

APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE LA
PANADERÍA PARA LA PRODUCCIÓN DE ACIDO LACTICO POR VIA
FERMENTATIVA

NATALY JOHANA MICAN PORTILLA

INFORME FINAL PARA OPTAR AL TITULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL
EN LA MODALIDAD DE ESTUDIANTE PASANTE EN INVESTIGACION EPI

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CRECIMIENTO Y DESARROLLO
SOCIOECONÓMICO ORINOQUENCE

DIRECTOR: JAVIER ALEXANDER JIMENEZ FORERO

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS Y RECURSOS NATURALES
VILLAVICENCIO
2016

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por permitirme concluir una más de mis metas, por guiarme y ayudarme en todo este proceso.

Este trabajo se lo dedico a mis padres y hermano porque todo lo que soy se lo debo a sus esfuerzos, consejos, enseñanzas, ejemplos, comprensión y todo su amor; a mi familia en general porque de una u otra forma contribuyeron con mi formación, Igualmente a Oscar Arias por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida.

A mi Director el Ing.Javier Jimenez por su valiosa colaboración, asesoramiento y seguimiento en la elaboración de este proyecto.

Agradezco al laboratorio de Microbiología Vegetal, especialmente a la Ing. Dalila Franco por aportar su conocimiento siempre con su buena disposición, igualmente al laboratorio de Química y Biología por hacer posible el desarrollo de este trabajo.

En general agradezco a todas las personas que hicieron parte de este proceso, por ellos estoy aquí escribiendo estos agradecimientos.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	6
1. INTRODUCCION	7
2. MATERIALES Y METODOS	9
2.1 <i>Microorganismo y Manutención</i>	9
2.2 <i>Obtención y pretratamiento de los residuos de panadería</i>	9
2.3 <i>Hidrolisis Enzimática</i>	9
2.4 <i>Fermentaciones</i>	9
2.5 <i>Métodos de monitoreo</i>	10
3 RESULTADOS Y DISCUSION	10
3.1 <i>Microorganismo y Manutención</i>	10
3.2 <i>Hidrolisis enzimática</i>	13
3.3 <i>Fermentaciones</i>	13
3.4 <i>Método de análisis</i>	14
3.4.1 <i>Azúcares Reductores Totales</i>	14
3.4.2 <i>Biomasa</i>	15
3.4.3 <i>Factor pH</i>	18
3.4.4 <i>Ácido Láctico</i>	20
4 <i>Conclusiones</i>	22
5 <i>Bibliografía</i>	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Ruta Bioquímica para la producción de ácido Láctico	8
Figura 2.Siembra en tubos y cajas con medio MRS	11
Figura 3.Resultado siembra masiva de Lactobacillus Bulgaricus comercial CHOZIT ®	11
Figura 4.Cajas Petri con siembra de Microorganismo ya analizadas.	12
Figura 5.Observación al microscopio de Bacillus aislados.	12
Figura 6.Enzima alfa-amilasa utilizada y su adicción.	13
Figura 7.Montaje de fermentaciones.....	13
Figura 8.Comportamiento de ART con respecto al tiempo	14
Figura 9.Interacción de Azucares Reductores Totales.....	15
Figura 10.Comportamiento de Biomasa con respecto al tiempo	17
Figura 11. Interacción de Biomasa	17
Figura 12.Comportamiento pH con respecto al tiempo	18
Figura 13.Interacción del pH	19
Figura 14.Efectos Principales para pH	20
Figura 15.Comportamiento del Ácido Láctico con respecto al tiempo.	21
Figura 16.Interacción del Ácido Láctico	22

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental de las fermentaciones.....	9
Tabla 2. Resultado Monitoreo de Azucares Reductores Totales (ART)	14
Tabla 3.Resultado Monitoreo Biomasa	16
Tabla 4. Resultado monitoreo pH	18
Tabla 5. Resultados Monitoreo Acido Láctico	20

INFORME FINAL PROYECTO DE INVESTIGACION: APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE LA PANADERIA PARA LA PRODUCCION DE ACIDO LACTICO POR VIA FERMENTATIVA

Nataly Johana. Mican Portilla,

1. ESTUDIANTE PASANTE EN INVESTIGACION

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

nataly.mican@unillanos.edu.co

VILLA VICENCIO

JULIO DE 2016

RESUMEN

El ácido láctico tiene múltiples aplicaciones comercialmente, destacándose en la industria de alimentos, textil, cosmética, química y farmacéutica, debido a esta amplia aplicabilidad la obtención de ácido láctico por vía fermentativa es uno de los procesos con amplia oportunidad, por las oportunidades en el aumento de su productividad y decrecimiento de su costo de producción. Teniendo en cuenta el panorama anterior, la presente investigación tiene como objetivo evaluar las condiciones de fermentación en cuanto a los parámetros operacionales del proceso (temperatura y cantidad de materia prima) para la producción de ácido láctico, empleando como sustrato los residuos hidrolizados de la industria panadera generados en la ciudad de Villavicencio y el microorganismo *Lactobacillus Bulgaricus*.

La etapa de fermentación fue llevada a cabo variando las concentraciones de sustrato previamente hidrolizado con alfaamilasa P- 5000 Weihht pharmaceutical® en relaciones 1/2, 1/3 y 1/6 (m/v), y la temperatura de proceso a 30, 35 y 40°C, garantizando una biomasa inicial igual o mayor a 4×10^6 esporas/ml en condiciones anaerobias por un periodo de 48 horas. El contenido de azúcares reductores, pH, biomasa y producción de ácido láctico fue monitoreado durante el proceso fermentativo. En general se pudo observar el decrecimiento de la concentración de azúcares reductores, aumento de la biomasa y actividad celular del microorganismo, decrecimiento del pH y aumento de la concentración de ácido láctico en función del tiempo de fermentación, la concentración de sustrato y temperatura empleada, destacándose una mayor producción de ácido láctico en las condiciones a 40 °C con una relación de sustrato de 1/3 (m/v) con una producción de 3,90 g/l; los resultados obtenidos a partir de los métodos de análisis

permitieron determinar dentro de las condiciones evaluadas las mejores para el proceso fermentativo mostrando que la relación de sustrato ejerce una fuerte influencia e interfiere directamente en la producción de ácido láctico, también se destaca la temperatura en función del microorganismo a emplear ya que cada uno maneja un rango óptimo de crecimiento.

Con el fin de proponer un proceso fermentativo económico y eficiente para la producción de ácido láctico, este trabajo muestra la posibilidad de sustituir nutrientes de alto costo como la glucosa, peptona y/o extracto de levadura por fuentes renovables como residuos de panadería

Palabras clave: *Lactobacillus Bulgaricus*, Ácido Láctico, Fermentación, residuos de panadería.

1. INTRODUCCION

El ácido láctico, ácido 2-hidroxipropiónico o ácido α -hidroxipropiónico, tiene múltiples aplicaciones comercialmente desde el año 1881 (Wee, Kim, & Ryu, 2006)(Evangelista, 1994), destacándose en la industria de alimentos, textil, cosmética, química y farmacéutica (Serna & Rodríguez, 2005)(Herryman, 2005); es un ácido orgánico con funciones tales como disminución de pH, agente antimicrobiano, solvente, estabilizador, humectante, emulsificador (Rosales,C; Sabino,M, Perera, 2014) y su empleo para la obtención de poli (ácido láctico)(PLA) para la industria de plásticos biodegradables (López, 2010) y confección de artículos médicos.

