

DESARROLLO DE PROCESOS INNOVADORES PARA EL TRATAMIENTO Y VALORICACIÓN DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA DE SIDRA

Bracalenti M. Agostina^A, Berrón Contanza^A, Spesot Valeria^B

^AFacultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas. ^BFacultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

Área: Ingeniería
Sub-Área: Ambiental
Grupo: Y

Palabras clave: Ácido acético, Sidra, Efluentes.

INTRODUCCIÓN

Dentro del proceso de producción de sidra, se generan efluentes con un elevado contenido de alcohol y carbohidratos remanentes de la fermentación o que son agregados al finalizar el proceso, para obtener el producto terminado. Estos efluentes tienen un contenido de materia orgánica superior a 180.000 mgO₂/L, el que debe ser reducido previo a su vertido en un cuerpo receptor. El contenido de azúcares y etanol, permite visualizarlos como materia prima para la producción de ácido acético y etanol, productos de valor agregado.

OBJETIVOS

- Evaluar el efecto de los conservantes (dióxido de azufre y sorbato de potasio) sobre la fermentación alcohólica de los azúcares presentes en los residuos de sidra.
- Evaluar los efectos de los conservantes (dióxido de azufre y sorbato de potasio) en la fermentación acética de desechos de sidra y analizar estrategias para evitar estos efectos.
- Evaluar el rendimiento de fermentación de ácido acético utilizando residuos de sidra y sidra previamente fermentada con levaduras.

METODOLOGÍA

Fermentación alcohólica

Para los ensayos de producción de bioetanol, se utilizaron levaduras comerciales *Saccharomyces cerevisiae* var. Windsor. El inóculo se desarrolló con agitación constante durante 12-18 horas a 30 ± 2 °C en medio de cultivo "YPG". Se estudió el efecto del sorbato de potasio, dióxido de azufre y etanol inicial suplementando los mismos en un medio sintético con 90 g/L de azúcares y 15 g/L de extracto de levaduras como fuente de nutrientes. Las fermentaciones se realizaron en reactores de 500 mL. Se realizó un seguimiento en el tiempo de los siguientes parámetros:

- Concentración de etanol. Mediante un equipo estático desarrollado por el grupo de trabajo sobre la base de un sensor de alcohol de óxido de estaño.
- Concentración de azúcares reductores. Método descrito por Miller (1959).
- Concentración de biomasa. Espectrofotométricamente en el rango 400-600 nm.

- Demanda química de oxígeno (DQO). Mediante técnicas estándar (Eaton, 2005).

Fermentación acética

Se utilizaron bacterias comerciales. Se partió de cepas conservadas a -80°C y se recuperaron en medio de cultivo "AE". Un stock de trabajo se mantuvo en medio AE sólido. Las fermentaciones se realizaron en erlenmeyer de 500 ml a 30°C , provistos de aireación a través de un difusor de vidrio sinterizado acoplado a un compresor, y agitación magnética. El método de cultivo fue semi-continuo, así una vez alcanzada la concentración de ácido acético deseada, 1/3 o 1/2 del volumen fue removido y reemplazado por medio a ensayar.

Se estudió el efecto del sorbato de potasio y dióxido de azufre utilizando medio AE. Para el caso del dióxido de azufre se utilizó un generador "in situ" (metabisulfito de potasio). Se realizó una curva de calibración entre el metabisulfito añadido y el dióxido de azufre libre obtenido en el medio, y su concentración se midió por el método de Ripper. Para el caso del sorbato de potasio se añadió como sal de grado analítico a la concentración deseada.

Se evaluó el rendimiento de la fermentación acética utilizando sidra previamente fermentada con levaduras, las que consumen los azúcares produciendo más etanol. Antes de la fermentación acética, las levaduras fueron separadas por centrifugación.

Se utilizó además un reactor a escala banco de 6 litros de volumen (construido ad hoc), provisto de sistema de control de temperatura, sensor de oxígeno disuelto y regulador de velocidad de agitación y aireación. En los ensayos se realizó un seguimiento en el tiempo de los siguientes parámetros:

- Concentración de biomasa. Espectrofotométricamente en el rango 400-600 nm.
- Concentración de ácido acético, por titulación ácido-base.

RESULTADOS OBTENIDOS

Ensayos de fermentación alcohólica.

El sorbato de potasio en la fermentación alcohólica de la sidra, no mostró efectos a pH 5, mientras que a pH 3,5 la biomasa se vio severamente afectada. Sin embargo el consumo de azúcares y la producción de etanol fueron similares en ambas condiciones. En el caso del SO_2 , a pH 5 se observó un leve efecto inhibitorio, y a pH 3,5 este conservante inhibió completamente el crecimiento de la biomasa, consumo de azúcares y producción de etanol.

