos alimenticios dietéticos a los productos basados en nutrientes para atender también otros aspectos de la salud, constituye un viraje radical de la idea de considerar un problema general de salud (tener sobrepeso) a tratar una gama de problemas de salud con hierbas y extractos específicos. En los años 90, cuando los consumidores comenzaron a preocuparse por saber más sobre la salud y la dieta, también comenzaron a consumir estos productos, no solamente para resolver problemas de apariencia, sino también para evitar la enfermedad (CAF, 2005).

#### **3.4.1.9 Análisis DOFA**

Es necesario identificar las fortalezas y debilidades de la organización, así como las oportunidades y amenazas que ofrece el entorno, ya que esto permite determinar los aspectos que se deben mejorar, caracterizar la competencia y el medio en el cual se desarrollará el proyecto.

Tabla 20. Análisis DOFA

<b>FORTALEZAS</b>	<b>DEBILIDADES</b>
<p>La empresa cuenta con el conocimiento necesario para el desarrollo de un producto nuevo e innovador.</p> <p>Como esta empresa utiliza cultivo sumergido para la obtención del hongo, obtiene una mayor productividad comparada con las que emplean el cultivo sólido que es el que se utiliza actualmente.</p> <p>La matriz que se emplea para la fabricación del producto tiene alto contenido proteico, lo que permite darle mayor valor agregado.</p> <p>El hecho de que el producto posea estevia lo hace atractivo para el consumidor por tener un contenido calórico menor que el de la gelatina tradicional.</p>	<p>La inversión inicial requerida para el proyecto es significativamente alta, puesto que los equipos requeridos además de ser muy costosos, algunos de ellos deben ser importados.</p>
<b>OPORTUNIDADES</b>	<b>AMENAZAS</b>
<p>Los consumidores en el mundo están tomando conciencia de la importancia del consumo de productos saludables, esto es evidenciado en el notable crecimiento de la demanda de los productos funcionales.</p> <p>Los precios de los productos sustitutos existentes, son significativamente mayores al que tendrá este producto.</p> <p>La gelatina de pata por ser un producto altamente nutritivo y propio de la cultura colombiana, resulta muy atractivo en el mercado internacional.</p> <p>El <i>Ganoderma lucidum</i> goza de un gran reconocimiento a nivel internacional, especialmente en los países asiáticos y los Estados Unidos por sus propiedades medicinales.</p>	<p>Actualmente el INVIMA y la FDA tienen problemas técnicos en lo que respecta a la correcta definición de esta clase de productos por lo tanto, la obtención del registro sanitario puede resultar complicada.</p> <p>Como es un producto nuevo en el mercado se requiere de una gran inversión en publicidad para darlo a conocer tanto en Colombia como en el exterior.</p>

#### **3.4.1.10 Proyección de la demanda**

Para realizar la proyección de la demanda se tomará como base la producción de *G. lucidum* de la empresa china Fujian Xianzhilou Biological Science & Technology Co, la cual es una empresa relativamente nueva en el mercado ya que fue fundada en el 2001. Esta empresa se dedica al cultivo industrial de *G. lucidum* en medio sólido, para la elaboración de productos como cápsulas, *Ganoderma* pulverizado entre otros (Xianzhilou, 2006). La producción anual de esta empresa es de 300 ton/año. Teniendo en cuenta que dicha empresa es exportadora, tiene un amplio mercado y maneja una gran gama de productos; se estima que en un principio se podría obtener el 0,4 % de su demanda, lo cual equivale a 1,2 ton/año. Además, se prevé que el crecimiento anual será del 10%.

#### **3.4.1.11. Análisis de la oferta**

El producto que se tiene es nuevo, por lo tanto no puede hacerse un análisis, detallado de la oferta. Sin embargo, tomando como referencia el comportamiento en el mercado de empresas que elaboran productos derivados de *G. lucidum*, como la empresa Gano Excel, la cual en solo 10 años de operación ha ingresado exitosamente en el mercado de 14 países en el mundo y reportó ventas de 130 millones de dólares en el 2003, se puede inferir que el *G. lucidum* ha tenido una buena aceptación en el mercado; por lo tanto, las empresas que se dedican a la explotación de este hongo deben ir aumentando la oferta de sus productos.

#### **3.4.1.12. Análisis de precios**

El precio va a estar afectado por los siguientes factores:

- Destino del producto (Costos de transporte).
- Variaciones en la disponibilidad y costo de la materia prima.
- Volumen de producción (mayores volúmenes menor costo unitario).

Políticas que pueden afectar el precio:

- Impuestos y aranceles.
- Incentivos gubernamentales por ser una empresa naciente y de innovación tecnológica.

#### **3.4.1.13 Análisis del sistema de comercialización**

Sistema de publicidad y promoción:

Debido a que se va a utilizar un sistema de ventas multinivel con una empresa ya reconocida en este mercado, el producto será vendido bajo la marca de dicha empresa; por lo tanto la publicidad y promoción serán asumidas por la comercializadora.

### 3.4.2 Estudio técnico

#### 3.4.2.1 Capacidad de producción

La demanda tanto nacional como internacional del producto fue estimada en el estudio de mercado en 70.416 cajas por 12 unidades al año, es decir 196 cajas al día. Para ello se requiere producir 33 l de *Ganoderma lucidum* y procesar 281,6 Kg de melao por cada lote de diez días.

#### 3.4.2.2 Diseño conceptual del Proceso

##### 3.4.2.2.1 Escalado del biorreactor

Se utilizó el coeficiente de transferencia de oxígeno ( $K_La$ ) como criterio de escalamiento, ya que dicho parámetro representa correctamente este sistema (Hincapié *et al.*, 2005), además, teniendo en cuenta que el proceso es significativamente dependiente del oxígeno, el  $K_La$  es fundamental para mantener el crecimiento y la productividad del microorganismo cuando se trabaja a gran escala.

- **Determinación del coeficiente de transferencia de oxígeno.**

De las correlaciones para  $K_La$  dadas en la literatura, se escogió la propuesta por Van't Riet en 1979, ya que puede ser aplicada para soluciones electrolíticas no coalescentes y el medio de cultivo empleado, tiene este comportamiento. La correlación de Van't Riet se presenta a continuación (Asenjo, J., 1995):

$$K_La = 2 \times 10^{-3} \left( \frac{P_g}{V} \right)^{0.7} (Vs)^{0.2}$$

Para poder llevar a cabo este escalado, es necesario conocer algunos datos de operación y de diseño del biorreactor a escala de laboratorio, las propiedades del medio de cultivo y datos básicos de diseño del biorreactor a escala piloto, se presentan en las Tablas 21, 22 y 23.

Tabla 21. Datos de operación y diseño del biorreactor a escala de laboratorio

<b>D (m)</b>	0,12
<b>Di (m)</b>	0,045
<b>HL (m)</b>	0,167
<b>Hi (m)</b>	0,0457
<b>Wb (m)</b>	0,01
<b>Nb</b>	4
<b>Wi (m)</b>	0,0122
<b>Li (m)</b>	0,015
<b>ni (rpm)</b>	100
<b>ni (rps)</b>	1,6667
<b>Q (m<sup>3</sup>/s)</b>	5*10 <sup>-5</sup>
<b>V (m<sup>3</sup>)</b>	2*10 <sup>-3</sup>
<b>Wi/Di</b>	0,27
<b>D/Di</b>	2,6667
<b>HL/Di</b>	6,6667
<b>Vs (m/s)</b>	0,0086
<b>K<sub>L</sub>a experimental (s<sup>-1</sup>)</b>	0,0032

Tabla 22. Propiedades del medio de cultivo.

<b>Densidad (g/cm<sup>3</sup>)</b>	1,0139
<b>Viscosidad (P)</b>	0,0081

Tabla 23. Datos de diseño de los biorreactores de 4 l y 40 l (Walas, 1990).

<b>Parámetro</b>	<b>Biorreactor de 4 lt</b>	<b>Biorreactor de 40 lt</b>
D (m)	0,1541	0,332
Di (m)	0,0577	0,1244
HL (m)	0,2144	0,462
Hi (m)	3,57*10 <sup>-2</sup>	0,077
Li (m)	0,0072	0,015
Wb (m)	1,284*10 <sup>-2</sup>	2,766*10 <sup>-2</sup>
Wi (m)	0,1787	0,385
Nb	4	4
Hb	0,0288	0,0622
HL/D	1,3916	1,3916
Di/D	0,375	0,375

Donde (ver Figura 5):

$D$  = Diámetro interno del reactor

$H_L$  = Altura del líquido

$H_i$  = Altura del fondo del reactor al impeler

$W_i$  = alto del impeler

$n_i$  = Velocidad de agitación

$V$  = Volumen de trabajo en el reactor

$V_s$  = Velocidad de ascenso de la burbuja

$K_L a$  = Coeficiente volumétrico de transferencia de masa

$D_i$  = Diámetro del impulsor

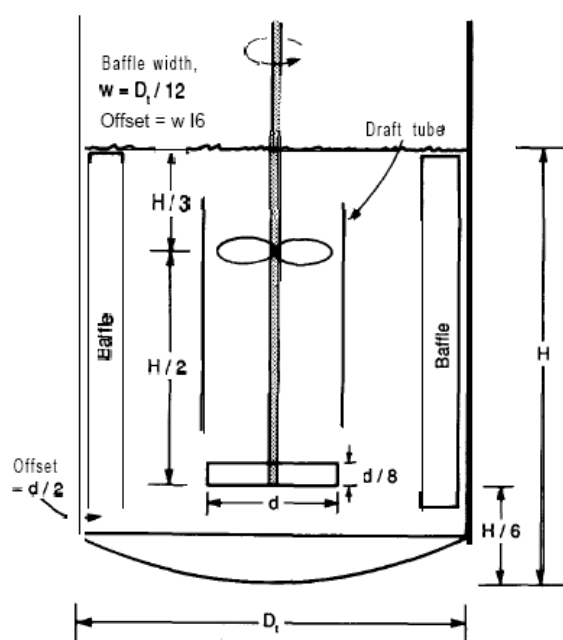
$W_b$  = Ancho del bafle

$N_b$  = Número de bafles

$L_i$  = ancho del impeler

$Q$  = Flujo de aire

Figura 5. Dimensiones para un tanque agitado (Walas, 1990).



Después de tener esta información, se lleva a cabo el proceso de escalado de la siguiente forma:

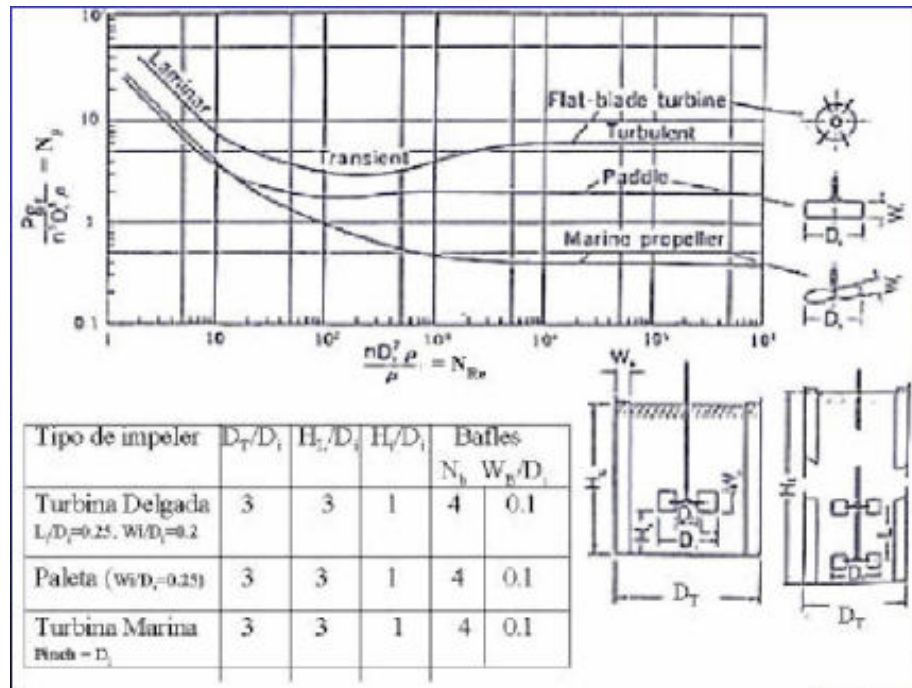
- **Cálculo del número de Reynolds ( $Re$ )** (Dorán, 1999)

$$Re = \frac{n_i D^2 \rho}{\mu}$$

- **Obtención y corrección del número de potencia ( $N_p$ )**

Para la obtención del número de potencia se utiliza el gráfico que se encuentra en libro Bioprocess Engineering Principles (Doran, 1999). Dicho gráfico se presenta en la Figura 6.

Figura 6. Relación entre el Re y el Np para tres tipos de impulsores.



Dado que el biorreactor a escala de laboratorio no cuenta con la misma configuración geométrica que los reactores utilizados para encontrar estas relaciones, es necesario aplicar un factor de corrección para el número de potencia hallado por este método. De esta forma, el número de potencia corregido es (Trujillo, 2005):

$$Np = Np^0 * \left[ \frac{(W / D_{\{real\}})}{(W / D_{\{óptima\}})} \right]^{1.25}$$

- **Cálculo de la potencia entregada al fluido por el agitador sin aireación** (Dorán, 1999)

$$Po = Npc * \rho * Ni^3 * Di^5$$

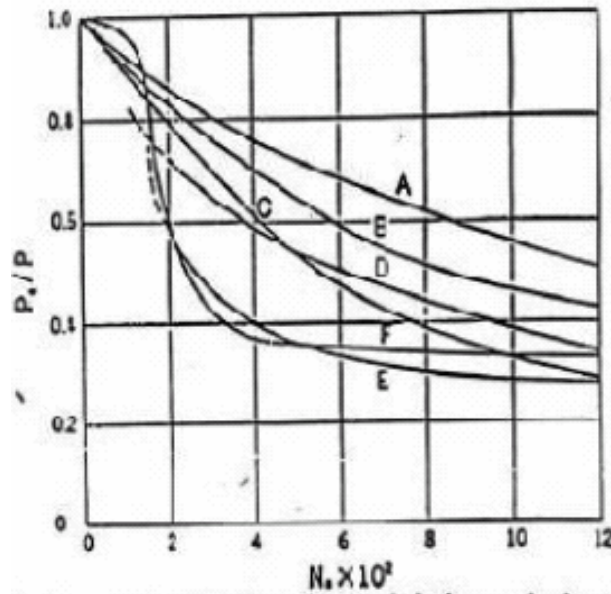
- **Cálculo del número de aireación (Na)** (Bailey y Ollis, 1977)

$$Na = \frac{Li * N^{\circ} \text{ agitadores}}{Di^3 * Ni}$$

- **Obtención de la relación entre la potencia gaseada y la no gaseada**

Para la obtención de esta relación, se hace uso de la Figura 7.

Figura 7. Relación entre  $P_g/P_o$  y  $N_a$  (Bailey y Ollis, 1977).



- **Determinación de los parámetros de operación** (Universidad Nacional de Colombia, 2006).

