

ANEXO 3

FERMENTACIÓN

3.1 Aspectos generales del proceso de fermentación

El proceso químico de producción de bioetanol se basa simplemente en una fermentación, que es un cambio químico en las sustancias de naturaleza orgánica llevado a cabo por la acción de enzimas. Lo que ocurre en una fermentación es que las sustancias orgánicas complejas se transforman en otras más simples.

La fermentación es un proceso que realizan muchos microorganismos, efectuando reacciones sobre algunos compuestos orgánicos y liberando energía. Sólo en condiciones fermentativas se da la oxidación parcial de los átomos de carbono del compuesto orgánico y una pequeña cantidad de la energía potencial disponible se libera.

Un proceso de fermentación típico es un proceso que se lleva a cabo en un recipiente llamado fermentador o biorreactor, mediante el cual determinados sustratos que componen el medio de cultivo son transformados por acción microbiana en metabolitos. El microorganismo va aumentando en su concentración en el transcurso del proceso al mismo tiempo que las actividades catabólicas y anabólicas.

Los dos fenómenos, crecimiento y formación de producto, tienen lugar durante el desarrollo del proceso de forma simultánea o no según sea el caso a estudio.

Los objetivos de un fermentador son maximizar la producción del producto deseado. Es decir, se desea que la mayor cantidad de nutrientes sean convertidos en microorganismos o en alcohol.

El tipo de fermentación más importante es la fermentación alcohólica, en la que los azúcares simples, como la glucosa, se transforman en alcohol etílico y dióxido de carbono. Todo esto llevado a cabo bajo la actividad de unos determinados microorganismos que trabajan en condiciones microaerobias.

Además de esta clase de fermentación donde el objetivo es producir alcohol, existen otras con fines médicos, farmacéuticos... además de los procesos de producción y desarrollo de los mismos microorganismos.

3.2 Características de las reacciones biológicas

El diseño del reactor deberá obedecer a las demandas propias de todo reactor químico más las específicas del proceso biológico.

Es importante tener en cuenta las características cinéticas, termodinámicas y de transferencia de materia de las reacciones biológicas. Estas son las que siguen a continuación.

- Las reacciones biológicas son procesos generalmente lentos en comparación con las reacciones químicas. Por ello sus constantes de tiempo se suele medir en horas e incluso en días.

- Los procesos fermentativos tienen un carácter autocatalítico, en la reacción entre el sustrato y los microorganismos resulta además del producto, etanol, más microorganismo, catalizadores del proceso.
- La actividad específica de los biocatalizadores es baja frente a los catalizadores químicos, por ello la reacción biológica es más lenta.
- Son procesos que dependen de forma importante de las condiciones de operación, como el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto,...
- Pueden presentar problemas de inhibición por productos y/o sustratos dependiendo de las condiciones de operación y concentraciones de trabajo.
- La naturaleza del biocatalizador puede variar conforme se desarrolla el proceso de fermentación, es decir, las células pueden perder actividad por causa de la inhibición provocada por algún factor o por lo contrario aumentar tal actividad si los microorganismos se adaptan a las nuevas condiciones del medio. Esto último sucedería si se da la mutación natural de tales levaduras o bacterias.
- La producción del etanol está condicionada a los parámetros utilizados de pH, temperatura... ya que el metabolismo de los microorganismos dependen de tales parámetros y las reacciones secundarias pueden tomar mayor relevancia y así hacer disminuir la concentración del etanol.
- En todas las reacciones biológicas las entalpías de reacción son bajas por lo que el diseño de los equipos de intercambio de calor no supondrá problema de consideración.
- La energía de activación de la reacción es importante por ello en algunos rangos de temperatura la velocidad de reacción depende fuertemente de la temperatura de operación. La desactivación también se ve muy influenciada por la temperatura.
- En los procesos fermentativos la temperatura y la presión son moderadas.
- Es muy importante conseguir un buen contacto entre las diferentes fases, así la limitación por transferencia se hace despreciable.
- Las propiedades reológicas del fluido pueden variar durante el proceso. Algunas veces el fluido no presenta un comportamiento Newtoniano. En el caso a estudio esto no ocurre así. Este régimen no Newtoniano se da en el uso de microorganismos con facilidad de crear agregados y formas así partículas mayores. Los llamados flóculos.
- En las operaciones de fermentación es necesario la separación final del producto.



Fig.26 Reacción de generación de etanol

3.3 Efectos internos y externos que afectan a la fermentación

Existen efectos internos y externos que pueden modificar el rendimiento global del proceso. Por un lado, haciendo referencia al comportamiento de un microorganismo en crecimiento, los efectos internos estarán relacionados con su genética y sus mecanismos de regulación metabólica.

Estos mecanismos pueden ser transformados por los efectos externos, los que se dan en el medio de fermentación.

Los efectos internos se pueden variar mediante la ingeniería genética.