La producción de ácido láctico puede ser realizada por síntesis química o fermentativa (Serna & Rodríguez, 2005)(figura 1), siendo esta última más ventajosa por su carácter económico y el uso de materias primas y subproductos de la agroindustria como sustrato para el crecimiento de microorganismos (Saval, 1991)(Mart & Castrill, 2007), como ejemplo de estos podemos destacar estudios con el suero de leche (M & P, 2013), agua de maceración de maíz (Patel et al., 2010)(Capellari, 2010), melaza de caña de azúcar (López, 2010), mucilago de café (Zabala, 2008), entre otros; estos en virtud de su alto contenido de azúcares y/o almidón, nitrógeno y vitaminas(Meneses, Corrales, & Valencia, 2007).

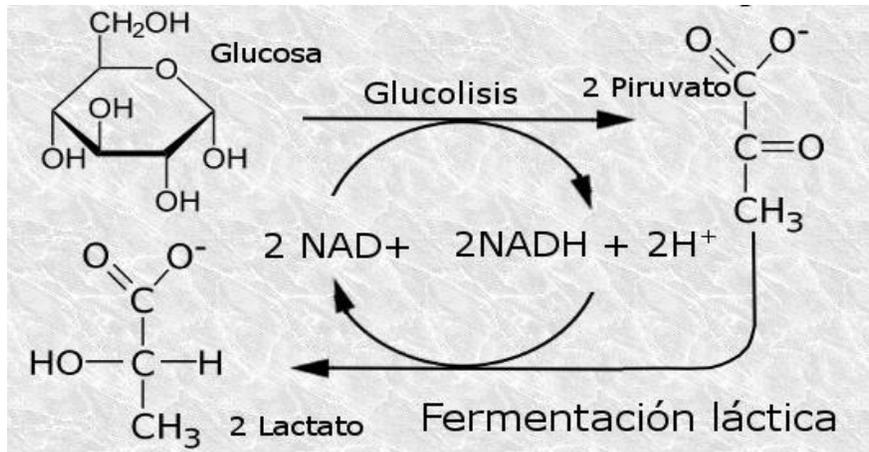


Figura 1. Ruta Bioquímica para la producción de ácido Láctico. (Serna & Rodriguez, 2005)

La fermentación láctica es un proceso anaerobio donde se obtiene energía a partir de la glucosa y el producto obtenido es el ácido láctico (Arenas, C; Zapata, R; Gutierrez, 2012), este proceso puede ser realizado por bacterias ácido lácticas, algunos hongos y protozoos (Axelsson, 1993); generalmente son usadas las bacterias ácido lácticas que corresponden a un grupo de bacterias Gram positivas que fermentan hidratos de carbono (Ramirez, J; Petra, M; Velazques, 2011); los microorganismos que pueden utilizarse pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Carmobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus* y *Aerococcus* (Gomez, H; Alaniz, 2008) ; Los microorganismos *Lactobacillus Bulgaricus* son homofermentativos anaerobios, facultativos, no móviles, no forman esporas y se pueden observar como bastoncillos, son utilizados industrialmente por su ventaja de consumir eficientemente glucosa y por tener un rango de temperatura de crecimiento que no implica costos de enfriamiento y esterilización (Zabala, 2008).

El pan es uno de los alimentos de mayor consumo, y hace parte de la dieta recomendada (Quintana, Mar, Santana, 2013), principalmente por el contenido nutricional que este presenta, conteniendo compuesto como Hidratos de Carbono, Proteínas, Vitaminas, Sales minerales y Fibra. Entre su composición muestra un alto contenido de carbohidratos siendo cerca del 50% en peso; de este porcentaje el 80% peso está constituido por almidón (Summary, 2014), polímero importante para ser utilizado como sustrato en la producción de ácido láctico.

Actualmente a parte del proyecto BREADPLA, no se ha reportado estudio alguno que utilice los residuos de panadería como sustrato para la producción de ácido láctico por fermentación, por lo tanto en este trabajo se muestran los resultados obtenidos de la fermentación de los residuos de panadería con *Lactobacillus Bulgaricus* bajo condiciones distintas de temperatura y relación de sustrato.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Microorganismo y Manutención

Se utilizó la cepa liofilizada CHOZIT ® de *Lactobacillus Bulgaricus*. La cepa se activó incubándola a 37 °C en medio MRS (15 g.L-1) durante 48 horas y fue subcultivada cada dos días hasta obtener una concentración de biomasa mayor o igual a 4×10^6 esporas/ml.

2.2 Obtención y pretratamiento de los residuos de panadería

Los residuos de panadería empleados fueron obtenidos de diferentes panaderías de la ciudad de Villavicencio, estos fueron homogenizados usando un Molino eléctrico monofásico marca Victoria de 1680 r.p.m, tamizados hasta un tamaño de partícula comprendido de 0.8 a 1.2 mm y esterilizados en autoclave a 121°C por 15 minutos.

2.3 Hidrolisis Enzimática

Con la finalidad de hacer el sustrato más asimilable por microorganismo, los residuos de panadería se sometieron a hidrolisis enzimática simultánea con la fermentación, empleando enzima comercial alfa-amilasa P- 5000 Weiht pharmaceutical®, en una relación de 0,1 gramos de enzima/kg de harina de pan, a una temperatura de 55°C.

2.4 Fermentaciones

Se realizaron nueve (9) fermentaciones, cada una de ellas derivada de un diseño experimental al azar, resultante de considerar los factores de Temperatura y relación de materia prima, utilizando tres niveles para cada factor como lo muestra la tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental de las fermentaciones

Factor	Niveles		
	Temperatura (°C)	30	35
Relación de residuos de pan (m/v) g de pan/ml de Agua	1/2	1/3	1/6

Cada fermentación se llevó a cabo en un Erlenmeyer de 1L, realizando una combinación diaria por triplicado.

2.5 Métodos de monitoreo.

Se tomaron muestras de cada fermentación en intervalos de 2 horas las primeras 6 horas, luego a las 20, 24, 30 y 48 horas, las cuales fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 6 minutos y a las que se les midió el contenido de azúcares reductores totales, biomasa celular, pH y producción de Ácido Láctico.

La biomasa fue determinada por el método de conteo en cámara Neubauer, para lo cual se tomó muestra del precipitado resultante y se realizó conteo con Microscopio Olympus a 40x. La determinación de azúcares reductores totales (ART) se hizo siguiendo el método de Lane-Eynon (AOAC 985.29, 993.21)(A.O.A.C, 1990) (Zabala, 2008). El pH se determinó por potenciometría directa(A.O.A.C 973.41)(M & P, 2013) y el ácido láctico (AL) se determinó por titulometría con valoración del NaOH al 0,05N según A.O.A.C 937.05, 947.05 (A.O.A.C, 1990).

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Microorganismo y Manutención

El *Lactobacillus Bulgaricus* comercial CHOZIT® (Figura 1) fue sembrado en forma masiva en cajas Petri (Figura 2),



Figura 1. *Lactobacillus Bulgaricus* comercial CHOZIT®



Figura 2. Siembra en tubos y cajas con medio MRS

Se sembró en forma masiva en cajas Petri con medio MRS (Figura 3) y en tubos de ensayo con caldo Nutritivo, luego se procedió hacer análisis de Movimiento, Tinción de Gram, KOH y catalasa (Tabla 2) (Maria & Adelantado, 2009).