Velocidad de giro del impulsor ( $n_G$ ):

$$\frac{(K_L a)_G}{(K_L a)_P} = 0.026 \frac{0.026 \left( \frac{P_G}{V_G} \right)^{0.7} v_{sG}^{0.2}}{0.026 \left( \frac{P_P}{V_P} \right)^{0.7} v_{sP}^{0.2}} = \left( \frac{n_G^3 D_{AG}^2}{n_P^3 D_{AP}^2} \right)^{0.7} \left( \frac{\frac{4}{\pi} n_G D_{AG}}{\frac{4}{\pi} n_P D_{AP}} \right)^{0.2}$$

$$\left( \frac{n_G}{n_P} \right) = \left( \frac{D_{AG}}{D_{AP}} \right)^{-1.6/2.3}$$

Donde:

G = reactor grande  
P= Reactor pequeño



Caudal de aire (Q<sub>G</sub>):

$$\frac{Q_G}{Q_P} = \left( \frac{n_G}{n_P} \right) \left( \frac{D_{AG}^3}{D_{AP}^3} \right)$$

Volumen de aire por volumen de medio por minuto (vvm) :

$$\frac{\left( \frac{Q}{V} \right)_G}{\left( \frac{Q}{V} \right)_P} = \frac{n_G}{n_P}$$

Potencia por unidad de volumen:

$$\frac{\left( \frac{P}{V} \right)_G}{\left( \frac{P}{V} \right)_P} = \left( \frac{n_G}{n_P} \right)^3 \left( \frac{D_{AG}}{D_{AP}} \right)^2$$

Potencia:

$$\frac{P_G}{P_P} = \left( \frac{n_G}{n_P} \right)^3 \left( \frac{D_{AG}}{D_{AP}} \right)^5$$

Tabla 24. Parámetros de operación de los biorreactores

Parámetro	Biorreactor de 2 l	Biorreactor de 4 l	Biorreactor de 40 l
K <sub>L</sub> a calculado (s <sup>-1</sup> )	0,0032	0,0032	0,0032
Velocidad de giro (rpm)	100	88,312	60,145
Caudal de aire (m <sup>3</sup> /s)	5*10 <sup>-5</sup>	9,37*10 <sup>-5</sup>	6,3529*10 <sup>-4</sup>
vvm	1,5	1,3246	0,9021
Potencia (W)	0,0198	0,0474	0,6964
Potencia por unidad de volumen (W/m <sup>3</sup> )	9,921	11,233	16,495

### 3.4.2.2.2 Requerimientos del proceso

- **Materias Primas**

Para la fabricación del producto funcional se emplearan las siguientes materias primas:

Colágeno extraído de la pata de res

Producto resultante de la cocción al vapor de la pata de la res, luego de retirarle la capa de cebo y los huesos. De color grisáceo, olor y sabor característicos.

Cepa de *Ganoderma lucidum*.

Microorganismo conservado en agar sólido a una temperatura de 4 °C.

Glucosa anhidra:

Cristales blancos. Inodoros, no tóxicos y no inflamables.

Peptona:

Polvo fino de color café y olor característico. No tóxico y poco inflamable.

Extracto de levadura:

Polvo fino de color café y olor característico. No tóxico y poco inflamable.

Fosfato de potasio dibásico anhidro ( $K_2HPO_4$ ):

Cristales blancos, inodoros, no tóxicos y no inflamables.

Sulfato de magnesio heptahidratado ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ):

Cristales blancos, inodoros, no tóxicos y no inflamables.

Tiamina hidroclorehidra (Vitamina B1):

Polvo blanco de olor característico, no tóxico y no inflamable.

Extracto de estevia:

Polvo blanco preparado a partir de las hojas de *Stevia rebaudiana* que es una pequeña planta nativa de Brasil y Paraguay, con un poder endulzante dos veces mayor al de la sacarosa.

Panela:

Producto extraído en la caña de azúcar y comercializado en bloques de una libra de color café. Está compuesta por varios azúcares como sacarosa, fructosa y glucosa, además de varias vitaminas y minerales.

Todas las materias primas cuentan con proveedores a nivel nacional, aunque algunas de ellas solo son fabricadas en el exterior. El colágeno será obtenido de una empresa llamada Proageld, ubicada en el sector de Andalucía (Valle del

Cauca), donde será establecida la planta de producción de gelatina enriquecida; para la panela se cuenta con gran cantidad de trapiches en ese mismo sector; la estevia puede ser adquirida en la empresa Bio-Stevia S.A, la cual también tiene sede en el Valle del Cauca. Existen varios laboratorios donde puede ser adquirida la glucosa como Laboratorios Bellchem. Las demás materias primas que no son fabricadas en el país, pueden ser adquiridas por medio de distribuidores nacionales como TC Químicos.

En caso de requerirse materiales que no estén disponibles en Colombia, su transporte se verá facilitado por la cercanía que se tendrá al puerto de Buenaventura.

- **Servicios**

A continuación se presenta una tabla con un resumen de las características principales de los servicios requeridos.

Tabla 25. Especificaciones de los servicios industriales requeridos

<b>Servicio Industrial</b>	<b>Descripción</b>
<b>Aire comprimido</b>	Aire seco y presurizado a 2,6 barg
<b>Agua de proceso *</b>	Agua desionizada: Resistividad: 18,2 MΩ·cm-1 Conductividad: 0,055 μS·cm-1. pH: 6,6-7,6 a 22 °C
<b>Agua de enfriamiento (cw) **</b>	30 °C. La temperatura de retorno no es mayor a 45 °C.
<b>Vapor de Agua **</b>	lps (6,18 bar)
<b>Combustible</b>	Gas
<b>Energía eléctrica</b>	La planta tendrá conexiones de 110, 220 y 440 voltios. Ésta se puede adquirir de la empresa encargada de la distribución en la zona de Andalucía (Valle del Cauca), la Empresa de Energía del Pacífico (EPSA).
<b>Gases de protección</b>	N <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub>

\* (Wikipedia, 2006)

\*\* (Turton, *et al.* 2003)

- **Mano de obra**

Dado que el proceso productivo no es continuo sino por baches, sólo se requieren dos turnos de trabajo de 8 horas cada uno; uno de 6 a.m. a 2 p.m. y otro de 2 p.m. a 10 p.m, seis días a la semana.

En cada turno se debe contar con 5 operarios y el apoyo de un mecánico, un ingeniero de procesos, un contador, un revisor fiscal, un jefe de ventas, una secretaria, un vigilante y personal de servicios varios.

### **3.4.2.2.3 Descripción del Proceso**

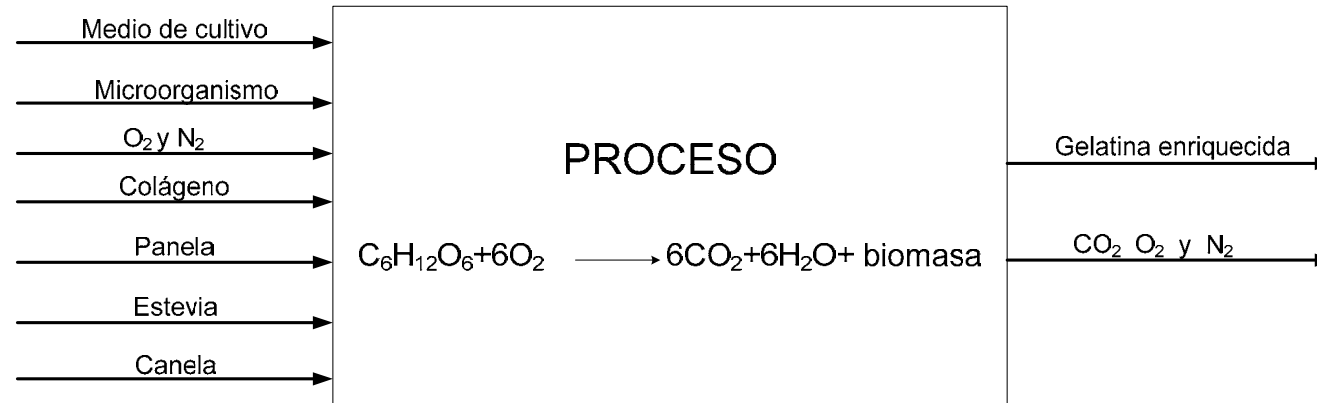
Este proceso se inicia con la preparación del medio de cultivo para el preinóculo, que consiste en glucosa (35 g/l), peptona (5 g/l), extracto de levadura (5 g/l), fosfato dipotásico (1 g/l), sulfato de magnesio heptahidratado (0,5 g/l), vitamina B1 (0,05 g/l) a un pH de 5,5. Este medio es esterilizado a 121 °C y 15 psi por 15 min. El preinóculo es cultivado por cinco días a 100 rpm en matraces de 250 ml, empleando una cepa conservada en caja petri, con máximo tres meses de almacenamiento. La biomasa resultante es llevada a un biorreactor de 4 l (R-101) donde se realiza una etapa adicional de cultivo, al R-101 también se le adiciona 3,6 l del medio de cultivo descrito inicialmente y debe ser esterilizado antes de realizar su inoculación. Este reactor trabaja a 88 rpm, 1.4 vvm de aireación y 30 °C por un período de 5 días.

El producto obtenido en el R-101, es utilizado para la inoculación del R-102, donde se lleva a cabo la etapa de biotransformación con un período de duración de 8 días, a 60 rpm de agitación, 0.9 vvm de aireación y una temperatura igual a la del R-101. En este caso el medio de cultivo empleado, está compuesto por glucosa (60 g/l), peptona (5 g/l), extracto de levadura (5 g/l), fosfato dipotásico (1 g/l), sulfato de magnesio heptahidratado (0,5 g/l), vitamina B1 (0,05 g/l) a un pH de 6, al igual que en las etapas anteriores, aquí debe realizarse la esterilización del equipo y el medio de cultivo, por medio de vapor a 6.18 bares.

Una vez han finalizado las diferentes etapas de la biotransformación, el producto es llevado a un homogenizador (H-101), para luego ser mezclado, junto con el colágeno, la panela y estevia en un tanque agitado (M-101), en las proporciones establecidas en la fórmula del producto. El M-101 opera a presión atmosférica y una temperatura de 120 °C. Allí se agita el melao a 45 rpm, hasta obtener la consistencia requerida para llevar a cabo el proceso de batido, el cual es realizado en forma manual. Luego el producto es formado en unidades de 12 g. y empacado en cajas por 12 unidades.

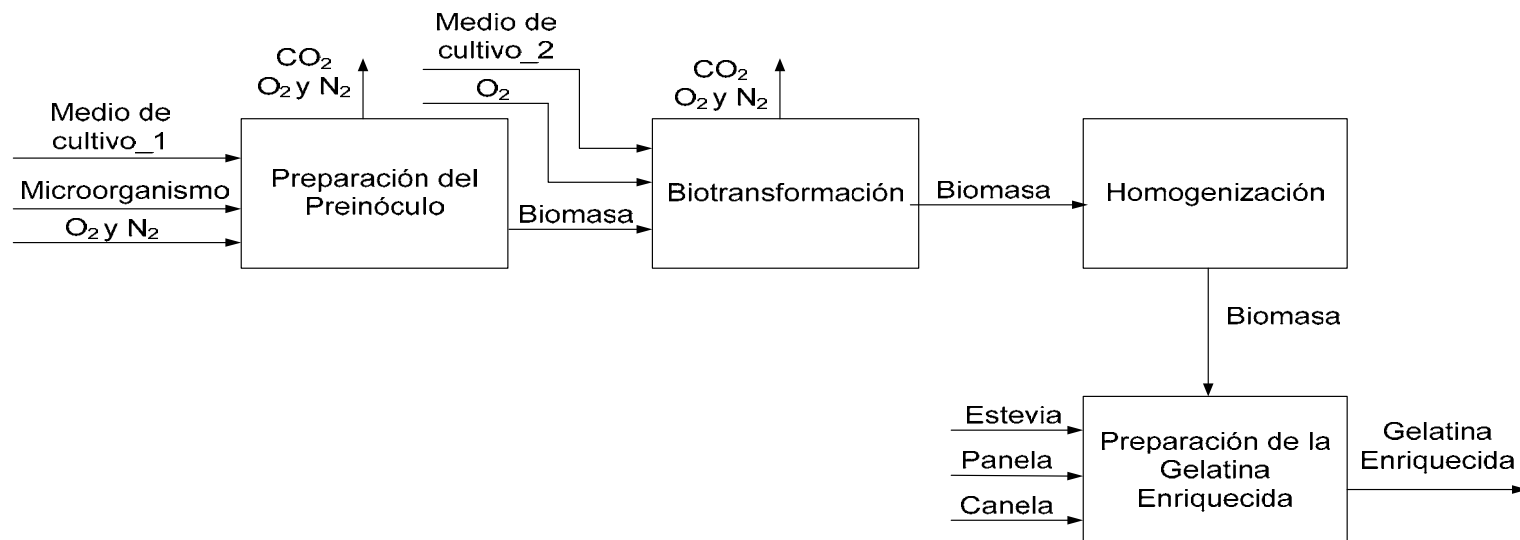
### 3.4.2.2.4 Diagrama General de Entradas y salidas

Figura 8. Diagrama General de entradas y salidas



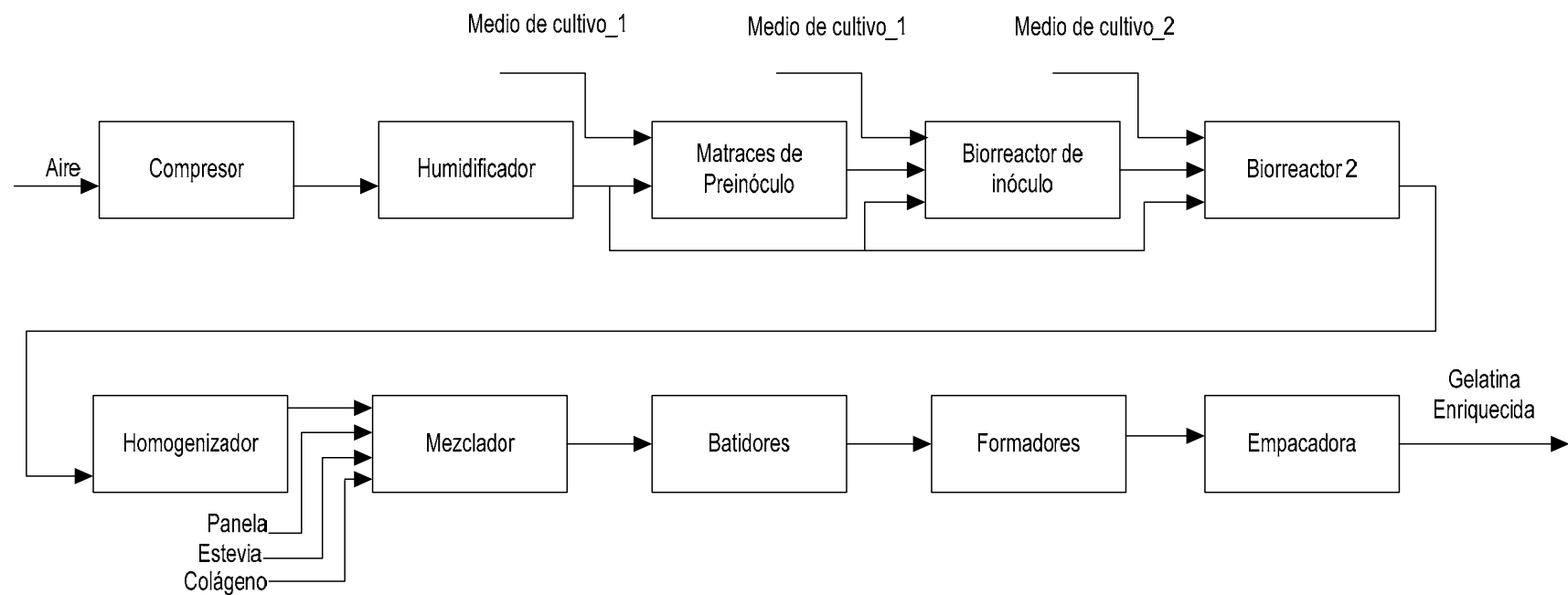
### 3.4.2.2.5 Diagrama Genérico de Bloques

Figura 9. Diagrama genérico de bloques.



