

Estudio del proceso de fermentación de la tecnología simplificada de producción de biomasa proteica por escalado inverso del biorreactor de una planta industrial.
Study of the process fermentation by simplified proteic biomass technology production of had scale down of the bioreactor of an industrial plant.

Autores:

Ing. Alfredo Marín Cárdenas. MSc*
Ing. Agustín García Rodríguez. Dr.C.**
Ing. Nelsy Herrera Coello**
Ing. Luis Gómez Rodríguez. Dr.C.**

*Facultad de Ciencias Agropecuarias; **Centro de Análisis de Procesos. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuani Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. E-mail: alfredomc@uclv.edu.cu

Resumen:

Con el objetivo de estudiar el proceso de fermentación de una planta de producción de biomasa proteica, se realizaron experiencias para evaluar la fermentación en el biorreactor a escala industrial, donde se precisaron los parámetros operacionales de fermentación, para desarrollar satisfactoriamente un estudio de escalado descendente o inverso, ajustando todos los parámetros técnicos operativos y logrando una similitud geométrica entre biorreactor y su prototipo y la simulación de las condiciones ambientales. Se realizaron bajo estas condiciones, experiencias de laboratorio en fermentadores con capacidad de volumen de trabajo de 2 y 20 litros, desarrollando un estudio comparativo entre operaciones discontinuas y discontinuas con incremento. Los resultados obtenidos en los estudios a escala de laboratorio no difieren estadísticamente a los resultados industriales en cuanto a rendimiento y productividad, pero sí encontramos diferencias significativas al comparar los resultados de las fermentaciones discontinuas y discontinuas con incremento entre si, que corroboran los alcanzados por otros investigadores que justifican el uso del incremento en este tipo de producción, ya que estos superan categóricamente los niveles de rendimientos obtenidos con la fermentación discontinuas. Además es evidente la apreciable disminución del tiempo de operación de 10 a 6 horas con el proceso discontinuo con incremento, que inciden en el aumento apreciable de los niveles de producción y productividad.

Palabras Claves: Biomasa proteica; Biorreactores; Escalado inverso; Fermentación.

Abstract.

With the objective of study the process of fermentation of an plant of production of proteic biomass, were carried experiences to evaluate the fermentation in bioreactor to scale industrial, where were necessary the operational parameters of fermentation, to develop a study satisfactorily of having climbed descending or inverse, adjusting all the operative technical parameters and achieving a geometric similarity between bioreactor and their prototype and the simulation of the environmental conditions. It were carried lower laboratory conditions experiences, in bioreactor with capacity of volume of work about 2 and 20 liters, developing a comparative study between operations batch and increased batch. The results obtained in the studies to laboratory scale don't differ statistically to the industrial results as for yield and productivity, but were we find significant differences when comparing the results from the fermentations to batch and batch increased among if that corroborate those reached since by other investigators that justify the use of the batch increased in this production type, these overcome the levels of yields obtained with the fermentation to batch categorically. It is also evident the appreciable decrease of the time of operation of 10 at 6 hours with the process to increased batch that they impact in the appreciable increase of the levels of productivity.

Key words: Bioreactor; Scale down; Fermentation; Proteic biomass.

Introducción

En la actualidad los procesos fermentativos y biotecnológicos tienen gran importancia, la aplicación sistematizada de bioreactores en esto es decisiva, así como sus características particulares. La biotecnología podría aportar soluciones a los problemas de escasez alimentaría y déficit de proteína, con la consiguiente disminución de los costos de producción de los aminoácidos esenciales para las raciones alimentarias de los animales domésticos.^{1,8}

Como consecuencia de esto, surge en la década de los noventa la tecnología simplificada de producción de biomasa proteica para la alimentación animal, cuyos resultados son aun insuficientes, específicamente por ineficiencias técnicas y tecnológicas no superadas. Una de la problemática más acuciante en esta tecnología es que su rendimiento y productividad son muy bajos trayendo consigo una muy baja eficiencia en la planta.⁴

El estudio de biorreactores industriales a gran escala, para reajustar su modo de operación, se hace usando escalas representativas de pequeño tamaño, es lo que se

conoce como escalado inverso, descendente o scale down. El escalado inverso consiste, esencialmente, en obtener resultados confiables a pequeña escala, del comportamiento de los procesos que se desarrollan a gran escala. La similitud geométrica entre el modelo y el prototipo es de vital importancia en estos estudios.^{6,11}

Teniendo en cuenta esta consideración, se trazó como objetivo en este trabajo el estudiar el proceso de fermentación de una planta de producción de biomasa proteica mediante un escalado inverso en biorreactores de 2 y 20 litros.

