



**Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería en Medioambiente
Ingeniería Ambiental**

Prospección del uso de celulosa microbiana como alternativa a fuentes tradicionales

**TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AMBIENTAL**

AUTOR: Andrea Alejandra Abarca Salazar

PROFESOR GUÍA: Dr. Joao Cerqueira Pinto

VALPARAÍSO, Marzo 2019

Resumen

La celulosa corresponde a un polisacárido sintetizado por plantas, hongos y bacterias. Dentro de este último grupo, se encuentran las bacterias pertenecientes al género *Gluconacetobacter*, las cuales se caracterizan por ser capaces de producir la celulosa de manera eficiente. Además, existen diversos estudios que utilizan este tipo de bacterias para distintos fines, entre los cuales se destaca el área medicinal.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los costos de producción de la celulosa microbiana a escala de laboratorio, con la especie *Gluconacetobacter xylinus*, y de esta manera dichos costos con los obtenidos a escala industrial.

La cantidad de celulosa producida anualmente por un reactor de 5 litros, es equivalente a 0,6 kg al año aproximadamente, por lo tanto a escala de laboratorio esto quiere decir que el costo total anual de producción equivale a \$28.475.244.

Por otro lado, realizando una comparación de los costos con los factores análogos a una escala industrial, corresponderían a \$77.884.214.

A pesar de que los valores registrados en este trabajo de investigación no son comparables con el precio actual de la celulosa vegetal, \$512 por kilogramo al año, da pie para que pueda continuar el análisis económico de una de las cepas con mayor capacidad de producir celulosa microbiana.

Índice General

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1	Introducción	1
1.1	Celulosa.....	1
1.1.1	Proceso de obtención de celulosa	2
1.1.2	Producción de celulosa Kraft blanca en plantas modernas.....	3
1.1.3	Producción, comercio y consumo de celulosa en Chile.....	3
1.2	Evaluación de los impactos ambientales	4
1.3	Celulosa de origen microbiana	6

CAPITULO 2: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2	Planteamiento del problema	7
---	----------------------------------	---

CAPITULO 3: OBJETIVOS

3	Objetivos	8
3.1	Objetivo General	8
3.2	Objetivos Específicos	8

CAPITULO 4: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4	Revisión Bibliográfica	9
4.1	Biopolímeros Celulolíticos	9
4.1.1	Celulosa.....	10
4.1.2	Hemicelulosa.....	10
4.1.3	Lignina	10
4.2	Cadena productiva y costos asociados	11
4.3	Proceso de producción	13

4.4	Producción de celulosa en Chile	15
4.4.1	Productos semielaborados de menor procesamiento	16
4.4.2	Productos semielaborados de mayor procesamiento.....	17
4.5	Evaluación de impactos ambientales	17
4.6	Normativa ambiental asociada a industrias de celulosa	18
4.7	Microorganismos productores de celulosa	20
4.8	Celulosa Microbiana	20
4.8.1	Morfología de la Celulosa Microbiana	22
4.8.2	Microorganismos	23
4.8.3	Biosíntesis Celulosa Microbiana.....	27
4.8.4	Medios y condiciones de cultivo.....	31
4.8.5	Técnicas de cultivo	33
4.8.6	Aplicaciones de la celulosa microbiana	36
4.9	Evaluación económica	38
 CAPITULO 5: METODOLOGÍA		
5	Metodología	43
5.1	Selección de cepa microbiana	43
5.2	Parámetros fisicoquímicos de crecimiento	44
5.3	Sistema de producción de celulosa microbiana	44
5.4	Costos de inversión.....	44
5.4.1	Celulosa vegetal a escala industrial	44
5.4.2	Celulosa microbiana a escala de laboratorio	47

CAPITULO 6: RESULTADOS

6	Resultados	50
6.1	Selección de cepa.....	50
6.2	Selección de parámetros fisicoquímicos	51
6.2.1	Medio de cultivo	51
6.2.2	Fuentes de Carbono y Nitrógeno.....	51
6.3	Sistema de producción de celulosa microbiana	52
6.3.1	Esquema de producción celulosa microbiana	52
6.3.2	Productividad	52
6.4	Diagrama de flujo.....	57
6.5	Evaluación de costos.....	57
6.5.1	Determinación de costos	58
6.5.2	Tipos de costos.....	59
6.5.3	Equipos.....	60
6.5.4	Servicios generales.....	62
6.5.5	Costo anual de producción	64
6.5.6	Ingresos.....	64
6.5.7	Análisis de ajustes a escala de laboratorio	65

CAPITULO 7: DISCUSIÓN

7	Discusión	67
7.1	Selección del microorganismo	67
7.2	Selección de parámetros fisicoquímicos	68
7.3	Sistema de Productividad	68
7.4	Análisis de costos	69

CAPITULO 8: CONCLUSIONES

8 Conclusiones..... 71

CAPITULO 9: BIBLIOGRAFÍA

9 Bibliografía 72

CAPITULO 10: ANEXOS

10 Anexos 78

10.1 Anexo 1: Costo de los equipos comprados 78

10.2 Anexo 2: Modificaciones al costo anual de producción 81

10.3 Anexo 3: Modificaciones a servicios generales..... 82

10.4 Anexo 4: Ingresos a escala de laboratorio 82

Índice de Figuras

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

Figura 1: Estructura molecular de la celulosa con la numeración de los átomos de carbono en la glucosa. Fuente: Enciso, 2015.....	2
Figura 2: Producción anual de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.....	4

CAPITULO 4: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Figura 3: Organización estructural de los biopolímeros. Fuente: Modificado de Prinsen, 2010.	9
Figura 4: Proceso de transformación de la lignina. Fuente: Chávez et al., 2013....	11
Figura 5: Consumo de madera anual en trozas de Pino insigne en la industria forestal. Fuente: INFOR, 2018.	12
Figura 6: Consumo de madera en trozas de Eucalipto en la industria forestal. Fuente: INFOR, 2018.....	12
Figura 7: Etapas del proceso Kraft. Modificado de Zaror, 1998.	14
Figura 8: Origen de los residuos sólidos, líquidos y gaseosos en una industria forestal. Fuente: Espinosa, 2002.....	18
Figura 9: Estructura molecular de la celulosa microbiana. 1. Cadena lineal de celulosa microbiana. 2. Microfibrilla de celulosa microbiana. 3. Paquete de microfibrilla. Fuente: Chávez et al., 2004.	21
Figura 10: Rutas metabólicas y síntesis de la celulosa microbiana. Fuente: Chávez et al., 2004.	28
Figura 11: Biosíntesis de celulosa microbiana. Fuente: Carreño et al., 2012.	29
Figura 12: Modelos de síntesis y extrusión de la celulosa microbiana. Fuente: Chávez et al., 2004.	31
Figura 13: Monto exportado según productos. Fuente: INFOR, 2018.	39
Figura 14: Producción, comercio y consumo aparente de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.	39

Figura 15: Monto exportado según principales países de destino. Fuente: INFOR, 2018.	40
Figura 16: Monto exportado por principales zonas geográficas. Fuente: INFOR, 2018.	41
Figura 17: Precios nominales, exportación de pulpa y papel periódico. Fuente: INFOR, 2018.	42
Figura 18: Producción de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.	42

CAPITULO 6: RESULTADOS

Figura 19: Esquema general de la producción de celulosa microbiana.	52
Figura 20: Diagrama de flujo para la producción de celulosa microbiana.	57
Figura 21: Calendario de actividades para la producción de celulosa.	58

Índice de Tablas

CAPITULO 4: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1: Diferencias entre la celulosa microbiana y celulosa vegetal. Fuente: Modificado de Santos de Dios, 2015.	21
Tabla 2: Productores de celulosa microbiana y características de su estructura. Fuente: Arteaga, 2014.	22
Tabla 3: Características de los microorganismos capaces de producir celulosa microbiana.	27

CAPITULO 5: METODOLOGÍA

Tabla 4: Valor de caracteres de la matriz de selección.	43
Tabla 5: Factores típicos para costo fijo. Fuente: Coulson et al., 2005.	45
Tabla 6: Valores típicos para gastos variables y fijos. Fuente: Coulson et al., 2005.	46
Tabla 7: Factores utilizados a escala de laboratorio. Fuente Coulson et al., 2005. .	48
Tabla 8: Gastos fijos y variables ajustados para una escala de laboratorio. Fuente: Coulson et al., 2005.	49

CAPITULO 6: RESULTADOS

Tabla 9: Parámetros de los microorganismos evaluados.	50
Tabla 10: Concentraciones de reactivos por el medio de H-S. Fuente: Quintana, 2015.	51
Tabla 11: Productividad de celulosa microbiana según diferentes autores.	53
Tabla 12: Principales características del biorreactor.	53
Tabla 13: Principales características del Autoclave.	53
Tabla 14: Principales características de la etapa de esterilización.	54
Tabla 15: Principales características de la inoculación en matraz.	55
Tabla 16: Principales características de la inoculación en biorreactor.	55

Tabla 17: Características de la etapa de separación.	55
Tabla 18: Características de la etapa de purificación.	56
Tabla 19: Características de la etapa de secado.	56
Tabla 20: Valor de equipos con uso de corriente eléctrica.	60
Tabla 21: Valor de equipos sin uso de corriente eléctrica.	60
Tabla 22: Valor de materias primas requeridas por Batch.	61
Tabla 23: Cantidad de agua gastada por cada Batch.	62
Tabla 24: Consumo anual de cada equipo requerido.	62
Tabla 25: Costo total del consumo de agua por operario.	63
Tabla 26: Servicios generales de la planta.	63
Tabla 27: Costo total de producción anual.	64
Tabla 28: Cantidad de Batch al año.	65
Tabla 29: Producción anual de celulosa microbiana.	65
Tabla 30: Consideraciones generales de la producción de celulosa.	65
Tabla 31: Precio de venta mínimo de celulosa microbiana a escala industrial.	65
Tabla 32: Resumen de variables modificadas para trabajar a escala de laboratorio.	66

1 INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la explotación de los recursos naturales, principalmente por la industria forestal, ha tenido un efecto considerable en el ámbito socioeconómico y ambiental. El avance continuo de este tipo de industrias se debe a su alta demanda en el consumo de papeles sanitarios y uso doméstico, empaques y las publicidades que se realizan diariamente (González, 2017).

En la actualidad, el efecto de la fabricación de pulpa y de papel corresponde al desarrollo industrial más importante del mundo, en el cual, Chile se instala dentro del sector “commodities”, regulada por Estados Unidos, Canadá, Finlandia, Suecia y Japón (Alestor *et al.*, 2008).

Para la industria de celulosa no existe una bolsa donde se pueda intercambiar el producto en sí, ni establecer un precio de mercado, ya que la naturaleza de los valores que fluctúan en el precio del insumo, son una característica recurrente. Debido a esto, no existen modelos para poder predecir la evolución de los precios que ha tenido la celulosa (Donoso *et al.*, 2016).

1.1 CELULOSA

La celulosa (*Figura 1*) es uno de los elementos por el que está constituida la madera, además de las hemicelulosas y lignina. Estas fibras (hemicelulosas) se encuentran unidas entre sí, debido a que una sustancia compleja, lignina, le aporta rigidez al polímero natural, formado por una gran cantidad de unidades de glucosa ($C_6H_{10}O_5$) (Sánchez *et al.*, 2010).

La lignina es un compuesto complejo, debido a las características químicas que presenta, como la insolubilidad y la complejidad por ser un polímero fenólico. Por otro lado, la celulosa establece el mayor porcentaje de la biomasa de los ecosistemas terrestres y se

encuentra en las paredes de las células vegetales, produciéndola a través del proceso de fotosíntesis (Sánchez *et al.*, 2010).

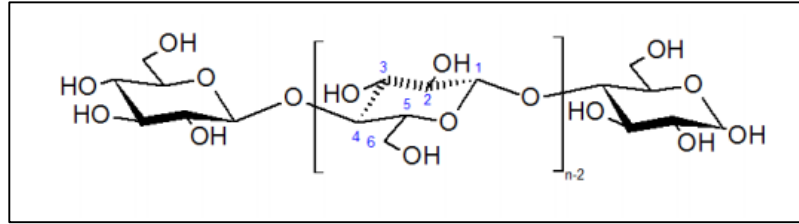


Figura 1: Estructura molecular de la celulosa con la numeración de los átomos de carbono en la glucosa. Fuente: Enciso, 2015.

1.1.1 PROCESO DE OBTENCIÓN DE CELULOSA

En Chile, existe un aumento de las plantaciones de especies introducidas para la producción y obtención de la celulosa (Barrera, 2018). En la actualidad, dentro del marco industrial, las plantaciones forestales se basan en dos especies que predominan pertenecientes a los géneros de *Pinus* y *Eucalyptus* (Zaror *et al.*, 1998).

El Pino insigne (*Pinus radiata*), especie de fibra larga, ha incrementado en un 63% para fines industriales, y la especie de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*), especie de fibra corta, aumentó en un 203,4%. Este último es responsable del avance sectorial, además de su uso como materia prima para el procesamiento industrial (Barrera, 2018).

La obtención de la celulosa se basa en la remoción de los elementos de la madera, y por medio de agentes químicos se puede lograr esta separación (Zaror, 2002).

En Chile, el proceso que más se utiliza es el **Kraft**, caracterizándose como un proceso químico en base al tratamiento de astillas, trabajadas a altas temperaturas en presencia de NaOH (Hidróxido de Sodio) y Na₂S (Sulfuro de Sodio). Este proceso permite recuperar reactivos, obteniéndose además, una completa integración de los elementos y/o compuestos que son utilizados (Zaror, 2002).

1.1.2 PRODUCCIÓN DE CELULOSA KRAFT BLANCA EN PLANTAS MODERNAS

A través del proceso **Kraft** (Proceso de sulfato) se obtiene la pulpa de celulosa. La madera es sometida a una transformación para que posteriormente, sea enviada por medio de correas transportadoras hacia el reactor donde se realiza la cocción (Zaror *et al.*, 1998).

El proceso en sí se lleva a cabo en presencia de NaOH y Na₂S, este último conocido como **Licor Blanco**. Estos agentes estimulan la separación de los componentes de la madera, permitiendo disolver una gran cantidad de lignina, con el fin de obtener una lignina más depurada (Zaror *et al.*, 1998).

Para la obtención de fibras con alto porcentaje de blancura, se oxida y diluye la lignina residual a través de algunos elementos químicos como el cloro, dióxido de cloro, peróxido y oxígeno (Zaror *et al.*, 1998).

Actualmente se utiliza el cloro elemental como agente oxidante en varias etapas periódicas, y el líquido que se deposita, no es enviado a la etapa de recuperación de reactivos, ya que con una cantidad mínima de cloro, se pueden generar efectos de carácter destructivos en la caldera de recuperación (Luraschi, 2007).

1.1.3 PRODUCCIÓN, COMERCIO Y CONSUMO DE CELULOSA EN CHILE

La mayor producción de celulosa en Chile se encuentra en las regiones del Maule, Biobío, La Araucanía y la región de Los Ríos. La planta de Arauco es la principal y mayor productora de celulosa, seguida por la planta de celulosa Valdivia, en orden decreciente le siguen Pacífico, Santa Fé y en último lugar Constitución, con una capacidad de producción menor a las 400.000 toneladas de celulosa por año (Escalda *et al.*, 2014).

A partir de la (*Figura 2*) se observa la producción aparente de celulosa en miles de toneladas por año. La producción anual de celulosa muestra la relación que existe entre la producción y exportación de ésta. Por otro lado, el consumo aparente que se registra por el Instituto Forestal (INFOR), se mantiene relativamente constante a diferencia de las

importaciones, específicamente desde el año 2007, se presenta un flujo menor y relativamente constante.



Figura 2: Producción anual de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.

1.2 EVALUACIÓN DE LOS IMPACTOS AMBIENTALES

Dentro de la industria de la celulosa, es posible asociar dos tipos de impactos ambientales; los que producen el agotamiento de los recursos naturales, es decir la eliminación casi en su totalidad de las áreas de bosque nativo con el fin de aumentar las plantaciones de pino y eucalipto; y por otro lado se encuentran los impactos que producen una degradación o alteración del medio ambiente, ya sean contaminantes sólidos, líquidos y/o gaseoso (Antúnez *et al.*, 2008).

Chile es uno de los mayores productores de celulosa y se sitúa como el segundo productor de celulosa química (Zaror *et al.*, 1998).

La actividad industrial que se lleva a cabo en Chile, requiere de implementos que sean aplicables durante la etapa de blanqueo debido a los problemas ambientales que se generan. Estos resultan difíciles de tratar debido al elevado contenido de compuestos tóxicos para la obtención de la pulpa de celulosa (Espinosa, 2002).

En el caso de las plantas de pulpa y de papel, éstas generan una carga importante en la descarga de los efluentes. Existe un gran consumo de agua, y la presencia de los contaminantes tóxicos en la descarga de ésta, se debe a la elevada carga orgánica, a los compuestos organoclorados, compuestos fenólicos y a compuestos coloreados, entre otros (Zaror *et al.*, 1998).

La emisión de los contaminantes de este tipo de industrias, pueden manifestarse de tres maneras: como residuos industriales sólidos (RISOS), líquidos (RILES), y como contaminantes atmosféricos (Espinosa, 2002).

El uso de los recursos naturales y el aprovechamiento de la materia prima que es requerida en el proceso de obtención de celulosa, ha ido abriendo las puertas para el avance de la tecnología, por lo tanto, la búsqueda por la producción de celulosa de manera regulada y eficiente, se lleva a cabo para obtener un resultado positivo y lograr un desarrollo sustentable para el país. Pero, a pesar de la búsqueda de nuevos implementos para este tipo de industrias, existe una debilidad en la tecnología requerida y carencia en el personal calificado, al igual que la capacidad de secado y de tratamiento para la madera. Deficiencia en las normativas con respecto a la calidad de los productos que se obtienen y deficiencia en los controles de calidad de materia prima (Zaror *et al.*, 1998).

1.3 CELULOSA DE ORIGEN MICROBIANA

En los últimos años se ha incrementado de manera exponencial el uso de los materiales biodegradables, y con ello, el fomento del uso de la tecnología. El desarrollo de éstas, ha generado soluciones a nivel mundial, con el fin de poder lograr tecnologías adecuadas que sean amigables con el medio ambiente (Ramírez, 2012).

Actualmente, la celulosa microbiana ha ganado fuerza en el último tiempo debido a sus extraordinarias propiedades. Producir celulosa a partir de diversas fuentes de carbono es su principal característica, ya que es un polímero extracelular insoluble, producido por la fermentación de microorganismos pertenecientes a los géneros *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* y *Sarcina*. Se destaca además, que la forma de obtener este tipo de celulosa no es perjudicial para el medio ambiente (Chávez *et al.*, 2004).

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se ha mencionado anteriormente, en Chile el crecimiento de la producción de celulosa ha ido en aumento de manera exponencial duplicándose entre el año 2000 y 2013, dónde la principal fuente de explotación es la madera. Esta actividad ha generado una importancia tanto socioeconómica como ambiental, así como el uso periódico de la materia prima conlleva a la disminución de los bosques nativos y el aumento de plantaciones de especies introducidas, debido al reemplazo de éstas. Por otro lado, la contaminación en los ecosistemas se debe a la operación propiamente tal de estas industrias madereras para la obtención de celulosa, generando la degradación del medio ambiente.

La emisión de los contaminantes que puede ocasionar la industria de celulosa, se genera por la producción de pulpa con el fin de obtener los productos deseados. Dichos contaminantes se pueden manifestar de tres maneras distintas, generación de residuos sólidos (RISOS), líquidos (RILES) y contaminantes atmosféricos.

Las industrias de producción de pulpa y papel utilizan tecnología sofisticada. Por medio de estas, obtener los recursos forestales en Chile debe ser prioridad para el desarrollo social y económico, mejorando a la vez, la calidad de los productos obtenidos ajustando los costos de producción de macro y micro industrias.

