(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 638 369**

(51) Int. CI.:

C12P 1/00 (2006.01)
C12P 7/46 (2006.01)
C12P 7/56 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.10.2010 PCT/EP2010/065395**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011 WO11045365**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.10.2010 E 10766273 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2017 EP 2488651**

(54) Título: **Procedimiento de fermentación a presión reducida con eliminación del agua**

(30) Prioridad:

14.10.2009 EP 09172984

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.10.2017

(73) Titular/es:

PURAC BIOCHEM BV (100.0%)
Arkelsedijk 46
4206 AC Gorinchem, NL

(72) Inventor/es:

VAN BREUGEL, JAN;
GROOT, WILLEM JACOB y
JANSEN, PETER PAUL

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de fermentación a presión reducida con eliminación del agua

Los procedimientos de fermentación son bien conocidos en la materia. Se usan en la elaboración de diversos componentes tales como ácidos, incluyendo ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico y ácido succínico, alcoholes, tales como etanol, propanol, butanol y eritritol, y otros numerosos componentes de origen biológico, tales como vitaminas.

En la materia existe una necesidad continua de procedimientos de fermentación mejorados. La presente invención proporciona ahora un procedimiento de fermentación mejorado, que resuelve varios de los problemas asociados con los diversos procedimientos de fermentación conocidos en la materia.

La presente invención se refiere a un procedimiento de fermentación en el que se pone en contacto una fuente de carbohidrato en condiciones de fermentación con un microorganismo en un caldo de fermentación acuoso para formar un producto de fermentación que es una sal o un producto con un punto de ebullición por encima del punto de ebullición del agua, en el que el procedimiento de fermentación se lleva a cabo a una presión que está por debajo de la presión atmosférica, y al menos a un valor en el que el medio de reacción está en su punto de ebullición a la temperatura de fermentación, evaporándose el agua y eliminándose del reactor durante la fermentación en una cantidad que es al menos el 20 % del volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación.

El punto crucial de la presente invención es que el procedimiento de fermentación se lleva a cabo a una presión reducida, es decir, a una presión por debajo de la presión atmosférica, dando como resultado la evaporación y la eliminación de una cantidad sustancial de agua. El límite inferior de la presión está proporcionado por la consideración de que el medio de reacción debería estar en fase líquida en las condiciones de fermentación. Esto significa que a la temperatura de fermentación, la presión debería ser tal que el medio de fermentación esté en su temperatura de ebullición, o mayor. Esto se analizará con más detalle a continuación.

El procedimiento de fermentación según la invención tiene diversas ventajas.

Una característica de la invención es que resuelve el problema del exceso de agua asociado con algunos procedimientos de fermentación conocidos en la materia. En un procedimiento de fermentación la fuente de suministro, generalmente una fuente de carbohidrato, es añadida al reactor junto con agua, por ejemplo, en una forma disuelta. Además, en algunas ocasiones pueden añadirse corrientes adicionales tales como agentes reguladores del pH, de nuevo en forma de soluciones acuosas. Esto puede dar lugar a la formación de corrientes de un producto diluido, que puede necesitar el uso de etapas de eliminación del agua, por ejemplo, durante el procedimiento. Sin embargo, esto tiene varios inconvenientes. En primer lugar, cuando se elimina el medio de reacción, esto puede estar asociado con la eliminación del producto líquido, que da lugar a una pérdida de rendimiento en el procedimiento. Además, cuando el volumen de agua eliminado durante o después de la fermentación es grande, esto requiere el uso de un gran aparato que, por su naturaleza, es caro. Consecuentemente, existe una necesidad de un procedimiento de fermentación que reduzca el exceso de agua en el fermentador de una forma rentable.

Ahora se ha averiguado que este problema puede ser resuelto de una forma elegante llevando a cabo la fermentación a una presión reducida. La reducción de la presión da lugar a un aumento en la evaporación del agua, que a continuación es eliminada, y con ello a corrientes de producto más concentradas.