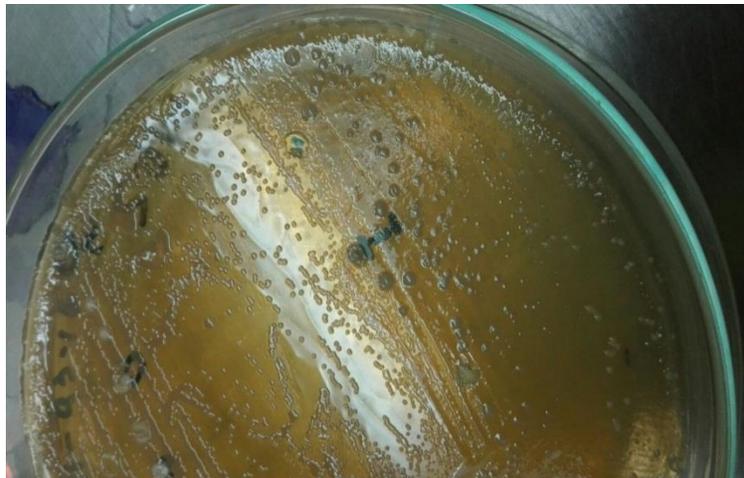


Figura 3. Resultado siembra masiva de *Lactobacillus Bulgaricus* comercial CHOZIT[®]

Tabla 2. Resultado Pruebas Microbiologicas Lactobacillus Bulgaricus

MUESTRA.	PRUEBA		
	TINCIÓN DE GRAM	CATALASA	KOH
Microorganismos <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	+	-	-

En la tabla 2 se muestra los resultados generales obtenidos para las muestras que se fueron replicando tomando como base las colonias que más se asociaban a la presencia de *Bacillus*, estas corresponden a alrededor de 8 siembras por agotamiento semanales las cuales fueron incubadas a 37 °C haciendo seguimiento de su crecimiento a las 24 y 48 horas, estas siembras se realizaron por alrededor de 3 semanas (Figura 4), hasta finalmente lograr una observación predominante de *Bacillus* (Figura 5).

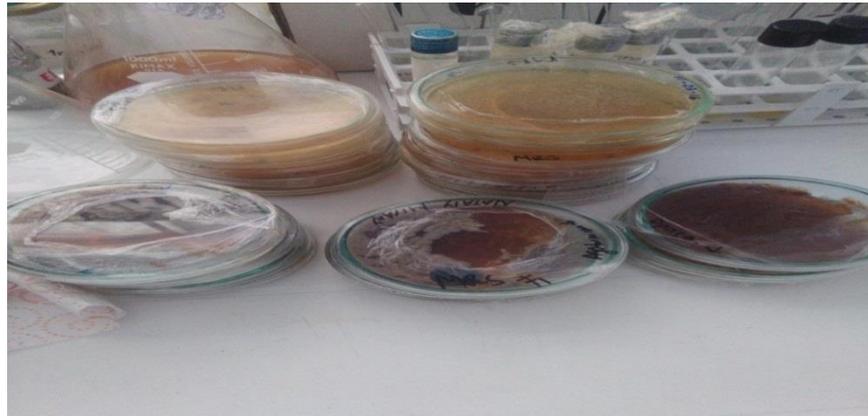


Figura 4. Cajas Petri con siembra de Microorganismo ya analizadas.

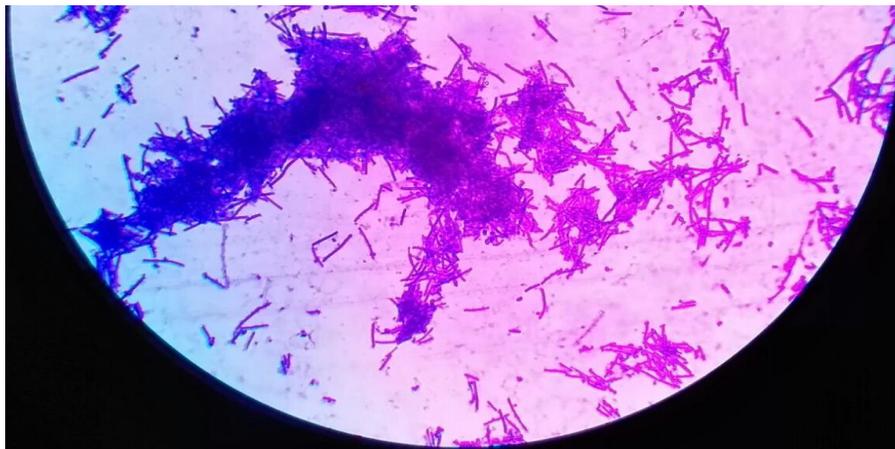


Figura 5. Observación al microscopio de Bacillus aislados.

3.2 Hidrolisis enzimática

Con la finalidad de hacer el sustrato más asimilable para el microorganismo se hidrolizo activando la enzima a una temperatura de 55 °C.



Figura 6. Enzima alfa-amilasa utilizada y su adicción.

3.3 Fermentaciones



Figura 7. Montaje de fermentaciones

3.4 Método de análisis

3.4.1 Azúcares Reductores Totales

La determinación de azúcares reductores totales (ART) se hizo siguiendo el método de Lane-Eynon (A.O.A.C, 1990), obteniendo los siguientes resultados para las diferentes condiciones.

Tabla 3. Resultado Monitoreo de Azúcares Reductores Totales (ART)

	AZUCARES REDUCTORES %								
Tiempo	30°C - 1:2	30°C - 1:3	30°C - 1:6	35°C - 1:2	35°C - 1:3	35°C - 1:6	40°C - 1:2	40°C - 1:3	40°C - 1:6
0,00	90,80	62,93	60,97	73,64	56,52	50,00	68,42	65,11	81,25
2,00	90,79	61,90	65,00	73,64	54,95	46,43	70,96	61,90	78,06
4,00	95,24	57,38	60,03	72,22	52,72	43,33	72,22	59,09	72,22
6,00	88,73	56,51	57,37	70,96	51,33	41,06	66,14	56,52	67,28
20,00	62,93	50,67	52,72	66,14	43,33	38,24	63,97	45,36	60,97
24,00	60,03	51,33	49,38	60,03	41,06	36,80	61,90	42,40	54,17
30,00	48,77	53,46	45,89	39,80	39,01	36,11	51,33	40,21	50,00
48,00	33,35	43,82	42,85	33,63	37,51	35,14	48,15	38,24	48,15