El uso de los recursos naturales ha ido abriendo puertas para el avance de la tecnología, buscando que sea regulada y eficiente logrando un desarrollo sustentable para el país. Debido a esto, surge como nuevo desafío, disminuir los impactos generados a gran escala por las industrias de celulosa (fuente tradicional), destacando particularmente la prospección de la celulosa microbiana.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar la inversión requerida para la producción de celulosa microbiana como alternativa a la producción tradicional, para disminuir el impacto ambiental generado por la industria lignocelulósica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar la cepa microbiana para la producción de celulosa.
- Seleccionar las condiciones de los parámetros fisicoquímicos para el crecimiento de la cepa seleccionada.
- Establecer un sistema de producción de celulosa microbiana.
- Determinar los costos de inversión para la producción de celulosa microbiana.

4 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 BIOPOLÍMEROS CELULOLÍTICOS

La madera está constituida por biopolímeros y estos a su vez, son los principales constituyentes de la pared celular de fibras de plantas. La cantidad en que se encuentren estos biopolímeros (celulosa, hemicelulosa y lignina) (*Figura 3*), derivan su uso principal en los procesos industriales (Prinsen, 2010).

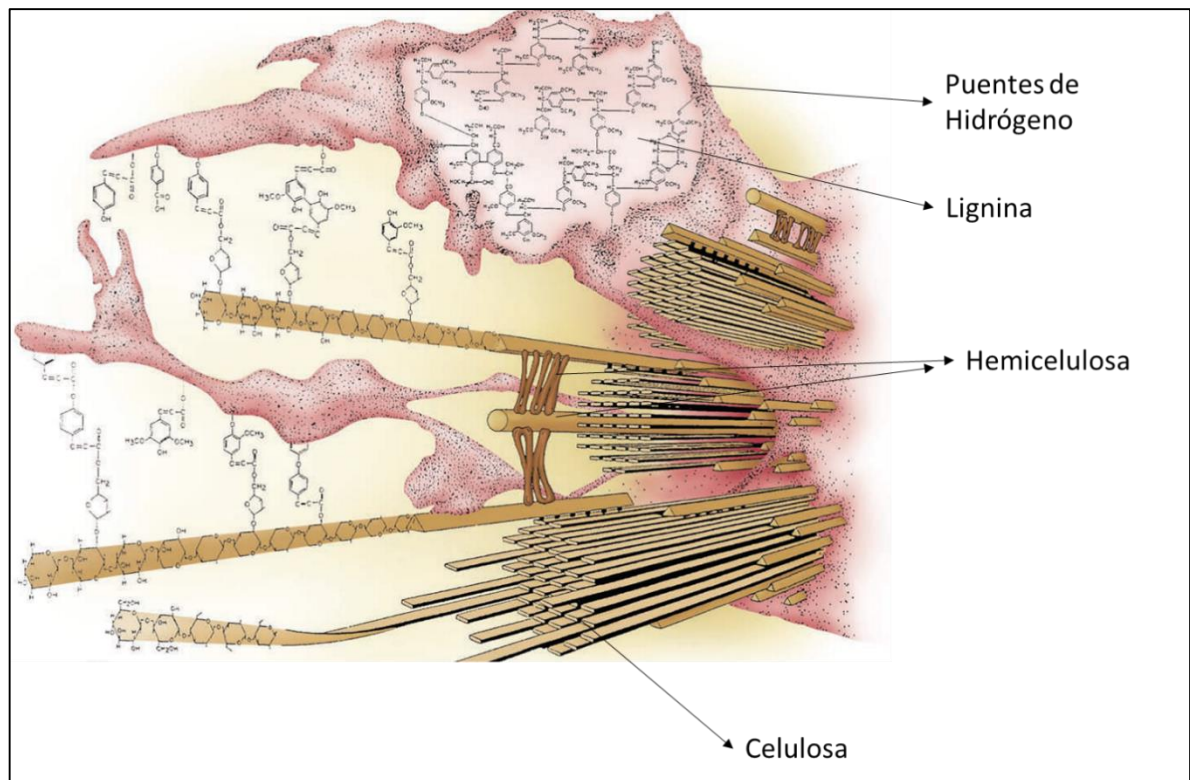


Figura 3: Organización estructural de los biopolímeros. Fuente: Modificado de Prinsen, 2010.

4.1.1 CELULOSA

La celulosa es uno de los polímeros más abundante de la naturaleza. Se puede encontrar en su condición natural en la pared celular de los vegetales como microfibrillas y considerada como el componente más importante del ecosistema terrestre, presentando además, zonas amorfas y cristalinas (Prinsen, 2010).

4.1.2 HEMICELULOSA

La hemicelulosa es un polímero amorfo. Está constituida por una serie de cadenas con diferentes longitudes y ramificaciones. Su principal función es unir la lignina y la celulosa, con el fin de poder proporcionar la rigidez a la pared celular (Prinsen, 2010).

4.1.3 LIGNINA

La lignina es un polímero complejo de gran peso molecular cuyo origen proviene de la deshidrogenación enzimática de alcoholes, y posteriormente, una polimerización que no es posible de controlar, esto hace que la lignina no tenga una estructura definida en una misma especie vegetal. La unión entre la lignina y la estructura vegetal forma un impedimento para la hidrólisis de la celulosa. Tanto la hidrólisis como la oxidación de la lignina producen diversos compuestos químicos (*Figura 4*), los pertenecientes al grupo de los compuestos fenólicos son los más importantes, destacándose la vainillina, cresoles, catecoles, guayacol, etc. (Chávez *et al.*, 2013).

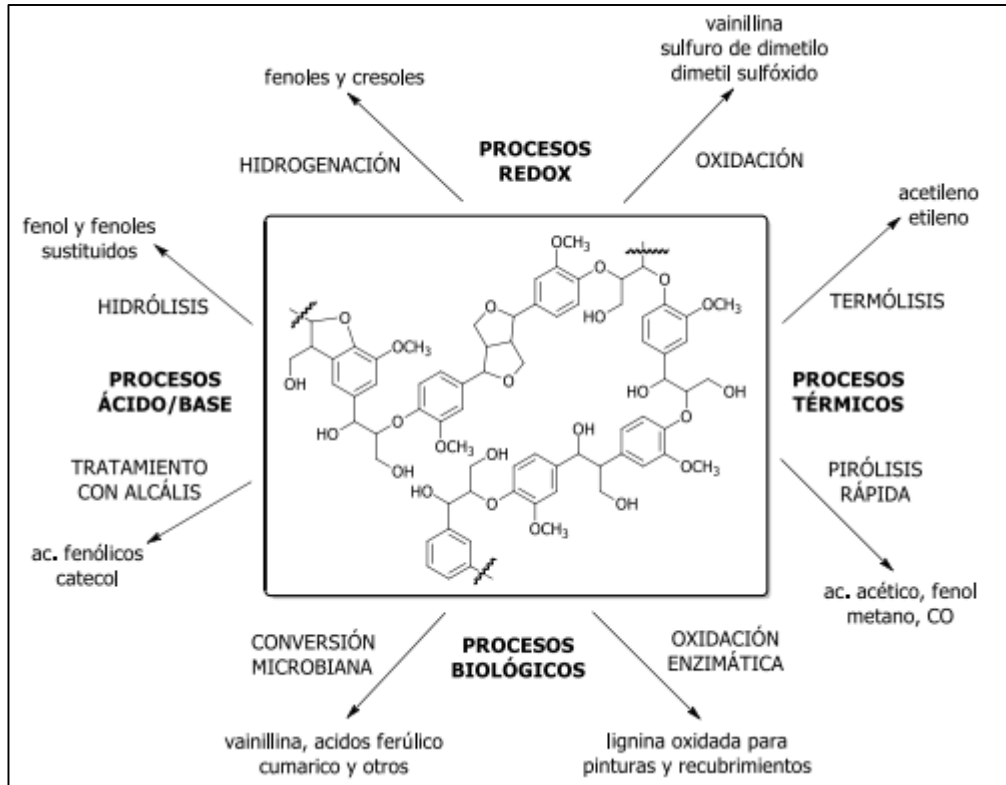


Figura 4: Proceso de transformación de la lignina. Fuente: Chávez et al., 2013.

4.2 CADENA PRODUCTIVA Y COSTOS ASOCIADOS

Los costos ambientales asociados a la industria de celulosa son competitivos en distintos ámbitos, y uno de ellos hace referencia a los años en que el *Pino insignis* logra alcanzar su madurez entre 20 a 24 años. Esto se puede comparar con el tiempo que demoran en crecer hacia el sector del Hemisferio Norte, entre los 50 a 100 años, incluido el sector sur de California (origen de la especie). Los *Eucalyptus globulus*, por otro lado, están en disposición para la tala hasta los 12 años aproximadamente (Luraschi, 2007).

Hoy en día, se puede evidenciar el consumo de las especies introducidas. El consumo anual total de la especie *Pino insignis* (Figura 5), es mayor en comparación con el consumo anual de la especie de *Eucalyptus* (Figura 6), desde el 2007 hasta 2016, información entregada por las estadísticas forestales (INFOR, 2018).

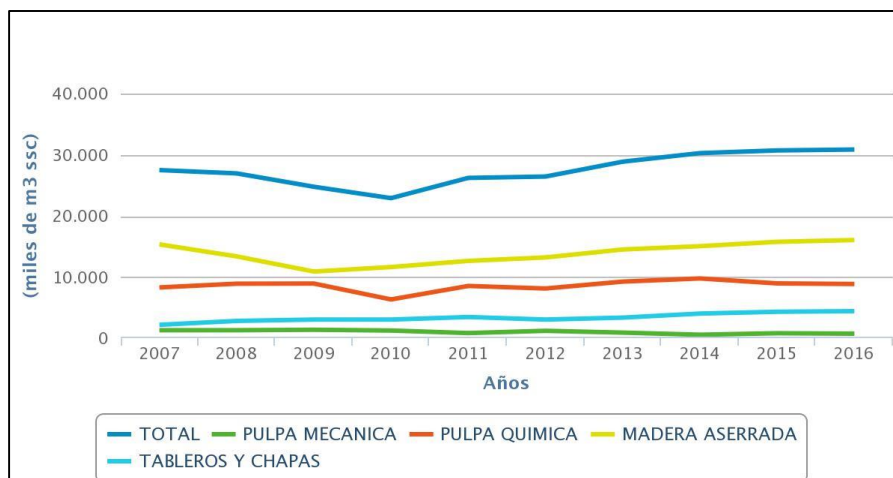


Figura 5: Consumo de madera anual en trozas de Pino insigne en la industria forestal. Fuente: INFOR, 2018.

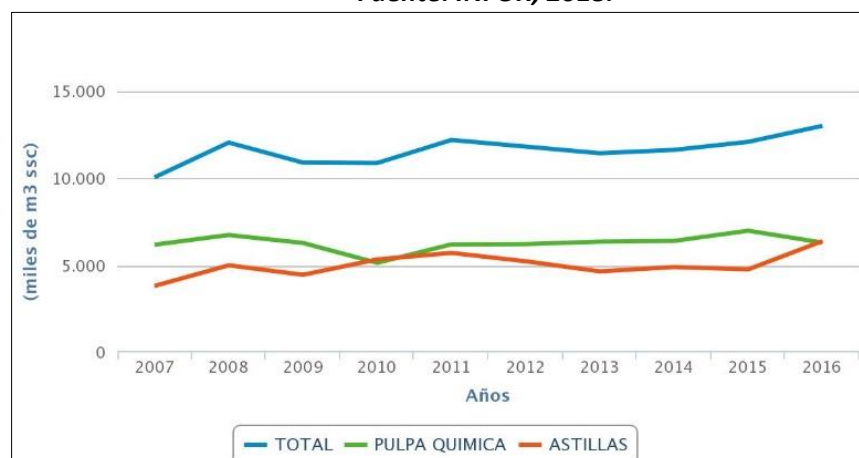


Figura 6: Consumo de madera en trozas de Eucalipto en la industria forestal. Fuente: INFOR, 2018.

En su mayoría, las plantas productoras de celulosa están ubicadas entre la región del Maule y la región de Los Lagos. Estas a su vez se encuentran bajo el control de dos grandes grupos, Arauco y CMPC (Compañía Manufacturera de Papeles y Cartones) (Luraschi, 2007).

Ambas empresas, tanto para la industria forestal como para la industria de celulosa, basan su crecimiento en factores naturales, tales como, la tasa de crecimiento que puedan tener las plantaciones forestales junto con las diferencias de costos (bajo costo en mano de obra local) (Luraschi, 2007).

4.3 PROCESO DE PRODUCCIÓN

Existen principalmente dos tipos de procesos para obtener las fibras de celulosa, **mecánico y químico**.

El **proceso mecánico** consiste básicamente en la trituración de la madera, exclusivamente de *Pino insigne* (fibra larga). Este proceso se caracteriza por no modificar de manera drástica la composición química de la fibra que se utiliza, por lo tanto, el contenido de lignina es alto (Luraschi, 2007).

Por otro lado, durante el **proceso químico**, más conocido como **proceso kraft**, utiliza sulfato, y el uso de las sustancias químicas para poder disolver la lignina de la madera es esencial para obtener el blanqueo del producto deseado, por lo tanto se realiza en presencia de NaOH y Na₂S para que el proceso sea más efectivo (Luraschi, 2007).

Según lo publicado por Zaror (1998), en Chile el proceso kraft es el más utilizado por la industria de celulosa y papel, ya que permite recuperar los reactivos que se utilizan casi en su totalidad. Se puede aplicar a cualquier tipo de madera, y es capaz de generar una pulpa de mayor resistencia, incluyendo una integración energética eficiente. A continuación se detallan las etapas del proceso kraft (*Figura 7*).

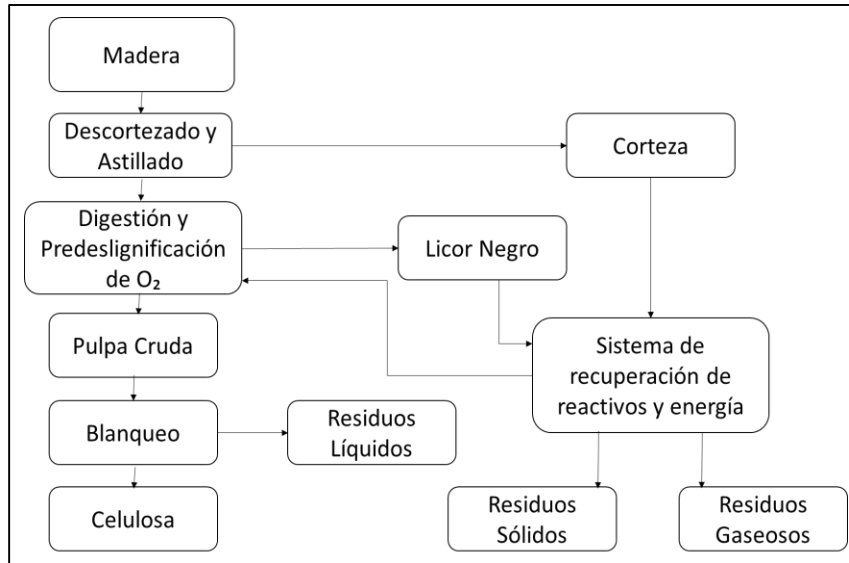


Figura 7: Etapas del proceso Kraft. Modificado de Zaror, 1998.

- Preparación de la madera: Los trozos de madera son descortezados y luego reducidos en astillas. Estas son transportadas a través de las correas hacia el reactor para la cocción (Zaror, 1998).
- Cocción: Las astillas entran en contacto con hidróxido de sodio y sulfuro de sodio (**licor blanco**), permitiendo disolver la lignina. Posteriormente, el sólido es lavado y filtrado. Se obtiene una pulpa de fibras ricas en celulosa (pulpa cruda) y un residuo líquido (**licor negro**) rico en compuestos orgánicos disueltos y reactivos del proceso (Zaror, 1998).
- Recuperación de reactivos y energía: El licor negro se concentra y se quema en una caldera de recuperación, de la cual se obtiene energía calórica y un fundido inorgánico de carbonato de sodio (Na_2CO_3) con sulfuro de sodio (Na_2S). Estas se disuelven y se hacen reaccionar con CaO para generar el licor blanco. Este es reutilizado en la cocción. La energía calórica liberada por la combustión es utilizada para producir vapor y energía eléctrica (Zaror, 1998).
- Deslignificación con oxígeno: La pulpa cruda se hace reaccionar con una corriente gaseosa de oxígeno puro, logrando eliminar casi el 50% de la lignina residual. De

esta manera, el líquido residual se mezcla con el licor negro y se envía a la unidad de recuperación de reactivos y energía (Zaror, 1998).

- **Blanqueo:** Ya que el tratamiento anterior no es suficiente para poder eliminar en su totalidad la lignina residual presente en la fibra celulósica, se requiere la acción de agentes oxidantes más selectivos hacia la lignina, por lo tanto, se realiza una serie de pasos alternados para la extracción alcalina con hidróxido de sodio y otros agentes químicos (Altesor *et al.*, 2008).

De acuerdo a los agentes químicos que se utilizan en esta etapa, se pueden emplear tres tipos de sistema de blanqueo:

- Con cloro elemental.
- Libre de cloro elemental (ECF).
- Totalmente libre de cloro (TCF).

El cloro elemental es capaz de oxidar la lignina residual, la cual es removida y extraída con el hidróxido de sodio. Posteriormente el uso del dióxido de cloro comenzó a sustituir al cloro elemental, utilizándolo como agente de blanqueo. Además, puede realizarse una mezcla con el ozono o peróxido de hidrógeno como agente de blanqueo, surgiendo de esta manera el método ECF. Finalmente, el método TCF puede utilizar ozono y peróxido de hidrógeno en distintas concentraciones o combinaciones porcentuales (Altesor *et al.*, 2008).

4.4 PRODUCCIÓN DE CELULOSA EN CHILE

A nivel industrial, Chile basa su producción en los productos que se obtienen a partir de la industria de celulosa y papel, además de los productos madereros semi elaborados y manufacturados. Por ende, la industria de la madera es la que se encarga de las cadenas industriales mencionadas anteriormente (Luraschi, 2007).

El papel es el principal producto que se obtiene de la fibra celulósica de la madera, y en segunda posición el cartón. El consumo de papel se encuentra relacionado

directamente con el desarrollo económico del país, debido al aumento de la tasa de crecimiento de la población, en consecuencia, la demanda de papel también ha ido acrecentando (Zaror, 2002).

Actualmente, la producción forestal de Chile se sustenta en especies introducidas, como lo son el Pino insigne (*Pinus radiata*) y Eucalipto (*Eucalyptus globulus*). A pesar de que son especies que se pueden adaptar con facilidad a las condiciones climáticas favorables del país y al suelo que posee principalmente la zona sur o centro sur, son factores que influyen en las bajas tasas de regeneración, en la mala calidad de la madera de los bosques nativos, y en el aumento de las normativas con respecto a la explotación de esta materia prima (Luraschi, 2007).

El inicio de las empresas locales comenzó en la década de los ´70, por los subsidios gubernamentales e incentivos tributarios, por lo tanto, desde entonces se comenzó a incorporar el cultivo del Pino insigne a gran escala, y desde la década de 1980 ya se encontraba localizado en gran parte de las zonas sur del país (Amcham Chile, 2006).

Por otro lado, los productos que pueden obtenerse desde la industria forestal chilena, pueden ser evaluados de acuerdo al nivel de transformación al que son sometidos. Por lo tanto, se clasifican en productos primarios, semi elaborados (menor y mayor procesamiento) y elaborados (Luraschi, 2007).

Para fines de este estudio, el enfoque se realizará en los productos semi elaborados de menor y mayor procesamiento.

