



RESIDUOS DE LA INDUSTRIA AZUCARERA: UNA ALTERNATIVA PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO

Sugar industry waste: an alternative for obtaining lactic acid

Dra. Ma. Guadalupe Bustos-Vázquez*, Dr. José Ernesto Cervantes-Martínez, Dr. Miguel García-Delgado,
Mtra. Nadia Adelina Rodríguez-Durán y Mtro. Efrén Compean-Ramírez.

* Autor responsable: gbustos@uat.edu.mx

RESUMEN

Los residuos originados en la industria azucarera pueden convertirse en subproductos con cierto valor económico y, a la vez, evitar el impacto al medio ambiente que ocasionaría su incorrecta disposición. La agroindustria cañera tiene la particularidad de que, al diversificarse para la obtención de energía y derivados, produce residuos secundarios a los que hay que darles tratamiento o un adecuado uso para evitar la contaminación del medio ambiente. Dentro de estos residuos (subproductos) se encuentran el bagazo de la caña de azúcar y las melazas o mieles finales. En este trabajo se utilizaron soluciones de hidrolizado de bagazo de caña enriquecidos con extracto de levadura (10 g/L), licores de lavado de maíz (10 g/L) y una mezcla de ambos en fermentaciones con *L. pentosus*. Por otra parte, se utilizó la melaza de la caña de azúcar, llevando a cabo una inversión de la sacarosa previa a la fermentación con la enzima invertasa 4X al 1% a pH 6.2 en soluciones estériles de 120 g de melaza/L inoculadas con *L. rhamnosus* e incubadas a 41.5 °C y 150 rpm. En ambos casos, las fermentaciones se llevaron a cabo para la obtención de ácido láctico.

PALABRAS CLAVE: residuos agroindustriales, melaza, bagazo, ácido láctico.

ABSTRACT

Large amounts of crop residues and agro are generated and accumulated annually in nature in solid, causing serious environmental pollution problems and loss of potential sources of high added value. These problems bring increased interest in the scientific community in finding new technologies for exploiting them in obtaining high-value products. Within this waste (byproducts) is the sugar cane bagasse and molasses sugar or molasses. In this work we used solutions of hydrolyzed bagasse enriched with yeast extract (10 g / L), Corn Steep Liquor (10 g / L) and a mixture of both in fermentations with *L. pentosus*. On the other hand was used molasses from sugar cane performing a reversal of the sucrose prior to fermentation with enzyme invertase 4X 1% at pH 6.2 in sterile solutions of molasses 120g / L inoculated with *L. rhamnosus* and incubated at 41.5 ° C and 150 rpm. In both cases, the fermentations were carried out to obtain lactic acid

KEYWORDS: agro-industrial waste, molasses, bagasse, lactic acid.

INTRODUCCIÓN

La diversificación del uso de la caña de azúcar, además de representar una alternativa a la crisis del mercado azucarero, constituye una estrategia lógica y económicamente ventajosa de desarrollo. El abanico de productos de alto valor que pueden obtenerse de la caña y sus derivados de la industria es prácticamente infinito (Suárez y Morín, 2005). Entre los principales residuos de la industria azucarera se encuentran los fibrosos como el bagazo de caña de azúcar y los residuos agrícolas cañeros, que se incluyen dentro de los recursos de biomasa, que es el recurso energético más versátil disponible (Villegas, 2000). El bagazo de caña de azúcar es un recurso natural lignocelulósico que presenta características muy interesantes, tales como su renovabilidad, bajo valor económico y abundancia. Por lo tanto, tiene un creciente potencial como materia prima para la industria química y biotecnológica. Estudios relacionados con el tratamiento de los hidrolizados de bagazo de caña (Rodrigues *et al.*, 2001), proponen el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos por vía biotecnológica como una alternativa en la obtención de ácido láctico u otros aditivos alimentarios. Está constituido prin-

