



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**CARRERA DE AGROINDUSTRIA  
INFORME FINAL DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN  
CURRICULAR**

**Modalidad: Presencial**

**TEMA:**

**“IMPLEMENTACIÓN DE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA  
OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE SUERO DE LECHE”**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de ingeniero  
agroindustrial**

**Línea de investigación: Gestión, producción, productividad, innovación y  
desarrollo socio económico.**

**AUTOR: STALIN PATRICIO CARRASCO PÉREZ**

**Director: MSc. Jimmy Nuñez Pérez**

**Ibarra-Ecuador-2023**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN

### A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

<b>DATOS DE CONTACTO</b>			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	<b>DE</b>	1003164181	
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	<b>Y</b>	Carrasco Pérez Stalin Patricio	
<b>DIRECCIÓN:</b>		Tanguarin	
<b>EMAIL:</b>		stalinopcp@utn.edu.ec	
<b>TELÉFONO FIJO:</b>		<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0963763659
<b>DATOS DE LA OBRA</b>			
<b>TÍTULO:</b>		IMPLEMENTACIÓN DE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DE	

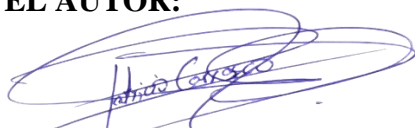
	ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE SUERO DE LECHE
<b>AUTOR (ES):</b>	STALIN PATRICIO CARRASCO PÉREZ
<b>FECHA:</b> <b>DD/MM/AAAA</b>	18/octubre/2023
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TITULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniero Agroindustrial
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	MSc. Jimmy Nuñez Perez

## 2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 18 días del mes de octubre de 2023

**EL AUTOR:**



Stalin Patricio Carrasco Pérez



## CERTIFICACIÓN DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Ibarra, 18 de octubre de 2023

Jimmy Núñez Pérez DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR CERTIFICA: Haber revisado el presente informe final del trabajo de Integración Curricular, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Universidad Técnica del Norte; en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

MSC. Jimmy Nuñez Pérez



## APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR

El Comité Calificado del trabajo de Integración Curricular "IMPLEMENTACIÓN DE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE SUERO DE LECHE" elaborado por el señor Stalin Patricio Carrasco Pérez, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Universidad Técnica del Norte:

Ing. Jimmy Nuñez MSc.  
DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Ing. Rosario Espín MSc.  
ASESOR

Dr. José País PhD  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

Este logro se lo dedico a Graciela Pérez, por estar en todo momento en mi vida apoyándome, siendo la base y siempre guiándome por el buen camino de mi vida.

Su amor y dedicación a su hijo no tiene precio sobre la tierra.

**Stalin Carrasco**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme fuerzas y nunca dejarme caer en el mal camino.

A mi madre que es la persona que más admiro en mi vida, por enseñarme el significado de: esfuerzo, perseverancia, dedicación y su amor incondicional.

A mi hija Danna Victoria por la motivación de superarme día a día en las cosas que me gusta.

A mi familia que siempre están pendiente de mi y que siempre quieren lo mejor en mi vida.

Finalmente, el resultado de mi tesis ha sido mejor de lo que esperaba gracias a mi director Ing. Jimmy Nuñez, por su paciencia y enseñanza en todo momento de mi trabajo de investigación, y mis asesores por su gran apoyo y conocimientos otorgados.

**Stalin Carrasco**

## RESUMEN EJECUTIVO

El ácido láctico es uno de los ácidos orgánicos más comercializados del mundo, en los últimos años su forma de obtención más popular es por vía biotecnológica, uno de los problemas que enfrena este importante compuesto es la separación y concentración que determina el valor final de este. El objetivo de la investigación fue determinar los parámetros de operación de temperatura y flujo en un proceso de concentración por evaporación. Los factores evaluados fueron presión de vacío (-0.3 y -0.6) bar y el flujo de alimentación (6 y 12) L/h, para buscar la mejora de este proceso, el tratamiento estadístico de los datos fue con el programa Design Expert 11. Se realizaron doce corridas. Se verificó la validez del modelo lineal mediante 3 repeticiones con las respuestas obtenidas y se determinó que las condiciones que mejoran la concentración por evaporación son -0.6 bar de presión de vacío y 12 L/h de alimentación, alcanzando un valor de 27.1 g/L, se confirmó que no existen diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) con el análisis de varianza brindado por el programa. Concluyendo que el valor obtenido es cercano a otros reportes de autores y el mismo puede ser optimizado con las variables estudiadas.

**Palabras clave:** evaporación, concentración, biotecnológica, ácido láctico.



## **ABSTRACT**

Lactic acid is one of the most commercialized organic acids in the world, in recent years its most popular way of obtaining is by biotechnological means, one of the problems faced by this important compound is the separation and concentration that determines its final value. The objective of the research was to determine the operating parameters of temperature and flow in a concentration process by evaporation. The factors evaluated were vacuum pressure (-0.3 and -0.6) bar and feed flow (6 and 12) L/h, to seek improvement of this process, the statistical treatment of the data was with the Design Expert 11 program. The validity of the linear model was verified through 3 repetitions with the responses obtained and it was determined that the conditions that improve the concentration by evaporation are -0.6 bar of vacuum pressure and 12 L/h of feeding, reaching a value of 27.1 g/L, it was confirmed that there are no significant differences ( $p \leq 0.05$ ) with the analysis of variance provided by the program. It was concluded that the value obtained is close to other authors' reports and can be optimized with the variables studied.

**Keywords:** evaporation, concentration, biotechnological, lactic acid.

<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b>	<b>Pág</b>
RESUMEN EJECUTIVO .....	8
ABSTRACT .....	9
INTRODUCCIÓN .....	16
Problema.....	16
Justificación.....	17
Objetivos .....	18
General .....	18
Específicos.....	18
Hipótesis.....	18
Alternativa .....	18
Nula.....	18
CAPÍTULO I.....	19
MARCO TEÓRICO.....	19
1.1    Suero de leche.....	19
1.1.1    Composición del suero de leche.....	19
1.1.2    Requisitos fisicoquímicos del suero de leche .....	20
1.1.3    Aplicaciones del suero de leche .....	21
1.2    Ácido láctico.....	22
1.2.1    Fermentación.....	23

1.2.2	Microorganismo empleado en el proceso .....	24
1.2.3	Biorreactor discontinuo de tanque agitado.....	25
1.2.4	Vías de obtención.....	26
1.2.5	Producción biotecnológica.....	26
1.2.6	Recuperación y Purificación .....	27
1.2.7	Usos del Ácido láctico .....	30
1.2.8	Métodos de determinación de ácido láctico.....	31
1.2.9	Factores que afectan el crecimiento el género Lactobacillus y la eficiencia de producción de ácido láctico .....	33
CAPÍTULO II .....		35
MATERIALES Y MÉTODOS .....		35
2.1	Caracterización del área de estudio .....	35
2.1.1	Localización del experimento .....	35
2.2	Materiales y Equipos .....	35
2.3	Metodología.....	36
2.3.1	Proponer un proceso de fermentación de ácido láctico a escala 50 litros. 36	
2.3.2	Determinar los parámetros los parámetros de operación de temperatura y flujo de alimentación en el proceso de separación por evaporación.....	40
2.4	Manejo específico del experimento.....	42

Descripción del diagrama de proceso.....	44
2.4.1    Determinar costos de producción.....	51
CAPÍTULO III.....	52
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	52
3.1    Proponer un proceso de fermentación de ácido láctico a escala de 50 litros	
52	
3.2    Determinación de los parámetros de operación de temperatura y flujo en	
el proceso de separación por evaporación.....	54
3.2.1    Análisis de ANOVA de las variables respuestas .....	54
3.3    Determinación de costos de producción.....	62
CAPÍTULO IV.....	66
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	66
4.1    Conclusiones .....	66
4.2    Recomendaciones .....	67
5    BIBLIOGRAFÍA .....	68

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1</b> <i>Composición del suero de leche dulce y ácido</i> .....	20
<b>Tabla 2</b> <i>Requisitos fisicoquímicos del suero de leche</i> .....	20
<b>Tabla 3</b> <i>Aplicaciones del suero de leche en la industria</i> .....	21
<b>Tabla 4</b> <i>Propiedades fisicoquímicas del ácido láctico</i> .....	22
<b>Tabla 5</b> <i>Configuración de las bacterias ácido lácticas homo y heterofermentativas</i> .....	24
<b>Tabla 6</b> <i>Taxonomía del Lactobacillus casei</i> .....	25
<b>Tabla 7</b> <i>Especificaciones de calidad del ácido láctico para el uso industrial</i> .....	27
<b>Tabla 8</b> <i>Métodos para la determinación de ácido láctico en Agroindustria</i> .....	31
<b>Tabla 9</b> <i>Ubicación geográfica del experimento</i> .....	35
<b>Tabla 10</b> <i>Materiales y equipos</i> .....	35
<b>Tabla 11</b> <i>Caracterización del suero de leche</i> .....	37
<b>Tabla 12</b> <i>Factor A Presión de Vacío</i> .....	40
<b>Tabla 13</b> <i>Factor B Flujo de Alimentación</i> .....	40
<b>Tabla 14</b> <i>Variable experimentales</i> .....	41
<b>Tabla 15</b> <i>Tratamientos de la investigación</i> .....	41
<b>Tabla 16</b> <i>Recuento inicial de BAL</i> .....	47
<b>Tabla 17</b> <i>Parámetros del suero de leche</i> .....	52
<b>Tabla 18</b> <i>ANOVA de la variable concentración de acidez</i> .....	54
<b>Tabla 19</b> <i>ANOVA de la variable densidad</i> .....	55
<b>Tabla 20</b> <i>Resultados del proceso de concentración por evaporación</i> .....	58
<b>Tabla 21</b> <i>Características fisicoquímicas del ácido láctico obtenido</i> .....	61

<b>Tabla 22</b> <i>Costos de materiales y reactivos</i> .....	62
<b>Tabla 23</b> <i>Consumo energético de equipos</i> .....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Esquema de un biorreactor discontinuo de tanque agitado</i> .....	25
<b>Figura 2</b> <i>Estructura espacial de los dos isómeros del ácido láctico</i> .....	26
<b>Figura 3</b> <i>Evaporador de película ascendente</i> .....	29
<b>Figura 4</b> <i>Diagrama de bloques para la obtención de ácido láctico</i> .....	42
<b>Figura 5</b> <i>Recepción de suero de leche</i> .....	44
<b>Figura 6</b> <i>Pasteurización del suero de leche</i> .....	44
<b>Figura 7</b> <i>Método de acidez titulable</i> .....	45
<b>Figura 8</b> <i>Activación de Lactobacillus casei - 431</i> .....	45
<b>Figura 9</b> <i>Fermentación de suero de leche</i> .....	46
<b>Figura 10</b> <i>Análisis de variables</i> .....	47
<b>Figura 11</b> <i>Precipitación</i> .....	48
<b>Figura 12</b> <i>Centrifugación del ácido láctico</i> .....	49
<b>Figura 13</b> <i>Proceso de concentración por evaporación</i> .....	50
<b>Figura 14</b> <i>Ácido láctico concentrado</i> .....	50
<b>Figura 15</b> <i>Cinética del proceso de fermentación de suero de leche a escala de 50 L</i> .....	53
<b>Figura 16</b> <i>Análisis de residuos de las variables respuesta concentración de acidez y densidad</i> .....	56
<b>Figura 17</b> <i>Interacción de los factores A y B en el proceso de concentración por evaporación</i> .....	59

**Figura 18** *Ácido láctico obtenido* ..... 61

# INTRODUCCIÓN

## Problema

En Ecuador la producción y comercialización de la industria láctea y sus derivados ocupa un papel importante en la economía del país. De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2019), se registró una cantidad 6.65 millones de litros de leche producidos diariamente en todo el país de los cuales el 37% se destina a la producción del queso.

En la industria quesera el principal subproducto es el suero de leche, según la Cámara de Comercio de Guayaquil (2019) en Ecuador se genera 1.2 millones de litros diarios de suero de leche, que su principal uso es en la alimentación animal y otros productos quedando un volumen importante de este residual que por su alto contenido de lactosa genera un impacto crítico ambiental y económico.

El suero de leche a pesar de ser un residual todavía contiene el 50% de las proteínas de la leche, alto contenido de sales minerales y aproximadamente entre el 4-6% de lactosa. La falta de técnicas de separación de estos componentes genera un desaprovechamiento de este, ya que, por ejemplo, la lactosa que es considerada un componente importante en la obtención del ácido láctico por vía biotecnológica, siendo una fuente significativa de transformación en la alimentación humana y animal. (País-Chanfrau J.M, 2017).

En los últimos años la demanda del ácido láctico se ha incrementado a nivel mundial en 490.000 toneladas (Guridi, 2019) Actualmente este producto es importado en el Ecuador ya que no existe una producción a gran escala, debido a su gran potencial de uso en las industrias alimenticias, farmacéuticas, cosméticas, textil, obtención de polímeros y en este último año ha sido muy utilizado en la desinfección de superficies para evitar la propagación del Covid-19 (Womens Voices For The Earth, 2020).