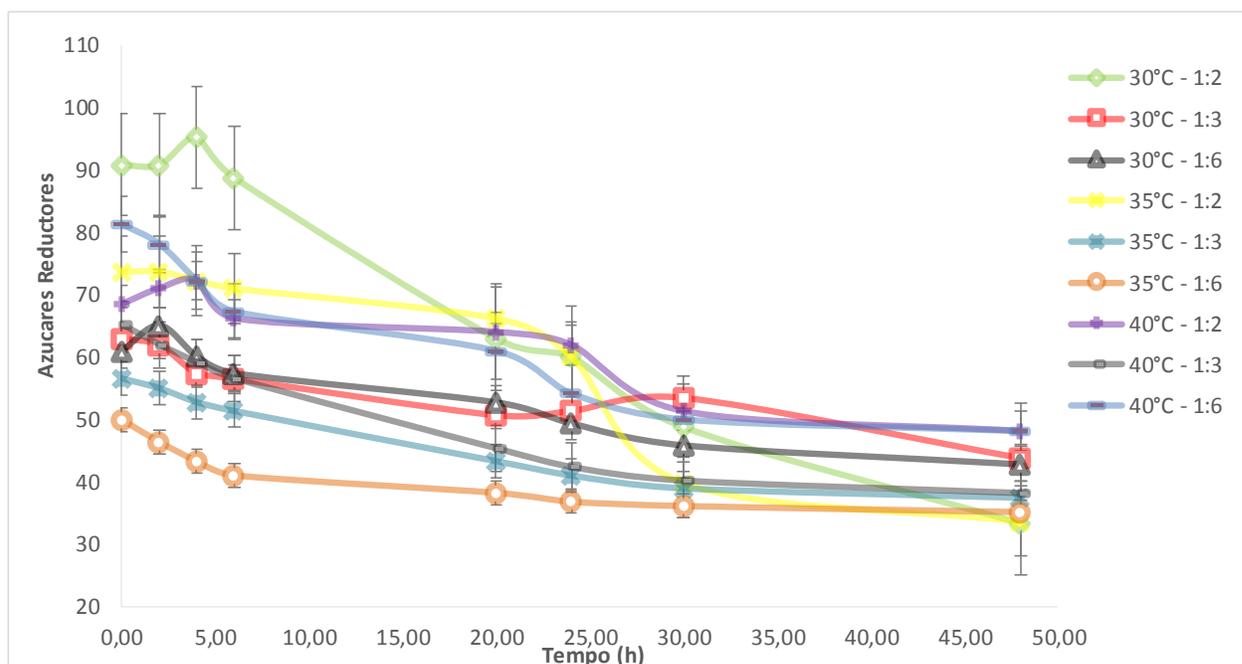


Figura 8. Comportamiento de ART con respecto al tiempo

De acuerdo a los resultados descritos en la tabla 3 para azúcares reductores podemos observar que en todas las fermentaciones su comportamiento fue descendente (Figura 8) dado el consumo como sustrato por parte del microorganismo para su crecimiento, evidenciando un contenido inicial mayor a 30°C con relación 1/2, mientras que a 35°C con una relación 1/6 se presentó el menor contenido de azúcares reductores iniciales, posiblemente por menor desprendimiento de azúcares en la hidrólisis previamente realizada en donde se utilizó mayor cantidad de materia prima (residuos de pan). Sin embargo, al finalizar el proceso de fermentación el contenido de azúcares reductores de las combinaciones estuvo entre 33 y 48 %, indicando en algunos tratamientos una posible fermentación incompleta que condujera a una mayor producción de biomasa y/o ácido láctico (ilustración 10 y 15). Por otro lado, en los análisis de interacción entre los factores (Figura 9) se pudo observar un mejor comportamiento en el consumo de azúcares reductores con una relación 1:2 a 30 °C evidenciando mejores procesos de consumo de azúcares reductores a condiciones suaves en las que no hay saturación por sustrato.

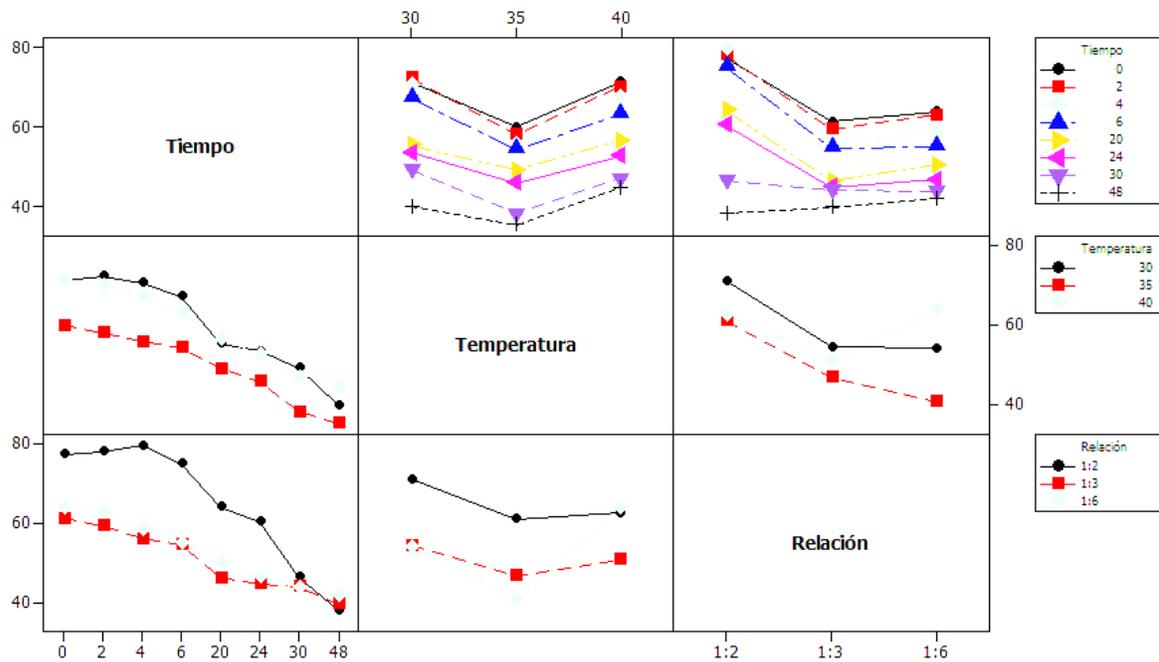


Figura 9. Interacción de Azúcares Reductores Totales

3.4.2 Biomasa

La biomasa se determinó por el método de conteo en cámara Neubauer, para lo cual se tomó muestra del precipitado resultante y se realizó conteo con Microscopio Olympus a 40x, obteniendo los siguientes resultados para las diferentes condiciones.

Tabla 4.Resultado Monitoreo Biomasa

Tiempo	BIOMASA (células/ml)								
	30°C - 1:2	30°C - 1:3	30°C - 1:6	35°C - 1:2	35°C - 1:3	35°C - 1:6	40°C - 1:2	40°C - 1:3	40°C - 1:6
0,00	3,62,E+06	4,6,E+06	3,3,E+06	4,0,E+06	4,3,E+06	4,1,E+06	5,3,E+06	4,8,E+06	4,1,E+06
2,00	3,10,E+06	3,1,E+06	3,0,E+06	3,7,E+06	3,6,E+06	3,9,E+06	4,4,E+06	4,8,E+06	3,9,E+06
4,00	3,62,E+06	3,2,E+06	3,1,E+06	4,1,E+06	4,0,E+06	4,1,E+06	3,8,E+06	5,1,E+06	4,1,E+06
6,00	3,89,E+06	3,4,E+06	3,0,E+06	4,3,E+06	4,1,E+06	4,4,E+06	4,6,E+06	5,3,E+06	4,4,E+06
20,00	4,13,E+06	7,9,E+06	3,4,E+06	5,1,E+06	4,8,E+06	9,4,E+06	5,1,E+06	4,8,E+06	9,4,E+06
24,00	4,43,E+06	1,1,E+07	3,3,E+06	5,7,E+06	5,6,E+06	1,1,E+07	5,5,E+06	7,4,E+06	1,1,E+07
30,00	4,29,E+06	1,1,E+07	3,4,E+06	6,5,E+06	6,7,E+06	1,2,E+07	6,0,E+06	1,2,E+07	1,2,E+07
48,00	3,77,E+06	8,9,E+06	2,7,E+06	7,7,E+06	7,8,E+06	1,4,E+07	7,1,E+06	1,2,E+07	1,4,E+07