### 3.4.2.2.6 Diagrama de bloques del proceso

Figura 10. Diagrama de bloques de proceso



### **3.4.2.2.7 Selección de Equipos**

Una vez definidas las operaciones que deben llevarse a cabo, se procede a realizar una selección de los equipos que se ajustan a los requerimientos del proceso:

#### **C-101**

Compresor rotatorio

Estos sistemas son compresores de desplazamiento positivo, en los que se manejan bajos rangos de compresión y son ampliamente usados para comprimir aire (África *et al.*, 1999).

#### **P-101**

Bomba peristáltica

Debido a que se requiere un flujo intermitente para el control de pH en los biorreactores y a su vez el fluido empleado para esto debe conservarse estéril, se debe usar este tipo de bombas pues al emplearlas, el fluido no entra en contacto con ellas (Wikipedia, 2006).

#### **P-102**

Bomba centrífuga

Es seleccionada para el transporte del fluido refrigerante a través de la chaqueta del R-102, se seleccionó este tipo por ser muy eficientes, económicas y versátiles. (Turton, 2003).

#### **P-103, P-104**

Bombas reciprocantes

Se seleccionó este tipo de bomba, ya que elimina la necesidad de empaque o sellos expuestos al líquido que se está bombeando, es eficiente y es altamente usado en industria de alimentos (Walas, 1990).

#### **E-101, E-102**

Intercambiadores de doble tubo.

Se eligió este tipo de intercambiador ya que se requiere un área de transferencia de calor muy pequeña, son económicos y fácil diseño (Walas, 1990).

#### **H-101**

Homogenizador, multipropósito

Este tipo de homogenizador es muy versátil, puede ser usado en un amplio rango de viscosidad y es muy empleado en la industria de alimentos (Tronka-Agrotech, 2006).

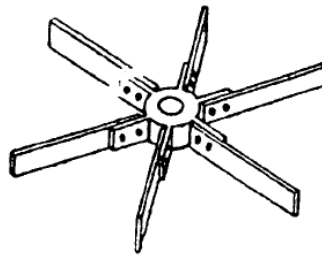
### **M-101**

Mezclador, impeler de cuchillas planas.

Este sirve para mezclar fluidos de alta viscosidad, es de geometría simple y fácil limpieza, se encuentra cubierto por material aislante para reducir las pérdidas de calor (Walas, 1990). Estas características lo hacen adecuado para el proceso en el cual se tiene una viscosidad relativamente alta y la mezcla tiende a adherirse a las cuchillas del mezclador.

A continuación se muestra una figura con el tipo de impeler seleccionado para este equipo.

Figura 11. Impeler de cuchillas planas (Walas, 1990)



#### **3.4.2.2.8 Balances de Materia**

Ecuación general:

$$Entra + (Genera - Consume) = Sale + Acumula$$

Hay que tener en cuenta que las unidades se operan en forma batch, por lo tanto los balances son realizados para las cantidades de materia manejados en un lote, para cada equipo en particular.

Para determinar la cantidad de biomasa requerida en cada operación de la biotransformación, se asumió que ésta debe ser del 10% del volumen total efectivo (Galindo y Ramírez, 1994).

En las siguientes tablas se muestran los resultados del balance de materia en cada uno de los equipos del proceso de obtención de gelatina enriquecida:



Tabla 26. Balance de masa para el SK-101

<b>SK-101</b>	
Entra	
Medio de cultivo_1 (Kg)	0,3664
Genera	
Biomasa (Kg)	0,008
Consumo	
Sustrato (Kg)	0,0155*
Acumula	
Preinóculo (Kg)	0,3589

\* Dato calculado con base en Hincapié *et al.*, 2005

Tabla 27. Balance de masa para el R-101

<b>R-101</b>	
Entra	
Medio de cultivo_1 (Kg)	3,2966
Preinóculo (Kg)	0,3589
Total	3,6555
Genera	
Biomasa (Kg)	0,068
Consumo	
Sustrato (Kg)	0,1770
Acumula	
Inóculo (Kg)	3,5465*

\*Se asumen pérdidas del 3% (V/V) al pasar al siguiente proceso

Tabla 28. Balance de masa para el R-102

<b>R-102</b>	
Entra	
Medio de cultivo_2 (Kg)	32,7911
Inóculo (Kg)	3,5465
Total	36,3376
Genera	
Biomasa (Kg)	0,4642
Consumo	
Sustrato (Kg)	1,5851
Acumula	
Producto biotransformación (Kg)	35,2167

Tabla 29. Balance de masa para el H-101

<b>H-101</b>	
Entra	
Producto biotransformación (Kg/s)	5,5556*10 <sup>-2</sup>
Sale	
Mezcla homogenizada (Kg/s)	5,5556*10 <sup>-2</sup>

Tabla 30. Balance de masa para el M-101

<b>M-101</b>	
Entra	
Colágeno (Kg)	16,7533
Panela (Kg)	24,8634
Estevia (Kg)	4,1433
Mezcla homogenizada (Kg)	10,5586
Canela (Kg)	0,0063
Total	56,3251
Sale	
Melao (Kg)	*56,3251

\* Se asumen pérdidas del 20% (V/V) al pasar al siguiente proceso.

### 3.4.2.2.9 Balances de Energía

- **Shaker**

Consideraciones:

- Estado estacionario
- Los cambios en la energía cinética y potencial son muy pequeños.
- Los cambios en el calor sensible son muy pequeños, debido a que no hay un aumento significativo en la temperatura.

$$W = Q$$

Tabla 31. Balance de energía para el SK-101

SK-101	
W (W)	66*
Q (W)	66

\*Agitador PROMAX 2020. Laboratorio de Biotecnología  
Universidad EAFIT.

### • Compresor

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía cinética y potencial es despreciable.
- Comportamiento de gas ideal

$$\Delta H + Q = W$$

$$W = \left( \frac{mz_1RT_1 \left[ \left( \frac{P_2}{P_1} \right)^{(k-1)/k} - 1 \right]}{(k-1)/k} \right) * \frac{1}{\epsilon_{sh} * \epsilon_{dr}} \quad (\text{Turton et al., 2003})$$

$$\Delta H = m \int_{T_1}^{T_2} C_p dT \quad (\text{Smith J, Van Ness H, Abbott M, 2003})$$

$$C_{p_{aire}} = 3.355 + 0.575 * 10^{-3} T + 0T^2 - 0.016 * 10^5 T^{-2} \quad (\text{Smith, et al., 2003})$$

$$T_2 = T_1 * \left( \frac{P_2}{P_1} \right)^{(k-1)/k} \quad (\text{Turton et al., 2003})$$

Donde:

M: Flujo molar

z<sub>1</sub>: 1, Factor de compresibilidad.

R: 8.314 J/mol K . Constante de gases ideales (Smith, et al., 2003)

T<sub>1</sub>: Temperatura a la entrada del compresor

T<sub>2</sub>: Temperatura a la entrada del compresor

P<sub>2</sub>: Presión a la salida

P<sub>1</sub>: Presión a la entrada

k: 1.4 para gases diatómicos.

C<sub>p</sub>= Capacidad calorífica del aire

ε<sub>sh</sub>: Eficiencia del compresor (Turton et al., 2003)

ε<sub>dr</sub>: Eficiencia del motor (Turton et al., 2003)

Tabla 32. Balance de energía para el C-101

<b>C-101</b>	
P <sub>1</sub> (bar)	0,8532
P <sub>2</sub> (bar)	2,6
T <sub>1</sub> (K)	295
T <sub>2</sub> (K)	303,24
m (mol/s)	0,0458
ε <sub>sh</sub>	0,8
ε <sub>dr</sub>	0,85
W (W)	216,7
ΔH (kW)	84,5
Q (kW)	132,2

- **Bombas**

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía cinética y potencial es despreciable.
- El cambio en la temperatura del fluido es despreciable, debido a que los cambios de presión son muy pequeños, por lo tanto no se consideran las variaciones en el calor sensible.

$$Q = W$$

$$W = \frac{1,67 * f * (P_2 - P_1)}{\epsilon_{sh} * \epsilon_{dr}}$$

Donde:

f : flujo volumétrico.

ε<sub>sh</sub>: Eficiencia de la bomba (Turton *et al.*, 2003).

ε<sub>dr</sub>: Eficiencia del motor (Turton *et al.*, 2003).

Tabla 33. Balance de energía para la P-101

<b>P-101</b>	
P <sub>1</sub> (bar)	0,8532
P <sub>2</sub> (bar)	1,35
T (K)	295
f (m <sup>3</sup> /min)	(intermitente)
W (W)	100 *
Q (W)	100

\* (Amidata S.A, 2006)

Tabla 34. Balance de energía para la P-102

<b>P-102</b>	
$P_1$ (bar)	3,45
$P_2$ (bar)	3,95
T (K)	295
f (m <sup>3</sup> /min)	0,0014
$\epsilon_{sh}$	0,8
$\epsilon_{dr}$	0,85
W (W)	1,719
Q (W)	1,719

Tabla 35. Balance de energía para la P-103

<b>P-103</b>	
$P_1$ (bar)	0,8934
$P_2$ (bar)	1,35
T (K)	303
f (m <sup>3</sup> /min)	0,04
$\epsilon_{sh}$	0,85
$\epsilon_{dr}$	0,85
W (W)	42,2158
Q (W)	42,2158

Tabla 36. Balance de energía para la P-104

<b>P-104</b>	
$P_1$ (bar)	0,7
$P_2$ (bar)	1,35
T (K)	303
f (m <sup>3</sup> /min)	0,04
$\epsilon_{sh}$	0,85
$\epsilon_{dr}$	0,85
W (W)	42,2158
Q (W)	42,2158

- **Intercambiadores de calor**

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía cinética y potencial es despreciable.

$$\Delta H = Q$$

$$Q = mC_{p_{agua}}(T_2 - T_1)$$

Donde:

m: Flujo molar del agua de enfriamiento.

$C_{p_{agua}}$ : 4,18 J/mol K. Capacidad calorífica del agua líquida (Smith, *et al.*, 2003)

$T_1$ : Temperatura de entrada del agua.

$T_2$ : Temperatura de salida del agua.

Tabla 37. Balance de energía para el E-101

<b>E-101</b>	
T1 (K)	295
T2 (K)	303
m (mol/s)	0,1204
$\Delta H$ (W)	4,0252
Q (W)	4,0252

Tabla 38. Balance de energía para el E-102

<b>E-102</b>	
T1 (K)	295
T2 (K)	303
m (mol/s)	1,296
$\Delta H$ (W)	43,338
Q (W)	43,338

- **Biorreactores**

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía cinética y potencial es despreciable.
- Los cambios en el calor sensible y los calores de mezclado son muy pequeños.
- Como se tiene control de la evaporación, los efectos del calor latente se pueden ignorar.

$$\Delta H_{rxn} + W = Q$$

$$\Delta H_{rxn} = \left( -460 \frac{KJ}{g\text{mol}O_2\text{consumido}} \right) * mO_2 \quad (\text{Doran, 1999})$$

$$mO_2 = qo * DW$$

Donde:

qo: Rata de consumo de oxígeno

DW: Peso seco total obtenido en la biotransformación.

mO<sub>2</sub>: Oxígeno consumido en la biotransformación.

Para determinar el consumo de oxígeno, se tomaron como base, datos reportados en diferentes artículos de investigaciones realizadas con cultivo sumergido de *G. lucidum*.

Tabla 39. Datos de consumo de oxígeno para *Ganoderma lucidum*.

Rata de consumo de oxígeno (mmolO <sub>2</sub> /gDW h)	Fuente de carbono/concentración (g/l)	Velocidad de agitación (rpm)
0,785 (Tang y Zhong, 2003)	Lactosa - 35	200
0,971 (Fang y Zhong, 2002a)	Glucosa - 65	100
0,875 (Fang y Zhong, 2002a)	Glucosa - 35	100

De estas referencias se escogió la segunda, dado que las condiciones de cultivo eran las más similares a las empleadas en este proyecto.

Tabla 40. Balance de energía para el R-101

<b>R-101</b>	
DW (g)	27,9461
mO <sub>2</sub> (gmol/s)	7,5376*10 <sup>-6</sup>
W (W)	0,04736
ΔHrxn (W)	3,4673
Q (W)	3,5146

Tabla 41. Balance de energía para el R-102

<b>R-102</b>	
DW (g)	464,2292
mO <sub>2</sub> (gmol/s)	1,2521*10 <sup>-4</sup>
W (W)	0,6964
ΔHrxn (W)	57,5979
Q (W)	58,2943

- **Homogenizador**

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía cinética y potencial es despreciable.
- No hay un cambio significativo en el calor sensible.
- La energía recibida es disipada hacia los alrededores en forma de calor

$$W = Q$$

Tabla 42. Balance de energía para el H-101

<b>H-101</b>	
W (W)	3000
Q (W)	3000

- **Mezclador**

Consideraciones:

- Estado estacionario.
- El cambio en la energía potencial y cinética no es significativo.
- El sistema se encuentra aislado, lo cual hace que el calor perdido por convección hacia los alrededores sea muy pequeño.



$$W + Q = \Delta H$$

$$\Delta H = mC_p(T_2 - T_1)$$

$$W = N_p * \rho * N^3 * D^5$$

$$Re = (ND^2 \rho) / \mu$$

Donde:

m: Flujo másico de la mezcla.

$C_{p_{mezcla}}$ , Capacidad calorífica de la mezcla (Ver anexo 3).

$T_1$ : Temperatura de entrada de la mezcla.

$T_2$ : Temperatura de salida de la mezcla.

Re: Número de Reynolds, empleado para hallar el  $N_p$ , con base en la figura tal.

