

## OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO POR FERMENTACIÓN DE LACTOSUERO COMO PRECURSOR DE ÁCIDO POLILÁCTICO

P. C. Garnero <sup>(1)\*</sup>, P. Chiappero <sup>(1)</sup>, R. Daniele <sup>(1)</sup>, V. Zanazzo <sup>(1)</sup>, V.V. Nicolau <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Grupo de Polímeros (Gpol), Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional San Francisco, Universidad Tecnológica Nacional, Avda. de la universidad 501, San Francisco (2400), Córdoba, Argentina.

\*pcgarnero@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

La explotación de los desechos industriales se aprecia por el cuidado del medioambiente y por el ahorro económico. En este sentido, el lactosuero es el subproducto más abundante de las industrias lácteas. Su uso permitirá disminuir los grandes volúmenes de este subproducto y los consecuentes problemas de contaminación para generar dos productos de alto valor agregado que no se producen en nuestro país, el ácido láctico (AL) y el ácido poliláctico (APL). Sin embargo, las tecnologías basadas en lactosuero están aún en vías de desarrollo debido a sus altos costos.

La vía biotecnológica es indispensable para producir AL ópticamente puro (Ghaffar *et al.*, 2014). Panesar *et al.* (2010) y García *et al.* (2013) obtuvieron ácido L(+) láctico por fermentación de suero de quesería empleando *Lactobacillus casei*. De manera similar, Schepers *et al.* (2004) y Urribarrí *et al.* (2006) obtuvieron el par racémico del ácido láctico a partir de *Lactobacillus helveticus* en procesos en 2 etapas y continuo, respectivamente.

El objetivo de este trabajo es producir AL a partir de la fermentación del lactosuero utilizando una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* para luego separarlo del mosto de fermentación utilizando tecnología de membranas. Esta es una primera etapa en la síntesis de AL puro, para poder ser utilizado como precursor del APL.

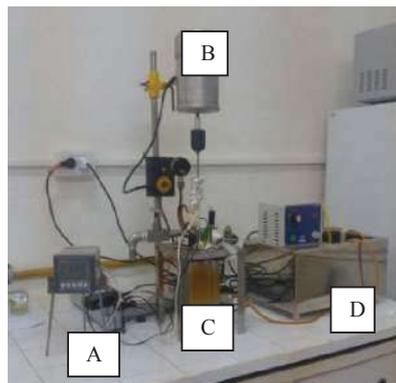
### MÉTODOS

#### A. Materiales y Reactivos

Agua destilada, Agar Man Rogosa Sharpe (MRS), Caldo MRS, peptona de carne (Britania), suero en polvo (Santa María) con un contenido de lactosa de 80% p/p, NaOH (Cicarelli, 97 % de pureza), soluciones de NaOH 1 N (Cicarelli), NaOH 0.1 N (Cicarelli) y 1.25 % p/v, solución de HCl 0.1 N (Anedra), y Kit de Gram (Britania), ácido fosfórico 50% p/p (Cicarelli), NH<sub>4</sub>OH 28% p/p (Anedra), extracto de levadura (Merk), triptona (Merk) y Tween 80 (Sigma-Aldrich) como antiespumante. Ferrocianuro de potasio (Biopack), Solución acuosa de azul de metileno al 1%, Lactosa monohidratada (Cicarelli), Sulfato de zinc (Cicarelli), Sulfato de cobre cristalino (Cicarelli), Tartrato de sodio y potasio (Cicarelli).

#### B. Fermentación Láctica

Para la fermentación se empleó un fermentador de vidrio de 1L con tapa de acero inoxidable equipado con agitador mecánico, termómetro digital, manómetro, calefacción externa mediante recirculación de agua proveniente de un baño termostático, controlador de pH, y reservorio con solución de hidróxido de amonio 28 % p/p para la corrección de pH mediante apertura de válvula solenoide (Fig. 1).



**Fig. 1:** Sistema de Fermentación (A: controlador de pH, B: agitador mecánico, C: fermentador, y D: baño termostático)

- Preparación del mosto: Se preparó una solución con un contenido de lactosa de 4,5% a partir de 56 g de suero en polvo y 800 ml de agua destilada en un frasco autoclavable de 1L. El pH se ajustó a pH=4,25 con una solución de ácido fosfórico 50% (por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas), y se esterilizó a vapor fluyente. Las proteínas precipitadas se separaron por filtración al vacío. El suero desproteínado se enriqueció con extracto de levadura (20 g/l) y triptona (10 g/l) como fuente de nitrógeno y se adicionó 1 g/l de Tween 80 como antiespumante. Finalmente se ajustó a pH=6 con solución de NaOH 1 N.

- Microorganismo y condiciones de cultivo: cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC N° 11842, que representa a una subespecie de *Lactobacillus* con buena capacidad de producción de ácido láctico a partir de lactosuero.

- Reactivación del microorganismo y preparación del inóculo: 1 ml del conservado se sembró en 10 ml de Caldo MRS, se incubó a 37 °C durante 24 h y luego se realizó una resiembra en las mismas condiciones. Este precultivo se sembró en 100 ml de mosto y se incubó a 37 °C durante 24 h.

