

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA AZUCARERA

Rodriguez Rojas, Mario Cesar (1), Morales-Rodriguez, Ricardo (2), Rodriguez-Gomez, Divanery (3)

1.- Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León | mc94_@hotmail.com

2.- Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. | ricardo.morales@ugto.mx

3.- Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato | divanery.rodriguez@itesi.edu.mx

Resumen

La producción de ácido láctico puede llevarse a cabo mediante métodos químicos y métodos biotecnológicos con la finalidad que pueda transformarse en ácido poliláctico y éste a su vez utilizarse en la fabricación de diferentes productos de importancia comercial en diferentes áreas. Se sabe que existen diferentes microorganismos que tienen la capacidad de producir ácido láctico al estar en un medio rico en azúcares. Por lo tanto en este estudio se realizó un análisis y comparación de varias cepas de bacterias del género *Lactobacillus* y del hongo *Rhizopus oryzae* con el fin de determinar las mejores condiciones de crecimiento, nutrientes y producción de ácido láctico a partir de residuos de la industria azucarera; con la finalidad de establecer las condiciones estándar de producción y en un futuro llevar a cabo el análisis de su producción a una escala industrial. De los 4 microorganismos analizados el *Lactobacillus amylovorus* resultó con la mayor producción de ácido láctico.

Abstract

The lactic acid production can be carried out by chemical and biotechnological methods in order to be converted into polylactic acid and this one in turn be used in the manufacture of various products with high commercial importance. It is well known that different microorganisms have the capability to produce lactic acid in a sugar rich medium. Therefore, this study has performed an analysis and comparison of different bacteria and a fungus of genera *Lactobacillus* and *Rhizopus oryzae*, respectively; with the objective of determining the best growing conditions, nutrients and lactic acid production using residues of the sugar production industry; aiming to establish the operation conditions as a base analysis for an industrial scale production in the near future. Among the 4 analysed microorganisms, the *Lactobacillus amylovorus* showed the highest lactic acid production.

Palabras Clave

Ácido láctico 1; Ácido poliláctico 2; Bagazo de caña residual 3; Glucosa 4

INTRODUCCIÓN

El bagazo de caña de azúcar es un residuo de la industria azucarera que está disponible en grandes cantidades, tanto para su empleo energético, como para otros de carácter socioeconómico. Este residuo es un recurso natural lignocelulósico que presenta características muy interesantes, tales como su carácter renovable, bajo valor económico y abundancia; por lo tanto, tiene un creciente potencial como materia prima para la industria química y biotecnológica. Su composición química puede variar dependiendo de las diferentes especies de plantas, pero su media suele estar en torno a los siguientes valores: celulosa 25 – 45%, hemicelulosa 25 – 50%, y lignina 10 – 30%, por lo que estudios relacionados con el tratamiento de los hidrolizados de bagazo de caña proponen el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos por vía biotecnológica como una alternativa en la obtención de ácido láctico u otros aditivos alimentarios [1].

El ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanoico o ácido hidroxipropionico) tiene dos formas ópticamente activas [*dextro* (D) y *levo* (L)] y la forma racémica, ópticamente inactiva, que es la comercial [2].

El ácido láctico presenta un amplio rango de aplicaciones en las industrias alimentarias, farmacéuticas, químicas y cosméticas. Por lo que su producción biotecnológica puede ser un proceso rentable si se utilizan materiales de bajo costo y las condiciones de fermentación óptimas.

Los microorganismos que producen ácido láctico son diversos y dependen de cada industria, generalmente son pertenecientes al género *Lactobacillus*. Hay dos clases de bacterias, las homofermentativas, que producen casi exclusivamente ácido láctico y las heterofermentativas, que además de producir este ácido, además producen subproductos en cantidades apreciables. También es posible emplear cepas de hongos como *Rhizopus* que producen ácido L (+) láctico.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es realizar el análisis y comparación de diferentes microorganismos para la obtención de ácido láctico a partir de residuos de la industria azucarera, comparándola con un medio modelo de glucosa como control.