## **Justificación**

Teniendo en cuenta que el suero de leche es un residual que afecta al medio ambiente específicamente por su alto contenido de lactosa se propone reutilizar un volumen de 50 litros de suero de leche para la obtención de ácido láctico. Este trabajo contribuirá a reducir importaciones de este producto y elevar el aprovechamiento de residuos de la industria quesera.

Se promueve la reutilización de este residual de la industria quesera, que por vías biotecnológicas puede ser utilizado como sustrato y se pueden obtener otros productos de alto valor agregado, disminuyendo así la carga de contaminantes y generando un beneficio para el medio ambiente. Otro de los beneficios que se busca en la investigación es desarrollar un proceso biotecnológico para la obtención de ácido láctico a partir de la fermentación del suero de leche.

Con esta investigación se pretende fomentar el uso de este residuo agroindustrial implementando técnicas de separación por evaporación para obtener un producto de alto valor agregado y así desarrollar la industria, dando la posibilidad a futuro de eliminar importaciones y generar nuevos puestos de trabajo.

## **Objetivos**

### **General**

Desarrollar un proceso biotecnológico para la obtención de ácido láctico a partir de suero de leche.

### **Específicos**

- Proponer un proceso de fermentación de ácido láctico a escala de 50 litros.
- Determinar los parámetros de operación de temperatura y flujo en el proceso de separación por evaporación.
- Determinar costos de producción

## **Hipótesis**

### *Alternativa*

Se logra obtener valores de productividad igual o mayor a los valores obtenidos de productividad a escala de laboratorio.

### *Nula*

No se logra obtener valores de productividad igual o mayor a los valores obtenidos de productividad a escala de laboratorio.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Suero de leche

El suero de leche o lactosuero es un subproducto que se obtiene después de la coagulación de las proteínas caseicas de la leche en la elaboración de los quesos y mantequillas. Representa el 90% del volumen total de la leche y abarca más del 55% de nutrientes hidrosolubles como la lactosa siendo un disacárido que representa la mayor composición del suero de leche, vitaminas liposolubles, minerales como el calcio, hierro, fósforo, potasio y proteínas solubles como la  $\alpha$ -Lactoalbúmina y  $\beta$ -Lactoglobulina (Poveda, 2013).

La composición del suero de leche varía de acuerdo con qué tipo de leche se usa, la tecnología usada en el queso, el tratamiento térmico al suero y el pH en el método de coagulación para separar el lactosuero de la cuajada (Helia, 2018).

#### 1.1.1 *Composición del suero de leche*

El suero de leche contiene cerca del 55% de los sólidos totales de la leche, siendo la lactosa como el nutriente más abundante entre el 4-5% p/v, entre el 0.8-1% p/v de las proteínas, 0.4-0.5% p/v de los lípidos y 0.4% de sales minerales (Huertas y Adolfo, 2009).

Existen dos tipos de suero: dulce y ácido. El suero dulce, que abarca mayor contenido de lactosa, es la separación de la caseína por acción enzimática, el cual, el suero tiene un pH entre 5-7 provenientes de la elaboración de quesos duros, semi duros, suaves y quesos de cuajo. Mientras que, el suero ácido con un pH entre 4-5 y con menor contenido de lactosa es obtenido por medio de una coagulación ácida de las caseínas ya sea por fermentación o adición de ácidos orgánicos (Ramiro et al., 2017). En la tabla 1 se detalla la composición química del suero de leche dulce y ácido.

**Tabla 1***Composición del suero de leche dulce y ácido*

<b>Componente</b>	<b>LS dulce (%)</b>	<b>LS ácido (%)</b>
Agua	93	93
Grasa	0.3	0.1
Proteína	0.8	0.6
Lactosa	4.9	4.3
Ceniza	0.56	0.46
Ácido láctico	0.2-0.3	0.7-0.8

Fuente: (Ramiro et al., 2017)

**1.1.2 Requisitos fisicoquímicos del suero de leche**

El suero de leche líquido debe cumplir de acuerdo con las siguientes normas según el Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN 2594, 2011).

**Tabla 2***Requisitos fisicoquímicos del suero de leche líquido*

<b>Requisitos</b>	<b>Suero de leche dulce</b>		<b>Suero de leche ácido</b>		<b>Método de ensayo</b>
	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	
Lactosa, %(m/m)		5.0		4.3	AOAC 984.15
Proteína láctea, %(m/m)	0.8		0.8		NTE INEN 16
Grasa láctea, %(m/m)		0.3		0.3	NTE INEN 12
Ceniza, %(m/m)		0.7		0.7	NTE INEN 14
Acidez titulable, %(m/m)		0.16	0.35		NTE INEN 13

pH	6.8	6.4	5.5	4.8	AOAC 973.41
----	-----	-----	-----	-----	----------------

---

El contenido de proteína láctea es igual a 6.38 por el % nitrógeno total determinado

---

Fuente: (NTE INEN 2594, 2011)

### ***1.1.3 Aplicaciones del suero de leche***

El suero de leche al no ser tratado industrialmente, su uso por lo general es para la alimentación animal, fertilizante de cultivos y como un desecho al medio ambiente. Esto último que, por ausencia de métodos de separación de sus componentes genera una gran carga de contaminación ambiental, debido a su demanda biológica de oxígeno (Ramiro et al., 2017).

Los principales usos del suero de leche se encuentran mayormente en la industria alimentaria, en la tabla 3 se describen las aplicaciones que tiene el suero de leche.

**Tabla 3.**

#### *Aplicaciones del suero de leche en la industria*

<b>Aplicaciones en</b>	<b>Características</b>
Productos de panadería	Eleva su valor nutricional, reemplaza al huevo, usado como emulsificante.
Productos lácteos como bebidas fermentadas	Aumenta su valor nutricional y propiedades organolépticas, emulsificante y gelificante.
Bebidas: jugos de frutas, refrescos, bebidas chocolatadas, y bebidas a base de leche.	Incrementa el valor nutricional, mejora la solubilidad, viscosidad y estabilidad coloidal.
Postres como barras de yogurt, helado	Mejora las propiedades emulsificantes.
Confitería	Emulsificante y facilitar el batido.
Productos cárnicos	Pre- emulsificante y gelificante.
Para concentrados de proteína	Eleva el contenido de proteína, lactosa y grasa.

Para obtener hidrolizados de proteína	Usando en fórmulas infantiles, productos para deportistas y productos nutricionales especiales.
Purificación de proteínas aisladas	Separación de: $\alpha$ -lactoalbúminas, $\beta$ -Lactoglobulinas, inmunoglobulinas, glicoproteínas como lactoferrina y lactoperoxidasa.
Fuente de lactosa	Componente para productos farmacéuticos, fórmulas infantiles, materia prima para la producción de derivados de lactosa.
Fuente para extraer minerales	Mediante membranas semipermeables para extraer calcio, fósforo, potasio.
Producción de biofertilizantes y desinfectantes	Sustituyente de abonos químicos. Sustituyente de desinfectantes químicos.

---

Fuente: (Poveda, 2013).

## 1.2 Ácido láctico

El ácido láctico o ácido 2-hidroxi-propanoico fue descubierto con técnicas de separación en la leche agria en 1780 por Karl Wilhem Scheele (Nogales, 2012). Es un ácido orgánico de alto valor para la industria de alimentos usado como acidulante, preservante y antimicrobiano, en la industria farmacéutica como fuente de electrolitos y minerales, en la industria cosmética como antimicrobiano, rejuvenecedor y pH buffer de la piel y en la industria química usado para neutralizantes y agentes limpiadores. Por otro lado, el ácido láctico es una fuente de producción de polímeros biodegradables y actualmente está siendo usado como desinfectante con alta efectividad contra la Covid-19 (Garcia et al., 2010). En la tabla 4 se muestra las propiedades fisicoquímicas del ácido láctico.

### Tabla 4.

### *Propiedades fisicoquímicas del ácido láctico*

<b>Parámetro</b>	<b>Característica</b>
Fórmula química	$C_3H_6O_3$
Masa molar	90.080 g/mol
<b>Propiedades físicas</b>	
Estado	Líquido
Color	Incoloro, ligeramente amarillento
Densidad	1.029 g/ml
Punto de fusión	18 °C
Punto de ebullición	122 °C
Corrosivo	-
Solubilidad	
Agua	Miscible
Etanol	Miscible
Éter	Miscible
<b>Propiedades químicas</b>	
Ácido orgánico débil	

Fuente: (Gissela y Cecilia, 2020)

#### **1.2.1 Fermentación**

Para la producción de ácido láctico se puede usar células libres y células inmovilizadas ya sea en un proceso de fermentación continuo o discontinuo. En el sistema discontinuo el sustrato se agrega al inicio del proceso a diferencia del proceso continuo que el sustrato se agrega en períodos de tiempo establecidos y que favorece la producción del producto durante toda la fermentación mientras que en el proceso discontinuo solo existe en una etapa de la fermentación la producción del producto (Burket, 2021).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) pueden ser homofermentativas o heterofermentativas de acuerdo con el producto final de la fermentación de los carbohidratos. Las bacterias homofermentativas dan como producto principal ácido láctico de la fermentación y que además tienen una tolerancia a pH por debajo de 5, son de rápido crecimiento a temperaturas en un

rango de 20°C a 40°C. En la tabla 5 se muestra las BAL homo y heterofermentativas y el isómero que producen (García et al., 2010).

**Tabla 5.**

*Configuración de las bacterias ácido lácticas homo y heterofermentativas*

Género y especie	Homofermentativa	Heterofermentativa	Configuración ácido láctico
<b><i>Lactobacillus</i></b>			
<i>L. delbrueckii</i>	+		D(-)
<i>L. lactis</i>	+		D(-)
<i>L. bulgaricus</i>	+		D(-)
<i>L. casei</i>	+		L(+)
<i>L. plantarum</i>	+		DL
<i>L. curvatus</i>	+		DL
<i>L. brevis</i>		+	DL
<i>L. fermentum</i>		+	DL
<b><i>Sporolactobacillus</i></b>			
<i>S. inulinus</i>	+		D(-)
<b><i>Streptococcus</i></b>			
<i>S. cremoris</i>	+		L(+)
<i>S. lactis</i>	+		L(+)
<b><i>Leuconostoc</i></b>			
<i>L. mesenteroides</i>		+	D(-)

Fuente: (García et al., 2010)

## 1.2.2 Microorganismo empleado en el proceso

### 1.2.2.1 *Lactobacillus casei*

*Lactobacillus casei* es una bacteria perteneciente al grupo de especies de bacterias lácticas, mesofílicas, anaerobias y heterofermentativas y también considerada como un probiótico que beneficia al organismo. Esta bacteria ácido láctica (BAL) se encuentra naturalmente en leches y vegetales fermentadas, carne, mucosa oral e intestino humano. Su



crecimiento óptimo es en una temperatura de 37°C y en un rango de pH de 3 a 7. Este microorganismo se caracteriza por ser Gram positivo y que en un proceso de fermentación láctica produce ácido láctico predominante de la forma L(+) (Gil, 2020). La tabla 6 detalla la taxonomía del *lactobacillus casei*.

**Tabla 6**

*Taxonomía del lactobacillus casei*

<b>Dominio</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Firmicutes
<b>Clase</b>	Bacilli
<b>Orden</b>	Lactobacillales
<b>Familia</b>	Lactobacillaceae
<b>Género</b>	Lactobacillus
<b>Especie</b>	casei

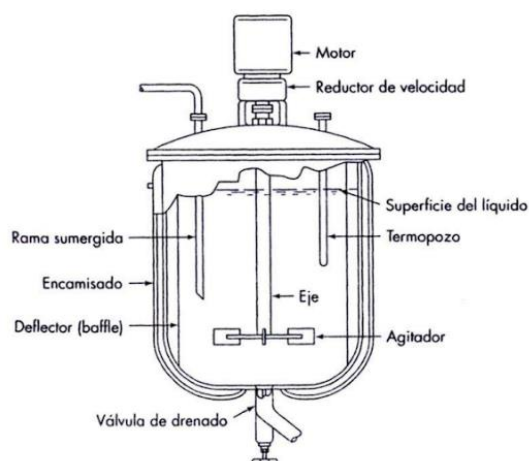
Fuente: (Gil, 2020)

### **1.2.3 Biorreactor discontinuo de tanque agitado**

El biorreactor discontinuo de tanque agitado (figura 1) es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico ya sea aerobio o anaerobio manteniendo condiciones ambientales propicias para el desarrollo de cultivos, estos equipos se caracterizan por trabajar en lotes por un tiempo determinado o hasta alcanzar una cinética constante de la reacción. Este tipo de reactores es ampliamente usado en industrias con producciones pequeñas (Rolón Ortiz et al., 2019).

**Figura 1**

*Esquema de un biorreactor discontinuo de tanque agitado*



Fuente: (Rolón Ortiz et al., 2019)

#### **1.2.4 Vías de obtención**

El ácido láctico se puede obtener por síntesis química a partir de acetaldehído  $\text{CH}_3\text{CHO}$  adicionando cianuro de hidrógeno  $\text{HCN}$  o mediante vía fermentativa biotecnológica utilizando bacterias ácido lácticas. Y que por las ventajas que este último ofrece, las industrias se dirigen a una producción biotecnológica (Gissela y Cecilia, 2020).