4.4.1 PRODUCTOS SEMIELABORADOS DE MENOR PROCESAMIENTO

Estos tipos de productos, son los que han sufrido una transformación primaria posterior a su extracción del bosque. La celulosa es un ejemplo de estos productos, cuya fibra vegetal da origen a la madera. Además, al ser considerada como una materia prima, se puede utilizar en otro tipo de industrias como lo son la fabricación de papel y cartón.

Dependiendo el proceso que se utilice para elaborar la pulpa de celulosa, puede ser clasificada en química o mecánica (Luraschi, 2007).

4.4.2 PRODUCTOS SEMIELABORADOS DE MAYOR PROCESAMIENTO

Estos tipos de productos hacen referencia a los productos madereros propiamente tal, por ejemplo: madera terciada, aislantes, tablero de fibras, entre otros. Pero también se encuentran los productos que son procesados y derivados de la transformación de la celulosa mencionada en los productos de menor procesamiento, por ejemplo: papeles y cartones, cartulina, papel tissue, entre otros (Luraschi, 2007).

Cabe destacar, que la industria de papel está vinculada principalmente con el mercado interno, a pesar de que sus exportaciones se lleven a cabo en los países de Sudamérica, como lo son Perú, Argentina y Ecuador (Luraschi, 2007).

4.5 EVALUACIÓN DE IMPACTOS AMBIENTALES

Toda actividad industrial puede generar diversos efectos ambientales. La degradación del medio ambiente por parte de las industrias de celulosa, básicamente está asociada a la extracción de la biomasa forestal, y como consecuencia la sustitución de los bosques nativos, considerando al proceso de la industria de celulosa como una amenaza a la biodiversidad (Covinich *et al.*, 2017).

En Chile la emisión de los contaminantes de la industria de celulosa aumenta a medida que se genera la producción de la pulpa para obtener los productos. Particularmente, la industria de pasta y papel es considerada como una gran amenaza por el efecto sobre el consumo de agua y de energía. Además, el uso de agentes químicos nocivos, provoca un impacto negativo significativo sobre los ecosistemas aire y agua (García *et al.*, 2001).

Junto con lo mencionado anteriormente, se puede distinguir en la *Figura 8* la fuente de los contaminantes en los procesos de la industria forestal.

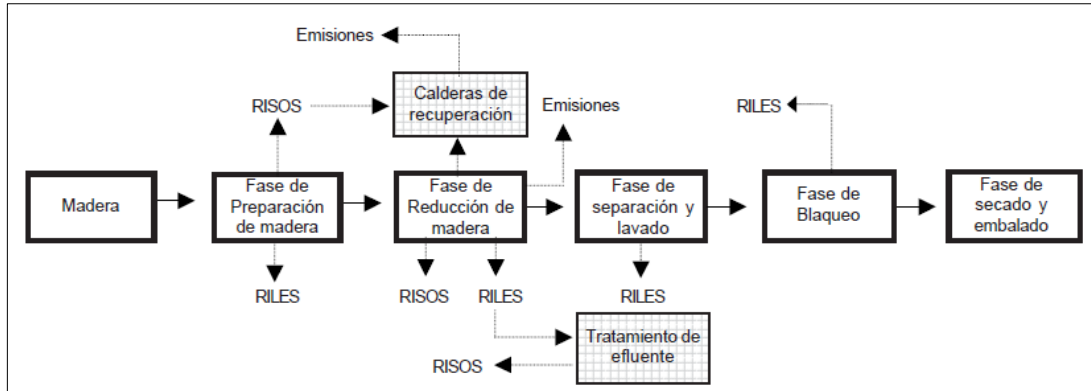


Figura 8: Origen de los residuos sólidos, líquidos y gaseosos en una industria forestal.
Fuente: Espinosa, 2002.

Desde otro punto de vista, los residuos que son originados por las industrias de celulosa, son capaces de causar un efecto negativo en ecosistemas como el agua, aire y suelo. Se consideran además, efectos ambientales directos, por ejemplo: olores molestos, ruido, modificación en el paisaje, corredores ecológicos y fragmentación de hábitats, y consumo de recursos hídricos en gran medida. Por lo demás, las industrias de celulosa son capaces de generar efectos indirectos que son desencadenados por la actividad económica, entre los cuales se destacan: aumento de los flujos de transporte, almacenamiento de los insumos, y las materias primas (Luraschi, 2007).

4.6 NORMATIVA AMBIENTAL ASOCIADA A INDUSTRIAS DE CELULOSA

Según lo que describe en su Memoria anual, ARAUCO (2016), Chile se rige principalmente por la Ley N°19.300/1994 (Ley sobre Bases Generales del Medio Ambiente), la cual se encarga de regular este tipo de materias

Según la ley N°19.300, las empresas están en la obligación de presentar a la autoridad los estudios y/o declaraciones de impacto ambiental que conlleva sus actividades

o proyectos industriales, y el Ministerio del Medio Ambiente se encarga de crear las políticas y regulaciones ambientales. Se encuentra además, el Servicio de Evaluación Ambiental, encargado de administrar el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, y finalmente, la institucionalidad ambiental que también debe ser capaz de fiscalizar y sancionar temas ambientales, que pasa a ser una obligación de la Superintendencia del Medio Ambiente (CONAMA, 1999).

Los proyectos o actividades que se realicen y que pueden afectar al medio ambiente de acuerdo a lo dispuesto en la ley sobre Bases Generales del Medio Ambiente, se pueden llevar a cabo sólo cuando estos sean aprobados a través de la Resolución de Calificación Ambiental (RCA) (ARAUCO, 2016; CONAMA, 1999).

Las normas también establecen los procedimientos adecuados para que las personas cívicas sean capaces de exponer sus observaciones a lo relacionado con el contenido de las declaraciones o estudios presentados por el titular de dicho proyecto. Por tanto que, otros organismos públicos e incluso autoridades locales, tienen la capacidad de poder demandar el incumplimiento de la norma ambiental que se aplica en caso de que pudiese existir el daño ambiental (CONAMA, 1999).

El hecho de que la norma ambiental no se cumpla, puede concluir la derogación de los permisos, cierre temporal o permanente de las instalaciones industriales e incluso multas por los incumplimientos que se presenten en el transcurso de las actividades (ARAUCO, 2016).

Por otro lado, la explotación del bosque nativo ha generado que el Ministerio de Agricultura pueda cuidar los terrenos forestales, reflejándose en la promulgación de la ley N° 20.283/2008 “LEY SOBRE RECUPERACION DE BOSQUE NATIVO Y FOMENTO FORESTAL”, en el cual se destaca el plan de manejo de los bosques nativos, las normas de protección ambiental, la conservación y recuperación de estos, las sanciones o multas que se pueden ejercer con el fin de poder obtener el manejo sustentable del bosque nativo (Ley 20.283, 2008).

4.7 MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE CELULOSA

Abundante número de bacterias, hongos y protozoos son capaces de degradar la celulosa. Algunos de estos son pertenecientes a la naturaleza, y liberan polisacáridos de las plantas, las convierten en azúcar para que puedan ser asimilados por estos mismos microorganismos, y se puedan desarrollar (Beltrán, 2013).

Por otro lado, los microorganismos mencionados anteriormente, se pueden encontrar en los tractos intestinales de algunos rumiantes, termitas y lombrices (Beltrán, 2013).

Los ecosistemas celulolíticos involucran una gran cantidad de biota capaz de producir la celulosa, debido a la acumulación de los residuos lignocelulósicos, como los desechos vegetales generados por la actividad agrícola (Beltrán, 2013).

No sólo las plantas son capaces de producir la celulosa, sino que también se destacan algunas especies pertenecientes al reino animal que cabe mencionar (Herrera, 2015).

Se conoce la especie *Globodera rostochiensis*, la cual fue localizada en nemátodos parásitos de algunas plantas. También se destacan artrópodos terrestres, termita *Nasutitermes takasagoensis*, y moluscos, como por ejemplo, los gasterópodos marinos *Dolabella auricularia* y *Aplysia kurodai* (Herrera, 2015).

4.8 CELULOSA MICROBIANA

La celulosa microbiana es un polímero lineal que está formado por los residuos de la glucosa y unidos por enlaces covalentes entre el carbono 1 y 4. Se caracteriza por ser insoluble en agua y capaz de hidrolizar debido a los puentes de hidrógeno que posee (*Figura 9*) (Chávez *et al.*, 2004).

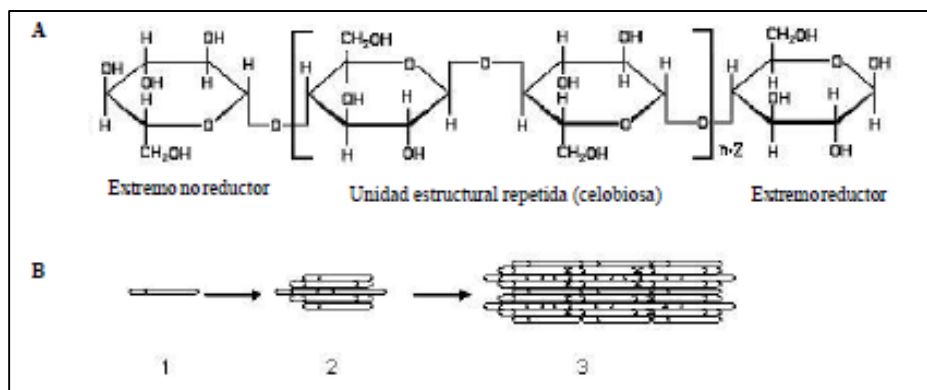


Figura 9: Estructura molecular de la celulosa microbiana. 1. Cadena lineal de celulosa microbiana. 2. Microfibrilla de celulosa microbiana. 3. Paquete de microfibrilla.
Fuente: Chávez et al., 2004.

Este polímero no posee lignina en su estructura, ni hemicelulosa, por lo tanto, la hace más resistente y los costos asociados a la extracción son menores en comparación con la celulosa vegetal (Saxena et al., 2007).

Los estudios que se han realizado en base a su estructura y propiedades, indican que existe una similitud química entre la celulosa microbiana y la celulosa vegetal (Carreño et al., 2012; Keshk et al., 2006).

Por otro lado las diferencias que se hace notar entre cada una, se exponen en relación a la conformación de su estructura funcional y las propiedades físicas que poseen (Carreño et al., 2012; Keshk et al., 2006).

En la *Tabla 1* se muestran algunas características que diferencia a la celulosa microbiana de la celulosa vegetal, según distintos autores (Santos de Dios, 2015).

Tabla 1: Diferencias entre la celulosa microbiana y celulosa vegetal. Fuente: Modificado de Santos de Dios, 2015.

Características	Celulosa Microbiana	Celulosa Vegetal
Dimensiones de las cadenas	70-80nm	Pino: 3,0-7,5*10 ⁻² nm
	133nm	Abedul: 1,4-4,0*10 ⁻² nm
Grado de polimerización	16.000-20.000	13.000-14.000
Temperatura de degradación (°C)	200-270	150

El proceso al cual es sometida la celulosa microbiana para que sea purificada, logra que no sea perjudicial ni tóxica para las personas, además puede ser considerada biocompatible y biodegradable. Pero, el inconveniente surge en la escala de producción a la cual se desee trabajar, ya que a gran escala se vuelve un impedimento para su elaboración (Carreño *et al.*, 2012).

4.8.1 MORFOLOGÍA DE LA CELULOSA MICROBIANA

La macroestructura que presenta la celulosa microbiana no depende de las condiciones de cultivo (Chávez *et al.*, 2004).

Por otro lado, la morfología de la celulosa microbiana, puede variar de acuerdo al microorganismo, ya que depende de las condiciones de cultivo que se utilicen. En condiciones estáticas, la bacteria puede ser capaz de acumular capas de celulosa, mientras que en un cultivo agitado, la producción de celulosa no se presenta de manera regular (Chávez *et al.*, 2013).

En la *Tabla 2* se señalan distintos tipos de microorganismos capaces de producir celulosa microbiana y la morfología que presentan al generarla (Arteaga, 2014).

Tabla 2: Productores de celulosa microbiana y características de su estructura. Fuente: Arteaga, 2014.

Género	Estructura de la celulosa microbiana
<i>Gluconacetobacter</i>	Película compuesta de cintas
<i>Achromobacter</i>	Cintas
<i>Aerobacter</i>	Cintas
<i>Agrobacterium</i>	Cintas cortas
<i>Alcaligenes</i>	Cintas
<i>Pseudomonas</i>	Sin distinción de cintas
<i>Rhizobium</i>	Cintas cortas
<i>Sarcina</i>	Celulosa amorfa
<i>Zoogloea</i>	No definido

4.8.2 MICROORGANISMOS

La celulosa es una molécula que se produce anualmente entre 10^{11} y 10^{12} toneladas a partir de distintas fuentes: origen vegetal, hongos, bacterias, entre otros (Chávez *et al.*, 2004).

Como se ha mencionado en capítulos anteriores, la celulosa microbiana es un polímero extracelular insoluble que se puede obtener por la fermentación de los organismos pertenecientes al reino Mónera, abarcando los siguientes géneros: *Gluconacetobacter* (nombre modificado de *Acetobacter*), *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina* y *Salmonella*, entre otras (Huang *et al.*, 2013; Carreño *et al.*, 2012; Chávez *et al.*, 2004).

Las bacterias del género *Gluconacetobacter* son capaces de producir celulosa a partir de distintas fuentes de carbono, como glucosa, sacarosa, glicerol, manitol o arabitol con aproximadamente un 50% de eficacia (Keshk *et al.*, 2005).

El género *Gluconacetobacter* incluye a bacterias que tienen la capacidad de oxidar azúcares y etanol generando ácido acético. Entre los productores más eficientes de celulosa se destacan los siguientes (Ramana *et al.*, 2000):

- *G. xylinus*
- *G. hansenii*
- *G. diazotrophicus*
- *G. liquefaciens*
- *G. medillensis*

4.8.2.1 *GLUCONACETOBACTER XYLINUS*

Este microorganismo se caracteriza por tener una alta capacidad de producir celulosa con diferentes fuentes de carbono y nitrógeno. Debido a esto, se ha tomado como modelo para estudios básicos (Chávez *et al.*, 2004; Ramana *et al.*, 2000).

Posee una fácil manipulación y esto ha conllevado a estudios sobre su biosíntesis, logrando como resultado que se manifieste de forma esencial para mayor indagación sobre el tema en cuestión. (Chávez *et al.*, 2004).

La síntesis de celulosa que se genera por esta especie se encuentra relacionada con el proceso catabólico de oxidación, incluso en extremos, es capaz de consumir un 10% de la energía derivada de las reacciones catabólicas (Weinhouse *et al.*, 1997).

G. xylinus es una bacteria Gram-negativo, perteneciente a la familia *Acetobacteriaceae*. Esta especie se encuentra capacitada para llevar a cabo la oxidación incompleta aeróbica de azúcares y alcoholes (Weinhouse *et al.*, 1997).

Para producir celulosa a partir de este microorganismo, se puede obtener de laboratorios con capacidades de cultivos en medios sólidos o líquidos. Para la bacteria, la celulosa microbiana actúa como mecanismo de flotación, permitiendo que esta se mantenga en la interfase aire/líquido, y de esta manera, puede obtener el oxígeno con mayor facilidad para que se pueda desarrollar (Donini *et al.*, 2010).

Cabe destacar que la producción de la celulosa microbiana no solo actúa como una barrera física capaz de proteger a la bacteria de la radiación ultravioleta, sino que aumenta además, su capacidad de colonizar sustratos. También se caracteriza por tener un carácter higroscópico que permite la retención de humedad, evitando que el sustrato pierda su hidratación (Donini *et al.*, 2010).

4.8.2.2 *GLUCONACETOBACTER HANSENI*

Este microorganismo posee una pared celular con polisacáridos, y es capaz de crear colonias blancas opacas. Para que se pueda desarrollar necesita su fuente de carbono, entre los cuales se encuentran los alcoholes: sorbitol, glicerol o manitol y hexosas como fructosa y glucosa (University of California, 2014).

Es capaz de producir celulosa en pequeñas cantidades, por lo tanto, puede afectar las fermentaciones. En términos generales, las levaduras producen dióxido de carbono inhibiendo el crecimiento de las bacterias acéticas cuando comienza a disminuir el

crecimiento de la levadura (debido a la escases de nutrientes), por lo tanto, este microorganismo puede desarrollarse, obteniendo como resultado la formación del ácido acético y la formación de polisacáridos que afecta a nivel de infiltración (University of California, 2014).

4.8.2.3 *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*

Este microorganismo corresponde a una bacteria endófito, y exitosamente ha sido aplicada sobre distintos tipos de cultivos, entre los cuales se destacan: caña de azúcar (*Saccharum spp.*), sorgo (*Sorghum bicolor L. Moench.*), malanga (*Xanthosoma spp.*), boniato (*Ipomoea batata L.*) y yuca (*Manihot esculenta Crantz.*) (Ríos *et al.*, 2016).

La primera investigación se realizó en 1998, junto con la incorporación del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) (Ríos *et al.*, 2016).

Debido a su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, producir ácido indol acético (AIA), solubilizar nutrientes minerales (fósforo y zinc) y además, desarrollar una actividad antagonista frente a los organismos fitopatógenos. Esta bacteria se caracteriza por elaborar bioproductos capaces de estimular el crecimiento vegetal (Ríos *et al.*, 2016).

Por otro lado, esta bacteria conforma el principio activo para la estimulación del crecimiento y el rendimiento de especies vegetales. Sin embargo, surge una problemática respecto al cultivo de las cepas, ya que a través de investigaciones, se ha llegado a la conclusión de que no presenta las mismas características bajo condiciones *in vitro* (Ríos *et al.*, 2016).

4.8.2.4 *GLUCONACETOBACTER LIQUEFACIENS*

Este microorganismo es una bacteria aerobia, por lo tanto necesita de oxígeno para producir el ácido ascórbico (vitamina C) presenta una morfología y rasgos fisiológicos particulares. Se presenta en forma de varilla y es capaz de formar colonias, a través del

sustrato, etanol. De esta manera se puede desarrollar el crecimiento de dicho microorganismo (University of California, 2017).

Por otro lado, esta bacteria se puede encontrar en el medio natural asociada a las flores y frutas tanto en buen estado como en mal estado, ya que el azúcar se convierte en alcohol, y este impide que se pueda desarrollar otro tipo de microorganismos (University of California, 2017).

Actualmente, esta especie actúa como un organismo de descomposición, debido a su capacidad de transformar el etanol obtenido de la fermentación en ácido acético (University of California, 2017).

4.8.2.5 *GLUCONACETOBACTER MEDILLENSIS*

Este microorganismo presenta características similares a *Gluconacetobacter xylinus*. Son gram-negativos, y tienen forma de bacilos con aproximadamente 3,1 μm de largo y 0,6 μm de ancho. Es una bacteria oxidasa negativa y catalasa positiva (Arteaga, 2014). Este microorganismo puede producir la membrana de la celulosa microbiana a partir de distintas fuentes de carbono, entre los cuales se destacan; D-glucosa, D-fructosa, sacarosa, etanol, maltosa, sorbitol, D-manitol, galactosa y celobiosa (Enciso, 2015).

En la *Tabla 3* se muestra un resumen de todos los microorganismos mencionados anteriormente, con el fin de sintetizar y analizar la información requerida.

Tabla 3: Características de los microorganismos capaces de producir celulosa microbiana.