Materiales y métodos.

Las experiencias a gran escala, con volumen de 2 000 litros, se desarrollaron en la planta de producción de biomasa proteica, ubicada en el Polígono del Estado Mayor Provincial de Villa Clara y a pequeña escala, con dos y 20 litros, en los Laboratorios de Fermentación del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) y de Microbiología del Centro de Análisis y Procesos (CAP) ambos de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

Se realizó un estudio exhaustivo del proceso de fermentación en la producción de la biomasa proteica con el empleo del cultivo de *Candida utilis*, del banco de cepas de la planta de levadura industrial "Perucho Figueredo" con las variantes de fermentación discontinua y discontinua con incremento del sustrato en los tres volúmenes descrito anteriormente.

Teniendo en cuenta los criterios planteados en la literatura,¹¹ para desarrollar satisfactoriamente un escalado descendente o inverso, se plantió la tarea de ajustar todos los parámetros técnicos operativos, para lograr una similitud geométrica entre el modelo y el prototipo del biorreactor, así como la simulación de las condiciones ambientales, llevando estas experiencias al laboratorio, desarrollando un estudio comparativo entre los dos sistemas de fermentación a los diferentes volúmenes.

Para la preparación del sustrato en todas las variantes, se utilizó miel final con 51,42% de azúcares reductores totales (ART) y una densidad de 1,4 Kg/L, empleando una concentración de ART de 20 g/L en el mismo, algunos cambios se ajustan según los requerimientos deseados. Los demás nutrientes (nitrógeno y fósforo) se calcularon de acuerdo a los requerimientos del cultivo empleando, de urea (2,3 g/L) y superfosfato triple (1,3 g/L) comercial.

La aireación del medio para las fermentaciones de 2 y 20 litros se realizó mediante un compresor de aire MLW y para 2 000 L mediante una bomba de barrido MZ250,

garantizando un volumen de aire en el medio de 2 vvm y un promedio de oxígeno disuelto en el medio de 2,0 ppm.

La temperatura en las fermentaciones a 2 y 20 litros fue de 38°C y se controló mediante un termostato MLW.

Para obtener resultados confiables se realizaron 7 fermentaciones sucesivas para todas las variantes, siguiendo la cinética de las mismas. La toma de muestra para los análisis correspondientes se realizó siempre al inicio y final de cada fermentación y a intervalos de dos horas, determinándose; Biomasa, ART, pH y materia seca (MS) según la literatura.²

El análisis estadístico fue completamente aleatorizado, mediante un modelo de análisis de varianza simple y donde existió diferencia estadística significativa se aplicó la prueba de Duncan. Todas las pruebas fueron realizadas mediante el paquete estadístico Statgraphics 4,1.

Resultados y discusión.

Los resultados obtenidos en el estudio del proceso de fermentación se presentan en la tabla 1 donde se muestran la media del muestreo final al término de las mismas.

Tabla 1: Resultado de las medias de seis fermentaciones sucesivas en las diferentes variantes, al evaluar la producción de biomasa proteica.