$N_p$ : Número de potencia (Walas, 1990)

$\rho$ : Densidad de la melaza (Mancheno, 2005)

$\mu$ : Viscosidad de la melaza (Mancheno, 2005)

N: Velocidad del impeler

D: Diámetro del impeler

Figura 12. Número de potencia Vs Reynolds para varios tipos de impeler

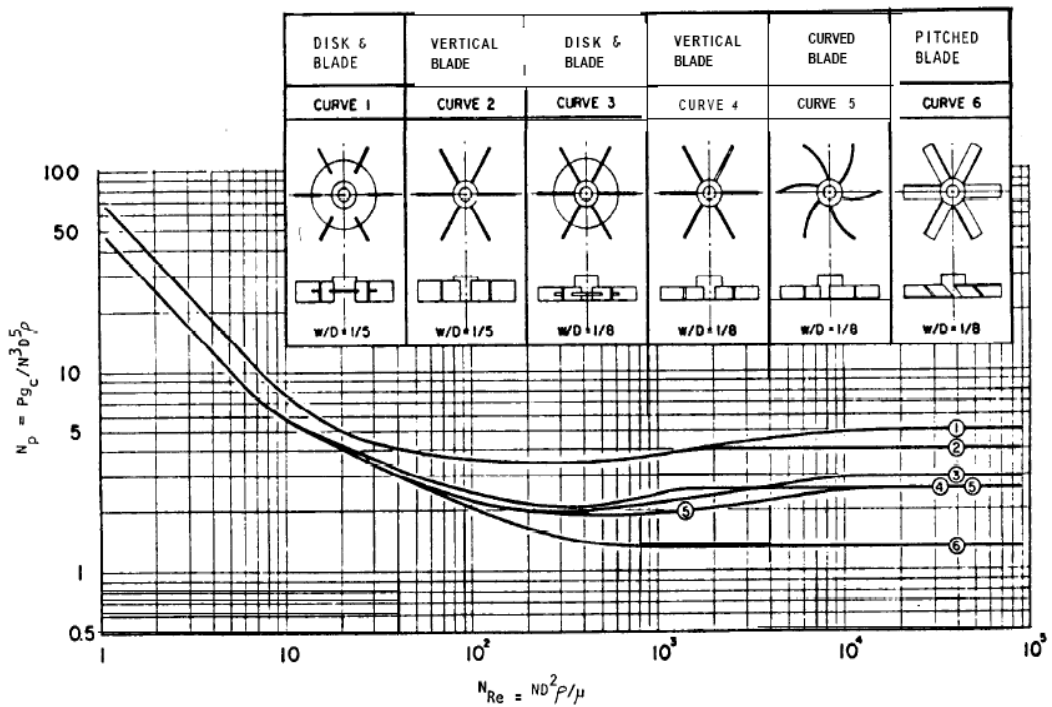


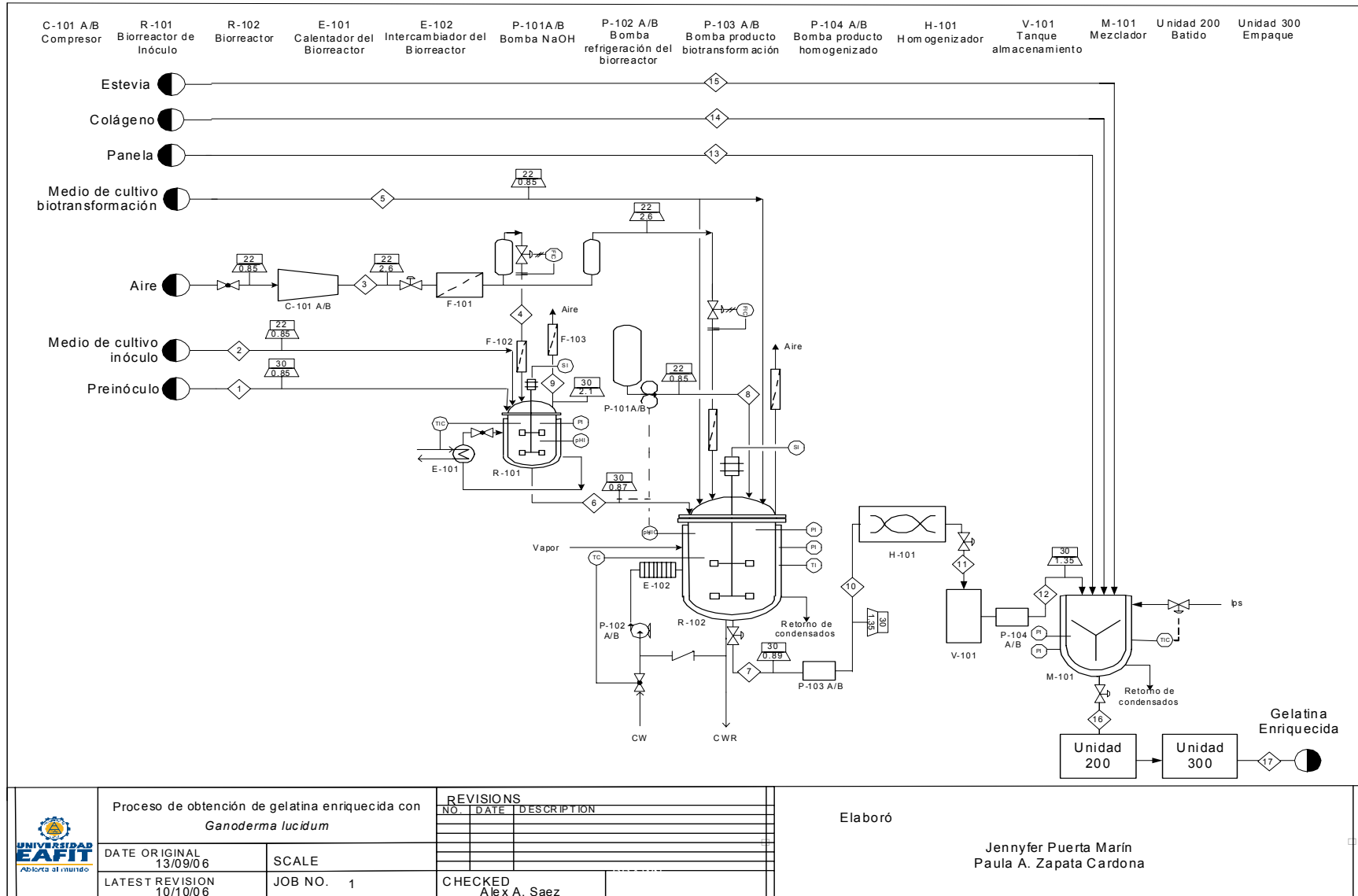
Tabla 43. Balance de energía para el M-101

<b>M-101</b>	
$T_1$	30
$T_2$	120
$m$ (Kg/s)	0,0078
Re	106,5
$N_p$	3,8
D (m)	0,1974
$\mu$ (cP)	2500
$N$ ( $s^{-1}$ )	4,7124
$\rho$ ( $Kg/m^3$ )	1450
$C_{pmezcla}$ (KJ/Kg K)	4,12
$\Delta H$ (W)	2892,24
W (W)	172,8279
Q (W)	2719,4121

Este balance aplicaría para cada lote realizado en el M-101 (56.3 Kg/2h)

### 3.4.2.2.10 Diagrama de flujo de procesos (PFD)

Figura 13. Diagrama de flujo de proceso (PFD)



### 3.4.2.2.11 Descripción de los equipos

Tabla 44. Tabla preliminar de equipos para el proceso

<b>Equipo</b>	<b>C-101</b>	<b>P-101</b>	<b>P-102</b>	<b>P-103</b>
MOC	Acero al carbón	Acero inoxidable	Acero al carbón	Acero al carbón
Potencia (W)	462	100	1,719	42,21
Tipo	Rotatorio	Peristáltica	Centrífuga	Reciprocante
Temperatura (°C)	22	22	22	30
Presión entrada (bar)	0,8532	0,8532	3,45	0,8934
Presión salida (bar)	2,6	1,35	3,95	1,35

Tabla 44. (Continuación)

<b>Equipo</b>	<b>R-101</b>	<b>R-102</b>	<b>M-101</b>
MOC	Acero inoxidable 316	Acero inoxidable 316	Acero inoxidable 316
Diámetro interno (m)	0,0577	0,1244	0,3291
Altura	0,35733	0,77	0,822
Orientación	Vertical	Vertical	Vertical
Tipo de turbina	Ruston	Ruston	Cuchilla plana
Numero de impelentes	1	1	1
Numero de bafles	4	4	-
Temperatura (°C)	30	30	120
Presión (bar)	0,8532	0,8532	0,8532
Potencia (W)	2,4433	35,1239	172,8279

Tabla 44. (Continuación)

<b>Equipo</b>	<b>E-101</b>	<b>E-102</b>
Tipo	Doble tubo	Doble tubo
Área (m <sup>2</sup> )	6,8117*10 <sup>-4</sup>	7,3339*10 <sup>-3</sup>
Temperatura máxima (°C)	90	185
Presión (bar)	6,8948	6,948
MOC	Acero al carbón	Acero al carbón
Fase	Líquida	Líquida

Tabla 44. (Continuación)

<b>Equipo</b>	<b>H-101</b>
Potencia (W)	380
Capacidad (l/h)	200
Presión (bar)	100
Eficiencia (%)	17,273
MOC	Acero inoxidable

Tabla 44. (Continuación)

<b>Equipo</b>	<b>V-101</b>
MOC	Acero inoxidable
Diámetro interno (m)	0,2942
Altura	0,7355
Orientación	Vertical
Temperatura (°C)	30
Presión (bar)	0,8532

Tabla 45. Tabla de resumen de cargas y corrientes para el proceso

<b>Carga o Corriente N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
Temperatura (°C)	30	22	22	22	22	30	30	22	30
Presión (bar)	0,8532	0,8532	2,6	2,6	0,8532	0,8689	0,8934	0,8532	2,1
Masa (Kg)	0,3589	3,2266			32,7911	3,5465	35,2167		
Flujo másico (g /s)			1,3209	0,12					0,0644
Flujo molar (mol /s)			0,0458	0,0042					0,0022
Fracción másica de componente por carga									
Medio de cultivo_1		1							
Medio de cultivo_2					1				
Biomasa	0,0022					0,0192	0,0132		
EPS							0,0056	1	
NaOH									
Medio de cultivo agotado	0,9978					0,9808	0,9812		1
Agua desionizada				0,0179					
Aire			1	0,9820					

Tabla 44. (Continuación)

<b>Carga o Corriente N°</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>
Temperatura (°C)	30	30	22	22	22	22	120	22
Presión (bar)	1.35	100	1,35	0,8532	0,8532	0,8532	0,8532	0,8532
Masa (Kg)			10,5586	24,8634	16,7533	4,1433	56,3251	56,3251
Flujo másico (g /s)	666,67	55,556						
Flujo molar (mol /s)								
Fracción másica de componente por carga								
Biomasa	0,0132	0,0132	0,0132				0,0025	
EPS	0,0056	0,0056	0,0056				0,0011	
Medio de cultivo agotado	0,9812	0,9812	0,9812				0,1839	
Panela				1			0,4414	
Estevia						1	0,0736	
Colágeno					1		0,2974	
Gelatina enriquecida								1

#### **3.4.2.2.12 Localización**

Después de realizar un análisis de cuál sería la ubicación más apropiada para la empresa, se decidió que debido a diversos factores, principalmente el costo del transporte de las materias primas, era más conveniente establecer la planta de producción de la gelatina enriquecida en el departamento del Valle del Cauca, específicamente en la localidad de Andalucía, a continuación se realiza un análisis del impacto que esto tendría para la empresa:

- **Materias primas**

La empresa Proageld será el proveedor del colágeno, su planta de producción está ubicada en Andalucía (Valle del Cauca). En caso de ser necesario transportar el colágeno a zonas muy retiradas de allí, se tendría que hacer en camiones especiales, equipados con un sistema de refrigeración. Esto haría que el transporte fuera más costoso que la misma materia prima. Al establecer la planta cercana a la fuente de abastecimiento del colágeno, se podría aprovechar el bajo costo de este, para hacer que el costo de elaboración del producto sea menor.

Las otras materias primas también están disponibles en esta zona, lo que hace que esta sea la más adecuada para el establecimiento de la empresa.

- **Mercado**

Una de las principales actividades comerciales de Andalucía es la ganadería, esto hace que la gelatina proteica se haya convertido en un producto tradicional en la dieta de sus habitantes. El Festival de la Gelatina que se realiza allí puede ser aprovechado para promover el producto.

- **Sistemas de transporte y vías de acceso**

Para distribuir el producto a otras zonas del país, se emplearía el transporte por carreteras y para realizar la distribución a otros países se emplearía el transporte marítimo, aprovechando que Andalucía se encuentra ubicada en la parte central del departamento del Valle del Cauca y está cercana al puerto de Buenaventura.

- **Servicios públicos**

En Andalucía se tiene acceso a servicios de electricidad y agua potable, así mismo se cuenta con buenos servicios de telecomunicaciones y abastecimiento de gas natural (Concesiones CCFC, 2006).



- **Clima y condiciones geodésicas**

Andalucía está ubicada a una latitud de 4° 10' 27 norte y a una longitud de 76° 10' 13 oeste. No posee condiciones climáticas extremas, su temperatura promedio es de 23 °C (Falling Rain Genomics, 2004), allí son poco frecuentes los derrumbes e inundaciones, lo cual la hace un sitio propicio para el establecimiento de la planta.

- **Mano de obra**

Andalucía tiene un promedio de 28.051 habitantes (DANE, 2004), muchas de estas personas tienen experiencia en la preparación de la gelatina proteica, de ahí que haya una alta disponibilidad de mano de obra, pues con una buena capacitación, aunque no muy rigurosa, estas personas podrían tener un manejo apropiado del proceso de producción de la gelatina enriquecida.

- **El terreno**

La empresa estaría ubicada en el occidente de Andalucía, esta área se caracteriza por ser plana. Esta región no es muy desarrollada, predomina más que la industria, las actividades agrícolas y hay suficiente disponibilidad de terreno (Concesiones CCFC, 2006).

- **Políticas gubernamentales**

Exenciones Tributarias

- Exención del impuesto de renta y complementarios.
- Los pagos, abonos en cuenta y transferencias al exterior por concepto de intereses y servicios técnicos, no están sometidos a retención en la fuente, ni causan impuesto de renta y ni remesas (Bancoldex, 2004).

Exenciones Fiscales

- Exención total de derechos aduaneros e impuestos a las ventas por bienes y servicios que ingresen a Zona Franca.
- Plazo ilimitado para la nacionalización de mercancías (Bancoldex, 2004).

Otros Incentivos

- Total libertad de inversión extranjera.
- Total libertad para el giro de utilidades en el exterior.
- Estímulo a los industriales exportadores por parte del Gobierno, otorgándoles Certificado de Reembolso Tributario (Cert).

- Incentivo por compensación al transporte a países que no cuenten con transporte directo, regular e idóneo, mediante este mecanismo les será reconocido un porcentaje del flete que se cause hasta el puerto de destino final (Bancoldex, 2004).