principalmente de 50 % de celulosa, 25 % de hemicelulosas y 25 % de lignina (Martínez *et al.*, 2002). A pesar de que este residuo es utilizado como combustible en las industrias azucarera, alimentaria, de papel, alcohol y química, grandes cantidades son acumuladas en la naturaleza (Martínez *et al.*, 2002). Otro residuo procedente de este proceso es la melaza o mieles finales que son el subproducto, ya sea de la fabricación o de la refinación del azúcar crudo; contienen gran cantidad de componentes disueltos entre los que se encuentran, en su mayor parte, azúcares como la sacarosa (31 %), glucosa (9.5 %) y fructuosa (10 %), y nitrógeno (0.95 %) (Dumbrepatil *et al.*, 2008). Las cenizas representan del 12 al 15 % del total de sólidos disueltos y se componen principalmente de potasio (~40 %), calcio (~10 y 20 %) y sulfatos (10 y 20 %). Los componentes orgánicos no azúcares incluyen compuestos nitrogenados como el ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, lisina, alanina y algunas purinas, conteniendo, además, compuestos obscurecedores y agua. El resto corresponde a sales de magnesio, sílice, cloruros, fosfatos, sodio, aluminio y óxidos de hierro. La cachaza o torta de filtro contiene muchos de los coloides de la materia orgánica originalmente dispersa en el jugo, conjuntamente con aniones orgánicos e inorgánicos que precipitan durante la clarificación, así como otros compuestos no azúcares incluidos en esos precipitados. Algunos autores han propuesto la utilización de estos residuos para la producción de determinados aditivos alimentarios (Sreenath *et al.*, 2001b) como el ácido láctico, el cual presenta un amplio rango de aplicaciones en las industrias



Fuentes: Ma. Guadalupe Bustos Vázquez.

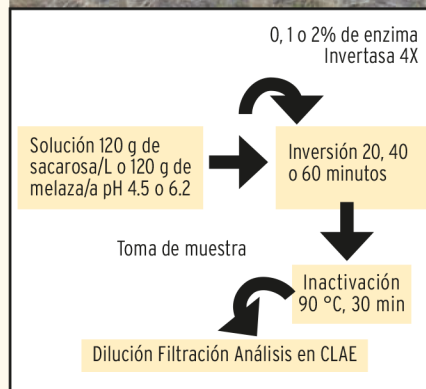


FIGURA 1

Diagrama de las condiciones experimentadas para la inversión de la sacarosa.

alimentaria, farmacéutica, química y cosmética. La producción biotecnológica de ácido láctico puede ser un proceso rentable si se utilizan materiales de bajo costo y son optimizadas las condiciones de fermentación. Goncalves *et al.* (1997), Kwon *et al.* (2000), Rivas *et al.* (2004), Min-Tian *et al.* (2005) han utilizado *L. rhamnosus* en fermentaciones lácticas en las que los sustratos son puros como la glucosa. El producto puro se obtiene cuando un azúcar monomérico puro es fermentado, debido a que se requieren menos etapas de purificación, pero esto no es económicamente favorable porque los

azúcares puros son caros y requieren la adición de fuentes nitrogenadas complejas y el ácido láctico es un producto relativamente barato (Young-Jung *et al.*, 2004). Por esta razón se utilizan residuos agrícolas, forestales e industriales o residuos sólidos municipales. Los esfuerzos en la investigación del ácido láctico están enfocados a disminuir los costos de producción a través de nuevos sustratos, nuevas tecnologías de fermentación y nuevos microorganismos capaces de alcanzar altas concentraciones de ácido láctico y altos rendimientos y productividades (Serna y Rodríguez, 2005). Este trabajo busca ofrecer una alternativa de aprovechamiento en la transformación de los residuos cañeros (bagazo y melaza). Su utilización permitirá contar en Tamaulipas con un área de investigación que esté dedicada al aprovechamiento biotecnológico de los subproductos de la caña de azúcar que permita la disminución de los daños ambientales y su uso en la industria de alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima. Se utilizó melaza o miel final y bagazo de caña de azúcar,