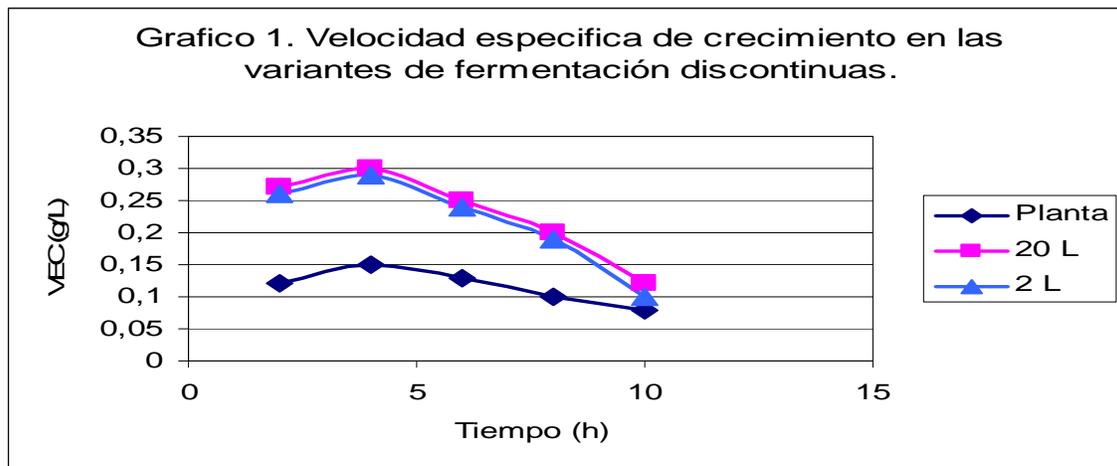
Variantes	Hora ferm.	Biomasa (g/L)	ART (g/L)	pH	MS (%)	Y (%)	P (g/Lh)
Discontinuo (Planta)	10	3,42 ± 0,08 ^b	26,13	4,5	4,14	18,08 ± 0,61 ^b	0,34 ± 0,02 ^b
Discontinuo (20 L)	10	3,45 ± 0,08 ^b	16,10	4,3	3,09	21,29 ± 0,61 ^b	0,58 ± 0,02 ^b
Discontinuo (2 L)	10	3,5 ± 0,08 ^b	16,32	4,2	3,05	21,41 ± 0,61 ^b	0,58 ± 0,02 ^b
Discontinuo con Incremento (Planta)	6	4,72 ± 0,08 ^a	23,70	4,7	5,26	24,99 ± 0,61 ^a	0,79 ± 0,02 ^a
Discontinuo con Incremento (20 L)	6	4,53 ± 0,08 ^a	17,54	4,3	3,13	26,09 ± 0,61 ^a	0,76 ± 0,02 ^a
Discontinuo con Incremento (2 L)	6	4,73 ± 0,08 ^a	17,11	4,3	3,05	28,50 ± 0,61 ^a	0,79 ± 0,02 ^a

Las medias con letras supraíndice no comunes difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Los resultados obtenidos en la dinámica del proceso fermentativo discontinuo en la planta industrial, son adecuado y similares a los reportados en la literatura,⁵ alcanzando valores de biomasa de 4,90 g/L, con una producción de 3,42 g/L, a partir de un consumo de ART de 26,13 g/L, lo cual da un rendimiento biomasa / sustrato en el proceso de 18,08%, y una productividad de 0,34 g/Lh, la materia seca de 4,14% y la

velocidad específica de crecimiento (μ) se observa que a las 4 horas se alcanza su nivel más elevado durante la fermentación. Tanto el rendimiento como la productividad son muy bajos e inferiores a los que se obtienen en las plantas de *Levadura torula* industrial.^{7,10}

En cuanto a la proceso fermentativo discontinuo en los volúmenes de 20 y 2 litros se observa un comportamiento similar estadísticamente entre estas variantes y con los resultados obtenidos a nivel de planta, lo cual favoreces el objetivo de este trabajo, ya que se logro mantener exactamente las mismas condiciones, obteniéndose una producción de biomasa de 3,45 g/L a partir de un consumo de ART de 16,10 g/L, lo cual nos da un rendimiento del 21,29% y una productividad de 0,58 g/Lh, tenemos que el pH queda con un valor de 4,3, además tenemos que la mayor velocidad especifica de crecimiento se alcanza a las 4 horas (Grafico 1), al corroborar este resultados podemos utilizar este tiempo para realizar el incremento en la fermentación discontinua con incremento. Todas las variables medidas no difieren estadísticamente entre estos dos volúmenes.



Los resultados alcanzados al operar en condiciones discontinua con incrementado en la planta industrial, se obtienen condiciones iniciales similares a la operación discontinua. El incremento de sustrato se efectúa siempre a las 4 horas de iniciada la fermentación ya que los resultados del proceso discontinuo demostraron que en ese tiempo se alcanza la mayor velocidad específica de crecimiento, donde se reajusta las cualidades del fermento, luego, en un rápido proceso fermentativo de 2 horas (6 en total) casi todo el sustrato queda consumido alcanzando niveles similares de ART residual a los obtenidos en los procesos discontinuos a las 10 horas de fermentación.

Por su parte la biomasa alcanza niveles de 5,87 g/L con una producción de 4,72 g/L de biomasa a partir de un consumo de ART de 23,7 g/L lo cual da un rendimiento biomasa/sustrato de 24,99% y una productividad 0,79 g/Lh. La materia seca llega a valores de 5,42% superiores a los obtenidos a los ensayos en 2 y 20 litros y el valor de pH queda muy alto para estos procesos con 4,7 por lo que en las plantas instaladas se deteriora con gran frecuencia el pie de inóculo y el producto final no logra estabilizarse por periodos superiores a las 72 horas, ya que en este valor crecen con facilidad las bacterias proteolíticas degradando la biomasa, esto concuerda con los reportados en la literatura.⁹

Los resultados del proceso de fermentación discontinuo con incremento en los volúmenes de 20 y 2 litros, son semejantes estadísticamente, la producción de biomasa es de 4,53 g/L a partir de un consumo de ART de 17,54 g/L obteniéndose 26,09% de rendimiento en el proceso con una productividad de 0,76 g/Lh, el pH mantiene el mismo comportamiento alto de 4,3.