En la tabla 4 podemos observar los resultados del crecimiento del *Lactobacillus Bulgaricus* en cada una de las fermentaciones, de acuerdo a su curva correspondiente (Figura 10), tiene un comportamiento inicialmente de adaptación donde el microorganismo asimila su metabolismo a la nuevas condiciones, esta fue relativamente larga entre 5 y 8 horas a comparación de otros microorganismos, seguidamente presenta un crecimiento exponencial donde la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo, durante esta fase el microorganismo consume los nutrientes del medio y su tiempo oscilo entre 10 y 12 horas, luego el comportamiento se vuelve constante notándose la fase estacionaria donde el incremento de biomasa es mínimo y se debe producir una acumulación y liberación de metabolitos secundarios.

En la Figura 10 podemos resaltar el comportamiento de la fermentación que manejo 40° C y relación 1:6 ya que su fase exponencial es notablemente más pronunciada y coincide con la fermentación con variables 35°C y relación 1:6, esta reacción se podría asociar a que la relación manejada en este caso 1:6 daba lugar para que existiera una mayor interacción y que las temperaturas están dentro del rango de las óptimas para el crecimiento de este microorganismo.

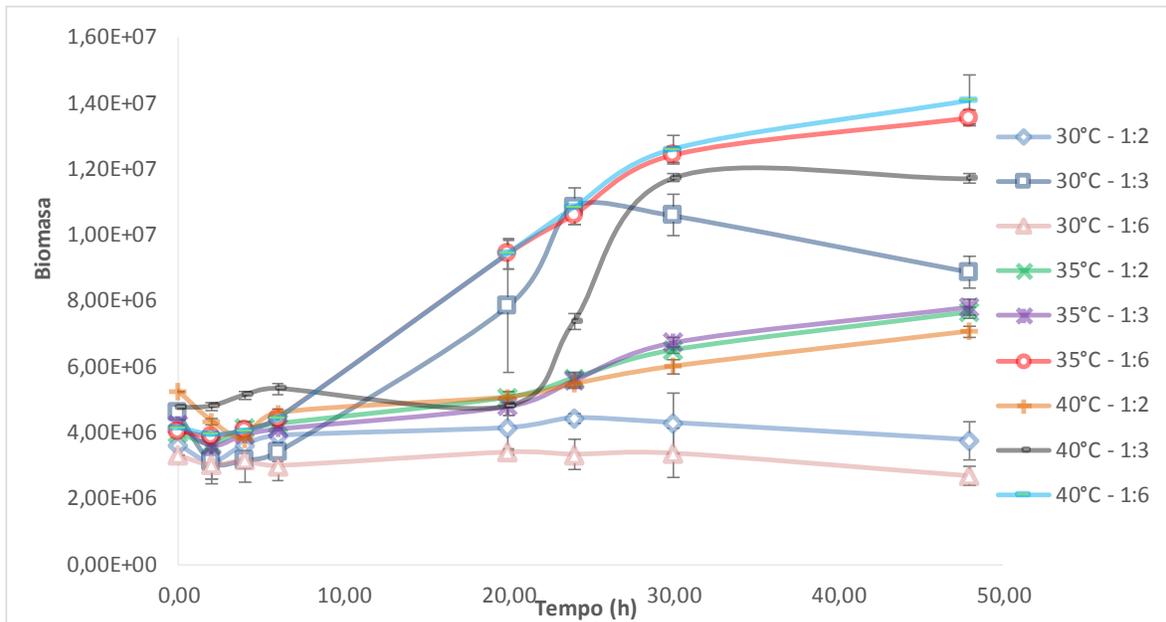


Figura 10. Comportamiento de Biomasa con respecto al tiempo

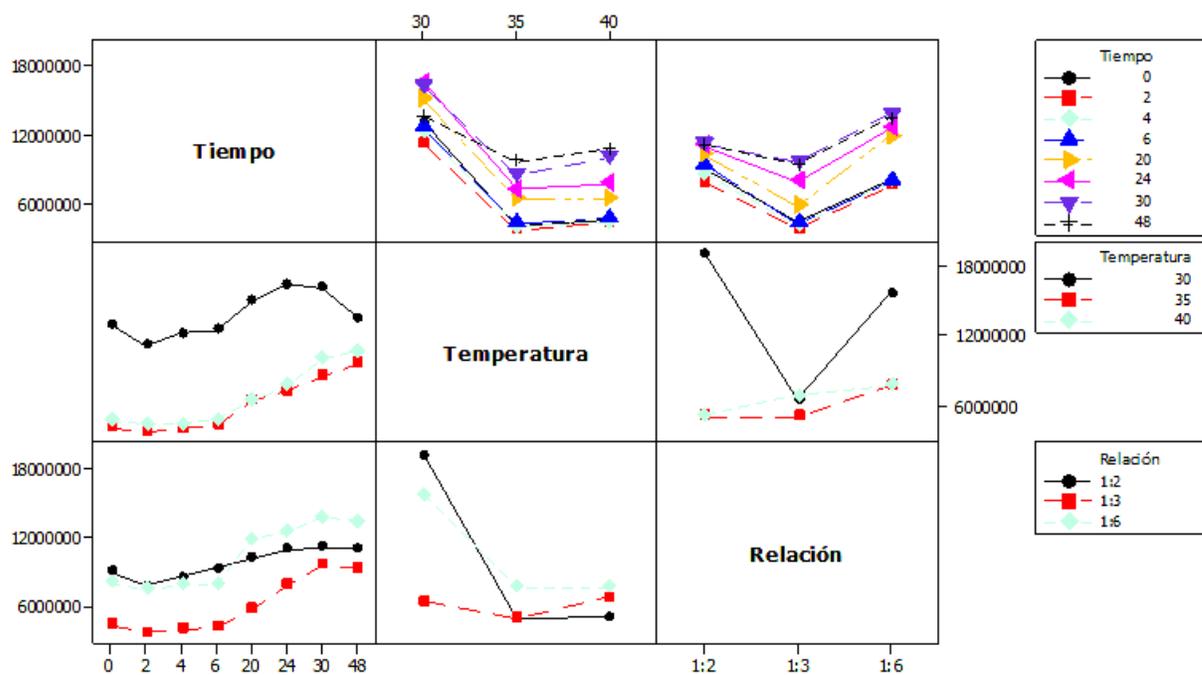


Figura 11. Interacción de Biomasa

En la Figura 11 podemos observar como interactúa la biomasa en cuanto a las diferentes variables, notando que la relación 1:2 su cantidad de biomasa en el tiempo 0 fue mayor que en las otras relaciones lo que no permite una comparación entre ellas; igualmente se observa los efectos principales para el crecimiento de biomasa los cuales responden principalmente al tiempo y temperatura; donde

claramente se nota que en el comportamiento se llegó hasta la fase estacionaria dando lugar a futuras fermentaciones con un lapso de tiempo superior.

3.4.3 Factor pH

El pH se determinó por potenciometria directa obteniendo los siguientes resultados para las diferentes condiciones.

