

## **EFLUENTES INDUSTRIALES COMO MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO L (+) LÁCTICO**

**Poitevin Sebastian<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Departamento de Medio Ambiente Facultad de Ingeniería y Cs. Hídricas (FICH-UNL).  
Estudiante de Lic. en Saneamiento Ambiental (FBCB-UNL)*

**Área:** Ciencias Biológicas

**Sub-Área:** Biotecnología

**Grupo:** X

**Palabras clave:** Ácido L-láctico, Bacterias lácticas, Efluentes industriales, Fermentación.

### **INTRODUCCIÓN**

La fermentación mediada por las BAL presenta grandes desafíos para la implementación a escala industrial, siendo uno de los principales la selección de materias primas económicas, sustentables y capaces de cumplir con las exigencias nutricionales de los microorganismos. En este sentido, se han visualizados algunos efluentes industriales como materia prima para la producción de ácido L(+) láctico. Estos incluyen efluentes líquidos de las industrias de bebidas azucaradas (como fuente de carbono) y efluentes provenientes de purgas y lavados de tanques de la industria cervecera (como fuente de nutrientes). Por tal motivo, resulta de especial interés investigar el impacto de algunas condiciones operacionales (aireación por ejemplo) y biológicas (concentración del inóculo, relación biomasa/azúcar, requerimientos nutricionales de las bacterias, efecto de los compuestos presentes en los efluentes, entre los más importantes).

### **OBJETIVOS**

Evaluar el efecto de la microaireación sobre el desempeño fermentativo y la producción de ácido L (+) láctico de dos cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL).

Valorar la factibilidad de emplear efluentes provenientes de la industria cervecera y de bebidas analcohólicas azucaradas como suplemento nutricional y fuente de energía para la fermentación láctica.

### **METODOLOGÍA**

Se realizó la caracterización metabólica de dos cepas de BAL pertenecientes al género *Lactobacillus*: *L. casei* (heterofermentativo facultativo) y *L. salivarius* (homofermentativo estricto). Los reactores fueron operados en forma "batch" bajo condiciones de microaireación a temperatura constante de 37°C. El ensayo se realizó

Proyecto: "Obtención de productos de valor agregado como estrategia de bajo impacto ambiental para el tratamiento de efluentes de la industria de bebidas gaseosas (CAI+D 2011)"

Director del proyecto: Dr. Raúl N. Comelli

Director del becario/tesista: Dr. Raúl N. Comelli

por duplicado, iniciando la fermentación inmediatamente después de la inoculación. Las bacterias fueron reactivadas y cultivadas previamente en caldo MRS a 37°C durante 48 horas en condiciones anaeróbicas. Las muestras se recogieron a tiempo inicial y cada 24 horas hasta la finalización de la experiencia. La concentración inicial de bacterias fue de 250 mg/L. Para las fermentaciones se emplearon gaseosas de diferentes sabores (cola, naranja y lima-limón) y medios sintéticos compuestos por glucosa, fructosa y/o sacarosa 100 g/L, además también se suplementaron en diversos reactores la merma de cerveza, en distintas concentraciones y a la cual se le realizó autólisis y autoclavado. El ajuste de pH (6,5) se realizó suplementando cada reactor con carbonato de calcio.

Se efectuó el seguimiento en el tiempo de los siguientes parámetros: 1) Biomasa en mg/L a 480 nm (espectrofotómetro HACH DR/2010). Estos valores se correlacionaron con una curva de calibrado previamente construida a 480 nm de un cultivo estándar (DO vs SSV. Eaton, 2005). 2) Azúcares reductores en g/L a 540 nm (método colorimétrico de Miller, 1959). 3) Ácido láctico en g/L (kit enzimático específico para el isómero L(+). Wiener Lab., Argentina).

## RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados fermentación para la caracterización metabólica para las dos cepas de *Lactobacillus* seleccionadas (*L. casei* y *L. salivarius*). Para los reactores con 100 g/L no se midió la biomasa. El crecimiento de biomasa en los reactores con glucosa, fructosa y sacarosa con 10 g/l de hidratos de carbono como fuente de energía fue en promedio de 0,06 para *L. casei* y de 0,8 para *L. salivarius*. En los reactores con la fuente de energía combinada y de 10 g/l (sacarosa + fructosa, sacarosa + glucosa, fructosa + glucosa) 10 g/l el promedio de crecimiento para *L. casei* fue de 0,163 y para *L. salivarius* de 0,28. Para los demás reactores no se midió la biomasa. El rendimiento de producción de ácido láctico (gL/gaz) en los reactores anteriormente mencionados para *L. casei* 1,08, y para *L. salivarius* 0,94. En los reactores con fuentes de energía igual a 100 g/l rendimiento (gL/gaz) fue de 1,7 y 0,87.