Características	Microorganismos del género <i>Gluconacetobacter</i> capaces de producir celulosa				
	<i>G. xylinus</i>	<i>G. hansenii</i>	<i>G. diazotrophicus</i>	<i>G. liquefaciens</i>	<i>G. medillensis</i>
Manipulación	Fácil manipulación	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>
Tipo de tinción	Gram negativo	Gram negativo	Gram negativo	Gram negativo	Gram negativo
Nivel de producción	Alta capacidad	Baja capacidad	Dificultades de producción	Variadas restricciones	Alta capacidad
Fuente de Carbono y Nitrógeno	Variados	Variados	-	-	Variados
Ubicación de la cepa	Se puede obtener de laboratorios en medios sólidos o líquidos	-	Sus características no son aplicables bajo condiciones <i>in vitro</i>	En medio natural, frutas y flores.	-
Otros	Se toma como modelo para estudios básicos	Formación de polisacáridos que afecta a nivel de infiltración	Capacidad en la elaboración de bioproductos capaces de estimular el crecimiento vegetal	Actúa como organismo de descomposición	Similares características a <i>G. xylinus</i>
	Carácter higroscopio	Capaz de producir colonias blancas opacas	Capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico	Capacidad de transformar el etanol	Capaz de formar colonias
<i>nd</i> : No se encuentra suficiente información (<i>No determinado</i>).					

4.8.3 BIOSÍNTESIS CELULOSA MICROBIANA

Existen dos tipos de vías anfibólicas para la biosíntesis de la celulosa microbiana: el **ciclo de las pentosas fosfato** y el **ciclo de Krebs** (Chávez *et al.*, 2004). En la *Figura 10* se muestra el primer ciclo, el cual se basa en la participación de los carbohidratos y su oxidación, y el segundo ciclo se encarga de oxidar ácidos orgánicos y compuestos que se encuentren relacionados entre sí (Ross *et al.*, 1991).

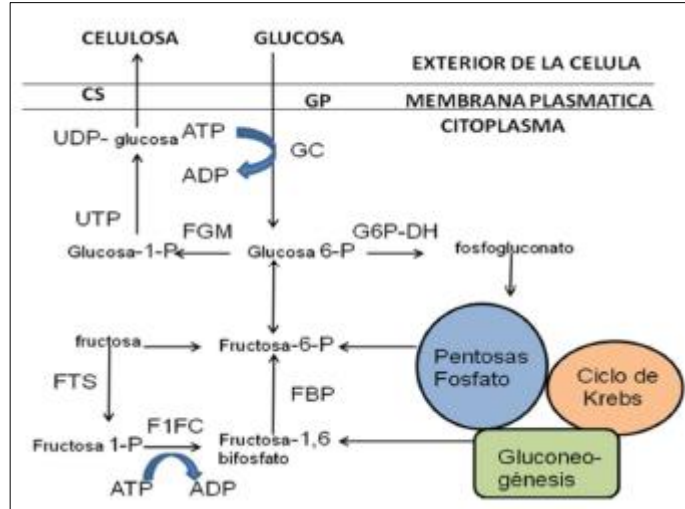


Figura 10: Rutas metabólicas y síntesis de la celulosa microbiana. Fuente: Chávez et al., 2004.

La síntesis de la celulosa microbiana se lleva a cabo mediante una reacción que implica el gasto de energía en los enlaces. El desgaste es producido por los residuos de glucosa que se generan, y el alto costo energético en el proceso es un tema a tratar. Este microorganismo puede ser capaz de consumir hasta un 10% de ATP, originado por el metabolismo. De esta manera, la respiración celular juega un papel clave en la síntesis de celulosa, ya que en el proceso se destaca el aporte energético que se produce por el metabolismo aerobio (Chávez et al., 2004).

El proceso que conlleva la biosíntesis en la celulosa microbiana (Figura 11), se puede presentar en distintas poblaciones de bacterias u organismos que son capaces de producir la celulosa (Chawla et al., 2009), por ende, dichas poblaciones deben estar en crecimiento para que la producción de celulosa y biomasa se generen de manera directa y proporcional (Ross et al., 1991).

La producción de celulosa se lleva a cabo mediante dos etapas o mecanismos principales; el primero es la conversión de la fuente de carbono en uridín difosfato glucosa (UPD-Glucosa), este corresponde al pionero de la celulosa. El segundo mecanismo hace referencia a la formación de la celulosa y su posterior expulsión al medio de cultivo (Chawla et al., 2009; Ross et al., 1991).

La producción del uridín difosfato glucosa (UDP-Glucosa), primera etapa para obtener celulosa, se da inicio con el ingreso del sustrato al microorganismo (fuente de carbono), para que se dé inicio al proceso de conversión de glucosa-6-fosfato en la enzima glucoquinasa (Weinhouse *et al.*, 1974). Luego, la glucosa-6-fosfato se transforma en glucosa-1-fosfato por la enzima fosfoglucomutasa, y la conversión que se origina de este último metabolito a UDP-glucosa (sustrato de la enzima celulosa sintasa), ocurre en presencia de la enzima uridín difosfato glucopirofosforilasa (Ross *et al.*, 1991).

Finalmente, en la segunda etapa, la celulosa es expulsada hacia el medio de cultivo como una subfibrilla de aproximadamente 1,5 [nm] de longitud. La unión de estas subfibrillas (macrofibrilla), dan origen a las fibras de celulosa (Zaar, 1979).

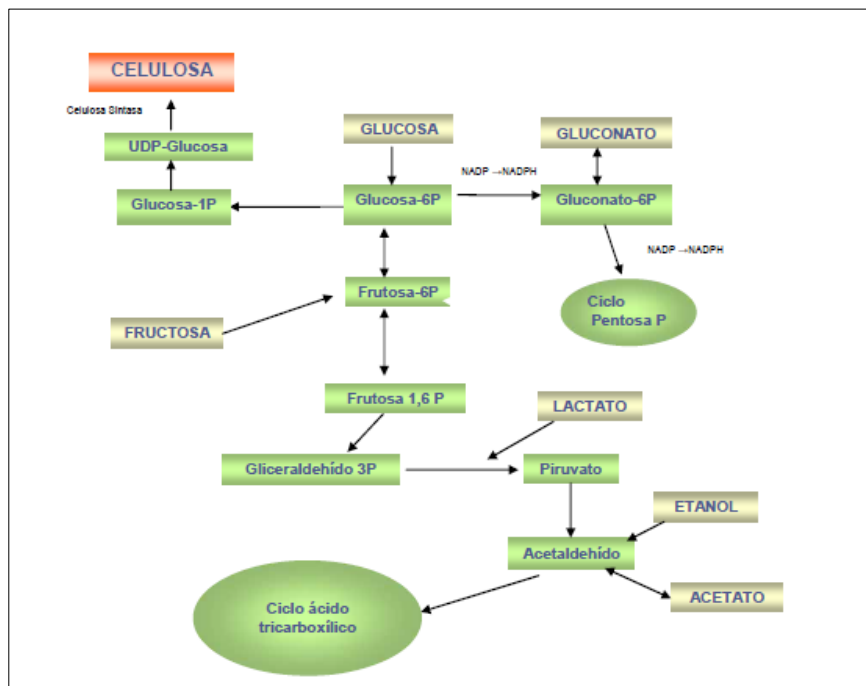


Figura 11: Biosíntesis de celulosa microbiana. Fuente: Carreño *et al.*, 2012.

Sin embargo, existen modelos que pueden explicar la síntesis de la celulosa microbiana, y en cada uno se realiza la polimerización de esta (Figura 12). Los principales modelos según Chávez y colaboradores (2004), son los siguientes:

- **Modelo I: Sitio catalítico de la celulosa sintetasa orientado al citoplasma**

Este modelo hace referencia, a saber si es que la polimerización se realiza en el citoplasma. De ser así, la transformación debe realizarse a través de un poro que es facilitado por la celulosa sintetasa o por las proteínas que se asocian a esta.

- **Modelo II: Sitio catalítico orientado al espacio extracelular**

La polimerización es realizada en el espacio extracelular, y por lo tanto, no es necesario que exista el proceso de transformación de su estructura, pero se hace compleja la explicación de la disponibilidad del sustrato.

- **Modelo III: Catálisis asociada a intermediarios lipídicos**

Se establece la unión de UDP-glucosa a un agente externo lipídico, con el fin de que pueda facilitar la entrega a la celulosa sintasa. En el citoplasma corre la polimerización, pero requiere que el proceso de alteración de su estructura ocurra al exterior de la célula.

- **Modelo IV: Asociación de glicosil-transferasas**

En este modelo participan dos β -glicosil transferasas. La ubicación de una de ellas es al lado del material citoplasmático, mientras que la otra, debe estar en el lado extracelular. Además, la polimerización se lleva a cabo en el medio extracelular, y no es necesaria la transformación de su estructura (extrusión).

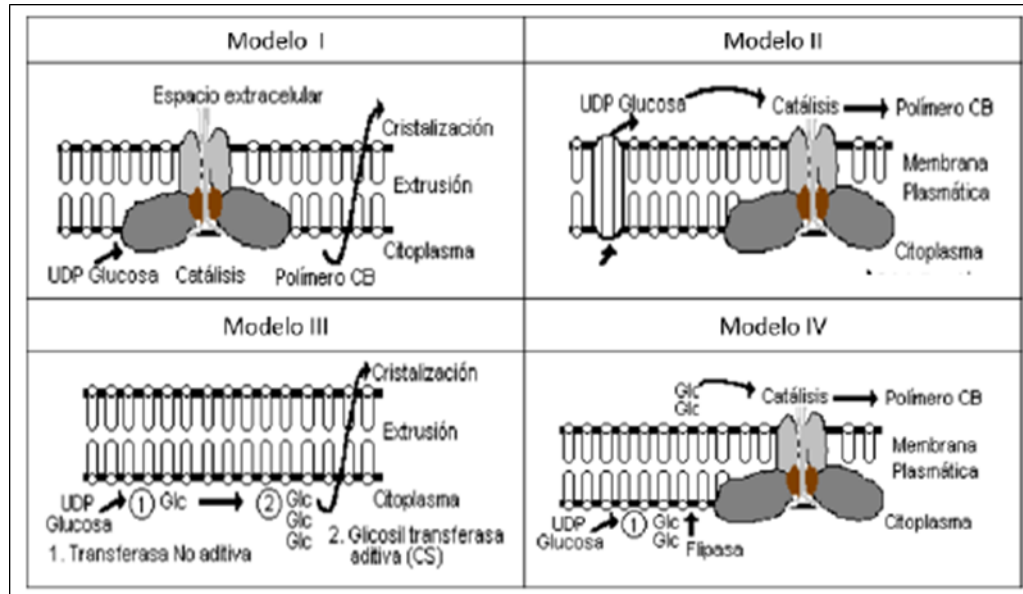


Figura 12: Modelos de síntesis y extrusión de la celulosa microbiana. Fuente: Chávez et al., 2004.

4.8.4 MEDIOS Y CONDICIONES DE CULTIVO

La síntesis de celulosa se encuentra relacionada directamente con la estructura y las propiedades de la celulosa microbiana. Estos a su vez, afectan la producción del polímero a través de las técnicas de fermentación que se utilicen (cultivo estático o agitado) (Carreño *et al.*, 2012), de las fuentes de carbono, nitrógeno y de algunos parámetros fisicoquímicos, como por ejemplo el pH y la temperatura (Chawla *et al.*, 2009).

Las condiciones de cultivo para poder producir celulosa microbiana surgieron con las primeras observaciones de Schramm y Hestrin en 1954, encontrando la relación que existe entre la producción del polímero de celulosa y el suministro de oxígeno en los dos tipos de cultivo. Además, desarrollaron un medio de cultivo conocido como H-S (medio Hestrin- Schramm), cuyos componentes son los siguientes (Carreño *et al.*, 2012):

- Glucosa
- Peptona
- Extracto de levadura
- Fosfato disódico
- Ácido cítrico
- Agua destilada

4.8.4.1 MEDIOS DE CULTIVO

El medio de cultivo y las condiciones externas necesarias para la producción de celulosa microbiana son esenciales para que esta pueda crecer y desarrollarse (Ruka *et al.*, 2012).

Para que se produzca el crecimiento de la celulosa, la bacteria en su medio de cultivo debe tener una fuente de carbono, de nitrógeno y los nutrientes esenciales, además de sales que puedan amortiguar los cambios de pH. De esta manera, la producción de celulosa microbiana puede ser considerada en su estado óptimo (Chávez *et al.*, 2004; Ramana *et al.*, 2000).

4.8.4.2 CONDICIONES DE CRECIMIENTO

I. Fuente de carbono

La fuente de carbono es necesaria para que se pueda producir la síntesis de la glucosa por la vía de las pentosas fosfato, y de esta manera generar la producción de celulosa (Czaja *et al.*, 2006).

Existen distintas fuentes de carbono, y cada una de ellas puede aumentar el beneficio de la producción de celulosa, como por ejemplo los polialcoholes (manitol y glicerol), fructosa y la glucosa (Czaja *et al.*, 2006). Cabe destacar, que el análisis del aumento de la producción de celulosa microbiana, puede ser vinculado con el uso de la glucosa como fuente principal de carbono (Carreño *et al.*, 2012).

II. **Fuente de nitrógeno**

El nitrógeno actúa como un componente esencial en las proteínas, y estas a su vez, pueden realizar el metabolismo celular. En la producción de la celulosa microbiana, las fuentes de nitrógeno pueden ser: extracto de levadura, peptona, sulfato de amonio, entre otros (Ramana *et al.*, 2000).

4.8.4.3 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

A continuación, se describen los principales parámetros fisicoquímicos que pueden afectar el desarrollo de la celulosa microbiana.

- **pH**

Mantener controlado el pH en cultivos estáticos es fundamental para el desarrollo de la celulosa microbiana. El control del pH permite evitar que se junte materia de ácidos glucónicos, acéticos o lácticos, ya que estos provocan la disminución del pH, generando un resultado negativo para la producción del biopolímero (Pourramezan *et al.*, 2009).

- **Temperatura**

El parámetro de la temperatura es esencial para el cultivo, los cuales deben situarse entre los 28 y 30°C, destacando que el resultado óptimo se obtiene con una temperatura cercana a los 30°C (Pourramezan *et al.*, 2009).

4.8.5 TÉCNICAS DE CULTIVO

Existen dos técnicas de fermentación para que se pueda originar la celulosa microbiana, cultivo estático y cultivo agitado. Estos permiten obtener distintas morfologías del polímero (Carreño *et al.*, 2012).

4.8.5.1 CULTIVO ESTÁTICO

Este tipo de cultivo hace que se forme una película sobre la superficie. Para poder ejecutarlo, se requiere de matraces Erlenmeyer, frascos Roux y bandejas (Czaja *et al.*, 2006).

Santos de Dios (2015) establece en su tesis de investigación, que en un medio de cultivo estático, el microorganismo comienza a aumentar su población para poder producir celulosa, consumiendo el oxígeno que se encuentra en este medio de cultivo. La fermentación va logrando el aumento de la membrana, mediante un enlazamiento entre las capas de la celulosa microbiana.

A medida que el oxígeno se hace insuficiente, las bacterias que se encuentran en la interfase aire/medio, son capaces de mantener constante su actividad de producir celulosa, por otro lado, las bacterias que permanecen en la fase líquida, se encuentran en un estado diferente (letargo), pero se pueden reactivar, y pueden volver a ser utilizadas como inóculo en otra fermentación (Santos de Dios, 2015).

Sin embargo, Santos de Dios (2015), además estableció los inconvenientes que puede conllevar este tipo de cultivo, por ejemplo, los tiempos que se requieren para la fermentación son muy extensos, y además se requiere de una amplia superficie. Debido a esto, su producción a gran escala se convierte en un impedimento.

Este medio de cultivo involucra aspectos positivos para su estudio, ya que pueden comprometer membranas y da el paso para el estudio en las aplicaciones médicas (Czaja *et al.*, 2006; Chawla *et al.*, 2009).

La película que se origina en este tipo de cultivo, se ve afectada por la relación entre el área y volumen. El área se relaciona con el aumento del espesor de la capa. En el caso de que el oxígeno disuelto disminuya, la producción de la celulosa microbiana será inhibida (Huang *et al.*, 2014).

Este método de cultivo se puede llevar a cabo de dos maneras o etapas:

- En un paso, el medio se debe inocular y luego se cultiva estáticamente por los días establecidos (Huang *et al.*, 2014).

- Antes del cultivo estático, se obtienen cepas con crecimiento masivo y de alta vitalidad a través de un cultivo con incubación aerobia. Este proceso hará que aumente el rendimiento de celulosa y el ciclo de fermentación será menor (Huang *et al.*, 2014).

4.8.5.2 CULTIVO AGITADO

Las fermentaciones que ocurren en este medio de cultivo pueden alcanzar una mayor producción en comparación con el cultivo estático. Puede originar pellets de celulosa, o bien, hacinamientos amorfos de la fibra, dependiendo del tipo de reactor que se pueda utilizar (Santos de Dios, 2015).

La producción de celulosa microbiana irá en aumento con la producción de los sustratos que son requeridos para el medio de cultivo y el oxígeno, ya que un aumento excesivo de este, produce la disminución del sustrato por la oxidación, y por ende disminuye la productividad en sí (Santos de Dios, 2015).

Los cultivos agitados se pueden llevar a cabo en lotes o continuos, con el uso de reactores de tanque agitado o "airlift". Los inconvenientes que surgen con el primer reactor de tanque es la enorme energía que se requiere para poder mantener una mezcla homogénea o constante (Santos de Dios, 2015).

En cultivos agitados la CB se presenta como filamentos, flóculos estrellados irregulares o bultos en el caldo de fermentación, pero debido a la aglomeración de celulosa la bacteria no es capaz de producir en un cultivo bajo agitación y aireación pues resulta en una declinación de la producción final de celulosa. Bajo este contexto se busca mejorar el rendimiento de la producción de celulosa, varios tipos de reactores han sido probados en un intento de reducir el estrés en las células bacterianas y aumentar la tasa de transferencia de oxígeno (Huang *et al.*, 2014).

En un fermentador con agitación mecánica, se ha reportado que en este tipo de reactores con impeler se obtiene un micro filamento mucoso, en reactores de 50 litros con gas de circulación, se ha encontrado que se puede obtener 3.8 g/L en 67 h de fermentación,

que es el doble que en el cultivo agitado por impeler, aquí la celulosa bacteriana se presenta como micelas ovaladas individuales, y si el aire es enriquecido, la producción se duplica (Huang *et al.*, 2014).

En este tipo de cultivo se toma en cuenta el ajuste de parámetros tales como la velocidad de agitación, velocidad de transferencia de oxígeno, el número inicial de células viables, pH, la temperatura, estrés bacteriano, el volumen y el diseño del reactor. Actualmente se sigue en la búsqueda de un tipo de reactor que pueda brindar las ventajas necesarias para una producción mayor. El desarrollo de reactores a gran escala para pellets resulta ventajoso económicamente si se requiere de grandes cantidades de celulosa como en la industria textil (Dufresne *et al.*, 2013).

4.8.6 APLICACIONES DE LA CELULOSA MICROBIANA

La celulosa es un biopolímero flexible con capacidad de no fracturarse durante los procesos que requieren de alguna alteración adicional (Arévalo *et al.*, 2016).

Tanto la celulosa como los materiales que son elaborados por esta, pueden ser utilizados en distintas aplicaciones, algunos ejemplos se mencionan a continuación (Arévalo *et al.*, 2016).

4.8.6.1 APLICACIÓN MÉDICA

El uso de la celulosa microbiana en la rama de la medicina y veterinaria son amplios (Keshk, 2014), algunos ejemplos son: fabricación de piel artificial en terapias de quemaduras y úlceras, componente en los implantes dentales, aplicaciones clínicas como la creación de órganos, vasos sanguíneos, además del uso como pabellón auricular (Chávez *et al.*, 2004; Arteaga, 2014).

El vendaje de las heridas, la incorporación como piel artificial y la prótesis vascular como plataforma de ingeniería de tejidos, son otros ejemplos de lo que se puede obtener de la celulosa microbiana, debido a su capacidad para fijarse con agua, alta resistencia a la

tracción, buena resistencia mecánica, bio-afinidad, biocompatibilidad, adaptabilidad biológica, y finalmente, sin reacciones alérgicas (Huang *et al.*, 2013).

