



APROVECHAMIENTO Y BIOTRANSFORMACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES (ALMIDÓN DE PAPA, NOPAL Y SUERO ÁCIDO) PARA LA ELABORACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO EN BOYACÁ

USE AND BIOTRANSFORMATION OF AGRO-INDUSTRIAL WASTE (POTATO STARCH, NOPAL AND ACID SERUM) TO PRODUCE LACTIC ACID IN BOYACÁ, ALTERNATIVE MATERIAL PLA

Daza Helena, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. , hvdaza@misena.edu.co

Barrera Yineth, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. karinabarrera@misena.edu.co

Fuerte Ángela, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. amfuerte@misena.edu.co

RESUMEN

Dos de las industrias importantes del departamento de Boyacá son la de los lácteos y la de comestibles fritos a base de papa, cuyos procesos productivos generan considerables cantidades de residuos, como el suero ácido y el almidón de papa residual, los cuales, debido a su carga orgánica, requieren de un tratamiento especial y representan un contaminante ambiental en la zona. Ante esta necesidad, el Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) une las capacidades de la especialidad química del Centro Minero, el Centro de Desarrollo Agropecuario y Agroindustrial en Duitama y la asesoría de las líneas de biotecnología y nanotecnología del Tecnoparque SENA en Bogotá, realizan investigaciones para validar los mencionados subproductos industriales, como materia prima para la obtención de ácido láctico, el cual puede utilizarse para la elaboración de ácido poliláctico (PLA), polímero que de entre sus muchos usos, sirve como material alternativo para la creación de empaques biodegradables en el departamento.

Se llevó a cabo un diseño experimental con tres sustratos: almidón de papá (A), Nopal (N) y Suero ácido (S) con tres cepas de bacterias ácido-lácticas: *Lactobacillus Casei* (LC); *Streptococcus Thermophilus* (ET) y *Lactobacillus Delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus*, la cual se denominará MIXTO. Así mismo, se llevó a cabo la caracterización y pretratamiento previo de las materias primas, con la finalidad de verificar el contenido de glucosa para su posterior conversión a ácido láctico. Se evalúan, las cantidades de ácido láctico producidas por las materias primas y los microorganismos, tras el proceso de fermentación láctica, extracción y purificación.

El proceso consiste en la hidrólisis ácida del sustrato, en la cual se obtienen azúcares que, en una segunda etapa, son fermentados para obtener el ácido láctico, posteriormente, se separa la biomasa y las partículas sólidas para finalmente purificar el mencionado ácido. Dados los resultados experimentales en la hidrólisis, el sustrato de Nopal (N), así como la cepa ET no se utilizan en la segunda etapa, por lo tanto, se procesa un total de 14 muestras, siete por cada cultivo (LC y mixto), tres por cada sustrato y un control, todas ellas producen ácido láctico.

Los sustratos tratados con la cepa mixta producen cantidades hasta 68,8% mayores de ácido láctico, respecto de las que fueron tratadas con *Lactobacillus Casei*, finalmente, las que presentaron mejores resultados fueron las MA1 y MS1, esta última con 3673 ppm del ácido.

Palabras Claves: Ácido láctico, Almidón de papa, Bacterias ácido-lácticas, Suero Acido, Residuos agroindustriales.

ABSTRACT

Two key industries in Boyacá are dairy and potato-based fried foods, which productive processes yields substantial waste quantities, like acid whey and residual potato starch, which due to their organic load, requires special treatment and represent an environmental pollutant in the area. Faced with this need, the National Learning Service (SENA) join the capabilities of the Chemistry area of the Centro Minero and the Centro de Desarrollo Agropecuario y Agroindustrial in Duitama and in consultation from the biotechnology and nanotechnology lines of Tecnoparque SENA Bogotá, to perform investigations to validate the capacity of the mentioned industrial products as raw material to obtain polylactic acid (PLA), polymer which between its many utilities, can be used as alternative material to making biodegradable packaging in the department.

