
MODELACIÓN CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL ZUMO DE POMARROSA

Yadira Mora, Andrés De La Rosa
yadiliz12@hotmail.com; anferdelarosa@hotmail.com

Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ingeniería Química. Casilla 17-01-3972

Recibido: 15 octubre 2014

Aceptado: 9 enero 2015

RESUMEN

Obtención de modelos cinéticos del proceso de fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa mediante el uso de la levadura *Saccharomyces Cereviciae*.

La experimentación se desarrolló manteniendo constante la temperatura y analizando los efectos de las variables: concentración de sustrato (18, 20 y 22 grados brix), pH (3,5 y 4,5) y porcentaje de levadura (2,5 y 3,5%) en el proceso fermentativo. La levadura usada en las fermentaciones fue adaptada al medio para su crecimiento y colocada con el zumo en recipientes plásticos. Durante doce horas se analizó la formación de etanol mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC); el consumo de sustrato mediante la cuantificación de azúcares reductores y el crecimiento microbiano por el método del peso seco.

La muestra de mayor aceptación luego de las pruebas de catación fue la de 5,084°GL, que se concentró hasta 20,6°GL, ésta se genera a partir de un sustrato de 20° brix, 3,5% de levadura y 3,5 de pH. A estas condiciones se llevó a cabo nuevamente el experimento en un biorreactor para verificar la reproducibilidad.

De los modelos cinéticos, para cada una de las condiciones, el mejor corresponde a la cinética de primer orden.

PALABRAS CLAVES: Modelos matemáticos; Cinética de reacción; Zumos de frutas; Pomarrosa; *Syzygium Jambos*; Fermentación alcohólica; Alcohol etílico.

ABSTRACT

Obtaining kinetic models of the process of alcoholic fermentation of the rose apple by means of the yeast *Saccharomyces cereviciae*.

The experimentation was developed maintaining a constant temperature and analyzing the effects of the variables: substrate concentration (18°, 20° and 22° brix), pH (3.5 y 4.5) and percentage of yeast (2.5 and 3.5%). The yeast used in fermentation was adapted to the medium for growth and placed with the juice in plastic containers. For 12 hours ethanol formation was monitored by high pressure liquid chromatography (HPLC), substrate consumption by quantification of reducing sugars and microbial growth by the dry weight method.

The more accepted sample after the cupping tests was 5.084°GL, which was concentrated up to 20.6°GL and which was generated from a substrate of 20 °Brix, 3.5% yeast and pH 3.5. These same conditions were repeated in a bioreactor in order to confirm the previous results.

For each of the conditions, the best kinetic model was that corresponding to first order kinetics.

KEYWORDS: Mathematical models; Reaction kinetics; Fruit juices; Rose Apple; *Syzygium Jam-bos*; Alcoholic fermentation; Ethanol

1. INTRODUCCIÓN

Muchos son los factores determinantes para obtener un producto de calidad; desde tiempos remotos la producción de bebidas alcohólicas ha logrado poco a poco ir determinando las variables, que influyen directa o indirectamente en las características finales del producto.

En un proceso fermentativo es conveniente maximizar la producción de un metabolito deseado; no obstante, no es una tarea sencilla de lograr, dado que la fermentación es afectada por factores: ambientales, fisicoquímicos, biológicos o por la carencia de un adecuado conocimiento del sistema.

Modelar un proceso de fermentación presenta ventajas como: estimación de variables, control del proceso, una correcta interpretación del fenómeno; además obtener un modelo para la descripción cinética de la fermentación alcohólica es de gran interés para conocer las variaciones que sufre el proceso por las fluctuaciones de la calidad de materia prima, lo cual tiene su impacto en el rendimiento y la conversión.

En el presente trabajo se estudió la cinética de la fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa, una fruta exótica, poco explotada en nuestro país; usando *Saccharomyces cerevisiae*, y tomando en cuenta la influencia de variables tales como: la concentración del sustrato, el pH, la temperatura y el porcentaje de levadura.

Durante el desarrollo de la experimentación se analizó, la formación de etanol mediante técnica HPLC, el consumo de sustrato y el consumo de azúcares reductores para controlar el proceso.

