



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO
"L (+)" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR:

BYRON ISRAEL UQUILLAS GUANULEMA

Riobamba - Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO
"L (+)" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: BYRON ISRAEL UQUILLAS GUANULEMA

DIRECTOR: Ing. EDER LENIN CRUZ SIGUENZA MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Byron Israel Uquillas Guanulema**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

Yo, BYRON ISRAEL UQUILLAS GUANULEMA, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el texto que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 9 de diciembre de 2022



Byron Israel Uquillas Guanulema

065050558-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: el Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación. “**OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "L (+)" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR**”, realizado por el señor **BYRON ISRAEL UQUILLAS GUANULEMA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos. Msc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



2022-12-09

Ing. Eder Lenin Cruz Siguenza. Msc.
**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2022-12-09

Ing. Daniel Antonio Chuquin Vasco
**ASESOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2022-12-09

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY/ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del Problema.....	2
1.2. Limitaciones y delimitaciones.....	3
<i>1.2.1. Limitaciones.....</i>	<i>3</i>
<i>1.2.2. Delimitaciones.....</i>	<i>3</i>
1.3. Problema General de Investigación.....	3
1.4. Problemas específicos de investigación.....	3
1.5. Objetivos.....	4
<i>1.5.1. Objetivo General.....</i>	<i>4</i>
<i>1.5.2. Objetivos específicos.....</i>	<i>4</i>
1.6. Justificación.....	4
<i>1.6.1. Justificación Teórica.....</i>	<i>4</i>
<i>1.6.2. Justificación Metodológica.....</i>	<i>4</i>
<i>1.6.3. Justificación Práctica.....</i>	<i>5</i>

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de investigación.....	6
2.2. Referencias Teóricas.....	7
<i>2.2.1. Bioplástico.....</i>	<i>7</i>
<i>2.2.2. Ácido láctico.....</i>	<i>8</i>
<i>2.2.2.1. Estructura.....</i>	<i>8</i>

2.2.2.2.	<i>Propiedades fisicoquímicas</i>	8
2.2.2.3.	<i>Mecanismos de obtención</i>	9
2.2.2.4.	<i>Usos industriales</i>	10
2.2.3.	Ácido poliláctico	10
2.2.3.1.	<i>Influencia de la pureza óptica en las propiedades del ácido poliláctico</i>	11
2.2.3.2.	<i>Comparación del ácido poliláctico con otros termoplásticos de uso común</i>	12
2.2.3.3.	<i>Producción de ácido poliláctico</i>	13
2.2.4.	Caña de azúcar	14
2.2.5.	Fermentación láctica	15
2.2.5.1.	<i>Proceso fermentativo</i>	15
2.2.6.	<i>Lactococcus lactis</i>	15
2.2.7.	Caldo M17	16
2.2.8.	Análisis térmico	16
2.2.9.	Curva TG	17

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	19
3.1.	Enfoque de investigación	19
3.2.	Nivel de Investigación	19
3.3.	Diseño de investigación	19
3.3.1.	<i>Según la manipulación o no de la variable independiente</i>	22
3.4.	Tipo de estudio	22
3.5.	Población, selección y cálculo del tamaño de la muestra	23
3.5.1.	<i>Población</i>	23
3.5.2.	<i>Selección y cálculo del tamaño de la muestra</i>	24
3.6.	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	24
3.6.1.	Métodos	24
3.6.1.1.	<i>Método cuantitativo</i>	24
3.6.1.2.	<i>Método deductivo</i>	24
3.6.2.	Técnicas e instrumentos de investigación	24
3.6.2.1.	<i>Método utilizado para la esterilización de materiales, medios de cultivo y sustrato</i>	25
3.6.2.2.	<i>Método utilizado para el enriquecimiento de la bacteria lactococcus lactis</i>	26
3.6.2.3.	<i>Medición de la concentración ácido láctico por sobrenadantes</i>	27
3.6.2.4.	<i>Método utilizado para el secado del ácido láctico obtenido una vez finalizada la fermentación</i>	28

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
4.1.	Curva de calibración para la cuantificación de ácido láctico obtenida en el HPLC.....	30
4.2.	Cálculos	31
4.2.1.	<i>Cálculo de la cantidad de ácido láctico obtenido.....</i>	31
4.3.	Resultados.....	32
	CONCLUSIONES.....	33
	RECOMENDACIONES.....	35
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Propiedades fisicoquímicas del ácido láctico	9
Tabla 2-2:	Algunas propiedades mecánicas de polímeros de uso común	12
Tabla 3-2:	Composición química del jugo de caña.....	14
Tabla 4-2:	Taxonomía del <i>Lactococcus lactis</i>	16
Tabla 1-3:	Procedimiento para el uso del autoclave	25
Tabla 2-3:	Procedimiento para el uso de la incubadora	26
Tabla 3-3:	Procedimiento para la medición de ácido láctico	27
Tabla 4-3:	Procedimiento para el secado del ácido láctico por rotavapor.....	28
Tabla 5-3:	Procedimiento para el secado del ácido láctico por estufa	29
Tabla 1-4:	Datos de la curva de calibración de ácido láctico.....	30
Tabla 2-4:	Datos obtenidos del HPLC.....	31
Tabla 3-4:	Concentraciones finales de ácido láctico.....	31
Tabla 4-4:	Resultados obtenidos	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2:	Estructuras isométricas del ácido láctico	8
Figura 2-2:	Diferentes rutas en la manufactura de bases poliméricas de ácido láctico	13
Figura 3-2:	Síntesis de ácido láctico	13
Figura 1-3:	Ubicación del Ingenio San Carlos	23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2:	Curva TG del monómero L (+) del ácido láctico	18
Gráfico 1-3:	Diagrama de flujo del proceso de enriquecimiento del <i>Lactococcus lactis</i>	20
Gráfico 2-3:	Diagrama de flujo para el proceso de fermentación de los sustratos de caña	21
Gráfico 3-3:	Diagrama de flujo para la medición de las concentraciones de azúcar y ácido láctico	22
Gráfico 1-4:	Curva de calibración para ácido láctico	30
Gráfico 2-4:	Comparación de resultados en la obtención de ácido láctico	32

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: MATERIA PRIMA A UTILIZARSE PARA LA FERMENTACIÓN

ANEXO B: ACTIVACIÓN DEL LACTOCOCCUS LACTIS LIOFILIZADO

ANEXO C: ENRIQUECIMIENTO DEL LACTOCOCCUS LACTIS

ANEXO D: PREPARACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR

ANEXO E: FERMENTACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE JUGO DE CAÑA

ANEXO F: ANÁLISIS DE ÁCIDO LÁCTICO POR HPLC DEL SUSTRATO DE JUGO DE CAÑA

ANEXO G: ANÁLISIS DE ÁCIDO LÁCTICO POR HPLC DEL SUSTRATO DE JUGO DE CAÑA Y EXTRACTO DE LEVADURA

ANEXO H: SECADO DEL RESULTANTE LUEGO DE LA FERMENTACIÓN

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

LLA	Ácido L-láctico
BAL	Bacterias ácido lácticas
PLLA	Ácido poli(L-láctico)
PDLA	Ácido poli(D-láctico)
PDLLA	Ácido poli (D, L-láctico)
LDPE	Polietileno de baja densidad
HDPE	Polietileno de alta densidad
PS	Poliestireno
PA	Poliamida
PP	Polipropileno
HDT	Temperatura de distorsión
GRAS	Generally recognized as safe (Generalmente reconocido como seguro)
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótida
ATP	Adenosín trifosfato
TG	Termogravimétrico

RESUMEN

El presente proyecto de investigación tuvo como objetivo obtener el isómero LLA del ácido láctico, mismo que se obtuvo mediante la fermentación láctica de jugo extraído de la caña de azúcar con quema haciendo uso de la BAL *lactococcus lactis*, además se realizó el secado del producto final. Para la fermentación, se preparó 500 mililitros de jugo de caña, a uno de ellos se agregó un porcentaje del 3 % (m/V) de extracto de levadura con el fin de determinar si este último influenciaba o no en el proceso de fermentación. A cada sustrato se inoculó una proporción de 1:10 de bacteria activada. La medición de la concentración final del monómero obtenido se realizó por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Con los datos obtenidos del HPLC se obtuvo la ecuación de regresión lineal, obteniéndose como resultado las concentraciones, en porcentajes masa volumen (m/V), de 0,53 % para el primer tratamiento y 0,52 % para el segundo de ácido láctico producido una vez finalizada la fermentación de los sustratos. En conclusión, el extracto de levadura no aporta ninguna mejora significativa en el proceso de fermentación. Se recomienda llevar un control de crecimiento de la BAL una vez inoculada en los sustratos.

Palabras clave: <ÁCIDO LÁCTICO>, <JUGO DE CAÑA>, <FERMENTACIÓN LÁCTICA>, <LACTOCOCCUS LACTIS>, < CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN>.

0079-DBRA-UPT-2023

SUMMARY/ABSTRACT

The objective of this research project consisted of obtaining the LLA isomer of lactic acid, which was achieved by lactic fermentation of juice extracted from sugar cane by burning it using the LAB *Lactococcus lactis*, and drying the final product. For the fermentation, 500 milliliters of sugar cane juice were prepared, to one of them 3 % (m/V) of yeast extract was added in order to determine whether or not the latter influenced the fermentation process. Each substrate was inoculated with a 1:10 ratio of activated bacteria. The final concentration of the monomer obtained was measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). With the data from the HPLC, the linear regression equation was obtained, resulting in concentrations, in mass volume percentages (m/V), of 0.53 % for the first treatment and 0.52 % for the second treatment of lactic acid produced once the fermentation of the substrates was completed. In conclusion, the yeast extract does not provide any significant improvement in the fermentation process. It is recommended to monitor the growth of the LAB once it is inoculated on the substrates.

Key words: <LACTIC ACID>, <SUGAR CANE JUICE>, <LACTIC FERMENTATION>, <LACTOCOCCUS LACTIS>, <HIGH RESOLUTION LIQUID CHROMATOGRAPHY>.



Abg. Ana Gabriela Reinoso. Mgs

C.I.: 1103696132

INTRODUCCIÓN

Hoy en día para producir ácido láctico por vía biotecnológica se utilizan varios tipos de sustratos puros como la glucosa, lactosa, almidón y celulosa. Sin embargo, la producción de dicho monómero por medio de estos sustratos son económicamente desfavorables, no solo por el alto costo de dichos sustratos de alta pureza, sino también porque se requiere la adición de aditivos nitrogenados complejos para obtener ácido láctico en el menor tiempo posible. Además, el uso de polisacáridos naturales requiere de un pretratamiento para su posible fermentación (Young- Jung et al., 2004).

Con el fin de buscar una alternativa a los actuales procesos productivos de ácido láctico, se están realizando investigaciones donde los microorganismos encargados de producirlo fermenten sustratos de bajo costo, tales como jugo de caña y remolacha azucarera, suero de queso y almidón hidrolizado, de una manera rápida y completa, con el objetivo de producir productos con un alta estereoespecificidad, es decir, que presenten los isómeros deseados y que la cantidad de subproductos sea despreciable (Herryman Munilla, y otros, 2005).

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron evaluar el potencial del jugo de caña de azúcar cosechado con quema, denominado jugo de caña limpio, como sustrato en la producción fermentativa discontinua de ácido láctico; además, estudiar el efecto de la adición de extracto de levadura en el jugo mencionado y determinar el isómero de ácido láctico producido.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

Los inmensos volúmenes de desechos plásticos presentes en los ecosistemas terrestres y marinos, producto del incremento en la producción de polímeros de un solo uso y la incapacidad mundial para manejar estos residuos, son constituidos en la actualidad como una de las grandes crisis medioambientales. En el informe elaborado para WWF señala que las fallas en el sistema de producción y uso de plásticos, así como los métodos ineficientes de recolección y tratamiento de desechos son las principales causas de que millones de toneladas de residuos terminen vertidos en la naturaleza, afectando gravemente a la vida silvestre, a las comunidades aledañas y a la economía mundial (de Wit, y otros, 2019).