An experimental design was carried out with three substrates: potato starch (A), Nopal (N) and Acid whey (S), with three strains of lactic acid bacteria: *Lactobacillus Casei* (LC); *Streptococci Thermophilus* (ET) and a called "mixed" strain, composed of *Lactobacillus Delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *Streptococcus Thermophilus*. Likewise, a previous characterization and pretreatment of the raw materials was carried out to verify the glucose content for its subsequent conversion to lactic acid. The final lactic acid yields from the rsion to lactic acid. The final lactic acid yields from the raw materials with the microorganisms were evaluated, after the lactic fermentation, extraction and purification processes.

The process involves the obtainment of reducer sugars by substratum acid hydrolysis and a second fermentation stage to produce lactic acid, which are subjected to biomass and solid particles segregation to finally, purify the mentioned acid. Given the hydrolysis experimental results, Nopal substratum (N), as well as the strain ET, are not used on second stage, therefore, a total of 14 samples were processed, seven for each strain (Mixed and LC), three for each substratum and one control, all of it yields lactic acid.

Mixed strain treated substrates yields up to 68,8% higher lactic acid quantities, regarding they which was treated with *Lactobacillus Casei*. Finally, MA1 and MS1 samples produces better results, the last of they with 3673 ppm of the acid.

1. INTRODUCCIÓN

Para producir ácido láctico a partir de fuentes renovables como el almidón residual, autores como Holfvendahl y Hahn-Hagerdal (2000) describen las siguientes fases: en primer lugar, la hidrólisis del sustrato en azúcares fermentables, en segundo lugar, la fermentación de azúcares a ácido láctico, una tercera etapa, consistente en la separación de biomasa y partículas sólidas del medio de fermentación y finalmente la purificación del ácido láctico obtenido.

Dentro de la fase de hidrólisis los carbohidratos de los sustratos forman compuestos más simples como la glucosa, (Durruty, 2013). Seguido a lo anterior, el proceso de fermentación es clave para la obtención de ácido, es necesario mencionar, qué con el fin de obtener los mejores rendimientos, con los sustratos propuestos, es crucial elegir el método más adecuado para cada uno de ellos.

Los métodos biológicos para el proceso de fermentación, son el aerobio (se realiza en presencia de oxígeno)

y anaerobio (en ausencia de oxígeno), siendo este último, uno de los más usados para la producción de ácido láctico en laboratorio, en este se usan bacterias ácido lácticas, como *Lactobacilos* y *estreptococos*, entre otros, los cuales pertenecen a los *Bacilos* gram positivos (Orozco, 2011). Un método común consiste en someter los sustratos, en combinación con la cepa apropiada, a medios ácidos, con temperatura de 40°C y tiempo de fermentación entre 3 a 4 días, tras los cuales, los microorganismos consumen eficientemente la glucosa para obtener energía, arrojando como subproducto ácido láctico. Finalmente, el ácido se filtra para eliminar las sustancias insolubles como la biomasa y se destila para concentrar el ácido.

2. METODOLOGÍA

Se llevó a cabo un diseño experimental para la obtención de ácido láctico, inicialmente se proponen tres sustratos: Almidón de papa (A), Mucilago de Nopal en Harina (N) y Suero Acido (S), los cuales se someten a un pretratamiento consistente en la hidrólisis ácida, con el fin de realizar la remoción de los sólidos y la conversión

en azúcares fermentables.

De manera similar, se plantea el uso de tres cepas de bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus Casei* (LC); *Streptococcus Thermophilus* (ET) y la cepa "Mixta" (M), consistente en la mezcla de *Lactobacillus Delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus*, los cuales se activan e inoculan, para su posterior fermentación mediante la preparación de soluciones y medios de cultivo MRS, para el crecimiento de las bacterias, posteriormente, se realiza un conteo Unidades Formadoras de Colonia (UFC), encontrando que la cepa ET, no presenta la cantidad necesaria de estas para poder ejecutar el proceso. Se lleva a cabo un proceso de adaptación de la bacteria al sustrato, preparando un medio de cultivo por componentes.