A través de la Reforma Tributaria (Ley 788 de 2002) la legislación colombiana le otorga beneficios a las diferentes actividades económicas, en materia de inversión. Algunas de las cuales se enuncian a continuación:

- Importación de maquinaria: un inversionista que concentre sus actividades en una compañía de leasing nacional, cuenta con la exención del IVA en la importación de maquinaria.
- Nuevos productos medicinales y software: Exención en Impuesto de Renta a las empresas que registren nuevos productos medicinales y software con alto contenido de investigación científica nacional.

Además de los incentivos mencionados, en Colombia existen varias instituciones apoyadas por el gobierno nacional que ofrecen financiación a los proyectos de inversión. A continuación se enuncian algunas de estas entidades (Bancoldex, 2004):

- Bancoldex: (Banco de comercio exterior de Colombia SA) financia a todas las empresas micro, pequeñas, medianas y grandes de todos los sectores económicos, dedicadas tanto al mercado nacional, como aquellas vinculadas al comercio exterior. Bancoldex le ofrece un esquema de financiación integral, que permite atender todas las necesidades financieras requeridas en las diferentes etapas de la cadena de producción y comercialización de bienes y servicios.
- Proinvest: Programa de Promoción de Inversión Extranjera para Empresas colombianas que COINVERTIR desarrolla en asocio con el Banco Interamericano de Desarrollo. Proinvest trabaja para incrementar el nivel de inversión extranjera directa en Colombia, especialmente aquella resultante en transferencia de tecnología y ampliación de mercados. Además presta asistencia técnica a las empresas interesadas en estructurar planes de negocios / proyectos de inversión bajo un esquema de financiamiento compartido.
- Preinvertir, suma esfuerzos para trabajar de manera articulada con entidades como:
  - ONUDI / Ministerio de Comercio, Industria y Turismo / CRIITs
  - Cámara de Comercio de Bogotá
  - Cámara de Comercio de Cali
  - ACOPI
  - ANDI
  - Centros de Desarrollo Empresarial (BID-Confecámaras)

### 3.4.2.2.13 Obras requeridas

- **Terreno y planta**

El terreno que se va a adquirir debe ser de aproximadamente 700 m<sup>2</sup>, considerando las ampliaciones y el aumento en la capacidad instalada que se espera lograr en los primeros años de operación.

Las bodegas deben ser construidas de tal forma que se garantice que el producto y las materias primas no estén expuestos al calor ni a la humedad.

Dentro de la planta debe construirse un laboratorio para realizar el análisis a las materias primas y al producto en diferentes etapas del proceso, con el fin de asegurar la calidad del producto.

- **Vías de acceso y estacionamiento**

La empresa debe tener dos vías de acceso, una para la entrada de materia prima y salida de producto terminado; y otra para la entrada y salida de personal. Se construirá un estacionamiento con capacidad para 10 autos aproximadamente.

- **Instalaciones auxiliares y servicios**

Para garantizar la seguridad en la planta se deben construir puestos de brigadistas que estén dotados con equipos contra incendios y botiquines de emergencia. También es muy importante la construcción de una enfermería así como un salón de conferencias para capacitaciones.

### 3.4.2.2.14 Distribución de planta

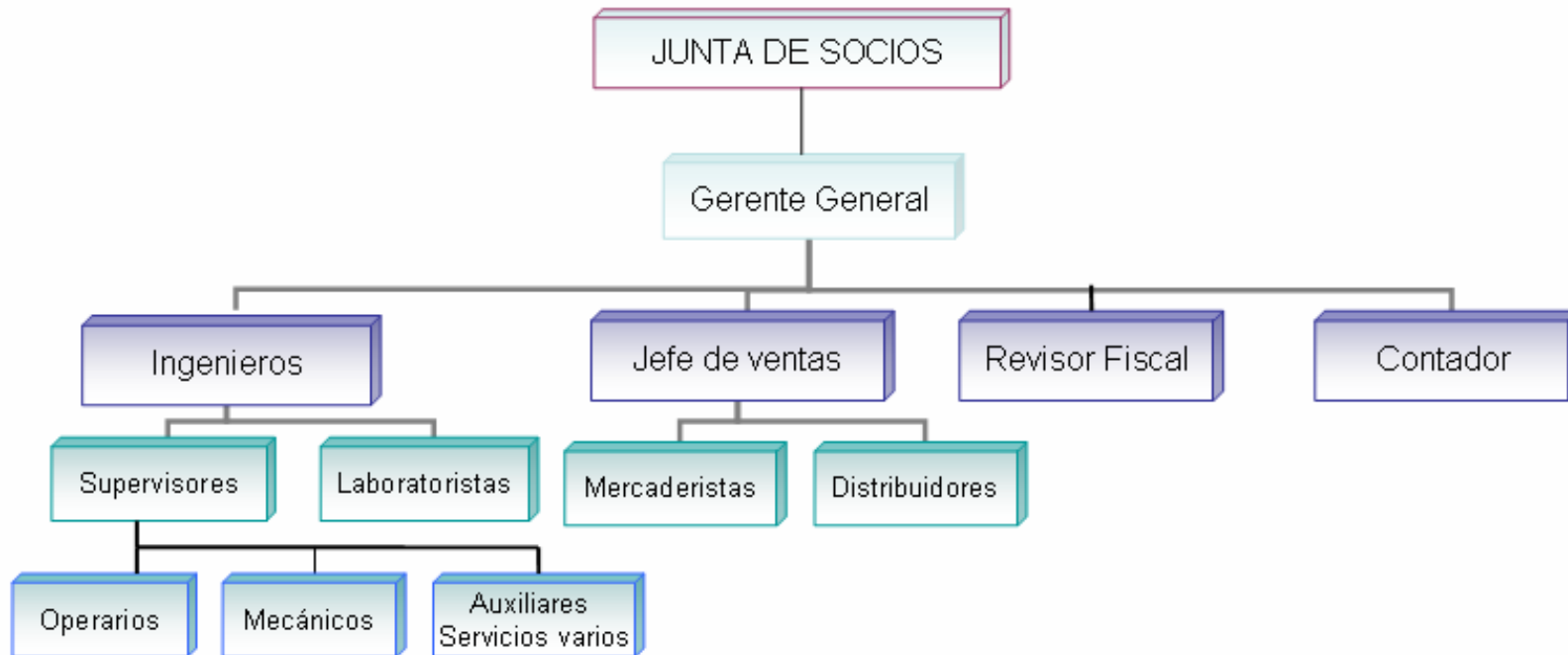
Figura 14. Distribución de planta

ALMACÉN DE MATERIA PRIMA	PLANTA		VESTIER	BAÑOS
			OFICINAS ADMINISTRATIVAS	
ALMACEN DE PRODUCTO TERMINADO	LABORATORIO	OFICINAS DE PRODUCCIÓN	CAFETERIA	

### 3.4.3 Estructura organizacional

La siguiente será la forma como estará organizada la empresa, como puede verse cada una de las áreas está encabezada por un jefe que será quien oriente las actividades, en un nivel de jerarquía superior al de las jefes de área se encuentra el Gerente general y La Junta de Socios.

Figura 15. Organigrama de la empresa.



### **3.4.4 Estudio legal**

#### **3.4.4.1 Organización jurídica**

La empresa recibirá el nombre de PROGALU S.A y tendrá la estructura de sociedad anónima dado que se requiere una gran inversión inicial, y por ende se ve la necesidad de tener la participación de varios accionistas.

#### **3.4.4.2 Requisitos legales**

- **Requisitos para efectuar el registro de la sociedad ante la cámara de comercio**

De acuerdo con la nueva normatividad tributaria de la DIAN, a partir del 1 de febrero de 2005 para matricularse en el Registro Mercantil de la Cámara de Comercio es necesario inscribirse previamente en el Registro Único Tributario (RUT) y se adicionalmente se debe:

- Verificar que no exista un nombre o razón social igual o similar al que se ha formulado para la empresa. Visitando la página web [www.rue.org.co](http://www.rue.org.co).
- Elaborar la minuta de constitución y presentarla en la Notaria, con los siguientes datos básicos: Nombre, razón social, objeto social, clase de sociedad e identificación de los socios, nacionalidad, duración, domicilio, aportes de capital, representante legal, y facultades, distribución de utilidades, causales de disolución, entre otros.
- Matricular e inscribir la sociedad en el registro mercantil de la Cámara de Comercio, requisitos: Presentar copia de la escritura pública de la constitución de la sociedad.
- Obtener Certificado de existencia y representación legal (DIAN, 2006).

- **Requisitos para la expedición del registro sanitario**

- Diligenciar el Formulario único de Solicitud Registro Sanitario Automático de Alimentos – Expedición y Renovación, (Original y copia), suministrado por el INVIMA a través de la pagina web de la entidad.
- Realizar el pago de la tarifa legal vigente.
- Presentar el formulario diligenciado en la ventanilla de verificación documental del centro de Atención al Usuario con el fin de obtener la correspondiente aprobación.
- Notificarse y reclamar el acto administrativo (resolución) mediante el cual el INVIMA concede el registro sanitario automático en la ventanilla de Notificación de Resoluciones del Centro de Atención al Usuario (INVIMA, 2006).

### 3.4.5 Estudio financiero

El estudio financiero permitirá determinar si el desarrollo de este proyecto es económicamente rentable. Para lograr este objetivo se debe construir el flujo de efectivo tanto para el proyecto puro, como el que podría tener un inversionista que entrara a participar en el proyecto. Con la información obtenida en el flujo de efectivo se puede determinar diferentes indicadores de evaluación financiera que ayudarán a decidir sobre la viabilidad económica del proyecto.

A continuación se muestra los resultados para el cálculo de diferentes elementos necesarios para realizar el flujo de caja:

#### 3.4.5.1 Inversiones

- **Costos de equipos.**

Para determinar el costo de la maquinaria requerida se consultaron diferentes fuentes. Dado que no todos los precios estaban actualizados se empleó el CEPCI (Chemical Engineering Plant Cost Index) y la relación que se muestra a continuación para obtener el costo de los equipos en el presente año:

$$C_2 = C_1 \left( \frac{I_2}{I_1} \right) \quad (\text{Turton } et \text{ al.}, 2003)$$

Donde:

C: Costo del equipo

I: CEPCI

Tabla 46. Costos de biorreactores en 1994

EQUIPO	COSTO 1994 (US) *
R-101	55.999,463
R-102	110.480,05

\* (Reisman, 1999)

Tabla 47. Costos de bombas, compresores e intercambiadores en el 2001

<b>EQUIPO</b>	<b>COSTO 2001 (US) *</b>
P-102	23.817
P-103	46.044
P-104	46.044
C-101	57.442
E-101	7.271
E-102	7.271

\* (Turton *et al.*, 2003)

Tabla 48. Costo del mezclador y el vessel en el 2003

<b>EQUIPO</b>	<b>COSTO 2003 (US) *</b>
M-101	11.477,864
V-101	7.624,82

\* (Matche, 2003)

Tabla 49. Costo del homogenizador, bomba peristáltica y Shaker , 2006

<b>EQUIPO</b>	<b>COSTO 2006</b>
H-101	22.456,271 (US) *
P-101	1.316 (US) **
SK-101	15'000.000 (\$) ***

\* (Tronka-Agrotech, 2006), \*\*. (Amidata S.A., 2006)

\*\*\* Laboratorio de biotecnología Universidad EAFIT.

Para obtener los costos de los equipos para el año 2006, se emplea los siguientes valores del CEPCI (Chemical engineering).

Tabla 50. Valores de CEPCI

<b>EQUIPO</b>	<b>CEPCI 1994</b>	<b>CEPCI 2001</b>	<b>CEPCI 2003</b>	<b>CEPCI 2006</b>
Bombas		695,9		766,2
Compresor		695,9		766,2
Intercambiador		367,2		523,9
Tanque	369,5		362,5	523,9

Tabla 51. Costo total de los equipos incluyendo el costo de compra, instalación y mano de obra requerida para ello (Bare Module Cost).

<b>EQUIPO</b>	<b>COSTO 2006 (\$)*</b>
P-102	31'345.138
P-103	60'597.705
P-104	60'597.705
C-101	75'598.414
E-101	24'800.343
E-102	24'800.343
M-101	39'656.947
V-101	26'344.299
R-101	189'817.231
R-102	374'486.040
H-101	22.456
P-101	4'008.536
SK-101	15'000.000
<b>Total (\$)</b>	<b>927'075.157</b>

\* US= \$ 2390,66. Portafolio 16 de septiembre 2006.

- **Costos de infraestructura**

Tabla 52. Inversiones diferidas

<b>INVERSIONES DIFERIDAS</b>	<b>MONTO (\$)</b>
Capacitación	1'000.000
Licencia de funcionamiento (INVIMA)	2'937.600
Inscripción de la matrícula	204.000
Impuesto de registro (Cámara de comercio)	3'500.000
<b>TOTAL</b>	<b>6'642.000</b>



Tabla 53. Costos de las obras requeridas.

UNIDAD	ÁREA (m <sup>2</sup> )	COSTO DE CONSTRUCCIÓN(\$) <sup>**</sup>
Planta	200	64'400.000
Bodega de materia prima y material de empaque	60	19'320.000
Bodega de producto terminado	60	19'320.000
Vestieres	20	6'440.000
Cafetería	50	16'100.000
Oficinas de producción	20	6'440.000
Oficinas administrativas	80	25'760.000
Baños	20	6'440.000
Laboratorio	30	9'660.000
Costo total de construcción (\$)		173'880.000
Area total construída (m <sup>2</sup> )		540
Costo del terreno (900 m <sup>2</sup> ) <sup>*</sup>		32'200.000
<b>COSTO TOTAL (\$)</b>		<b>206'080.000</b>

\* Asumiendo un costo \$46.000/ m<sup>2</sup>. (Bancolombia, 2006)

\*\* Asumiendo un costo \$322.000/m<sup>2</sup>. (Metrovivienda, 2003)

Tabla 54. Inversiones adicionales

OTRAS INVERSIONES	MONTO (\$)
Muebles y equipos de cómputo	20'000.000
Repuestos y herramientas	1'000.000
<b>TOTAL</b>	<b>21'000.000</b>

### 3.4.5.2 Costos de operación

- **Costos de materia prima**

En cada batch de producción se necesitan 0,35 litros de medio de cultivo para el pre-inóculo, 3,15 litros y 30,6 litros para la fermentación. La unidad de producción será una caja por 12 unidades de producto (144 g.).