La fermentación alcohólica se llevó a cabo en un reactor discontinuo, realizando un acondicionamiento al zumo de pomarrosa para hacerlo apropiado a las levaduras de la fermentación; se obtuvo un ajuste cinético de primer orden; ya que a concentraciones bajas de sustrato existe una dependencia aproximadamente lineal de la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato.

2. PROCESO FERMENTATIVO

La fermentación alcohólica es un fenómeno catabólico totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico, en este caso el etanol, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono, generalmente azúcares como son: la glucosa, la fructosa, la sacarosa.

Las principales responsables de esta transformación son las levaduras; la *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia.

La estequiometría de la reacción de fermentación, hace pensar que se trata de un proceso sencillo, sin embargo, la secuencia de transformaciones es para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de bióxido de carbono es un proceso muy complejo, pues al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse.

El biorreactor es la unidad básica utilizada en el proceso fermentativo, mediante el uso de éste es posible controlar las variables que inter-

vienen en el proceso como: pH, temperatura y agitación.

En la cinética de crecimiento de las levaduras en un cultivo discontinuo, se aprecian varias fases de crecimiento celular: la fase de adaptación, en la cual los microorganismos se adaptan a un medio nuevo y la velocidad de reacción es prácticamente cero; en la fase exponencial, la síntesis de todos los nutrientes celulares aumentan a una velocidad constante de modo que la población de células se duplica continuamente; la fase estacionaria, que se caracteriza porque en ésta no se produce ningún crecimiento neto, y la fase de muerte celular, en la cual disminuye la densidad de células formadas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Equipos

Mediante el uso del biorreactor para la fermentación se logró controlar el pH, la temperatura y la agitación para evitar la sedimentación de células.

Para el análisis de formación de etanol durante el proceso de fermentación, se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC), con la ventaja de que en la misma se emplean pequeñas cantidades de muestras para su análisis.

3.2 Experimentación

- Mediante evaporación se concentró el zumo de pomarrosa a los grados brix deseados (18, 20 y 22).
- Se reguló el pH (3,5 ó 4,5).
- En el 20% del zumo, se inoculó la levadura para su crecimiento y en el 80% restante se colocó fosfato de amonio como nutriente.
- Se mezclaron las dos partes para llevar a cabo la fermentación en recipientes plásticos (reactores elementales construidos manualmen-

te) y se colocaron en una estufa para controlar la temperatura a 35°C, durante 12 horas.

- Se analizó la formación de: etanol por HPLC, el consumo de sustrato por cuantificación de azúcares reductores y el crecimiento microbiano por el método del peso seco.
- Mediante pruebas de catación se determinaron las mejores condiciones iniciales del zumo.
- Se realizó nuevamente el experimento a estas condiciones en un biorreactor para verificar la reproducibilidad.

4. RESULTADOS

4.1 Formación de etanol

Tabla 1. Etanol obtenido en el biorreactor para la mejor condición

t (h)	Etanol (mg/ml)	Etanol (° GL)
0	0	0
1	2,713	0,344
2	5,019	0,636
4	7,982	1,012
6	39,38	4,991
8	53,04	6,722
11	67,36	8,538
12	68,95	8,739
MD	505,165	62,885

MD = Muestra obtenida después de 12 horas de fermentación y concentrada mediante destilación.

4.2 Modelos cinéticos y rendimiento del proceso

Los siguientes modelos cinéticos corresponden a la experimentación realizada en el biorreactor, a la mejor condición definida mediante catación muestra G: 20°Brix; 3,5% de levadura y pH= 3,5.