En este estudio se llevó a cabo uso de varias cepas de bacterias del genero *Lactobacillus* y del hongo *Rhizopus oryzae* con la finalidad de observar las condiciones de crecimiento de los microorganismos y con ello la mayor producción de ácido láctico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos y medio de cultivo

El estudio se llevó a cabo utilizando 4 diferentes microorganismos *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus amylovorus* y *Rhizopus oryzae*. Los inóculos de las bacterias se crecieron en medio MRS y Agar infusión cerebro – corazón, mientras que el *R. oryzae* en agar PDA. La temperatura de incubación fue 37°C para las bacterias y 32°C para el crecimiento del hongo. Para la producción de ácido láctico se usó el medio de cultivo que contenía peptona (5 g/L), extracto de levadura (0.5 g/L) y CaCO₃ (4 g/L); y como fuente de carbono se comparó glucosa (20 g/L) y fracción líquida obtenida del pretratamiento (hidrólisis ácida a 6 % de ácido sulfúrico) de bagazo de caña [3].

Pretratamiento del bagazo de caña

Se realizó el pretratamiento de 60 g de bagazo de caña, para lo cual se agregó 750 ml de H₂SO₄ 6% y esta mezcla se llevó a la autoclave por 3 minutos a 120°C. Posteriormente, se ajustó el pH hasta alcanzar un pH de 7, se agregaron 5 ml de enzima (celulasa de *Trichoderma reesei* ATCC 26921 clast, Sigma) y se llevó a incubar por un periodo de 24 horas a 50°C. Después de las 24 horas, se realizó la separación de los sólidos restantes del líquido, que sería la solución a utilizar.

Cultivo

Se prepararon 3 matraces por microorganismo y por medio de cultivo, los cuales contenían 90 ml de medio de cultivo previamente esterilizado en autoclave a 120°C durante 15 min. Después de esto, se procedió a inocular los matraces con 10 ml de caldo de cultivo crecido durante toda la noche a 37°C, mientras que del hongo se tomó un cuadrado (1 x 1 cm) de agar PDA de 4 días de crecimiento.

Los cultivos se mantuvieron por 120 h, se tomaron muestras a intervalos definidos para evaluar el cambio de pH y crecimiento (absorbancia), mientras que la medición de ácido láctico (titulación con NaOH), sustrato (azúcares reductores) y biomasa (peso seco) se hizo al final del periodo de fermentación seleccionado [4].

Medición de Ácido Láctico

La medición del ácido láctico producido se llevó a cabo a través de una titulación con NaOH 0.07049 M y utilizando fenolftaleína como indicador. De cada uno de los matraces con las soluciones de glucosa y de bagazo se tomaron 2.5 ml y a estos se les adicionaron 3 gotas de fenolftaleína, se procedió a la titulación y se tomó como volumen final de NaOH, al observarse el cambio de coloración a un rosa pálido de la solución.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó una cinética de producción de ácido láctico, donde se evaluaron y calcularon variables según se resumen en la Tabla 1.

Como parámetro de crecimiento se determinó la biomasa máxima en el punto final (120 h) del cultivo. La mayor biomasa se obtuvo con *L. plantarum* y *R. oryzae* en los medios con glucosa y con líquido de pretratamiento de bagazo de caña, respectivamente. En lo que respecta al pH, se observó que cuando se utilizó glucosa como fuente de carbono los microorganismos evaluados disminuyeron el pH del medio; mientras que en el que contenía el pretratado de bagazo de caña el pH aumentó a valores entre 8 y 9. Una excepción a lo anterior fue el pH del medio en el que creció *L. amylovorus*, ya que acidificó el medio en ambos casos, siendo sus pH finales de 2.8 y 3.6 en los medios con glucosa y con pretratado de bagazo de caña, respectivamente.

Los resultados de pH se relacionan con una mayor producción de ácido láctico, ya que el microorganismo con mayor producción fue *L. amylovorus*, en una concentración de 8.96 y 2.54 g/l en los medios con glucosa y pretratado de bagazo de caña, respectivamente; lo cual se corresponde a su vez con un mayor rendimiento producto sustrato, en ambos casos mayores a 0.7, mientras que los otros microorganismos lograron

Tabla 1: Resumen de resultados de cinética de producción de ácido láctico. X_{max} = biomasa máxima, S = sustrato, P = producto, $Y_{p/s}$ = Rendimiento producto sustrato. L_p = *Lactobacillus plantarum*, L_d = *Lactobacillus delbrueckii*, L_a = *Lactobacillus amylovorus*, R_o = *Rhizopus oryzae*.