Tabla 55. Costos de materia prima

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>Costo (US/Kg)</b>	<b>Costo (\$/Kg)</b>	<b>Costo por unidad (\$/caja de 12un)</b>
Glucosa	-	4.000 <sup>1</sup>	0,7118
Extracto de levadura	70 <sup>2</sup>	167.346	18,5524
Peptona	70 <sup>2</sup>	167.346	18,5524
Fosfato de Potasio	56,94 <sup>3</sup>	136.124	2,966
Sulfato de magnesio	6,416 <sup>3</sup>	15.338	0,1671
Vitamina B1	1082,5 <sup>3</sup>	2'587.889	0,2819
Gelatina de Pata	-	1.500	64,2257
Panela	-	1.699 <sup>4</sup>	108,0086
Estevia (Extracto)	-	75.000 <sup>5</sup>	793,9936
<b>TOTAL</b>			<b>1.007,4595</b>
Material de Empaque			100

1 BELLCHEM S.A

2 Lab scientific.

3 Mallinckrodt Chemicals.

4 Plaza Mayorista de Antioquia.

5 Bio-Stevia S.A

- **Mano de obra directa requerida**

Para determinar el costo de la mano de obra, se toma como base los datos reportados para Colombia en cuanto al valor del salario mínimo (KPMG – Colombia):

Tabla 56. Costos de Mano de Obra Directa

<b>MANO DE OBRA DIRECTA</b>	<b># De personas</b>	<b>Factor prestacional</b>	<b>Salario base (\$/mes)</b>	<b>Costo (\$/mes)</b>
Operario	10	1,7	408.000	6'936.000
Mecánico	1	1,7	408.000	693.600
<b>TOTAL</b>				<b>7'629.600</b>
<b>Costo por producto (\$/unidad)</b>				<b>1.297,55</b>

- **Costos indirectos**

Tabla 57. Costos de Mano de Obra Indirecta

<b>GASTOS ADMINISTRATIVOS</b>				
Salarios Integrales	Costo (\$/mes)			
Gerente general	3'000.000			
Salarios no integrales	No. Empleados	Salario base	Factor prestacional	Costo (\$/mes)
Ingeniero de Procesos	1	1'200.000	1,7	2'040.000
Contador	1	1'200.000	1,7	2'040.000
Revisor fiscal	1	1'800.000	1,7	3'060.000
Jefe de ventas	1	1'200.000	1,7	2'040.000
Secretaria	1	500.000	1,7	850.000
Vigilante	1	408.000	1,7	693.600
Servicios Varios	2	408.000	1,7	1'387.200
Total Integrales				3'000.000
Total No integrales				12'110.800
<b>TOTAL MENSUAL</b>				<b>15'110.800</b>
<b>TOTAL ANUAL</b>				<b>181'329.600</b>

- **Servicios**

Tabla 58. Costos de Servicios

SERVICIOS	CONSUMO ESTIMADO (mes)	COSTO	COSTO TOTAL (\$/mes)
Energía	240,5295 kw-h	325,18 (\$/KWh) <sup>2</sup>	78.215
Vapor	0,3 GJ	7,78 (US/GJ) <sup>1</sup>	5.579,80
Acueducto	226,686 m <sup>3</sup> <sup>3</sup>	1.625,19 (\$/m <sup>3</sup> ) <sup>4</sup>	368.407
Agua de enfriamiento	66,0836 m <sup>3</sup> <sup>5</sup>	14,8*10 <sup>-3</sup> (US/m <sup>3</sup> ) <sup>1</sup>	2.338,1531
Agua desionizada	102.3 Kg	1*10 <sup>-3</sup> (US/Kg) <sup>1</sup>	244,5308
Alcantarillado	226,686 m <sup>3</sup>	1.428,84 <sup>4</sup>	323.898
<b>TOTAL</b>			<b>700.525,69</b>

<sup>1</sup> Turton *et al.*, 2003

<sup>2</sup> EPSA, 2006

<sup>3</sup> Calculo realizado con base en el reporte de agua por actividad.(Universidad de Antioquia, 2005)

<sup>4</sup> Empresas Públicas de Medellín E.S.P, 2006

<sup>5</sup> calculado con base en el balance de energía del E-101 y el E-102 y considerando 30 días de operación continua.

- **Gastos de comercialización y distribución**

Tabla 59. Gastos de comercialización y distribución

<b>GASTOS DE COMERCIALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN</b>		
Concepto	Costo mensual	Costo anual
Gasto de transporte marítimo*	3'500.000	42'000.000
Gasto de transporte terrestre*	850.928	10'200.000
Gasto de publicidad	3'000.000	36'000.000
<b>TOTAL</b>		<b>88'200.000</b>

\* Los gastos de transporte marítimo se calcularon con base en las tarifas de envío de un contenedor de 20 pies a los Estados Unidos desde el puerto de Buenaventura, y los de transporte terrestre con base en las tarifas de flete promedio para envío de carga a nivel nacional. (Proexport, 2006).

### 3.4.5.3 Capital de trabajo

Es necesario determinar la inversión en capital de trabajo durante el estudio del proyecto, ya que este capital podría ocasionar grandes desfases de caja durante la operación de la empresa. En este caso se va a realizar la estimación del capital de trabajo, empleando el **Método del período de desfase**, el cual calcula la inversión en capital de trabajo como la cantidad de recursos necesarios para financiar los costos de operación desde que se inician los desembolsos, hasta que se recuperan. Teniendo en cuenta que se trabajarán 330 días/año, el cálculo del capital de trabajo se realizaría así:

$$CT \approx \frac{Ca}{330} * nd$$

Donde:

**Ca** : costo anual de operación.

**nd** : número de días de desfase.

Para este estudio se estima que el tiempo que se gastará la preparación de un batch de producto es de 10 días, para satisfacer la demanda nacional e internacional se requiere trabajar alrededor de un mes, después de esto el producto tardará un promedio de 10 días en llegar al cliente, dado que el transporte para realizar las exportaciones será por vía marítima y según lo reportado por Proexport un producto transportado por esta vía se demora alrededor de 7 días para llegar a Estados Unidos (Proexport, 2006), en esta estimación también se tiene en cuenta que después de llegar al respectivo puerto, el producto deberá ser llevado por camiones hasta su destino final. Para este producto no habrá plazos de pago, es decir el cliente pagará el producto en el

momento en que éste sea entregado. Aunque para los consumidores nacionales el tiempo de entrega del producto será de aproximadamente 5 días, se asumirá que el número de desfase será como máximo 40 días.

Tabla 60. Capital de trabajo

nd	40
Ca	169'351.219,4
CT	54'216.622

### 3.4.5.4 Depreciación

Para determinar la depreciación se empleó el método de línea recta y con el fin de obtener un mayor beneficio tributario, no se tuvo en cuenta el valor de salvamento que se tendría a los cinco años.

A continuación se muestra los resultados obtenidos:

- Para los activos iniciales.

Tabla 61. Depreciación anual para los activos

Activo	Período de depreciación	AÑOS				
		1	2	3	4	5
Edificios	20	8,694	8,694	8,694	8,694	8,694
Maquinaria	10	92,71	92,71	92,71	92,71	92,71
Muebles	5	4	4	4	4	4
Herramientas	5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
<b>TOTAL DEPRECIACIÓN (millones de pesos / AÑO)</b>		<b>105,604</b>	<b>105,604</b>	<b>105,604</b>	<b>105,604</b>	<b>105,604</b>

### 3.4.5.5 Valor de salvamento

Transcurridos los cinco años de evaluación hay algunos activos que no se han alcanzado a depreciar completamente, para estos se ha calculado el valor de salvamento y los resultados se muestran a continuación.

Tabla 62. Valor de salvamento de los activos al año 6.

Activo	Valor de salvamento (\$)	Valor anual de depreciación	Tiempo restante de vida útil (años)
Edificios	370'830.063	8'694.000	14
Maquinaria Inicial	121'716.000	92'707.515	4
<b>TOTAL SALVAMENTO (\$)</b>		<b>593'947.579</b>	

### 3.4.5.6 Ingresos

El primer año se espera vender toda la producción mensual. Se fijará un precio de venta inicial de \$7000/unidad. Con base en este precio y la demanda que fue proyectada, se estima que los ingresos operativos anuales serán de \$ 492'912.000.

### 3.4.5.7 Tasa de oportunidad para el proyecto puro

Para realizar la evaluación financiera del proyecto, es necesario emplear la tasa de oportunidad que existe actualmente en el mercado para inversiones en proyectos innovadores, la cual es del 7.52% (Euroamérica, 2006), que servirá para determinar si la rentabilidad ofrecida por el proyecto es atractiva.

### 3.4.5.8 Cálculo de la tasa descuento ponderada ajustada por impuestos

La tasa de descuento es calculada con el fin de determinar la rentabilidad esperada para el proyecto cuando parte de la inversión requerida es cubierta con un préstamo bancario. Si el inversionista presta en una entidad financiera el 30% del capital, a una tasa de interés del 15.05% E.A (Portafolio, 2006), la tasa mínima de descuento que este requiere para que su negocio sea rentable, se halla por medio de la siguiente fórmula:

$$K_o = K_d(1-t)\frac{D}{V} + K_e\frac{P}{V} \quad (\text{Sapag, 1996})$$

Donde:

$Kd$  = Costo de la deuda (%).

$t$  = Tasa de impuestos (%).

$D$  = Monto de la deuda (\$).

$P$  = Monto del patrimonio (\$).

$V$  = Valor de la empresa en el mercado (\$).

$Ke$  = Costo del capital propio (%).

$$Ko = 0.1505 * (1 - 0.385) * \frac{362'511.533,6}{1.208'371.779} + 0.0752 * \frac{845'860.245,1}{1.208'371.779} = 0.0804$$

**$Ko = 8.04 \%$**

### 3.4.5.9 Estimación del flujo de efectivo

- Para el proyecto puro

Tabla 63. Flujo de efectivo para el proyecto con capital propio

DEL PROYECTO PURO	AÑO						
	0	1	2	3	4	5	6
Unidades producidas	0	70.416	77.458	85.203	9.374	103.096	113.406
Ventas		492'912.000	542'203.200	596'423.520	656'065.872	721'672.459	793'839.705
Costos de producción		169'351.219	186'286.341	204'914.975	225'406.473	247'947.120	272'741.832
Costos fijos		8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308
Gastos de administración y ventas		269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600
Depreciaciones		105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	101'401.516
Amortizaciones		1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000
Utilidad antes de impuestos		-61'086.127	-28'730.049	6'861.636	46'012.490	89'078.431	140'653.449
Impuestos		-23'518.159	-11'061.069	2'641.730	17'714.809	34'295.196	54'151.578
UTILIDAD NETA		-61'086.127	-28'730.049	4'219.906	28'297.682	54'783.235	86'501.871
Depreciaciones		105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	101'401.516
Inversiones	1.154'155.158						
Capital de trabajo	54'216.621						
Valor de salvamento							492'546.063
Recuperación de capital de trabajo							54'216.621
FLUJO DE EFECTIVO DEL PROYECTO PURO	-1.208'371.779	45'624.872	77'980.950	110'930.906	135'008.682	161'494.235	735'773.071



- **Cálculo de la tabla de pagos de la deuda**

Antes de calcular el flujo de caja se debe determinar el valor anual, que se debe pagar por concepto de intereses y abono a la deuda por el préstamo realizado.

Para la cuota anual se empleó la siguiente ecuación:

$$A = P * \left[ \frac{i(1+i)^n}{(1+i)^n - 1} \right] \quad (\text{Sullivan et al., 2004})$$

Donde

A: Valor de la cuota anual

P : Valor del préstamo

i: Tasa de interés efectiva anual

n: Período

Tabla 64. Componentes del pago de la deuda

Año	Valor total de la deuda			362'511.533
	Cuota Anual (\$)	Interés (\$)	Abono a Capital (\$)	Saldo (\$)
1	95'917.949	54'557.986	41'359.964	321'151.570
2	95'917.949	48'333.311	47'584.638	273'566.932
3	95'917.949	41'171.823	54'746.126	218'820.806
4	95'917.949	32'932.531	62'985.418	155'835.388
5	95'917.949	23'453.226	72'464.724	83'370.664
6	95'917.949	12'547.285	83'370.664	0

- Para el inversionista

Tabla 65. Flujo de efectivo para el proyecto con un 30% de capital financiado.

DEL INVERSIONISTA	AÑO						
	0	1	2	3	4	5	6
Unidades producidas	0	70.416	77.458	85.203	93.724	103.096	113.406
Ventas		492'912.000	542'203.200	596'423.520	656'065.872	721'672.459	793'839.705
Costos de producción		169'351.219	186'286.341	204'914.975	225'406.473	247'947.120	272'741.832
Costos fijos		8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308	8'406.308
Gastos de administración y ventas		269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600	269'529.600
Depreciaciones		105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	101'401.516
Amortizaciones		1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000
Intereses del préstamo		54'557.986	48'333.311	41'171.823	32'932.531	23'453.226	12'547.285
Utilidad antes de impuestos		-115'644.113	-77'063.361	-34'310.187	13'079.959	65'625.205	128'106.164
Impuestos		-44'522.984	-29'669.394	-13'209.422	5'035.784	25'265.704	49'320.873
UTILIDAD NETA		-115'644.113	-77'063.361	-34'310.187	8'044.175	40'359.501	78'785.291
Depreciaciones		105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	105'604.000	101'401.516
Amortizaciones		1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000	1'107.000
Inversiones	845'860.245						
Préstamo	362'511.534						
Amortización de la deuda		41'359.964	47'584.638	54'746.126	62'985.418	72'464.723	83'370.664
Capital de trabajo	54'216.621						
Valor de salvamento							492'546.063
Recuperación de capital de trabajo							54'216.621
FLUJO DE EFECTIVO DEL PROYECTO CON CAPITAL FINANCIADO	-537'565.332	-51'400.077	-19'043.999	16'547.687	50'662.757	73'498.777	643'578.826

### 3.4.5.10 Indicadores de rentabilidad

- **Para el proyecto puro**

El valor presente neto (VPN) se halló con una tasa de oportunidad del 7.52%.

Tabla 66. Indicadores de rentabilidad para el proyecto puro

INDICADOR	VALOR
B/C	1,1107
VPN	-319'612.601
TIR	0,96 %

- **Para el inversionista**

El valor presente neto (VPN) se halló con la tasa de descuento calculada anteriormente, la cual es de 8.04%.

Tabla 67. Indicadores de rentabilidad para el inversionista

INDICADOR	VALOR
B/C	1,2633
VPN	-96'557.179
TIR	4.69 %

De acuerdo a los resultados obtenidos para el indicador beneficio/ costo, cuando los costos de capital son cubiertos completamente por los socios los beneficios obtenidos son del 11.07% y cuando los inversionistas obtienen el 30% del capital por medio de préstamos en entidades bancarias los beneficios son superiores a los costos en un 26.33%.

En cuanto al VPN se puede observar que este es negativo, lo cual indica que la inversión inicial no alcanza a ser recuperada en un período de seis años, bajo las tasas de rentabilidad (del inversionista y de oportunidad del mercado), esperadas para este tipo de proyectos.

Para la TIR se obtuvo un valor de 0,96% en caso de que el capital sea aportado en su totalidad por los socios y de 4,69% cuando parte de este capital proviene de un préstamo. Estos valores son bajos al compararlos con la tasa de oportunidad

del mercado para este tipo de proyectos (7.52%) y la tasa de oportunidad del inversionista (8.04%). Por lo tanto, tras este análisis el proyecto no es económicamente rentable, debido a la alta inversión inicial requerida.

## CONCLUSIONES

La producción de biomasa se ve estadísticamente favorecida, al operar el biorreactor en ausencia de luz, obteniéndose para el día 8 una concentración de micelio de 13,7538 g/l.