De esta manera, cada combinación de cepa y sustrato es procesada por triplicado, añadiendo un control, por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS), y posterior determinación del pH y lectura de la absorbancia en espectrofotómetro UV-vis entre 440 nm a 540 nm.

Las variables claves de la fermentación láctica son la concentración de sustrato-bacteria (CSB), temperatura (T), tiempo de fermentación (TF), RPM, pH, azúcares reductores y concentración de Ácido láctico (ppm).

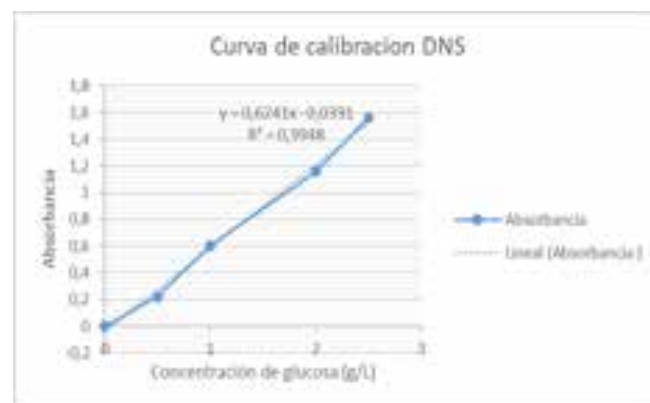
En los pasos finales, se separan los residuos, mediante el método propuesto por Gil-Horan, Domínguez-Espinosa y Pacho-Carrillo, (2008) y se cuantifica el ácido por método de Cloruro férrico.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

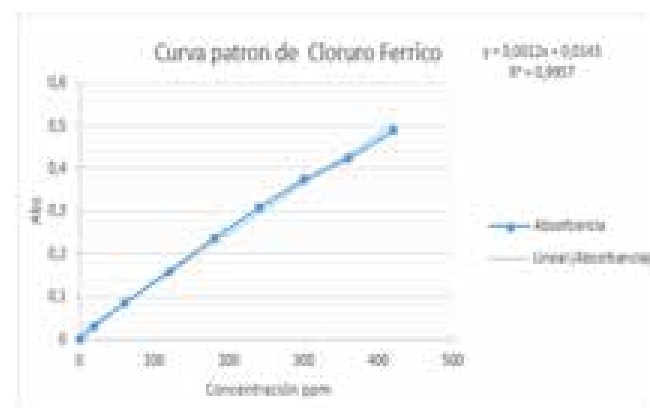
Como se menciona, de las cepas de bacterias planteadas (LC), (ET), (MIXTO), se descarta la ET, debido a que no presenta una cantidad representativa de UFC para la fermentación, mientras que de los tres sustratos propuestos: (A), (S), (N), el sustrato de harina de nopal es desestimado, debido a que no presenta contenido de glucosa, por lo cual, se teoriza que se requiere una enzima capaz de convertir los azúcares en fermentables.

Se evidencia la obtención de ácido láctico en todas las 14 muestras procesadas, como se puede observar en la tabla 1, las variables de proceso se fijan de la siguiente manera: tiempo de fermentación entre 1 a 4 días, temperatura entre 35-38°C y velocidad de 120 a 130 RPM.

Para los ejemplares del Cultivo Mixto, con sustrato de almidón de papa previamente tratado la muestra MA1 exhibe el mayor contenido final de ácido láctico, así como una disminución del pH, de 5,09 a 4,87, en esta misma muestra los azúcares reductores por el método DNS (ver gráfico No. 1) disminuyen de 6813 ppm a 6401 ppm, lo cual se ve representado en el aumento de la concentración de ácido láctico (ver gráfico n°2) de 2806 ppm (día 1) a 3195 ppm (día 4). Para el caso del suero ácido con la anterior cepa, la muestra MS1 presenta un contenido de ácido láctico de 3673 ppm, el mayor de todas las concentraciones obtenidas, mientras que su pH disminuyó de 5,33 a 4,22, asimismo los azúcares reductores pasaron de 5952 a 8139 ppm.