**Tabla 1.** Caracterización metabólica de cepas para distintos sustratos en anaerobiosis

Tiempo	Fuente de carbono	<i>Lactobacillus casei</i>			<i>Lactobacillus salivarius</i>		
		$Y_b$ (g <sub>b</sub> /g <sub>az</sub> )	$\Delta S$ (g <sub>az</sub> /L)	$Y_L$ (gL/gaz)	$Y_b$ (g <sub>b</sub> /g <sub>az</sub> )	$\Delta S$ (g <sub>az</sub> /L)	$Y_L$ (gL/gaz)
24 hs	Glucosa (10 g/L)	0,02	6,73	1,29	0,03	5,22	1,1
		0,03	6,26	1,23	0,03	5,14	0,87
24 hs	Fructosa (10 g/L)	0,03	7,22	0,92	0,03	4,62	1,04
		0,02	7,07	0,8	0,03	4,9	1,11
24 hs	Sacarosa (10 g/L)	0,01	10,11	0,91	0,03	6,65	0,81
		0,01	10,22	0,63	0,03	7,14	0,72
24 hs	Peptona de carne + extracto de levadura (5g/L)	2,82	0,01	0,89	0,06	0,75	0,43
		1,13	0,02	0,89	0,06	0,75	0,54
72 hs	Agua destilada	-	-	-	-	-	-
72 hs	Glucosa (100)	-	46,47	1,74	-	45,45	0,74

	g/L)	-	29,02	2,34	-	30,04	1,22
72 hs	Fructosa (100 g/L)	-	46,47	2,39		37,15	0,6
		-	29,02	3,4	-	37,15	0,73
72 hs	Sacarosa (100 g/L)	-	15,1	1,17	-	31,62	1,11
		-	12,23	0,84	-	29,64	0,84
72 hs	Peptona de carne + extracto de levadura (10g/L)		35,18	0,31	-	0,39	0,51
		-	44,03	0,31	-	0,39	0,31
72 hs	Agua destilada	-	-	-	-	-	-
24 hs	Glucosa + Fructosa (5 g/L)	0,02	7,82	0,8	0,02	8,38	0,57
		0,74	6,79	0,74	0,02	8,46	0,64
24 hs	Glucosa + Sacarosa (5 g/L)	0,02	10,85	0,6	0,02	6,72	1,33
		0,16	10,64	0,66	0,02	6,09	1
24 hs	Fructosa + Sacarosa (5 g/L)	0,01	10,63	0,75	0,02	6,36	0,8
		0,02	8,92	0,84	0,02	7,15	0,58
24 hs	Fructosa+ Glucosa + Sacarosa (5 g/L)	0,01	10,93	0,84	0,04	4,03	1,03
		0,02	14,02	0,56	0,03	4,59	0,84

**Tabla 2 A.** Factibilidad del proceso fermentativo con sustratos de efluentes industriales. Ensayo en atmósfera anaeróbica.

Tiempo	Fuente de carbono	<i>Lactobacillus casei</i>	
		$\Delta S$ (g <sub>azúcares</sub> /L)	$Y_L$ (gL/gaz)
168 hs	<b>Gaseosa Cola</b>	114,27	0,56
168 hs	<b>Gaseosa Naranja</b>	109,53	0,99
168 hs	<b>Gaseosa limón</b>	69,12	0,96
168 hs	<b>Mix de gaseosas</b>	67,54	1,43
168 hs	<b>Mix de gaseosas + 10% de Licor de maíz</b>	70,9	0,82
168 hs	<b>Merma lisada (25g/L)</b>	0,51	0,68
168 hs	<b>Merma autoclavada (25g/L)</b>	3,51	0,63
168 hs	<b>Mix de gaseosas + 10 % merma (25 g/l)</b>	90,16	0,73
168 hs	<b>Merma lisada (50g/L)</b>	0,54	0,94
168 hs	<b>Merma autoclavada (50g/L)</b>	0,3	0,9
168 hs	<b>Mix de gaseosas + 10 % merma lisada (50 g/l)</b>	61,21	1,14
168 hs	<b>Merma lisada (100g/L)</b>	0,43	1,31
168 hs	<b>Merma autoclavada (100g/L)</b>	39,67	1,79

168 hs	<b>Mix de gaseosas + 10 % merma autoclavada (50 g/l)</b>	39,67	1,79
--------	--	-------	------

**Tabla 2 B.** Factibilidad del proceso fermentativo para distintas fuentes de carbono de efluentes industriales en micro aerobiosis.

## CONCLUSIONES

El proceso propuesto de producción de ácido L-láctico empleando efluentes de alta carga de la industria de bebidas analcohólicas azucaradas (como fuente de carbono) y de la industria cervecera (como fuente de nutrientes) es técnicamente factible. Futuros ensayos se enfocarán en la optimización de las condiciones de fermentación y en el desempeño de las bacterias lácticas, en un intento de maximizar los rendimientos en ácido L(+)-láctico.

## BIBLIOGRAFÍA

**Datta, R. y Henry, M.** (2006). "Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review". *J Chem Technol Biotechnol* (81): 1119–29.

**Eaton, A.D., Clescerl, L.S., Greenberg, A.E.** (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. American Public Health. Association, USA.

**John, RP; Nampoothiri, KM., y Pandey, A.** (2007). "Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives". *Appl Microbiol Biotechnol* (74): 524–34.

**Isla, MA.; Birri, F. y Seluy, LG.** (2008). "Efluentes de cervecerías: ¿Residuos o materia prima? I. Reducción de la Demanda Química de Oxígeno a través de la producción de levaduras". Exposición oral. XXXI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Chile.

**Kricheldorf, HR.** (2001). "Syntheses and application of polylactides". *Chemosphere* (43): 49–54.

**Okano, K.; Tanaka, T.; Ogino, C.; Fukuda, H. y Kondo, A.** (2010). "Biotechnological production of enantiomeric pure lactic acid from renewable resources: recent achievements, perspectives, and limits". *Appl Microbiol Biotechnol* (85): 413–23.

**Schmid, A.; Dordick, JS.; Hauer, B.; Kiener, A.; Wubbolts, M. y Witholt B.** (2005). "Poly (lactide) stereocomplexes: formation, structure, properties, degradation, and applications". *Macromol Biosci* (5): 569–97.