Tabla 2. Modelos cinéticos obtenidos en el biorreactor para la muestra G

Modelo Cinético	Ecuaciones Cinéticas
Michaelis Menten	$(-V_s) = \frac{-0,02119 * C_s}{-0,3066 + C_s}$
Primer Orden	$(-V_s) = 0,0685C_s$
Autocatalítica	$(-V_s) = 0,5474 * C_c * C_s$
Monod	$(-V_c) = \frac{3,3262 * C_s * C_c}{4,2808 + C_s}$

Vs: velocidad de consumo de sustrato en g/ml.h

Cs: concentración de sustrato en g/ml

Cc: concentración de microorganismos en g/ml

Vc: velocidad de crecimiento de microorganismos en g/ml.h

Tabla 3. Concentración de sustrato teórico y experimental para la muestra G

Tiempo	Concentración de Sustrato experimental	Modelo de Michaelis Menten (CS teórico)	Cinética de Primer Orden (CS teórico)	Modelo Autocatalítico (CS teórico)
h	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml
0	0,198	0,1746	0,188	0,198
1	0,169	0,1618	0,169	0,181
2	0,149	0,1496	0,153	0,164
4	0,123	0,1247	0,124	0,135
6	0,099	0,1005	0,101	0,110
8	0,079	0,0802	0,0802	0,090
11	0,061	0,0658	0,061	0,064
12	0,057	0,0658	0,055	0,058

Tabla 4. Velocidad de reacción teórica y experimental para la muestra G

Tiempo	Concentración de Sustrato experimental	Modelo de Michaelis Menten (teórico)	Cinética de Primer Orden (teórico)	Modelo Autocatalítico (teórico)
h	g/ml	g/ml	g/ml	g/ml
0	0,0252	0,0339	0,0203	0,00688
1	0,0215	0,0235	0,0174	0,00603
2	0,0185	0,0184	0,0153	0,00543
4	0,0135	0,0132	0,0126	0,00468
6	0,0097	0,0095	0,0102	0,00389
8	0,0071	0,0070	0,0081	0,00320
11	0,0055	0,0050	0,0063	0,00254
12	0,0055	0,0046	0,0059	0,00240

Tabla 5. Rendimiento y eficiencia del proceso fermentativo para la mejor condición

CASOS	Rendimiento Experimental (g etanol/g sustrato)	Eficiencia (%)
A	0,234	45,79
B	0,437	85,72
C	0,226	44,23
D	0,313	61,19
E	0,255	49,96
F	0,349	68,29
G	0,222	43,44
H	0,309	60,47
I	0,417	81,64
J	0,369	72,19
K	0,448	87,65
L	0,398	76,85
Biorreactor	0,469	91,92

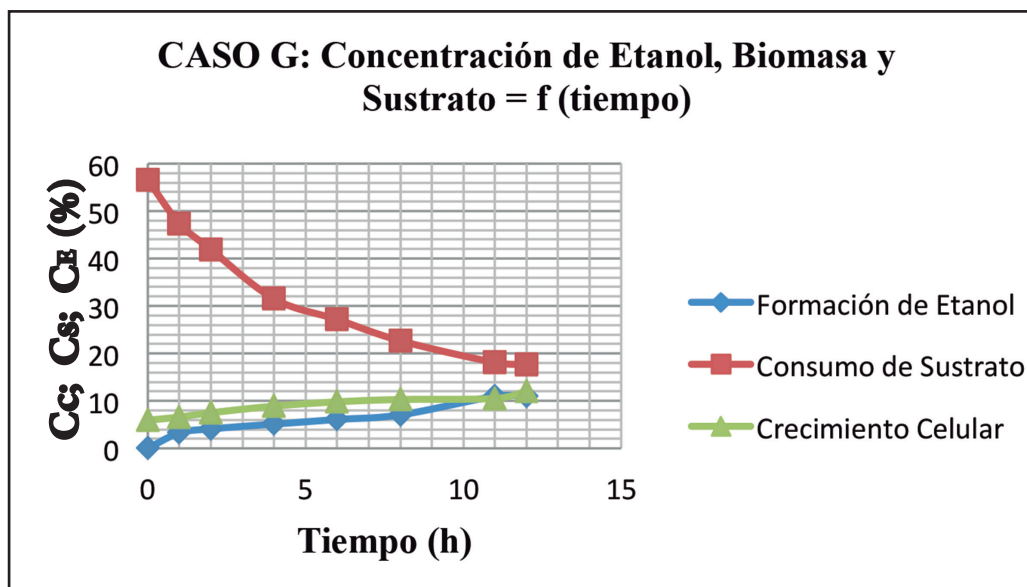


Figura 1. Concentración de sustrato, biomasa y etanol en función del tiempo (Caso G).