Los efectos externos de naturaleza física están vinculados con las condiciones de operación que se utilizan en los reactores como puede ser la temperatura, el pH, la agitación, la aireación,...

La modificación de algunos de los efectos físicos puede influir de manera notable sobre el proceso. Si por ejemplo se modifica la temperatura y su valor no es el adecuado para el desarrollo de la actividad de los microorganismos, el rendimiento global del proceso se vería mermado.

Los efectos externos de naturaleza química están representados por la presencia de los componentes de los medios de fermentación, además del oxígeno, que puede considerarse un nutriente más.

Todos estos componentes deben cumplir con los requerimientos nutricionales de los microorganismos, y también con los requerimientos específicos para que se desarrolle la actividad concreta a realizar. En este caso, la producción de etanol a través de metabolizar la sacarosa.

Los reactores están también estrechamente vinculados al manejo o manipulación de los efectos externos, ya que además de la regulación de las variables físicas, permite operar de un modo u otro, y así controlar y fijar la alimentación de sustrato.

Se podrían esquematizar los factores que afectan a las fermentaciones, ya que además del tipo de microorganismos utilizado para ésta, se deben tener en cuenta las condiciones que hagan alcanzar una conversión efectiva del sustrato en el producto deseado.

Algunos de estos factores son:

- Regulación de la síntesis de enzimas: este factor es muy importante durante la etapa de crecimiento celular. Cada célula tiene la capacidad de producir una gran cantidad de enzimas que deben generarse en forma coordinada para que el microorganismo funcione de manera eficiente. La regulación del metabolismo celular se ve influenciado por factores como la síntesis y degradación de enzimas, la represión catabólica, la modulación de la actividad enzimática, entre otros.
- Mutación: en ocasiones, el rendimiento de las bioconversiones puede mejorarse por la mutación del microorganismo con el fin de que éste produzca mayor cantidad de enzimas para así generar más producto deseado. Los microorganismos genéticamente alterados después de mucho reproducirse tienden a volver a la cepa original.

- **Permeabilidad:** Para muchos microorganismos se hace necesario la alteración de la permeabilidad de su membrana celular hacia determinados sustratos o productos.
- **Cometabolismo:** consiste en la utilización de dos sustratos. Uno se emplea para el crecimiento y manutención del microorganismo, mientras que el segundo es convertido en el producto deseado. Esta técnica se usa cuando los sustratos requeridos son muy costosos o cuando un solo sustrato no abastece de forma adecuada las necesidades de los microorganismos.
- **Inhibición por producto:** un problema en las biotransformaciones es la inhibición por producto, debido a que cuando se forma el compuesto de interés la velocidad de generación de producto disminuye. En el caso particular de la fermentación alcohólica mediante la *Saccharomyces Cerevisiae*, se puede producir etanol hasta una concentración de 12 a 14%v/v aunque se ha logrado obtener cepas que aguanten concentraciones de hasta el 18%v/v. Los factores fisiológicos que influyen en la tolerancia de las levaduras al etanol son el aporte del sustrato, la acumulación de etanol intracelular, la presión osmótica y la temperatura.
- **Temperatura:** de forma análoga a las reacciones químicas y enzimáticas, el crecimiento celular sufre alteraciones por la temperatura. La temperatura a la cual prolifera un microorganismo depende de la naturaleza psicrófila, mesófila o termófila. El efecto de la temperatura sobre la velocidad de crecimiento puede representarse mediante la ecuación de Arrhenius. Para el caso de la *Saccharomyces Cerevisiae* la velocidad de fermentación aumenta con la temperatura entre los 18 y los 35°C. Por encima de los 35°C se corre el riesgo de la proliferación de bacterias, ya que a estas temperaturas las membranas celulares de las levaduras dejan de ser tan selectivas y emiten sustratos muy adecuados para el desarrollo bacteriano.

3.4 Esquema de un proceso industrial

En un proceso industrial de fermentación suelen existir cuatro etapas bien diferenciadas. La primera tiene relación con la propagación del cultivo, en la segunda se da el proceso de fermentación. Las operaciones de separación y purificación del producto se dan en la tercera fase y la última corresponde al tratamiento de efluentes.

La propagación del cultivo se realiza en el laboratorio. Se suele realizar partir de un tubo de ensayo que contiene un repique reciente del microorganismo o de una muestra congelada o liofilizada donde se conserva la cepa de interés. También se realiza a través de una colonia del microorganismo previamente seleccionada. Este material microbiológico elegido constituye el punto de partida con el cual se debe aumentar la cantidad del mismo mediante sucesivos pasajes en frascos de volúmenes crecientes. Estos últimos recipientes de mayor capacidad son tanques con un mecanismo de agitación de vaivén o rotatorios que se encuentran en cámaras de cultivo.