Una ventaja adicional del procedimiento según la invención reside en la eliminación del calor generado durante la fermentación.

Convencionalmente, los procedimientos de fermentación se llevan a cabo a una temperatura constante. El calor generado durante la fermentación debe ser eliminado del sistema. En el procedimiento según la invención, la aplicación de vacío da como resultado la evaporación de líquido, y esto da lugar a la eliminación del calor del sistema. Consecuentemente, es una ventaja del procedimiento según la invención que se reduce la necesidad de la eliminación del calor generado durante el procedimiento de fermentación.

Para mantener la temperatura de fermentación en el valor requerido, puede ser necesario proporcionar calor adicional al sistema. Cuando se usa calor residual de baja calidad para proporcionar este calor adicional, el procedimiento según la invención puede llevarse a cabo de una forma eficaz. Un calor residual de baja calidad puede derivar del propio procedimiento de fermentación, de las etapas de concentración adicionales del procedimiento o de otras fuentes disponibles. Por lo tanto, en una realización, en el procedimiento según la invención puede proporcionarse un calor residual de baja calidad. En el contexto de la presente memoria descriptiva, la expresión calor residual de baja calidad se refiere al calor derivado de corrientes de suministro calientes con una temperatura por debajo de 100 ºC, más en particular por debajo de 70 ºC. El uso de corrientes con una temperatura de suministro de entre 5 y 25 ºC por encima de la temperatura de fermentación, más en particular de entre 5 y 15 ºC, es particularmente atractivo.

Se aprecia que en la materia se han descrito procedimientos de fermentación en los que se aplica una presión

reducida para eliminar un producto de reacción con una mayor volatilidad que el agua, y en los que el agua evaporada conjuntamente es parcialmente condensada y devuelta al recipiente de reacción, por ejemplo, usando un condensador. Para la persona experta será evidente que cuando la presente memoria descriptiva menciona que se elimina el agua, se entiende que de hecho se elimina y no se evapora, se condensa y se devuelve directamente al reactor.

También se aprecia que J. Ballonge et al. (Enhancement of Solvents Production by *Clostridium acebutilicum* Cultivated on a Reducing Compounds Depletive Medium, Biomass, 1986, páginas 121-129) describen la formación de acetona a través de un procedimiento de fermentación. Se establece que puede aplicarse una presión reducida para eliminar el hidrógeno del medio para suprimir la formación del producto secundario n-butanol, que es tóxico para el microorganismo. Esta referencia no desvela que el agua se evapore y se elimine del reactor durante la fermentación en una cantidad que es al menos el 20 % del volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación.

Una característica adicional de la presente invención es que puede obtenerse un aumento en el rendimiento del producto de fermentación en comparación con los sistemas de fermentación en los que el agua se elimina través de otros medios, por ejemplo, en forma de una corriente secundaria. Esto puede ser así para cualquiera o ambos de los rendimientos de producto deseado por gramo de sustrato, y el rendimiento del producto deseado por litro de medio de fermentación. Esto es debido a que la eliminación del exceso de agua a través de una evaporación como resultado de la aplicación de una presión reducida no está acompañada por la eliminación del producto de la fermentación, en contraste con la eliminación a través de otros medios, por ejemplo, en forma de una corriente secundaria. Además, debido a que en el procedimiento según la invención el agua se elimina a través de una evaporación, la corriente de agua eliminada del reactor puede no requerir una purificación adicional.

Adicionalmente, se ha averiguado que el procedimiento de la presente invención puede dar lugar a una mejora en la calidad de la fermentación. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se sospecha que la aplicación de una presión reducida puede dar como resultado la evaporación de los contaminantes de baja ebullición que inhiben al microorganismo, o que causan olores desagradables, sabores desagradables u otras propiedades indeseables en el producto final.