La contaminación provocada por los plásticos afecta principalmente a los ecosistemas marinos, la cual ha tenido un crecimiento relativamente alto en los últimos años y se prevé que se llegue hasta duplicarse para el año 2030, con consecuencias nefastas para la salud, la economía, la biodiversidad y el clima. El 80% de los residuos que llegan al océano son de naturaleza terrestre, generalmente son desechos plásticos relacionados con empaques tanto de alimentos como de bebidas. En cuanto a América Latina y el Caribe, estas regiones generan 17000 toneladas de residuos plásticos diarios. Con respecto a nuestro país, se estima que una generación de aproximadamente 58000 toneladas de desechos sólidos cada semana, de los cuales, el 54% se deposita en tiraderos a cielo abierto, el 19% va a parar en rellenos sanitarios, el 4% en ríos e incineradores, y tan solo el 23% recibe un tratamiento adecuado (Rukikaire, 2021; Compagnone, 2022; Solíz, 2015).

Una posible alternativa planteada es sustituir el plástico convencional por otras alternativas amigables con el medio ambiente tales como plásticos biodegradables, biopelículas o bioplásticos.

Actualmente, uno de los bioplásticos que ha generado mayor interés es el producido a partir de ácido poliláctico, ya que este polímero, proveniente de fuentes naturales, es usado en la industria alimentaria, farmacéutica y de cosméticos al presentar propiedades similares al PET, uno de los plásticos convencionales más empleados en la actualidad (Vázquez, Espinoza et al., 2018; Cuervo & Echeverría, 2016).

Sin embargo, la producción de bioplásticos es considerado un proceso de alto costo. Las alternativas biodegradables a los plásticos convencionales son más costosas, por lo mismo que no son consideradas una alternativa factible con respecto al aspecto económico.

1.2. Limitaciones y delimitaciones

1.2.1. Limitaciones

- Dificultad para la conservación de la materia prima (sustrato de la caña de azúcar), por lo que se debe trabajar lo antes posible para evitar su descomposición, lo que podría afectar en los resultados finales.
- Difícil acceso al reactivo necesario (caldo M17) para el cultivo de la bacteria *lactococcus lactis*, misma que iba a utilizarse para el proceso de obtención de ácido láctico por fermentación.

1.2.2. Delimitaciones

El trabajo de investigación a realizarse únicamente se centrará en la síntesis de ácido L-láctico, ya que la falta del equipo en la institución necesario no permite la realización de pruebas posteriores a la obtención del monómero, las cuales consistían en la polimerización del mismo, así como la caracterización del polímero obtenido.

1.3. Problema General de Investigación

¿Cuál es el proceso a utilizarse para la obtención del isómero LLA del ácido láctico, el cual posea las características adecuadas para la elaboración de ácido poliláctico, mismo que deberá poseer la resistencia y durabilidad que se requiere para sustituir a los materiales provenientes de hidrocarburos?

1.4. Problemas específicos de investigación

- ¿Cuál será la mejor materia prima para la obtención del isómero LLA del ácido láctico con un buen rendimiento?
- ¿Existe un aumento en la fermentación si se agrega al sustrato extracto de levadura?
- ¿Qué método de secado debe utilizarse para la obtención de un isómero LLA estable del ácido láctico?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Obtener ácido láctico mediante fermentación del sustrato de la caña de azúcar con quema y cogollos y la posterior síntesis del isómero LLA de manera estable para su uso en futuras pruebas de polimerización.

1.5.2. Objetivos específicos

- Sintetizar el isómero LLA (*L Lactide*) a partir del ácido láctico obtenido.
- Determinar la cantidad del isómero LLA obtenido una vez finalizada la fermentación por medio de una regresión lineal de los resultados del HPLC.
- Deshidratar el isómero LLA (*L Lactide*) hasta obtener un isómero con porcentaje de humedad menor al 0,5%.

1.6. Justificación

1.6.1. Justificación Teórica

El siguiente trabajo de investigación se realizará con el objetivo de contribuir al conocimiento existente sobre la síntesis de ácido láctico mediante la fermentación microbiana de sustratos ricos en azúcares.

1.6.2. Justificación Metodológica

Para lograr los objetivos propuestos en la investigación se hará uso de técnicas de fermentación con microorganismos pertenecientes a la familia Streptococcacea, género Lactococcus, a partir de sustratos ricos en azúcares, además del análisis de las cantidades del producto a obtenerse mediante el uso de Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), un análisis de humedad del isómero producido y un análisis estadístico mediante los valores obtenidos de la parte práctica de la investigación.

1.6.3. Justificación Práctica

El propósito de esta investigación es obtener el isómero LLA del ácido láctico proveniente de la caña de azúcar mediante un proceso más económico, ya que los actualmente existentes utilizan sustratos puros, tales como glucosa, lactosa, almidón y celulosa, los cuales son económicamente desfavorables, no sólo porque son costosos y requieren la adición de fuentes nitrogenadas complejas para producir ácido láctico, sino también porque se requiere de un pretratamiento de los polisacáridos naturales para su posible fermentación (Wee, y otros, 2004).

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

El uso de materias primas renovables y biomasa para la producción de plásticos no es un tema nuevo en el escenario de la química. Durante los siglos XIX y XX, la industria manufacturera se benefició de una amplia gama de materiales de base biológica obtenidos mediante el procesamiento de celulosa, aceite vegetal, y proteínas. Algunos de ellos, como el CellophaneTM, la poliamida-11 y la ViscosaTM, resistieron con éxito durante el apogeo de la industria petroquímica, gracias a su competitividad en términos de propiedades tecnológicas y viabilidad económica (Pellis, y otros, 2020).

A pesar de ya haber sido producidos a la par con los plásticos convencionales, no tomaron la relevancia que les correspondía hasta que fueron considerados como una interesante opción para la industria, ya que pueden ser tratados mediante tecnologías semejantes a las de los materiales termoplásticos convencionales, como son la extrusión, inyección o soplado, sin mencionar el aspecto de la biodegradabilidad, lo que evitaría su acumulación excesiva en la naturaleza (Valero, y otros, 2013).

De acuerdo con Valero, y otros, uno de los biopolímeros que ha adquirido mayor relevancia en la actualidad es el ácido poliláctico, ya que presenta buenas mecánicas en comparación con otros plásticos convencionales, como es el caso del tereftalato de polietileno. Además, presenta ventajosas propiedades de barrera a olores como a sabores, posee una alta fortaleza frente a grasas y aceites por lo que es adecuado para ser utilizado en envases de aceites, productos secos y perecederos. También es usado en aplicaciones biomédicas, principalmente en el ámbito de sistemas de liberación controlada de fármacos. Este polímero, perteneciente al grupo de los alfa hidroxiácidos o poliésteres alifáticos, puede ser producido a partir del ácido láctico (2013).

El ácido poliláctico no es un material reciente, nos viene acompañando desde décadas atrás. Fue descubierto por el químico estadounidense Carothers en 1932, cuando calentó al vacío ácido láctico, sin embargo, el producto obtenido poseía un bajo peso molecular, así como pobres propiedades mecánicas, por lo que DuPont continuó con sus investigaciones sobre el polímero, lo que llegó a resultar en un PLA cuyo peso molecular era alto, pero se hidrolizaba fácilmente provocando su rápida degradación, por lo que decidió detener su investigación. No fue hasta 1972

que se lograría obtener un polímero estable de PLA. “Ethicon creó una fibra resistente y biocompatible para uso médico en suturas, la cual consistía en un copolímero formado por ácido láctico y ácido glicólico, provocando una hidrolización lenta hasta sus ácidos constituyentes (Lowe, 1954; Lunt, 1998).

Uno de los impedimentos más significativos en el desarrollo del PLA viene siendo el alto costo que tenía la síntesis de su monómero, sin embargo, en la actualidad, se está buscando procesos de obtención en donde los microorganismos encargados de producirlo fermenten de una manera rápida y completa sustratos de bajo costo, cuya adición de compuestos nitrogenados sea mínúscula, y que posean una estereoespecificidad elevada. También se busca que el proceso se dé en valores bajos de pH y altas temperaturas, con una producción de biomasa mínima y que el número de subproductos sea el más bajo posible (Herryman Munilla, y otros, 2005).

2.2. Referencias Teóricas

2.2.1. Bioplástico

El término bioplástico hace referencia a los materiales plásticos que han sido manufacturados partiendo de materia orgánica, generalmente de origen vegetal, como maíz, caña de azúcar o celulosa, además son biodegradables. Sin embargo, son considerados también como bioplásticos aquellos que presentan biodegradabilidad, aunque sean de origen fósil. De momento son considerados la contraparte a los plásticos no biodegradables provenientes del petróleo” (El plástico y sus alternativas, 2019).

Hoy en día, el 65% de los bioplásticos se utiliza en envases y productos de corta duración, no obstante, su empleo en los ámbitos de medicina, agricultura, fabricación de juguetes, electrónicos, herramientas y autopartes ha ido en crecimiento. Pese a que la estimación de la participación de los bioplásticos en el mercado fue menor al 1% en el 2010, dicho sector está teniendo fuerte crecimiento, con tasas anuales del 30% (Vasquez, 2016).

El procedimiento más habitual de elaboración de bioplásticos empieza con la síntesis de etanol, ácido láctico u otro tipo de compuestos partiendo de la fermentación de los almidones o azúcares de las plantas, para luego transformarlos en monómeros que originarán el plástico. Este método permite la obtención de plásticos como el PLA, pero también se puede llegar plásticos convencionales, los cuales presentan las mismas cualidades que los polímeros elaborados a partir del petróleo (Vasquez, 2016).

2.2.2. Ácido láctico

El Ácido láctico es un ácido orgánico utilizado en una serie de procesos bioquímicos. Es una molécula monocarboxílica orgánica producida durante el metabolismo anaeróbico láctico (Serna y Rodríguez, 2005).

Es uno de los ácidos orgánicos que ha despertado un mayor interés hoy en día- desde que fue descubierto, analizando leche agria, por el químico sueco Karl Wilhelm Scheele en 1780, su identificación y separación se ha convertido en un tema de interés tanto para la industria alimenticia, como para la farmacéutica y, últimamente su uso como materia prima para la elaboración de ácido poliláctico, un biopolímero degradable (Torres, y otros, 2019).

2.2.2.1. Estructura

Es un ácido carboxílico, el cual posee un grupo oxidrilo en el carbono adyacente al carboxilo. El carbono asimétrico que posee da lugar a la actividad óptica, presentando dos formas ópticamente activas, como se observa en la Gráfico 1-2, la L(+) levorrotatoria y la D(-) dextrorrotatoria. Por lo general, se obtiene una mezcla de ambas formas ópticas D y L, es decir, el resultado es una mezcla racémica (García, y otros, 2010).

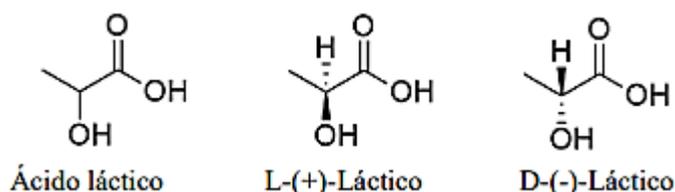


Figura 1-2. Estructuras isométricas del ácido láctico

Realizado por: Cedeño, 2016.

2.2.2.2. Propiedades fisicoquímicas

Sus propiedades físicas y químicas se muestran en la Tabla 1-2.

Tabla 1-2. Propiedades fisicoquímicas del ácido láctico

Parámetro	Característica
Fórmula química	C ₃ H ₆ O ₃
Masa molar 90,080 g/mol	90,080 g/mol
Propiedades físicas	
Estado	Líquido
Color	Incoloro, ligeramente amarillento
Densidad	1,029 g/mL
Punto de fusión 18° C	18° C
Punto de ebullición 122° C	122° C
Corrosivo	-
Solubilidad	
Agua	Miscible
Etanol	Miscible
Éter	Miscible
Propiedades químicas Ácido orgánico débil	

Fuente: Cedeño, 2016

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022

2.2.2.3. Mecanismos de obtención

El ácido láctico puede ser producido por medio de síntesis química partiendo de la reacción del etanal con ácido cianhídrico o por la vía fermentativa haciendo uso de BALs. Con el propósito de obtener ácido láctico ópticamente puro la producción se ha ido dirigiendo a la ruta biotecnológica (Bárcena, y otros, 1999).