La segunda fase relacionada con la fermentación se hace a través del material obtenido de la primera fase. Se siembra el tanque de inóculo que puede tener un volumen de 50, 500 ó 1000 litros según la escala industrial posterior.

Del tanque de inóculo se pasa posteriormente al fermentador industrial cuyo volumen, que varía de acuerdo al producto a obtener y a su concentración, está comprendido comúnmente entre 10.000 y 100.000 litros.

Un proceso esencialmente ligado a la producción es la preparación y esterilización de los medios, estas operaciones se llevan a cabo también en esta fase. Se ha de realizar previamente a la inoculación del sustrato.

En la preparación del medio fermentativo se suelen añadir macronutrientes y micronutrientes que favorezcan la reacción deseada. Con la esterilización se consigue evitar la contaminación por invasión de otros microorganismos extraños al proceso.

La tercera fase correspondiente a las operaciones y procesos de separación y purificación de los productos, comprende de forma general las siguientes etapas:

- Separación de insolubles por filtración, centrifugación o decantación.
- Separaciones primarias por extracción, adsorción, absorción, ultrafiltración.
- Purificación por extracción líquido-líquido, extracción a dos fases acuosas o cromatografía por afinidad.
- Aislamiento del producto.

La última fase no tiene nada que ver con el producto de fermentación, pero es muy importante, ya que controla la calidad del efluente que sale de la fábrica y que normalmente es enviado a un curso de agua, canal, arrollo, río o al mar.

Es importante tener en cuenta que todas las etapas de un proceso de fermentación deben estar íntimamente relacionadas e integradas para que el proceso sea globalmente optimizado.

Se ha de tomar una cepa de gran calidad para maximizar la producción. El sustrato seleccionado debe ser idóneo y cumplir unas pautas de esterilización.

La aireación y la agitación del proceso también debe ser diseñada.

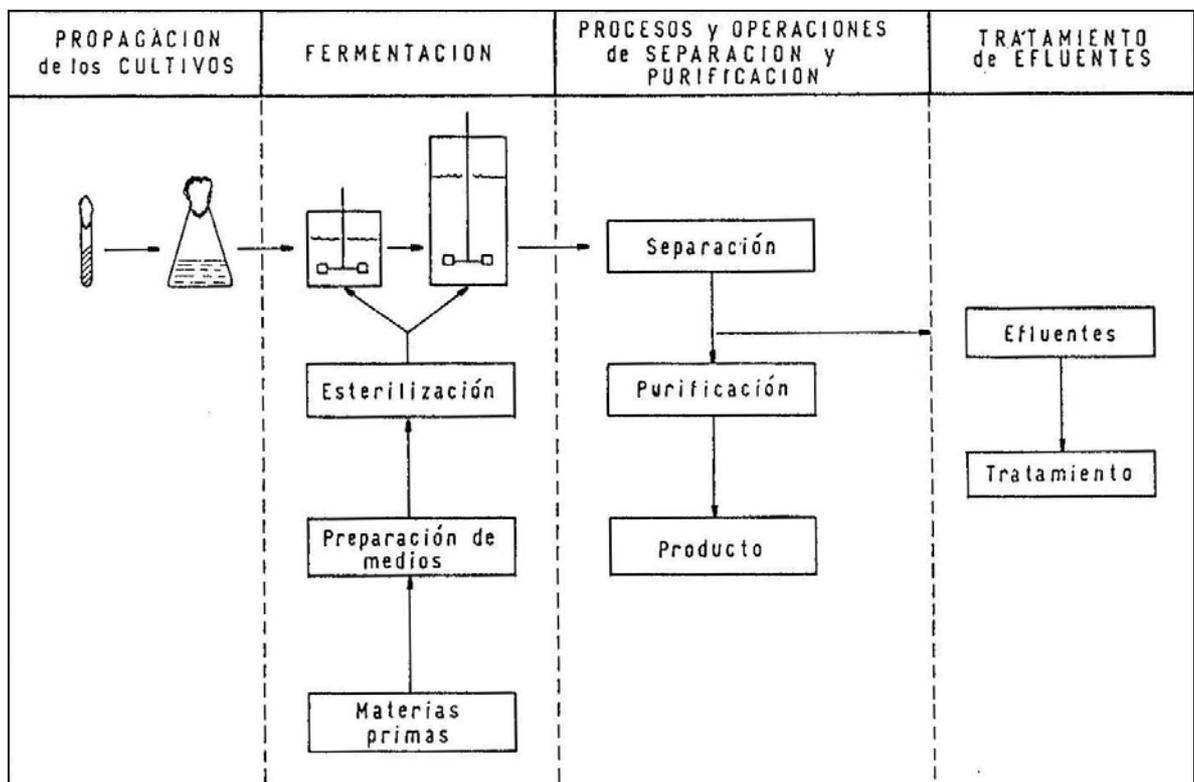


Fig.27 Esquema de un proceso industrial