Gráfica 1. Curva de calibración DNS



Gráfica 1. Curva de calibración cloruro férrico

Por su parte, se debe resaltar la muestra con suero LS1, la cual ostenta la mayor producción de ácido láctico de todas las tratadas con la cepa de *Lactobacillus Casei* (LC) aunque el rendimiento obtenido es menor a cualquiera de las muestras de la cepa mixta.

Finalmente, incluso teniendo en cuenta que todas las muestras producen ácido láctico se recomienda realizar trabajos de validación y estandarización del método,

Tabla 1. Caracterización del ácido láctico

Información general			día 1	día 4	día 1	día 4	día 1	día 4-3
Cepa	Sustrato	tratamientos			Azúcares reductores		Ácido láctico	
			pH Inicial	pH final	Inicial (ppm)	Final (ppm)	Inicial (ppm)	Final (ppm)
Mixto	Almidón	MA1	5,09	4,87	6813	6401	2806	3195
		MA2	5,07	4,89	6813	6172	3288	2980
		MA3	5,06	4,87	6572	6807	2894	3166
	Suero	MS1	5,33	4,22	9592	8139	3527	3673
		MS2	5,32	4,2	9281	10347	3869	3529
		MS3	5,33	4,22	9731	9979	4038	3440
	Control	MC1	5,34	4,22	12383	9560	2255	1121
<i>Lactobacillus Casei</i>	Almidón	LA1	5,55	3,86	6946	4434	959	894
		LA2	5,59	3,68	7098	5176	916	924
		LA3	5,59	3,61	8570	5570	1189	1094
	Suero	LS1	5,59	3,65	6908	8095	1594	2059
		LS2	5,91	3,89	10194	9363	1912	1880
		LS3	5,92	3,89	10214	8056	1525	1946
	Control	LC1	5,98	3,84	10087	4098	1280	1494
M: cepa mixta				A: Almidón				
L: cepa <i>Lactobacillus Casei</i>				S: Suero				

para definir como optimizar los procesos de fermentación, extracción y purificación del ácido.



3. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue posible gracias a cada una de las personas que contribuyeron en su realización y asesoría, en especial al SENA CEDEAGRO con la Líder SENNOVA Angela Milena Fuerte, quien en conjunto con la instructora Yineth Karina Barrera por su asesoría y acompañamiento y préstamo de los laboratorios del centro, equipos e insumos necesarios. Adicionalmente en el Centro Minero a la Líder SENNOVA Deicy María Camacho y los instructores del área de química Yansy Milena

Rodríguez, Vilma Useche, Constanza Ríos, Osman Acero. Y finalmente, a Tecnoparque Bogotá en especial a la asesora del proyecto Ana María Gómez.

4. REFERENCIAS

Cardona, C., López, L. y López, F. (2004). Separación de ácido láctico por destilación reactiva. Revista Universidad EAFIT, 40(135), pp.40-53.

Durruty, I. (2013) Biodegradación anaeróbica de efluentes del procesado de papa. UNLP. 107.

Holfvendahl, K. y Hahn-Hagerdal, B. (2002). Enzyme Microb. Technol, 26.

Gill, R., Domínguez, R. y Pacho, J. (2008). Bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de cáscara de naranja: Procesos de separación y purificación. Tecnología, ciencia y Educación, 22(2), pp.79-90.

Martínez, G. & Saravia, V. (2013). Plásticos biodegradables producidos por microorganismos. Uruguay y Ciencia, [en línea] (16), pp.22-23. Disponible en: <https://bit.ly/2y1zApg> [Acceso 4 Sep. 2018].

Orozco, F. (2011). Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo. Maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán.

Tejada, R. (2015). Obtención de ácido láctico por fermentación de almidón de ñame espinoso mediante el *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* Y el *Streptococcus thermophilus* para su uso en la producción de ácido poliláctico. Pregrado. Universidad de Cartagena.