El procedimiento de la presente invención es aplicable a la formación de productos de fermentación que son sales o que tienen un punto de ebullición por encima del punto de ebullición del agua. Si el producto de fermentación tiene un punto de ebullición por debajo del punto de ebullición del agua, se evaporará y se eliminará con el agua a una presión reducida. Esto no resuelve el problema subyacente de la presente invención, que es la provisión de un caldo de fermentación con un contenido en agua reducido y un aumento en el rendimiento del producto.

El procedimiento según la invención halla aplicación en numerosos tipos de procedimientos de fermentación. Se ha averiguado que es particularmente adecuado para los procedimientos de fermentación que se llevan a cabo en condiciones anaerobias.

Los productos adecuados que pueden ser elaborados a través del procedimiento según la invención incluyen ácidos orgánicos (o las sales de los mismos), tales como ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico y ácido succínico, alcoholes, tales como butanol y eritritol, y otros numerosos componentes de origen biológico, tales como vitaminas. Se prefiere la elaboración de ácidos orgánicos como producto principal, siendo particularmente preferida la elaboración de ácido láctico y de ácido succínico (o las sales de los mismos).

En el procedimiento de la invención se pretende que el producto o los productos de fermentación a los que aspira la fermentación, también indicados como productos principales de la fermentación, es (son) sal(es) y/o tiene(n) un punto de ebullición por encima del punto de ebullición del agua. Esto es, tiende(n) a permanecer en el medio de fermentación en forma líquida o sólida. Esto no excluye la formación de subproductos que no son sales y tienen un punto de ebullición por debajo del punto de ebullición del agua, y que por lo tanto serán eliminados en su totalidad o en parte durante el procedimiento de fermentación debido a la aplicación de vacío. El rendimiento total del principal producto (o productos) de fermentación será generalmente de al menos el 20 % en peso, calculado en forma de gramo de producto por gramo de sustrato convertido, en particular, de al menos el 30 % en peso, más en particular de al menos el 50 % en peso. Dependiendo de la naturaleza de la fermentación, el rendimiento total del principal producto (o productos) de la fermentación puede ser de al menos el 60 % en peso, calculado en forma de gramo de producto por gramo de sustrato convertido, en ocasiones de al menos el 80 % en peso, más en particular de al menos el 80 % en peso, o incluso de al menos el 90% en peso.

Se aprecia que la presente invención no está dirigida a procedimientos de fermentación que aspiran a la elaboración de etanol, en los que el total de etanol y de dióxido de carbono supone hasta el 70 % en peso o más del producto, calculado sobre la cantidad de sustrato convertido. Se aprecia que la presente invención no está dirigida a los procedimientos de fermentación en los que el hidrógeno es el producto principal.

Como se ha analizado anteriormente, la fermentación se lleva a cabo a una presión que está por debajo de la presión atmosférica. La presión mínima a la cual puede llevarse a cabo el procedimiento está determinada por la temperatura de fermentación. La presión debería ser al menos lo suficientemente alta como para que el medio de

fermentación esté en o por debajo de su punto de ebullición. Si la temperatura del medio de fermentación está por encima de su punto de ebullición, el medio de fermentación se evaporará y la temperatura descenderá hasta que el medio esté en su punto de ebullición. En otras palabras, la presión mínima para el procedimiento según la invención es la presión de vapor del líquido a la temperatura de fermentación.

El punto de ebullición de un medio de reacción es la temperatura a la cual la presión de vapor del líquido se iguala con la presión del entorno que rodea al líquido. La ebullición es el proceso en el cual las moléculas de cualquier parte del líquido escapan a la fase de vapor, dando como resultado la formación de burbujas en el líquido. El punto de ebullición también puede indicarse como la temperatura de saturación, a saber, la temperatura a la cual el líquido, a una presión dada, está saturado de energía térmica y a la que la adición de cualquier energía dará como resultado una transición de fase.