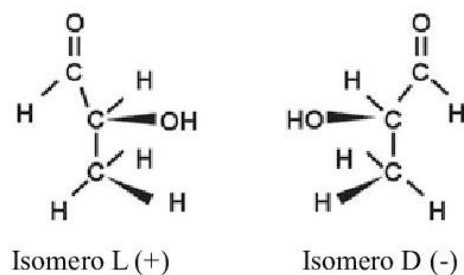
#### **1.2.5 Producción biotecnológica**

La producción por vía biotecnológica se basa principalmente en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por medio de bacterias u hongos. El volumen de ácido láctico obtenido dependerá de las técnicas de fermentación, los microorganismos usados, el pH y temperatura del lactosuero, las fuentes de carbohidratos y la formación de los subproductos (Robalino Puente, 2017).

Las ventajas que ofrece la producción de ácido láctico por vía biotecnológica es el bajo costo de producción. El ácido láctico comprende de dos isómeros ópticos mostrados en la figura 2, un isómero D (-) láctico y un isómero L (+) láctico, donde el ácido L (+) láctico es el preferido y con gran potencial de aplicaciones en el mercado de las industrias (Robalino Puente, 2017).

#### **Figura 2**

*Estructura espacial de los dos isómeros del ácido láctico*



Fuente: (Hernandez, 2008)

En la producción biotecnológica del ácido láctico se emplean el uso de bacterias como cocos y bacilos Gram positivos anaerobios facultativos, no esporulados, inmóviles y catalasa negativos, pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus* y *Weissella* y los hongos filamentosos del género *Rhizopus*. Ya que, la mayoría de estas especies tienen una tolerancia a pH ácido y su temperatura de crecimiento varía desde los 20°C a los 45°C (Cock y Stouvenel, 2005).

### 1.2.6 Recuperación y Purificación

Las técnicas más empleadas en la fase de recuperación del ácido láctico son la precipitación, destilación, membranas de separación y ultrafiltración, y métodos como la cromatografía y la cristalización son generalmente empleados para una fase de refinamiento del ácido láctico (Torres y Gómez, 2019). En la tabla 7 se muestra las especificaciones del ácido láctico y su uso industrial. Dependiendo el sector industrial, la purificación del ácido láctico se convierte en un factor clave, debido a que el caldo de fermentación contiene nutrientes y otros ácidos orgánicos, que, al no ser filtrados por los diferentes métodos de separación y purificación, el ácido láctico presenta diferentes grados de pureza la cual influye en su calidad y precio (Torres y Gómez, 2019).

#### Tabla 7

*Especificaciones de calidad del ácido láctico para el uso industrial*

Parámetro	Grado farmacéutico	Grado FCC	
		(Food Chemical Codex)	Grado alimenticio
Pureza (%)	88	95-105	80
Cloruros (%)	0.008	0.2	0.02
Sulfatos (%)	0.02	0.25	0.05
Arsénico (ppm)	4	3	0.2
Metales pesados (ppm)	33	10	10
Hierro (ppm)	10	10	10
Cenizas (%)	0.1	0.1	0.1

Fuente: (Liliana Serna C., 2003)

#### 1.2.6.1 Precipitación.

La precipitación es uno de los procesos de separación más habituales, que consiste en la recuperación del ácido láctico presente en el caldo de fermentación agregando hidróxido de calcio el cual neutraliza el ácido producido y que posteriormente se obtiene lactato de calcio. El lactato de calcio se precipita y se agrega ácido sulfúrico formando sulfato de calcio y ácido láctico libre y puro el cual se recupera por filtración (Torres y Gómez, 2019).

En un estudio de Kwak et al (2012), realizan la fermentación con cultivos tipo *Lactobacillus paracasei*, y en el caldo fermentado usan metanol para acelerar la acidificación del lactato de amonio con la finalidad de disminuir la solubilidad del sulfato de amonio y que el ácido láctico libre sea filtrado con más facilidad.

#### 1.2.6.2 Evaporación.

La evaporación es un método de concentrar una solución retirando el disolvente mediante calentamiento con vapor. El evaporador consta de una calandria de tubos dentro de una carcasa, donde el producto circula por el interior de los tubos y el vapor por la carcasa, calentando las

paredes externas de los tubos y así reducir significativamente el porcentaje de humedad (Universitat Politècnica de Catalunya. EPSEM, 28).

Entre los tipos de evaporadores se encuentran: evaporadores discontinuos, de circulación natural, de película ascendente, de película descendente, de películas ascendente-descendente, de circulación forzada y de película agitada (Naranjo, 2008). La investigación usará el evaporador de película ascendente.

(A. Canut, 2008) menciona que la operación de un evaporador puede ser; Intermitente cuando las operaciones de llenado, evaporación y vaciado se ejecutan en pasos sucesivos; Semi-intermitente, donde la alimentación se lleva a cabo en forma continua, pero la descarga se efectúa hasta alcanzar la concentración final; Continua-intermitente cuando la alimentación es continua y en ciertas partes del ciclo, la descarga también es continua y continua cuando la alimentación y descarga son continuas, permaneciendo constante la concentración de la alimentación y del producto.

### **1.2.6.3 Evaporador de película ascendente.**

La operación del evaporador de película ascendente (figura 3) se basa en generar una diferencia térmica entre el sistema de calentamiento y el líquido en circulación. El vapor entra a la cámara de vapor controlada por un manómetro, el líquido entra a la caja de alimentación debajo de las cámaras de producto y condensado y este es regulado por un flujómetro de 0 a 16 L/h y una cámara de vacío lo cual influye drásticamente en el punto de ebullición del líquido. Cuando el cuerpo y los tubos del evaporador están llenos de vapor el líquido alcanza su punto de ebullición formando burbujas de vapor en la columna del líquido y este entra a la cámara superior la cual pasa a través de una conexión corta en el separador de vapor el cual el líquido concentrado es expulsado al fondo del separador como producto y condensado.

### **Figura 3**

### *Evaporador de película ascendente*



Fuente: Autor

### **1.2.7 Usos del Ácido láctico**

El uso del ácido láctico tiene un enorme potencial en la aplicación de industrias de alimentos, farmacéuticas, química, textil, cosmética, agricultura. Y que actualmente se expande a muchos otros campos de investigación (Cock y Stouvenel, 2005).

#### **1.2.7.1 Industria alimentaria**

En la industria alimentaria el ácido láctico es usado como saborizante, regulador de pH, conservante de productos cárnicos y otros productos, producto antiséptico para frutas y verduras, agente microbiano y base para la fórmula láctea de los bebés, en los distintos procesos de fabricación de bebidas, confiterías, conservas, productos cárnicos, postres y panadería (Robalino Puente, 2017).

#### **1.2.7.2 Industria farmacéutica**

El contenido de sus sales minerales como el hierro y calcio tienen una gran importancia en la formulación de pastillas, productos para regular el pH (shampoo, jabón, lociones, geles)

y también se usa para el tratamiento de infecciones cutáneas y acidosis metabólica (Goldoni, 2021).

### 1.2.7.3 Industria química

Y en la industria química su aplicación es como desinfectante, neutralizador, agente de limpieza, solubilizador, regulador de pH y actualmente en la producción de productos biocidas (Dirección General de Salud Pública , 2021).

### 1.2.7.4 Otros usos

Los ingredientes del ácido láctico ayudan en el teñido e impresión. En las curtiembres es utilizado para remojar los cueros y desecarlos. La industria de plásticos lo usa para la producción de polímeros biodegradables. La industria cosmética lo usa como pH buffer que es un regulador de pH de la piel, como exfoliante, hidratante y para productos renovadores de células (Cock y Stouvenel, 2005).

## 1.2.8 Métodos de determinación de ácido láctico

Actualmente existen muchos métodos de determinación cuantitativa y cualitativa,

La Tabla 8 muestra los diferentes métodos para determinar el ácido láctico.

**Tabla 8**

*Métodos para la determinación de ácido láctico en Agroindustria*

Método	Descripción	Rango de detención	Aplicación
<b>Titulometría</b>	AOAC 947.05	8.10-20-83 g/L	Producción de quesos
<b>Colorimetría</b>	Homogenizar 16 ml de muestra en 284 ml de agua y 120 ml BaCl <sub>2</sub>	0.3-10 g/L	Ensilaje
<b>Gravimetría</b>	(9.88% p/v) forma Lactato de Bario		

Se adiciona 120 ml NaOH (0.66 N) y 60 ml Zn(SO<sub>4</sub>) formando lactato de Zinc + Ba<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>).

Centrifugar y adicionar FeCl<sub>3</sub> al sobrenadante. El lactato ferroso puede ser leído a 425nm.

<b>Resonancia magnética nuclear de protones</b>	Aminox HPx87-H (300 x 7.8 mmi.d) Temperatura horno 65°C Fase móvil H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.013 N (0.8 ml/min) Detector UV a 210 nm	0.15 g/L	Producción vinos
<b>Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)</b>	Shodex SH1011 (300 x 8 mm) Temperatura horno 50 °C Fase móvil H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.01 N (1 ml/min) Detector arreglo de diodos	16 g/L	Fermentación a partir de residuos agroindustriales
<b>Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)</b>	Detector de ionización de llama Columna DB wax (30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 μm) Temperatura de horno 50 °C (5 min) Rampa temperatura 190 °C rampa 3 °C/min Tiempo de residencia 10 min. La Temperatura del inyector 230 °C Temperatura inyector 240 °C Gas de arrastre N <sub>2</sub> =1.2 ml/min	0.02-1.37 g/Kg	Fermentación café



<b>Enzimáticos</b>	Lactato Oxidasa / Peroxidasa (LO x /HRP)		Producción
	Absorbancia 500 nm		industrial de
	Volumen de muestra 200 ul	120 g/L	ácido láctico
	Tiempo de incubación 10 min		

---

Fuente: (Torres y Gómez, 2019)

### ***1.2.9 Factores que afectan el crecimiento el género *Lactobacillus* y la eficiencia de producción de ácido láctico***

El rendimiento de producción de ácido láctico dependerá de la efectividad del proceso biotecnológico, es decir, que depende de varios factores en el proceso de fermentación que pueden afectar al crecimiento del *Lactobacillus casei* como: el pH, temperatura de fermentación, suplementos, formación de subproductos, entre otros (Panesso, 2015).

#### **1.2.9.1 pH**

Este factor tiene un fuerte efecto sobre el crecimiento y comportamiento de un microorganismo. El pH tiene un gran efecto en el crecimiento del *Lactobacillus casei* y la producción de ácido láctico, el rango óptimo es de 5.5-6.0 y en algunos casos de 6.0-6.5, según el cultivo que se use. El género *Lactobacillus* tiene tolerancia al medio ácido y sobresale en comparación con otros cultivos, aunque si sobrepasa su tolerancia puede ocasionar daños en el microorganismo como alterar su membrana plasmática inhibiendo su actividad enzimática o afectar la ionización de sustratos reduciendo su rendimiento de producción de ácido láctico (Aturo, 2023).

#### **1.2.9.2 Temperatura de fermentación**

Stephy (2017) señala que el género *Lactoacillus* es una bacteria mesófila, su crecimiento se da en un rango de 30 °C – 40 °C, y el factor de temperatura afecta el crecimiento del microorganismo, el tiempo del proceso y el rendimiento del producto.

En el proceso de fermentación la temperatura debe ser mantenida constante en un margen óptimo para obtener un buen rendimiento de producto, sin embargo, si existe cambios en la temperatura, los microorganismos pueden debilitarse a bajas temperaturas o incluso llegar a morir si fueron sometidos a un choque en altas temperaturas. La temperatura tiene un efecto importante en las propiedades catalíticas de las enzimas, por lo que, si no existe una temperatura óptima para el microorganismo influye en el crecimiento y la producción de metabolitos (Stephy, 2017).

### **1.2.9.3 Suplementos**

En la producción de ácido láctico a partir de suero de leche se emplean diferentes suplementos que proporcionan energía para el crecimiento y para la síntesis de material celular. Suplementos como glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, entre otros son utilizados como fuentes de carbono que mejoran el rendimiento del ácido láctico producido, pero es económicamente desfavorable ya que en estado puro estos suplementos son costosos (Stephy, 2017).

Además, el ácido láctico requiere de fuentes de nitrógeno, vitaminas y minerales que ayudan con la biosíntesis, crecimiento y mantenimiento celular. Las fuentes de nitrógeno deben de ser ricas en péptidos, bases pirimidinas y purinas. Estas fuentes de nitrógeno pueden ser: extracto de levadura, salvado de trigo, peptonas, licor de maíz, extracto de malta o la leche sin desnaturalizar (Aturo, 2023).

## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 Caracterización del área de estudio

##### 2.1.1 Localización del experimento

Las pruebas preliminares y el desarrollo experimental se realizaron en las instalaciones del laboratorio de las Unidades Edu-productivas de la carrera de Agroindustria de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales.

**Tabla 9**

*Ubicación geográfica del experimento*

Características Generales	Datos Meteorológicos
Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
Parroquia	El sagrario
Sitio	Laboratorio de bioprocesos – FICAYA – UTN
Altitud	2250 m.s.n.m

Fuente: Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal San Miguel de Ibarra (2017)

#### 2.2 Materiales y Equipos

El desarrollo del experimento constó con una lista de materiales, reactivos, insumos y equipos mostrados en la tabla 10.