- *Síntesis química*

El proceso comercial de producción parte del lactonitrilo. El ácido cianhídrico es añadido al etanal en un medio básico para sintetizar lactonitrilo. El lactonitrilo bruto es recuperado y purificado mediante una evaporación. Posteriormente, es hidrolizado al ácido láctico en presencia de ácido clorhídrico concentrado o en presencia de ácido sulfúrico con el fin de obtener una sal de amonio y ácido láctico. Finalmente, el ácido láctico obtenido es esterificado mediante la adición de alcohol metílico para elaborar lactato metílico, mismo que es recuperado y purificado mediante una evaporación e hidrólisis haciendo uso de un catalizador de tipo ácido dando como resultado ácido láctico y metanol, éste último es recuperado y reciclado con otros fines (Escuela Técnica de Ingenieros Industriales, 2014).

- *Producción biotecnológica*

La síntesis de ácido láctico haciendo uso de una ruta biotecnológica ha sido utilizada a lo largo de los años, ya que permitía reducir los costos de elaboración. Esta reducción de costos sería con el objetivo de rivalizar en el mercado con los procesos de producción convencionales (Torre, 2019).

La BAL *Lactobacillus delbrueckii* es la BAL empleada en la elaboración industrial, porque consume eficientemente la glucosa, además es un microorganismo termófilo que posee una temperatura óptima de crecimiento de 45 a 62°C, lo que conlleva a la reducción de costos de refrigeración y desinfección, al igual que mejora la prevención de contaminaciones microbiológicas en el fermentador. Su pH ideal se encuentra entre 5.5 y 6.5, por lo cual el ácido resultante puede ser neutralizado con carbonato de calcio (García, Quintero y López, 1993).

2.2.2.4. *Usos industriales*

El ácido láctico posee un sinnúmero de aplicaciones en distintas áreas industriales, siendo la industria de alimentos la más tradicional y reconocida; es empleado como saborizante, conservante, emulsionante y puede prolongar la vida de los alimentos. En la industria química es utilizado para la desinfección de superficies y tuberías; además actúa como regulador del pH o como neutralizante (Oliveira, y otros, 2018).

Actualmente, el ácido láctico puede ser empleado como monómero para la síntesis de PLA, un biopolímero degradable. Esta tecnología ha ido generando el interés de la industria química debido a la numerosa cantidad de aplicaciones que viene ofreciendo (Abdel-Rahman, y otros, 2013).

2.2.3. *Ácido poliláctico*

El ácido poliláctico es un poliéster termoplástico proveniente de la familia de los alfa hidroxilácidos. Como su precursor se utiliza al ácido láctico, una molécula quiral (Serna, y otros, 2003).

De acuerdo con Vasquez, es un plástico biobasado (fabricado a partir de materia orgánica) y biodegradable (se descompone de forma natural por la acción de agentes biológicos) elaborado, generalmente, a partir de maíz (2016).

Según Serna, y otros, debido a sus propiedades biodegradabilidades, de barrera y a su biocompatibilidad, se han descubierto numerosas aplicaciones para el ácido poliláctico, debido a que muestra una gran cantidad de propiedades inusuales, desde una estructura amorfa hasta una cristalina. Dichas propiedades pueden conseguirse si se manipulan las mezclas de los isómeros D y L del ácido láctico, los pesos moleculares y la copolimerización (2003).

Con base en la información presentada por Herryman Munilla, y otros, se dice que el ácido poliláctico el material con el mayor potencial para reemplazar a los plásticos usados en la actualidad, no solo por sus excelentes propiedades físicas y mecánicas, sino que también puede ser procesado haciendo uso de las maquinarias existentes en la actualidad, solo deben realizarse unos pequeños ajustes de los mismos. Cuenta con una alta versatilidad, ya que puede ser producido con diferentes formulaciones con el objetivo de satisfacer la mayor parte de las especificaciones que deben presentar los productos plásticos (2005).

2.2.3.1. Influencia de la pureza óptica en las propiedades del ácido poliláctico

Al presentar el ácido láctico un comportamiento quiral, es decir, se muestra en dos formas ópticamente activas, las cuales permiten la obtención de tres polímeros, dos polímeros estereorregulares, ácido poli(L-láctico) y ácido poli(D-láctico), y la forma racémica, ácido poli (D, L-láctico), los cuales son morfológicamente diferentes por lo que presentan propiedades únicas entre sí. Los polímeros obtenidos a partir de los monómeros D y L del ácido láctico son materiales semicristalinos, mientras que el PDLLA será siempre amorfo (Vijayakumar, Aravindan y Viruthagiri, 2008).

El PLLA presenta un alto grado de cristalinidad y estereorregularidad, lo que le otorga una alta resistencia a la tensión, una baja elongación, lo que deriva en un módulo de Young elevado, haciendo que este polímero sea muy apropiado para ser utilizado en aplicaciones que tengan que ver con el hecho de soportar cargas mecánicas. En el aspecto térmico, es característico por presentar un elevado punto de fusión (175-178°C) y una temperatura de transición vítrea que va de los 60 a los 65°C; los aspectos descritos previamente dependerán del peso molecular que tenga el polímero (Lim, Auras y Rubino, 2008). El PDLA posee características similares al PLLA, diferenciándose únicamente en la configuración espacial de sus moléculas y, consecuentemente, en la ubicación de los cristales formados (Sarasua, et al. 2005).

El PDLLA está constituido por los dos estereoisómeros del ácido láctico, los cuales presentan una distribución aleatoria, provocando que el polímero sea amorfo. Como consecuencia, posee la resistencia a la tensión más baja con respecto al PLLA, una alta elongación, así como una elevada

velocidad de degradación. Dichas características lo han hecho un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos (Lim, Auras y Rubino, 2008).

2.2.3.2. Comparación del ácido poliláctico con otros termoplásticos de uso común

El PLA posee cualidades mecánicas que se encuentran en la misma categoría que los polímeros provenientes del petróleo, excepto el tener una baja elongación. No obstante, su baja elongación puede ser mejorada mientras se lleva a cabo la polimerización, proceso conocido como copolimerización, o por configuraciones postpolimerización. La tabla 2-2 presenta una comparación de algunas de las propiedades mecánicas que poseen los plásticos convencionales con las del PLA.

Tabla 2-2. Algunas propiedades mecánicas de polímeros de uso común

Polímero	Fuerza de Tensión (Mpa)	Módulo de Tensión (Gpa)	Temperatura Máx. Usada (°C)
LDPE	6.2 - 17.2	0.14 - 0.19	65
HDPE	20 - 37.2	-	121
PET	68.9	2.8 - 4.1	204
PS	41.3 - 51.7	3.1	78
PA	62 - 82.7	1.2 - 2.8	-
PP	33 - 37.9	1.1 - 1.5	121
PLLA	40 - 60	3 - 4	50 - 60

Fuente: Serna, Rodríguez y Albán, 2003

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022

El PLA es un polímero con un comportamiento muy similar PET, aunque también actúa como el PP. Esencialmente, puede llegar a convertirse en un polímero con una gran variedad de usos, ya que presenta la capacidad de ser cristalizado de forma térmica, puede ser modificado por medio de impactos, por inyección, sufrir copolimerización y ser tratado en una infinidad de equipos. Este polímero también puede ser elaborado en forma de películas transparentes, fibras, o ser moldeado mediante inyección para la elaboración de recipientes (Orozco, 2011). Además, actúa como una barrera bastante buena frente al agua y al dióxido de carbono, también sus propiedades como barrera frente al oxígeno son muy buenas. Puede ser igual de firme que el ácido poliacrílico o tan dúctil como lo es el polietileno, tan endurecido como lo es como el poliestireno o presentar la flexibilidad de un elastómero. Además, se puede formular de varias maneras para obtener resistencias variadas. Sin embargo, cuando se compara el PLA con otros empaques plásticos existe la presencia de ciertas limitaciones, una de ellas es su baja temperatura de distorsión (HDT), lo que podría convertirse en un serio problema si llegará a ser aplicado en procesos donde los envases son expuestos a picos de calentamiento durante su llenado, cuando sean transportados o almacenados, resultando en su deformación (Serna, y otros, 2003).

2.2.3.3. Producción de ácido poliláctico

Aquellos polímeros que tienen como precursor al ácido láctico, pueden ser fabricados mediante diferentes vías de polimerización, las cuales se pueden visualizar en la Figura 2-2.

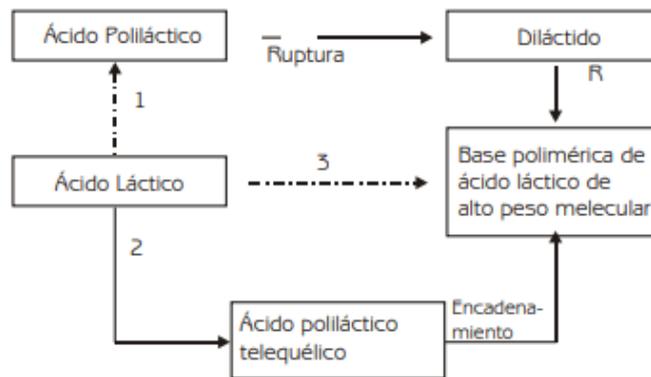


Figura 2-2. Diferentes rutas en la manufactura de bases poliméricas de ácido láctico

Realizado por: Serna, Rodríguez y Albán, 2003

Como primera vía de obtención tenemos el procedimiento por apertura de anillo, mismo que consiste en polimerizar el ácido láctico para producir un ácido poliláctico con un bajo peso molecular. Luego se procede a depolimerizar el polímero obtenido hasta llegar a la formación de un dímero cíclico conocido como lactida. Por último, el polímero de alto peso molecular se produce por la polimerización catalítica mediante la apertura del anillo de la lactida (Yoo, Kim y Sung, 2006). El procedimiento de esta vía se lo presenta a detalle en la Figura 3-2.

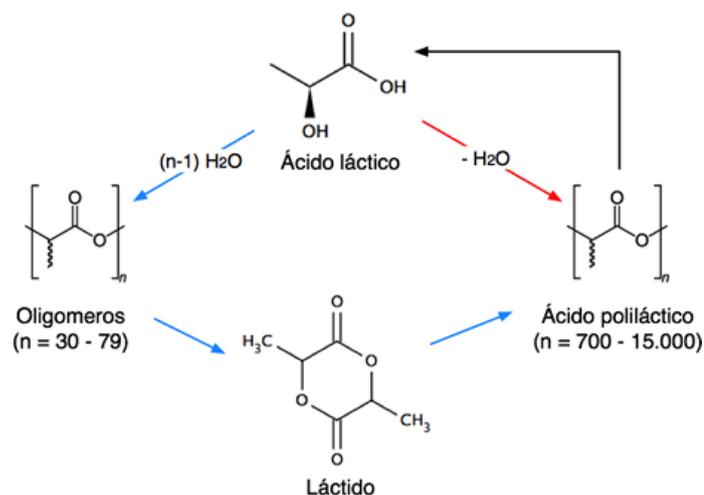


Figura 3-2. Síntesis de ácido láctico

Realizado por: Textos Científicos.com, s.f.

2.2.4. Caña de azúcar

La caña de azúcar es un cultivo perenne cultivado con el fin de conseguir un suministro de sacarosa, el cual será utilizado en la elaboración de azúcares comerciales. Los azúcares que posee la caña de azúcar son producidos en sus hojas y almacenados en su tallo; la cantidad acumulada en los tallos depende tanto de la constitución genética de la variedad sembrada de caña, como del ambiente donde ésta crece (Duarte, y otros, 2019).