La fermentación se efectuará a una temperatura de fermentación que se seleccionará en cada caso. Algunas consideraciones incluyen un máximo rendimiento del producto deseado y una máxima conversión. Está en el ámbito de la persona experta seleccionar las condiciones apropiadas. La temperatura puede variar a lo largo del procedimiento de fermentación, por ejemplo, para optimizar el crecimiento al inicio del procedimiento y el rendimiento más cerca del final del procedimiento. Esto puede dar como resultado una variación en la presión de fermentación.

Dicho sea de paso, debería apreciarse que, sorprendentemente, se ha averiguado que es posible llevar a cabo el procedimiento de la presente invención a una presión a la cual el medio de fermentación ebulle. Aparentemente, el microorganismo no se ve afectado perjudicialmente por estar rodeado por un medio en ebullición. Consecuentemente, es una realización particular de la presente invención la selección de la presión de forma que el medio de fermentación acuoso ebulla a la temperatura a la cual se lleva a cabo la fermentación.

La presión aplicada en el procedimiento según la invención está por debajo de la presión atmosférica, para aumentar la evaporación del agua en comparación con un procedimiento llevado a cabo a la presión atmosférica. Por ejemplo, la presión puede seleccionarse para que esté entre 20 mbar y 950 mbar, más en particular entre 40 y 500 mbar.

En el procedimiento según la invención, el agua se evapora y se elimina del reactor durante la fermentación en una cantidad que es al menos el 20 % del volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación. Si la cantidad de agua que se elimina es menor, pueden no obtenerse las ventajas asociadas con la presente invención hasta el punto en que compensen los costes asociados con la misma. La cantidad de agua que se desee eliminar dependerá de diversas características. Una característica es la concentración de la corriente de sustrato. Si el sustrato es proporcionado en una forma relativamente diluida, por ejemplo, para hidrolizados de celulosa, será deseable eliminar más agua que cuando el sustrato es proporcionado en una forma más concentrada. Si se añade una corriente diluida durante la fermentación, por ejemplo, una corriente diluida con un agente regulador del pH tal como una base, será deseable eliminar más agua que cuando no se proporciona dicha corriente, o cuando se proporciona una corriente más concentrada. El límite superior de la cantidad de agua eliminada dependerá de la cantidad de agua que quede en el recipiente de reacción. Esto debería ser suficiente como para permitir una mezcla adecuada en el reactor. Está en el ámbito de la persona experta determinar la cantidad adecuada de agua que se va a eliminar, teniendo en cuenta lo anterior.

Dependiendo de estos diversos parámetros, la cantidad de agua eliminada durante la fermentación puede ser al menos el 40 % del volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación, más en particular al menos el 50 %. En el caso de proporcionar corrientes de sustrato diluidas o de otros líquidos al reactor, la cantidad de agua puede ser mucho mayor, por ejemplo, de al menos el 75 %, o en algunos casos de al menos el 100 %.

En general, la cantidad de agua eliminada en el procedimiento según la invención se regula seleccionando el tiempo durante el cual la presión se reduce y la cantidad de calor que se suministra medio de fermentación. Teniendo en cuenta lo anterior, está en el ámbito de la persona experta la selección de las condiciones de fermentación de forma que se elimine la cantidad deseada de agua.

En una realización de la presente invención, se añade agua durante la fermentación, como se analizará con más detalle a continuación. En esta realización puede ser preferido seleccionar la presión de forma que el volumen de agua eliminada del reactor mediante evaporación sea de al menos el 1 %, en particular de al menos el 5 %, más en particular de al menos el 10 % del total del agua añadida durante la fermentación. En esta realización, el volumen de agua eliminada es a menudo como mucho del 50 % del total del agua añadida durante la fermentación.

En algunos procedimientos de fermentación se añaden soluciones acuosas durante la fermentación, por ejemplo, para añadir agentes de control del pH o en procedimientos de suministro por lotes. En estos procedimientos, la eliminación del agua puede ser de particular interés, debido a que en algunos casos la cantidad de agua añadida durante la fermentación puede ser bastante sustancial. Como un ejemplo de esta situación puede mencionarse aquella en la que una elevada concentración de sustrato inhibe la fermentación, pero en la que el producto no lo hace, por ejemplo, debido a que es sólido.