**Tabla 10**

*Materiales y equipos*

Insumos y reactivos	Equipos	Materiales
- Suero de leche dulce	- Biorreactor tanque agitado	- Probeta - Vaso de precipitación

---

- Cepas del <i>Lactobacillus Casei-431</i> liofilizadas	- Evaporador de película ascendente	- Matraz Erlenmeyer
- Caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS)	- Potenciómetro	- Tubos Eppendorf 2 ml
- Hidróxido de calcio 98%	- Balanza analítica	- Pinzas
- Hidróxido de sodio 0.1 N	- Autoclave	- Termómetro
- Fenolftaleína	- Incubadora	- Gradilla
- Ácido sulfúrico	- Refrigerador	- Pipetas
- Bidón envase de plástico 50 L	- Centrífuga de disco	- Matraz
	- Picnómetro	
	- Centrífuga de laboratorio	

---

### 2.3 Metodología

La presente investigación fue de tipo cuantitativa exploratoria, se efectuó la experimentación del proceso biotecnológico de fermentación del suero lácteo, cuantificación de la cantidad de ácido láctico producida, determinación de la concentración de ácido láctico en el evaporador de película ascendente a partir de la interacción de dos factores: A: Flujo de alimentación y B: Presión de vacío, con dos niveles cada uno y réplicas por triplicado, finalmente se determinó los costos de producción.

#### 2.3.1 Proponer un proceso de fermentación de ácido láctico a escala 50 litros.

Para lograr este objetivo la experimentación se basó en la metodología de Cadena (2021). La parte experimental inicia con la activación del microorganismo *Lactobacillus casei-431* en MRS, la pasteurización del suero de leche. La adaptación de la cepa en el medio (lacto suero) y el bioproceso de fermentación. Las muestras se tomaron cada 4 h muestras del tanque para

medir la cantidad de acidez titulable expresado como ácido láctico, pH y biomasa del microorganismo. Se separó el ácido láctico por precipitación y por centrifugación.

### 2.3.1.1 Condiciones de la materia prima.

En la investigación se utilizó suero de leche fresco obtenido de la industria FLORAP ubicada en Ibarra, se aplicó un previo tratamiento de pasteurización a 65 °C por 15 minutos.

Se realizó la caracterización del lactosuero tomando en cuenta los parámetros de contenido de sólidos solubles, acidez titulable (expresada como ácido láctico) y pH descritos en la tabla 11.

**Tabla 11**

*Caracterización del suero de leche*

<b>Análisis físico-químico</b>	<b>Método de ensayo</b>
Cantidad de sólidos solubles	NMX-F-436-SCFI-2011
Acidez titulable % (expresado como ácido láctico)	AOAC 947.05
pH	AOAC 973.41

### **Cantidad de sólidos solubles**

Para la determinación de la cantidad de sólidos solubles se basó en el método de refractometría según la norma mexicana NMX-F-436-SCFI-2011. El cual consiste en depositar 1 gota de la muestra en la superficie del prisma fijo y al cabo de algunos segundos se observa por el ocular el valor obtenido en °Brix siendo la lectura obtenida el valor de sólidos solubles.

Mettler Toledo International Inc (2023), señala que 1 °Brix es igual a 1 g de sacarosa sobre 100 g de solución, es decir, 1% de azúcar de la solución de 100 g.

### **Acidez titulable % (expresado como ácido láctico)**

Para la determinación de la acidez titulable se empleó el método de ensayo AOAC 947.05, la cual se usa una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 N, y fenolftaleína como indicador, se agrega lentamente y con agitación la solución 0.1 N de hidróxido de sodio, hasta conseguir el cambio de color a rosado persistente. Se procede a leer el volumen de la solución de la bureta, se registra el valor, se aplica la ecuación 1 y se obtiene los datos de % acidez titulable expresado como ácido láctico.

Determinación de la acidez titulable mediante la siguiente ecuación

Ecuación 1: 
$$A = 0.090 \frac{V \times N}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

A= acidez titulable expresado en porcentaje de ácido láctico

V= volumen de la solución de hidróxido de sodio consumido en la titulación

N= concentración normal de la solución de NaOH (0.1 N)

m= masa del matraz Erlenmeyer vacío (g)

$m_1$ = masa del matraz Erlenmeyer con la muestra (g)

### **pH**

Para medir el potencial de hidrógeno se usó la metodología AOAC 973.41, establece como método cuantitativo por el cual un alimento es medido con un potenciómetro.

### **2.3.1.2 Activación de las cepas *Lactobacillus casei* 431.**

Se los realizó dentro de una cabina de flujo laminar para evitar posible contaminación. Se revitalizó 0.01% (m/v) de *Lactobacillus casei* - 431, en un matraz Erlenmeyer con caldo MRS previamente preparado y se adaptó la cepa al medio (suero de leche).

### **2.3.1.3 Acondicionamiento del suero de leche**

Se colocó un volumen de 50 litros de suero pasteurizado en el biorreactor de tanque agitado a una temperatura de 37 °C y se adicionaron las cepas de *Lactobacillus casei*-431 previamente activadas y acondicionadas al medio, hasta lograr una concentración constante de ácido láctico.

### **2.3.1.4 Fermentación y toma de muestras**

Las cepas de *Lactobacillus casei* adaptadas al suero de leche, configuran el isómero L(+) del ácido láctico, la fermentación se realizó en el biorreactor de tanque agitado. Con la metodología de peso húmedo, se tomaron muestras cada 4 horas para determinar la cantidad de biomasa en tubos de 2 ml con centrifugación a 4500 rpm durante 10 min. Se pesaron los tubos vacíos y los tubos con biomasa, la diferencia fue la cantidad de BAL (g) generada durante el proceso de fermentación.

De igual manera, con el método de acidez titulable y pH descrito anteriormente, se midió el porcentaje de acidez y nivel de pH que tiene el suero durante el proceso de fermentación.

### **2.3.1.5 Precipitación**

Este proceso de separación descrito por Torres y Gómez (2019) utilizó hidróxido de calcio y solución de ácido sulfúrico al 2.5 N, una vez que el suero de leche alcance su punto máximo de fermentación. Se adicionó en exceso el hidróxido de calcio en el suero con un pH alcanzado de 3.6, formando el lactato de calcio y el sobrenadante, posteriormente se procedió

a retirar el sobrenadante en exceso y se agregó la solución de ácido sulfúrico al 2.5 N, la cual formará sulfato de calcio que es el precipitado y ácido láctico.

### 2.3.1.6 Centrifugación

Una vez obtenido el sobrenadante del sulfato de calcio se centrifugó en la centrífuga de discos repetidamente para eliminar en mayor cantidad las impurezas encontradas.

## 2.3.2 Determinar los parámetros los parámetros de operación de temperatura y flujo de alimentación en el proceso de separación por evaporación

### 2.3.2.1 Factores de estudio

Los factores estudiados para evaluar el mejor resultado de concentración del ácido láctico por el método de evaporación fueron la presión de vacío y el flujo de alimentación en el evaporador de película ascendente, con una presión constante de vapor de 1.5 bar.

**Tabla 12**

*Factor A Presión de vacío*

Nivel	bar
A1	-0.6
A2	-0.3

**Tabla 13**

*Factor B Flujo de alimentación*

Nivel	L/h
B1	6
B2	12



Se determinó la cantidad total producida de ácido láctico y se comparó con la concentración obtenida en el estudio de Maribel (2020).

### Descripción de las variables a evaluarse

En la tabla 14 se detalla las variables evaluadas en el desarrollo del experimento.

**Tabla 14**

*Variables experimentales*

Variable	Método	Unidades	Referencia
Concentración de ácido láctico	Titulometría	$g * L^{-1}$	AOAC 947.05
Densidad	Densímetro graduado	$g * cm^{-3}$	NTE INEN 11

### Titulometría

Para la determinación de la acidez titulable se empleó el método de ensayo AOAC 947.05.

### Densidad

Según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 11, el método para la determinación de densidad consiste en el uso de un densímetro graduado.

#### 2.3.2.2 Diseño experimental

Con un diseño factorial  $2^2$ , y 3 réplicas, se concentró por evaporación el ácido láctico. De acuerdo con los factores de estudio para el desarrollo de la investigación, la tabla 15 muestra los tratamientos para el método de evaporación.

**Tabla 15**

*Tratamientos de la investigación*

N°	Simbología del tratamiento	Tratamientos	Réplicas	Descripción
----	----------------------------	--------------	----------	-------------

1	T1	A1B1	3	2 L AL*; -0.6 Bar; 6 L/h
2	T2	A1B2	3	2 L AL*; -0.6 Bar; 12 L/h
3	T3	A2B1	3	2 L AL*; -0.3 Bar; 6 L/h
4	T4	A2B2	3	2 L AL*; -0.3 Bar; 12 L/h

AL\*=Ácido láctico

### 2.3.2.3 Características de la unidad experimental

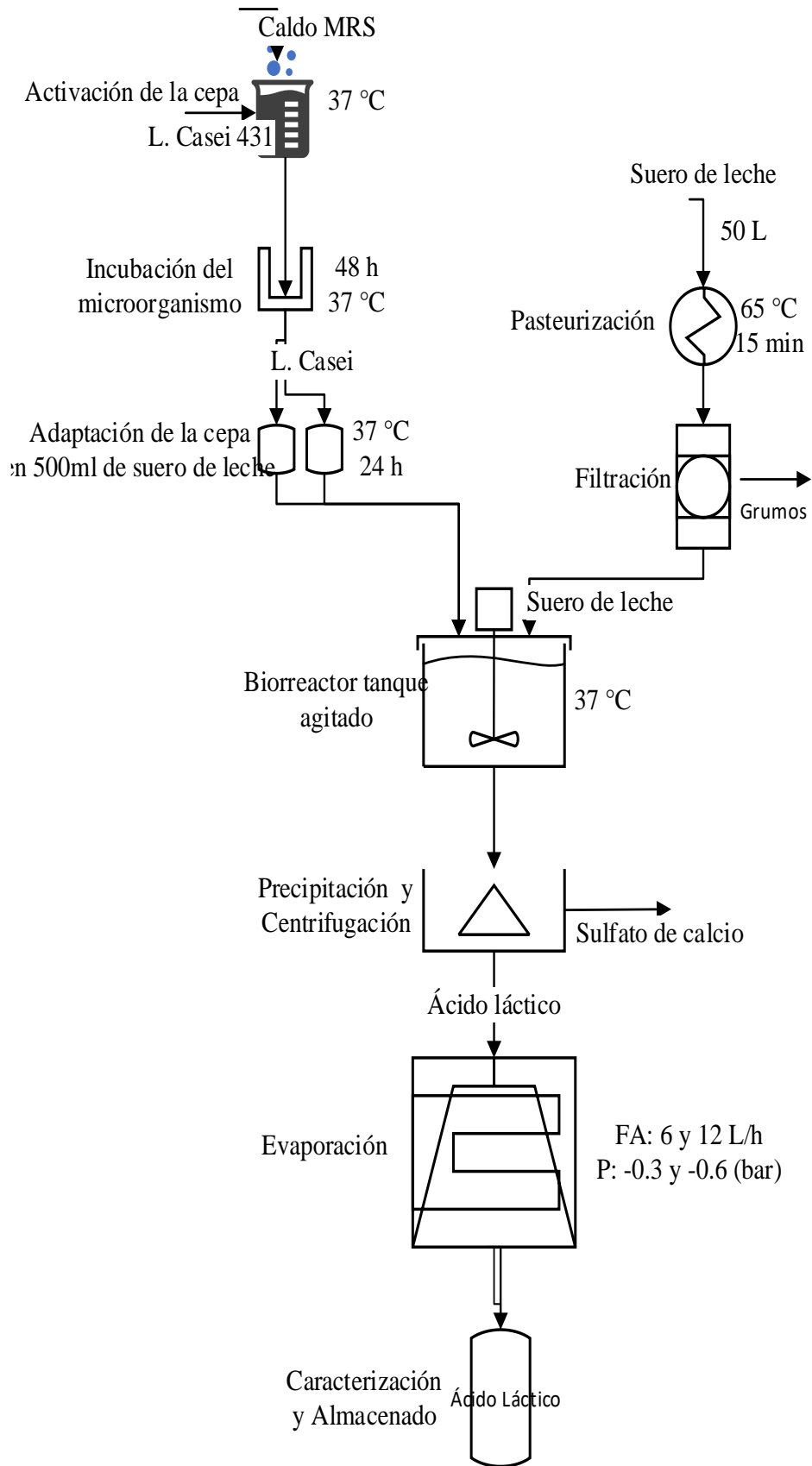
Se evaluaron 4 tratamientos con 3 repeticiones al mejor tratamiento resultando 12 unidades experimentales donde cada unidad experimental evaluada fue de 2 litros de ácido láctico obtenido de la fermentación del suero de leche y posteriormente de la precipitación y centrifugación.

## 2.4 Manejo específico del experimento

El proceso de obtención de ácido láctico a escala de laboratorio es explicado a continuación en el diagrama de bloques. En la figura 4 se presenta el procedimiento utilizado para la obtención del ácido láctico.

### Figura 4

*Diagrama de bloques para la obtención de ácido láctico*



## Descripción del diagrama de proceso

### Recepción de la materia prima

El volumen adquirido de suero fue de 50 L, proveniente de la Empresa FLORAP ubicada en la ciudad de Ibarra.