Está constituida fundamentalmente por jugo y fibras. De forma cualitativa, el jugo de caña es principalmente agua y un conjunto de sólidos disueltos y en suspensión. Los análisis químicos de este producto obtenido de la caña (Tabla 3-2) revelan que los sólidos disueltos están constituidos principalmente por azúcares, siendo la sacarosa su principal componente. Asimismo, se pueden encontrar otro tipo de compuestos, conocidos como los no azúcares, que no son más que sustancias nitrogenadas como aminoácidos y proteínas, también están dentro de esta categoría compuestos como grasas, ceras, pectinas, ácidos orgánicos y colorantes, al igual que las sustancias inorgánicas. Existe también la presencia de pequeñas cantidades de almidón en forma de gránulos. Los sólidos suspendidos corresponden primordialmente a los residuos fibrosos que resultan de la extracción del jugo de la caña (Santana, y otros, 2017).

Tabla 3-2. Composición química del jugo de caña

Componentes	Sólidos solubles (masa %)
Azúcar	75,0-92,0
Sacarosa	70,0-88,0
Glucosa	2,0-4,0
Fructuosa	2,0-4,0
Sales	3,0-4,5
Ácidos inorgánicos	1,5-4,5
Ácidos orgánicos	1,0-3,0
Aminoácidos	0,5-2,5
Otros no azúcares orgánicos	
Proteínas	0,5-0,6
Almidón	0,001-0,050
Gomas	0,30-0,60
Ceras, grasas y fosfatídicos	0,05-0,15
Otros	3,0-5,0

Fuente: Duarte, et. al, 2006

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022

2.2.5. Fermentación láctica

La fermentación láctica es un proceso metabólico que ocurre en los tejidos de los animales, en un grupo de organismos eucariotas que pertenecen a la familia de los hongos y de los protozoos y en una variedad de grupos bacterianos, de los cuales cabe destacar los *Lactobacillus* y los *Streptococcus*, los cuales pueden encontrarse en la leche y en el intestino. Este tipo de microorganismos son capaces de producir dióxido de carbono y ácido láctico a partir de los azúcares presentes en los alimentos. Este tipo de fermentación enriquece los valores nutricionales de los alimentos ya que también se producen vitaminas como resultado final (Carbonero, 1975; Instituto de la Fermentación, 2019).

2.2.5.1. Proceso fermentativo

De acuerdo a la información presentada por Carbonero (1975), durante el proceso fermentativo se produce ácido láctico partiendo del piruvato procedente del proceso de glucólisis de la glucosa en presencia del enzima lactatodeshidrogenasa. De este modo, se regenera el NAD⁺, mismo que es necesario para proseguir con el proceso de glucólisis, el cual consiste en la oxidación de la glucosa, obteniéndose dos moléculas de piruvato y la generación de NADH. Luego, los electrones del NADH son donados al ácido pirúvico, mismo que termina reduciéndose en ácido láctico.

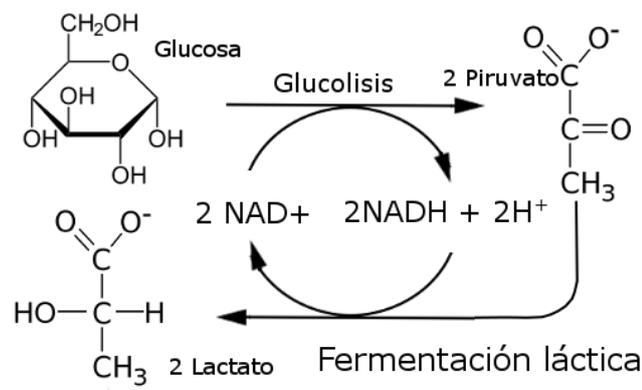


Figura 4-2. Proceso de fermentación láctica

Realizado por: Porto A. s.f.

2.2.6. *Lactococcus lactis*

Es un miembro del grupo de bacterias mesófilas. El papel principal de estos lactococos en las fermentaciones lácteas es el de metabolizar la lactosa presente en ácido láctico, además transforma las proteínas de la leche en compuestos aromáticos. Son considerados Gram positivos, no presentan la enzima catalasa, pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de

oxígeno, son inmóviles y no producen esporas. Pueden crecer a 10 °C, pero no a 45 °C, y fermentan la glucosa por la vía del difosfato de hexosa produciendo ácido L-láctico (O’Keeffe, y otros, 1999).

Tabla 4-2. Taxonomía del *Lactococcus lactis*

Taxonomía	
Dominio	Bacteria
Clase	Bacilli
Orden	Lactobacillales
Familia	<i>Streptococcaceae</i>
Género	<i>Lactococcus</i>
Especie	<i>Lactococcus lactis</i>

Fuente: Samaržija, Antunac, y Havranek, 2001

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022

2.2.7. Caldo M17

Consiste en un medio de cultivo nutricionalmente rico usado en la incubación de estreptococos lácticos, ya que contiene peptonas y derivados de la carne como fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El medio de cultivo consta de los siguientes componentes: el extracto de levadura que proporciona vitaminas B, las cuales estimularán el crecimiento bacteriano; el disodio-β-glicerofosfato mismo que amortigua el medio, ya que el este se vuelve ácido por la fermentación de la lactosa presente en el mismo; el ácido ascórbico, el cual induce el crecimiento de los estreptococos lácticos, y el sulfato de magnesio que aporta los iones necesarios para el crecimiento de las bacterias lácticas (Zimbro, y otros, 2009).

2.2.8. Análisis térmico

Los análisis térmicos representan una serie de técnicas cuyo objetivo es la medición de las propiedades físicas de una sustancia con respecto al tiempo al someterla a un programa controlado de temperatura (Gómez, 2012).

Son utilizados significativamente tanto en los campos científicos, como en los industriales, debido a que permiten la realización de mediciones cuantitativas y cualitativas de una gran cantidad de materiales, los cuales presentan notables intervalos de temperatura, obteniéndose resultados relativamente rápido (Hatakeyama, y Quinn, 2000).

Una de las principales técnicas de los análisis térmicos es el análisis termogravimétrico, el cual consiste en el registro de la cantidad de peso perdido de una muestra al tiempo que se va

incrementando la temperatura, llegando hasta los 1200°C, en condiciones controladas con respecto a la velocidad de calentamiento y bajo distintos ambientes de reacción, obteniéndose como resultado las llamadas curvas termogravimétricas, así como las curvas de análisis termogravimétrico diferencial (Mészáros et al., 2004).

Los principales procesos de degradación que puede presentar un polímero son por fotodegradación, biodegradación, degradación ultrasónica, degradación de alta energía y/o termodegradación y pueden ser causados por factores externos como la luz, temperatura, esfuerzos mecánicos, que producen una reducción significativa en las propiedades mecánicas y, en consecuencia, acortan la vida útil del material, su uso o su procesamiento (Rojas, et al. 2014).

Los análisis termogravimétricos son usados en estudios de las reacciones primarias de descomposición de materiales sólidos y líquidos, también en el análisis de procesos de desorción, adsorción y reacciones de descomposición en un ambiente de gas inerte o en presencia de oxígeno (Rodríguez, y Villegas, 2012).

2.2.9. Curva TG

La curva TG es el resultado de los análisis termogravimétricos, los cuales vienen a ser la medida de los cambios de la masa de una muestra en función de la temperatura, todo ello realizado en un ambiente controlado. Estos cambios en la masa pueden ser pérdidas o ganancias de la misma. Estos análisis son aplicados en estudios de descomposición y estabilidad térmica, estudios composicionales, determinación de purezas, determinación de contenido en humedad, materia volátil, cenizas y carbono fijo, estudios de gasificación de muestras carbonosas y en estudios cinéticos (Universidad de Alicante, s.f.).

Los termogramas son propios para cada polímero o compuesto ya que cada uno de ellos presenta una secuencia única de reacciones fisicoquímicas, las cuales se producen únicamente en intervalos de temperatura específicos, así como las velocidades de calentamiento son en virtud de la geometría molecular (Sandler, et al. 1998).

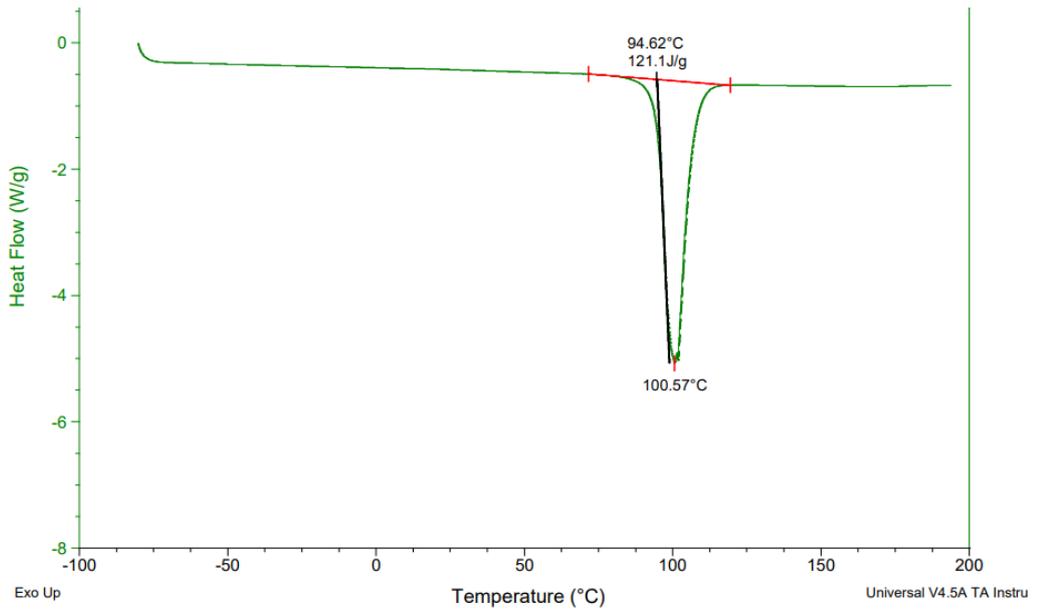


Gráfico 1-2. Curva TG del monómero L(+) del ácido láctico

Realizado por: Cruz, Eder, 2021

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de investigación

El presente proyecto de investigación posee un enfoque cuantitativo debido a que se realizará un análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento (Sampieri, y otros, 2014). Los datos a recolectarse será la cantidad de azúcares totales al inicio y final de la fermentación, así como la cantidad de ácido láctico obtenido luego del proceso, con el fin de determinar si el agregar extracto de levadura beneficia o no a la fermentación. Incluir el tema de los niveles de LLA, con un porcentaje menor al 0,5% de líquido-agua.

3.2. Nivel de Investigación

El nivel de investigación es correlacional ya que se buscará conocer la relación o grado de asociación que exista entre dos o más conceptos, categorías o variables en una muestra (Sampieri, y otros, 2014), en este caso, se determinará si el proceso de fermentación aumenta o no al incluirle extracto de levadura al sustrato inicial.

3.3. Diseño de investigación

El diseño experimental de la investigación se desarrolló en base al objetivo de obtener ácido láctico mediante fermentación del sustrato de la caña de azúcar, mismo que se desarrollará en 3 etapas. La primera consiste en la obtención de los sustratos mediante la molienda de la caña de azúcar, además de la adición de extracto de levadura, así como el análisis de los azúcares totales presentes en los mismos. La segunda etapa consiste en la esterilización de los sustratos, para luego proceder a su fermentación haciendo uso de la bacteria *lactococcus lactis*. En la última etapa, una vez finalizada la fermentación, se analizará las concentraciones de azúcares y de ácido láctico por sobrenadantes (cromatografía líquida de alta precisión) – HPCL, de modo que se podrá establecer cuál de los sustratos otorga un mayor rendimiento en la obtención de ácido láctico.

De manera general en la Figura 1-3, 2-3, y 3-3 se detalla el proceso metodológico a seguirse en cada una de las etapas del presente trabajo de investigación.