Tabla 5. Resultado monitoreo pH

Tiempo	pH								
	30°C - 1:2	30°C - 1:3	30°C - 1:6	35°C - 1:2	35°C - 1:3	35°C - 1:6	40°C - 1:2	40°C - 1:3	40°C - 1:6
0,00	5,66	5,51	5,71	6,20	6,08	6,32	6,48	6,17	6,49
2,00	5,45	5,79	5,53	6,02	5,98	6,29	6,06	6,08	6,43
4,00	5,43	5,82	5,54	5,98	5,82	6,23	5,87	5,90	6,11
6,00	5,34	5,78	5,31	5,58	5,45	5,20	5,77	5,37	5,96
20,00	5,35	4,78	4,55	5,45	4,89	4,74	5,47	4,84	5,65
24,00	5,33	4,60	4,79	5,28	4,68	4,61	5,33	4,65	5,37
30,00	4,92	4,61	4,36	5,21	4,62	4,45	5,28	4,44	4,36
48,00	4,31	4,25	4,24	4,83	4,53	4,23	4,99	4,09	4,46

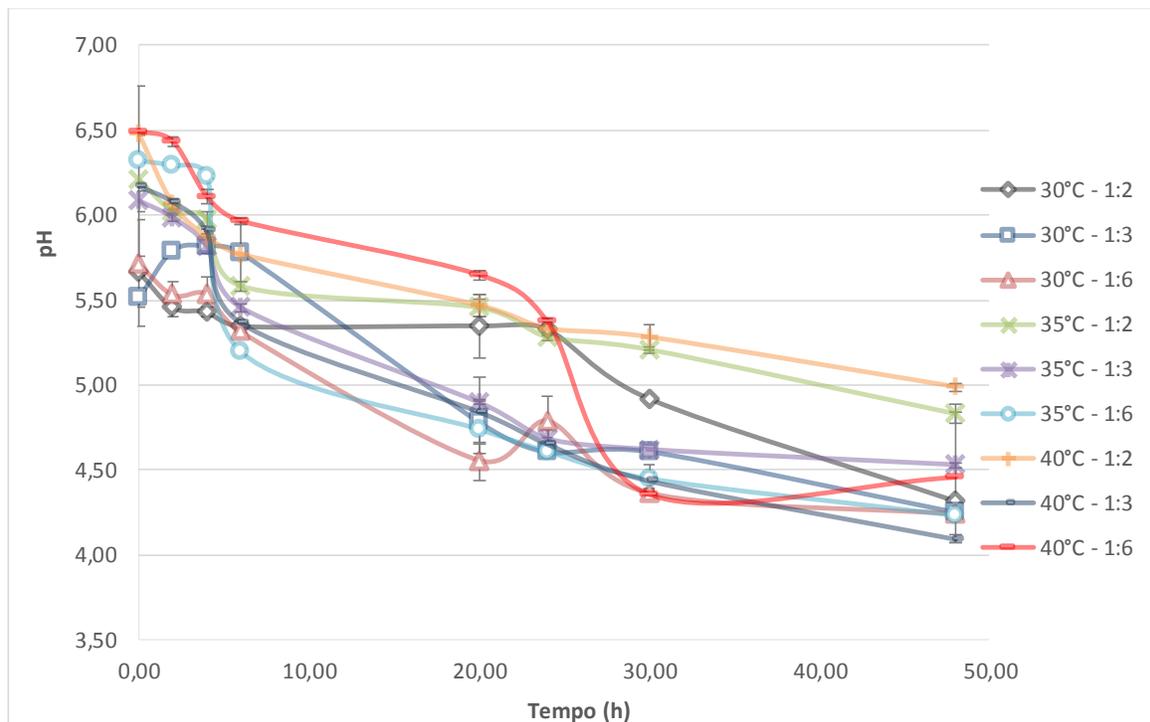


Figura 12. Comportamiento pH con respecto al tiempo

En la tabla 5 se muestra los resultados obtenidos para pH en cada uno de las fermentaciones, observando en general un comportamiento descendente a razón

de que se producía el ácido láctico, particularmente en la fermentación con relación 1:3 y 40°C, alcanzando a las 48 horas la menor lectura de pH 4,09 (Figura 12).

Algunos autores reportan que cuando la fermentación transcurre en un pH dentro de la zona acida, pero cercano a la neutralidad con adición de algunos compuestos como carbonato de calcio, hidróxido de calcio, se puede incrementar las producciones de ácido láctico. Sin embargo, en estas fermentaciones no se controló este factor teniendo en cuenta que el pH óptimo del proceso fermentativo para la producción de ácido láctico está comprendido entre 5.5 a 6.5 valores que solo se dieron hasta la sexta hora.

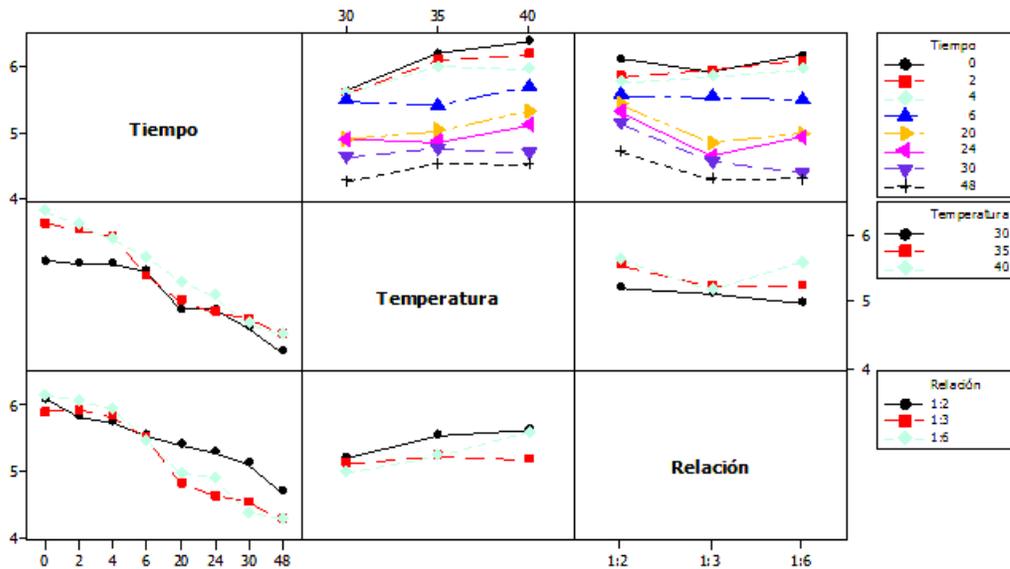


Figura 13. Interacción del pH

En la Figura 13 podemos observar la interacción del pH con las diferentes variables notando que la relación 1:3 y 1:6 tiende a un comportamiento similar, mientras que la relación 1:2 con respecto al tiempo no tiene la misma tendencia de disminución de pH, reportándose valores promedios de 4,31, 4,83, 5,01 para las temperaturas 30, 35 y 40 respectivamente lo que significa que al aumentar la temperatura del medio a esta relación el pH tiende a aumentar; ya en la Figura 14 notamos los efectos del pH con las diferentes variables sobresaliendo el tiempo como efecto directamente proporcional y temperatura, relación como secundarios.