La producción de exopolisacáridos obtenida, no se ve afectada estadísticamente por la ausencia o presencia de luz blanca y los valores obtenidos en cada caso fueron de 3,8788 g/l y 3,2058 g/l. De igual forma ocurre con los polisacáridos totales, para los cuales se obtuvo una concentración en ausencia de luz 5,8711 g/l y en presencia de luz de 4,9194 g/l.

Las mejores características organolépticas para el producto fueron alcanzadas con una composición de 44,15% de panela, 29,75% de extracto de pata de res (colágeno), 18,75% del producto de biotransformación, 7,36% de extracto de estevia, y 0,011% de canela.

La gelatina enriquecida tiene un alto contenido proteico: 20% y un contenido de polisacáridos de 0,07% (8,4 mg/12 g. de gelatina.), el cual es comparable con el de otros productos elaborados con *G. lucidum* ofrecidos en el mercado para el cuidado de la salud.

Para realizar el diseño conceptual de una biotransformación, se hace necesario realizar un escalamiento de los biorreactores y el  $K_La$  es una herramienta muy útil para garantizar que las condiciones de aireación permanezcan constantes al realizar el cambio de escala y no se afecte significativamente la productividad.

Del estudio de mercado se puede inferir que el sector de los productos funcionales está en expansión y en general los productos nutracéuticos, tienen un gran auge a nivel mundial, lo cual hace que este sea un sector muy llamativo para el desarrollo de nuevos proyectos.

Después de realizar el estudio técnico y el estudio financiero se puede ver que aunque el proyecto es técnicamente viable y el producto que se piensa desarrollar puede tener una alta aceptación por parte de los consumidores, la inversión inicial es significativamente alta, lo que ocasiona que la rentabilidad obtenida al sexto año de operación no sea lo suficientemente atractiva para desarrollar el proyecto.

## RECOMENDACIONES

Realizar un análisis bromatológico para evaluar el valor nutricional de la gelatina enriquecida.

Evaluar la influencia de la presencia o ausencia de luz sobre la producción de ácidos ganodéricos.

Determinar el consumo de oxígeno del *G. lucidum* en el biorreactor BIOENGINEERING CH 8636 a las condiciones de cultivo trabajadas.

Llevar a cabo un análisis de estabilidad para gelatina enriquecida que tenga incluido en su formulación un conservante.

Realizar un seguimiento al producto para analizar los efectos que trae el consumo de gelatina enriquecida en las personas, con el fin de verificar las propiedades que le han sido atribuidas al *G. lucidum* en diferentes publicaciones científicas.

Desarrollar otros tipos de productos funcionales empleando *G. lucidum*.

## ANEXO 1

### Método colorimétrico del fenol-sulfúrico para microdeterminación de carbohidratos totales

El contenido total de carbohidratos de medios líquidos, extractos, alimentos líquidos puede ser determinado como azúcares simples, oligosacáridos, polisacáridos y sus derivados; dando un color naranja muy estable cuando reaccionan con fenol y en presencia de ácido sulfúrico concentrado.

Azúcar simple + fenol + ácido sulfúrico  
Azúcar simple----- > color amarillo-naranja.

La intensidad del color naranja es proporcional a la cantidad total de carbohidratos presente. Esta absorbancia puede ser medida a 492 nm y la concentración total de carbohidratos de las soluciones problema puede ser medida con respecto a una curva estándar preparada.

Dos soluciones estándar pueden ser usadas:

- Estándar glucosa: 400 ug / ml
- Estándar fructosa: 400 ug / ml

Las soluciones de glucosa preparadas deben contener 0, 10, 20,30, 40 50 y 60 ug/ml del azúcar seleccionado para la curva.

Reactivos:

- Solución de fenol al 5% (p/v)
- Ácido sulfúrico concentrado 95.0%
- Stock de glucosa: 400 ug/ml

Preparación de los estándares, la muestra y la curva de calibración

- Stock de glucosa 400 ug/ml, preparar 100 ml y almacenar a 4 °C.
- Tomar 40 mg de Glucosa anhidra grado analítico, disolver y ajustar a 100 ml con agua destilada.
- Rotular esta solución adecuadamente y mantener refrigerada.

Preparación de la muestra: Las muestras pueden ser diluidas hasta 200 veces.  
Ejemplo:

Primero: 5%                    50 ul muestra + 950 ul de agua destilada  
Luego: 10%                    100 ul muestra + 900 ul de agua destilada

La preparación del blanco se hace tomando 1 ml de agua destilada.

Tabla 68. Preparación de la curva de calibración para el método de Dubois.

Nº Dilución	1	2	3	4	5	6	7
µl Stock glucosa	0	25	50	75	100	125	150
µl de agua destilada	1000	975	950	925	900	875	850
[ ] de glucosa mg/l	0	10	20	30	40	50	60

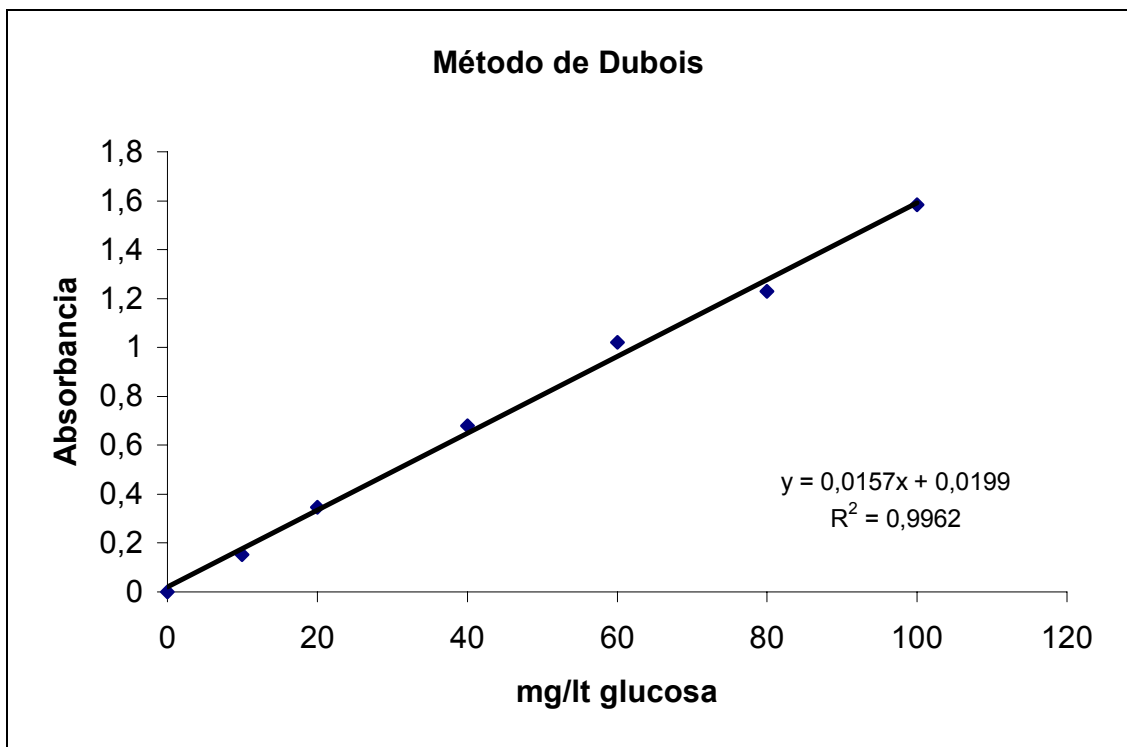
Procedimiento:

- Tomar 1 ml de solución de analito, el blanco y solución estándar en tubos de ensayo lisos.
- Adicionar 0,5 ml de solución de fenol al 5%.
- Adicionar en forma rápida 2.5 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Nota: Tratar de no dejar deslizar el ácido por las paredes del tubo de ensayo.
- Llevar al vortex para mezclar y capturar algunos restos de ácido por las paredes del tubo.
- Dejar reposar por 10-15 minutos.
- Poner en un baño de agua a 30 °C por 15 minutos.
- Transferir a las celdas colorimétricas.
- Leer absorbancia a 492 nm.



A continuación se muestra la curva de calibración realizada para la determinación de exopolisacáridos y polisacáridos totales

Gráfico 5. Curva de calibración para el método de Dubois.

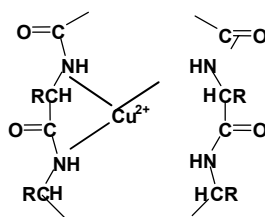


## ANEXO 2

### DETERMINACION DE PROTEINAS POR EL MÉTODO DE BIURET

Si una solución fuertemente alcalina de sulfato cúprico ( $\text{CuSO}_4$ ) se añade a una solución de proteína se forma un complejo entre el ión cúprico y los enlaces peptídicos, con aparición de una coloración violeta-púrpura, que presenta un máximo de absorción a 550 nm. Las características más importantes de la reacción son: La reacción del Biuret se aplica a partir de los tetrapéptidos, a todos los péptidos y proteínas, no depende de la composición de aminoácidos, algunos compuestos ( $\text{NH}_4^+$ , Tris, etc.) dan la reacción:

Figura 16. Complejo proteína-Cu(II) Violeta-púrpura



Reactivos:

- Solución A (Reactivo de Biuret): 25 gr de NaOH, 5.0 gr EDTA- $\text{Na}_2$ , 0.8 gr de KI y 1,25 gr de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 250 ml de agua desionizada.
- Solución B: stock estándar BSA de 10 g/l.

Procedimiento:

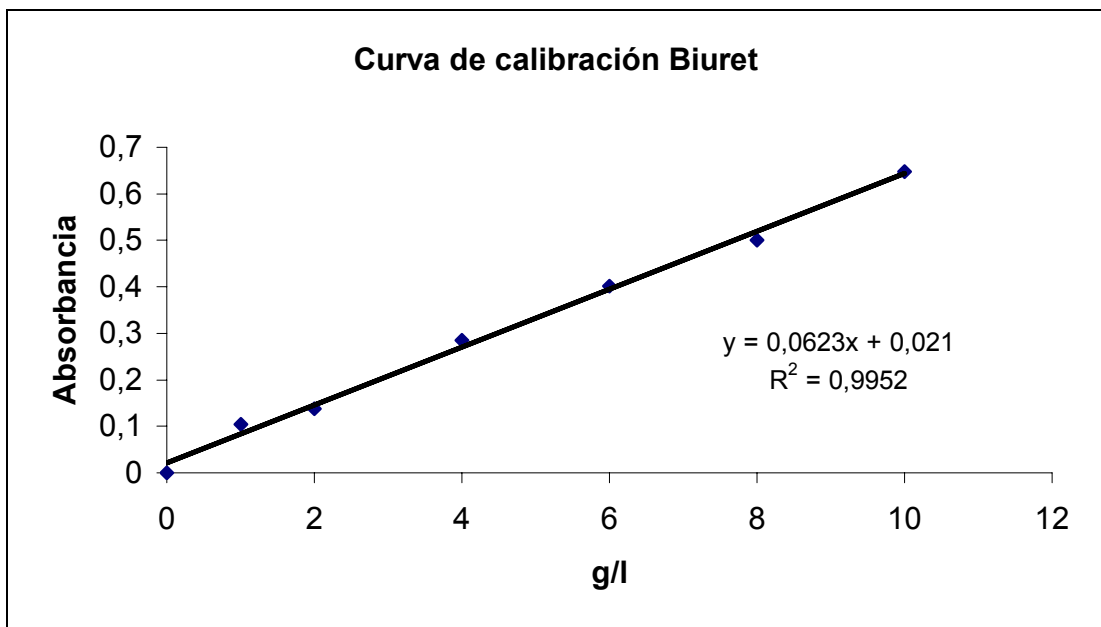
- Preparación de la curva de calibración:

Tabla 69. Curva de Calibración para el método de Biuret.

Nº Dilución	Blanco	1	2	3	4	5	6
BSA 10 g/l (ml)	0.0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Buffer NaCl 0.9%(ml)	1.0	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0.0
g./l de BSA	0.0	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0

- Preparar en cada tubo (soluciones de curva patrón, las muestras problema diluida si es necesario y buffer NaCl 0.9% como blanco) 1.0 ml de solución en total (ver tabla 68).
- Adicionar 4 ml del reactivo de Biuret diluido a cada tubo y vortex inmediatamente.
- Incubar 15 min. en reposo.
- Leer a 550 nm y realizar la curva Absorbancia vs. concentración.

Gráfico 6. Curva de calibración método de Biuret.



## ANEXO 3

### Determinación del Capacidad calorífica del melao

Para esto puede emplearse un método que consiste en precalentar una muestra del producto en una mufla, medir su temperatura con un termómetro de contacto ( $T_{i_{melao}}$ ) y luego llevarla a un recipiente con agua a la cual se le ha medido previamente la temperatura ( $T_{i_{H_2O}}$ ). Se monitorea la temperatura del sistema hasta que se estabilice ( $T_f$ ), una vez hallado este valor final de temperatura, se realiza un balance de energía para determinar la capacidad calorífica de la muestra ( $C_{p_{melao}}$ ) así:

$$m_{H_2O} C_{p_{H_2O}} (T_f - T_{i_{H_2O}}) = m_{melao} C_{p_{melao}} (T_f - T_{i_{melao}})$$

## BIBLIOGRAFÍA

AFRICA, M., KENDRICK, R., SCRAMLIN, J. CATALANO, S., MESSACAR, J., PALAZZOLO, J. (1999). Visual encyclopedia of chemical engineering equipment. Estados Unidos. Macromedia.

ALIMENTACIÓN SANA (2006). La Stevia, Endulzante Natural. Disponible en: [www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/estevia.htm](http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/estevia.htm), consulta: 24 de agosto 2006.

AMIDATA S.A (2006). "Manual de instrucciones". Disponible en: [www.amidata.es/componentes-electronicos-es/31662-sistemas-de-bombas-peristalticas-controladores-de-temperatura.html](http://www.amidata.es/componentes-electronicos-es/31662-sistemas-de-bombas-peristalticas-controladores-de-temperatura.html). Consulta 16 de septiembre 2006.

ASENJO, J. (1995). Bacterial, Yeast, and Fungal Cultures, Scale-Up. En: Biorreactor System Design. U.S.A. Marcel Dekker, inc .pp. 470-483.

BAILEY, J., OLLIS, D (1977). Transport Phenomena in Microbial Systems. Biochemical Engineering Fundamentals. U.S.A. McGrawHill. pp: 411-473.

BANCO DE COMERCIO EXTERIOR DE COLOMBIA. BANCOLDEX (2004). República de Colombia. Perfil de País. Disponible en: [bancoex.gov.co/pdfdocumentos/PERFIL\\_PAIS\\_COLOMBIA\\_2005.pdf](http://bancoex.gov.co/pdfdocumentos/PERFIL_PAIS_COLOMBIA_2005.pdf). Consulta: 16 de agosto 2006.

BANCOLDEX (2006). Disponible en: [www.bancoldex.com/general/index.php](http://www.bancoldex.com/general/index.php). Consulta: 21 de agosto 2006.

BANCOLOMBIA (2006). Zona sur. Disponible en: [www.bancolombia.com/webpages.nsf/pages/RegionSur](http://www.bancolombia.com/webpages.nsf/pages/RegionSur). Consulta: 14 de septiembre 2006.