### Figura 5

*Recepción de suero de leche*



### Pasteurización

El suero de leche se pasteurizó a 60 °C durante 15 minutos, con la finalidad de reducir los microorganismos no deseados en la experimentación.

### Figura 6

*Pasteurización del suero de leche*



## **Filtración**

Esta operación unitaria consiste básicamente en separar los grumos o sólidos no requeridos del suero fermentado usando un tamiz. Se utilizó un tamiz o también llamado colador, logrando obtener un suero libre de impurezas.

## **Caracterización**

Se realizó la caracterización del suero de leche principalmente la cantidad de sólidos solubles mediante el método refractómetro, se determinó el % de acidez titulable por el método NTE INEN 13 y su pH.

## **Figura 7**

*Método de acidez titulable*

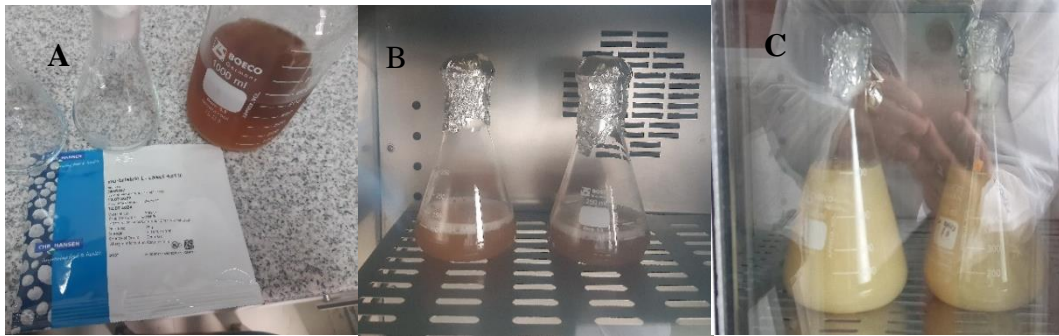


## **Activación de *Lactobacillus casei*-431 liofilizado**

En una balanza se pesó 0.1 g de cepa liofilizada de *Lactobacillus casei* – 431. Las cepas se activaron en caldo MRS por 48 h a 37 °C. Posteriormente se acondicionaron en suero de leche pasteurizado incubándose por 24 h a 37°C.

## **Figura 8**

*Activación de *Lactobacillus casei* - 431*



**A** Cepa liofilizada *L. casei* – 01 y caldo MRS  
**B** Activación del microorganismo en medio MRS  
**C** Incubación del lactosuero con la cepa revitalizada

## Bioproceso

El suero de leche dulce pasteurizado y filtrado, se colocó en el biorreactor tanque agitado, a una temperatura de 37 °C, luego se agregó las cepas de *Lactobacillus casei* previamente adaptadas al medio, para que configure el isómero L(+) del ácido láctico.

## Figura 9

### *Fermentación de suero de leche*



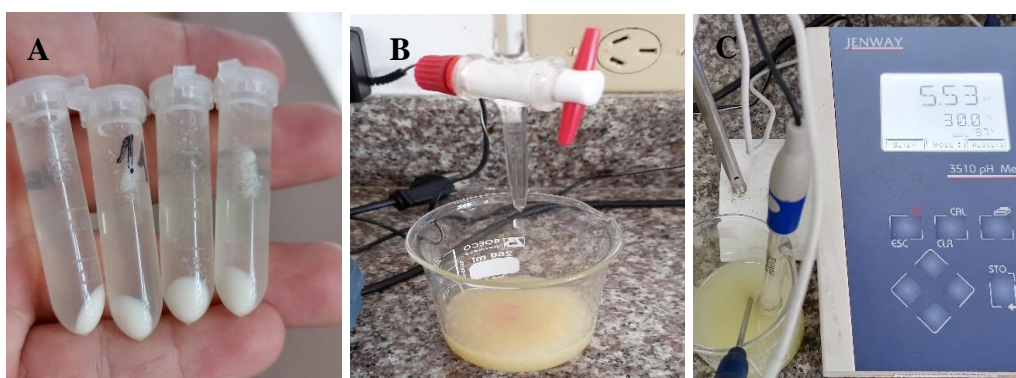
**A** Biorreactor tanque agitado.  
**B** Inoculación de las cepas previamente adaptadas al medio.

## Contenido de biomasa y acidez titulable

La fermentación se realizó en el biorreactor tanque agitado, y se tomaron muestras cada 4 horas para dar seguimiento a la cantidad de biomasa producida, el porcentaje de acidez titulable concentrado y su pH.

### Figura 10

*Análisis de variables*



**A:** Cantidad de biomasa  
**B:** Acidez titulable  
**C:** pH

## Recuento inicial de BAL

Con la metodología descrita, se conoció los valores iniciales de las BAL adaptadas al suero de leche. Se obtuvieron resultados en % de acidez titulable (expresado como ácido láctico), la cantidad de biomasa y pH. Estos valores se muestran en la tabla 16.

**Tabla 16**

*Recuento inicial de BAL*

Variable	Resultado
Acidez titulable % (expresado como ácido láctico)	0.79
Cantidad de <i>L. casei</i> (g/L)	0.10
pH	6.33

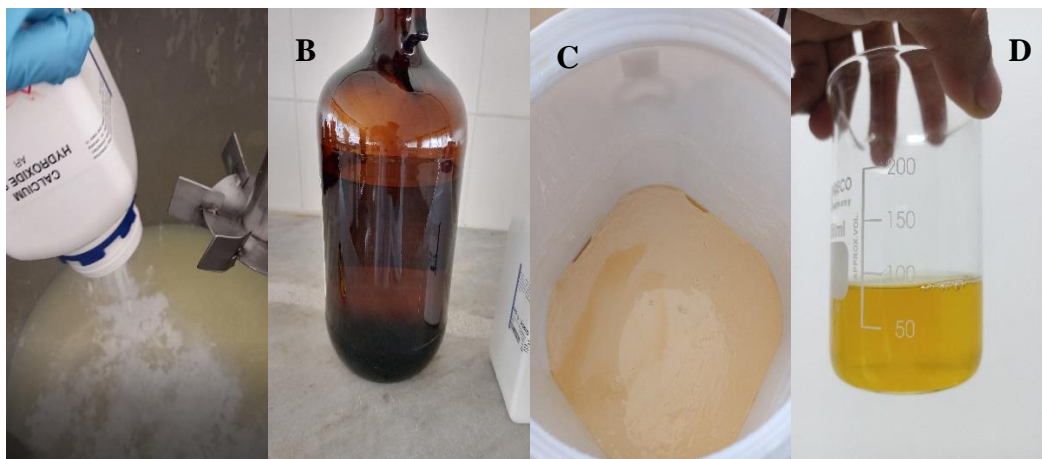
El recuento inicial de BAL tuvo valores de 0.798% de acidez titulable (en % de ácido láctico), una biomasa inicial de *L. casei* de 0.1013 g y un pH inicial de 6.33.

## Precipitación

Este proceso de separación utilizó hidróxido de calcio y solución de ácido sulfúrico al 2.5 N, una vez que el suero de leche alcanzó su punto máximo de fermentación. Se adicionó en exceso el hidróxido de calcio en el suero con un pH requerido de 3.5, formando el lactato de calcio y el sobrenadante. Se retiró el sobrenadante en exceso y se agregó la solución de ácido sulfúrico al 2.5 N, formando sulfato de calcio que es el precipitado y ácido láctico.

### Figura 11

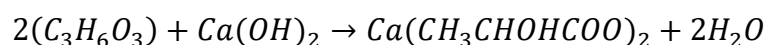
#### Precipitación



- A: Adición de hidróxido de calcio
- B: Solución de ácido sulfúrico 2,5N
- C: Sulfato de calcio
- D: Ácido láctico

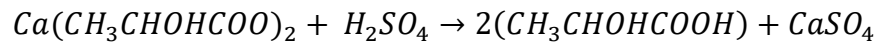
En la investigación de producción de ácido láctico por Datta & Henry (2006) señala que el ion lactato resultado del metabolismo de *L. casei* reacciona con el hidróxido de calcio consumido durante la fermentación obteniendo así lactato de calcio representado en la siguiente ecuación:

a) Fermentación y neutralización





b) Hidrólisis por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



Y que en la investigación de Datta & Henry (2006) 1 mol de lactato de calcio equivale a 2 mol de ácido láctico formado.

En la investigación de Torres & Gómez (2019), describe que este método es un proceso sencillo y fácil de aplicar en plantas industriales, pero tiene un alto consumo de ácido sulfúrico, genera yeso y además el ácido láctico crudo presenta un porcentaje de pureza bajo.

### **Centrifugación**

Una vez que se obtuvo el precipitado de sulfato de calcio y ácido láctico se centrifugó el sobrenadante de ácido láctico a 30 °C utilizando la centrifuga de discos con motor de 10000 rpm, se realizó esta acción repetidamente para eliminar en mayor cantidad las impurezas encontradas.

### **Figura 12**

*Centrifugación del ácido láctico*



## Evaporación

Se procesaron 4 lotes de ácido láctico (6 L cada lote). Utilizando un evaporador de película ascendente existente en los laboratorios de bioprocesos. Se alimentó con el ácido láctico por succión a través de una bomba de vacío a -0.3 bar y -0.6 bar, con un flujo de alimentación de 6 y 12 L/h, y una entrada de vapor constante a 1.5 bar. Después de cada tratamiento se realizó 3 corridas de lavado en el evaporador para evitar posibles contaminantes en el producto final, la variable respuesta fue concentración  $g * L^{-1}$ , densidad  $g * ml^{-1}$  y color.

### Figura 13

*Proceso de concentración por evaporación*



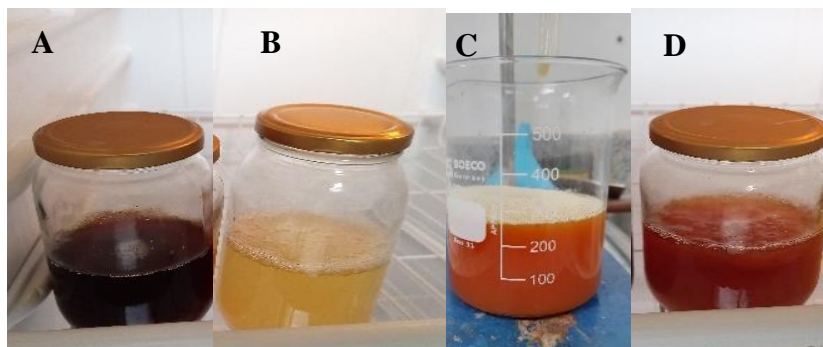
## Ácido láctico

Finalmente se determinó la concentración del mejor tratamiento obtenido, siendo el T2 con las mejores características obtenidas en el evaporador de película ascendente figura 14.

El ácido láctico concentrado obtenido del T2 se comparó con los resultados de Maribel (2020).

### Figura 14

*Ácido láctico concentrado*



A: T1  
B: T2  
C: T3  
D: T4

#### ***2.4.1 Determinar costos de producción***

Una vez terminada la experimentación, se estableció el costo de producción del ácido láctico obteniéndose de la inversión del presente trabajo, lo cual es fundamental para conocer la viabilidad económica y rentabilidad del proceso. Los resultados obtenidos proporcionan una base significativa e importante para el desarrollo de futuras investigaciones y mejoras en la eficiencia de la producción del ácido láctico.

Para determinar el costo de producción de ácido láctico se usó la siguiente fórmula:

Ecuación 2:

$$\text{Costo unitario de producción} = \frac{\text{Costo de producción}}{\text{Volumen producido}}$$

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Proponer un proceso de fermentación de ácido láctico a escala de 50 litros

##### Caracterización del suero de leche

El suero de leche pasteurizado fue sometido a los análisis físico-químicos de cantidad de sólidos solubles, acidez y pH. Los resultados se muestran en la tabla 17 y se relaciona con los valores de la norma NTE INEN 2594 (2011) del suero de leche.

**Tabla 17**

*Parámetros del suero de leche*

<b>Contenido del suero de leche</b>	<b>Resultados</b>	<b>NTE INEN 2594 (2011) Suero dulce</b>
Sólidos solubles %	4.69	4.40-5.00
Acidez titulable %	0.08	≤0.16
pH	6.75	6.4-6.8

La caracterización del suero de leche en este estudio fue de: 4.69% para sólidos solubles la cual es la principal fuente de carbono necesaria para desarrollo para la cepa de *Lactobacillus casei*. La acidez del suero de leche obtenida fue 0.08% y su pH de 6.75. Estos valores son favorables para establecer las condiciones de fermentación del microorganismo en cuestión y cumplen con los parámetros del suero dictada por la norma NTE INEN 2594 (2011) y lo clasifican como suero dulce.