4.8.6.2 TERAPIA DE LA PIEL

La membrana que posee la celulosa microbiana, presenta ciertas características que la hacen útil en el área de la medicina, específicamente como terapia de piel se destacan las siguientes características: en estado húmedo puede tener una alta resistencia mecánica, permeabilidad de líquidos y gases; las moléculas de gelatina pueden penetrar sin problemas a través de las nanofibras individuales que forman parte de la celulosa microbiana. Por lo tanto, el biopolímero puede ser utilizado como una piel artificial (vendaje de heridas) y además, para el revestimiento temporal de las heridas (Keshk, 2014).

4.8.6.3 INDUSTRIA DE PAPEL

Existen estudios con respecto al uso de celulosa microbiana como base de aglutinante en papel. Sus microfibrillas ayudan en la resistencia y la dureza que puede presentar el papel (Keshk, 2014).

Por otro lado, se ha realizado un estudio diferente, llevado a cabo por investigadores de la Universidad de Tianjin de la Ciencia y la Tecnología, y la Universidad de Shanxi de Ciencia y Tecnología, los cuales realizaron el cultivo estático con distintos tratamientos, utilizando hidrólisis ácida y alcalina, tratamiento ultrasónico, una pieza seca de la maquinaria de trituración y un homogeneizado de alta velocidad, con el fin de poder activar la producción de la celulosa microbiana. Además, encontraron que la celulosa microbiana se puede agregar a otros materiales, y de esta manera, poder obtener distintas membranas, telas no tejidas, y papeles (Huang *et al.*, 2013).

4.8.6.4 INDUSTRIA ALIMENTARIA

Durante el año 1992, en Japón, se originó un nuevo hábito tras la inyección de la celulosa microbiana en las bebidas de dieta (Keshk, 2014).

Actualmente, el biopolímero es utilizado como un recurso de alimento, y las investigaciones reportan el uso en algunas fabricaciones de embutidos fermentados, yogurt, e incluso helado, debido a su capacidad de unión y estabilidad con el agua (Huang *et al.*, 2013).

Al mismo tiempo, la celulosa microbiana presenta las características de ser insípido e inodoro, es capaz de incrementar el periodo de almacenamiento de los alimentos, y por ende, sus estudios pueden abarcar los productos horneados, participando como un componente activo (Huang *et al.*, 2013, Arteaga, 2014).

4.9 EVALUACIÓN ECONÓMICA

Los productos obtenidos en la industria de celulosa y papel, específicamente en la producción de celulosa, existe un elemento que puede ser adquirido durante el proceso con el fin de generar papeles (Luraschi, 2007).

Para que la celulosa pueda formar parte de los commodity, presenta una característica que es de gran envergadura; las sólidas oscilaciones de precios. Esto conlleva, durante la exportación de los productos, los que sean de origen papelerero con un valor agregado mayor, serán menos significativos y tendrán limitaciones hacia los mercados del cono sur latinoamericano (Luraschi, 2007).

Por otro lado, la cadena productiva que se basa en los productos de origen maderero, se caracterizan por la evaluación en la producción y exportación de los productos que no sean elaborados completamente, como por ejemplo, tableros y chapas. Estos productos semielaborados, son los que han representado un aumento significativo en las exportaciones de los productos con un valor agregado superior (Luraschi, 2007).

En la *Figura 13* y *Figura 14* se muestran los flujos de monto de los principales productos que son exportados, cuya finalidad es analizar la relación que puede existir entre ellos.

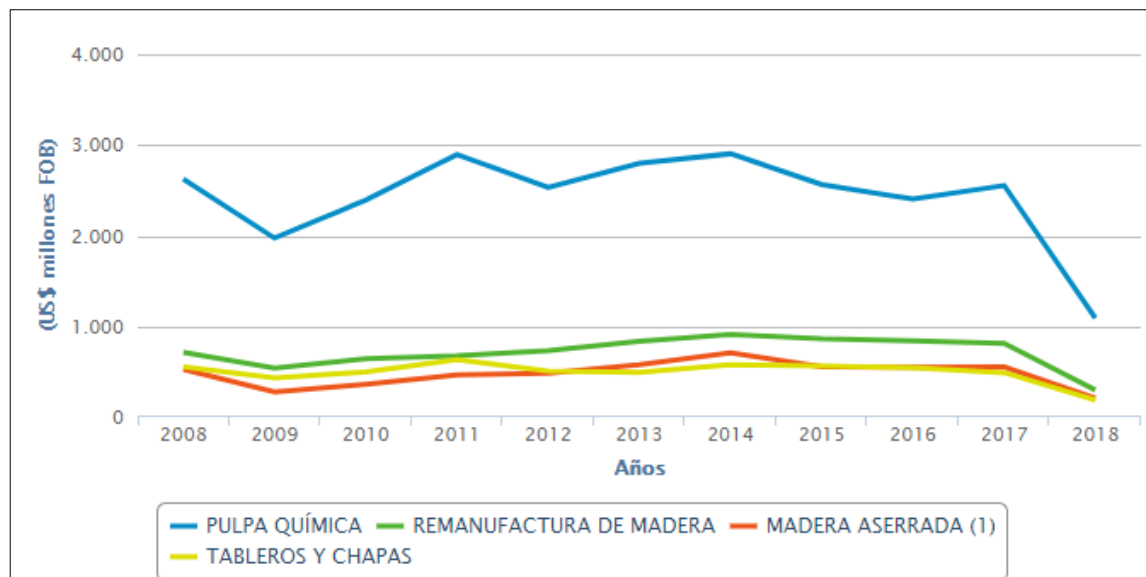


Figura 13: Monto exportado según productos. Fuente: INFOR, 2018.

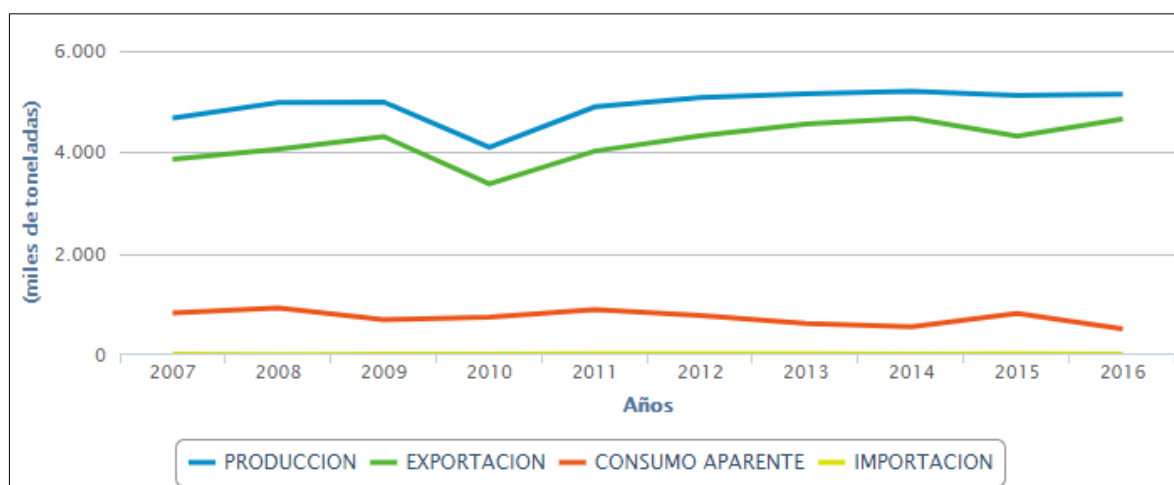


Figura 14: Producción, comercio y consumo aparente de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.

La industria de la celulosa se encuentra ligada a la economía de gran escala, comenzando con una inversión inicial en los activos fijos, y contando con la base de los suministros de la materia prima (Luraschi, 2007).

La construcción de estas industrias con un potencial superior, requieren de tecnología avanzada (Luraschi, 2007). En los últimos años, la exportación de los principales productos, se concentran principalmente en China, Estados Unidos, Japón y Corea del Sur, destacando a China como el país que refleja el mayor potencial para exportar (INFOR, 2018) (Ver Figura 15).

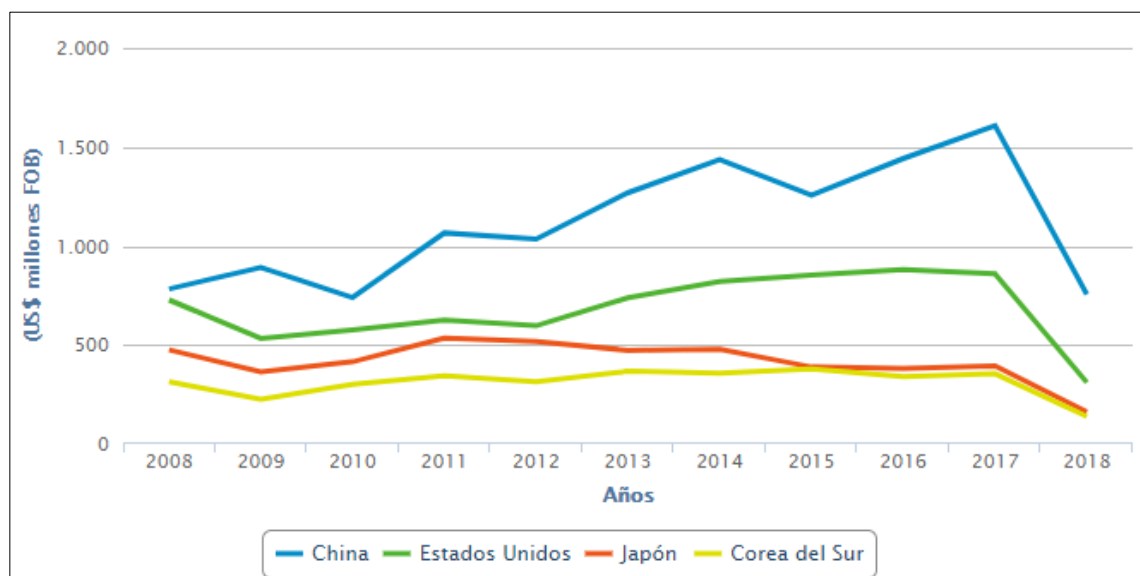


Figura 15: Monto exportado según principales países de destino. Fuente: INFOR, 2018.

De esta manera, también es posible analizar la producción de celulosa desde el punto de vista geográfico, y dependiendo de las ventajas que se presentan respecto al crecimiento de las plantaciones. Los países asiáticos son los que han mostrado una mayor producción en la velocidad del crecimiento (Luraschi, 2007) (Ver Figura 16).

Los países industrializados son los que presentan una mayor demanda, quedando en evidencia que la disponibilidad de materia prima (rollizos) es la base para la producción de celulosa (Luraschi, 2007).

Actualmente, las plantaciones de eucalipto son las que muestran una perspectiva de vida mejor en el desarrollo del mercado de la fibra corta. Debido a esto, la producción de celulosa de fibra corta, aumentará en comparación con la producción de fibra larga (INFOR, 2018).

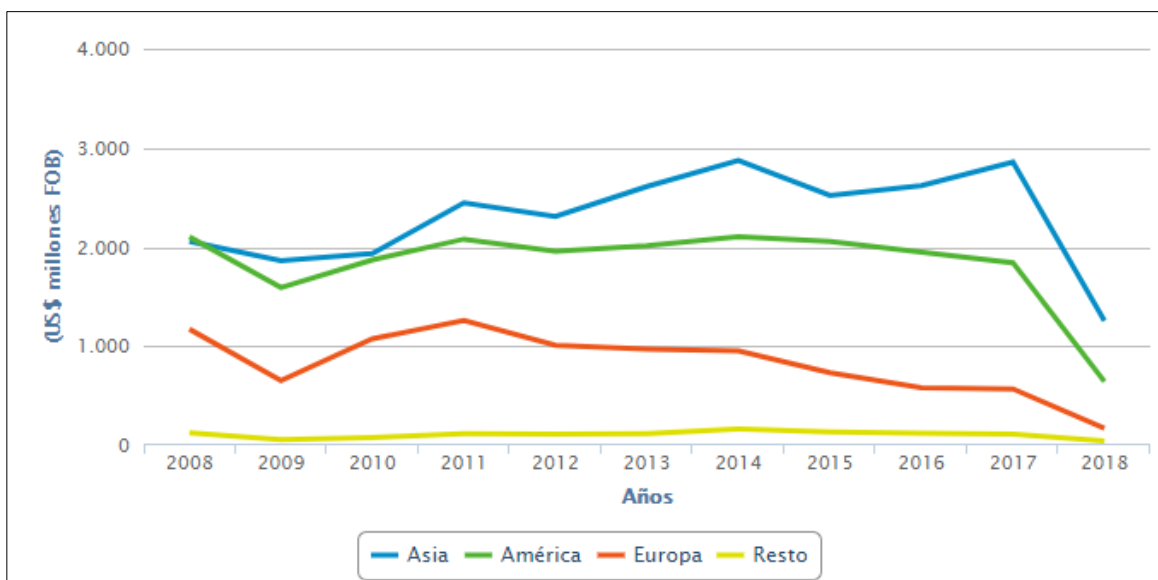


Figura 16: Monto exportado por principales zonas geográficas. Fuente: INFOR, 2018.

Chile forma parte importante en el mercado de la producción de la celulosa, ocupando el cuarto lugar entre los proveedores de la celulosa posterior a Brasil, Estados Unidos y Canadá. Además, se caracteriza por ofrecer los costos de producción más bajos (Luraschi, 2007).

Actualmente, la producción de la celulosa química en Chile es la más utilizada (*Figura 17* y *Figura 18*), siendo el negocio más importante dentro de la industria forestal (Luraschi, 2007; INFOR, 2018).

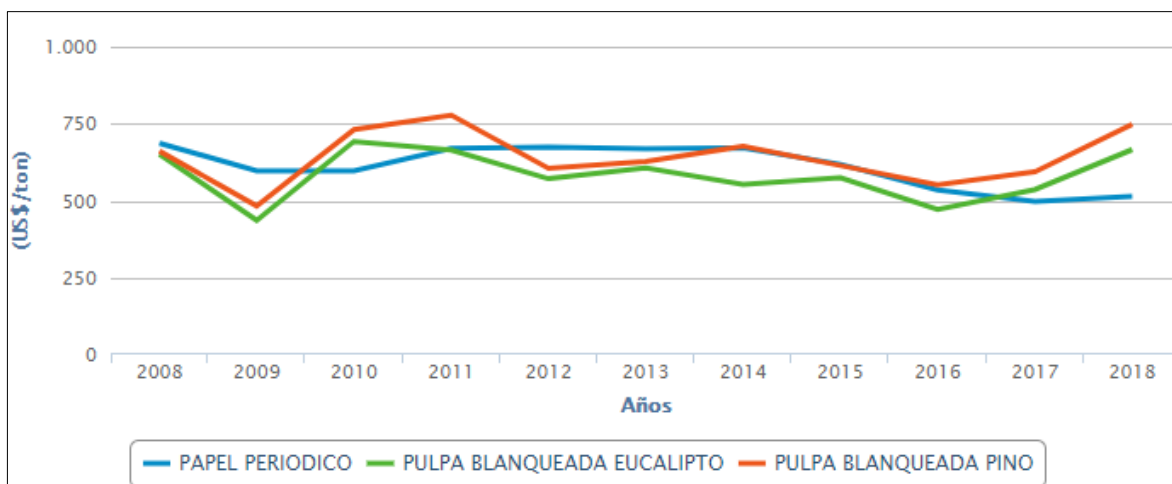


Figura 17: Precios nominales, exportación de pulpa y papel periódico. Fuente: INFOR, 2018.

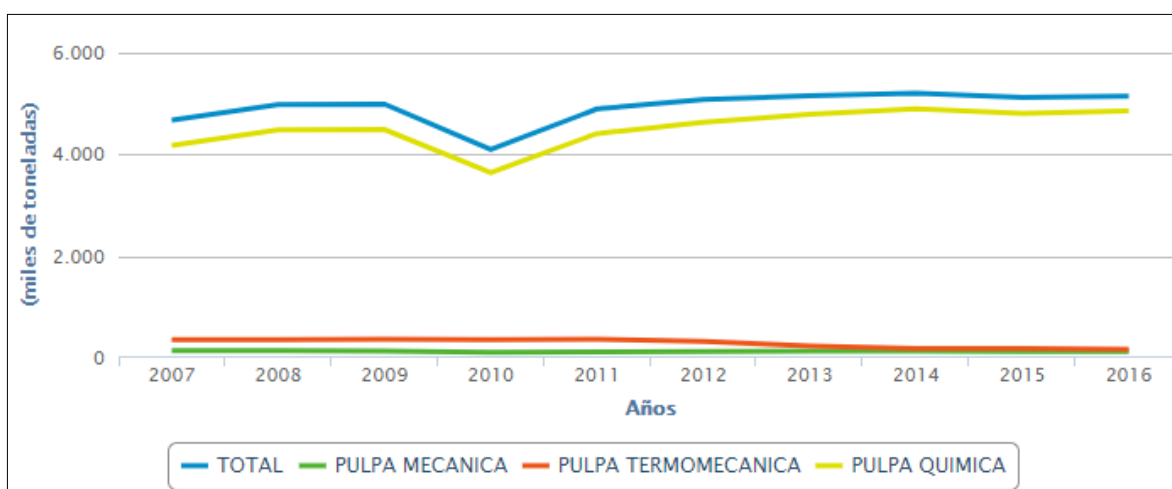


Figura 18: Producción de celulosa. Fuente: INFOR, 2018.

En Chile, la diversidad de productos que se originan por la industria de celulosa, se debe a las continuas inversiones que se van desarrollando en el sector industrial. El precio de la celulosa varía, y se determina con los inventarios existentes, y las estimaciones que se realizan a la demanda del producto (ARAUCO, 2016).

5 METODOLOGÍA

A continuación, se detallan las etapas que se llevaron a cabo, con el fin de dar cumplimiento a cada uno de los objetivos específicos.

5.1 SELECCIÓN DE CEPA MICROBIANA

La selección del microorganismo a utilizar se realizó a través de una matriz de selección establecida por revisión bibliográfica, donde se analizaron los siguientes parámetros:

- Requerimientos nutricionales.
- Condiciones físicas de crecimiento.
- Disponibilidad.
- Productividad de celulosa microbiana.

Por medio de la *Tabla 4* se analizó el cumplimiento de cada uno de los parámetros mencionados, seleccionando el microorganismo que obtenga el mayor puntaje.

Tabla 4: Valor de caracteres de la matriz de selección.

Caracteres	Valor
Cumple 100%	2
Cumple 50%	1
No Cumple	0

5.2 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE CRECIMIENTO

Por medio de revisión bibliográfica, se estandarizaron las condiciones de crecimiento (temperatura, agitación, medio de cultivo, método de producción) para la producción de celulosa microbiana.

5.3 SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CELULOSA MICROBIANA

Por revisión bibliográfica se establece un sistema de producción de celulosa microbiana, los cuales incluyen al menos: producción de inóculo, fermentación y purificación de la celulosa. En cada una de las etapas se estableció el tiempo de cada uno de los instrumentos a utilizar con su respectiva capacidad volumétrica, con el objetivo de recurrir a estos datos para el análisis técnico económico del proyecto.

5.4 COSTOS DE INVERSIÓN

5.4.1 CELULOSA VEGETAL A ESCALA INDUSTRIAL

Para determinar los costos de inversión asociados a la producción de celulosa microbiana, se evaluó económicamente los equipos, instrumentos y reactivos que son utilizados para la producción de esta.

Se comenzó tomando como base de cálculo, el trabajo de tesis de Guinea (2015), con el fin de poder determinar los principales gastos, inversiones e ingresos asociados para la producción.

Se diferenciaron los costos directos e indirectos para determinar el costo total de los equipos comprados, y el costo total de la planta física.