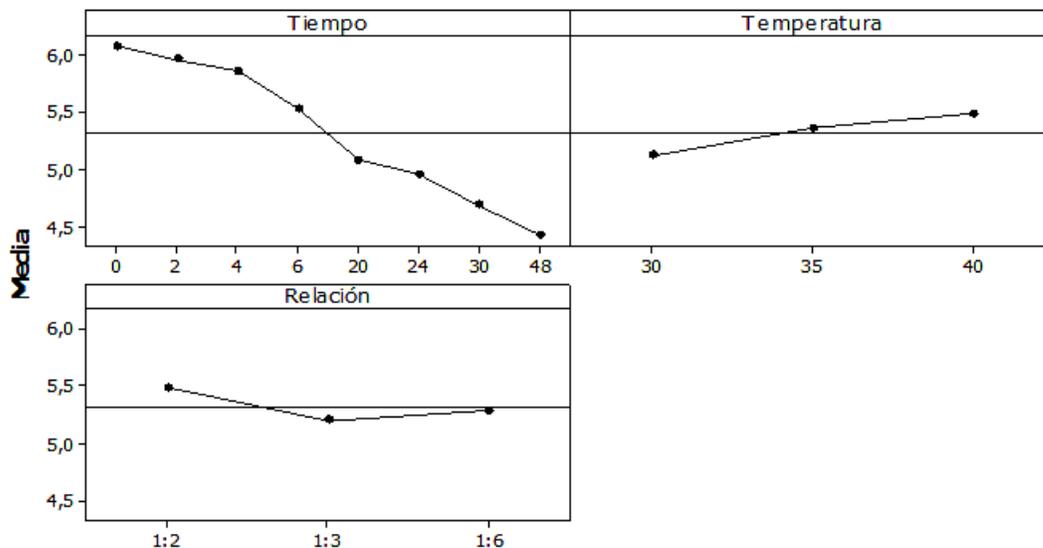


Figura 14. Efectos Principales para pH

3.4.4 Ácido Láctico

El ácido láctico (AL) se determinó por titulometría con valoración del NaOH al 0,05N según A.O.A.C (A.O.A.C, 1990), obteniendo los siguientes resultados para las diferentes condiciones.

Tabla 6. Resultados Monitoreo Acido Láctico

Tiempo	Ácido Láctico (g/l)								
	30°C - 1:2	30°C - 1:3	30°C - 1:6	35°C - 1:2	35°C - 1:3	35°C - 1:6	40°C - 1:2	40°C - 1:3	40°C - 1:6
0,00	0,10	0,23	0,30	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,30
2,00	0,10	0,98	0,45	0,75	0,68	0,45	0,45	0,45	0,45
4,00	0,93	1,13	0,60	1,13	0,90	0,60	0,68	0,68	0,68
6,00	1,45	1,13	0,98	1,20	1,05	0,68	0,83	0,98	1,13
20,00	1,38	1,65	1,80	1,80	2,33	1,73	1,35	1,88	1,95
24,00	1,58	1,73	2,03	2,10	2,70	2,03	2,03	2,78	2,10
30,00	1,78	2,18	2,33	2,33	3,45	2,25	2,25	3,30	2,78
48,00	2,65	3,53	2,78	2,40	3,75	2,48	2,55	3,90	3,08

En la tabla 6 podemos observar los diferentes resultados obtenidos para cada una de las fermentaciones, notando que la mejor producción de ácido láctico la mostró la fermentación con relación 1:3 y 40°C con una tasa de 3,90 g/l y la fermentación menos favorable fue la que manejó relación 1:2 y 35°C lo que nos indica que el microorganismo se desarrolló de mejor manera en la temperatura que muestra la literatura como óptima y en la relación de sustrato intermedio; los valores obtenidos como ácido láctico en t=48 no son tan comparables a los descritos en la

literatura esto teniendo en cuenta que no hay reportes con este sustrato en específico, sino sustratos como suero de leche con 22g/l, glucosa con 40g/l entre otros, sin embargo estos datos corresponden a ácido láctico recuperado y purificado mientras lo que se describe en la tabla 5 lo reporta sin estos tratamientos.

En la Figura 15 notamos el comportamiento de las fermentaciones con respecto al tiempo, donde se observa en general la tendencia a aumentar con una mayor productividad entre $t=25$ y $t=48$ lo que corresponde también al momento en el que el microorganismo se encuentra entre su fase exponencial y estacionaria, donde se logra una disminución del pH y consumo de sustrato.

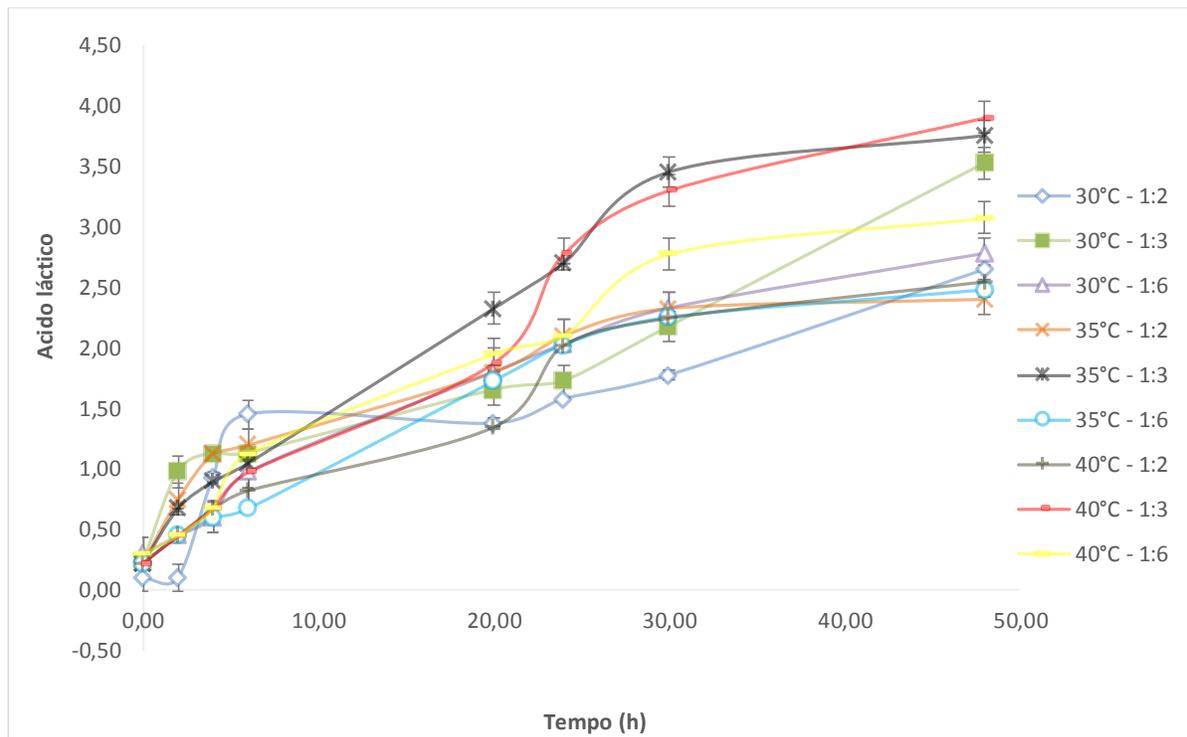


Figura 15. Comportamiento del Ácido Láctico con respecto al tiempo.