El lactosuero dulce es un medio óptimo para el desarrollo de las bacterias ácido lácticas, ya que es rico en lactosa y compuestos nitrogenados. El cultivo de *L. casei* configura estrictamente el

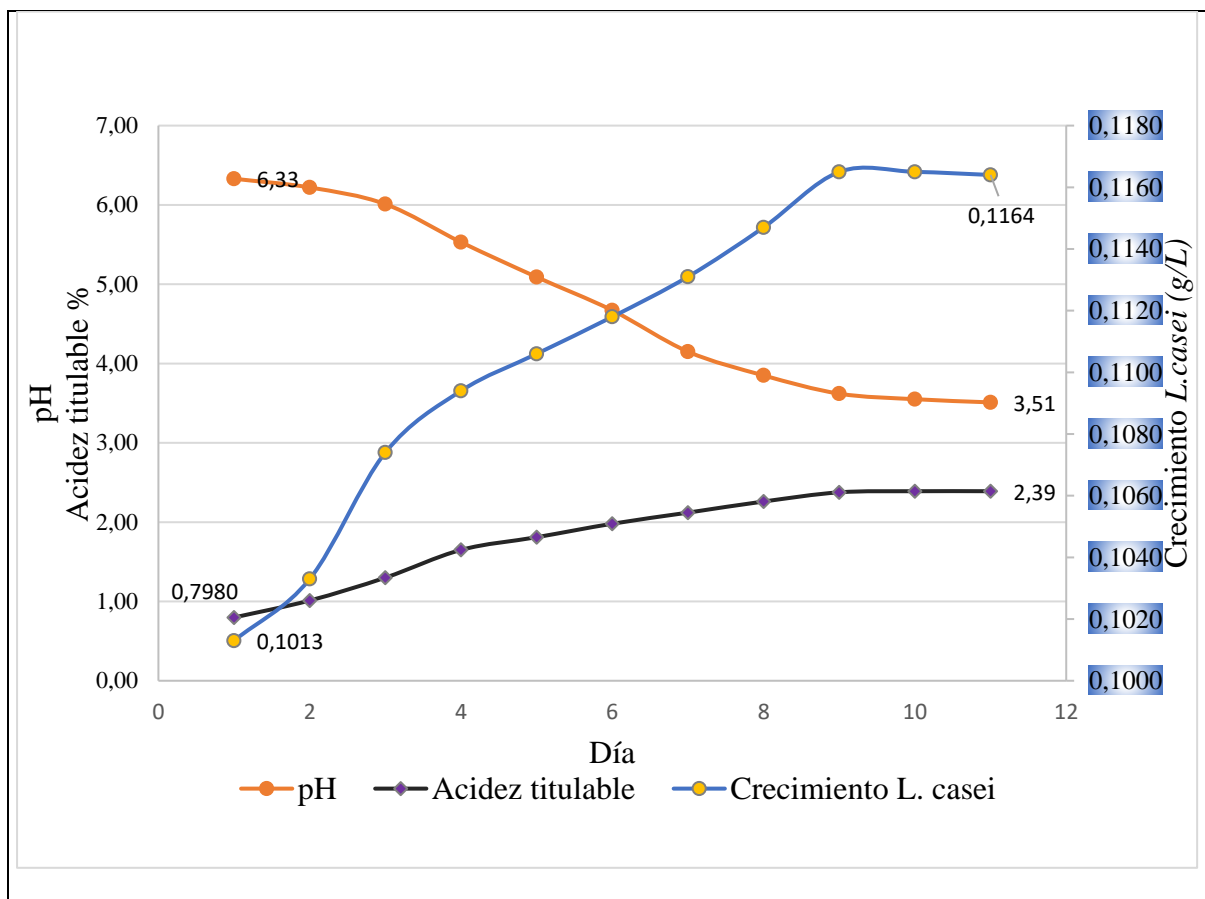
isómero del ácido láctico L(+) el cual es generalmente reconocido como un alimento seguro (GRAS) y de uso como aditivo alimenticio (Zapata et al., 2019).

### Bioproceso

Los resultados de las muestras tomadas cada 4 h presentaban un ligero crecimiento de biomasa, el pH iba disminuyendo de manera significativa y el % de acidez aumentaba. Esta cinética se muestra en la figura 15.

**Figura 15**

*Cinética del proceso de fermentación de suero de leche a escala de 50 L.*



El proceso de fermentación tuvo una duración de 13 días, teniendo como punto final la fase estacionaria alcanzada por el cultivo (3 valores constantes de crecimiento), durante el proceso de fermentación el pH disminuyó relativamente neutro a ácido esto también pudo afectar el

crecimiento del microorganismo ya que a esos valores no es favorable para el desarrollo de la cepa utilizada. La cantidad de biomasa del cultivo en el biorreactor aumentó 0.0152 g/L al noveno día, esto ocurrió mientras las condiciones fueron favorables para el crecimiento de este. Finalmente, la concentración de ácido láctico al día 9 fue de 23.91 g/L y una acidez titulable de 2.39% y se mantuvo constante por los siguientes días, de estos dos últimos parámetros se puede decir que son productos asociados al crecimiento lo cual se pueden catalogar como metabolitos primarios como lo describe García et al, (2010).

La investigación de Maribel (2020), obtuvo 3.1% de acidez titulable valor ligeramente superior con la presente investigación, lo cual se puede relacionar a que en el proceso de fermentación del suero de leche no se suministró fuente de carbono.

### **3.2 Determinación de los parámetros de operación de temperatura y flujo en el proceso de separación por evaporación.**

El ácido láctico obtenido por precipitación, posterior a los pasos de separación por filtración y centrifugación se realizó la concentración en un evaporador de película ascendente, a dicho proceso se realizó un diseño experimental factorial por bloques 2<sup>2</sup>. Estos resultados se copiaron al programa *Design Expert 11*, análisis de varianza (ANOVA) para verificar si los factores y las respuestas se ajustaban a un modelo con la intención de encontrar si existen diferencias estadísticamente significativas.

#### **3.2.1 Análisis de ANOVA de las variables respuestas**

El análisis de varianza (ANOVA) tabla 18, de la variable de acidez permitió conocer si el modelo estadístico sugerido es útil para mejorar la concentración de ácido láctico.

#### **Tabla 18**

*ANOVA de la variable concentración de acidez*

<b>Concentración de acidez</b>					
<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor-P Prob&gt;F</b>
Modelo	0.3250	2	0.1625	83.7	<0.0001
A: Presión de vacío	0.0520	1	0.0520	26.79	0.0006
B: Flujo de alimentación	0.2370	1	0.2370	140.61	<0.0001
AB	0.0127	1	0.0127	21.13	0.0018
Residual	0.0175	9	0.0019		
Falta de ajuste	0.0127	1	0.0127	21.12	0.0018
Error puro	0.0048	8	0.0006		
Correl Total	0.3425	11			
R <sup>2</sup>	0.9490				
R <sup>2</sup> ajustados	0.9376				
C.V%	1.79				
Prec. Ad	19.668				

El análisis del cuadro ANOVA para la concentración del ácido láctico indica el valor-p es 0.0018 lo que indica que la interacción de los factores A y B son significativos para este modelo lineal. El coeficiente de determinación ajustado R<sup>2</sup> es de 0.9376 dando a entender que el modelo para mejorar la concentración del ácido láctico por evaporación es satisfactorio. Según Palma (2022), el término R<sup>2</sup> ajustado debe presentar un valor superior al 70% para que exista una relación lineal fuerte y que el modelo sea más confiable.

El análisis de varianza (ANOVA) tabla 19, de la variable respuesta densidad permitió conocer si el modelo estadístico sugerido es aceptable.

### **Tabla 19**

*ANOVA de la variable densidad*

<b>Densidad</b>
-----------------

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor-P Prob&gt;F</b>
Modelo	0.6288	2	0.3144	73.93	<0.0001
A: Presión de vacío	0.0784	1	0.0784	18.44	0.0020
B: Flujo de alimentación	0.5504	1	0.5504	129.42	<0.0001
AB	0.0184	1	0.0184	7.41	0.0261
Residual	0.0383	9	0.0043		
Falta de ajuste	0.0184	1	0.0184	7.41	0.0261
Error puro	0.0199	8	0.0025		
Correl Total	0.6671	11			
R <sup>2</sup>	0.9426				
R <sup>2</sup> ajustados	0.9290				
C.V%	4.54				
Prec. Ad	18.0945				

El análisis del cuadro ANOVA de la variable respuesta densidad indica el valor-p 0.0261 lo que indica que los factores A y B son significativos para este modelo lineal. El coeficiente de determinación ajustado R<sup>2</sup> es de 0.929 dando a entender que el modelo en búsqueda de la densidad del ácido láctico por evaporación es satisfactorio.

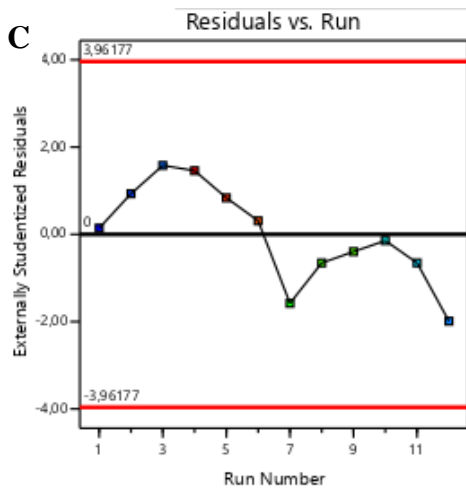
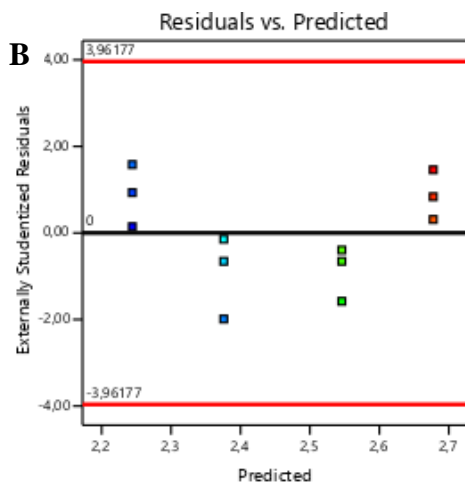
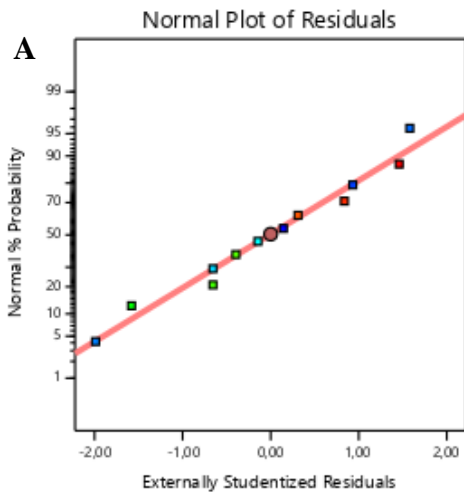
Para determinar si el modelo cumple con los supuestos del análisis, se procede a utilizar las gráficas de residuos de ambas variables respuestas para conocer si el modelo es el adecuado y cumple con los supuestos de los análisis mostrados en la figura 16.

### **Figura 16**

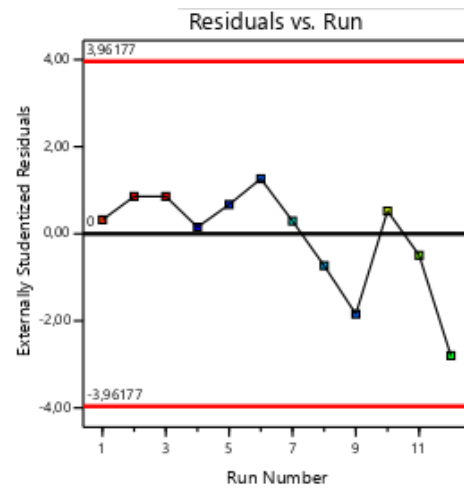
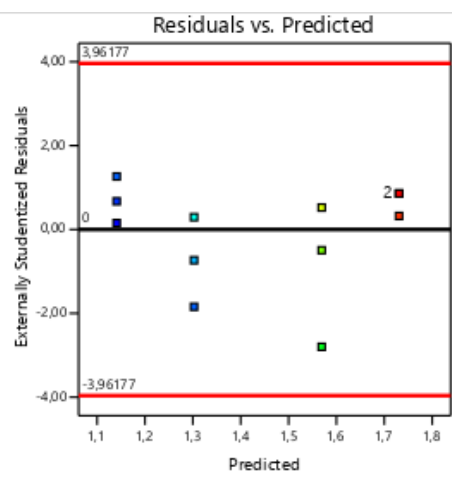
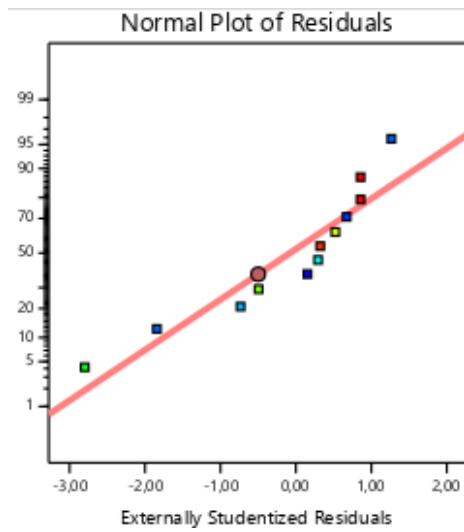
*Análisis de residuos de las variables respuesta concentración de acidez y densidad*



## Concentración de acidez



## Densidad



**A:** Figura de probabilidad normal de los residuos

**B:** Figura de residuos vs. ajustes

**C:** Figura de residuos predichos vs. orden

La figura A, muestra que los residuos siguen aproximadamente una línea recta, señal de que los residuos están distribuidos normalmente de la respuesta concentración de acidez y densidad. La figura B, revela que los puntos están dispersamente aleatorios y que ninguno de los grupos presenta una variabilidad significativa entre ambas variables respuestas. Por último, la figura C, nos indica que los residuos son independientes entre sí y no muestran señales de correlación con otros puntos.