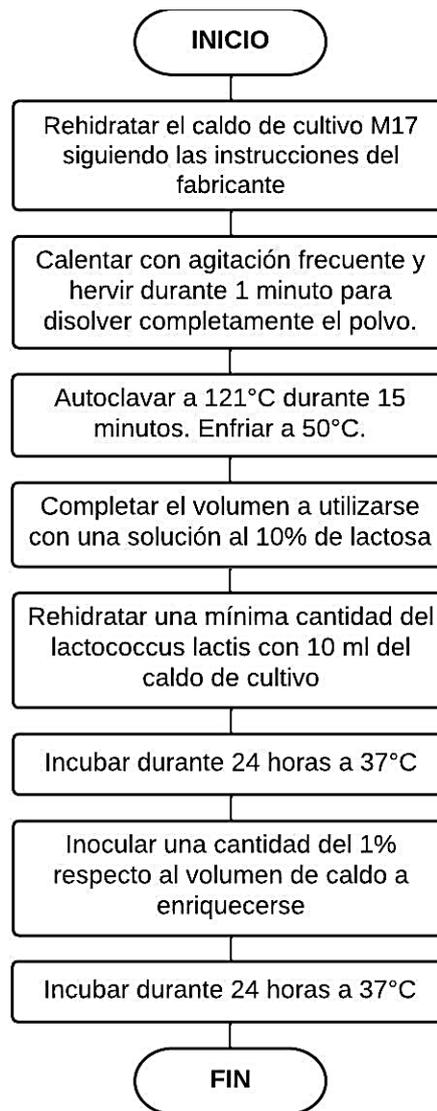


Gráfico 1-3. Diagrama de flujo del proceso de enriquecimiento del *Lactococcus lactis*

Realizado por: Uquillas, B. 2022

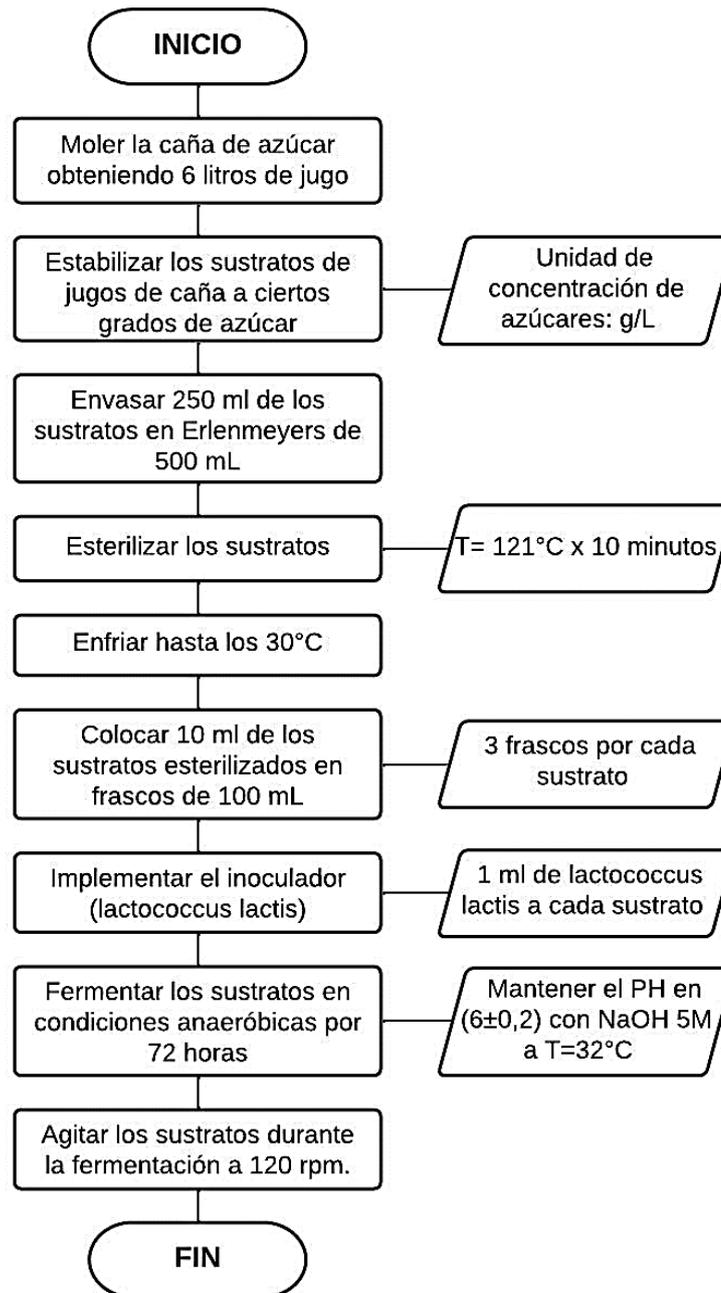


Gráfico 2-3. Diagrama de flujo para el proceso de fermentación de los sustratos de caña

Realizado por: Uquillas, B. 2022

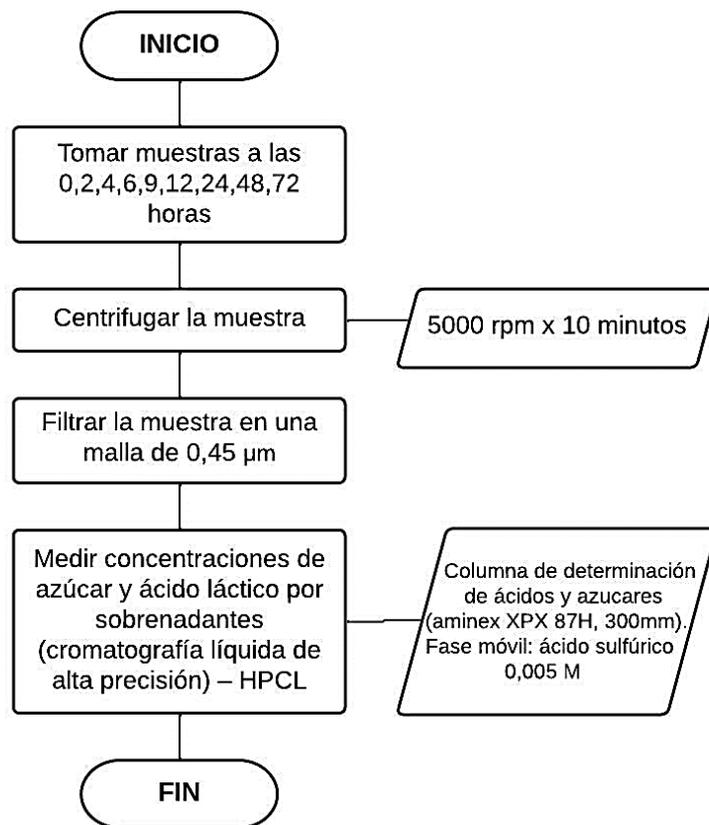


Gráfico 3-3. Diagrama de flujo para la medición de las concentraciones de azúcar y ácido láctico

Realizado por: Uquillas, B. 2022

3.3.1. Según la manipulación o no de la variable independiente

La presente investigación será de tipo experimental porque se tiene planeado manipular la variable independiente, la cual vendría a ser la cantidad de azúcares presentes en la caña de azúcar, misma que irá disminuyendo en el avance de la fermentación al irse convirtiendo en ácido láctico. Las condiciones de trabajo, como la temperatura y el pH se mantendrán constantes.

3.4. Tipo de estudio

La presente investigación será de tipo experimental porque se tiene planeado manipular la variable independiente, la cual consiste en el área de retención del pico más alto obtenido en el HPLC, misma que irá en aumento de acuerdo a la cantidad de ácido láctico presente en el sustrato. Las condiciones de trabajo, como la temperatura y el pH se mantendrán constantes.

El estudio a realizarse es a nivel de laboratorio partiendo de una revisión de literatura para conocer más sobre el proceso de fermentación, así como los análisis iniciales y finales al finalizar el

mismo. Una vez hemos finalizado la revisión, se procedió a la metodología, con el fin de ver qué queremos descubrir y cómo vamos a hacerlo.

Luego vendría la investigación de campo a través de una experimentación. En penúltimo lugar, se analizarán los datos por medio de un análisis estadístico. Por último, se plantearán las conclusiones extraídas una vez finalizado el estudio.

3.5. Población, selección y cálculo del tamaño de la muestra

3.5.1. Población

La población de estudio corresponderá a los cultivos de caña de azúcar del ingenio San Carlos ubicado en la provincia del Guayas en la Av. Principal junto al banco Pacífico, cantón M. Maridueña, el cual será visitado con el fin de obtener la materia prima suficiente para producir seis litros de jugo de caña (sustrato).

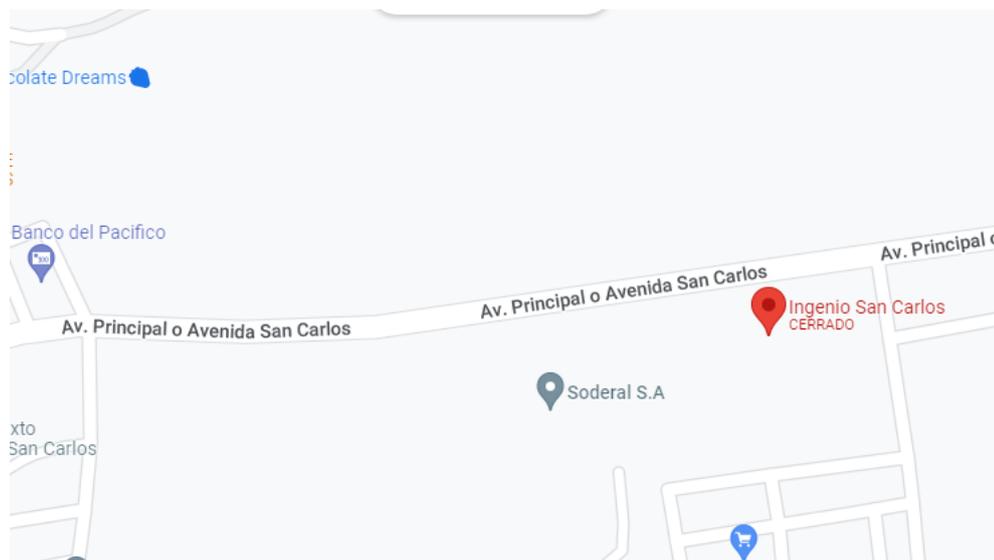


Figura 1-3. Ubicación del Ingenio San Carlos

Realizado por: Google Maps. 2022.

3.5.2. Selección y cálculo del tamaño de la muestra

Para el presente trabajo de investigación se realizará un muestreo no probabilístico, ya que únicamente se va a trabajar con 500 ml para la realización de dos tratamientos diferentes de los 6 litros del jugo de caña (Serna, y otros, 2007).

3.6. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.6.1. Métodos

3.6.1.1. Método cuantitativo

Por medio del método cuantitativo se podrán identificar los parámetros necesarios para que ocurra el proceso de fermentación como son la temperatura, el pH y la cantidad de azúcares presentes en la materia prima, utilizando los métodos de medición necesarios para cubrir con los respectivos parámetros.

3.6.1.2. Método deductivo

Mediante el método deductivo, se pretende determinar un proceso para la síntesis del isómero LLA del ácido láctico con el fin de que dicho isómero obtenga características que permitan su posterior polimerización. Al verificar un modelo adecuado se podrá determinar los parámetros necesarios para la implementación de un método de fermentación de azúcares que permita la obtención de un isómero capaz de polimerizarse de manera controlada.