Por medio de la *Tabla 5* se pudo obtener los resultados para los costos asociados, seleccionando el proceso al cual hace referencia esta investigación (Coulson *et al.*, 2005).

Tabla 5: Factores típicos para costo fijo. Fuente: Coulson et al., 2005.

Elementos	Procesos		
	Fluidos	Fluido- sólido	Sólido
1. Factores de equipos comprados			
f1 Equipo de construcción	0,4	0,45	0,5
f2 Tubería	0,7	0,45	0,2
f3 Instrumentación	0,2	0,15	0,1
f4 Instalaciones eléctricas	0,1	0,1	0,1
f5 Edificios y procesos	0,15	0,1	0,05
f6 Servicios	0,5	0,45	0,25
f7 Almacenes	0,15	0,2	0,25
f8 Desarrollo de terreno	0,05	0,05	0,05
f9 Edificios auxiliares	0,15	0,2	0,3
2. Factores de planta física			
CPF= CEC*(1+f1+...+f9)			
f10 Diseño e ingeniería	0,3	0,25	0,1
f11 Honorarios de contratistas	0,05	0,05	0,05
f12 Asignación de contingencias	0,1	0,1	0,1
Costo Fijo= CPF*(1+f10+f11+f12)			

5.4.1.1 COSTOS DE PRODUCCIÓN ANUAL

El costo total anual de producción, se determinó con el análisis de los gastos variables y gastos fijos (Tabla 6). Si bien todos los porcentajes se encuentran asociados a cada uno de los gastos, no es así en el caso de los gastos de la materia prima utilizada y de los servicios de la planta que se podían requerir. Por lo tanto, los gastos de materia prima se determinaron según los reactivos que se necesitaban anualmente (Tabla 22).

Tabla 6: Valores típicos para gastos variables y fijos. Fuente: Coulson et al., 2005.

Elementos	Valores Típicos
Gastos Variables (A)	
Materias primas	<i>Tabla 22</i>
Materias diversas	10% del costo de mantenimiento
Servicios generales	<i>Tabla 26</i>
Envío y embalaje	Transporte de bacteria
Gastos Fijos (B)	
Mantenimiento	10% del costo fijo
Mano de obra	Salario de operadores
Costos de laboratorio	22% del costo de mano de obra
Supervisión	20% del costo de mano de obra
Gastos generales de planta	50% del costo de mano de obra
Gastos financieros (Intereses)	10% del costo fijo
Seguro	1% del costo fijo
Impuestos locales	2% del costo fijo
COSTO TOTAL ANUAL DE PRODUCCIÓN =	Gastos Variables (A)+ Gastos Fijos (B)

En el caso del destilador, se realizó un análisis de equivalencias con respecto al llenado de un matraz de 1500 mL, y se tomó el tiempo que se demoraba en este proceso, tanto para el agua residual como para el agua purificada. De esta manera se determinó la cantidad de agua gastada por Batch en 4 litros útiles de reactor.

5.4.1.2 SERVICIOS GENERALES

Los costos asociados a los servicios generales se determinaron de la siguiente manera:

- Costo de electricidad: dependiendo del tiempo y de los kW consumidos por cada equipo requerido en el laboratorio, el valor de los kW se obtuvo por medio de un medidor de corriente eléctrica (PR10 POWER RECORDER).
- Costo de agua: se determinó de acuerdo a lo consumido semanalmente por el operador de la planta física y el costo actual que tiene el agua por litro.
- Costo de oxígeno: se propuso el mismo procedimiento empleado por Guinea (2015), es decir, este correspondió al 10% de la suma del costo de electricidad y el costo del agua.

5.4.1.3 INGRESOS

A través de la producción anual de celulosa (valor conocido) y el costo total anual de producción de esta, se determinó el costo de producción por kg de celulosa al año. Por lo tanto el costo mínimo de venta de la celulosa microbiana se pudo determinar de acuerdo a la multiplicación de estos valores.

5.4.2 CELULOSA MICROBIANA A ESCALA DE LABORATORIO

Para determinar los costos de inversión asociados a una producción de celulosa microbiana a escala de laboratorio, se realizaron modificaciones y/o disminución de costos, de los cuales, algunos fueron tomados en cuenta para considerar un análisis de costos a pequeña escala.

En la *Tabla 7* se muestran las modificaciones que se realizaron en base a los factores de Coulson y colaboradores (2005). Los factores que se encuentran señalados al costado derecho son los modificados, tomando en cuenta que los equipos de construcción y el volumen utilizado, no son los mismos que se utilizan para una escala industrial de producción.

Tabla 7: Factores utilizados a escala de laboratorio. Fuente Coulson et al., 2005.

Elementos	Procesos		
	Fluidos	Fluido- sólido	Sólido
1. Factores de equipos comprados			
f1 Equipo de construcción	0,4	0,2 *	0,5
f2 Tubería	0,7	0,2 *	0,2
f3 Instrumentación	0,2	0,15	0,1
f4 Instalaciones eléctricas	0,1	0,1	0,1
f5 Edificios y procesos	0,15	0,1	0,05
f6 Servicios	0,5	0,2 *	0,25
f7 Almacenes	0,15	0,2 *	0,25
f8 Desarrollo de terreno	0,05	- *	0,05
f9 Edificios auxiliares	0,15	- *	0,3
2. Factores de planta física			
CPF= CEC*(1+f1+...+f9)			
f10 Diseño e ingeniería	0,3	0,15	0,1
f11 Honorarios de contratistas	0,05	0,05	0,05
f12 Asignación de contingencias	0,1	0,1	0,1
Capital fijo= CPF*(1+f10+f11+f12)			

*: Valores modificados para trabajar a escala de laboratorio.

5.4.2.1 COSTOS DE PRODUCCIÓN

El costo total anual de producción, se determinó de la misma manera que fue presentada en el *Capítulo 5.4.1.1*, pero con las modificaciones de la *Tabla 7*, cuyos valores finales son señalados en *Tabla 8*.

Tabla 8: Gastos fijos y variables ajustados para una escala de laboratorio. Fuente: Coulson et al., 2005.

Elementos	Valores Típicos
Gastos Variables (A)	
Materias primas	Reactivos
Materias diversas	3% del costo de mantenimiento
Servicios generales	Oxígeno/Electricidad/Agua
Envío y embalaje	Transporte de bacteria
Gastos Fijos (B)	
Mantenimiento	5% del costo fijo
Mano de obra	Salario de operadores
Costos de laboratorio	10% del costo de mano de obra
Supervisión	10% del costo de mano de obra
Gastos generales de planta	30% del costo de mano de obra
Gastos financieros (Intereses)	5% del costo fijo
Seguro	1% del costo fijo
Impuestos locales	1% del costo fijo
COSTO TOTAL ANUAL DE PRODUCCIÓN =	Gastos Variables (A)+ Gastos Fijos (B)

5.4.2.2 SERVICIOS GENERALES

Dentro de los servicios generales, se realizaron los siguientes cambios:

- Oxígeno: se calculó con un 5% de la suma de los servicios de electricidad y del consumo de agua.
- Electricidad: se disminuyó el consumo del biorreactor en un 30%, considerando que su estado de funcionamiento no será constante. También se disminuyó en un 50% el funcionamiento del destilador. Finalmente, para el autoclave se modificó en un 30% menos para su funcionamiento.

5.4.2.3 INGRESOS

Los cálculos se realizaron en base a los nuevos resultados obtenidos de las modificaciones y/o disminución de los costos elevados, manteniendo fija la producción anual de celulosa de 0,6 kg al año aproximadamente. El valor final se determinó de la misma manera que se aplica en el *Capítulo 5.4.1.3*.

6 RESULTADOS

6.1 SELECCIÓN DE CEPA

De acuerdo a la información analizada en el *Capítulo 4.8.2*, se completó la *Tabla 9*, en la cual se observa que el mayor puntaje obtenido corresponde al microorganismo *Gluconacetobacter xylinus*.

Tabla 9: Parámetros de los microorganismos evaluados.

Parámetros	Microorganismo				
	<i>G. xylinus</i>	<i>G. hansenii</i>	<i>G. diazotrophicus</i>	<i>G. liquefaciens</i>	<i>G. medillensis</i>
Disponibilidad de requerimientos nutricionales	2	1	1	<i>nd</i>	2
Condiciones físicas de crecimiento	2	2	2	2	2
Disponibilidad del medio de cultivo	2	1	1	<i>nd</i>	2
Productividad de celulosa microbiana	2	1	0	<i>nd</i>	1
Valor total	8	5	4	2	7

6.2 SELECCIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

6.2.1 MEDIO DE CULTIVO

A través de revisión bibliográfica se seleccionó el medio de cultivo agitado (cultivo sumergido) y mediante un análisis de datos se obtuvo que la mayor producción que se generaba en una menor cantidad de tiempo era el cultivo agitado. En el *Capítulo 4.8.4* se detallan las características necesarias para que pueda ocurrir la fermentación (aireación, agitación), a una temperatura adecuada de 30°C y con un pH de 6.

Las concentraciones necesarias para este medio de cultivo son las señaladas por el medio de Hestrin y Schramm (*Tabla 10*).

Tabla 10: Concentraciones de reactivos por el medio de H-S. Fuente: Quintana, 2015.

Medio Hestrin- Schramm		
Reactivo	Concentración [%]	Concentración [g/L]
Glucosa	2	20
Peptona	0,5	5
Extracto de levadura	0,5	5
Fosfato disódico	0,27	2,7
Ácido cítrico	0,115	1,15
Agua destilada	97	970

6.2.2 FUENTES DE CARBONO Y NITRÓGENO

La selección de las fuentes de carbono y nitrógeno, se basó en revisión bibliográfica (*Capítulo 4.8.4.2*). Por lo tanto, las fuentes que producían una mayor cantidad de celulosa, son la glucosa y extracto de levadura, respectivamente.

6.3 SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CELULOSA MICROBIANA

6.3.1 ESQUEMA DE PRODUCCIÓN CELULOSA MICROBIANA

En la *Figura 19*, se muestra un esquema para llevar a cabo la producción de celulosa microbiana. Se determina la producción de celulosa en un año, con el trabajo continuo de 50 semanas, ya que 2 semanas se tomarán en consideración para la limpieza y la mantención de esta.

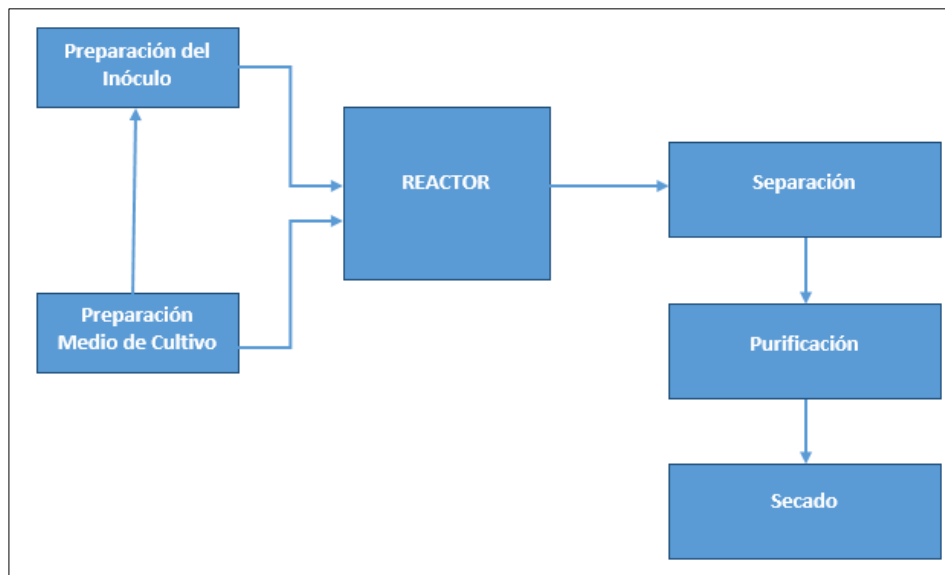


Figura 19: Esquema general de la producción de celulosa microbiana.

6.3.2 PRODUCTIVIDAD

Una vez analizada la situación anterior, por medio de revisión bibliográfica se seleccionó el trabajo de Quintana (2015) como base para la evaluación económica, por ende, la selección se basó en el mejor rendimiento de productividad de celulosa microbiana (*Tabla 11*).

Tabla 11: Productividad de celulosa microbiana según diferentes autores.

Medio de cultivo	Productividad [g/L/d]	Autor
Medio Complejo	0,1783	García, 2017.
Medio Complejo	0,276	Ruka <i>et al.</i> , 2012.
Medio Complejo	0,46	Quintana, 2015.

6.3.2.1 BIORREACTOR

Para llevar a cabo la fermentación del microorganismo, se dispuso de un biorreactor, cuyas principales características se señalan en la *Tabla 12*. Los datos entregados serán utilizados para la evaluación económica.

Tabla 12: Principales características del biorreactor.

Características del Biorreactor	
Capacidad volumétrica útil	4 L
Cantidad empleada del medio de cultivo (H-S)	3,6 L
Agitación	100 rpm
Aireación	1 vvm
Modelo/ Marca	INFORS HT

6.3.2.2 ESTERILIZACIÓN

La esterilización tanto del medio de cultivo como del inóculo se evalúa por medio de un AUTOCLAVE VERTICAL, cuyas principales características se detallan en la *Tabla 13*.

Tabla 13: Principales características del Autoclave.

Características del Autoclave	
Parámetros	Valores asignados
Capacidad	150 L
Consumo energético	6,0 kW
Tiempo de uso	0-999 min
Modelo/Marca	BKQ-B50(II)

Al finalizar la esterilización, tomando en cuenta se considera 1 hora con 30 minutos aproximadamente (*Tabla 14*), se da inicio al análisis de la producción de celulosa en un reactor, con un periodo de duración 6 días (Quintana, 2015).

Tabla 14: Principales características de la etapa de esterilización.

Esterilización	
Temperatura de esterilización	120 °C
Tiempo de esterilización	30 min
Tiempo de calentamiento del sistema	15 min
Tiempo de limpieza y descarga	60 min

El proceso de fermentación es evaluado por medio de una vía agitada, con el fin de poder obtener un mejor rendimiento entre la celulosa microbiana y el consumo de oxígeno. Además, este medio de cultivo hace que disminuya el tiempo en comparación con el medio estático.

6.3.2.3 PREPARACIÓN DE INÓCULO EN MATRAZ

El inóculo comienza su crecimiento en placa de Petri para que posteriormente se retiren las muestras y sean colocadas en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml para utilizar el medio de cultivo de Hestrin- Schramm (Quintana, 2015).

La preparación del inóculo corresponde al 10% de la capacidad volumétrica útil del biorreactor, por lo tanto, el volumen a utilizar del inóculo corresponde a 400 mL, mientras que el del medio de cultivo será de 3.600 mL.

En la *Tabla 15* se muestran las características para llevar a cabo la inoculación de la bacteria a nivel de matraz, mientras que la *Tabla 16* señala las características para llevar a cabo la inoculación en un biorreactor.

Tabla 15: Principales características de la inoculación en matraz.

Características de la inoculación en matraz	
Temperatura de incubación	30°C
Periodo de inoculación	30 días

Tabla 16: Principales características de la inoculación en biorreactor.

Características de la inoculación en el Biorreactor	
Tiempo de cultivo	168 h
Cantidad de toma de muestras	30 mL
Tiempo entre cada toma de muestra	24 h

6.3.2.4 SEPARACIÓN

Lo que sale del biorreactor (caldo de fermentación), incluye el medio de cultivo y el sólido, por ende, se debe someter a un proceso de filtración a través de un sistema de kitasato con capacidad de 1000 mL con el fin de poder separar la celulosa microbiana del medio de cultivo utilizado. En la *Tabla 17* se señalan las características que son necesarias en el sistema de kitasato.

Tabla 17: Características de la etapa de separación.

Etapa de separación	
Tiempo	30 min
Temperatura	23° C
Capacidad Volumétrica	1000 mL

6.3.2.5 PURIFICACIÓN

Por medio de un lavado con Hidróxido de Sodio se lleva a cabo la purificación de la celulosa microbiana, repitiendo 3 veces este procedimiento (Quintana, 2015). En la *Tabla 18* se muestra el detalle de esta etapa.

Tabla 18: Características de la etapa de purificación.

Etapa de Purificación	
Reactivo	NaOH
Temperatura	90°C
Tiempo de agitación	30 min
Concentración	0,5 M

6.3.2.6 SECADO

En esta etapa se requiere de una estufa de secado, la cual se utiliza a la misma temperatura con que trabajan las grandes industrias. En la *Tabla 19* se muestra el detalle de esta fase.

Tabla 19: Características de la etapa de secado.

Características de la etapa de secado	
Temperatura	105°C
Tiempo del secado de celulosa	24 h
Modelo/ Marca	LDO-150N

6.4 DIAGRAMA DE FLUJO

En la *Figura 20*, se muestra un resumen de todas las entradas y salidas de cada uno de los elementos involucrados para la producción de celulosa microbiana. Además, se destacan los flujos de materia con flechas negras y los flujos de energía con flechas rojas.

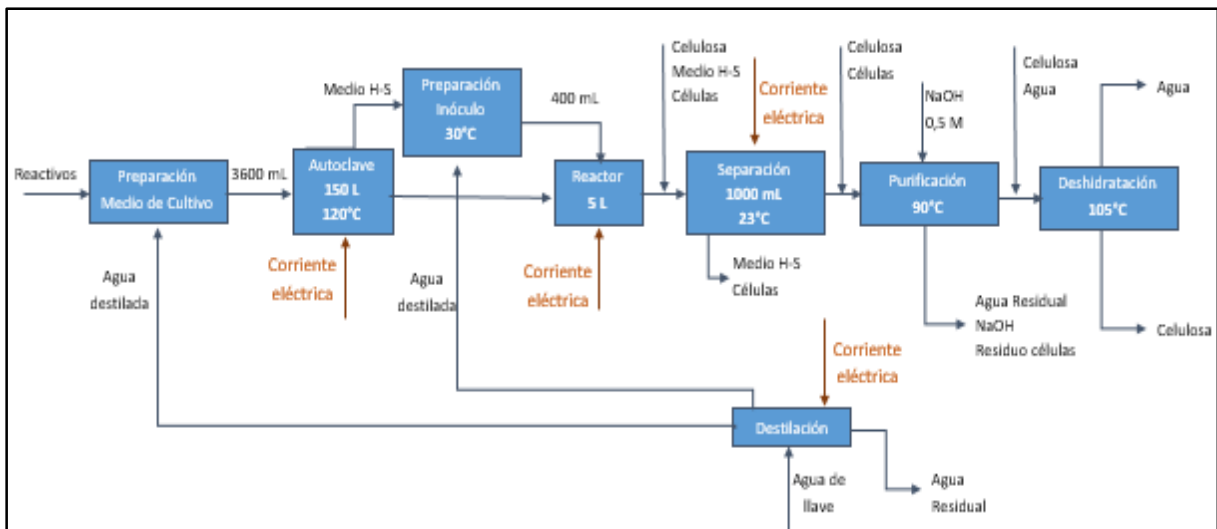


Figura 20: Diagrama de flujo para la producción de celulosa microbiana.

6.5 EVALUACIÓN DE COSTOS

Para llevar a cabo el análisis de los costos de inversión, se basó en el trabajo de titulación de Guinea (2015). De esta manera, se puede obtener una comparación de los costos utilizados y del volumen empleado para la producción de celulosa microbiana.