En una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento de fermentación para la elaboración de un producto que comprende una sal de un ácido. En estos procedimientos de fermentación, el microorganismo produce

un ácido, y se añade una solución de una base al medio de fermentación para mantener el pH en el intervalo requerido para el microorganismo en cuestión, convirtiendo la totalidad o parte del ácido en su correspondiente sal. Esta adición de la base puede estar acompañada por la adición de unas indeseables grandes cantidades de agua.

Algunos ácidos que pueden ser elaborados a través del procedimiento según la invención incluyen ácidos carboxílicos, en particular ácidos carboxílicos seleccionados entre el grupo que consiste en ácidos mono-, di- y tricarboxílicos que tienen 2-8 átomos de carbono. Algunos ejemplos incluyen ácido láctico, ácido propiónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido adípico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido alfa-cetoglutárico, ácido oxalacético, ácido acético y ácido acrílico, o sales de los mismos. En este preciso momento, se consideran preferidos los procedimientos de fermentación que aspiraban a la elaboración de ácido láctico o de ácido succínico, o de las sales de los mismos.

En una realización según la invención, se usa un procedimiento de fermentación en el que el producto al que se aspira está en forma de su sal, o tiene un punto de ebullición por encima del del agua, mientras que un subproducto principal tiene un punto de ebullición por debajo del del agua. En este caso, la realización de la fermentación a una presión reducida asegura la eliminación de unas cantidades sustanciales del indeseable subproducto. Un ejemplo de este tipo de fermentación sería una fermentación ácida mixta, en la que la formación del ácido, en particular de ácido acético, está acompañada por la producción de etanol.

Como se ha analizado anteriormente, durante la fermentación, la formación del ácido da como resultado una disminución en el pH. Para contrarrestar esto y mantener el pH en el intervalo en el que puede funcionar el microorganismo, normalmente se añade una solución básica durante la fermentación. Algunas soluciones básicas adecuadas contienen soluciones que comprenden uno o más de (hidr)óxido de calcio, carbonato de calcio, bicarbonato de calcio, (hidr)óxido de magnesio, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, carbonato de magnesio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio. Dependiendo de la solubilidad de la base, la solución básica mencionada anteriormente puede ser una solución verdadera en el sentido de que la base está completamente disuelta y la solución no contiene componentes sólidos. Sin embargo, la solución básica también puede ser una suspensión, que contiene partículas sólidas además de la base disuelta. En la presente memoria descriptiva la palabra solución pretende incluir ambas realizaciones.

Generalmente, la solución básica es añadida en una cantidad eficaz para controlar el pH del caldo entre aproximadamente 3 y 9, más específicamente entre 5,5 y aproximadamente 7,0.

Se ha averiguado que las soluciones de sales de magnesio, en particular las soluciones de hidróxido de magnesio, tienen que estar relativamente diluidas para permitir una adecuada bombeabilidad. Consecuentemente, en este caso, la concentración de la solución básica será relativamente baja, como resultado de lo cual se añade una cantidad relativamente grande de agua.

Consecuentemente, en una realización, la invención se refiere a un procedimiento para la elaboración fermentativa de un ácido en el que se usa una solución básica de una sal de magnesio para mantener el pH en un intervalo predeterminado.

La elaboración de ácido láctico es una realización preferida de la presente invención. Consecuentemente, en una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento según se define en la reivindicación 1 para la elaboración de ácido láctico, mientras se añade una solución básica al caldo de fermentación durante la fermentación para mantener el pH en un intervalo predeterminado.

La elaboración fermentativa de ácido láctico es bien conocida en la materia. La siguiente descripción se proporciona únicamente como una aclaración general.