3.6.2. Técnicas e instrumentos de investigación

3.6.2.1. Método utilizado para la esterilización de materiales, medios de cultivo y sustratos

Tabla 1-3. Procedimiento para el uso del autoclave

Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Comprobar que la válvula de lavado esté cerrada. Abrir la llave de rebosamiento. Poner agua purificada tipo II en el interior de la cámara de esterilización, hasta que el agua gotee por la válvula de rebosamiento. Cerrar esta válvula.• Comprobar que la válvula de lavado esté cerrada. Abrir la llave de rebosamiento. Poner agua purificada tipo II en el interior de la cámara de esterilización, hasta que el agua gotee por la válvula de rebosamiento. Cerrar esta válvula.• Colocar en el interior de la cámara los materiales y/o medios de cultivo a esterilizar.• Cerrar el autoclave girando la rueda superior en sentido horario. Cerrar la válvula de aire y abrir la válvula de escape de vapor.• Encender el autoclave presionando el botón verde, y luego el blanco. Comprobar el encendido de la resistencia eléctrica por el encendido del indicador luminoso. Si no se enciende, verificar que esté cerrado y ajustado lo suficiente.• Esperar hasta que la temperatura llegue a 90°C (30-40 minutos aproximadamente) y salga vapor por la válvula de escape. Esperar hasta que el vapor de agua desaloje totalmente el aire de la cámara para proceder a cerrar dicha válvula.• Una vez cerradas las válvulas, alcanzar una temperatura de 115°C. Una vez alcanzada esta temperatura, medir el tiempo necesario para la esterilización (15 minutos para material de vidrio, el tiempo de esterilización de los medios de cultivo dependerá de las indicaciones del envase del mismo).• Una vez cumplido el tiempo, apagar el autoclave presionando el botón blanco. Comprobar que se apague el indicador luminoso.• Desalojar lentamente el vapor por las válvulas superiores, hasta que la aguja del barómetro indique cero.• Una vez que la presión esté en cero y la temperatura a 70°C o menos, abrir el autoclave y retirar el material.
Resultados
Como resultado se obtiene un material completamente estéril con el que se podrá trabajar con las bacterias a utilizarse.

FUENTE: Manual de operación del autoclave del laboratorio de Biología Molecular, Genética y Microbiología, ESPOCH, s.f.

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022.

3.6.2.2. Método utilizado para el enriquecimiento de la bacteria *Lactococcus lactis*

Tabla 2-3. Procedimiento para el uso de la incubadora

Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Presionar el botón Set.• Mantener presionado el botón. Girar la perilla hasta obtener la temperatura de incubación deseada.• Observar en la pantalla hasta verificar que se alcance el valor deseado.• Colocar el medio de cultivo inoculado, y dejar reposar el tiempo suficiente hasta observar cambios en el mismo.
Resultados
Como resultado se obtiene un medio de cultivo enriquecido con la bacteria que vamos a trabajar.

FUENTE: Manual de operación del autoclave del laboratorio de Biología Molecular, Genética y Microbiología, ESPOCH, s.f.

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022.

3.6.2.3. Medición de la concentración ácido láctico por sobrenadantes

Tabla 3-3. Procedimiento para la medición de ácido láctico

Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Filtrar la fase móvil (H_2SO_4 0,005 M) con membrana de 0,45 μm. Utilizar recipientes transparentes con el fin de observar precipitados y coloides antes de ingresar al sistema.• Desgasificar los solventes y purgar la tubería que conecta a la bomba.• Al momento de colocar la columna para la determinación deberá ser ubicada acorde a la dirección del flujo marcado en la columna.• Fluir la fase móvil a través de la columna a flujo bajo entre 0,1 a 0,5 ml/min previo al análisis para homogenizar la columna.• Seleccionar la longitud de onda apropiada en el detector.• En el software, configure el Method Set que estará compuesto por el Instrument Method y el Processing Method.• Cuando el sistema y los métodos estén listos, realizar una corrida del blanco (Ácido láctico Puro al 99%) para probar el sistema y verificar que esté libre de interfaces.• Realizar el análisis respectivo.
Resultados
Como resultado debe reportarse cuantitativamente las concentraciones de azúcar y ácido láctico de cada uno de los tiempos de fermentación considerados (0,2,4,6,9,12,24,48,72 horas).

FUENTE: Manual de operación del HPLC del laboratorio de Investigación, ESPOCH, s.f.

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022.

3.6.2.4. Método utilizado para el secado del ácido láctico obtenido una vez finalizada la fermentación

Tabla 4-3. Procedimiento para el secado del ácido láctico por rotavapor

Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Se coloca un matraz de fondo redondo con la mezcla que queremos evaporar el disolvente, llenándolo como máximo hasta la mitad de su capacidad.• Encender el sistema de vacío, cerrando la llave de aire con el exterior, y comprobar con la mano que en el tubo guía hay vacío.• Levantar el montaje utilizando y acoplar el matraz a la boca esmerilada del tubo guía, sujetando con una pinza para evitar que se caiga al baño de agua.• Abrir las tomas de agua del refrigerante.• Sumergir el matraz parcialmente en el baño de agua y encender el motor que hace girar el matraz. Regular la velocidad del giro de manera que no haya proyección del líquido del matraz hacia el interior del tubo guía.• Conectar la fuente de vacío y cerrar la llave que comunica el sistema con el exterior.• Accionando el gato, bajar el montaje hasta que el matraz de destilación quede parcialmente sumergido en el baño de agua.• Encender la calefacción del baño y calentar a la temperatura mínima necesaria para conseguir la evaporación del disolvente (menor a 100°C con el fin de evitar la polimerización del monómero).• Continuar la destilación hasta que no se observa más condensación de vapores en el colector y el volumen del contenido del matraz de destilación no disminuya más.• Levantar el montaje hasta sacar el matraz del baño de agua.• Desconectar en primer lugar la toma de vacío, abriendo después la llave de aire con el exterior.• Detener el motor y retirar el matraz de destilación de la boca del tubo guía con movimientos de rotación.• Cerrar la toma de vacío y el agua de refrigerante, y apagar la calefacción del baño.• Vaciar el contenido del colector y comprobar que el tubo guía está limpio. Si el tubo estuviera sucio, lavarlo con acetona.
Resultados
Como resultado se obtendrá el secado de la mayor parte de la fase líquida del sustrato fermentado con el fin de obtener el sólido resultante del proceso de fermentación.

FUENTE: Manual de operación del rotavapor del laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH, s.f.

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022.

Tabla 5-3. Procedimiento para el secado del ácido láctico por estufa

Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Colocar dentro de la estufa el resultado obtenido una vez finalizado el secado por rotavapor.• Fijar la temperatura de la estufa (menor a 100°C con el fin de evitar la polimerización del monómero).• Secar hasta obtener como resultado un producto sólido con baja humedad.
Resultados
Como resultado se obtendrá un ácido láctico con un porcentaje de humedad entre el 5 y 7%.

FUENTE: Manual de operación de la estufa del laboratorio de Investigación, ESPOCH, s.f.

Realizado por: Uquillas, Byron, 2022.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Curva de calibración para la cuantificación de ácido láctico obtenida en el HPLC

Tabla 1-4. Datos de la curva de calibración de ácido láctico

Estándar % (m/V)	Área
0,1	14,9082
0,4	27,9009
0,6	36,4183
1,2	57,4605

Fuente: Elaboración propia

Realizado por: Uquillas, Byron. 2022

$$\text{Área} = 38,393 \times \text{Conc. AL} + 12,096$$

Ecuación 1-4. Ecuación obtenida de la curva de calibración

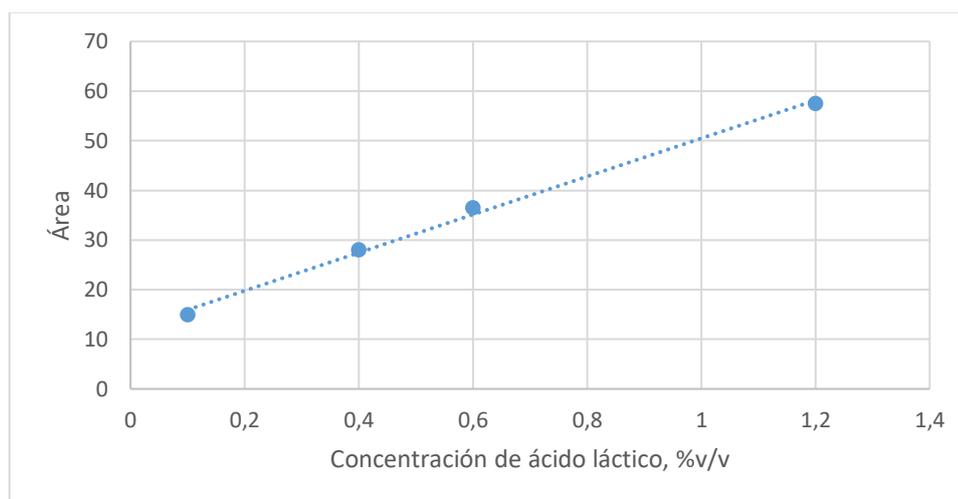


Gráfico 1-4. Curva de calibración para ácido láctico

Realizado por: Uquillas, B. 2022

Los datos de la curva de calibración de ácido láctico detallados en la Tabla 1-4, se encuentran de forma gráfica en la figura 1-4. Por consiguiente, por medio de una regresión lineal, se obtiene la Ecuación 1-4, con un R^2 de 0,9964, lo que significa que el 99,64% de la variabilidad de la variable Área a su promedio es explicado por el modelo de regresión ajustado.

4.2. Cálculos

4.2.1. Cálculo de la cantidad de ácido láctico obtenido

Para calcular la concentración de ácido láctico obtenido para cada uno de los sustratos, se utiliza la Ecuación 1-4, despejando la variable que corresponde a la concentración.

$$\text{Conc. AL} = \frac{\text{Área} - 12,096}{38,393}$$

Ecuación 2-4. Concentración de ácido láctico % m/V

Tabla 2-4. Datos obtenidos del HPLC

Sustrato	Área
Jugo de caña	32,5462
Jugo de caña + extracto de levadura (3 % m/V)	32,1870

Fuente: Elaboración propia

Realizado por: Uquillas, Byron. 2022

Reemplazando los datos obtenidos del HPLC, detallados en la Tabla 2-4, en la ecuación 2-4, se obtuvieron las concentraciones de ácido láctico en % m/V de las dos muestras, valores mostrados en la Tabla 3-4.

Tabla 3-4. Concentraciones finales de ácido láctico

Sustrato	Concentración ácido láctico % m/V
Jugo de caña	0,53
Jugo de caña + extracto de levadura (3 % m/V)	0,52

Fuente: Elaboración propia

Realizado por: Uquillas, Byron. 2022

4.3. Resultados

Tabla 4-4. Resultados obtenidos

Sustrato	Volumen utilizado	Volumen inoculado de la bacteria activada	Tiempo de fermentación	Cantidad de ácido láctico obtenido	Humedad del ácido láctico obtenido
Jugo de caña	500 ml	50 ml	72 h	0,53	0,223 %
Jugo de caña + extracto de levadura (3 % m/V)	500 ml	50 ml	72 h	0,52	0,220 %

Fuente: Elaboración propia

Realizado por: Uquillas, Byron. 2022

Como se puede evidenciar en la Tabla 4-4, las concentraciones de ácido láctico (% m/V) tanto para el sustrato de jugo de caña, así como para el que contiene extracto de levadura son prácticamente similares, es decir, el extracto de levadura no mejoró de una manera significativa el proceso de fermentación. En la figura 2-4, se visualiza gráficamente la comparación entre las concentraciones de ácido láctico presentadas en la Tabla 2-4.