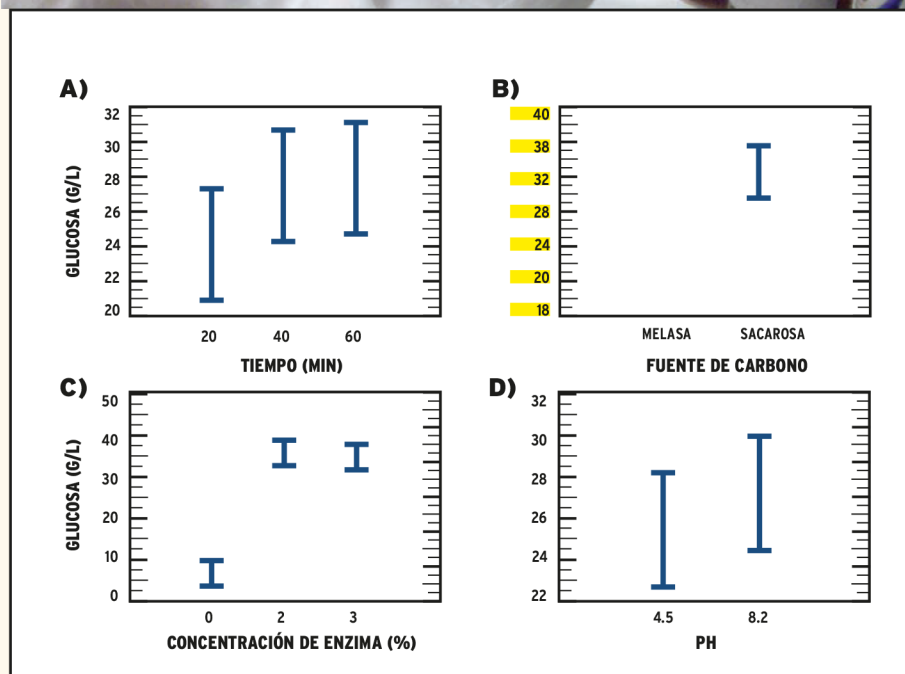


FIGURA 2

Valores promedio de la concentración de glucosa a intervalos LSD al 95 %.

adquiridos de la producción de azúcar de la zafra 2007-2008 y 2008-2009 del ingenio Aarón Sáenz Garza de Ciudad Mante, Tamaulipas. La melaza fue recolectada en frascos de vidrio y se mantuvo a 4 °C. El bagazo se molió y almacenó hasta su uso para su caracterización, determinando la humedad, cenizas, sólidos y compuestos orgánicos.

Microorganismos: *Lactobacillus rhamnosus*, NRRL B-442, para fermentaciones con melaza y *Lactobacillus pentosus*, NRRL B-227, para el bagazo, cedidos amablemente por el National Center for Agricultural Research Service Culture Collection (Peoria, Illinois, EE. UU.).

Inversión enzimática: La enzima invertasa 4X, cedida amablemente por Enzimas y Productos Químicos, S. A. de C. V., se almacenó a temperatura ambiente y se sometió a un tiempo de contacto (20, 40 y 60 minutos) en concentraciones de (0, 1 y 2 %) y pH de (4.5 y 6.2). La inversión se realizó tanto en soluciones de sacarosa sintética como en soluciones de melaza.

Método estadístico: En el caso de la melaza, para conocer el efecto estadísticamente significativo con un nivel de confiabilidad del 95 % del tiempo de contacto, de la concentración de la enzima, del pH y de la fuente de carbono sobre la inversión enzimática de la sacarosa, se realizó un análisis de varianza (Anova, por sus siglas en inglés).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de la inversión

En este estudio se utilizó la melaza de la caña de azúcar, llevando a cabo una inversión de la sacarosa previa a la fermentación con *L. rhamnosus*. La figura 1 muestra el diagrama de las condiciones utilizadas en la inversión de sacarosa. Los factores considerados en el Anova, con la finalidad de establecer la duración del tratamiento, fueron el porcentaje de enzima que