La fuente de carbohidrato en la elaboración del ácido láctico comprende generalmente uno o más azúcares, almidón (licuado), jarabe de azúcar o suero de queso, glucosa, fructosa o galactosa, o disacáridos tales como sacarosa o lactosa, hexosas y pentosas de hidrolizados de origen vegetal, tales como desechos biológicos, madera, paja, etc.

Algunos microorganismos adecuados incluyen especies de *Lactobacillus* tales como *L. delbrueckii*, *Bacillus coagulants, Bacillus thermoamilovarans, Bacillus smithii, Geobacillus stearothermophilus* y *Escherichia Coli*.

Cada microorganismo tiene su propio intervalo de pH y temperatura óptimos. La presión que puede usarse depende de la temperatura óptima para el microorganismo.

Si se desea pueden añadirse enzimas durante el procedimiento de fermentación para ayudar en la conversión de la fuente de carbohidrato en compuestos que puedan ser procesados por el microorganismo.

Está en el ámbito de la persona experta la selección de una combinación apropiada de sustrato, microorganismo y condiciones de reacción para obtener un procedimiento de fermentación adecuado para su uso en la presente invención.

En una realización de la presente invención, la fermentación es un procedimiento simultáneo de sacarificación y

fermentación (SSF) en el que se pone en contacto una fuente de alimento con un microorganismo y una enzima.

En un procedimiento simultáneo de sacarificación y fermentación, se somete una fuente de alimento de bajo valor a un procesado enzimático para producir azúcar, que simultáneamente es fermentado en el producto final de la fermentación, por ejemplo, ácido láctico, usando un microorganismo. Se ha averiguado que un procedimiento SSF es un candidato atractivo para una fermentación a presión reducida, debido a que en este procedimiento los indeseables subproductos resultantes de la reacción enzimática son eliminados al menos parcialmente del sistema mediante una volatilización.

La fuente de alimento de bajo valor puede seleccionarse entre almidón e hidrolizados parciales de almidón, conocido también éste último como almidón licuado, maltodextrinas o maltooligosacáridos. Algunas enzimas adecuadas que pueden ser añadidas al medio de fermentación incluyen una o más de alfa-amilasas o glucoamilasas o pululanasa. Alternativamente, la fuente de alimento de bajo valor puede seleccionarse entre materiales que contienen celulosa, tales como desechos biológicos. En este caso, algunas enzimas adecuadas incluyen celulasas.

Consecuentemente, en una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para la producción de ácido láctico o de una sal del mismo en el que se somete una fuente de alimento de bajo valor a un procedimiento simultáneo de sacarificación y fermentación, procedimiento que comprende la sacarificación de la fuente de alimento de bajo valor en un medio que comprende al menos una enzima capaz de convertir una fuente de alimento de bajo valor en un componente azucarado, y simultáneamente fermentar el componente azucarado usando un microorganismo, y opcionalmente el aislamiento del ácido láctico del medio, en el que el procedimiento de fermentación se lleva a cabo a una presión que está por debajo de la presión atmosférica y al menos a un valor en el que el medio de reacción está en su punto de ebullición a la temperatura de fermentación.

Para información adicional sobre un procedimiento SSF adecuado, en particular un procedimiento en el que la fuente de alimento de bajo valor se selecciona entre almidón e hidrolizados parciales de almidón, conocido también éste último como almidón licuado, maltodextrinas o maltooligosacáridos y las enzimas adecuadas que pueden añadirse al medio de fermentación, que incluyen una o más de alfa-amilasas o glucoamilasas o pululanasa, se hace referencia al documento WO03095659.

En general, el uso de una presión reducida no afecta a las propiedades ni a las condiciones de la fermentación. Consecuentemente, la presente invención puede ser aplicada en cualquier procedimiento de fermentación en el que se desee reducir el contenido de agua del producto de fermentación y aumentar el rendimiento del producto, en el que el producto es una sal o un producto con un punto de ebullición por encima del punto de ebullición del agua.