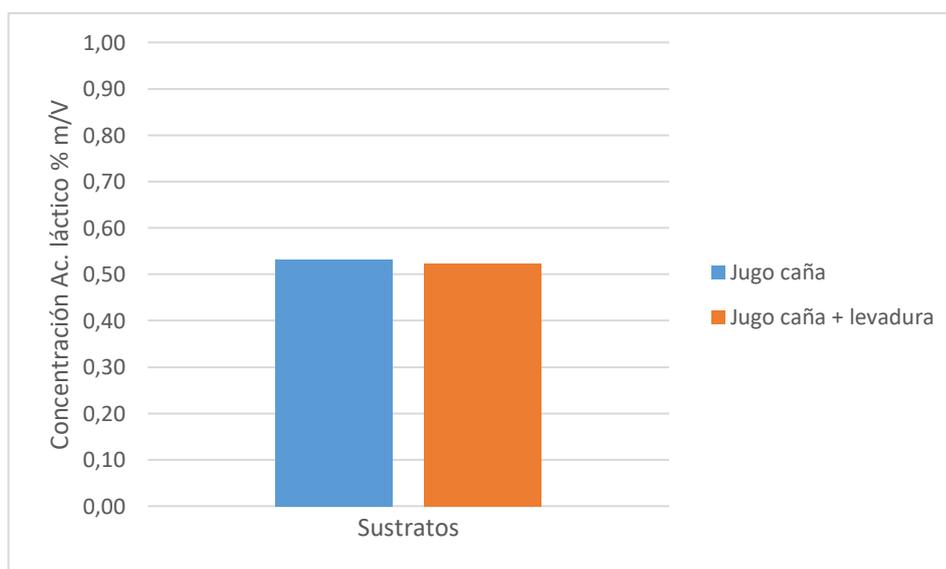


Gráfico 2-4. Comparación de resultados en la obtención de ácido láctico

Realizado por: Uquillas, B. 2022

Con respecto al porcentaje de humedad, una vez finalizado el secado mediante rotavapor y estufa a una temperatura de 65°C, se obtuvieron valores finales, tanto para el sustrato de jugo de caña, así como para el que contiene extracto de levadura, de 0,223 % y 0,220 % respectivamente.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo ácido láctico para su uso en futuras pruebas de polimerización mediante la fermentación de dos sustratos de 500 mililitros de jugo extraído de la caña de azúcar con quema. Uno de los sustratos consistía únicamente en jugo de caña, mientras que el otro contenía un porcentaje del 3 % (m/V) de extracto de levadura. Para la fermentación se realizó la incubación de la BAL *lactococcus lactis* en el caldo de cultivo M17, mismo que es idóneo para dicha bacteria por sus componentes. Una vez finalizada la incubación, se enriqueció una cantidad de 100 mililitros de caldo de cultivo M17 con 1 mililitro de la bacteria reactivada previamente, los cuales fueron inoculados en una proporción 1:10 en los sustratos preparados anteriormente (se utilizó un volumen de 50 ml de bacteria reactiva por cada 500 ml de sustrato). Finalmente, se procedió a realizar la fermentación a una temperatura de 37°C durante 72 horas.
- Se sintetizó el isómero LLA (*L Lactide*) desde el comienzo de la fermentación de los sustratos de jugo de caña, debido a que la BAL *lactococcus lactis* presenta una alta estereoespecificidad por dicho isómero, es decir que fermenta los azúcares reductores presentes por la vía del difosfato de hexosa produciendo como producto principal ácido L(+) láctico.
- Se determinó la cantidad del isómero LLA obtenido una vez finalizada la fermentación por medio de una regresión lineal de los resultados del HPLC que fueron las áreas del pico del analito (ácido láctico), las cuales dependen de la concentración del analito a analizarse presente en las muestras. En primer lugar, se realizó una curva de calibración a partir de cuatro estándares cuyas concentraciones fueron 0,1, 0,4, 0,6 y 1,2 % respectivamente. Con los valores de las áreas arrojadas por el HPLC, se construyó una ecuación de regresión lineal, en donde el área dependía directamente de la concentración de ácido láctico. Luego, se analizaron muestras de los sustratos utilizados, dándonos un área de 32,5462 para el jugo de caña, y de 32,1870 para el jugo con extracto de levadura. Haciendo los cálculos respectivos, dio como resultado una concentración de ácido láctico de 0,53 % para el sustrato de jugo de caña, y de 0,52 % para el jugo con extracto de levadura.
- Se deshidrató el isómero LLA (*L Lactide*) producido una vez finalizada la fermentación de los sustratos mediante dos partes. La primera parte consistió en la eliminación de agua mediante su evaporación por medio de un rotavapor, el cual trabajó a una temperatura inferior a los 70°C con el fin de evitar la polimerización del monómero, en concreto se trabajó a 65°C. Pasadas 6 horas, se obtuvo un reducido parecido al caramelo. Este reducido fue llevado a

secarse en una estufa a la misma temperatura que en el rotavapor durante 24 horas. Una vez finalizado el secado, se midió la humedad mediante una termobalanza, consiguiendo como resultados una humedad del 0,223 % para el producto final del sustrato de jugo de caña, y una humedad del 0,220 % para el producto final del sustrato de jugo de caña y extracto de levadura.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda trabajar con jugo de caña fresco con un pH entre 6 a 6,5 con la finalidad de evitar la acidificación y descomposición prematura del mismo. Se debe tomar en cuenta que el tiempo máximo de vida útil del jugo de caña en refrigeración es de 2 días.
- Se sugiere realizar controles de esterilidad periódicamente, para evitar la contaminación de las bacterias ácido lácticas, las cuales son muy sensibles y susceptibles a ser atacadas por virus bacteriófagos, lo que conllevaría a la muerte de las mismas.
- La relación entre inóculo utilizado y el volumen del sustrato a fermentar deber ser 1:10, con el objetivo de garantizar una adaptación favorable de las bacterias ácido lácticas al sustrato empleado.
- Los medios de cultivo utilizados para la activación de las bacterias, así como para la preparación del inóculo deben ser preparados únicamente con un día de antelación. No se recomienda almacenar los medios de cultivo por tiempo prolongado, ya que estos pueden llegar a perder los nutrientes esenciales que sirven de soporte para las bacterias ácido lácticas.
- Se propone estudiar las fases estacionaria y de muerte de la curva de crecimiento para corroborar que exista un correcto desarrollo de las bacterias en el sustrato a fermentarse.

GLOSARIO

Lactococcus: género de bacterias ácido lácticas grampositivas, que elaboran ácido láctico a partir de azúcares reductores.

Azúcares reductores: son hidratos de carbono (moléculas compuesta por átomos de carbono) formados por monosacáridos como: glucosa, fructosa y disacáridos como la lactosa.

Volumen de bacteria activada: cantidad en mililitros de bacteria ácido láctica utilizada para la fermentación láctica de los sustratos.

Inóculo: acción de introducir por mecanismos artificiales un virus o bacteria a un nuevo ambiente, suplementado a condiciones de interés con la finalidad de que el microorganismo se adapte en menor tiempo.

Incubación: intervalo de tiempo asociado a un proceso de crecimiento y adaptación que involucra microorganismos (bacterias), generalmente ocurre a determinada temperatura beneficiosa para el desarrollo del microorganismo.

Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC): técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. El método permite identificar el compuesto de interés por el tiempo de retención asociado al mismo.

BIBLIOGRAFÍA

BÁRCENA, Bruno; et al. *Continuous production of L(+)-lactic acid by Lacto-bacillus casei in two-stage systems. Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, pp. 316-324.

CARBONERO, Pilar. *Bioquímica de las fermentaciones* [en línea]. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 1975. Disponible en: <https://oa.upm.es/55235/1/FERMENTACIONES.pdf>. 8460067548.

CEDEÑO, G. *Ácidos Orgánicos: Ácido láctico*. México, 2016.

DE WIT, Wijnand; et al. *Solución al plástico: Contaminación asumiendo responsabilidades*. Colombia: Textos WWF, 2019, 978-2-940529-93-3.

DUARTE, Oscar; & GONZALEZ, Jorge. *Guía técnica. Cultivo de caña de azúcar*. San Lorenzo, Paraguay: Facultad de Ciencias Agrarias, 2019, 978-99967-941-1-7.

CUEVAS, Rosa; & LEZAMA, Ana. "El plástico y sus alternativas". *Consumer*, vol. 5, nº 16 (2019), (España) pp. 44-51.

GARCÍA, Carlos; et al. *TEMAS AGRARIOS*, vol. 15, nº 2 (2010), (Argentina).

GARCÍA, Mariano; et al. *Biotecnología Alimentaria*. 5ª ed. Limusa: México, 2004, p. 568.

GÓMEZ, Carmelo. *Caracterización Térmica Y Mecánica De Polibutilentereftalato (Pbt) Reforzado Con Fibra De Vidrio (Trabajo de titulación) (Doctorado)*. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena-Colombia. 2012.

HATAKEYAMA, T.; & QUINN, F.X. *Thermal Analysis — Fundamentals and Applications to Polymer Science*. 2ª ed. Chichester, Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2000.

HATTI-KAU, Rajni; et al. "Designing Biobased Recyclable Polymers for Plastics". *Trends in Biotechnology*, vol. 20, nº 20 (2019).

HERRYMAN, Maribel; & BLANCO, Gladys. "Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias". *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 39, nº 1 (2005), (Cuba) pp. 49-59.

LIM, Loong-Tak; et al. "Processing technologies for poly(lactic acid)". *Progress in Polymer Science*, vol. 33, n° 8 (2008), (Países Bajos) pp. 820-852.

LOWE, Charles. *Degradable Polymers*. 2ª ed. Berlín, Alemania: Springer Dordrecht, 2013.

LUNT, James. "Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers". *Polymer Degradation and Stability*, vol. 59, n° 3 (1998), (Reino Unido) pp.145-152.

MÉSZÁROS, E.; et al. "Comparative study of the thermal behavior of wood and bark of young shoots obtained from an energy plantation". *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 72, n° 2 (2004), (Países Bajos) pp. 317–328.

DE OLIVEIRA, Alves; et al. "Challenges and opportunities in lactic acid bioprocess design from economic to production aspects". *Biochemical Engineering Journal*, vol. 133, n° 5 (2018), (Países Bajos) pp. 1052-1064.

OROZCO, Fátima. Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo [en línea] (Trabajo de titulación) (Maestría). Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida - México. 2011. [Consulta: 15 mayo 2022]. Disponible en: <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1333>

O'KEEFFE, T.; & HILL, C. "BACTERIOCINS/Potential in Food Preservation". *Encyclopedia of Food Microbiology* (1999), (Estados Unidos) pp. 183–191.

PELLIS, Alessandro; et al. "Renewable polymers and plastics: Performance beyond the green". *New BIOTECHNOLOGY* [en línea], 2020, (Países Bajos) 60, pp. 146-158. [Consulta: 15 de mayo de 2022.]. ISSN 1871-6784. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678420301813>.

RODRÍGUEZ, Ellen; & VILLEGAS, Ernesto. "Caracterización de polímeros aplicando el método termogravimétrico". *Métodos & Materiales*. vol. 2 (2012), (Costa Rica) pp. 25–32.

ROJAS, Andrés; et al. 2014. "Thermal degradation of polymethyl methacrylate in multiple extrusions". *Ingeniería y Competitividad*, vol. 16, no. 2 (2014), (Colombia) pp. 131–142.

SAMPIERI, Roberto; et al. *Metodología de la investigación*. México, D.F: Mc Graw Hill Education, 2014. 978-1-4562-2396-0.

SANDLER, Stanley; et al. *Polymer synthesis and characterization: a laboratory manual*. Cambridge, Estados Unidos: Academic Press, 1998.

SANTANA, Elizabeth; et al. "El jugo de caña de azúcar como aditivo en la reutilización del bagazo de malta". *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 51, nº 3 (2017), (Cuba) pp. 28-34.

SARASUA, J.R.; et al. "Crystallization and thermal behaviour of optically pure polylactides and their blends". *Journal of Materials Science*, vol. 40 (2005), (Estados Unidos) pp. 1855-1862.

SERNA, Liliana; et al. "Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones". *Ingeniería y Competitividad*, vol. 5, nº 1 (2003), (Colombia) pp. 16-26.

TORRE, Isabel. Producción biotecnológica de ácido D-Láctico a partir de residuos de naranja (Trabajo de titulación) (Doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid-España. 2019.

TORRES, María; & GÓMEZ, Sandra. "Ácido láctico, Una revisión sobre los métodos de determinación y purificación". *Biociencias* [en línea], 2019, 14(2), pp. 149-175. [Consulta: 15 mayo 2022]. ISSN 2390-0512 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7380551>

VALERO, Manuel; et al. "BIOPOLÍMEROS: AVANCES Y PERSPECTIVAS". *DYNA* [en línea], 2013, 80(181), pp. 171-180. [Consulta: 15 mayo 2022]. ISSN 0012-7353. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v80n181/v80n181a19.pdf>.

VASQUEZ, Alethia. "Biolásticos y plásticos degradables". *ANIPAC* [en línea], 2016. [Consulta: 15 mayo 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303045045_Bioplasticos_y_plasticos_degradables. 10.13140.

WEE, Young-Jung; et al. "Utilization of sugar molasses for economical L(+)-lactic acid production by batch fermentation of *Enterococcus faecalis*". *Enzyme and Microbial Technology* [en línea], 2004, 35(7), pp. 568-573. [Consulta: 15 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022904002273>.