debe ser adicionada, así como la elección entre el pH óptimo de la enzima (4.5) o la del medio de fermentación (6.2) y evaluar si el origen de la sacarosa que será invertida puede ocasionar alguna interferencia en el proceso. El efecto de dichos factores se estimó sobre la concentración de glucosa y fructosa, ya que en las condiciones en las que estén en mayor cantidad son en las que mejor funcionó el tratamiento. Las tablas 1 y 2 muestran los valores P de cada uno de los cuatro factores para concentración de glucosa y fructosa, respectivamente. Siendo, en ambos casos, la fuente de carbono y la concentración de la enzima los factores que tuvieron un efecto estadísticamente significativo, puesto que los valores P fueron inferiores a 0.05. En las figuras 2 y 3 se muestran los valores promedio de la concentración de glucosa y de fructosa, respectivamente, a intervalos LSD al 95 %. Tanto en la figura 2 como en la 3 se puede observar que se obtienen mayores concentraciones de glucosa y de fructosa adicionando la enzima, ya sea a 1 o 2 %. Los resultados obtenidos en el Anova permitieron inferir que un tratamiento de inversión a pH 6.2 durante 20 minutos con una concentración de enzima del 1 % fue el más conveniente. Se realizó la fermentación de melaza con tratamiento de inversión enzimática y sin él. Los medios consistieron en soluciones estériles de 120 g de melaza/L, inoculadas con *L. rhamnosus* e incubadas a 41.5 °C y 150 rpm. En la fermentación sin inversión se obtuvieron 40.88 \pm 1.72 g de ácido láctico/L, YP/S de 0.70 y QP de 0.34, mientras que en la fermentación con inversión de la sacarosa se obtuvo una producción de ácido láctico de 67.06 \pm 1.72, YP/S de 0.81 y QP de 0.69. Estos resultados permitieron establecer que la inversión enzimática de la sacarosa favoreció la producción de ácido láctico.

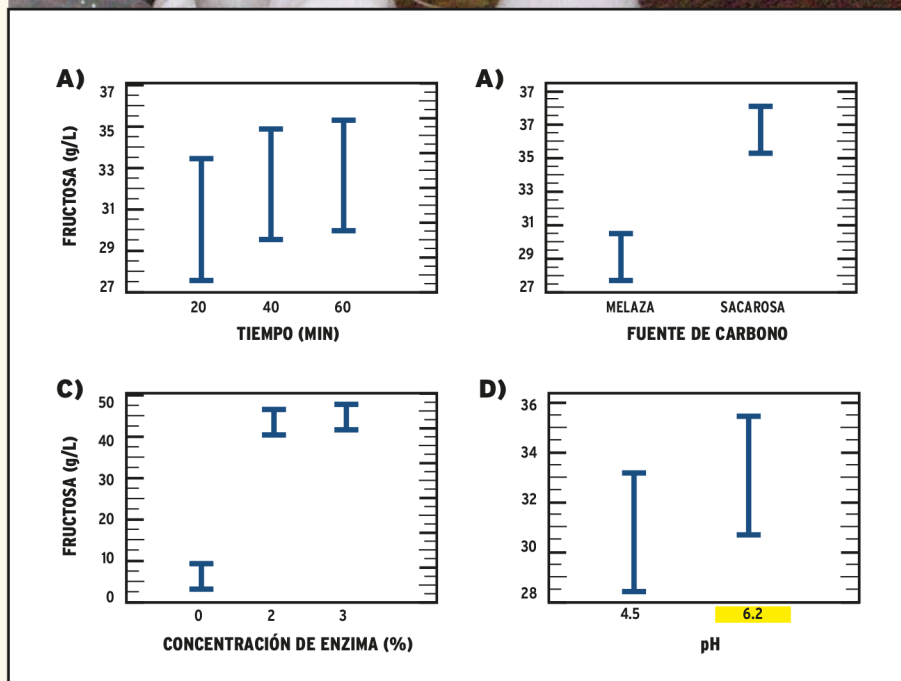


FIGURA 3

Valores promedio de la concentración de fructosa a intervalos LSD al 95 %.