Con la verificación del análisis estadístico ANOVA y de las gráficas de residuos, se cumple el supuesto de normalidad y se acepta el modelo, se procede con la interpretación de los resultados obtenidos del proceso de concentración del ácido láctico por evaporación, tabla 20.

**Tabla 20**

Resultados del proceso de concentración por evaporación.

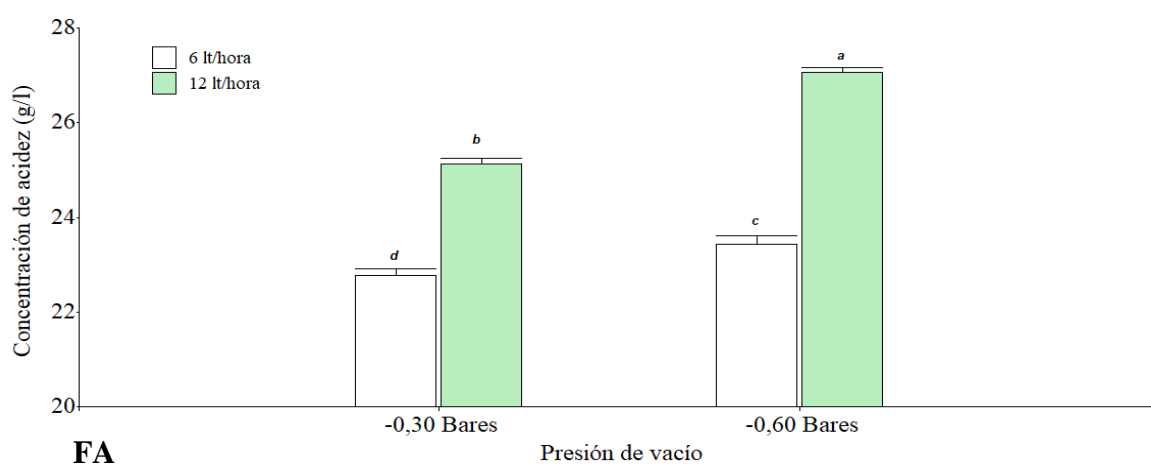
Tratamiento	A: Presión	B: Flujo de	Concentración	Densidad	Tiempo	Color
	de vacío (Bar)	alimentación (L/h)	Acidez (g/L)	(g/ml)	(min)	
1	-0,3	6	22.5	1.75	35	Negro
	-0,3	6	22.8	1.78	35	Negro
	-0,3	6	23	1.78	35	Negro
2	-0,6	12	27.2	1.15	30	Amarillo claro
	<b>-0,6</b>	<b>12</b>	<b>27.1</b>	<b>1.18</b>	<b>30</b>	<b>Amarillo claro</b>
	-0,6	12	26.9	1.21	30	Amarillo claro
3	-0,3	12	24.9	1.32	35	Naranja
	-0,3	12	25.2	1.26	35	Naranja
	-0,3	12	25.3	1.21	30	Naranja

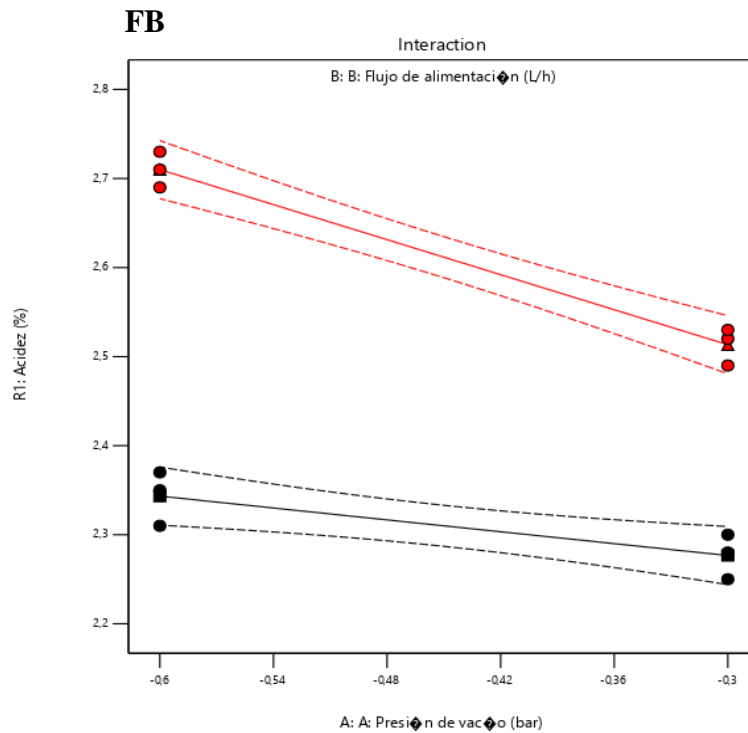
	-0,6	6	23.7	1.6	30	Ámbar
4	-0,6	6	23.5	1.54	35	Ámbar
	-0,6	6	23.1	1.45	30	Ámbar

El segundo tratamiento se operó a -0.6 bar de presión y un flujo de alimentación 12 L/h, la temperatura de entrada del ácido láctico al intercambiador de calor fue de 6 °C, y su temperatura de salida de  $89 \pm 3$  °C, se observó que la salida del evaporador el ácido láctico concentrado era de un color amarillo, recolectando un volumen de 500 ml de ácido láctico crudo y 1430 ml de condensado, en un tiempo de 30 min. Se realizó el análisis de densidad por picnómetro dando un resultado de  $1.18 \pm 0.04$  g/ml. Este tratamiento cumplió con los parámetros específicos del ácido láctico y se procedió a realizar su caracterización y su comparación con otros estudios. Los demás tratamientos (figura 17), tuvieron valores bajos de acidez, alta densidad y color no acorde a los establecidos en la ficha de datos de ThermoFisher, (2021). Estos valores pudieron estar afectados por los bajos flujos de alimentación o mayor tiempo de exposición a las altas temperaturas provocando ruptura en la molécula de ácido.

**Figura 17**

*Interacción de los factores A y B en el proceso de concentración por evaporación*





**FA:** Interacción de barras

**FB:** Interacción lineal

En un estudio realizado por Cai et al (2012), evaluaron el efecto de temperatura de entrada, salida y el flujo de alimentación durante el proceso de concentrado por evaporación. Los autores concluyeron que las condiciones óptimas de temperatura de salida deben ser inferiores a 100 °C y que a una velocidad de alimentación más rápida no es suficiente para obtener un buen producto, ya que reduce el % de purificación.

Por otro lado, Anekella y Orsat (2013), demostraron en su investigación que el flujo de aire caliente que entraba a la cámara está asociado con el tiempo de residencia de la partícula, concluyendo que a mayor flujo de aire menor tiene que ser el tiempo de residencia de la partícula, ya que influye sobre la supervivencia del compuesto.

### **Caracterización del ácido láctico obtenido por evaporación**

El ácido láctico obtenido de la mejor combinación de los parámetros del proceso de evaporación fue el tratamiento 2 con una presión de vacío -0.6 Bar y flujo de alimentación 12

L/h y con una entrada constante de vapor de 1.5 Bar, se caracterizó sus variables y se comparó con los resultados de la investigación de Maribel (2020) que se presentan en la tabla 21.

**Tabla 21**

*Características físico-químicas del ácido láctico obtenido*

<b>Análisis físico-químicos</b>	<b>Respuesta</b>	<b>Ácido láctico (Maribel, 2020)</b>
Concentración (g/L)	27.1 ± 0.18 *	31.5 ± 0.26 *
Densidad (g/ml)	1.18	1.10
pH	3.5	3.1
Color	Amarillo claro	Amarillo transparente
Solubilidad		Agua

\*media ± desv est. (n=3)

La comparación de resultados obtenidos en este estudio y de Maribel (2020). El valor por titulometría es de 27.1 ± 0.18, lo que representa que requiere de un paso de purificación secundaria como la nanofiltración o la ultrafiltración para elevar el porcentaje de pureza, el valor de la densidad obtenida fue de 1.18 g/ml y presentó un color amarillo claro figura 18.

**Figura 18**

*Ácido láctico obtenido*



En el resultado de la investigación de Maribel (2020), comparó el método de cuantificación de ácido láctico espectrofotométrico y por titulometría, demostrando que no existieron diferencias significativas entre ellos y demostró que ambos métodos son válidos para la medición de la concentración de ácido láctico, por lo que se asume que la técnica de titulación realizada en este estudio es confiable.

En otro estudio realizado por Borshchevskaya et al (2016), se comparó dos métodos de cuantificación para ácido láctico, por espectrofotometría y Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC), siendo este último método muy preciso y costoso. Dando como resultado que entre estos dos métodos no existieron diferencias significativas.

### 3.3 Determinación de costos de producción

Finalmente, los materiales, reactivos y equipos se eligieron de acuerdo con la metodología realizada en este estudio a una escala laboratorio. En la tabla 22 se detalla los costos de materiales y reactivos para la obtención de ácido láctico por fermentación de suero de leche.

**Tabla 22**

*Costos de materiales y reactivos*

<b>Material</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Precio/U</b>	<b>Precio total</b>
<b>Insumos</b>				
Suero de leche dulce	60	Litros	-	\$20
Cepa <i>L. casei</i> 431 liofilizadas	2	Unidad	\$70	\$140
	<b>Subtotal</b>		<b>\$70</b>	<b>\$160</b>
<b>Reactivos</b>				
Hidróxido de calcio 96%	5	Unidad	\$40	\$200
Ácido sulfúrico	4	Litros	\$3.75	\$15
Agua destilada grado analítico	3	Galón	\$4	\$12
	<b>Subtotal</b>		<b>\$47.75</b>	<b>\$227</b>
<b>Materiales de laboratorio*</b>				

<b>Subtotal</b>	<b>\$45.65</b>	<b>\$90.65</b>
<b>Total</b>	<b>\$163.4</b>	<b>\$477.65</b>

**Materiales de laboratorio\***=Materiales descritos en la metodología

La investigación tuvo una inversión de \$477.65, en el proceso de transformación de 50 L de suero de leche dulce para obtener 500 ml de ácido láctico a escala laboratorio y se determinó que para producir 1 ml de ácido láctico a las características descrita en la tabla 22, se requiere aproximadamente un costo de producción de 0.95 centavos de dólar, cifra que se obtuvo, en el análisis de los costos incluyendo, materia prima, insumos, reactivos, materiales de laboratorio, transporte y otros gastos asociados. En el costo unitario del ácido láctico se calculó de la ecuación 2.

$$\text{Costo unitario de producción} = \$0.95/\text{ml de ácido láctico}$$

Este cálculo del costo de producción es fundamental para realizar ajustes y mejoras en el proceso de obtención de ácido láctico por suero de leche, sirviéndose como referencia para futuros estudios que optimicen los costos y aumenten la eficiencia de producción.

La obtención de ácido láctico a escala laboratorio utilizó los equipos que se detalla en la tabla 23, mencionando sus características, tiempo de uso y consumo energético.

**Tabla 23**

*Consumo energético de equipos*

<b>Equipo</b>	<b>Características</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Consumo energético total</b>
---------------	------------------------	---------------	---------------------------------

	Tasa máx. de evaporación: 12 litros/hora		
	Consumo máx. de vapor: 15 kg/hora		
	Presión máx. de vapor (en funcionamiento): 2 bar		
Evaporador de película ascendente	Capacidad máx. del tanque de alimentación: 15 litros	50 h	150 kW/h
	Capacidad del tanque de recogida de concentrado: 5 litros		
	Vacío del sistema: 0 a -1 bar		
	Suministro eléctrico monofásico 220V, 50Hz, 3 kW		
	Radio del tanque: 24.75 cm		
Tanque biofermentador 100 L	Altura: 71.5cm		
	Volumen: 137 L	13 días	56.16 kW/h
	Motor: 70 RPM, 1/15 HP, 0.18 kW		
	Voltaje: 110V		
	Capacidad de 50L a 80L por hora		
	Capacidad del bowl 20L		
Centrifuga de discos	Voltaje: 110V	5 h	1.25 kW/h
	Estructura: aluminio		
	Número de discos del tambor: 15U		
	Motor: 0.25 kW		
	Intervalo de temperatura: 5 °C a 70 °C		
Incubadora	Consumo energía: 80 W/h	83 h	6.64 kW/h
	Puerta con control de energía inteligente		
	Material de acero inoxidable		
	Material: acero inoxidable		
Autoclave	Control por microprocesador, pantalla LCD de estado de trabajo: presión, tiempo, temperatura, nivel de agua, código de error, tecla de tipo táctil.	5 h	15 kW/h
	máx. presión laboral: 0.23 Mpa		



Temperatura de diseño: 136 °C

Presión laboral: 0.22 Mpa

Temperatura de trabajo: 134 °C

Rango de temperatura de trabajo: 105 – 134 °C

Voltaje: 110-220 V

Motor: 3 kW

## **CAPÍTULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **4.1 Conclusiones**

- El suero de leche demostró potencial para ser utilizado a escala industrial ya que se alcanzaron niveles tanto de biomasa como de concentración de ácido láctico similares a escala de laboratorio.
- Se encontró una relación lineal entre el flujo de alimentación y presión de vacío en el proceso de concentración por evaporación del ácido láctico, obteniendo en esta etapa un producto que se puede clasificar como ácido láctico crudo.
- El costo unitario de producción del ácido láctico por ml es de \$0.95, cifra aceptable y referencia para optimizar costos y mejorar la eficiencia de producción.