BEROVIC, M., HABIJANIC, J., ZORE, I., WRABER, B., HODZAR, D., BOH, B., POHLEVEN, F. (2003). Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. Journal of Biotechnology 103. pp. 77-86.

BUTCHKO, H., STARGEL, W., COMER, C., MAYHEW, D., BENNINGER, C., BLACKBURN, G. (2002). Aspartame: Review of Safety. Regulatory Toxicology and Pharmacology. Volúmen 35, abril 2002. pp. S1-S93.

CAMPOS, D. (2004). Productos étnicos, un nuevo mercado. Disponible en: [ediciones.prensa.com/mensual/contenido/2004/06/27/hoy/negocios/1740500.html](http://ediciones.prensa.com/mensual/contenido/2004/06/27/hoy/negocios/1740500.html). Consulta: 29 de agosto 2006.

CARVAJAL, D., RENDON, L. (2004) Evaluación de la producción de exopolisacáridos en fermentación sumergida a partir de *Ganoderma lucidum*. Trabajo de grado. Ingeniería de Procesos. Medellín. Colombia. Universidad EAFIT

CHEMICAL ENGINEERING. Economical Indicators. Vol. 008. Diciembre 1994. Vol. 108, diciembre 2001. Vol 110, noviembre 2003, Vol 113, abril 2006.

CONCESIONES CCFC S.A (2006). Conociendo el Valle de Cauca por nuestra vía. Disponible en: [www.pisa.com.co/noticia.php3?nt=10#andalucia](http://www.pisa.com.co/noticia.php3?nt=10#andalucia). Consulta: 18 de septiembre 2006.

CONSUMER (2006). Valor nutricional del azúcar refinada y la panela. Disponible en: [www.consumer.es/web/es/alimentación/aprender\\_a\\_comer\\_bien/alimentos\\_funcionales/](http://www.consumer.es/web/es/alimentación/aprender_a_comer_bien/alimentos_funcionales/). Consulta: 3 de junio de 2006.

CORPORACIÓN ANDINA DE FOMENTO (CAF). (2005). Biotecnología para el uso sostenible de la biodiversidad. Capacidades locales y mercados potenciales. Venezuela. Unidad de publicaciones de la CAF.

DANE (2004). Colombia. Proyecciones de población, por área, según municipios 2002 – 2004. Disponible en: [www.cali.gov.co/modules.php?op=modload&name=Corporativo&file=index&id=22](http://www.cali.gov.co/modules.php?op=modload&name=Corporativo&file=index&id=22). Consulta: 18 de septiembre 2006.

DIAN (2006). Diligenciar RUT. Disponible en: [bochica.dian.gov.co/WebRut/#](http://bochica.dian.gov.co/WebRut/#). Consulta: 18 de septiembre 2006.

DINERO No 184 (2002). El nuevo consumidor. Agosto 23 de 2002. pp. 38

DINERO No 226 (2005). Alimentos y salud. El gran negocio. Abril 1 de 2005. pp 28-38

DORAN, P. (1999). Fluid flow and Mixing. En: Bioprocess Engineering Principles. London. Academic Press Limited. pp. 139.

DUBOIS M, Gilles K.A., Hamilton J. K. (1956). Colorimetric Method for determination of sugars and related substances. Division of Biochemistry, University of Minnesota. pp 350-356.

EMPRESAS PÚBLICAS DE MEDELLÍN E.S.P (2006). Tarifas. Disponible en: [www.eppm.com/epmcom/contenido/tarifas/acueducto.htm](http://www.eppm.com/epmcom/contenido/tarifas/acueducto.htm). Consulta: 16 de septiembre 2006.

EPSA (2006). Tarifas para el mercado no residencial. Disponible en: [www.epsa.com.co/Empresas/InformedeTarifas/tabid/291/Default.aspx](http://www.epsa.com.co/Empresas/InformedeTarifas/tabid/291/Default.aspx). Consulta: 13 de septiembre 2006.

ESCOBAR, J (2005). EL DISEÑO CONCEPTUAL. Curso Diseño de Procesos.. Medellín, Colombia. Universidad EAFIT.

EUFIC (2006). Alimentos funcionales. Disponible en: [eufic.dad.be/sp/food/pag/food18/food181.htm](http://eufic.dad.be/sp/food/pag/food18/food181.htm). Consulta: 28 de Junio 2006.

EUROAMÉRICA (2006). Comentario Realocución. Portafolios Intelligent Plan/Inteligent Fund. Disponible en: [www.euroamerica.cl/pdf/inversiones/portafolios\\_diciembre\\_ip.pdf#search=%22Rea locaci%C3%B3n%20Junio%202006%20%22](http://www.euroamerica.cl/pdf/inversiones/portafolios_diciembre_ip.pdf#search=%22Rea%20locaci%C3%B3n%20Junio%202006%20%22). Consulta : 1 de septiembre 2006.

FALLING RAIN GENOMICS (2006). Andaluca, Colombia Page. Disponible en: [www.fallingrain.com/world/CO/29/Andaluca.html](http://www.fallingrain.com/world/CO/29/Andaluca.html). Consulta: 18 de septiembre 2006.

FANG Q., ZHONG J. (2002 a). Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites—ganoderic acid and polysaccharide. Disponible en: Biochemical Engineering Journal, Vol. 10, febrero 2002 a, pp. 61-65.

FANG Q., ZHONG J (2002 b). Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. Disponible en: Process Biochemistry, Vol. 37, Febrero 2002 b, pp. 769-774

GALINDO, E., RAMÍREZ, O. (1994). Advances in Bioprocess Engineering. Netherlands. Kluwer Academic Publishers.

GANO EXCEL (2006). Gano Excel Wholesale Prices Order Form. Disponible en: [www.iwr.com/gano](http://www.iwr.com/gano). Consulta: 25 de Abril 2006.

HINCAPIE, A., MARTINEZ, L., TOBÓN, Y. (2005) Diseño de un proceso de obtención de micelio y metabolitos de *Ganoderma lucidum* en un sistema de fermentación discontinuo. Ingeniería de Procesos. Medellín, Colombia. Universidad EAFIT.

HUBBARD, D., LEDGER, S., HOFFMAN, J. (1994). Scaling-up Aerobic Fermentation which Produce Non-Newtonian, Viscoelastic Broths. Advances in Bioprocess Engineering. U.S.A. pp. 95-101.

IFIC (2006). Alimentos Funcionales. Disponible en: [www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm](http://www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm). Consulta: 28 de Junio 2006.

INVIMA (2006). Ministerio de la protección social. Disponible en: [www.invima.gov.co/version1/tramites\\_servicios/Tramite11-20a.htm#Tramite11](http://www.invima.gov.co/version1/tramites_servicios/Tramite11-20a.htm#Tramite11). Consulta: 18 de septiembre 2006.

JONG S.C, BIRMINGHAM J.M, (1992). Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. Mycology and Botany Department American Type Culture Collection Rockville, Maryland. pp 101-134.

KPMG – COLOMBIA (2006). Guía laboral. Disponible en: [www.kpmg.com.co/guia\\_laboral\\_web\\_2006/guia\\_laboral\\_web\\_2006.htm](http://www.kpmg.com.co/guia_laboral_web_2006/guia_laboral_web_2006.htm). Consulta: 16 de agosto 2006

KUEHL, R. (2001) Diseño de experimentos. Segunda edición. México DF. Editorial Thomson learning. pp 492-519.

LATHAM, M (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Disponible en: [www.fao.org/docrep/006/W00735/w0073s00.htm](http://www.fao.org/docrep/006/W00735/w0073s00.htm). Consulta: 7 de octubre 2006.

LONDOÑO, J. (2004). Efecto de la densidad de inóculo sobre la producción de biomasa y exopolisacáridos en cultivo sumergido de una cepa de *Ganoderma lucidum*. Trabajo de grado. Ingeniería de Procesos. Medellín, Colombia. Universidad Eafit.

LOPERA, J. (2005). 650 mil empresarios fuera del censo. Disponible en: [www.portafolio.com.co/port\\_secc\\_online/porta\\_opin\\_online/2005-12-13/ARTICULO-WEB-NOTA\\_INTERIOR\\_PORTA-2653360.html](http://www.portafolio.com.co/port_secc_online/porta_opin_online/2005-12-13/ARTICULO-WEB-NOTA_INTERIOR_PORTA-2653360.html). Consulta: 25 de julio 2006.

LYDERSEN, B., D'ELIA, N., NELSON, K. (1994) Bioprocess Engineering: Systems, Equipment and Facilities. U.S.A. Editorial John Wiley & Sons. pp. 72.



MANCHENO, J. (2005). El Precio de la Melaza Continúa Creciendo. Disponible en: [www.tecnicana.com/imagenes\\_cont/sitio/documentos/el\\_precio.pdf?PHPSESSID=c96b9d932b3fb5cadc4cb41ea59968fe#search=%22densidad%20viscosidad%20melaza%22](http://www.tecnicana.com/imagenes_cont/sitio/documentos/el_precio.pdf?PHPSESSID=c96b9d932b3fb5cadc4cb41ea59968fe#search=%22densidad%20viscosidad%20melaza%22). Consulta: 9 de septiembre 2006.

MANDIGAN, M., MARTINKO, J., PARKER, J. (2000). Microbiología industrial. Disponible en: Brock Biología de los microorganismos. 8ª ed. España. Prentice Hall. pp. 439.

MATCHE (2003). Matches' Home Page. Disponible en: [www.matche.com](http://www.matche.com). Consulta: 15 de septiembre de 2006.

MESCHINO, J. (1998). Reishi Mushroom Extract: An Important Supplement For Immune Support And Other Health Conditions. RenaiSanté Institute of Integrative Medicine.

METROVIVIENDA (2003). Análisis de costos. Disponible en: [www.alcaldiabogota.gov.co/DOCUMENTOS/docGestion/Metrovivienda/VIS%20Estructura%20de%20Costos.xls](http://www.alcaldiabogota.gov.co/DOCUMENTOS/docGestion/Metrovivienda/VIS%20Estructura%20de%20Costos.xls). Consulta: 10 de septiembre 2006.

MIZUNO, T. (2006). Estudio de las sustancias bioactivas presentes en el hongo Reishi (Ganoderma Lucidum) y sus efectos medicinales. Universidad de Shizuoka, Japón. Disponible en: [www.geocities.com/HotSprings/Villa/1706/propiedades.html](http://www.geocities.com/HotSprings/Villa/1706/propiedades.html). Consulta: 15 de agosto 2006.

PANELERA LA MOLIENDA (2006). Usos de la panela. Disponible en: [www.paneleramolienda.com.ec/usos.html](http://www.paneleramolienda.com.ec/usos.html). Consulta: 3 de junio de 2006.

PORTAFOLIO (2006). Interés efectivo. Disponible en: [www.portafolio.com.co/porta\\_indi\\_online/porta\\_dnfi\\_online/2006-09-18/index.html](http://www.portafolio.com.co/porta_indi_online/porta_dnfi_online/2006-09-18/index.html). Consulta: 18 de septiembre 2006.

PROEXPORT (2006). Logística Proexport. Disponible en: [www.proexport.com.co/VBeContent/logistica/NewsDetail.asp?ID=1054&IDCompanya=8](http://www.proexport.com.co/VBeContent/logistica/NewsDetail.asp?ID=1054&IDCompanya=8). Consulta: 16 de septiembre 2006.

QUINTERO, R. (1990). Transferencia de oxígeno y diseño de fermentadores. Ingeniería Bioquímica. México. Editorial Alhambra, S.A. pp: 81-95.

REISMAN, H. (1999) Manual of industrial microbiology and biotechnology. Segunda edición. ASM PRESS. Washington.

SAPAG, N., SAPAG, R. (1996). Preparación y evaluación de proyectos. Tercera edición. Santafé de Bogotá. McGraw-Hill. pp. 300.

SMITH, J. M., VAN NESS, H. C., ABBOTT, M. M. (2003). Introducción a la termodinámica en ingeniería química. México. MCGraw-Hill/Interamericana.

SULLIVAN, W., WICKS E., LUXHOJ, J. (2004). Ingeniería Económica de Degarmo. Duodécima edición. México. Pearson Education. pp. 91.

SWITZER, R., GARRITY, L., (1999). Experimental Biochemistry. Tercera edición. Estados Unidos. W.H. Freeman and company. pp 93.

TANG Y.J, ZHONG J.J, (2002a). Fed-Batch fermentation of *G. lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid. Enzyme and Microbial Technology. Vol. 31. pp: 20-28.

TANG Y.J, ZHONG J.J, (2002b). Role of oxygen supply in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* for production of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid. Enzyme and Microbial Technology Vol. 32. pp 478-484.

TANG, Y., ZHONG J. (2003). Role of oxygen supply in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* for production of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid. Disponible en: Enzyme and Microbial Technology. Vol. 32, marzo 2003, Pág. 478-484.

TRONKA-AGROTECH. (2006). Homogenisators "GP". Disponible en: [www.ambernet.kiev.ua/~tronka/gomogen-gp.htm](http://www.ambernet.kiev.ua/~tronka/gomogen-gp.htm). Consulta: 16 de septiembre 2006.

TRUJILLO M. PhD . Comunicación personal. Profesor Asistente. Escuela de Procesos y Energía, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

TURTON, R., BAILIE R., WHITING, W., SHAEIWITZ, J. (2003). Analysis, Synthesis and Design of Chemical Processes. Segunda edición. Estados Unidos. Editorial Prentice Hall. pp 57-58

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA (2005). Gestión óptima. Disponible en: [administrativa.udea.edu.co/sostenimiento/boletin-calidad-sostenimiento-marzo2005.pdf#search=%22consumo%20de%20agua%20por%20persona%22](http://administrativa.udea.edu.co/sostenimiento/boletin-calidad-sostenimiento-marzo2005.pdf#search=%22consumo%20de%20agua%20por%20persona%22). Consulta 5 de septiembre 2006.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA (2006). Curso Internacional Producción de Biofertilizantes. Guías de laboratorio práctica planta piloto. Santafé de Bogotá.

WALAS, S., (1990). Mixing and Agitation. Chemical Process Equipment: Selection and Desing. U.S.A. Butterworth-Heinemann. pp. 287.

WIKIPEDIA, THE FREE ENCYCLOPEDIA (2006). Deionized water. Disponible en: [en.wikipedia.org/wiki/Deionized\\_water](http://en.wikipedia.org/wiki/Deionized_water). Consulta: 21 de agosto de 2006.

XIANZHILOU (2006). Xianzhilou company profile. Disponible en: [www.xianzhilou.com/english/profile.htm](http://www.xianzhilou.com/english/profile.htm). Consulta 21 de Julio 2006

YANG F.C, LIAU C., (1998). The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. Process Biochemistry. Vol 33. pp 547-553.

YULING, S. (2001). Mushroom-derived preparations in the prevention of oxidative damage to cellular DNA. Tesis de doctorado en Biología. The Chinese University of Hong Kong. China.

ZHANG, J., TANG, Q. (2001). Activation of B lymphocytes by LIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum*.