Fermentación de azúcares hemicelulosicos

Varios autores reportan la producción biotecnológica de ácido láctico a partir de materiales lignocelulósicos (LCM), particularmente usando la bacteria *Lactobacillus*. Sin embargo, los sustratos más comunes para la producción de ácido láctico son el suero de leche (un producto de desecho de la producción del queso); melazas, utilizando *Lb. delbrueckii* (Göksungur y Güvenç, 1997); almidón de maíz con *Rhizopus oryzae* (Tay y Yang, 2001); fibra de alfalfa y zuros de maíz con *Lb. plantarum*, *L. casei*, *Lb. delbrueckii* y *Lactococcus lactis* (Sreenath *et al.*, 2001a); podas de sarmiento, utilizando *Lb. pentosus* (Bustos *et al.*, 2004); y jugo de caña limpio con *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Serna y Rodríguez, 2007). Así, con el fin de encontrar una mayor productividad y rendimiento, en este trabajo se ensayaron diferentes fermentaciones enriqueciendo el hidrolizado del bagazo de caña de azúcar con extracto de levadura (10 g/L), licores de lavado de maíz (10 g/L) y una mezcla de ambos con la adición de CaCO₃ en el medio, en concentraciones de 30 g/L y 2 g/L en cada fermentación. Bustos *et al.* (2004) utilizaron el CaCO₃ en una concentración de 30 g/L para neutralizar el ácido láctico producido, utilizando las podas de sarmiento y *Lb. pentosus*. Sin embargo, con el bagazo de caña de azúcar, las concentraciones alcanzadas de ácido láctico fueron muy bajas (resultados no mostrados) con lo cual se optó por adicionar el carbonato con base en la cantidad de ácido láctico obtenido. La combinación de diferentes nutrientes en las cinéticas de fermentación mostraron que el tratamiento realizado con ambos nutrientes, licores de lavado de maíz y extracto de

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coefficiente- F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tiempo	232.888	2	116.444	0.77	0.4657
B: Fuente de carbono	3451.44	1	3451.44	22.92	0.0000
C: Conc. de enzima	14914.5	2	7457.24	49.52	0.0000
D: pH	60.9818	1	60.9818	0.40	0.5268
RESIDUOS	9787.65	65	150.579		
TOTAL (CORREGIDO)	28447.4	71			

TABLA 1

Anova para concentración de glucosa.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coefficiente- F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tiempo	79.0558	2	39.5279	0.46	0.6341
B: Fuente de carbono	2353.91	1	2353.91	27.32	0.0000
C: Conc. de enzima	23553.6	2	11776.8	136.70	0.0000
D: pH	102.17	1	102.17	1.19	0.2802
RESIDUOS	5599.9	65	86.1522		
TOTAL (CORREGIDO)	31688.6	71			

TABLA 2

Anova para concentración de fructosa.

Tratamiento	CaCO ₃ 2g/L			CaCO ₃ 30g/L		
	Y _{p/s} g/g	Q _p g/L · h	Conc. max. de Ácido láctico g/L	Y _{p/s} g/g	Q _p g/L · h	Conc. max. de Ácido láctico g/L
10 g/L de EL	0.498	0.1135	4.08665	0.246	0.1167	4.71174
10 g/L de CSL	0.332	0.1037	4.96657	0.207	0.1206	3.62044
10 g/L CSL Y EL	0.479	0.1294	11.2664	0.471	0.1013	8.20274

* El extracto de Levadura; CSL Cors Step Liquor

TABLA 3

Valores cinéticos de ácido láctico en tratamientos con 2 g/L y 30 g/L de CaCO₃.



levadura, en concentraciones de 10 g/L, respectivamente, obtuvieron las concentraciones más altas de ácido láctico hasta de 11.26 g/L a las 48 horas de fermentación con un rendimiento en producto de 0.479 y una productividad de 0.23, utilizando 2 g/L de CaCO_3 . La tabla 3 muestra los valores cinéticos de producción de ácido láctico de los distintos tratamientos donde se utilizó CaCO_3 en 2 g/L o 30 g/L. Dong-Mei *et al.* (2008) alcanzaron concentraciones de 36 g/L de ácido láctico y una *Qp* de 0.46 g/L·h con una concentración inicial de 26.5 g de xilosa con hidrolizados de maíz y *Rhizopus oryzae*. La concentración inicial de xilosa fue mayor que la utilizada en este estudio. Estos resultados sugieren la posibilidad de concentrar los hidrolizados para obtener mayor rendimiento y productividad. Bustos *et al.* (2004) obtuvieron rendimientos comprendidos entre 0.43 y 0.59 g/L utilizando hidrolizados de las podas de sarmiento y *Lactobacillus pentosus* para la producción de ácido láctico.