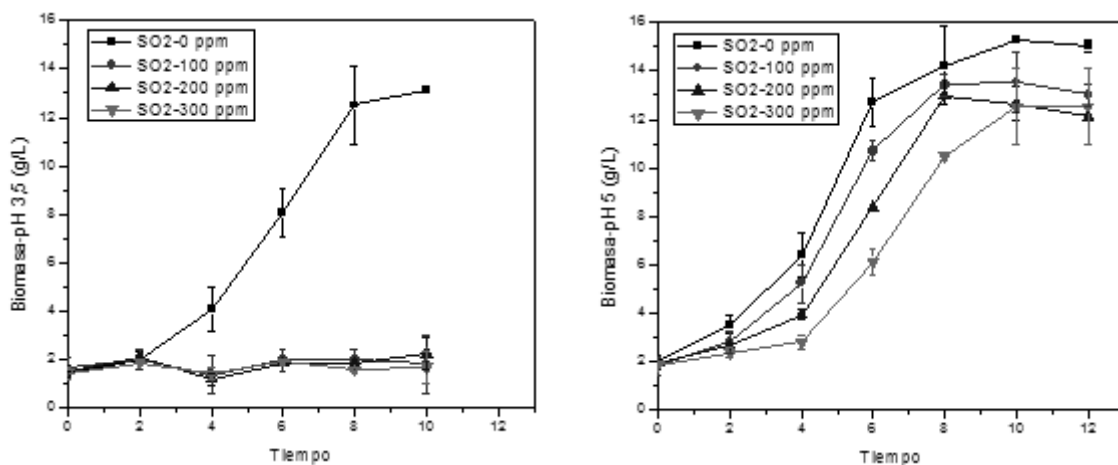


Figura 1. Evolución de la biomasa a los pH estudiados, a diferentes concentraciones de SO_2 total, expresado en ppm.

El contenido de etanol inicial para concentraciones de etanol por encima de 4 % v/v, mostró un efecto inhibitorio para los 2 pH estudiados, sin embargo el consumo de azúcares fue total en menos de 12hs. La producción de etanol fue similar, observándose una ligera disminución con el aumento de la concentración de etanol.

Ensayos de fermentación acética

En los ensayos de fermentación acética se puede observar una fase lag prolongada en la primera experiencia, que luego disminuye, siendo el tiempo total de la última experiencia de 16 horas. En ésta última experiencia se observa que la velocidad promedio de fermentación (≈ 1 ácido acético/L h), es similar a la reportada para las fermentaciones a escala industrial.

Se realizaron diferentes ensayos utilizando medio AE suplementado con sorbato de potasio en un rango de concentraciones entre 0 y 0,4 g/L y como puede apreciarse en la figura 2, no hubo un efecto inhibitorio.

Se estudió el efecto de 8, 16 y 24 mg/L de SO_2 libre, donde se observó que todas las concentraciones causan un efecto bactericida disminuyendo fuertemente el número de bacterias viables en el tiempo. Como estrategia para eliminar el SO_2 de los medios se estudió el agregado de H_2O_2 , la cual resultó ser efectiva en un tiempo inferior a los 15 minutos, para remover el SO_2 oxidándolo a sulfato.

Sin embargo, las fermentaciones realizadas directamente en sidra previa eliminación del sorbato no mostraron crecimiento de bacterias ni producción de ácido acético. Esto podría indicar la presencia de alguna otra sustancia inhibitoria del crecimiento, o un exceso de agua oxigenada, la cual también es bactericida. Por este motivo, se realizaron ensayos utilizando KMnO_4 como agente oxidante, para remover el agua oxigenada remanente.

Se realizaron fermentaciones utilizando sidra comercial, eliminando el SO_2 con agua oxigenada y agregando una concentración de KMnO_4 para eliminar el exceso de la misma. Se pudo observar en la figura 3 que el agregado de KMnO_4 permitió llevar a cabo la fermentación acética, indicando que un exceso de H_2O_2 sería perjudicial para el proceso.

Se estudió utilizar la sidra, previamente fermentada por levaduras para disminuir el contenido de azúcares y al mismo tiempo aumentar el contenido de etanol.

Se realizaron experiencias donde se utilizó la sidra fermentada, colocando 75% de sidra fermentada y 25% de agua destilada, de modo de disminuir la concentración de etanol inicial, y obtener un producto que supere el 4% m/v de ácido acético, exigido por el Código Alimentario Argentino (CAA). Una vez que la concentración de ácido acético deseada fue alcanzada, un tercio de medio se reemplazó por la mezcla 75% sidra fermentada / 25% agua. En la figura 3 se observan 6 fermentaciones sucesivas utilizando sidra fermentada.