YOO, Dong Keun; et al. “Synthesis of lactide from oligomeric PLA: Effects of temperature, pressure, and catalyst”. *Macromolecular Research*, vol. 14, n° 5 (2006), (Corea del Sur) pp. 510-516.

ZIMBRO, Mary; et al. *Manual of Microbiological Culture Media*. 2ª ed. Nueva Jersey, Estados Unidos: Becton, Dickinson and Company, 2009.



ANEXOS

ANEXO A: MATERIA PRIMA A UTILIZARSE PARA LA FERMENTACIÓN

a)



b)



NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum)
a) Caña de azúcar con quema.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		
b) Jugo de caña extraído luego de su molienda			

ANEXO B: ACTIVACIÓN DEL *LACTOCOCCUS LACTIS* LIOFILIZADO

a)



b)



NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (<i>Saccharum officinarum</i>)
a) Hidratación del <i>lactococcus lactis</i> liofilizado con caldo de cultivo M17. b) <i>Lactococcus lactis</i> reactivado luego de su incubación	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		

ANEXO C: ENRIQUECIMIENTO DEL *LACTOCOCCUS LACTIS*

a)



b)



NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (<i>Saccharum officinarum</i>)
a) Caldo de cultivo M17 inoculado con <i>lactococcus lactis</i> . b) Caldo de cultivo M17 enriquecido con <i>lactococcus lactis</i> luego de la incubación.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		

ANEXO D: PREPARACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR



NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum)
<p>a) Cantidad de extracto de levadura necesaria para preparar un sustrato de jugo de caña al 3 % (p/V).</p> <p>b) Sustrato de jugo de caña (izquierda) y sustrato de jugo de caña y extracto de levadura (derecha).</p>	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		

ANEXO E: FERMENTACIÓN DE LOS SUSTRATOS DE JUGO DE CAÑA

a)

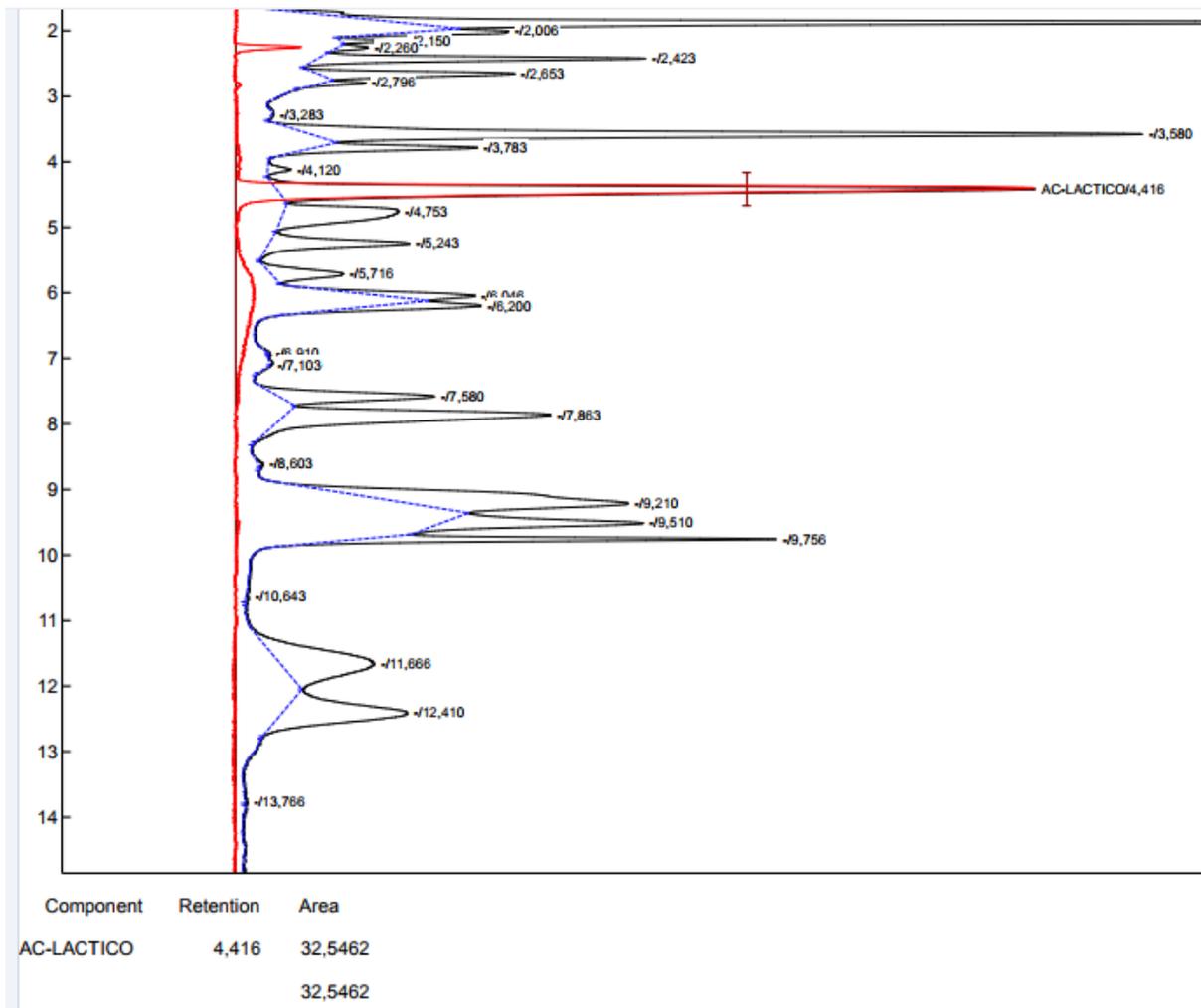


b)

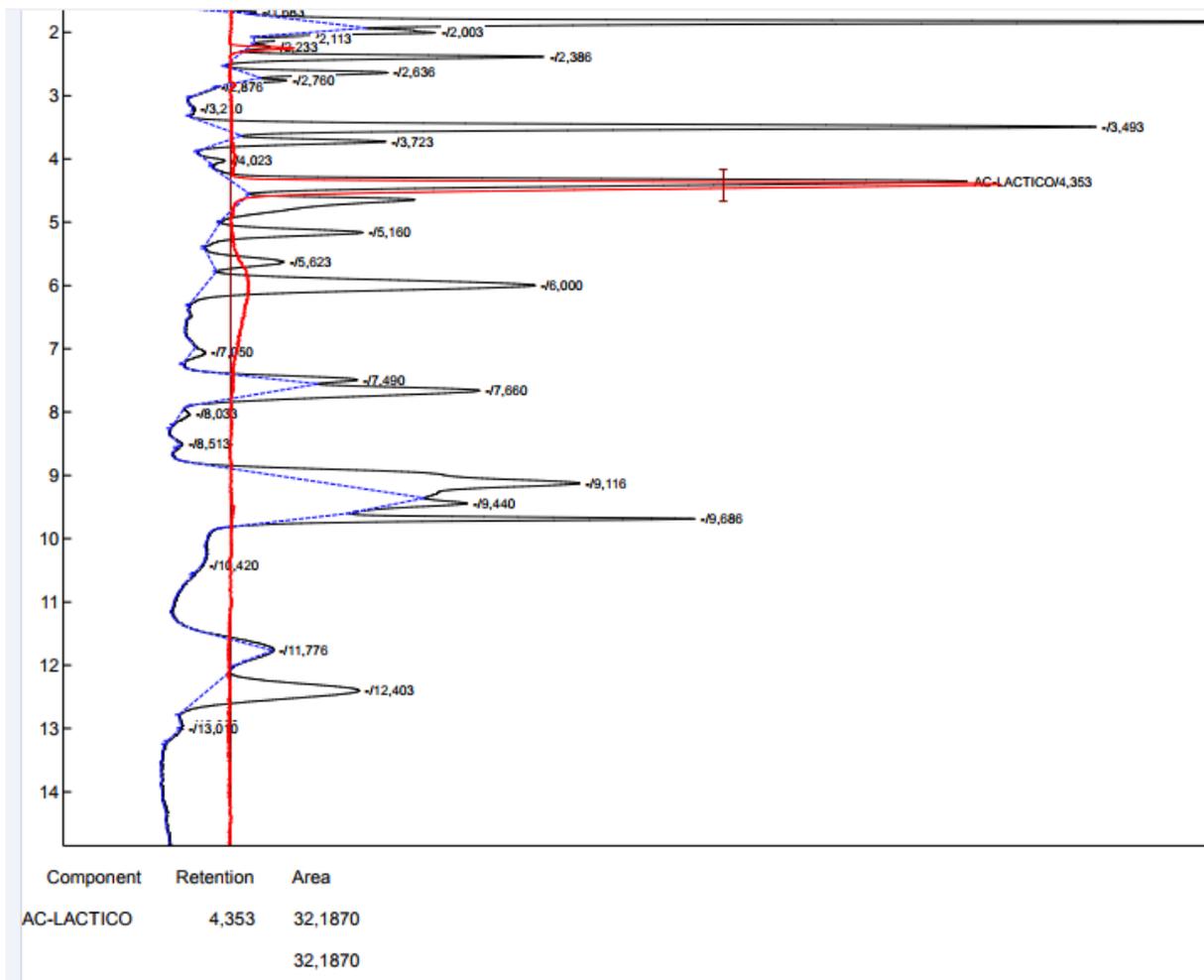


NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (<i>Saccharum officinarum</i>)
a) Tubos de fermentación. Airlocks.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		
b) Equipo de fermentación.			

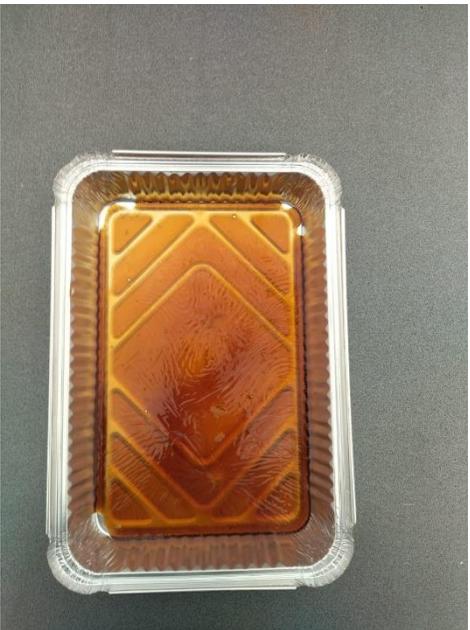
ANEXO F: ANÁLISIS DE ÁCIDO LÁCTICO POR HPLC DEL SUSTRATO DE JUGO DE CAÑA



ANEXO G: ANÁLISIS DE ÁCIDO LÁCTICO POR HPLC DEL SUSTRATO DE JUGO DE CAÑA Y EXTRACTO DE LEVADURA



ANEXO H: SECADO DEL RESULTANTE LUEGO DE LA FERMENTACIÓN

<p>a)</p> 	<p>b)</p> 	<p>c)</p> 	
<p>NOTAS:</p>	<p>CATEGORIA DEL DIAGRAMA:</p>	<p>ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA</p>	<p>SÍNTESIS DE ÁCIDO LÁCTICO Y SÍNTESIS DEL ISÓMERO "LLA" A PARTIR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum)</p>
<p>a) Eliminación de agua mediante rotavapor.</p>	<p><input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar</p>		
<p>b) Secado del concentrado final mediante estufa.</p>	<p><input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar</p>		
<p>c) Concentrado final deshidratado.</p>	<p><input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar</p>		



epoch

**Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje**

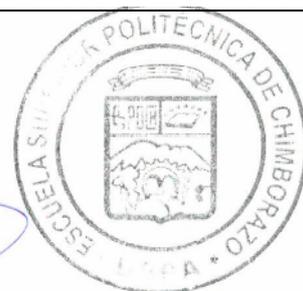
**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 25 / 01 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Byron Israel Uquillas Guanulema
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Química
Título a optar: Ingeniero Químico
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

Ing. C. F. Castillo



0079-DBRA-UTP-2023