5. DISCUSIÓN

- En esta investigación fue necesario realizar una evaporación del zumo de pomarrosa, para llegar a los grados brix propuestos en el diseño experimental; es por esta razón, que no sería factible obtener etanol a partir de esta fruta, debido al costo adicional que representaría el proceso de evaporación; además se necesitaría mayor cantidad de fruta para obtener la mitad o un poco menos del zumo concentrado, dependiendo de la concentración inicial de azúcares.
- De acuerdo con los resultados obtenidos se puede decir que el periodo de adaptación de la levadura fue corto y se empezó a formar rápidamente el etanol, mediante el consumo del sustrato; esto también pudo evidenciarse por el gas desprendido en los reactores elementales; lamentablemente no se pudo determinar con precisión el tiempo en el cual concluyó el proceso fermentativo, aunque, de acuerdo con los resultados observados, a las doce horas de fermentación se obtuvieron datos de formación de etanol casi constantes, que los analizados a las 11 horas.

- Los rendimientos del etanol de la bebida alcohólica obtenida para la mayoría de los casos son menores al valor teórico, dando como resultado una eficiencia del proceso fermentativo menor al 50% en la mayoría de los casos, lo que indica que no se han consumido los azúcares reductores en su totalidad; por tanto es necesario incrementar el tiempo de reacción para el aprovechamiento total de los azúcares fermentables.

6. CONCLUSIONES

- El grado alcohólico, antes y después de la destilación, para la mejor condición determinada por catación (20° brix, 3,5 de pH y 3,5% de levadura), es mayor para el experimento realizado en el biorreactor, que para el que se realizó en los reactores elementales. Por lo tanto se puede concluir que el cambio de pH en el transcurso de la fermentación producido por el metabolismo de los microorganismos afecta el proceso fermentativo en los reactores construidos manualmente, lo que no sucede con el biorreactor en el que se puede controlar esta variable.

- De la Figura 1 se concluye que a medida que se va consumiendo el sustrato, aumentan las células y la formación de etanol.
- Del análisis ANOVA realizado se concluye que las interacciones que influyen en el rendimiento del etanol son: la concentración de grados brix con porcentaje de levadura, y porcentaje de levadura con el pH.
- Del análisis estadístico de las interacciones se concluye que las mejores condiciones a las cuales debe estar el zumo de pomarrosa inicialmente para obtener un buen rendimiento son: concentración de sustrato 22° brix; 3,5% de levadura y pH de 3,5.
- La fermentación alcohólica del zumo de pomarrosa se ajusta a una cinética de primer orden, ya que a concentraciones bajas de sustrato existe una dependencia aproximadamente lineal de la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato.
- HAENH, Hugo, "Bioquímica de las Fermentaciones", Primera Edición, Editorial Aguilar, Madrid, 1956. 290 p.
- JAGNOW, H. "Biotecnología. Introducción con experimentos modelo". Editorial Acribia, S.A. Primera Edición, Zaragoza, 1991. 262 p.
- LEVENSPIEL, Octave, "Ingeniería de las Reacciones Químicas", Tercera Edición, Editorial Limusa, México, 2004. 669 p.
- MERCHUK, José, "Microbiología Industrial", Editorial Limusa, Segunda Edición, España 1999. 108 p.
- SCRAGG, Alan; "Biotecnología para ingenieros, sistemas biológicos en procesos tecnológicos", Editorial Limusa, Primera Edición, México DF, 1997. 410 p.
- SOBERÓN, Francisco, "La ingeniería genética y la nueva biotecnología", Primera Edición, Editorial ISBN, México, D.F, 1996. 181 p.

BIBLIOGRAFÍA

- DORAN, Pauline, "Principios de Ingeniería de los Bioprocesos", Editorial Acribia, S.A, España, 1998. 385 p.
- USSEGLIO, L. "Química Enológica". Editorial Mundi-Prensa, Segunda Edición, Madrid, 1998. 400 p.
- WARD, O.P. "Biotecnología de la fermentación". Editorial Acribia, S.A, Segunda Edición, Zaragoza, 1991. 459 p.