En la *Figura 21* se muestra la carta Gantt que es utilizada como base para la compra de materiales y reactivos (materia prima), además de facilitar el análisis del tiempo de cada operación para la producción de celulosa microbiana

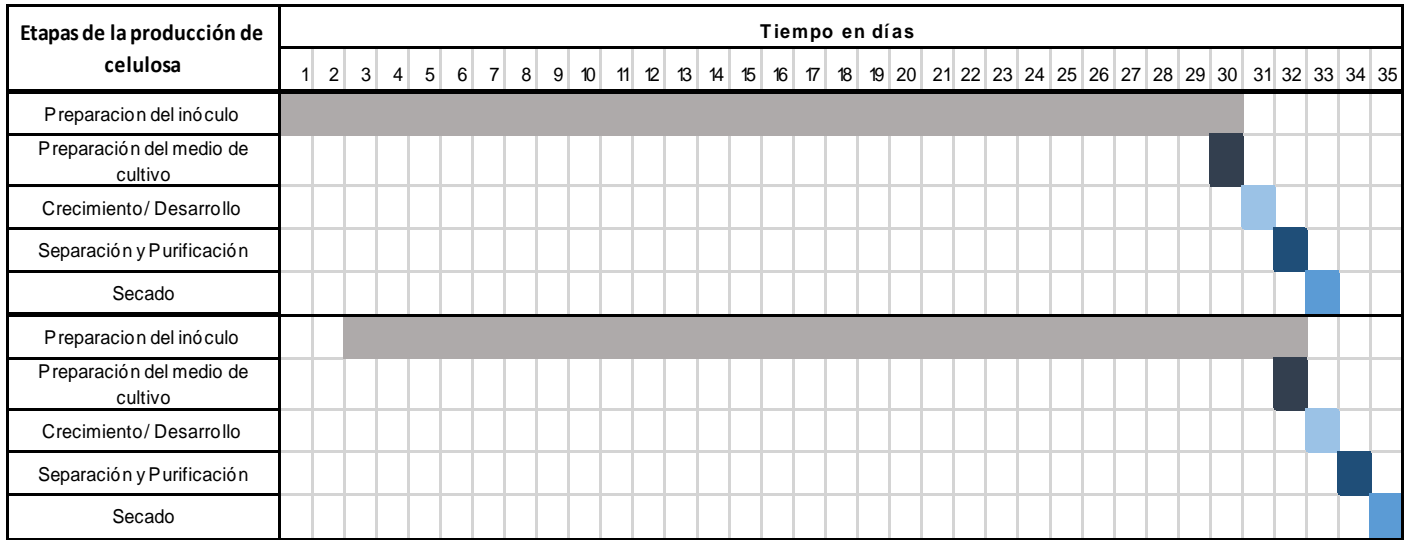


Figura 21: Calendario de actividades para la producción de celulosa.

A partir del día 34, comienza nuevamente el ciclo con el primer biorreactor utilizado, esto quiere decir que durante el primer mes se llevan a cabo 15 fermentaciones, por lo tanto en un año se realizarán 180 fermentaciones.

6.5.1 DETERMINACIÓN DE COSTOS

A continuación, en la Ecuación 1 se detalla la manera de obtener el costo del capital fijo por medio de los precios de los equipos de laboratorio que son requeridos para la producción.

$$Cf = fl * Ce \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde:

Cf = costo capital fijo.

Ce = total del costo de todos los componentes del equipamiento de la planta.

fl= el factor de Lang, el cual depende del tipo de proceso.

6.5.2 TIPOS DE COSTOS

6.5.2.1 COSTOS DIRECTOS

Los elementos que conforman el costo directo son los siguientes:

- Equipos principales.
- Tuberías, incluyendo aislamiento y pintura.
- Instalación eléctrica, potencia e iluminación.
- Instrumentos de sala de control y locales.
- Proceso de edificación y estructuras.
- Edificios auxiliares, oficinas, edificios de laboratorios y talleres.
- Almacén de materias primas y producto terminado.
- Utilidades (servicios), suministro de vapor, agua, aire, extinción de incendios.
- Terreno, preparación del sitio y mejoras.

Según la *Tabla 5* se determinó el factor total de los equipos comprados (fn), resultando un valor de 2,15.

6.5.2.2 COSTOS INDIRECTOS

A continuación se señalan los costos indirectos según Coulson y Richardson (2005), asociados a la producción de celulosa microbiana:

- Costos de diseño, ingeniería y supervisión.
- Honorarios del contratista.
- Contingencias.

Estos costos se encuentran considerados dentro del costo total de planta física (CPF), (*Tabla 5*).

6.5.3 EQUIPOS

En la *Tabla 20* y *Tabla 21* se señalan los equipos que requieren ser comprados para el análisis de esta evaluación económica. Se detalla además la cantidad que es requerida anualmente (Anexo 10.1).

Tabla 20: Valor de equipos con uso de corriente eléctrica.

Equipos con uso de corriente eléctrica	Cantidad requerida anual	Valor por cantidad requerida
Biorreactor MINIFORS 5L	2	\$ 42.126.000
Bomba de vacío Millivac Mini	1	\$ 892.000
Estufa LDO-150N	1	\$ 557.921
Destilador WD-2008F	1	\$ 1.162.721
Autoclave 150 L	1	\$ 3.830.300
Balanza analítica	1	\$ 3.212.619
Total		\$ 51.781.562

Tabla 21: Valor de equipos sin uso de corriente eléctrica.

Equipos y materiales sin corriente eléctrica	Cantidad requerida anual	Valor por cantidad requerida
Matraz Erlenmeyer 1000 mL	52	\$ 98.800
Placa de Petri 47 mm esterilizada	4	\$ 847
Kitasato de 1000 mL	1	\$ 15.351
Papel filtro grado 597*150mm	36	\$ 7.103
Embudo de büchner (90mm)	1	\$ 40.114
Total		\$ 162.215

La producción de celulosa microbiana en una planta piloto, corresponde a una planta de Fluido- sólido (*Tabla 5*), ya que la materia prima que se desea obtener se encuentra en estado sólido, y el medio en el que se trabaja la solución es líquido.

Por lo tanto, el costo total de equipos comprados corresponde a un valor de \$51.943.776. Una vez obtenido el costo total de los equipos comprados, se obtiene el costo aproximado de la planta física (Ecuación 2) cuyos factores típicos se encuentran detallados en la *Tabla 5*.

$$C_{pf} = C_{ec} * (1 + \sum fn) \quad \text{Ecuación 2}$$

$$C_{pf} = \$ 163.622.895$$

Con el valor determinado de la planta física, se determina el capital fijo (ecuación 3), con la guía de datos de la *Tabla 5*.

$$\text{Capital fijo} = CPF * (1 + f10 + f11 + f12) \quad \text{Ecuación 3}$$

$$\text{Capital fijo} = \$ 229.072.054$$

6.5.3.1 MATERIAS PRIMAS

Los valores de los reactivos (Materias primas) que son utilizados en el proceso de producción se muestran en la *Tabla 22*. En el Anexo 10.1, se encuentra el detalle de cada uno de los reactivos utilizados para la producción.

Cada reactivo (a excepción del agua), son notificados por la página oficial de Merckgroup, en la cual se entregan materiales de alta pureza.

La cantidad de agua destilada requerida por Batch, se detalla en la *Tabla 23*.

Se debe tener en cuenta, que finalmente el caudal gastado (L/h) corresponde al flujo de agua que existe en el sistema de producción.

Por otro lado, la cantidad del fosfato disódico se pudo obtener en litros, por lo tanto, se calculó el costo unitario por medio de su densidad (500 kg/m³).

Tabla 22: Valor de materias primas requeridas por Batch.

Materias primas/ Reactivos	Concentración requerida (g/L)	Cantidad requerida	Valor por cantidad requerida (CLP)	Costo anual (CLP)
Glucosa Anhidro	20	0,08 kg	\$ 715	\$ 128.739
Peptona de caseína	5	0,02 kg	\$ 3.019	\$ 543.481
Extracto de levadura granulado	5	0,02 kg	\$ 1.801	\$ 324.209
Fosfato disódico	2,7	0,0216 kg	\$ 281	\$ 50.532
Ácido cítrico monohidrato	1,15	0,0046 kg	\$ 56	\$ 10.065
Sodio hidróxido en solución	4,2	0,0168 kg	\$ 15	\$ 26.611
Agua destilada	-	92 L	\$ 67	\$ 12.117
<i>G. xylinus</i> (Donación)	-	-	-	-
			Total	\$ 1.095.755

Tabla 23: Cantidad de agua gastada por cada Batch.

Equipo: Destilador				
Agua Residual/ Purificada	Tiempo de llenado (s)	mL de llenado	Caudal gastado (mL/s)	Caudal gastado (L/h)
Agua residual	32,5	1500	46,2	166,2
Agua purificada	32,5	65	2,0	7,2
Agua gastada por Batch (L)				92,3

6.5.4 SERVICIOS GENERALES

Los servicios generales considerados para la producción de celulosa a escala industrial se detallan a continuación.

6.5.4.1 COSTO DE ELECTRICIDAD

En la *Tabla 24* se muestran los consumos de cada uno de los equipos que son requeridos. Obteniendo de esta manera el consumo anual para la producción (Anexo10.1).

Tabla 24: Consumo anual de cada equipo requerido.

Equipos	Potencia (kW)	Cantidad necesaria anual	Horas de funcionamiento semanal (h)	Consumo Anual (CLP)
Biorreactor MINIFORS 5L	3,53	2	288	\$ 6.557.328
Bomba de vacío Millivac Mini	0,41	1	73,5	\$ 194.371
Estufa LDO-150N	0,013	1	72	\$ 6.037
Destilador WD-2008F	6	1	1,5	\$ 58.050
Autoclave 150 L	6	1	3	\$ 116.100
Balanza analítica	0,0297	1	4,5	\$ 862
Iluminación (8h/d)	0,5	-	56	\$ 180.600
Total				\$ 7.113.348

6.5.4.2 CONSUMO DE AGUA

En la *Tabla 25* se señalan los datos requeridos para el cálculo de los costos totales de este servicio. Se toma en cuenta además, que el trabajo se realiza durante los 7 días de la semana.

Tabla 25: Costo total del consumo de agua por operario.

Consumo de agua por el operario	
Limpieza e higiene (L/día)	80
Consumo semanal (L)	560
Consumo anual (\$/año)	\$ 20.440
\$ Agua por litro	\$ 0,73

6.5.4.3 CONSUMO DE OXÍGENO

Para efectos prácticos, el costo del oxígeno corresponde a un 10% de la suma de los costos de electricidad y de agua. Por lo tanto, el valor es de \$ 713.379.

En la *Tabla 26* se muestran los valores totales obtenidos de los servicios generales requeridos.

Tabla 26: Servicios generales de la planta.

Servicios Generales	\$/Año
Costo de electricidad	\$ 7.113.348
Costo de agua	\$ 20.440
Costo de oxígeno	\$ 713.379
Total	\$ 7.847.167

6.5.5 COSTO ANUAL DE PRODUCCIÓN

Para que la planta pueda tener un funcionamiento adecuado para la producción de celulosa, se analizaron los gastos variables y fijos. En la *Tabla 27* se muestran los valores típicos y el costo total anual de producción.

Tabla 27: Costo total de producción anual.

Elementos	Valores Típicos	Costo anual (CLP)
Gastos Variables (A)		
Materias primas	<i>Tabla 20</i>	\$ 1.095.755
Materias diversas	10% del costo de mantenimiento	\$ 2.290.721
Servicios generales	<i>Tabla 24</i>	\$ 7.847.167
Envío y embalaje	Transporte de bacteria	\$ 140.000
Gastos Fijos (B)		
Mantenimiento	10% del costo fijo	\$ 22.907.205
Mano de obra	Salario de operadores	\$ 7.200.000
Costos de laboratorio	22% del costo de mano de obra	\$ 1.584.000
Supervisión	20% del costo de mano de obra	\$ 1.440.000
Gastos generales de planta	50% del costo de mano de obra	\$ 3.600.000
Gastos financieros (Intereses)	10% del costo fijo	\$ 22.907.205
Seguro	1% del costo fijo	\$ 2.290.721
Impuestos locales	2% del costo fijo	\$ 4.581.441
COSTO TOTAL ANUAL DE PRODUCCIÓN =	Gastos Variables (A)+ Gastos Fijos (B)	\$ 77.884.214

6.5.6 INGRESOS

En la *Tabla 28* y *Tabla 29* se registra la cantidad de Batch y la producción de celulosa, respectivamente, que es producida durante el año, tomando en cuenta las consideraciones señaladas en la *Tabla 30*. Además, según el calendario de actividades del *Capítulo 6.5*, se toma en cuenta de que cada dos días se lleva a cabo un Batch.

Una vez que obtenida la producción anual de celulosa, se procede a determinar el precio mínimo de venta de la celulosa al año, multiplicando el valor de la producción de celulosa por el costo de producción anual (*Tabla 31*).

Tabla 28: Cantidad de Batch al año.

Cantidad de Batch por Año (Batch/año)		
Tiempo	Días Laborales	Batch/Año
Año 1	320	160
Año 2,3,4 y 5	350	175

Tabla 29: Producción anual de celulosa microbiana.

Producción de CB anual		
Tiempo	Producción anual (g/L)	Producción anual (kg/año)
Año 1	589	0,589
Año 2,3,4 y 5	644	0,644

Tabla 30: Consideraciones generales de la producción de celulosa.

Producción (g/L)	0,46
Volumen Biorreactor (L) (2)	8
Semanas de limpieza y mantención	2
Días Laborales	351= 350
Tiempo perdido 1° año (días)	30

Tabla 31: Precio de venta mínimo de celulosa microbiana a escala industrial.

Variables	Año 1	Año 2, 3, 4, 5
Producción anual de CB (kg/año)	0,589	0,644
Costo de producción (\$/kg)	\$ 132.276.179	\$ 120.938.221
Ingreso unitario, precio de venta mínimo (\$/año)	\$ 77.884.214	\$ 77.884.214

6.5.7 ANÁLISIS DE AJUSTES A ESCALA DE LABORATORIO

Con los datos obtenidos de la inversión, ingresos y gastos, se procedió a realizar modificaciones en los costos más elevados, con el fin de que el costo anual de producción pueda disminuir. En la *Tabla 32* se muestra el resumen de los cambios en los valores más elevados.

Para más detalle, se puede revisar el Anexo 10.2 con las modificaciones realizadas para obtener el costo anual de producción. En el Anexo 10.3 se presentan los valores

modificados de los servicios generales. Finalmente, en el Anexo 10.4 se presentan los nuevos ingresos a escala de laboratorio.

Tabla 32: Resumen de variables modificadas para trabajar a escala de laboratorio.

Variables	Valores a escala industrial	Valores a escala de laboratorio
Consumo semanal Biorreactor	1016,6	304,9
Consumo semanal Destilador	9	4,5
Consumo semanal Autoclave	18	5,4
Capital de mano de obra	\$ 600.000	\$ 400.000
Costo de oxígeno	\$ 713.379	\$ 120.943
Costo anual de producción	\$ 77.884.214	\$ 28.475.244

7 DISCUSIÓN

La producción de celulosa por medio del microorganismo *Gluconacetobacter xylinus* puede variar de acuerdo a las condiciones externas, principalmente del medio de cultivo utilizado, ya que este depende del tiempo que se requiera para que se pueda producir la fermentación del microorganismo a escala de laboratorio.

7.1 SELECCIÓN DEL MICROORGANISMO

Una vez analizada la situación con respecto a los distintos microorganismos que eran capaces de producir celulosa microbiana, se pudo determinar dos cepas que eran potencialmente productoras de celulosa. Una de ellas fue la seleccionada para este trabajo, y la otra opción, correspondía a la cepa *Gluconacetobacter medillensis*.

La productividad que se podía generar por estos microorganismos fue considerada eficiente. Ambas utilizan el mismo medio de cultivo para desarrollarse, pero los estudios bases son realizados en *G. xylinus*.

El análisis realizado por Arteaga (2014) indicó resultados positivos para la productividad de celulosa por parte de la cepa *G. medillensis*. Pero para poder obtener dichos resultados, se debían realizar modificaciones a los distintos medios de cultivo. En consecuencia, esta especie no fue considerada, ya que la cepa debía producir celulosa de la manera más pura posible, sin alterar con modificaciones el medio de cultivo que se utilice. Por lo tanto, a pesar de que Arteaga (2014) obtuvo resultados de alta productividad, el nivel de pureza era inferior.

Este último criterio fue clave para la selección del microorganismo, ya que se pretende obtener una celulosa pura para hacer una diferencia en la disminución de los impactos ambientales generados por las grandes industrias.

7.2 SELECCIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

El medio H-S es la base para los estudios de producción de celulosa microbiana, y por lo tanto, fue la clave para seleccionar la fuente de carbono. De esta manera se evaluó el método más puro en que se puede obtener la celulosa, y por ende la glucosa como fuente de carbono fue la mejor opción.

Existen estudios basados en el consumo de otro tipo de sustrato, como por ejemplo la sacarosa y la melaza (Jaramillo *et al.*, 2012). Estas son utilizadas como fuente de carbono principalmente para producir celulosa como películas superficiales, cuyos resultados son eficientes para la producción de celulosa microbiana. Según Jaramillo (2012), también existe un factor limitante que es la interfase aire/película, ya que esto puede explicar la disminución de la síntesis de celulosa.

7.3 SISTEMA DE PRODUCTIVIDAD

Del análisis de selección de los distintos trabajos se pudo obtener la mayor productividad a escala de laboratorio. En relación a la selección del trabajo como base, se pudo considerar los tiempos que eran requeridos para cada etapa de producción de celulosa.

Si bien, los trabajos analizados producían a un volumen mayor, era necesario realizar un ajuste a la escala de producción, debido a que se contaba con un volumen fijo de 4 litros útiles, por lo tanto, si el volumen utilizado hubiese sido mayor, la producción de celulosa también debía ser mucho mayor por kilogramos al año.

7.4 ANÁLISIS DE COSTOS

Al evaluar los tiempos que eran requeridos, según Quintana (2015), fue necesario realizar modificaciones con el fin de optimizar los costos de consumo, equipos y de los reactivos.

Una de las ventajas que presenta este proyecto, corresponde a la optimización de mano de obra, ya que se consideró que el trabajo lo pudiese realizar una sola persona, pero a pesar de la reducción significativa en mano de obra, la cantidad de lotes (batch) que se producían mensualmente era muy elevada, y la productividad obtenida por Quintana (2015) era mínima. Por lo tanto, cada dos días se podía realizar un nuevo lote, esto quiere decir, que existe principalmente un aumento en los costos de los reactivos. Del mismo modo se observaba un aumento en el costo fijo y del costo de la planta física, de acuerdo a los factores de producción utilizados como base.

El volumen de producción que utilizó Quintana (2015) correspondía a 200 litros, es por esto que lograba producir una mayor cantidad de celulosa, ya que el volumen utilizado para la evaluación de costos en este trabajo fue sólo de 5 litros, con 4 litros útiles, y por lo tanto, los costos y la producción serían insostenibles para producir 0,6 kg al año.

Al realizar un análisis de costos entre lo que se produce a una escala industrial, sin modificar los valores entregados por Coulson *et al.*, (2005), y un análisis a los costos a escala de laboratorio, se obtuvo como resultados valores muy altos a pesar de realizar una disminución a los costos más elevados.

La modificación realizada a los factores de Coulson *et al.*, (2005), tuvo un resultado positivo y esperado, ya que el cambio de los costos de una producción a gran escala a una de menor escala, fueron necesarios para poder comparar los costos de la producción de celulosa microbiana. Para llevar a cabo la modificación de los factores básicos de producción, se consideró un cambio considerable en la escala de producción, por lo tanto, no se consideró locales extras para la producción, tampoco edificios ni procesos auxiliares,

entre otros. En sí, el costo de los equipos adquiridos, debía ser mucho menor en comparación con una escala industrial.