Está en el ámbito de la persona experta determinar si un procedimiento de fermentación en particular puede ser adaptado adecuadamente mediante la aplicación de la presente invención.

La presente invención se aclarará mediante el siguiente ejemplo, sin estar limitada al mismo o por el mismo.

Ejemplo 1

Se equipó un fermentador agitado de 7 litros con un condensador externo acoplado al espacio de cabeza. El condensador se mantuvo a 4 ºC con un criostato. El fermentador y el condensador pudieron ser evacuados con una bomba de vacío. En el fermentador se preparó un medio de fermentación que contiene 1.000 gramos de sacarosa y 2.700 gramos de agua desmineralizada. Se añadieron fosfato de diamonio y sulfato de diamonio como fuente de nitrógeno. Se añadieron vitaminas y oligoelementos como es habitual en la materia.

Al medio de fermentación se añadió un inóculo del 10 % de un microorganismo productor de ácido láctico y el medio de fermentación se llevó hasta una temperatura de reacción de 55 ºC. El microorganismo produjo ácido láctico. El pH del medio fue monitorizado de forma continua y se mantuvo en un valor de 6,4 mediante la adición de una suspensión de hidróxido de magnesio.

Después de 24 horas la presión por encima del medio de fermentación se redujo hasta un valor de 120 mbar. La temperatura del medio de fermentación se mantuvo a 55 ºC. Se observó que el medio de fermentación ebullía durante la fermentación. Sin embargo, el perfil de producción del ácido láctico parecía ser comparable al de una fermentación en condiciones atmosféricas. En 6 horas se evaporaron 1.800 ml de agua y se condensaron en el condensador externo. Se dejó continuar la fermentación. Cuando se hubo consumido todo el azúcar, el caldo de fermentación tenía un volumen de 3.200 ml. En comparación con una fermentación atmosférica convencional, la realización de la fermentación a una presión reducida dio como resultado una reducción en el volumen del líquido de fermentación de prácticamente un 50 %. Adicionalmente, se encontró que el rendimiento de la fermentación, en gramos de lactato de magnesio sólido por litro de caldo de fermentación final, había aumentado.

En este ejemplo la cantidad de agua que se evaporó y se eliminó del reactor durante la fermentación es de un 67 %, calculada sobre el volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación.

Ejemplo 2

Se equipó un fermentador agitado de 7 litros de acero inoxidable con una placa externa y un condensador de marco y un recipiente para la recolección del condensado acoplado al espacio de cabeza. El fermentador y el condensador pudieron ser evacuados con una bomba de vacío de membrana de dirección variable. El fermentador tenía doble pared y se mantuvo a la temperatura deseada con un baño de agua caliente. En el fermentador se preparó un medio de fermentación que contenía 18 kg de sacarosa y 50 l de agua desmineralizada. Se añadieron fosfato de diamonio y sulfato de diamonio como fuente de nitrógeno. Se añadieron vitaminas y oligoelementos como es habitual en la materia.

Al medio de fermentación se añadió un inóculo de 5,8 l de un microorganismo productor de ácido láctico y el medio de fermentación se llevó hasta una temperatura de reacción de 55 ºC. El microorganismo produjo ácido láctico. El pH del medio fue monitorizado de forma continua y se mantuvo en un valor de 6,4 mediante la adición de un 20,7 % en peso una suspensión de hidróxido de magnesio.