## **4.2 Recomendaciones**

- Realizar estudios con 3 niveles de los factores estudiados en busca de un óptimo en el proceso de concentración por evaporación.
- Realizar estudios de purificación para elevar la pureza del ácido láctico.

## 5 BIBLIOGRAFÍA

A. Canut, F. J. (30 de Enero de 2008). *Evaporador de Película Ascendente*.

<https://docplayer.es/15337477-Evaporador-de-pelicula-ascendente.html>

Aguirre, S. R., & Garzón, M. A. (25 de Mayo de 2021). *Microencapsulación por*

*secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una*

*revisión*. <https://www.redalyc.org/journal/3442/344265925008/html/>

Anekella, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics

in raspberry juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*,

50(1), 17-24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.003>

Aturo, L. G. (22 de Marzo de 2023). *APROVECHAMIENTO DEL SUERO DE LA*

*LECHE PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO*. Repositorio Digital

UNACH:

<http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10593/1/Lema%20Jaime%20>

[%282023%29%20Aprovechamiento%20del%20suero%20de%20la%20lec](http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10593/1/Lema%20Jaime%20)

[he%20para%20la%20obtenci%C3%B3n%20de%20%C3%A1cido%20%](http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10593/1/Lema%20Jaime%20)

[C3%A1ctico..pdf](http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10593/1/Lema%20Jaime%20)

Borshchevskaya, L. N., Gordeeva, T. L., Sineokii, A. N., & Kalinina, S. (2016).

Spectrophotometric determination of lactic acid. *Zhurnal Analiticheskoi*

*Khimii*,

71(8),

755-758.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1134/S1061934816080037>

Burket. (Junio de 2021). *Fermentación: conceptos básicos, procedimientos y*

*control de gases*. Burket Fluid Control Systems:

<https://www.burkert.es/es/Servicio-Asistencia/Prestacion-de-servicios/Glosario/Fermentacion-conceptos-basicos-procedimientos-y-control-de-gases>

Cadena, E. E. (13 de Diciembre de 2021). *OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE LACTOSUERO SUPLEMENTADO UTILIZANDO Lactobacillus casei MEDIANTE FERMENTACIÓN CONTINUA.*  
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11903>

Cai, C., Thaler, B., Liu, D., & Qiao, J. W. (2012). Optimization of Spray-Drying Workflow as a Method for Preparing Concentrated Cultures of *Lactobacillus fermentum*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *11*(15), 2769-2774. <https://doi.org/10.3923/javaa.2012.2769.2774>

Cámara de Comercio de Guayaquil. (Septiembre de 2019). *PROHIBICIÓN AL SUERO DE LECHE: DESPERDICIO, INFORMALIDAD Y DAÑO AMBIENTAL.* <https://www.lacamara.org/website/wp-content/uploads/2017/03/IPE-321-Comercio-de-Suero-de-leche.pdf>

Cock, S., & Stouvenel, R. d. (2005). Producción biotecnológica de ácido láctico. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, *55*.  
<https://doi.org/10.1080/11358120509487672>

Datta, R., & Henry, M. (2006). Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies — a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *81*(7), 1119-1129.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jctb.1486>

Dirección General de Salud Pública . (17 de Mayo de 2021). *Productos virucidas autorizados en España*. Ministerio de sanidad:  
[https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Listado\\_virucidas.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Listado_virucidas.pdf)

Fabela, M. (Julio de 2017). *SECADO POR ASPERSIÓN*. researchgate:  
[https://www.researchgate.net/publication/336748770\\_SECADO\\_POR\\_AS\\_PERSION](https://www.researchgate.net/publication/336748770_SECADO_POR_AS_PERSION)

Fuentes, K. E. (12 de Febrero de 2019). *EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE MALTODEXTRINA COMO AGENTE ENCAPSULANTE DE LA VITAMINA C EN EL DESHIDRATADO POR LIOFILIZACIÓN DE LA PULPA DE CAMU CAMU (Myrciaria dubia HBK McVaugh) EN PUCALLPA*.  
<http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3898/000004149T-AGROINDUSTRIAS.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

García, C. A., Arrázola, G. S., & Durango, A. M. (2010). Producción de ácido láctico por vía biotecnológica. *Temas Agrarios*, 15(2), 13.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.21897/rta.v15i2.676>

García, C., Arrazola, G., & Villalba, M. (6 de Marzo de 2013). *PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LACTICO DE LACTOSUERO SUPLEMENTADO UTILIZANDO Lactobacillus casei*.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a17.pdf>



- Helia, I. (Febrero de 2018). *Recuperación de las proteínas del suero de leche utilizando quitosán*. Academia:  
[https://www.academia.edu/38208209/Recuperaci%C3%B3n\\_de\\_las\\_prote%C3%ADnas\\_del\\_suero\\_de\\_leche\\_utilizando\\_quitos%C3%A1n](https://www.academia.edu/38208209/Recuperaci%C3%B3n_de_las_prote%C3%ADnas_del_suero_de_leche_utilizando_quitos%C3%A1n)
- Hernandez, J. (Febrero de 2008). *Producción de ácido láctico en medios nutritivos adicionados con jarabes de fructosa a partir de la hidrólisis de la inulina del Agave americana*. researchgate:  
[https://www.researchgate.net/publication/316281284\\_Produccion\\_de\\_acido\\_lactico\\_en\\_medios\\_nutritivos\\_adicionados\\_con\\_jarabes\\_de\\_fructosa\\_a\\_partir\\_de\\_la\\_hidrolisis\\_de\\_la\\_inulina\\_del\\_Agave\\_americana/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/316281284_Produccion_de_acido_lactico_en_medios_nutritivos_adicionados_con_jarabes_de_fructosa_a_partir_de_la_hidrolisis_de_la_inulina_del_Agave_americana/figures?lo=1)
- Huang, S., Méjean, S., Rabah, H., Dolivet, A., Loir, Y. L., Chen, X. D., . . . Schuck, P. (2017). Double use of concentrated sweet whey for growth and spray drying of probiotics: Towards maximal viability in pilot scale spray dryer. *Journal of Food Engineering*, 12-16.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.10.017>
- Huertas, P., & Adolfo, R. (2009). LACTOSUERO: IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 4968. <https://doi.org/ISSN: 0304-2847>
- INEC. (Mayo de 2019). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2019/Presentacion%20de%20los%20principales%20resultados%20ESPA-C%202019.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2019/Presentacion%20de%20los%20principales%20resultados%20ESPA-C%202019.pdf)



Kwak, H., Hwang, D. W., Hwang, Y. K., & Chang, J.-S. (1 de Junio de 2012). ResearchGate. *Recovery of alkyl lactate from ammonium lactate by an advanced precipitation process*, 93, 25-32.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.025>

Liliana Serna C., A. R. (Octubre de 2003). *Acido polilactico (PLA): propiedades y aplicaciones*.  
<https://go.gale.com/ps/i.do?p=IFME&u=googlescholar&id=GALE|A224990624&v=2.1&it=r&sid=googleScholar&asid=cb674e0e>

Maribel, F. T. (24 de Noviembre de 2020). *OPTIMIZACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE LACTOSUERO POR Lactobacillus casei*.  
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11169>

Mettler Toledo International Inc. (7 de Febrero de 2023). *Medición de Brix*.  
<https://www.mt.com/es/es/home/perm-lp/product-organizations/ana/brix-meters.html>

Naranjo, J. P. (2008). *Estudio del Efecto de los Parámetros de Proceso en los Rendimientos y Calidad Sensorial del Jugo de Babaco Concentrado en un Evaporador de Película Ascendente*.  
<https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/91129/D-65589.pdf>

Nogales, L. M. (Abril de 2012). *Karl Wilhem Scheele*. Farmacia Luis Marcos:  
<https://farmaciamarcos.es/historia-farmaceutica/algunos-farmaceuticos-ilustres/karl-wilhem-scheele/>

NTE INEN 2594. (Septiembre de 2011). *Suero de leche. Requisitos*. Instituto Ecuatoriano de Normalización:  
<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2594.pdf>

País-Chanfrau J.M. (2017). Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología. *Bionatura*, 468-469.  
<http://revistabionatura.com/2017.02.04.11.html>

Palma, R. P. (31 de Julio de 2022). *Análisis crítico del coeficiente de determinación (R2), como indicador de la calidad de modelos lineales y no lineales*.  
<http://www.revistas.espol.edu.ec/index.php/matematica/article/view/1037/917>

Panesso, G. M. (2015). Producción de ácido láctico a partir de suero de leche. *Research Gate*, 2(1), 1-3. [https://www.researchgate.net/profile/Maria-F-P/publication/278414362\\_Produccion\\_de\\_Acido\\_lactico\\_lactobacillus\\_casei/links/558109f708ae607ddc3235d3/Produccion-de-Acido-lactico-lactobacillus-casei.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Maria-F-P/publication/278414362_Produccion_de_Acido_lactico_lactobacillus_casei/links/558109f708ae607ddc3235d3/Produccion-de-Acido-lactico-lactobacillus-casei.pdf)

Poveda, E. (5 de Septiembre de 2013). *Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad*.  
<https://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v40n4/art11.pdf>

Puruncajas, C. (Marzo de 2017). *Método de secado en frío (liofilización) y secado en calor (spray dryer) para la obtención de concentrados proteicos de haba (Vicia faba)*.

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25293/1/AL%20625.pdf>

Ramírez, J. S. (Enero de 2007). *Liofilización de alimentos*. researchgate:  
[https://www.researchgate.net/publication/259620189\\_Liofilizacion\\_de\\_alimentos](https://www.researchgate.net/publication/259620189_Liofilizacion_de_alimentos)

Ramiro, L., Chávez, A., Renterría, A. L., & Rodriguez, J. (Noviembre de 2017).  
PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO: USOS, RELACIÓN CON LA  
SALUD Y BIOACTIVIDADES. *INTERCIENCIA*, 42(11), 713.  
<https://doi.org/0378-1844/14/07/468-08>

Robalino Puente, J. F. (12 de Julio de 2017). *Obtención de ácido láctico a partir de suero de leche mediante un proceso biofermentativo utilizando un cultivo mesófilo homofermentativo*. EPN:  
<http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17484>

Rolón Ortiz, H., Acevedo Peñaloza, C., & Villamizar González, Y. (2019). Análisis térmico, modelamiento matemático y simulación de. *Revista UIS Ingenierías*, 18(1), 39-48.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.18273/revuin.v18n1-2019003>

Stephy, S. B. (19 de Diciembre de 2017). *Producción de ácido láctico a partir de Lactobacillus sp aislado de frutos de la Región Loreto*. CYBERTESIS:  
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/16831/Saavedra\\_bs.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/16831/Saavedra_bs.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

ThermoFisher. (20 de Octubre de 2021). *FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD*.

<https://www.fishersci.es/store/msds?partNumber=10141430&productDescription=500ML+Lactic+acid%2C+extra+pure%2C+SLR&countryCode=ES&language=es>

Tixicuro, J. M. (24 de Noviembre de 2020). *OPTIMIZACIÓN ESTADÍSTICA DE*

*LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE LACTOSUERO POR Lactobacillus casei [Tesis de pregrado, Universidad Técnica del Norte]*. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11169>

Todoesquímica. (11 de Noviembre de 2011). *MALTODEXTRINA*.

<https://todoesquimica.blogia.com/2011/111101-maltodextrina.php>

Torres, M. G., & Gómez, S. L. (05 de 12 de 2019). Ácido láctico: una revisión sobre

los métodos de Determinación y Purificación. *Biociencias*, 14(2), 111-141.

<https://doi.org/https://doi.org/10.18041/2390-0512/>

Universidad de Granada. (Noviembre de 2013). *SECADO POR LIOFILIZACIÓN*.

<http://fciencias.ugr.es/practicasdcentes/wp-content/uploads/guiones/SecadoPorLiofilizacion.pdf>

Universitat Politècnica de Catalunya. EPSEM. (2021 de Junio de 28).

*EVAPORADORES*. EPSEM:

<http://epsem.upc.edu/~intercanviadorsdecalor/castella/evaporadors.html>

Womens Voices For The Earth. (Abril de 2020). *Desinfectantes más seguros en*

*estos tiempos de coronavirus*.

<https://www.womensvoices.org/2020/04/13/desinfectantes-mas-seguros-en-estos-tiempos-de-coronavirus/>

Zapata, A. C., Múnera, J. F., Rave, N. A., Roldán, B. D., & Uribe, M. A. (Diciembre de 2019). Aprovechamiento de lactosuero para la producción de ácido láctico y posibles aplicaciones. *Revista GIPAMA*, 1, 169-178.  
<https://revistas.sena.edu.co/index.php/gipama/article/download/3215/3698>