Al comparar los resultados de las fermentaciones con los procesos discontinuos y con incremento se corrobora los beneficios de este último, validando los resultados de otros autores,³ que justifican el uso de los procesos discontinuos con incremento en este tipo de producción, ya que estos superan categóricamente a los resultados con la fermentación discontinua. Además es evidente la apreciable disminución del tiempo de operación de 10 a 6 horas con la operación discontinua con incremento por lo que se traduce en altos niveles de productividad.

Con estos resultados se corrobora primeramente que mediante el escalado inverso se logra imitar los procesos fermentativos de gran escala a pequeña escala obteniéndose resultados semejantes, además de lo planteado por varios autores sobre las deficiencias técnicas y tecnológicas de esta tecnología de producción de biomasa proteica por vía simplificada.

Conclusiones

Se demostró al evaluar la etapa de fermentación en la producción de biomasa proteica que:

- Con el escalado inverso del proceso de fermentación en volúmenes de 2 y 20 L, se logran resultados similares estadísticamente que los obtenidos en la planta industrial.

- El proceso de fermentación discontinuo es ineficiente ya que se obtiene un rendimiento y productividad muy bajo, con relación al discontinuo con incremento que se logra resultados de 26.09% de rendimiento y 0.76 g/Lh de productividad.
- Se corroboró a escala industrial que los índices cualitativos y cuantitativos del proceso de fermentación en operación discontinuo con incremento son superiores a los que se obtiene con las operaciones discontinuas tradicionales en las plantas de biomasa rústicas, además se logra disminuir el tiempo de fermentación de 10 horas a 6 horas con este proceso.

Bibliografía

1. Anónimo. 2004. Antecedentes sobre la biotecnología alimentaria. La biotecnología de los alimentos. <http://ific.org> (Viernes 4 de abril 2008; 3:45 pm).
2. AOAC. 2005. "Official Methods of Analysis" 18th Edition. Association of Official and Analytical Chemist. Washington DC. USA.
3. Fabelo, J.A; Rodríguez, A. y Martínez, L. 1998. Modelación y optimización de la etapa de fermentación alcohólica utilizando diferentes sistemas de sustrato. Revista Centro Azúcar. 25(2): 32-36.
4. García, A., Marín, A., Herrera, N. y otros. 2005. Desarrollo de la tecnología de producción de biomasa proteica para la alimentación animal en zonas de economía sostenible. Revista Centro Azúcar. Enero -Abril. Año 32, # 1. pag. 18-24.
5. García, A; Marrero, L; Marín, CA. y otros. 1999. Producción de biomasa proteica a partir de jugo de caña. Revista Respuesta. 4 (1): 32 – 34.
6. Lara AR; Leal L; Flores N. et al. 2006. Transcriptional and metabolic response of recombinant Escherichia coli to spatial dissolved oxygen tension gradients simulated in a scale-down system. Biotechnol Bioeng. Vol. 93 (2). Pag. 372-385
7. Lezcano, P. 2005. Desarrollo de una fuente proteica en Cuba. Levadura torula (*Cándida utilis*). Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 39, Número Especial. Pag. 459 – 463.
8. Lucas, C.E.A. 2008. Biotecnología de alimentos. Monografías.com (Viernes 4 de abril 2008; 3:45 pm).
9. Marín CA; García RA y Herrera N. 2003. "Estudio de conservación de la crema biomasa proteica obtenida por la tecnología simplificada para zonas de economía sostenible." Memorias CD. II Conferencia Internacional de Química de la Universidad Central de las Villas. Santa Clara. Cuba. Junio 4– 6.

10. Pedraza, G.J; Santos, H.R; Gutierrez, C.J. y otros. 2000. Aplicación de la teoría de la incertidumbre en el análisis del proceso de producción de levadura torula en el Complejo Agroindustrial Azucarero Perucho Figueredo (II). Revista Centro Azúcar. 27(3): 31-35.
11. Rodríguez RI. 2000. Los cambios de escala en la industria química V. El escalado descendente o inverso (Scale down). Revista Centro Azúcar #2. Pag. 92-96.