- Condiciones de fermentación: se trabajó a 37 °C y pH=6 por un período de 33 h.

A lo largo de las fermentaciones se verificó la presencia del AL mediante Cromatografía Gaseosa (CG) y Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas (GC-MS) y se midió el contenido de lactosa mediante la técnica de Felhing, Causse y Bonnans (FCB). Para la Cromatografía se empleó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (GC/F.I.D.) CLARUS 600/FID, Inyectores Programable Split/Splitless (PSS), bajo las siguientes condiciones de análisis: tipo de columna, DB 5 (Agilent Tech. 122-5552) (5% fenil metil silicona 95%).

### Resultados

En la Figura 2 se muestran los Cromatogramas obtenidos a los 5 minutos y a las 12 y 24 horas de comenzada la fermentación, así como también los correspondientes espectros de GC-masa para cada uno de los picos. Como era de esperar se observa formación de AL a lo largo del tiempo y la formación del dímero lactido a las 24 h de reacción.

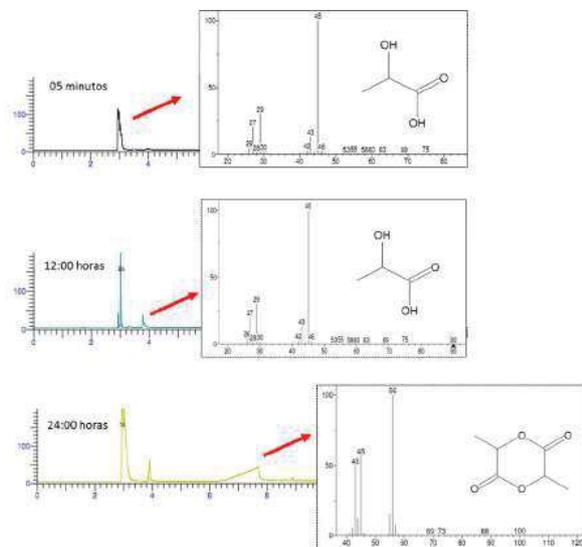


Fig 2. Cromatografía Gaseosa y Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas (GC-MS) para la fermentación de la cepa *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Por otra parte, en la Fig. 3 se muestra la evolución de lactosa mediante la técnica de Felhing, Causse y Bonnans (FCB) donde se observa que la máxima conversión se

encuentra entre las 12 y 24 horas de comenzado el proceso de fermentación y la conversión final fue de 81,26 %. Este resultado es similar a los reportados en la literatura (Sánchez *et al.*, 2007; Panesar *et al.*, 2007; Ramos-Izquierdo *et al.*, 2009).

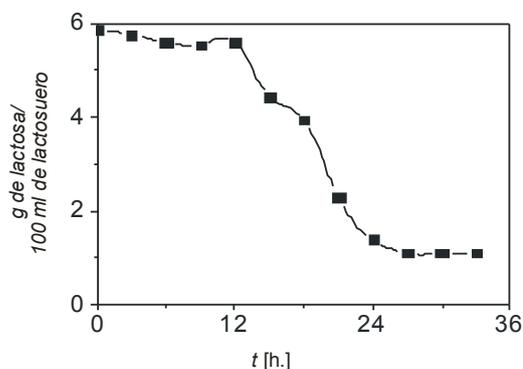


Fig. 3. Evolución del contenido de lactosa durante la fermentación.

### CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que el lactosuero puede ser empleado como medio de fermentación para la obtención de ácido láctico con una conversión del 81,26 % utilizando cepas del género *Lactobacillus* con buena resistencia a la acidez y buena capacidad de acidificación tal como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. La productividad del ácido láctico alcanzó un valor de 1,41 g l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>.

En futuros trabajos se empleará el ácido láctico obtenido para obtener ácido poliláctico.

### REFERENCIAS

- Ghaffar T., Irshad M., Anwar Z., Agil T., Zulifqar Z., Tariq A., Kamran M., Ehsan N., Mehmoo S., "Recent trends in lactic acid bio technology: A brief review on production to purification", *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 30, pp. 1-8, 2014.
- Panesar P., Kennedy J., Knill C., Kosseva M., "Production of L(+) Lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey", *Brazilian Archives of Biology And Technology*, vol. 53, pp. 219-226, 2010.
- Ramos-Izquierdo B., Bucio-Galindo A., Bautista-Muñoz C., Aranda-Ibáñez E., Izquierdo-Reyes F., "Aislamiento, Identificación y Caracterización de Bacterias Ácido Lácticas para la elaboración de Queso crema tropical", *Universidad y Ciencia*, vol. 25, pp. 159-171, 2009.
- Sánchez N., Ramírez D., Zapata A., "Evaluación de un sistema de Fermentación extractiva para la producción de ácido láctico utilizando suero de leche como sustrato", *Vitae, Rev. de la Facultad de Química Farmacéutica*, vol. 14, pp. 27-34, 2007.