En la Figura 16 observamos la interacción de la producción de ácido láctico con respecto a las demás variables destacando que el comportamiento se mantuvo entre la media. Sin embargo, se destaca en la relación 1:2 una menor producción con respecto al tiempo y temperatura; en la relación 1:3 un mejor comportamiento y la relación 1:6 se mantuvo intermedia, en cuanto a los efectos principales el tiempo notablemente influye directamente en la producción de ácido láctico.

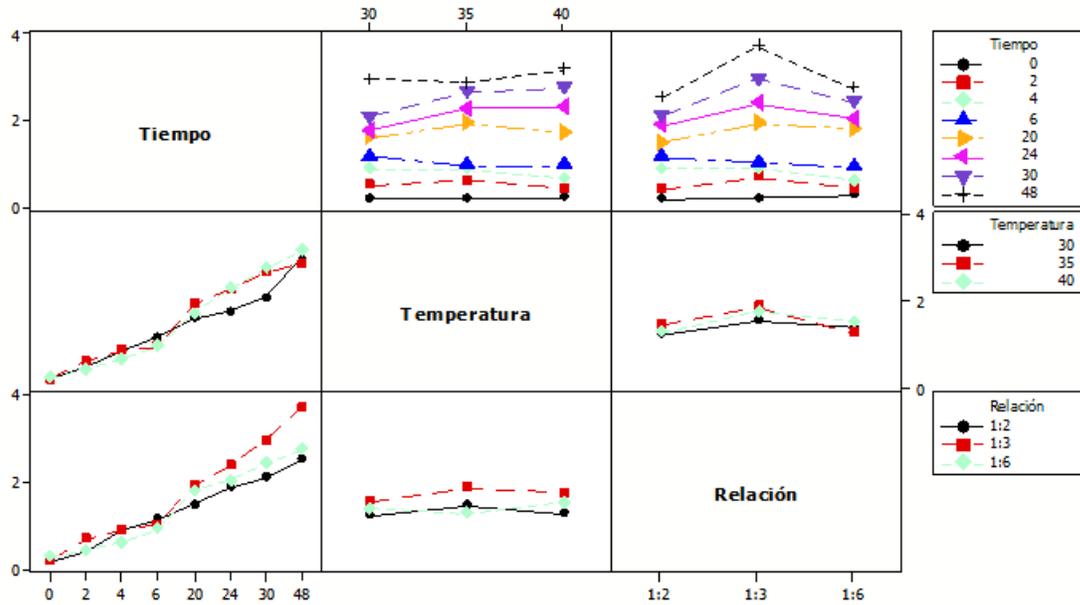


Figura 16. Interacción de variables para la producción de Ácido Láctico

4 Conclusiones

Los residuos de panadería representan una fuente favorable para la producción de ácido Láctico por vía fermentativa con *Lactobacillus Bulgaricus*. Sin embargo, con la finalidad de hacer el sustrato más asimilable por el microorganismo, los residuos se deben someter a hidrólisis enzimática previa o simultáneamente.

Las mejores producciones de ácido láctico se obtienen con un nivel de sustrato intermedio específicamente a una relación 1:3 m/v que corresponde a un medio de 333,33 gramos de residuos de pan con 1000 ml de agua y a una temperatura de 40°C la cual se encuentra dentro del rango de Temperatura optima de crecimiento del microorganismo *Lactobacillus Bulgaricus*, con un rendimiento de 3,90 g/l de ácido láctico.

Los rendimientos de productividad de ácido láctico obtenidos en este estudio podrían ser optimizados teniendo en cuenta otros parámetros de operación como la agitación, o mejorando los existentes como la temperatura y pH del proceso, así mismo empleando estrategias de recuperación y purificación del ácido láctico a medida que se va formando para aumentar la conversión de sustrato en producto.

5 Bibliografía

- A.O.A.C. (1990). *AOAC: Official Methods of Analysis (Volume 1)* (Vol. 1).
- Arenas, C; Zapata, R; Gutierrez, C. (2012). Evaluación láctica de la fermentación láctica de leche con almidón de Quinoa (*Chenopodium Quinoa*). *Vitae*, 19, 276–278.
- Axelsson, L. (1993). Lactic acid bacteria classification and physiology. *Salmineb*, 8, 8.
- Capellari, J. . (2010). Biosíntesis de ácido láctico por *Lactobacillus Amylovorus*, a partir de residuos agroindustriales.
- Evangelista, R. L. (1994). Recovery and purification of lactic acid from fermentation broth by adsorption. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 57-58, 471–480.
- Gomez, H; Alaniz, R. (2008). Bacterias Ácido Lácticas con capacidad antagonista y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España Y Portugal.*, 6, 10–15.
- Herryman, M. B. G. (2005). Ácido láctico y poliláctico: situación actual y tendencias. *ICIDCA*, XXXIX, 49–59.
- Lopes, M. S. G. (2010). Produção de plásticos biodegradáveis utilizando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, 128.
- M, C. G., & P, G. A. (2013). LACTOSUERO SUPLEMENTADO UTILIZANDO *Lactobacillus casei* PRODUCTION OF LACTIC ACID WITH SUPPLEMENTED WHEY USING *Lactobacillus casei* PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁCTICO COM SORO *Lactobacillus casei*, 11(1), 136–143.
- Maria, D., & Adelantado, C. (2009). “ Aislamiento y selección de cepas del género *Lactobacillus* con capacidad probiótica e inmunomoduladora ” Tesis Doctoral dirigida por :
- Mart, H. A., & Castrill, C. E. (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables, 41–62.
- Meneses, J., Corrales, C. M., & Valencia, M. (2007). SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL ALMIDÓN DE YUCA. (Spanish). *Revista EIA*, 57–67. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=32767495&lang=es&site=ehost-live>
- Patel, H., Day, R., Butterworth, P. J., Ellis, P. R., Mahasukhonthachat, K., Sopade, P. a., ... El, O. (2010). Obtención del ácido láctico a partir del almidón de papa (*Solanum Tuberosum* L), como materia prima para la fabricación de material descartable biodegradable. *Trends in Food Science and Technology*, 11(3),

293–301. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.051>

Quintana, L. P., Mar, L. R., & Santana, D. G. (2013). Alimentación del preescolar y escolar. *Universidad Las Palmas de Gran Canaria*.

Ramirez, J; Petra, M; Velazques, M. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Fuente*, 1(7), 134–138.

Rosales,C; Sabino,M, Perera, P. R. H. (2014). Estudio de mezclas de Poli(Acido Lactico) con polipropileno y nanocompuestos con montmorillonita. *Revista latinAM. Metal. Mat*, 34(1), 158–171.

Saval, S. (1991). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado , Presente y Futuro. *Boletim Da Sociedade Brasileira de Ciência E Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 16(2), 14–46.

Serna, L., & Rodriguez, A. (2005). Producción biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 54–65. <http://doi.org/10.1080/11358120509487672>

Summary, F. O. O. D. (2014). *Bread, white, commercially prepared (includes soft bread crumbs)*.

Wee, Y., Kim, J., & Ryu, H. (2006). Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications, 44(2), 163–172.

Zabala, M. A. (2008). De Mucílago De Café Con Lactobacillus Bulgaricus Nrrl-B548 Lactic Acid Production By Fermentation of Coffee Mucilage With Lactobacillus Bulgaricus Nrrl-B548, 147–153.