CONCLUSIONES

En general los estudios llevados a cabo en esta investigación muestran que la utilización tanto de las melazas como del bagazo de caña de azúcar puede ser una alternativa viable para la obtención de ácido láctico por vía biotecnológica, así como una forma de reducir el impacto ambiental generado por estos residuos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo financiero otorgado por Promep, del convenio F-Promep-69/Rev-O7 y al Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica Conacyt-Gobierno del Estado de Tamaulipas por el apoyo brindado para la realización de esta investigación. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bustos, G., Moldes, A., Cruz, J. y Domínguez, J. (2004). "Production of fermentable media from vine-trimming wastes and bioconversion into lactic acid by *Lactobacillus pentosus*", en *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 2105-2112.
- Dong-Mei, B., Shi-Zhong, L., Lewis, L. y Zhan-Feng, C. (2008). "Enhanced L-(+)-Lactic Acid Production by an Adapted Strain of *Rhizopus oryzae* using Corn cob Hydrolysate", en *Applied Biochemistry And Biotechnology*. 144: 79-85.
- Dumbrepatil, A., Adsul, M., Chaudhari, S., Khire, J. y Gokhale, D. (2008). "Utilization of Molasses sugar for lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* mutant Uc-3 in batch fermentation", en *Applied and Environmental Microbiology*. 74(1): 333-335.
- Göksungur, Y. y Güvenç, U. (1997). "Batch and continuous production of lactic acid from beet molasses by *Lactobacillus delbrueckii* IFO 3200", en *J. Chem Technol Biotechnol*. 69: 399-404.
- Goncalves, L., Ramos, A., Almeida, J., Xavier, A. y Carrondo, M. (1997). "Elucidation of the mechanism of lactic acid growth inhibition and production in batch cultures of *Lactobacillus rhamnosus*", en *Applied Microbiology and Biotechnology*. 48: 346-350.
- Kwon, S., Lee, P., Lee, E. y Chang, N. (2000). "Production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* with vitamin-supplemented soybean hydrolysate", en *Enzyme and Microbial Technology*. 26: 209-215.
- Martínez, E., Villarreal, M., Almeida, J., Solenzal, A., Canilha, L. y Mussatto, S. (2002). "Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol", en *Cienc. Tecnol. Aliment*. 3(5): 295-301.
- Min-Tian, G., Koide, M., Gotou, R., Takanashi, H., Hirata, M. y Hano, T. (2005). "Development of a continuous electro dialysis fermentation system for production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus*", en *Process Biochemistry*. 40: 1033-1036.
- Rivas, B., Moldes, A., Domínguez, J. y Parajó, J. (2004). "Lactic acid production from corn cobs by simultaneous saccharification and fermentation: a mathematical interpretation", en *Enzyme Microbial Technol*. 34(7): 627-634.
- Rodríguez, R., Felipe, M., Almeida, J., Vitolo, M. y Gómez, P. (2001). "The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation", en *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 18: 299-311.
- Serna, L. y Rodríguez, A. (2005). "Producción biotecnológica de ácido láctico: estado del arte", en *Cienc. Tecnol. Aliment*. 5(1): 54-65.
- Serna, L. y Rodríguez, A. (2007). "Economical production of lactic acid using sugar cane wastes and juice", en *Agricultura Tecnica*. Chile. 67(1): 29-38.
- Sreenath, H., Moldes, A., Koegel, R. y Straub, R. (2001a). "Lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation of alfalfa fiber", en *J. Bioscience Bioengin*. 92(6): 518-523.
- Sreenath, H., Moldes, A., Koegel, R. y Straub, R. (2001b). "Lactic acid production from agriculture residues", en *Biotechnol Lett*. 23(3): 179-184.
- Suárez, R. y Morín, R. (2005). "Caña de azúcar y sostenibilidad: enfoques y experiencias cubanas", en *Desarrollo Alternativo A.C. Desal*. 19: 41-26.
- Tay, A. y Yang, S. (2001). "Extractive fermentation for lactic acid production from corn starch by immobilized cells of *Rhizopus oryzae*", en *Abstr Papers Am Chem Soc*.
- Villegas, P. (2000). *Aprovechamiento de residuos fibrosos de la industria azucarera mediante procesos de conversión térmica*. Tesis doctoral, Universidad Central de las Villas, Santa Clara.
- Young-Jung, W., Jin-Nam, K., Jong-Sun, Y. y Hwa-Won, R. (2004). "Utilization of sugar molasses for economical L-(+)-lactic acid production by batch fermentation of *Enterococcus faecalis*", en *Enzyme Microb. Technol*. 35: 568-573.