		L_p	L_d	L_a	R_o
GLUCOSA	X_{max} (g/l)	0.05	0.002	0.001	0.001
	pH final	6.1	5.3	2.8	6.4
	Consumo S (%)	49.5	70.5	55.6	82.0
	P (g/l)	0.59	1.52	8.96	0.34
	$Y_{p/s}$	0.05	0.09	0.64	0.02
BAGAZO DE CAÑA	X_{max} (g/l)	0.003	0.003	0.007	0.012
	pH final	9.0	8.4	3.6	8.6
	Consumo S (%)	93.1	91.7	54.9	94.2
	P (g/l)	0.51	0.18	2.54	0.25
	$Y_{p/s}$	0.09	0.03	1.06	0.04

valores muy bajos (0.02-0.09). Todos los microorganismos evaluados consumieron adecuadamente su fuente de carbono, es decir de 50 a 94%; inclusive en el medio que contenía el líquido resultante del pretratamiento de bagazo de caña.

Cabe mencionar que se esperaba una mayor producción de ácido láctico por el hongo utilizado, sin embargo, se considera que la baja producción se debió al uso del medio de cultivo referenciado para *Lactobacillus* y no el reportado por Herryman y Blanco [2], más específico para el hongo. En este caso se realizó una exploración inicial de la producción de ácido láctico por *Rhizopus* y se asume pudo haberle faltado algún factor nutricional, se recomienda profundizar más en el análisis de este hongo haciendo cambios al medio de cultivo.

Otro aspecto importante a resaltar es la capacidad de los microorganismos de utilizar la fuente de carbono proveniente del líquido del pretratamiento de bagazo de caña, el cual a pesar de tener baja concentración de glucosa, permitió un buen

crecimiento por parte de los microorganismos; además, de mostrar la misma tendencia metabólica que el resultado en el medio modelo con glucosa, por ejemplo, para el caso del *L. amylovorus* el cual es el mejor productor de ácido láctico entre las cepas analizadas. Es importante resaltar la recomendación de realizar más estudios para verificar cuales otras sustancias son producidas en el pretratamiento del bagazo y si alguna de estas tiene efectos inhibidores tanto para el hongo *Rhizopus oryzae* como para las demás cepas de *Lactobacillus* utilizadas.

Finalmente, la baja producción de ácido láctico por parte de *L. delbrueckii* en todas las condiciones de estudio es de resaltar, ya que en la literatura está reportado como un buen productor de ácido láctico. Debido a que este estudio es un tamizaje inicial de microorganismos, se recomienda verificar el estado metabólico de la cepa y hacer modificaciones al medio de cultivo para aumentar la producción del producto deseado.

La determinación del microorganismo con mayor producción de ácido láctico a partir de los residuos de la industria azucarera, permitirá realizar el análisis y factibilidad económica y tecnológica para su producción de ácido láctico a escala industrial, basado en el uso de herramientas computacionales.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos experimentales obtenidos el microorganismo que tuvo un mejor comportamiento a las condiciones sometidas y una mayor producción de ácido láctico fue el *Lactobacillus amylovorus*.

Como perspectivas del trabajo, se realizarán análisis similares con las cepas en presencia de un efluente de la industria láctea rico en lactosa.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del ingenio "El Refugio", el cual pertenece a la unidad Central Motzorongo S. A de C.V. por facilitar la materia prima utilizada en el desarrollo de este estudio. Rodríguez-Gomez, D. y Morales-Rodríguez, R. Agradecen a PRODEP-SEP por el apoyo

económico para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Valderrama J.O. & Rojas C.J. (2003), Caracterización del Bagazo de Caña de Azúcar Mediante Análisis Térmico, Información Tecnológica, 14(4), 91 – 92.
- [2] Herryman M. & Blanco G. (2005), Ácido Láctico y Poliláctico: Situación Actual y Tendencias, ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 39(1), 49 – 51.
- [3] Samartí Ríos, L., Sánchez Morales, M., Avalos Farfán, S., Rodríguez-Gomez, D., Loera-Corral, O., Favela-Torres, E. & Morales-Rodríguez, R., (2014), Análisis experimental para la producción de Acetona, Butanol y Etanol a partir de Residuos de la Industria Azucarera, Memorias del XXXV Encuentro de la AMIDIQ, 6 al 9 de Mayo, Puerto Vallarta, Jalisco, 1337 – 1342.
- [4] Bonilla M., (1995), Obtención de Ácido Láctico por Fermentación con *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, 23(1), 18 – 20.