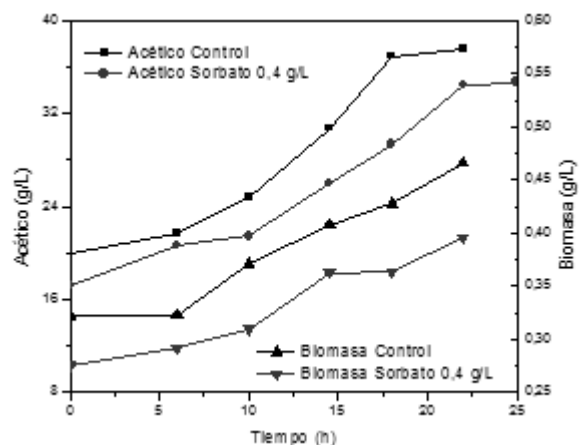


Figura 2. Efecto de adicionar 0,4 g/L de sorbato de potasio.

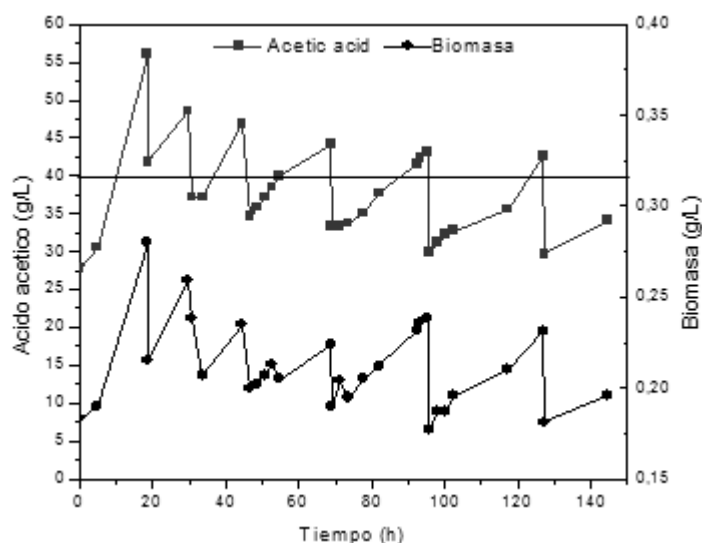


Figura 3. Evolución del ácido acético y de la biomasa cuando se utilizó sidra fermentada como medio de acetificación.

CONCLUSIONES

Se verificó un fuerte efecto inhibitorio del dióxido de azufre y del sorbato de potasio sobre la fermentación alcohólica de los azúcares presentes en la sidra a pH 3,5 (propio del producto). Sin embargo, a pH 5 la fermentación puede llevarse a cabo con éxito.

En cuanto a la fermentación acética, el dióxido de azufre inhibió completamente el crecimiento de la biomasa de bacterias acéticas y es necesaria su remoción de la sidra para poder llevar a cabo una fermentación con éxito. El sorbato de potasio no mostró ningún efecto sobre el crecimiento de la biomasa y la producción de ácido acético incluso para concentraciones mayores a las permitidas por el CAA.

Debido a que los efluentes contienen un 9% m/v de azúcares, la utilización de éstos para la producción de ácido acético está limitada por el CAA que establece un máximo de 2% m/v de azúcares. La fermentación alcohólica previamente estudiada representa una solución para este problema, ya que permite remover los azúcares aumentando el contenido de etanol.

La utilización de la sidra previamente fermentada con levaduras para la producción de vinagre de sidra, fue probada con éxito, siempre que el efluente sea previamente acondicionado eliminando el dióxido de azufre remanente, lo cual se logró mediante el agregado de agua oxigenada y permanganato de potasio.

La aplicación de este proceso podría eliminar las necesidades de tratamiento, y el uso de estos residuos como materia prima de un proceso de producción rentable.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- **Arroyo-Lopez F.N., Bautista-Gallego J., Duran-Quintana M.C., Garrido-Fernandez A.** 2008 "Modelling the inhibition of sorbic and benzoic acids on a native yeast cocktail from table olives". *Food Microbiol.*, 25, 566-574.
- **Du Toit W.J., Pretorius I.S., Lonvaud-Funel A.** 2005. "The effect of sulphur dioxide and oxygen on the viability and culturability of a strain of *Acetobacter pasteurianus* and a strain of *Brettanomyces bruxellensis* isolated from wine". *J Appl Microbiol.*, 98, 862-871.