Después de 18 horas, la presión por encima del medio de fermentación se redujo hasta un valor de 110-125 mbar. Esta presión se mantuvo mediante un medidor de vacío digital acoplado a la bomba de vacío. La temperatura del medio de fermentación se mantuvo a 55 ºC mediante una sonda de temperatura acoplada al baño de agua caliente. El condensador se mantuvo a 20 ºC con una refrigeración por agua. Se observó que el medio de fermentación ebullía durante la fermentación. Se añadieron 100 ml de agente antiespumante para reducir la espumación. Después de 14 horas, se habían evaporado 32 l de agua y condensado en el condensador externo. El perfil de producción de ácido láctico seguía siendo comparable al de una fermentación en condiciones atmosféricas. Cuando se hubo consumido todo el azúcar, el caldo de fermentación tenía un volumen de 66 l. En comparación con una fermentación atmosférica convencional, la realización de la fermentación a una presión reducida (vacío) dio como resultado una reducción en el volumen del líquido del caldo de fermentación de aproximadamente un 43 %. Se encontró que el rendimiento de la fermentación, en gramos de lactato de magnesio sólido por litro de caldo de fermentación final, había aumentado. La cantidad total de lactato producida mediante el procedimiento de fermentación llevado a cabo a una presión reducida era comparable con la cantidad total producida mediante un procedimiento comparable llevado a cabo en condiciones atmosféricas.

En este ejemplo la cantidad de agua que se evaporó y se eliminó del reactor durante la fermentación es de un 64 %, calculada sobre el volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fermentación en el que se pone en contacto una fuente de carbohidrato en condiciones de fermentación con un microorganismo en un caldo de fermentación acuoso para formar un producto de fermentación que es una sal o un producto con un punto de ebullición por encima del punto de ebullición del agua, en el que el procedimiento de fermentación se lleva a cabo a una presión que está por debajo de la presión atmosférica y al menos a un valor en el que el medio de reacción está en su punto de ebullición a la temperatura de fermentación, evaporándose el agua y eliminándose del reactor durante la fermentación en una cantidad que es al menos el 20 % del volumen de líquido presente en el reactor al inicio de la fermentación.

2. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 1, en el que la presión se selecciona de forma que el caldo de fermentación acuoso ebulla a la temperatura a la cual se lleva a cabo fermentación.

3. Procedimiento de fermentación según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se añade agua durante la fermentación y la presión se selecciona de forma que el volumen de agua evaporada y eliminada del reactor sea al menos un 1 % del total del agua añadida durante la fermentación.

4. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 3, en el que la presión se selecciona de forma que el volumen de agua evaporada y eliminada del reactor sea al menos un 5 % del total del agua añadida durante la fermentación.

5. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 4, en el que la presión se selecciona de forma que el volumen de agua evaporada y eliminada del reactor es al menos un 10 % del total del agua añadida durante la fermentación.

6. Procedimiento de fermentación según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se pone en contacto una fuente de carbohidrato en condiciones de fermentación con un microorganismo en un caldo de fermentación acuoso para formar un producto de fermentación ácido, mientras se añade una solución básica al caldo de fermentación durante la fermentación para mantener el pH en un intervalo predeterminado.

7. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 6, en el que el producto de fermentación ácido comprende uno o más ácidos carboxílicos seleccionados entre el grupo que consiste en ácidos mono-, di- y tricarboxílicos que tienen 2-8 átomos de carbono, o sales de los mismos.

8. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 7, en el que el producto de fermentación ácido comprende uno o más ácidos carboxílicos seleccionados entre ácido láctico, ácido propiónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido adípico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido alfa-cetoglutárico, ácido oxalacético y ácido acético, o sales de los mismos.

9. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 8, en el que el producto de fermentación ácido comprende ácido láctico o ácido succínico o sales del mismo.

10. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 9, en el que el producto de fermentación ácido comprende ácido láctico o una sal del mismo.

11. Procedimiento de fermentación según una cualquiera de las reivindicaciones 6-10, en el que la solución básica comprende uno o más de (hidr)óxido de calcio, carbonato de calcio, bicarbonato de calcio, (hidr)óxido de magnesio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio.

12. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 11, en el que la solución básica comprende hidróxido de magnesio.

13. Procedimiento de fermentación según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el procedimiento de fermentación es un procedimiento simultáneo de sacarificación y fermentación en el que se pone en contacto un alimento con un microorganismo y una enzima.