Con respecto a los servicios generales que son indispensables a una escala industrial, se presentan grandes diferencias al aplicar la disminución de costos, para llevarlo a una escala de producción de laboratorio. En el caso del biorreactor, la disminución del 30% es significativa para tomar en cuenta de que no estaría consumiendo constantemente los 6 kWh. Por otro lado, el costo semanal del destilador también fue significativo, ya que es 50% menor a nivel industrial que a nivel de laboratorio. Debido a esto, también para el oxígeno era necesario una modificación, disminuir el 10% de escala industrial a un 5% para trabajar a escala de laboratorio, ya que se debió considerar que el volumen utilizado para producir 0,6 kg al año es de 5 litros y con un volumen útil de 4 litros, mencionado anteriormente.

Se debió suponer, además, que no existiría costo alguno de envío ni de embalaje de la bacteria. Con el fin de poder disminuir el costo anual de producción, se supuso que fue donada por el laboratorio.

Finalmente, los valores obtenidos del costo anual de producción a escala de laboratorio disminuyeron significativamente, con el fin de poder realizar una comparación acorde a la producción obtenida de los 4 litros útiles del biorreactor utilizados en el proceso a un menor costo de producción y menor precio mínimo de venta de la celulosa microbiana.

A pesar de que el resultado esperado correspondiente a los 6 kilogramos al año fue a un costo de producción muy elevado, existe la posibilidad de que sea adquirida para tratamientos exclusivos dentro del área de la medicina, ya que puede entregar beneficios que no cualquier método o procedimiento clínico puede brindar.

8 CONCLUSIONES

La selección tanto del medio de cultivo como del microorganismo para este estudio se realizó en base a lo seleccionado exitosamente en otros trabajos de investigación. Obteniendo de esta manera la selección de la producción más elevada.

A pesar de que la cepa *Gluconacetobacter xylinus* es la más utilizada para los experimentos a escala de laboratorio, no es capaz de producir la cantidad necesaria de celulosa para poder comparar los costos de producción a gran escala. Sin embargo, cabe destacar que el resultado obtenido a escala de laboratorio, puede ser significativo si es que los costos, principalmente de materiales y reactivos puedan ser más accesibles para llevar a cabo dicha producción.

Se verificó que la producción de celulosa a partir de un microorganismo no es viable a escala de laboratorio, a pesar de realizar las modificaciones a escala industrial. Sin embargo, los resultados obtenidos indican que se debe seguir estudiando los cambios de los tipos de cepas más eficientes para la producción, con el fin de seguir mejorando económicamente a escala de laboratorio y así, disminuir posiblemente la contaminación que es generada por las grandes industrias, además de evitar el daño que es generado por la disminución de los bosques nativos en Chile, debido al reemplazo por las especies introducidas.

La diferencia que existe entre la producción de celulosa vegetal y microbiana abre paso para que siga el proceso de evaluación e investigación, ya que el precio de la celulosa tradicional aumenta anualmente.

Además, la cepa analizada en este trabajo de investigación es la base para estudios económicos y abre el paso para indagar sobre el tema y de esta manera mantener un estudio eficaz y trascendental con respecto a la alternativa de producción de celulosa, sin descartar que el uso y aplicación más importante corresponde al área médica.

9 BIBLIOGRAFÍA

Altesor A., Eguren G., Mazzeo N., Panario D & Rodríguez C. 2008. La industria de la celulosa y sus efectos: certezas e incertidumbres. Córdoba. Ecol.austral v.18 n.3.

AmCham Chile, 2006. La Industria de la Celulosa en Chile. Revista Business Chile. Reportajes. Cámara Chilena Norteamericana de Comercio.

Antúnez C., Mutje P., Pelach M., 2008. Libro: Panorama de la industria de celulosa y papel en Iberoamérica. 303- 401.

ARAUCO, 2016. Memoria Arauco. Sector Industrial. 276 p.

Arévalo Gallegos A., Herrera Carrera S., Parra R., Keshavarz T., and Iqbal, H., 2016. Bacterial Cellulose: A sustainable source to develop value-added products. "Bacterial cellulose," BioResources 11(2).

Arteaga Valencia L., 2014. Evaluación de residuos agroindustriales como sustrato para la producción de celulosa bacteriana empleando *Gluconacetobacter Medillensis*. Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Biotecnología. Universidad Pontificia Bolivariana. Escuela de Ingenierías. Medellín.

Barrera, 2018. Celulosa Chilena: Avances y perspectivas de su comercio exterior. Oficina de estudios y políticas agrarias.

Beltrán Arredondo L., 2013. Caracterización y estudio cinético de microorganismos productores de celulasas aislados del cultivo de maíz para su potencial aplicación en la producción de bioetanol. Tesis para obtener el grado de maestría en recursos naturales y medio ambiente. Instituto Politécnico Nacional. México. 26-27.

Carreño Pineda L., Caicedo Mesa L., y Martínez Riascos C., 2012. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. Ingeniería y Ciencia. Vol.8. N° 16. Medellín.

CONAMA, 1999. Orientaciones para la Evaluación de Impacto Ambiental. Industria de la madera. 13-20.

Coulson & Richardson's., 2005. Chemical Engineering, 6: 250- 270.

Costos de productos:<<https://www.merckgroup.com/en>>.

Covinich L., Area M., 2017. Panorama de la Industria de Celulosa y Papel y Materiales Lignocelulósicos 2016. Universidad Nacional de Misiones. 460 p.

Czaja W., Krystynowicz A., Bielecki S. and Brown Jr. R., 2006. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. Elsevier. Biomaterials 27: 145–151.

Chávez Pacheco J., Martínez Yee S., Contreras Zentella M., y Escamilla- Marván E., 2004. Celulosa bacteriana en gluconacetobacter xylinum: Biosíntesis y Aplicaciones. Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 7 (1): 18-25.

Chávez Sifontes M., y Domine M. 2013. Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. Avances en Ciencias e Ingeniería - ISSN: 0718-8706 Av. cien. ing.: 4(4), 15- 46.

Chawla P., Bajaj I., Survase S. and Singhal R., 2009. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. Food Technol. Biotechnol. 47 (2): 107–124.

Donini I., De Salvi D., Fukumoto F., Wilton A., Barud H., MARCHETTO R., Messaddeq Y., Ribeiro S., 2010. Biosíntesis y recientes avances en la producción de celulosa bacteriana. ECLET. Química. vol.35 no.4 Sao Paulo.

Donoso S., Reyes R. 2016. La Industria de la celulosa en Chile, otra “anomalía de mercado”. El Mostrador.

Dufresne A., Thomas S., and Pothan L., 2013. Biopolymer Nanocomposites: Processing, Properties, and Applications. Chapter 1: Bionanocomposites: State of the Art, Challenges, and Opportunities.

Enciso Martínez C., 2015. Evaluación del efecto de inductores en la producción de celulosa bacteriana empleando Gluconacetobacter medellinensis. Trabajo de grado para optar al título de Maestría en Biotecnología. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín.

Escalda J., Jaramillo E., Amtmann C., y Lagos N., 2014. Crisis Socioambiental: El Humedal del Río Cruces y el Cisne de Cuello Negro. Ediciones UACH. 264 p.

Espinosa C., 2002. Evaluación de los impactos de la producción de celulosa, en Análisis de Políticas Públicas N°4. Fundación Terram.

García D., Amil C., 2001. La contaminación de la industria de pasta-papel en Galicia: un análisis de flujos de materiales y energía. Estudios de Economía Aplicada. N°18. 144- 147.

García González A., 2017. Optimización de la biosíntesis de nanocelulosa bacteriana por fermentación. Trabajo final máster en ingeniería química. 91 p.

González, 2017. Uso de Químicos en la Industria: Apoyo al desarrollo de nuevos procesos y productos. Lignum. Consultada el 29 de Abril 2018, disponible en: <<http://www.lignum.cl/informes-tecnicos/uso-quimicos-la-industria-apoyo-al-desarrollo-nuevos-procesos-productos>>.

Guinea Nava M., 2015. Diseño de planta piloto para producción de Celulosa Bacteriana. Trabajo fin de grado. Ingeniería Química.

Herrera L., 2015. Microorganismos productores de enzimas hidrolíticas provenientes de oligoqueto antártico *Grania* sp. Tesina para optar por el grado de licenciado en ciencias biológicas.

Huang Y., Chen Y., 2013. An Overview of Fermentation Production and Application of Bacterial Cellulose. *Advanced Materials Research* Vol. 627: 878-884.

Huang Y., Zhu C., Yang J., Nie Y., Chen C., and Sun D., 2014. Recent advances in bacterial cellulose. *Cellulose* (2014) vol.10.(1) 21:1–30.

INFOR, 2018. Instituto Forestal, Estadísticas Forestales. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

Jaramillo R., Tobio W., Escamilla J., 2012. Efecto de la sacarosa en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en cultivo estático. *Rev. MVZ Córdoba* 17 (2); 3004-3013.

Keshk S., 2014. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *J Bioprocess Biotechniques*. 4:2.

Keshk S., Razek T., y Sameshima K., 2006. Bacterial Cellulose Production from Beet Molasses. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (17):1519-1523 .

Keshk S., Sameshima K., 2005. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (6): 478- 482.

Ley 20.283, 2008. Ley sobre recuperación del bosque nativo y fomento forestal. Ministerio de Agricultura. Biblioteca del Congreso Nacional.

Luraschi M., 2007. Análisis de la cadena productiva de la celulosa y el papel a la luz de los objetivos de desarrollo sostenible: estudio del caso de Chile. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). 7- 96.

Pourramezan G.Z., Roayaei A.M. and Qezelbash Q.R., 2009. Optimization of Culture Conditions for Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter* sp. 4B-2. *Biotechnology* 8(1): 150-154.

Priensen P., 2010. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Memoria del proyecto desarrollado durante el período de investigación del Master en “Estudios Avanzados en Química”. CSIC - Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS) Universidad de Sevilla.

Quintana Quirino M., 2015. Estudio de la producción y caracterización de celulosa por cultivo sumergido de *Gluconacetobacter xylinus*. Tesis para obtener el grado de Maestra en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana.

Ramana K.V., Tomar A. and Singh L., 2000. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 16:245-248.

Ramírez, 2012. La celulosa bacteriana: un mundo de nanoposibilidades. *Revista Universitas Científica. Artículos de Divulgación Científica. Revista Colombiana de Materiales. Simposio Nacional de Biopolímeros, Medellín. Edición especial.*

Ríos Rocafull Y., Dibut Álvarez B., Rojas Badía M., Ortega García M., Arozarena Daza N., Rodríguez Sánchez J., 2016. Interaction of the bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* and root vegetables. *Cultivos Tropicales*, 37: 28-32.

Ríos Rocafull Y., Rojas Badía M., Ortega García M., Dibut Álvarez B., Rodríguez Sánchez J., 2016. Aislamiento y caracterización de cepas de *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Cultivos Tropicas*, 37: 34-39.

Ross P., Mayer R. and Benziman M., 1991. Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria. *Microbiological Reviews*, Vol. 55 (1): 35-58.

Ruka D., Simon G., Dean K., 2012. Altering the Growth Conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the Yield of Bacterial Cellulose. Department of Materials Engineering, Monash University, Clayton 3800 Australia.

Sánchez R., Gutiérrez M., Muñoz H., y Rivera B., 2010. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga* 2010; 5; 61-91.

Santos de Dios S., 2015. Aplicación de la celulosa bacteriana a la restauración del patrimonio bibliográfico y documental en papel. Departamento de ingeniería y gestión forestal y ambiental escuela técnica superior de ingenieros de montes. Madrid.

Saxena I., Brown R.M., 2007. Cellulose: Molecular and Structural Biology. Chapter 10: A perspective on the assembly of cellulose-synthesizing complexes: possible role of korrigan and microtubules in cellulose synthesis in plants. 169-181.

University of California, 2014. Viticulture & Enology. Consultada el 12 Sep. 2018, disponible en:<<https://wineserver.ucdavis.edu/industryinfo/enology/winemicrobiology/bacteria/gluconacetobacter-hansenii>>.

University of California, 2017. Viticulture & Enology. Consultada el 12 Sep. 2018, disponible en:<<https://wineserver.ucdavis.edu/industryinfo/enology/winemicrobiology/bacteria/gluconacetobacter-liquefaciens>>.

Weinhouse H. and Benziman M., 1974. Regulation of Hexose Phosphate Metabolism in *Acetobacter xylinum*. *Biochem.* Vol. 138: 537-542.

Weinhouse H., Sapir S., Amikam D., Shilo Y., Volman G., Ohana P., Benziman M., 1997. c-di-GMP-binding protein, a new factor regulating cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum*. 207-211.

Zaar K., 1979. Visualization of pores (export sites) correlated with cellulose production in the envelope of the gram-negative bacterium *Cetobacter xylinum*. Vol. 80: 773-777.

Zaror C., 2002. Introducción a la ingeniería ambiental para la industria de procesos. Serie monografías. Editorial Universidad de Concepción.

Zaror C., Parra O., y González P., 1998. Desafíos Tecnológicos y Ambientales para la Gestión Sustentable del Sector Forestal en los Países de América Latina y el Caribe. Programa Interamericano de Cooperación en Tecnologías Ambientales. 153-198.

10 ANEXOS

10.1 ANEXO 1: COSTO DE LOS EQUIPOS COMPRADOS

A continuación se muestran las *Tabla A.1. 1*, *Tabla A.1. 2*, las cuales indican los costos de los equipos sin uso de corriente eléctrica, y los que requieren de corriente eléctrica, incorporando además la cantidad vendida en Merckgroup. También, en la *Tabla A.1. 3* se señalan las materias primas utilizadas para el análisis de costo.

Tabla A.1. 1: Costo de equipos sin uso de corriente eléctrica.

Etapas	Equipos y materiales sin corriente eléctrica	Cantidad vendida	Valor por unidad (CLP)	Cantidad necesaria anual	Valor por cantidad necesaria (CLP)
Preparación de inóculo/ Preparación medio de cultivo	Matraz Erlenmeyer 1000 mL	1	\$ 1.900	52	\$ 98.800
Preparación de inóculo	Placa de Petri 47 mm esterilizada	600	\$ 127.000	4	\$ 847
Separación	Kitasato de 1000 mL	2	\$ 30.702	1	\$ 15.351
Separación	Papel filtro grado 597*150mm	100	\$ 19.731	36	\$ 7.103
Separación	Embudo de büchner (90mm)	1	\$ 40.114	1	\$ 40.114
\$kwh	\$ 129,00	-	-	Total	\$ 162.215

Tabla A.1. 2: Costo y consumo de equipos con uso de corriente eléctrica.

Etapa	Equipos con uso de corriente eléctrica	Cantidad vendida	Valor por unidad (CLP)	Potencia (kW)	Cantidad necesaria anual	Valor por cantidad necesaria (CLP)	Funcionamiento semanal (h)	Consumo semanal (kwh)	Valor de consumo semanal (CLP)	Consumo Anual (CLP)
Preparación de inóculo/ Preparación medio de cultivo/ Crecimiento y desarrollo	Biorreactor MINIFORS 5L	2	\$ 21.063.000	3,53	2	\$ 42.126.000	288	1.016,64	\$ 131.147	\$ 6.557.328
Separación	Bomba de vacío Millivac Mini	1	\$ 892.000	0,41	1	\$ 892.000	73,5	30,135	\$ 3.887	\$ 194.371
Secado	Estufa LDO-150N	1	\$ 557.921	0,013	1	\$ 557.921	72	0,936	\$ 121	\$ 6.037
Purificación	Destilador WD-2008F	1	\$ 1.162.721	6	1	\$ 1.162.721	1,5	9	\$ 1.161	\$ 58.050
Esterilización	Autoclave 150 L	1	\$ 3.830.300	6	1	\$ 3.830.300	3	18	\$ 2.322	\$ 116.100
Preparación de inóculo/ Preparación medio de cultivo	Balanza analítica	1	\$ 3.212.619	0,0297	1	\$ 3.212.619	4,5	0,13365	\$ 17	\$ 862
Todas	Iluminación (8h/d)	-	-	0,5	-	-	56	28	\$ 3.612	\$ 180.600
\$kwh	\$ 129				Total	\$ 51.781.562			Total	\$ 7.113.348

Tabla A.1. 3: Costo de materias primas utilizadas en el proceso de producción.

Reactivos	Cantidad en venta	Valor (CLP)	Concentración requerida (g/L)	Cantidad requerida (kg)	Valor por cantidad requerida (CLP)	Valor mensual (CLP)	Costo anual (CLP)
Glucosa Anhidro	25kg	\$ 223.505	20	0,08	\$ 715	\$ 10.728	\$ 128.739
Peptona de caseína	1kg	\$ 150.967	5	0,02	\$ 3.019	\$ 45.290	\$ 543.481
Extracto de levadura granulado	0,5kg	\$ 45.029	5	0,02	\$ 1.801	\$ 27.017	\$ 324.209
Solución tampón (hidrogeno fosfato disódico/dihidrogeno fosfato potásico)	4L	\$ 51.988	2,7	0,0216	\$ 281	\$ 4.211	\$ 50.532
Ácido cítrico monohidrato	5kg	\$ 60.778	1,15	0,0046	\$ 56	\$ 839	\$ 10.065
Sodio hidróxido en solución	0,5kg	\$ 4.400	4,2	0,0168	\$ 148	\$ 2.218	\$ 26.611
Agua destilada (L)			92,30769231		\$ 67	\$ 1.010	\$ 12.117
						Total costo anual	\$ 1.095.755

10.2 ANEXO 2: MODIFICACIONES AL COSTO ANUAL DE PRODUCCIÓN

En la *Tabla A.2. 1* se muestran las modificaciones realizadas a los gastos variables y fijos a escala de laboratorio.

Tabla A.2. 1: Costo anual de producción modificado a escala de laboratorio.

Elementos	Valores Típicos	Coste anual (CLP)
<u>Gastos Variables (A)</u>		
Materias primas	Reactivos	\$ 1.095.755
Materias diversas	3% del costo de mantenimiento	\$ 217.774
Servicios generales	Oxígeno/Electricidad/Agua	\$ 2.539.772
Envío y embalaje	Transporte de bacteria	-
<u>Gastos Fijos (B)</u>		
Mantenimiento	5% del costo fijo	\$ 7.259.143
Mano de obra	Salario de operadores	\$ 4.800.000
Costos de laboratorio	10% del costo de mano de obra	\$ 480.000
Supervisión	10% del costo de mano de obra	\$ 480.000
Gastos generales de planta	30% del costo de mano de obra	\$ 1.440.000
Gastos financieros (Intereses)	5% del costo fijo	\$ 7.259.143
Seguro	1% del costo fijo	\$ 1.451.829
Impuestos locales	1% del costo fijo	\$ 1.451.829
COSTO TOTAL ANUAL DE PRODUCCIÓN =	Gastos Variables (A)+ Gastos Fijos (B)	\$ 28.475.244

10.3 ANEXO 3: MODIFICACIONES A SERVICIOS GENERALES

En la *Tabla A.3. 1* se muestran los costos obtenidos anualmente de los servicios generales en una producción a escala de laboratorio, incluyendo los nuevos porcentajes utilizados en el análisis económico.

Tabla A.3. 1: Servicios generales a escala de laboratorio.

Servicios Generales	\$/Año
Costo de electricidad	\$ 2.398.411
Costo de agua	\$ 20.440
Costo de oxígeno	\$ 120.943
Total	\$ 2.539.793

10.4 ANEXO 4: INGRESOS A ESCALA DE LABORATORIO

En la *Tabla A.4. 1* se muestran los nuevos valores obtenidos a escala de laboratorio, con los mismos valores de producción anual para una escala industrial.

Tabla A.4. 1: Valor mínimo de venta de celulosa microbiana a escala de laboratorio.

Variables	Año 1	Año 2, 3, 4, 5
Producción anual de CB (kg/año)	0,589	0,644
Costo de producción (\$/kg)	\$ 48.361.487	\$ 44.216.217
Ingreso unitario, precio de venta mínimo (\$/año)	\$ 28.475.244	\$ 28.475.244